



universität  
wien

# MASTERARBEIT / MASTER'S THESIS

Titel der Masterarbeit / Title of the Master's Thesis

„Stillen versus Formula – Einfluss der Art der  
Säuglingsnahrung auf die Darm-Mikrobiota“

Systematischer Review und Meta-Analyse

verfasst von / submitted by

Kristina Englert BSc

angestrebter akademischer Grad / in partial fulfilment of the requirements for the degree of  
Master of Science (MSc)

Wien, 2016 / Vienna 2016

Studienkennzahl lt. Studienblatt /  
degree programme code as it appears on  
the student record sheet:

A 066 838

Studienrichtung lt. Studienblatt /  
degree programme as it appears on  
the student record sheet:

Masterstudium Ernährungswissenschaften UG2002

Betreut von / Supervisor:

Ass.-Prof. Dr. Petra Rust

## Danksagung

Mein besonderer Dank gilt Fr. Prof. Dr. Rust für ihre freundliche und hilfreiche Betreuung meiner Masterarbeit.

Ebenfalls möchte ich mich herzlich bei meinen Eltern für ihre Unterstützung bedanken. Nicht zuletzt möchte ich mich bei meiner Schwester Lisa und meinem Freund Bernd bedanken, die mir während des Verfassens meiner Masterarbeit oftmals unterstützend zur Seite standen.

## Eidesstaatliche Erklärung

Ich erkläre hiermit, dass ich die vorliegende Arbeit selbst verfasst und die aus fremden Quellen direkt oder indirekt übernommenen Gedanken als solche kenntlich gemacht habe. Die gegenständliche Arbeit wurde bisher keinem anderen Prüfungsgremium vorgelegt und keiner Veröffentlichung zugeführt.

## Inhaltsverzeichnis

|                                                                                    |    |
|------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Tabellenverzeichnis                                                                | 1  |
| Abbildungsverzeichnis                                                              | 2  |
| Abkürzungsverzeichnis                                                              | 3  |
| 1. Einleitung und Fragestellung                                                    | 4  |
| 2. Literaturteil                                                                   | 6  |
| 2.1. Physiologische Bedeutung von Muttermilch                                      | 6  |
| 2.1.1. Veränderungen der Zusammensetzung der Muttermilch                           | 6  |
| 2.1.2. Energie- und Nährstoffgehalt von Muttermilch                                | 8  |
| 2.1.3. Vorteile einer Ernährung mit Muttermilch                                    | 12 |
| 2.1.4. Die Rolle der „Human Milk Oligosaccharides“ in der Ernährung des Säuglings  | 17 |
| 2.2. Formulanahrung                                                                | 18 |
| 2.2.1. Zusammensetzung von Formulanahrung                                          | 19 |
| 2.2.2. Anpassungsmöglichkeiten der Formulanahrung an Muttermilch                   | 22 |
| 2.3. Besiedelung der Darmflora                                                     | 23 |
| 2.4. Stillen versus Formulanahrung in Hinblick auf die Darm-Mikrobiota             | 28 |
| 3. Empirischer Teil                                                                | 30 |
| 3.1. Durchführung der Meta-Analyse                                                 | 30 |
| 3.1.1. Hypothese                                                                   | 30 |
| 3.1.2. Methodik                                                                    | 30 |
| 3.1.2.1. Systematik der Literaturrecherche                                         | 30 |
| 3.1.2.2. Ein- und Ausschlusskriterien                                              | 31 |
| 3.1.2.3. Datenextraktion / Review Manager                                          | 31 |
| 3.2. Ergebnisse der Literaturrecherche und Diskussion                              | 32 |
| 3.2.1. Studienauswahl                                                              | 32 |
| 3.2.2. Beschreibung der in die Analyse inkludierten Studien                        | 34 |
| 3.2.3. Nicht inkludierte Studien                                                   | 46 |
| 3.2.4. Qualität der Studien                                                        | 50 |
| 3.2.5. Anmerkung zu den verwendeten Studien                                        | 51 |
| 4. Ergebnisse der Meta-Analyse Stillen versus Formulanahrung                       | 54 |
| 4.1. Ergebnisse der Meta-Analyse Stillen versus Formulanahrung ohne Anreicherungen | 54 |
| 4.1.1. Bifidobakterien                                                             | 54 |

|        |                                                                          |    |
|--------|--------------------------------------------------------------------------|----|
| 4.1.2. | Laktobazillen                                                            | 55 |
| 4.1.3. | Bacteroides                                                              | 56 |
| 4.1.4. | Heterogenität                                                            | 57 |
| 4.1.5. | Limitationen                                                             | 58 |
| 4.1.6. | Diskussion                                                               | 59 |
| 4.2.   | Ergebnisse der Meta-Analyse Stillen versus angereicherter Formulanahrung | 63 |
| 4.2.1. | Bifidobakterien                                                          | 63 |
| 4.2.2. | Laktobazillen                                                            | 64 |
| 4.2.3. | Bacteroides                                                              | 65 |
| 4.2.4. | Heterogenität                                                            | 66 |
| 4.2.5. | Diskussion                                                               | 67 |
| 5.     | Schlussbetrachtung                                                       | 69 |
| 6.     | Zusammenfassung                                                          | 71 |
| 7.     | Summary                                                                  | 73 |
| 8.     | Literaturverzeichnis                                                     | 75 |

## **Tabellenverzeichnis**

Tabelle 1: Immunologische wirksame Substanzen in Muttermilch

Tabelle 2: Gattungen und Funktionen von Bakterienstämmen im menschlichen Darm

## Abbildungsverzeichnis

- Abbildung 1: Faktoren, die auf die Zusammensetzung der kindlichen Darmflora wirken, und Unterschiede der bakteriellen Kolonisierung beeinflusst durch Geburtsvorgang und Ernährung
- Abbildung 2: Zeitlinie von Faktoren, welche die Entwicklung der kindlichen Darmflora von Geburt bis zum 3. Lebensjahr beeinflussen
- Abbildung 3: Der Einfluss frühkindlicher Expositionen (Geburt, Säuglingsernährung, Antibiotika- und Probiotikagabe) auf die Besiedelung der Darm-Mikrobiota
- Abbildung 4: Flow Chart zur Auswahl relevanter Studien
- Abbildung 5: „Risk of Bias“-Graph der Einzelstudien nach dem „Cochrane Collaboration’s tool for assessing risk of bias“
- Abbildung 6: „Risk of Bias“-Zusammenfassung der Einzelstudien nach dem „Cochrane Collaboration’s tool for assessing risk of bias“
- Abbildung 7: Forest Plot mit 95% - CI: Vergleich der Anzahl der Bifidobakterien in der Darmflora gestillter und nicht gestillter Säuglinge
- Abbildung 8: Forest Plot mit 95% - CI: Vergleich der Anzahl der Laktobazillen in der Darmflora gestillter und nicht gestillter Säuglinge
- Abbildung 9: Forest Plot mit 95% - CI: Vergleich der Anzahl der Bacteroides in der Darmflora gestillter und nicht gestillter Säuglinge
- Abbildung 10: Forest Plot mit 95% - CI: Vergleich der Anzahl der Bifidobakterien in der Darmflora (gestillt vs. mit angereicherter Formulanahrung ernährter Säuglinge)
- Abbildung 11: Forest Plot mit 95% - CI: Vergleich der Anzahl der Laktobazillen in der Darmflora (gestillt vs. mit angereicherter Formulanahrung ernährter Säuglinge)
- Abbildung 12: Forest Plot mit 95% - CI: Vergleich der Anzahl der Bacteroides in der Darmflora (gestillt vs. mit angereicherter Formulanahrung ernährter Säuglinge)

## Abkürzungsverzeichnis

|         |                                                                           |
|---------|---------------------------------------------------------------------------|
| AAP     | American Academy of Paediatrics                                           |
| AF      | adapted formula                                                           |
| BF      | breastfeed                                                                |
| BfR     | Bundesinstitut für Risikobewertung                                        |
| BM      | breastmilk                                                                |
| BMI     | Body-Mass-Index                                                           |
| CF      | control formula                                                           |
| CFU     | colony forming units                                                      |
| EF      | experimental formula                                                      |
| ESPGHAN | European Society for Paediatric Gastroenterology Hepatology and Nutrition |
| FF      | formulafeed                                                               |
| FOS     | fructo-oligosaccharide                                                    |
| GMP     | casein glycomacropeptide                                                  |
| GOS     | galacto-oligosaccharide                                                   |
| HMO     | Human Milk Oligosaccharide                                                |
| LCPUFA  | long chain poly unsaturated fatty acids                                   |
| NCDs    | non-communicable diseases                                                 |
| PCR     | polymerase chain reaction                                                 |
| RIS     | Rechtsinformationssystem                                                  |



## 1. Einleitung und Fragestellung

Muttermilch gilt als der "Goldstandard" bezüglich der Ernährung des Säuglings. Laut WHO werden weltweit derzeit rund 38% der Säuglinge in den ersten sechs Lebensmonaten ausschließlich gestillt. Die WHO hat sich in ihren "Global Targets" unter anderem zum Ziel gesetzt, dass bis zum Jahr 2025 mindestens 50% der Säuglinge in den ersten sechs Lebensmonaten ausschließlich gestillt werden sollen [WHO 2015]. Die niedrigste exklusive Stillrate in den ersten sechs Lebensmonaten findet sich in West- und Zentralafrika mit 25%, gefolgt von Ostasien und Pazifik mit 30% und Lateinamerika und Karibik mit 32%. Die Länder mit der höchsten exklusiven Stillrate in den ersten sechs Lebensmonaten sind Süd- und Ostafrika mit 47%, Südasien mit 47% gefolgt von den am wenigsten entwickelten Ländern mit 46% [Unicef 2015].

Unter exklusivem Stillen versteht man die ausschließliche Ernährung des Säuglings mit Muttermilch ohne Beigabe anderer Nahrung oder Wasser in den ersten sechs Lebensmonaten. Die Empfehlung für ausschließliches Stillen in den ersten sechs Monaten stützt sich auf die positiven Ergebnisse in Bezug auf das Risiko der Entstehung von NCDs [WHO 2016].

Die WHO betrachtet exklusives Stillen für sechs Monate als einen bedeutenden Eckpfeiler für das Überleben, die gesunde Entwicklung des Kindes und die Gesundheit im späteren Leben. Ebenfalls dient Muttermilchernährung als erste Immunisierung des Kindes und damit als Schutz vor Infektionen der Atemwege und vor Durchfallerkrankungen sowie zur Vorbeugung weiterer lebensbedrohlicher Erkrankungen [WHO 2016].

Ebenfalls verweist die deutsche Nationale Stillkommission vom Bundesinstitut für Risikobewertung (BfR) darauf, dass exklusives Stillen in den ersten sechs Lebensmonaten eine geringere Erkrankungswahrscheinlichkeit, beispielsweise an Otitis media, Magen-Darm-Infektionen, sowie an später auftretendem Übergewicht und Diabetes mellitus Typ 2 zur Folge hat [BfR 2012]. Bei der Mutter wird das Risiko an Brust- oder Eierstockkrebs, als auch an Typ 2 Diabetes zu erkranken, gesenkt. Des Weiteren wird in der Studie von Victora et al. [2016] darauf hingewiesen, dass durch

eine Erhöhung der Rate exklusiv stillender Mütter jährlich ca. 823.000 Todesfälle von Kindern unter 5 Jahren, als auch 20.000 Todesfälle durch Brustkrebs verhindert werden könnten [Victora et al. 2016]. Das ESPGHAN Committee spricht in einem Artikel im "Journal of Pediatric Gastroenterology & Nutrition" davon, dass durch eine Erhöhung der Stillzeit in 42 Ländern mit hoher Mortalität schätzungsweise 1.3 bis 1.45 Millionen Todesfälle verhindert werden könnten. Suboptimales Stillen, so heißt es darin weiter, sei für rund 1.4 Millionen Todesfälle bei Kindern verantwortlich [Agostoni et al. 2009].

In einem systematischen Review, der ca. 400 Studien umfasst, konnte gezeigt werden, dass Stillen eine Reihe kurz- und langfristiger positiver Auswirkungen auf die Gesundheit hat. Darunter fallen etwa die Senkung des Risikos akuter Mittelohrentzündungen, Asthma, Übergewicht, Magen-Darm-Infektionen, Atemwegsinfektionen, atopische Dermatitis, Leukämie im Kindesalter, plötzlicher Kindstod, Typ 1 und 2 Diabetes und nekrotisierende Enterokolitis [Ip et al. 2007].

Zahlreiche Studien konnten die Bedeutung der Muttermilch für die Darmflora und in diesem Zusammenhang den positiven Einfluss auf das Immunsystem des Kindes ausmachen. Diese Thematik steht im Zentrum der vorliegenden Untersuchung. Dabei soll der Einfluss der Muttermilchernährung auf die Darmflora des Kindes dem der Formulanahrung gegenübergestellt werden. Dabei gilt es folgenden Faktoren besondere Aufmerksamkeit zu schenken: einerseits der spezifischen Zusammensetzung der Muttermilch (Kap. 2.1) als auch der Formulanahrung (Kap. 2.2), wobei die Rolle der Oligosaccharide näher beleuchtet wird, da diesen eine besondere Relevanz und positiver Einfluss auf die Darm-Mikrobiota zugeschrieben wird. Bei diesen handelt es sich um wichtige Bestandteile in der Muttermilch, die auch Hersteller von Formulanahrungen bestrebt sind nachzuahmen, beziehungsweise Formulanahrungen zuzusetzen.

Der Fokus dieser Arbeit liegt auf der Analyse der Auswirkungen der Art der Säuglingsnahrung auf die Darm-Mikrobiota. Hierzu erfolgt einerseits die Auseinandersetzung mit der bakteriellen Besiedelung des Darms, andererseits mit den unterschiedlichen Zusammensetzungen und Wirkungen von Muttermilch bzw. Formulanahrungen.

## **2. Literaturteil**

### **2.1. Physiologische Bedeutung von Muttermilch**

Viele Stillempfehlungen heben die Vorteile der Muttermilch gegenüber Formulanahrungen hervor.

Zur physiologischen Bewertung ist es notwendig sich der Zusammensetzung der Muttermilch, als auch der Formulanahrungen zu widmen. Wie beispielsweise die deutsche Stillkommission vom Bundesinstitut für Risikobewertung (BfR) schreibt, ist es nicht möglich eine Formulanahrung herzustellen die der komplexen Zusammensetzung der Muttermilch gerecht wird [BfR 2012].

Nicht nur die Zusammensetzung per se, sondern auch die Veränderung der inhaltlichen Zusammensetzung der Muttermilch von der Kolostralmilch zur reifen Muttermilch bzw. Veränderungen der Nährstoffgehalte während einer Stillmahlzeit kann von Formulanahrungen nicht nachgeahmt werden. Ebenfalls stellt die Nationale Stillkommission fest, dass sich erhebliche Unterschiede hinsichtlich der Bioverfügbarkeit und den metabolischen Effekten von den unterschiedlichen Nährstoffen in der Muttermilch finden.

#### **2.1.1. Veränderungen der Zusammensetzung der Muttermilch**

Unter exklusivem Stillen wird verstanden, dass der Säugling für die ersten sechs Monate seines Lebens ausschließlich mit Muttermilch ernährt wird. Es wird dabei nicht auf eine andere Nahrung oder Ergänzung mit Wasser zurückgegriffen. Förderung des exklusiven Stillens gilt als die bestmögliche präventive Intervention in Bezug auf die Kindersterblichkeit [WHO 2014].

Die Zusammensetzung der Muttermilch ist weder einheitlich, noch konstant und wird von unterschiedenen Faktoren beeinflusst. Abgesehen von der täglich variierenden Zusammensetzung (circadiane Rhythmik) und des Einflusses der Ernährung der

Mutter, ändert sich die Zusammensetzung im Verlauf der Stillzeit (Laktationsphasen), aber auch während des Stillvorgangs selbst (Vorder-und Hintermilch).

Mit *circadianer Rhythmik* wird eine Art Biorhythmus beschrieben, der eine Konzentrationsänderung in der Zusammensetzung der Muttermilch bewirkt. Diese wird unter anderem mit einem verbesserten Schlaf des Säuglings und geringen abdominalen Koliken des Säuglings in Verbindung gebracht [BfR 2012].

Die Ernährung der Mutter spielt eine wichtige Rolle bezüglich der Zusammensetzung der Muttermilch. Wenn die Mutter unter- oder mangelernährt (z.B. restriktive Diät) ist, produziert sie weniger Milch. Dem kann durch eine entsprechende Nahrungsergänzung positiv entgegengewirkt werden. Spezifische Ernährungsformen spiegeln sich in der Zusammensetzung der Muttermilch beispielsweise bei unterschiedlichen Vitaminen, wie Vitamin D und A, bei wasserlöslichen Vitaminen und Jod, sowie bei der Zusammensetzung der Fettsäuren wieder. Säuglinge veganer Mütter haben ein besonders hohes Risiko für schwere megaloblastische Anämie und neurologischen Auffälligkeiten aufgrund eines Vitamin B12 Mangels [Agostoni et al. 2009].

Die grobe zeitliche Veränderung der Muttermilch lässt sich anhand der unterschiedlichen *Laktationsphasen* unterscheiden. Dabei wird von der Muttermilch in der ersten Phase als Kolostrum, in der zweiten von Übergangs- oder transitorischer Milch und in der dritten Phase von der reifen Milch gesprochen.

#### Phase 1: Kolostrum

Das Kolostrum wird nach der Geburt gebildet und unterscheidet sich in Volumen, Aussehen und Zusammensetzung von der reifen Muttermilch. Das Kolostrum ist reich an immunologischen Komponenten, wie dem sekretorischen IgA, Lactoferrin, Leukozyten, sowie an Entwicklungsfaktoren wie dem epidermalen Wachstumsfaktor. Zudem enthält es geringe Konzentrationen an Laktose und Fett und ist daher für den Säugling leichter zu verdauen [Ballard und Morrow 2013] [LGL 2012].

## Phase 2: Übergangsmilch

Übergangsmilch wird zwischen 5 Tagen bis zu 2 Wochen nach der Geburt gebildet. Die Übergangsmilch enthält weniger Eiweiß, aber einen höheren Anteil an Kohlenhydraten und Fetten, verglichen mit dem Kolostrum und unterstützt in ihrer Zusammensetzung die ernährungsphysiologischen und entwicklungsbedingten Bedürfnisse des Säuglings [Ballard und Morrow 2013].

## Phase 3: Reife Milch

4 bis 6 Wochen nach der Geburt ist die Muttermilch voll ausgereift. In dieser Phase bleibt die Zusammensetzung der Muttermilch, im Vergleich zu den ersten beiden Phasen, relativ stabil [Ballard und Morrow 2013].

Während einer Stillmahlzeit erhält der Säugling zuerst die Vorder- und im Anschluss daran die Hintermilch. Diese unterscheiden sich voneinander hinsichtlich des Fettgehaltes, aber auch hinsichtlich hormoneller Bestandteile, wie Ghrelin, Leptin und Adiponectin [Karatas et al. 2011].

### **2.1.2. Energie- und Nährstoffgehalt von Muttermilch**

Die Muttermilch setzt sich derart zusammen, dass sie den Nährstoff- und Flüssigkeitsbedarf des Säuglings in den ersten Lebensmonaten ideal abdeckt.

Muttermilch enthält eine Vielzahl komplexer Proteine, Lipide und Kohlenhydrate. Der Energiegehalt von Muttermilch liegt zwischen 65-70 kcal/dl und korreliert stark mit dem Fettgehalt der Muttermilch. Pro 100ml enthält reife Muttermilch 0,9-1,2 g Proteine, 3,2-3,6 g Fett und 6,7-7,8 g Laktose und unterscheidet sich zwischen Kolostral- und reifer Milch dadurch, dass frühe Milch zu einem höheren Gehalt an Proteinen und Fett tendiert [Ballard und Morrow 2013].

Muttermilch enthält über 400 verschiedene Proteine, die eine Vielzahl von Funktionen ausüben, darunter die Nährstoffbereitstellung, antimikrobielle und immunmodulierende Aktivitäten, sowie die Stimulierung der Nährstoffaufnahme

[Andreas et al. 2015]. Die Proteine der Milch lassen sich in 3 Gruppen klassifizieren: Mucine, Caseine und Molkenproteine. Die Milchproteine unterstützen zahlreiche physiologische Aktivitäten, wie Abwehr pathogener Bakterien, Viren und Hefen und Entwicklung des Darms und seiner Funktion [Lonnerdal 2003].

Muttermilchlipide stellen mit 40-55% den größten Anteil des Energiegehalts in der Muttermilch dar. Den größten Anteil der Lipide bilden mit einem Gehalt von 98% Triglyceride, gefolgt von den Phospholipiden mit 0,7% und Cholesterin mit 0,5%. Die Zusammensetzung von Fettsäuren ändert sich im Verlauf der Laktationsphasen. Der Gehalt an essentiellen Fettsäuren (Linolsäure und Alpha-Linolensäure) erhöht sich mit der Reife der Muttermilch, während der Anteil an LC-PUFAs (n-6 und n-3), bei der Arachidonsäure auf 38% und der DHA auf etwa 50%, innerhalb des ersten Monats nach der Geburt deutlich sinkt [Koletzko et al. 2001].

Muttermilch enthält eine große Vielfalt an unterschiedlichen Kohlenhydraten. Wichtigster Bestandteil der Muttermilch ist Laktose, die verglichen mit anderen Arten vermutlich aufgrund des hohen Energiebedarfs des menschlichen Gehirns in höchster Konzentration vorkommt. Eine zweite wichtige Kohlenhydratquelle stellen die Oligosaccharide (HMOs) dar, die für den Säugling unverdaulich sind. Ihre Funktion liegt vor allem in der Versorgung der Mikrobiota im Magen-Darmtrakt des Säuglings [Andreas et al. 2015].

Die Anteile an den Vitaminen A, B1, B2, B6, B12, D und Eisen variieren in der Muttermilch abhängig von der mütterlichen Ernährung und deren Körperspeichern. Vitamin K kommt in sehr geringen Mengen in der Muttermilch vor, weshalb von der „American Academy of Pediatrics“ eine Injektion für dieses Vitamin empfohlen wird, um hämorrhagische Krankheiten beim Neugeborenen zu vermeiden. Ein weiteres Vitamin das in geringen Mengen in Muttermilch vorkommt ist Vitamin D, insbesondere bei Müttern die sich wenig in der Sonne aufhalten, weshalb es ebenfalls Empfehlungen für eine Supplementierung mit Vitamin D im Säuglingsalter gibt [Ballard und Morrow 2013].

Die DACH Gesellschaften empfehlen daher für Säuglinge im ersten Lebensjahr für die Vitamine D und K, als auch Fluorid folgende Supplementierung [DACH 2015]:

Vitamin D: Säuglinge (0 bis unter 12 Monate): 10 µg/Tag

Vitamin K: Säuglinge 0 bis unter 4 Monate: 4 µg/Tag

Säuglinge 4 bis unter 12 Monate: 10 µg/Tag

Fluorid: als Tablette 0,25 mg/Tag

Des Weiteren enthält Muttermilch zahlreiche Komponenten die für das Immunsystem des Säuglings von Bedeutung sind. Unter anderem: slgA, Leukozyten, Oligosaccharide, Lysozym, Laktoferrin, Interferon, Nukleotide, Zytokine [Agostoni et al. 2009], und eine hohe Diversität von Prä- und Probiotika [BfR 2012].

Viele dieser Verbindungen tragen zum Schutz des Gastrointestinaltrakts des Säuglings und zum Schutz der oberen Atemwege bei, da diese die Haftung von Pathogenen an der Schleimhaut verhindern und damit vor invasiven Infektionen schützen [Agostoni et al. 2009].

Ebenfalls enthält Muttermilch Hormone, Polyamine, Wachstumsfaktoren und andere biologische Verbindungen die von Bedeutung für die Gesundheit des Säuglings sind [Agostoni et al. 2009].

|                                   |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      |                                |                                                                                                                                   |
|-----------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>Antimikrobielle Substanzen</b> | Immunoglobuline: slgA, slgG, slgM Laktoferrin, Laktoferrizin B + H Lysozym<br>Laktoperoxidase Nukleotid-hydrolysierende AK κ-Kasein und α-Laktalbumin Haptocorrin<br>Muzine<br>Laktadherin<br>Freie sekretorische Komponente Oligosaccharide<br>Fettsäuren<br>Mütterliche Leukozyten + Zytokine sCD14<br>Komplement + Komplement-Rezeptoren<br>β-Defensin-1<br>Toll-like Rezeptoren<br>Bifidusfaktor | <b>Immunsystem-entwicklung</b> | Makrophagen Neutrophile Lymphozyten<br>Zytokine Wachstumsfaktoren Hormone<br>Milchpeptide LC-PUFA Nukleotide<br>Adhäsionsmoleküle |
|-----------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|

|                                    |                                                                                                                                                                                                              |                                                |                                                                 |
|------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------|
| <b>Antientzündliche Substanzen</b> | Zytokine: IL-10 und TGF- $\beta$ IL-1<br>Rezeptorantagonist TNF- $\alpha$ und<br>IL-6 Rezeptoren sCD14<br>Adhäsionsmoleküle<br>LC-PUFA<br>Hormone und<br>Wachstumsfaktoren<br>Osteoprotegerin<br>Laktoferrin | <b>Toleranz-<br/>erzeugende<br/>Substanzen</b> | Zytokine: IL-10 + TGF- $\beta$ Anti-<br>idiotypische Antikörper |
|------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------|

*Tabelle 1: Immunologisch wirksame Substanzen in Muttermilch [BfR 2012]*

Diese immunologisch wirksamen Substanzen der Muttermilch stellen einen besonders wichtigen Aspekt der Ernährung des Säuglings durch exklusives Stillen dar.

Das Immunsystem des Säuglings muss sich erst ausbilden und ist auf die postnatale Auseinandersetzung mit den Bakterienstämmen seiner Umwelt angewiesen. Die Muttermilch besteht mitunter aus einer Vielzahl unterschiedlicher Mikroorganismen, wie Laktobazillen, Streptokokken, Enterokokken, Bifidusbakterien und weiteren [BfR 2012]. Die kommensalen Bakterien aus der Muttermilch stellen hierzu einen wichtigen Faktor zum Aufbau der Darmflora des Säuglings dar [BfR 2012]. Die dominierenden Bakterienspezies in der Muttermilch sind Staphylokokken und Streptokokken die bei der Besiedelung der kindlichen intestinalen Mikrobiota eine bedeutende Rolle spielen und im Stuhl gestillter Säuglinge nachgewiesen werden konnten. Es scheint, dass die bakterielle Zusammensetzung der kindlichen Darmflora, die bakterielle Zusammensetzung der Muttermilch reflektiert [Heikkila und Saris 2003].

In der Studie von Soto et al. [2014] wurde die Muttermilch von 160 gesunden Frauen aus Österreich und Deutschland auf Bifidobakterien und Laktobazillen untersucht, als auch der Einfluss diverser Faktoren, wie die Einnahme von Antibiotika während der Schwangerschaft und Laktation, Nation, Gestationsalter und Geburtsvorgang. Zur Isolation der Bifidobakterien und Laktobazillen wurden 66 Milchproben, welche zufällig ausgewählt wurden, auf Agar-Nährböden aufgebracht und mittels PCR einer qualitativen DNA-Analyse unterzogen. In den 66 kultivierten Milchproben waren Bifidobakterien zu 10,61% und Laktobazillen zu 40,91% vertreten. Bei der qualitativen Analyse der 160 Milchproben lag der Nachweis der Bifidobakterien und Laktobazillen bei 25,62% bzw. 67,5%. Die Anzahl der positiven Proben, in Bezug auf Bifidobakterien



und Laktobazillen, war signifikant niedriger bei Frauen, die während der Schwangerschaft oder der Stillzeit Antibiotika einnahmen [Soto et al. 2014].

Diese komplexe Zusammensetzung verweist auf die nicht ausreichend erfüllbaren Anforderungen, die industriell erzeugte Formulanahrungen zu bewältigen hätten.

### **2.1.3. Vorteile einer Ernährung mit Muttermilch**

Wie bereits in der Einleitung kurz umrissen wurde, werden dem Stillen eine Vielzahl von Vorteilen für die Gesundheit, als auch zur Prophylaxe verschiedenster Erkrankungen zugeschrieben, darunter ein reduziertes Risiko an Adipositas oder Diabetes mellitus zu erkranken [Agostoni et al. 2009; Horta et al. 2015].

Wie Agostoni et al. [2009] bemerkten, ist es bei den Vorteilen die man der Muttermilch zuschreibt schwierig, eindeutige kausale Verhältnisse zwischen Stillen und den Vorteilen für die Gesundheit des Säuglings festzumachen, da viele zusätzliche Faktoren diese beeinflussen und darauf einwirken [Agostoni et al. 2009]. Stillen bietet aber auch gesundheitliche Vorteile für die Mutter, beispielsweise bezüglich der Reduzierung des Risikos an Eierstock- oder Brustkrebs zu erkranken [Ip et al. 2007].

Frühes Stillen, rund eine Stunde nach der Geburt, schützt das Neugeborene vor Infektionen und senkt die Sterblichkeit der Neugeborenen. Die Sterblichkeit steigt bei jenen Säuglingen an, die entweder nur teilweise gestillt oder nicht gestillt werden. Darüber hinaus ist Muttermilch eine wichtige Energiequelle für kranke oder unterernährte Kinder [WHO 2015].

Die Empfehlungen für exklusives Stillen stützen sich auf die unterschiedlichen Auswirkungen auf die Gesundheit von Säuglingen, die entweder vier oder sechs Monate exklusiv gestillt wurden, in Hinblick auf Magen-Darm-Erkrankungen, Otitis media, Erkrankungen der Atemwege und atopische Erkrankungen. Die Inzidenz ist für Kinder, die für vier Monate exklusiv gestillt wurden, für untere Atemwegserkrankungen, Otitis media und Durchfallerkrankungen signifikant höher, als bei Kinder, die für sechs Monate exklusiv gestillt wurden. Vergleicht man die Kinder, die über sechs Monate

oder länger exklusiv gestillt wurden, mit jenen, die für vier bis sechs Monate exklusiv gestillt wurden, haben vier bis sechs Monate gestillte Kinder ein vierfach höheres Risiko an einer Pneumonie zu erkranken [AAP 2012] .

Es hat sich gezeigt, dass Säuglinge durch das Stillen einer Fülle von Bakterien ausgesetzt sind, die eine positive Wirkung auf verschiedenen Krankheiten ausüben können [Hunt et al. 2011].

Exklusives Stillen in den ersten vier bis sechs Monaten reduziert das Risiko von Infektionen um 40-70% und vermindert Krankenhausaufenthalte im ersten Lebensjahr um 50%. Das Risiko an Atemwegsinfekten zu erkranken wird durch Stillen um 70% gesenkt. Werden Säuglinge, die minimal empfohlenen vier Monate exklusiv gestillt, so können 56% der Krankenhausaufenthalte verhindert werden [BfR 2012].

In einer schottischen Kohortenstudie (1997-2009) wurde beobachtet, dass innerhalb des 1. Lebensjahres und darüber hinaus, ein größeres relatives Risiko für die Hospitalisierung von Formula ernährten Säuglingen bestand. Es wurde von einer Reihe von Krankheiten im Kindesalter berichtet, wie Erkrankungen des Magen-Darm-Traktes, der Atemwege, Harnwegsinfektionen, Mittelohrentzündungen, Fieber, Asthma, Diabetes mellitus und Karies [Ajetunmobi et al. 2015].

Folgend sollen die Vorteile des Stillens hinsichtlich Diabetes mellitus, Übergewicht, Intelligenz und Infektionen diskutiert werden:

### **Einfluss des Stillens auf das Risiko einen Diabetes mellitus zu entwickeln**

In der Meta-Analyse von Horta und Victora [2013], die 10 Studien inkludierte, wurden die langfristigen Folgen der Stilldauer in Hinblick auf das Diabetes mellitus Typ 2 Risiko beurteilt. Es konnte gezeigt werden, dass die schützende Wirkung des Stillens in Studien, in denen Jugendliche untersucht wurden höher war, als in Studien, in denen Erwachsene untersucht wurden. In einem Random-Effects-Modell konnte gezeigt werden, dass Personen, die gestillt wurden, eine geringere Wahrscheinlichkeit haben an Diabetes mellitus Typ 2 zu erkranken. Der Effekt des Stillens war in Studien, die den BMI (pooled odds ratio: 0.79) berücksichtigt haben, kleiner, was daraufhin deutet, dass Adipositas die Assoziation vermittelt [Horta und Victora 2013].

In der Studie von Sadauskaitė-Kuehne et al. [2004] wurden mehrere unabhängige Risikofaktoren kombiniert, um herauszufinden ob die Dauer des exklusiven und des allgemeinen Stillens Auswirkungen auf die Entwicklung von Diabetes hat. Dazu wurden die Daten von 517 Kindern aus Schweden und 286 Kindern aus Litauen mit Typ 1 Diabetes mit Kindern ohne Diabetes verglichen. Die Studie kam zu dem Ergebnis, dass längeres exklusives Stillen insgesamt als ein unabhängiger Schutzfaktor gegen Typ 1 Diabetes erscheint [Sadauskaite-Kuehne et al. 2004].

### **Einfluss des Stillens auf das Risiko übergewichtig zu werden**

Die Stillempfehlung der WHO scheint mit ihren Ansprüchen an den „Global Targets 2025“ anzuknüpfen, in denen sie einen weiteren Anstieg des Übergewichts bei Kindern entgegenwirken wollen, da zwischen 2000 und 2013 die Anzahl übergewichtiger Kinder dramatisch von 32 auf 42 Millionen angestiegen ist. Der Anstieg an Übergewicht erkrankter Kinder ist weltweit zu verzeichnen, besonders jedoch in Afrika und Asien [WHO 2014].

Horta et al. [2015] beobachteten eine Senkung des Risikos an Übergewicht zu erkranken bei Kindern und Jugendlichen als auch bei Erwachsenen. Die Senkung der Prävalenz war bei Kindern stärker, betrug aber auch bei den Erwachsenen noch 12%. Die Autoren verweisen darauf, dass nicht ausgeschlossen werden kann, dass noch weitere Störfaktoren existieren, die nicht erfasst wurden [Horta et al. 2015].

Oddy et al. [2014] widmeten sich der Auswertung der Daten der „Western Australian Pregnancy Cohort (Raine) Study“ hinsichtlich des Zusammenhangs zwischen Stillen und Adipositas bei Kindern und Erwachsenen. Die Arbeitsgruppe stellte fest, dass das Alter, in dem das Stillen beendet wurde und eine andere Milch als Muttermilch zugeführt wurde (Formulanahrung), eine signifikante Rolle für die BMI-Kurve von der Geburt bis zum Alter von 14 Jahren spielt. Das Beenden des Stillens vor dem vierten Monat steht im direkten Zusammenhang mit einem höheren BMI-Verlauf. Die Zufütterung einer anderen Milch, außer der Muttermilch, vor dem sechsten Lebensmonat im Vergleich zu mindestens sechs Monaten exklusiven Stillens stellt einen Risikofaktor für Übergewicht oder Fettleibigkeit im Alter von 20 Jahren dar [Oddy et al. 2014]. Oddy et al. [2014] schließen aus den Ergebnissen der Untersuchung, dass das exklusive Stillen zum Schutz vor Adipositas in der Kindheit, Jugend und im

Erwachsenenalter gefördert werden sollte. Laut Oddy et al. [2014] stimuliert Formulanahrung eine erhöhte postnatale Wachstumsgeschwindigkeit, während das Stillen ein langsames Wachstum fördert und die Wahrscheinlichkeit an Übergewicht zu erkranken dadurch reduziert [Oddy et al. 2014]. Auch die Studie von Assunção et al. [2015] konnte bei jenen Kindern, die sechs Monate oder mehr exklusiv gestillt wurden, eine niedrigere Prävalenz für Übergewicht feststellen [Assuncao et al. 2015]. In der Studie von Zheng et al. [2014] wurde festgestellt, dass Kinder, die für drei bis fünf Monate exklusiv gestillt wurden, ein 13% und Kinder, die über sechs Monate mit Muttermilch ernährt wurden, ein 27% geringeres Risiko haben übergewichtig zu werden, verglichen mit Kindern, die weniger als einen Monat exklusiv gestillt wurden. Ein Zusammenhang zwischen exklusivem Stillen von drei bis fünf Monaten oder über sechs Monate und der Entstehung von Übergewicht konnte jedoch nur bei den Jungen beobachtet werden. Dennoch wird angenommen, dass eine längere Stlldauer mit einem niedrigeren Risiko für Übergewicht assoziiert ist [Zheng et al. 2014].

### **Einfluss des Stillens auf die Intelligenz**

Mehrere Studien verweisen auf einen positiven Zusammenhang zwischen Stillen und erhöhtem IQ. Von einem kausalen Zusammenhang zu sprechen fällt hier jedoch aufgrund der vielzähligen möglichen Confounder schwer. Bei einem der wichtigsten diesbezüglichen Störgrößen dürfte es sich um den sozioökonomischen Status handeln. Eine zunehmende Stlldauer wird von positiver kognitiver Entwicklung begleitet [Anderson et al. 1999; Kramer et al. 2008; Daniels und Adair 2005].

### **Einfluss des Stillens auf Infektionsrisiken**

Die am häufigsten auftretenden Infektionen in den vergangenen Jahren waren nach Li et al. [2014] Erkältungen der oberen Atemwege (66%), Infektionen der Ohren (25%) und des Halses (24%). Kinder, die exklusiv für sechs Monate oder über neun Monate hinaus gestillt wurden, wiesen niedrigere Odds auf. Die prospektive Langzeitstudie von Li et al. [2014] weist darauf hin, dass Stillen möglicherweise über die Kindheit hinaus vor Ohr-, Rachen- und Nasennebenhöhleninfektionen schützen kann [Li et al. 2014]. Agostoni et al. [2009] weisen in ihrer Untersuchung auch darauf hin, dass Stillen eine präventive Wirkung gegen Infektionen aufweist und bezeichnen dies als den bei weitem wichtigsten Nutzen für die Gesundheit, vor allem in Entwicklungsländern. Ebenfalls stellt er bei gestillten Kindern ein weit geringeres Risiko an Magen-

Darminfektionen und Otitis Media fest, während die Wirkung des Stillens auf andere Infektionen der Atemwege eher zweifelhaft ist [Agostoni et al. 2009]. Das ausschließliche Stillen von Kinder in den ersten sechs Lebensmonaten führt zu weniger Infektionen, im Vergleich zu Kinder, die nur teilweise oder nicht gestillt wurden. Des Weiteren wurde festgestellt, dass längeres exklusives Stillen mit weniger Krankenhauseinweisungen für Infektionen im ersten Lebensjahr einhergeht [Ladomenou et al. 2010].

### **Abschließende Betrachtung der Vorteile der Muttermilch**

Stillen ist die natürlichste und sinnvollste Art und Weise sein Kind zu ernähren. Abgesehen davon, dass diese nicht extra zubereitet werden muss, besitzt sie auch die ideale Temperatur für den Säugling. All diese natürlichen Selbstverständlichkeiten fallen bei der Zubereitung der Formulanahrung nicht an. Auch dass die Entwicklung der Muttermilch (Laktatphasen, Vorder- und Hintermilch, etc.) natürlich auf den Bedarf des Kindes abgestimmt ist, sofern keine Vorerkrankungen oder sonstige Beeinträchtigungen vorhanden sind, ist von Bedeutung. Aufgrund dieser optimalen Anpassung und der zahlreichen gesundheitlichen Vorteile, wie dem Schutz vor Infektionen und nichtübertragbaren Krankheiten im späteren Leben ist klar, dass Muttermilch nicht durch Formulaernährung ersetzt werden kann. Natürlich stellt die Formulanahrung einen Ersatz dar, vor allem für Mütter, die Schwierigkeiten beim Stillen haben, oder denen es gänzlich unmöglich ist.

Mitunter empfehlen Agostoni et al. [2009], dass es sich beim exklusiven Stillen für sechs Monate um ein wertvolles Ziel handelt, ebenso wie teilweises Stillen oder Stillen für einen kürzeren Zeitraum. Die Weiterführung des Stillens nach der Beikost ist ebenfalls erstrebenswert, so lange dies von Mutter und Kind gegenseitig erwünscht ist [Agostoni et al. 2009].

Auch Chichlowski et al. [2011] verweisen auf die Einzigartigkeit von Muttermilch, die sich durch die Evolution hindurch so geformt hat, die nicht ausschließlich der Ernährung, sondern auch zum Schutz des Säuglings dient. Als Ergebnis dieser evolutionären Leistung ist es unwahrscheinlich, dass die Muttermilch überschüssige Inhaltsstoffe besitzt, von dem das Kind nicht profitieren würde, da dieser zur Lasten der Mutter erzeugt werden müsste [Chichlowski et al. 2011].

#### **2.1.4. Die Rolle der „Human Milk Oligosaccharides“ in der Ernährung des Säuglings**

HMOs weisen positive Funktionen vor allem im Dickdarm auf, daher werden Formulanahrungen mitunter aufgrund der ihnen zugeschriebenen präbiotischen Effekte mit Oligosacchariden angereichert.

Oligosaccharide sind Kohlenhydrate, die aus 3-10 Monosaccharid-Einheiten bestehen und nach Laktose und Lipiden, die dritte Hauptkomponente der Muttermilch bilden [Coppa et al. 2006].

Muttermilch enthält höhere Mengen und komplexe Strukturen von löslichen Oligosacchariden als jede andere Art von Milch. Die durchschnittlichen Mengen liegen zwischen 7 g/l in der reifen Muttermilch und 23 g/l im Kolostrum [Smilowitz et al. 2014]. HMOs umfassen fast 200 Strukturen, die durch das Darmgewebe nicht aufgenommen werden und keinen Nährwert für den gestillten Säugling haben [Hennet et al. 2014].

Frühere Studien, die um 1930 herum durchgeführt wurden, haben den HMOs aufgrund ihrer stimulierenden Wirkungen auf das Wachstum einer spezifischen intestinalen Mikrobiota, eine präbiotische Wirkung zugeschrieben [Hennet et al. 2014]. Obwohl die Funktionen der HMOs noch nicht vollständig geklärt sind, wird ihnen eine wichtige Rolle bei der Entwicklung des Immunsystems, bei der Prävention pathogener Infektionen und bei der Ausbildung der bifidogenen Mikrobiota im Gastrointestinaltrakt des Säuglings zugeschrieben [Ferdouse und Monirujjaman 2010]. In der Studie von Ward et al. [2006] konnte gezeigt werden, dass das *Bifidobacterium infantis* HMOs fermentieren konnte, während *Lactobacillus gasseri* dazu nicht in der Lage war. Die Ergebnisse dieser Studie unterstützen die Hypothese, dass HMOs im kindlichen Darm das Wachstum bestimmter Bakterienpopulationen verstärken [Ward et al. 2006]. Oligosaccharide stellen zweifellos die wichtigsten Substanzen dar, die in der Lage sind eine Bifidobakterien-dominante Mikroflora bei Säuglingen zu fördern [Coppa et al. 2006].

Ein Mechanismus, durch den HMOs den Säugling vor Magen-Darm-Infektionen schützen kann, ist, dass die HMOs als Rezeptoren für Pathogene fungieren. Ein

entscheidender Schritt bei der Initiation der Infektion liegt in der Verankerung von Pathogenen an den Kohlenhydraten in den intestinalen Epithelzellen. HMOs hemmen diesen Prozess, da sie aufgrund der Beschaffenheit ihrer Zelloberfläche analog der Kohlenhydrate sind. Die Pathogene binden an die HMOs und die Bakterien werden dadurch in der Schleimhaut verankert und verhindern so die Adhäsion an den Epithelzellen. Einmal gebunden können die Pathogene harmlos aus dem Magen-Darm-Trakt ausgeschieden werden [Andreas et al. 2015].

In der Studie von Morrow et al. [2004] wurde der Zusammenhang zwischen dem Gehalt an 2-gebundenen fucosylierten Oligosacchariden in der Muttermilch und der Prävention von Diarrhoe als Folge von Campylobacter, Calicivirus und Diarrhoe aller Ursachen bei gestillten Säuglingen untersucht. Es konnte festgestellt werden, dass bei Säuglingen, deren Mütter hohe Gehalte an 2-gebundenen fucosylierten Oligosacchariden in ihrer Muttermilch enthielten, weniger häufig moderate bis schwere Durchfälle aufgetreten sind ( $p=0.001$ ). Auch Durchfälle, die durch Campylobacter oder den Calicivirus verursacht wurden, traten weniger häufig bei gestillten Säuglingen auf. Die Studie lieferte Hinweise darauf, dass HMOs in der Muttermilch klinisch relevant sind und Säuglinge vor Durchfällen schützen können [Morrow et al. 2004].

## **2.2. Formulanahrung**

Für Mütter, die nicht stillen können oder sich gegen das Stillen entschieden haben, stellt Säuglingsanfangs- und Folgenahrung eine gesunde Alternative dar, um den Säugling mit den benötigten Nährstoffen für optimales Wachstum und Entwicklung zu versorgen.

Definition Säuglingsanfangsnahrung:

„Säuglingsanfangsnahrung': Lebensmittel, die für die besondere Ernährung von Säuglingen während der ersten Lebensmonate bestimmt sind und für sich allein den Ernährungserfordernissen dieser Säuglinge bis zur Einführung angemessener Beikost entsprechen;“ [RIS 2016, BGBl. II Nr. 109/2014]

Definition Folgenahrung:

„Folgenahrung’: Lebensmittel, die für die besondere Ernährung von Säuglingen ab Einführung einer angemessenen Beikost bestimmt sind und den größten flüssigen Anteil einer nach und nach abwechslungsreicheren Kost für diese Säuglinge darstellen“ [RIS 2016, BGBl. II Nr. 109/2014]

### **2.2.1. Zusammensetzung von Formulanahrung**

Die Zusammensetzung der Formulanahrung wird durch die Rechtsvorschrift für „Säuglingsanfangs- und Folgenahrung“ geregelt [RIS 2016, BGBl. II Nr. 109/2014].

Der Energiegehalt in Säuglingsanfangsnahrung darf pro 100 ml nicht weniger als 60 kcal (250 kJ) und nicht mehr als 70 kcal (295 kJ) betragen [RIS 2016, BGBl. II Nr. 109/2014].

Die empfohlene Zusammensetzung der Hauptnährstoffe für Proteine, Lipide und Kohlenhydrate für Säuglingsanfangs- und Folgenahrung wird nachfolgend beschrieben:

#### **Proteine**

Die Basis für Säuglingsanfangsnahrungen sind Kuhmilch- oder Ziegenmilchproteine, Proteinhydrolysate und Sojaproteinisolate. Der Eiweißgehalt auf Basis von Kuh- oder Ziegenmilchproteinen und Proteinhydrolysaten liegt zwischen 1,8-3 g/100 kcal und zwischen 2,25-3 g/100 kcal auf Basis von Sojaproteinisolaten. Folgenahrungen auf der Basis von Kuhmilch- oder Ziegenmilchproteinen, als auch auf der Basis von Proteinhydrolysaten weisen einen Eiweißanteil zwischen 1,8-3,5 g/100 kcal und auf Basis von Sojaproteinisolaten, pur oder in einer Mischung mit Kuhmilch- oder Ziegenmilchproteinen zwischen 2,25-3,5 g/100 kcal auf [RIS 2016, BGBl. II Nr. 109/2014].

#### **Lipide**

Der empfohlene Gesamtfettgehalt für Säuglingsanfangsnahrungen liegt zwischen 4,4-6 g/100 kcal und für Folgenahrungen zwischen 4,0-6,0 g/100 kcal [RIS 2016, BGBl. II Nr. 109/2014].



### **Essentielle Fettsäuren**

Ein Linolsäuregehalt von 300 mg/100 kcal genügt, um den Mindestbedarf an Linolsäure zu decken [RIS 2016, BGBl. II Nr. 109/2014]. Der Maximalwert für den Gehalt an Linolsäure wurde mit 1200 mg/100 kcal festgelegt, da eine zu hohe Aufnahme unerwünschte Auswirkungen auf den Lipoproteinstoffwechsel, die Immunfunktion, das Eicosanoid-Gleichgewicht und den oxidativen Stress haben kann [Koletzko et al. 2005].

Die Omega-3-Fettsäure Alpha-Linolensäure ist eine unverzichtbare Fettsäure und dient als Vorstufe für die Synthese von Docosahexaensäure, deren Verfügbarkeit mit der Entwicklung des Kindes in Zusammenhang gebracht wird. Unter bestimmten Umständen kann jedoch eine hohe Aufnahme an Alpha-Linolensäure das Risiko der Lipidperoxidation, sowie den Verderbs des Produkts erhöhen und möglicherweise die Stabilität der Formula negativ beeinflussen [Koletzko et al. 2005]. Für den Alpha-Linolensäure-Gehalt in Säuglingsanfangsnahrungen und Folgenahrungen wurde ein Gehalt von mindestens 50 mg/100 kcal festgelegt [RIS 2016, BGBl. II Nr. 109/2014].

### **Laurin- und Myristinsäure**

Aufgrund der möglichen negativen Auswirkungen der Laurin- und Myristinsäure auf das Serumcholesterin und der Lipoprotein-Konzentrationen (LDL, HDL und Apolipoprotein A), sollte deren Gehalt in Säuglingsanfangsnahrungen und Folgenahrungen nicht mehr als 20% des Gesamtfettgehalts überschreiten [RIS 2016, BGBl. II Nr. 109/2014; Koletzko et al. 2005; Zock et al. 1994].

### **Trans-Fettsäuren und Erucasäure**

Der Gehalt an trans-Fettsäuren in Säuglingsanfangs- und Folgenahrungen darf nicht über 3% und der Gehalt an Erucasäure nicht über 1% des gesamten Fettgehalts liegen.

### **Kohlenhydrate**

Kohlenhydrate sind eine wesentliche Energiequelle für Säuglinge, ihr Gehalt wurde für Säuglingsanfangs- und Folgenahrung mit einem Gehalt von 9-14 g/100 kcal festgelegt. Es dürfen nur folgende Kohlenhydrate verwendet werden:

- Laktose
- Maltose
- Saccharose
- Glucose
- Malto-Dextrine
- Glucosesirup oder getrockneter Glucosesirup
- vorgekochte Stärke (von Natur aus glutenfrei)
- gelatinierte Stärke (von Natur aus glutenfrei) [RIS 2016, BGBl. II Nr. 109/2014]

### **Laktose**

Für die Zugabe von Laktose wurde ein Mindestgehalt von 4,5 g/ 100 kcal festgelegt, ausgenommen sind Säuglingsanfangs- und Folgenahrungen bei denen der Anteil an Sojaproteinisolaten mehr als 50% des Gesamtproteingehalts beträgt [RIS 2016, BGBl. II Nr. 109/2014]. Laktose ist das dominierende, verdauliche Kohlenhydrat in Muttermilch, welches etwa 40% der Energie liefert. Laktose werden nützliche Effekte für die Darmphysiologie, wie der präbiotischen Wirkung, der Erweichung des Stuhls sowie eine Erhöhung der Absorption von Wasser, Natrium und Calcium, zugeschrieben [Koletzko et al. 2005].

### **Glucose**

Der Zusatz von Glucose darf den Gehalt von 2 g/100 kcal nicht übersteigen [RIS 2016, BGBl. II Nr. 109/2014]. Die Zugabe von Glucose in Säuglingsnahrungen würde zu einem deutlichen Anstieg der Osmolarität führen, welche nicht wünschenswert ist, da diese zu unerwünschten Effekten beim Säugling führen kann, unter anderem zu einer veränderten Nährstoffaufnahme, hypertoner Dehydration, Diarrhoe, Darmischämie, sowie zu schweren Magen-Darm-Anomalien. Daher wird die Zugabe von Glucose in Säuglingsnahrungen nicht empfohlen [Koletzko et al. 2005; Curria und Peterson 2011].

### **Fructo-Oligosaccharide und Galacto-Oligosaccharide**

Fructo-Oligosaccharide und Galacto-Oligosaccharide dürfen in Formulanahrungen zugesetzt werden, jedoch darf deren Anteil 0,8 g/100 ml in einer Kombination aus 90% Oligogalactosyl-Lactose und 10% Oligofructosyl-Saccharose mit hohem Molekulargewicht nicht übersteigen [RIS 2016, BGBl. II Nr. 109/2014].

## **Vitamine**

Der Mindest- und Höchstgehalt für fett- und wasserlösliche Vitamine in Säuglings- und Folgenahrungen ist gesetzlich geregelt und soll für ein optimales Wachstum und Entwicklung des Säuglings sorgen [RIS 2016, BGBl. II Nr. 109/2014] [Koletzko et al. 2005].

## **Mineralstoffe**

Für den Zusatz von Mineralstoffen in Formulanahrungen wurden ebenfalls Mindest- und Höchstgehalte festgelegt. Bei den Anforderungen für die Mineralstoffe Eisen und Phosphor gibt es jedoch Unterschiede bei den Mindest- und Höchstgehalten bei Säuglingsanfangs- und Folgenahrungen auf Basis von Kuhmilch- oder Ziegenmilchproteinen oder Proteinhydrolysaten und denen auf Basis von Sojaproteinisolaten, pur oder als Mischung mit Kuhmilch- oder Ziegenmilchproteine [RIS 2016, BGBl. II Nr. 109/2014]. Die Unterschiede, für den Zusatz von Mineralstoffen, basieren aufgrund des Phytatgehalts in Säuglingsnahrungen auf Basis von Sojaprotein, da dieser die Verfügbarkeit von Eisen und Phosphor vermindert [BfR 2007].

### **2.2.2. Anpassungsmöglichkeiten der Formulanahrung an Muttermilch**

Es wird versucht verschiedenste Vorteile der Muttermilch auch in die Formulanahrung zu integrieren. Dabei lassen sich zwei Arten unterscheiden: Die Hersteller der Formulanahrung orientieren sich einerseits an der Zusammensetzung der Muttermilch, andererseits dient die Komposition der Darmflora gestillter Säuglinge als Vorbild. Letztere soll durch die Inhaltsstoffe der Formulanahrung erreicht werden.

Diese Versuche können nur als Annäherung verstanden werden, da sowohl die Komplexität der Zusammensetzung der Muttermilch, deren sensible Abhängigkeit zwischen Mutter und Kind, als auch jener der Muttermilch von äußeren und zeitlichen Faktoren und die Variabilität und Anpassungsfähigkeit der Milchproduktion, nicht durch eine inhaltliche Zusammensetzung erreicht werden kann.

Die Oligosaccharide dürften hierbei von zentraler Bedeutung sein, da sie sowohl Teil der Inhaltsstoffe der Muttermilch sind, als auch wie gezeigt werden konnte einen erheblichen Einfluss auf die Zusammensetzung der Mikrobiota des Säuglings haben.

Mehrere Studien konnten den positiven Einfluss von Oligosacchariden in Formulanahrungen auf die Darmflora, insbesondere auf die Anzahl der Laktobazillen und Bifidobakterien des Säuglings, zeigen [Knol et al. 2005], [Scholtens et al. 2008], [Sierra et al. 2015]. In der Studie von Moro et al. [2005] wurde der Einfluss einer supplementierten Formulanahrung mit einem Gehalt von 0,8g/dl Oligosacchariden (GOS+FOS) und einer Kontrollformula untersucht. Nach 28 Tagen war die Zahl der Bifidobakterien in der Gruppe der Formulanahrung mit Oligosacchariden signifikant höher im Vergleich zur Placebogruppe [Moro et al. 2005]. In einer weiteren Studie wurde festgestellt, dass der positive Effekt auf die Erhöhung der Bifidobakterien und Laktobazillen durch den Zusatz einer Mischung aus Galacto- und Fructooligosacchariden in Formulanahrung dosisabhängig war und der Stuhlcharakteristik von gestillten Säuglingen ähnlich war [Moro et al. 2003]. Die Zugabe von bestimmten Oligosacchariden in Säuglingsnahrungen bringt Formulanahrung einen Schritt an den Goldstandard – Muttermilch – näher heran. Obwohl es unmöglich scheint die Komplexität der menschlichen Physiologie zu imitieren, so scheint es, dass die positiven gesundheitlichen Auswirkungen von Oligosacchariden in der Muttermilch nachgeahmt werden können [Vandenplas 2002].

### **2.3. Besiedelung der Darmflora**

Unter normalen Umständen ist der Magen-Darmtrakt bei der Geburt steril [Coppa et al. 2011]. Der natürliche Prozess der bakteriellen Besiedelung des Darms beginnt schrittweise in drei Phasen: durch den Geburtsvorgang, das Stillen und die Entwöhnung [Penders et al. 2006; Sherman et al. 2009]. Eine Vielfalt an Faktoren können die bakterielle Besiedelung des Darms beeinflussen. Dazu zählen der Geburtsvorgang (vaginal oder chirurgisch), die Art der Säuglingsnahrung (Stillen vs. Formula), das Gestationsalter, der Einsatz von Antibiotika, Hospitalisierung und Infektionen oder Krankheiten der Mutter [Marques et al. 2010].

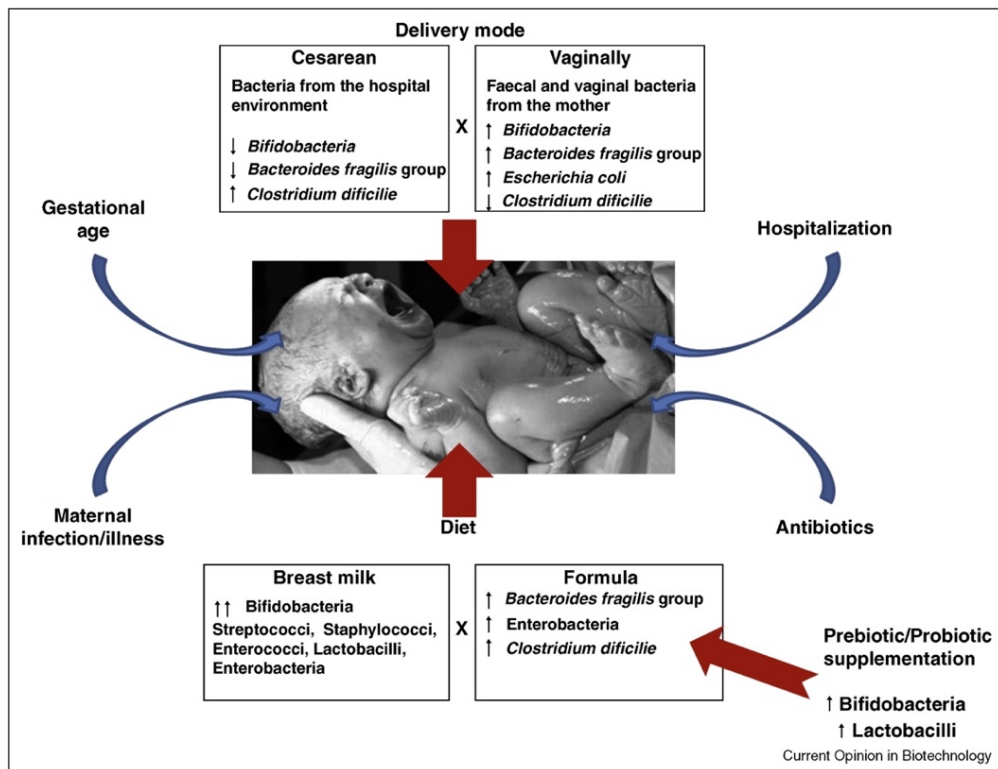


Abbildung 1: Faktoren, die auf die Zusammensetzung der kindlichen Darmflora wirken, und Unterschiede der bakteriellen Kolonisierung beeinflusst durch Geburtsvorgang und Ernährung [Marques et al. 2010]

Erst im Alter zwischen 18 Monaten [Rubaltelli et al. 1998; Harmsen et al. 2000b; Palmer et al. 2007] und 36 Monaten [Koenig et al. 2011; Weng und Walker 2013] wird der Prozess der Besiedelung der Darmflora als abgeschlossen betrachtet. Die Darmflora von gestillten Kindern wird von der vorherrschenden Ernährung durch Muttermilch moduliert [Chichlowski et al. 2011].

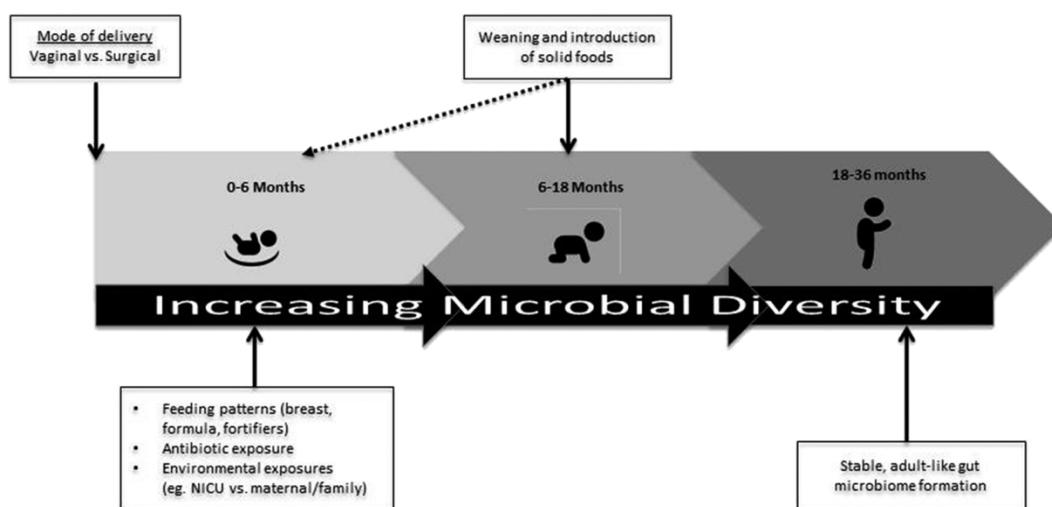


Abbildung 2: Zeitlinie von Faktoren, welche die Entwicklung der kindlichen Darmflora von Geburt bis zum 3. Lebensjahr beeinflussen [Yang et al. 2016]

Cooperstock und Zedd unterteilen die Entwicklung der Darmflora des Säuglings in 4 Phasen. Phase 1 ist die Aquisitionsphase über die ersten 1-2 Wochen, Phase 2 ist die des alleinigen Stillens, Phase 3 ist die Zeit zwischen dem Beginn der Beikost und der Entwöhnung des Stillens und Phase 4 ist die Umstellung auf ein Biotamuster des Erwachsenen, die nach dem Abschluss der Entwöhnung beginnt [Mackie et al. 1999].

Der menschliche Körper ist Gastgeber für Millionen von Mikroorganismen, die auf und in uns und in Synergie mit unseren Zellen im Verlauf unseres Lebens und über Generationen hinweg leben. Diese Symbiose steht in Zusammenhang mit der Gesundheit. Obwohl sich eine große Zahl dieser Mikroorganismen auf der Haut, im Mund und im Urogenitaltrakt befindet, sind diejenigen im Darm am vielfältigsten und häufigsten und sehr gut untersucht. Ab der Geburt besitzt die Darmflora drei wesentliche Funktionen: eine schützende, eine metabolische und eine trophische [Guarner und Malagelada 2003; Yang et al. 2016].

Einerseits wirken die Mikroorganismen der Darmflora als Barriere gegen die Ausbreitung pathogener Organismen. Andererseits spielen sie eine wichtige Rolle bei der Verdauung und beim Stoffwechsel des Kolostrums, der Muttermilch, der Formula- und Entwöhnungsnahrung bei Säuglingen und natürlich bei einer Vielzahl von Lebensmitteln bei Erwachsenen. Hier dienen sie unter anderem zum Abbau diverser Giftstoffe und Arzneimittel, tragen zur Vitamin-Synthese und der Ionenaufnahme bei [Yang et al. 2016].

Die nachfolgende Tabelle bietet einen Überblick über die Stämme und deren Funktionen im menschlichen Darm.

| Stamm                 | Gattung                                                          | Funktion                                                                               |
|-----------------------|------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>Firmicutes</b>     | <i>Clostridium</i>                                               | Schützt das                                                                            |
|                       | <i>Lactobacillus</i>                                             | Oberflächengewebe des Darms; Fermentation von Kohlenhydraten und Aminosäuren           |
|                       | <i>Eubacterium, Staphylococcus, Ruminococcus, Streptococcus,</i> | Fermentation von Kohlenhydraten; Hemmung des Wachstums von Pathogenen; Antidiarrhöisch |
|                       | <i>Enterococcus</i>                                              | Fermentation von Kohlenhydraten                                                        |
| <b>Bacteroidetes</b>  | <i>Bacteroides</i>                                               | Fermentation von Kohlenhydraten und Aminosäuren; Immunregulation                       |
| <b>Actinobacteria</b> | <i>Bifidobacterium</i>                                           | Fermentation von Kohlenhydraten; binden und hemmen das Wachstum von Pathogenen;        |
| <b>Proteobacteria</b> | <i>Escherichia</i>                                               | Vitamin K Synthese                                                                     |
| <b>Fusobacteria</b>   | <i>Fusobacterium</i>                                             |                                                                                        |

Tabelle 2: Gattungen und Funktionen von Bakterienstämmen im menschlichen Darm (mod. nach [Martin und Sela 2013])

Nach der vollständigen Besiedelung des Darms (also einen Zeitraum zwischen 18 Monaten und 3 Jahren) wird die Immunhomöostase erreicht. Bei einem gesunden Individuum befindet sich der Darm im Zustand der Eubiose (einem mikrobiellen Gleichgewicht zwischen Wirtsorganismus und Erregern). Eine unzureichende Besiedelung in dieser frühen Phase kann zur Dysbiose führen (ein Ungleichgewicht zwischen kommensalen und pathogenen Organismen), welche in weiterer Folge zu einer erhöhten Anfälligkeit für eine Vielzahl von krankheitserregenden Zuständen, die im Zusammenhang mit dem Immunsystem stehen, führen und weitere metabolische oder immunologische Auswirkungen zur Folge haben kann [Yang et al. 2016].

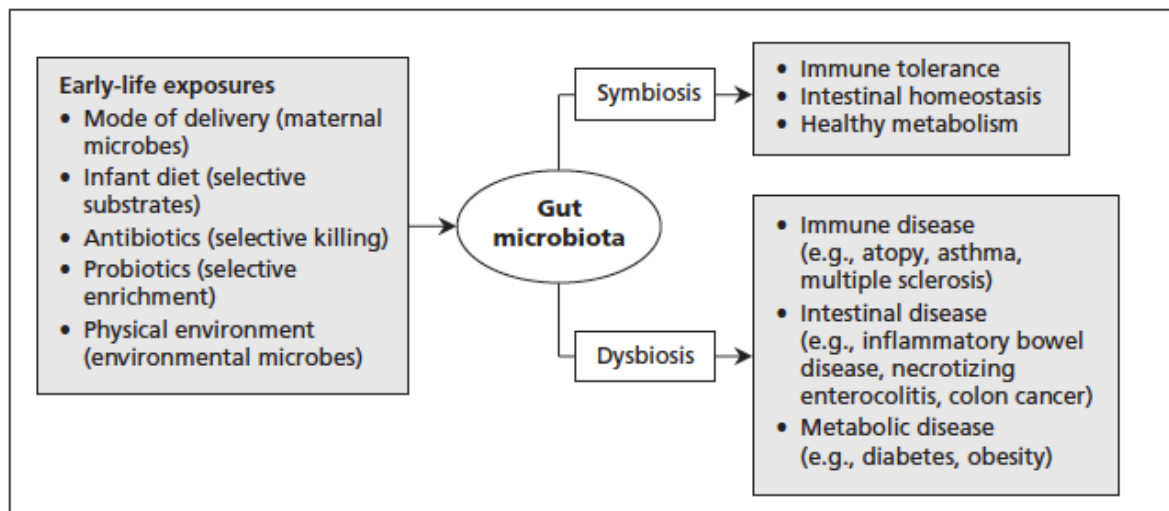


Abbildung 3: Der Einfluss frühkindlicher Expositionen (Geburt, Säuglingsernährung, Antibiotika – und Probiotikagabe) auf die Besiedelung der Darm-Mikrobiota [Azad et al. 2013]

In dieser Hinsicht könnte der Darm als Schnittstelle zwischen externen und internen Umgebungsfaktoren, einschließlich Ernährung und Stress, der Gesundheit und der Entwicklung betrachtet werden [Grenham et al. 2011; Yang et al. 2016].

Die HMOs erfüllen eine wichtige präbiotische Funktion, indem sie die Besiedelung der Darmflora fördern. Mit der Verfügbarkeit von Sauerstoff beginnt die Besiedelung des Darms durch aerobe Mikroben. Sobald Sauerstoff verbraucht wird verändert sich die Mikrobiota hin zu anaeroben Spezies. Die wichtigste Art stellen Bifidobakterien dar, neben den Bacteroiden und Clostridien die sich ebenfalls, wenn auch in weitaus geringer Zahl, in der Darmflora befinden [Adlerberth 2008]. Eine Reihe von Studien hat gezeigt, dass Bifidobakterien in gestillten Kindern im Vergleich zu Erwachsenen überrepräsentiert sind [Favier et al. 2003; Harmsen et al. 2000a; Mariat et al. 2009; Penders et al. 2006].

Die stärksten Veränderungen hinsichtlich der Zusammensetzung der Darmflora beginnen während des ersten Lebensjahres mit der raschen mikrobiellen Besiedelung des gastrointestinalen Trakts des Neugeborenen [Palmer et al. 2007]. Forschungsergebnisse zeigen auf, dass die individuelle Zusammensetzung des Mikrobioms von Kind zu Kind stark variiert [Palmer et al. 2007; Stark und Lee 1982]. Die Ernährung des Neugeborenen stellt einen wesentlichen extrinsischen Faktor bezüglich der Entstehung der Mikrobiota dar [Fanaro et al. 2003].



## **2.4. Stillen versus Formulanahrung in Hinblick auf die Darm-Mikrobiota**

Muttermilch stellt eine komplexe und dynamische Zusammensetzung dar, welche durch das Gestationsalter bei der Geburt, der Laktationsperiode und der Ernährung der Mutter beeinflusst wird. Die Zusammensetzung von Muttermilch unterscheidet sich von der von Formulanahrung hinsichtlich der Nährstoffkonzentrationen und durch die ausschließliche Anwesenheit von Wachstumsfaktoren, Cytokinen, Immunoglobulinen und Verdauungsenzymen in Muttermilch [Guaraldi und Salvatori 2012].

Die Entstehung der kindlichen Darmflora wird durch viele Faktoren beeinflusst, wobei die Art der Säuglingsnahrung einen der wichtigsten Einflussfaktoren darstellt [Fan et al. 2013].

Die ersten 1-2 Lebenswochen werden als Anfangsphase der bakteriellen Besiedelung betrachtet, während verschiedene Bakterien den kindlichen Gastrointestinaltrakt durchqueren und im Stuhl gefunden werden können. Während dieser Zeit besiedeln fakultativ anaerobe Bakterien wie z.B. *Escherichia coli* und Streptokokken den Darm. In der nächsten Stufe werden anaerobe Bakterien wie Bifidobakterien, *Bacteroides* und Clostridien im kindlichen Stuhl gefunden [Satokari et al. 2002].

Es konnte gezeigt werden, dass Formula ernährte Säuglinge im Vergleich zu gestillten Säuglingen eine vielfältigere Darmflora aufweisen [Fan et al. 2013] [Bezirtzoglou et al. 2011], hingegen das Stillen zu einem stabileren Kolonisierungsmuster führt [Fan et al. 2013]. Studien haben gezeigt, dass Säuglinge, die exklusiv mit Formula ernährt wurden, viel häufiger mit *E. coli*, *C. difficile*, *Bacteroides* und Laktobazillen im Vergleich zu gestillten Kindern kolonisiert sind [Penders et al. 2005; Penders et al. 2006]. Eine Studie die teilweise zu gegensätzlichen Ergebnissen kam ist die von Harmsen et al. [2000a], in welcher der Stuhl von sechs gestillten und sechs nicht gestillten Kindern untersucht wurde. In gestillten Kindern waren die Bifidobakterien die dominante Bakterienspezies, hingegen wies die Darmflora nicht gestillter Säuglinge ähnliche Mengen an *Bacteroides* und Bifidobakterien auf. Unter jenen Bakterien, die einen geringeren Anteil in den Stuhlproben ausmachten, waren bei den gestillten Kindern Laktobazillen und Streptokokken, bei den Formula ernährten Säuglingen Staphylokokken, *E. coli* und Clostridien [Harmsen et al. 2000a].

Enterococcus und Enterobacteriaceae, insbesondere Klebsiella und Enterobacter tendieren dazu häufiger bei nicht gestillten vorzukommen, während Staphylokokken dazu tendieren zahlreicher bei gestillten Säuglingen vorzukommen [Adlerberth und Wold 2009; Balmer et al. 1994].

In vielen Studien, die kultivierende und molekulare Methoden nutzten, konnte gezeigt werden, dass Bifidobakterien die am stärksten vertretene Spezies sowohl bei gestillten als auch formulaernährten Säuglingen war [Balmer und Wharton 1989; Fallani et al. 2011; Fanaro et al. 2003; Penders et al. 2005; Bezirtzoglou et al. 2011]. In der Studie von Bezirtzoglou et al. [2011] wurde gegenteilig festgestellt, dass gestillte Säuglinge um mehr als das Zweifache an der Zahl der Bifidobakterien-Zellen beherbergen, verglichen mit Säuglingen, die Formulanahrung erhielten [Bezirtzoglou et al. 2011].

Unter den Bifidobakterien sind *B. infantis*, *B. breve*, *B. adolescentis*, *B. longum* und *B. bifidum* typisch für gestillte Kinder, und *B. longum* ist höher bei Formula ernährten Säuglingen [O'Sullivan et al. 2015].

Die intestinale Mikrobiota nicht gestillter Säuglinge die eine Formulanahrung erhalten, ähnelt in Hinblick auf die Bifidobakterien einer Erwachsenen Darmflora [Haarman und Knol 2005].

Es wird angenommen, dass die Kolonisierung der Bifidobakterien und Bacteroides durch die Anwesenheit der in der Muttermilch enthaltenen Oligosaccharide stimuliert wird. Säuglingen fehlen die Enzyme die notwendig sind, um diese Oligosaccharide zu verdauen, wodurch diese in den unteren Darmtrakt gelangen und dort durch ihre Stimulierung des Wachstums der Bifidobakterien und Bacteroides die Funktion als Präbiotikum ausüben [Yang et al. 2016].

Nach der Einführung von fester Nahrung und der Entwöhnung gehen die Unterschiede zwischen gestillten und nicht gestillten Säuglingen verloren und die Mikrobiota ähnelt in ihrer Zahl und Zusammensetzung der eines Erwachsenen um das zweite Lebensjahr herum [Mackie et al. 1999; Stark und Lee 1982].

### 3. Empirischer Teil

#### 3.1. Durchführung der Meta-Analyse

##### 3.1.1. Hypothese

Die vorliegende Arbeit befasst sich mit der folgenden Hypothese:

Stillen hat im Gegensatz zu Formulanahrung einen positiveren Effekt auf die Darm-Mikrobiota

##### 3.1.2. Methodik

Der Schwerpunkt liegt darauf, welchen Einfluss die Art der Ernährung des Säuglings, Stillen versus Formulanahrung, auf die Darmflora mit dem Fokus auf Laktobazillen, Bifidobakterien und Bacteroides hat.

##### 3.1.2.1. Systematik der Literaturrecherche

Die Literaturrecherche erfolgte von August bis Oktober 2015 in den Online-Datenbanken Embase, Scopus und PubMed. Des Weiteren wurden die Bibliotheksdatenbanken der Fachbereichsbibliothek für Pharmazie und Ernährungswissenschaften sowie der Medizinischen Universität in die Literatursuche miteinbezogen.

Folgende Schlagworte wurden für die Literatursuche verwendet:

- „prospective“ OR „follow-up“ OR „cohort“ OR „randomized controlled trial“ OR „case-control“ **AND**
- „breastfeed“ OR „breast-feed“ OR „breast-fed“ OR „breastfeeding“ OR „breast feeding“ OR „breast milk“ **AND**
- „infant formula“ OR „formula feeding“ OR „formula-fed“ OR „formula feed“ OR „bottle feeding“ OR „bottle feed“ OR „bottle-fed“ **AND**
- „gut flora“ OR „intestinal flora“ OR „intestinal microbiota“ OR „gut microbiota“ OR „faecal flora“ OR „fecal flora“

### **3.1.2.2. Ein- und Ausschlusskriterien**

Es wurden folgende Kriterien definiert:

#### **Einschlusskriterien:**

- randomisierte kontrollierte Studie
- Kohortenstudie
- Fall-Kontroll Studie
- Alter: 0-12 Monate
- Reifgeboren: 37 vollendete bis < 42. SSW
- Geburtsgewicht: 2500 – 4500 g

#### **Ausschlusskriterien:**

- Meta-Analyse
- Frühgeborene
- Probanden mit gesundheitlichen Einschränkungen
- Studien, deren Outcomes in keinem Zusammenhang mit der Besiedelung der Darmflora und der Art der Ernährung des Säuglings stehen

### **3.1.2.3. Datenextraktion / Review Manager**

Für die statistische Analyse der Studien wurde der Review Manager der Cochrane Collaboration herangezogen. Es wurden die mean  $\pm$  SD Daten, der für die Meta-Analyse infrage kommenden Studien, in die Software eingetragen. Als Studienoutcome wurde die Mikrobiota definiert. Es wurde untersucht inwieweit sich die Darm-Mikrobiota, in Hinblick auf die Besiedelung mit Laktobazillen, Bifidobakterien und Bacteroides, zwischen gestillten und mit Formulanahrung ernährten Säuglingen unterscheidet. Die Beurteilung der Qualität der einzelnen Studien wurde mit dem „Cochrane tool for assessing risk of bias“ der Cochrane Collaboration durchgeführt. Die Studien wurden anhand von sieben Kriterien (random sequence generation, allocation concealment, blinding of participants and personnel, blinding of outcome

assessment, incomplete outcome data, selective reporting and other bias) mit hohem, niedrigem oder unklarem Risiko bewertet [Higgins und Green 2011].

## **3.2. Ergebnisse der Literaturrecherche und Diskussion**

### **3.2.1. Studienauswahl**

Nach dem Abschluss der Literaturrecherche ergaben sich 13199 mögliche Studien für die Meta-Analyse. Anschließend wurden die Duplikate aussortiert und die Studien nach den Ein- und Ausschlusskriterien beurteilt.

Der folgende Flow Chart bietet eine Übersicht über die Systematik der Literaturrecherche.

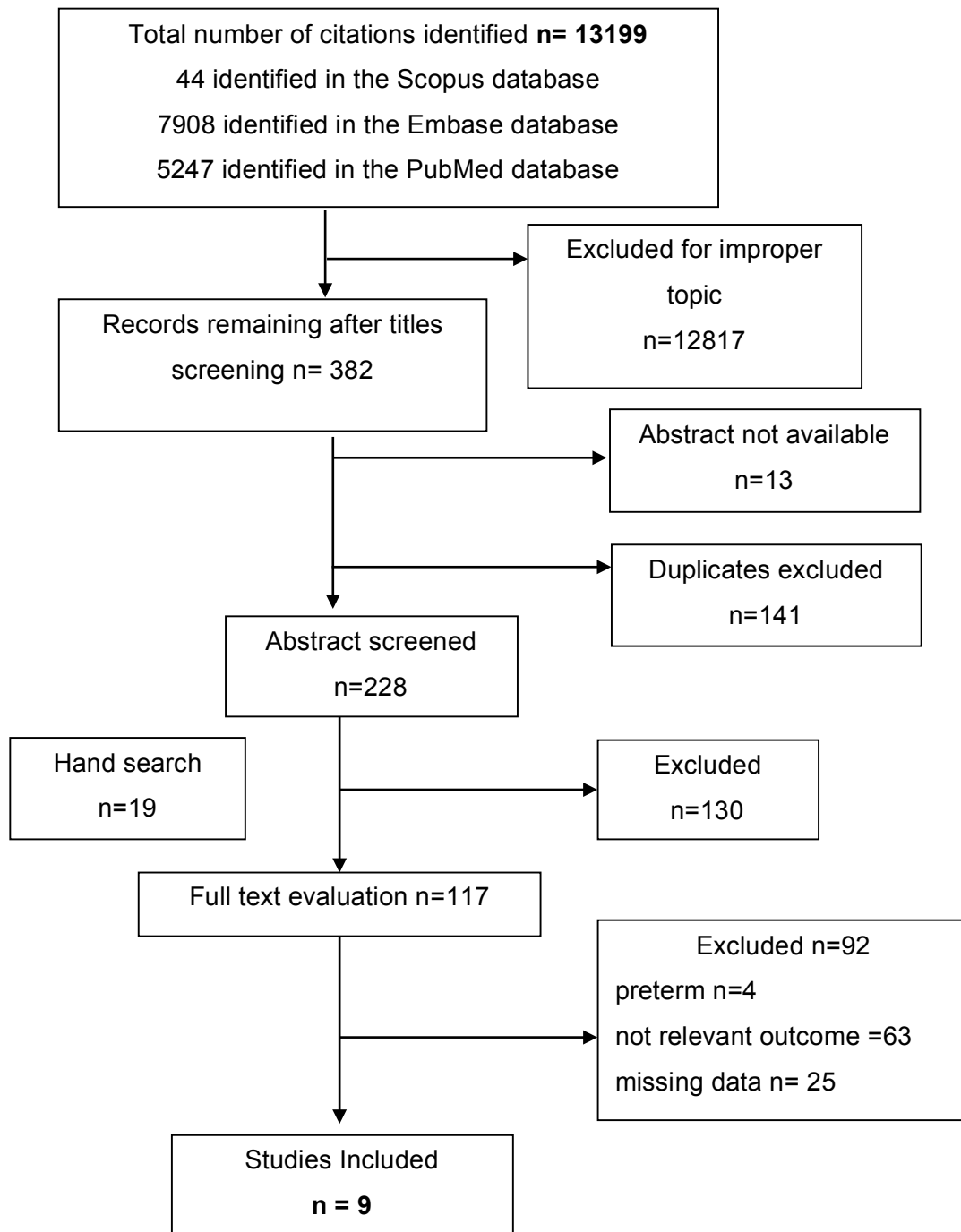


Abbildung 4: Flow Chart zur Auswahl relevanter Studien

### 3.2.2. Beschreibung der in die Analyse inkludierten Studien

| Author,<br>publication,<br>year,<br>country,<br>region | Study name<br>Follow up period                                                                                                                                                                     | Study size and selection                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           | Exposure                                                                                                                                                                                           | Outcome                                                                                                                                                                                                                                                                                                          | Quantity       | Mean ± SD<br>(log <sub>10</sub> cfu/g wet<br>faeces) | Mean ± SD<br>(log <sub>10</sub> cfu/g wet<br>faeces)                                      |
|--------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------|------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------|
|                                                        |                                                                                                                                                                                                    |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    |                                                                                                                                                                                                    |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  |                | Breast-fed<br>n=15                                   | Formula-fed                                                                               |
| Ben et al.,<br>2008<br><br>China                       | Low level of galacto-<br>oligosaccharide in infant<br>formula stimulates<br>growth of intestinal<br>Bifidobacteria and<br>Lactobacilli<br><br>3 months follow-up                                   | 164 infants were recruited for the<br>3-mo follow-up.<br><br><u>Included:</u> healthy term infants,<br>appropriate for gestational age<br><br><u>Excluded:</u> those excluded from the<br>study were due to refusal of their<br>parents and failure in taking the<br>fresh fecal samples.<br><br><u>Subpopulation fecal samples:</u><br>82 infants | 4 groups:<br>a) human milk<br>b) test formula:<br>supplemented with<br>GOS (0.24g/100ml)<br>c) control formula:<br>not supplemented<br>with GOS<br>d) combination<br>human milk and GOS<br>formula | Investigate<br>the effect of<br>0.24 g<br>GOS/100 ml<br>on intestinal<br>microflora<br>colonization<br>and<br>fermentation<br>in formula-fed<br>term infants<br>compared<br>with breast-<br>fed and<br>control-<br>formula-fed<br>counterparts;<br>to detect the<br>lowest and<br>safe effective<br>level of GOS | Bifidobacteria | 9.25 ± 0.93                                          | GOS: 9.01 ± 1.18<br>(n=20)<br>F+HM: 8.97 ± 0.85<br>(n=29)<br>Contr: 8.16 ± 0.99<br>(n=18) |
|                                                        |                                                                                                                                                                                                    |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    |                                                                                                                                                                                                    |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  | Lactobacilli   | 5.45 ± 2.16                                          | GOS: 5.91 ± 1.61<br>F+HM: 5.99 ± 2.12<br>Contr: 4.27 ± 2.02                               |
|                                                        |                                                                                                                                                                                                    |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    |                                                                                                                                                                                                    |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  | E.coli         | 5.74 ± 1.68                                          | GOS: 6.35 ± 1.59<br>F+HM: 5.90 ± 1.84<br>Contr: 5.68 ± 2.11                               |
|                                                        | <b>Adjustment for<br/>confounders</b>                                                                                                                                                              | <b>Limitations</b>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 |                                                                                                                                                                                                    |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  |                |                                                      |                                                                                           |
|                                                        | Male/female, gestational<br>age, weight at birth,<br>length at birth, head<br>circumference at birth,<br>feeding volume, weight<br>gain during study period,<br>length gain during study<br>period | Number of infants involved in<br>bacterial and SCFA analysis as<br>very small mainly due to the<br>refusal of parents and the failure in<br>taking fresh fecal samples. Files of<br>infants are not complete because<br>of the poor communication and<br>traffic facility for the follow-up.                                                       |                                                                                                                                                                                                    |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  |                |                                                      |                                                                                           |

| Author,<br>publication,<br>year,<br>country,<br>region | Study name<br>Follow up<br>period                                                                                          | Study size and selection                                                                                                                                           | Exposure                                                                                   | Outcome                                                                                                                                                                                                                                 | Quantity                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              | Mean $\pm$ SD<br>(log no. of bacteria/g<br>feces)                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               | Mean $\pm$ SD<br>(log no. of bacteria/g feces)                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             |
|--------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|                                                        |                                                                                                                            |                                                                                                                                                                    |                                                                                            |                                                                                                                                                                                                                                         |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       | Breast-fed<br>n=35                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              | Formula-fed<br>n=35                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        |
| Benno et al.,<br>1984<br><br>Tokyo                     | The Intestinal<br>Microflora of<br>Infants:<br>Composition of<br>Fecal Flora in<br>Breast-Fed<br>and Bottle-Fed<br>Infants | 70 healthy babies aged<br>from 28 to 46 days;<br>delivered by the vaginal<br>route; none had a history of<br>abnormal bowel functions<br>or of antibiotic therapy. | 35 infants were<br>breast-fed, 35<br>infants were<br>fed a<br>commercial<br>infant formula | Identify the<br>bacteria<br>from the<br>feces of<br>babies and<br>to ascertain<br>if feeding<br>had any<br>noticeable<br>effect on the<br>qualitative<br>and<br>quantitative<br>composition<br>of bacterial<br>species in<br>baby feces | Total counts<br>Bacteroides<br>Eubacteria<br>Bifidobacteria<br>Clostridia-others<br>Veillonellae<br>Lactobacilli<br>Enterobacteria<br>Streptococci<br>B. adolescentis<br>B. bifidum<br>B. breve<br>B. longum<br>E. coli<br>L.acidophilus<br>L. casei subsp.<br>L. fermentum<br>L.salivarius<br>S. aureus<br>S. epidermis<br>S.faecalis<br>S.faecium<br>C. difficile<br>C. perfringens | 10.85 $\pm$ 0.59<br>8.91 $\pm$ 1.76<br>7.18 $\pm$ 1.91<br>10.74 $\pm$ 0.81<br>7.20 $\pm$ 2.98<br>6.58 $\pm$ 2.19<br>6.25 $\pm$ 1.57<br>8.22 $\pm$ 1.12<br>6.87 $\pm$ 1.57<br>9.95 $\pm$ 1.00<br>10.10 $\pm$ 0.28<br>10.74 $\pm$ 0.76<br>9.76 $\pm$ 0.85<br>7.89 $\pm$ 1.35<br>6.20 $\pm$ 1.54<br>7.70<br>7.05 $\pm$ 0.64<br>-<br>4.98 $\pm$ 1.19<br>5.35 $\pm$ 1.34<br>6.28 $\pm$ 2.04<br>5.68 $\pm$ 1.56<br>5.45 $\pm$ 1.99<br>5.34 $\pm$ 1.51 | 10.75 $\pm$ 0.44<br>9.99 $\pm$ 0.61<br>9.73 $\pm$ 0.73<br>10.62 $\pm$ 0.49<br>8.03 $\pm$ 2.09<br>8.50 $\pm$ 2.08<br>8.18 $\pm$ 1.06<br>9.34 $\pm$ 0.72<br>9.19 $\pm$ 0.76<br>9.85 $\pm$ 0.96<br>9.92 $\pm$ 0.49<br>10.48 $\pm$ 0.65<br>10.06 $\pm$ 0.75<br>9.40 $\pm$ 0.55<br>8.28 $\pm$ 1.09<br>-<br>7.85 $\pm$ 0.92<br>8.05 $\pm$ 0.35<br>4.57 $\pm$ 0.36<br>5.15 $\pm$ 0.78<br>8.74 $\pm$ 1.36<br>8.81 $\pm$ 0.98<br>5.88 $\pm$ 2.38<br>8.16 $\pm$ 1.24 |
|                                                        | <b>Adjustment<br/>for<br/>confounders</b>                                                                                  | <b>Limitations</b>                                                                                                                                                 |                                                                                            |                                                                                                                                                                                                                                         |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            |
|                                                        |                                                                                                                            | No information about the<br>formula composition                                                                                                                    |                                                                                            |                                                                                                                                                                                                                                         |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            |



| Author,<br>publication,<br>year,<br>country,<br>region | Study name<br>Follow up period                                                                                                                                                                       | Study size and selection                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  | Exposure                                                                                                  | Outcome               | Quantity                     | Mean $\pm$ SD<br>(log <sub>10</sub><br>CFU/g<br>feces) | Mean $\pm$ SD<br>(log <sub>10</sub> CFU/g feces)                                                     |
|--------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------|------------------------------|--------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|                                                        |                                                                                                                                                                                                      |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           |                                                                                                           |                       |                              | Breast-fed<br>n=31                                     | Formula-fed                                                                                          |
| Brück et al.,<br>2006<br><br>Sweden                    | Effects of bovine alpha-Lactalbumin and Casein Glycomacropeptide – enriched infant formulae on faecal microbiota in healthy term infants<br><br>Fecal samples: baseline, at 2 months and at 6 months | Healthy term infants ages 6 $\pm$ 2 weeks were recruited; all infants were exclusively breast-fed from birth and were weaned directly to either one of the study formulas or a standard infant formula for a short time before inclusion in the study;<br><br>Intake of either formula or breast milk was ad libitum, and no other food except 1 to 2 tablespoons of fruit purees per day from 4 months of age was allowed during the study.<br><br>Infants were randomized to either a) a control formula, b) a formula enriched in Alpha-lac, c) a formula enriched in Alpha-lac but with reduced GMP (PSNU) and breast-fed infants served as reference | Evaluate the prebiotic effect of alpha-lac- and GMP-supplemented infant formulae in healthy term infants; | intestinal microflora | Baseline:<br>Bifidobacterium | 9.58 $\pm$ 0.57                                        | Standard: 9.46 $\pm$ 0.54 (n=17)<br>Alpha-10: 9.28 $\pm$ 0.59 (n=21)<br>PNSU: 9.25 $\pm$ 0.75 (n=16) |
|                                                        |                                                                                                                                                                                                      |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           |                                                                                                           |                       | Lactobacillus                | 7.27 $\pm$ 2.22                                        | Standard: 7.87 $\pm$ 1.09<br>Alpha-10: 7.96 $\pm$ 1.16<br>PNSU: 8.07 $\pm$ 0.97                      |
|                                                        |                                                                                                                                                                                                      |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           |                                                                                                           |                       | Bacteroides                  | 8.14 $\pm$ 0.80                                        | Standard: 7.50 $\pm$ 2.07<br>Alpha-10: 7.66 $\pm$ 0.63<br>PNSU: 7.61 $\pm$ 0.68                      |
|                                                        |                                                                                                                                                                                                      |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           |                                                                                                           |                       | E.coli                       | 7.32 $\pm$ 2.69                                        | Standard: 7.6 $\pm$ 0.64<br>Alpha-10: 7.32 $\pm$ 1.82<br>PNSU: 6.67 $\pm$ 2.07                       |
|                                                        |                                                                                                                                                                                                      |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           |                                                                                                           |                       | Clostridium                  | 7.36 $\pm$ 2.18                                        | Standard: 7.06 $\pm$ 2.05<br>Alpha-10: 7.80 $\pm$ 0.93<br>PNSU: 7.69 $\pm$ 0.81                      |
|                                                        |                                                                                                                                                                                                      |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           |                                                                                                           |                       | 2 months:<br>Bifidobacterium | 9.69 $\pm$ 0.59                                        | Standard: 9.25 $\pm$ 0.74<br>Alpha-10: 9.32 $\pm$ 0.63<br>PNSU: 9.36 $\pm$ 0.85                      |
|                                                        |                                                                                                                                                                                                      |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           |                                                                                                           |                       | Lactobacillus                | 8.08 $\pm$ 0.96                                        | Standard: 8.19 $\pm$ 1.06<br>Alpha-10: 8.36 $\pm$ 0.85<br>PNSU: 7.89 $\pm$ 0.95                      |
|                                                        |                                                                                                                                                                                                      |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           |                                                                                                           |                       | Bacteroides                  | 8.37 $\pm$ 0.94                                        | Standard: 8.38 $\pm$ 0.92<br>Alpha-10: 7.72 $\pm$ 0.44<br>PNSU: 8.14 $\pm$ 0.97                      |
|                                                        |                                                                                                                                                                                                      |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           |                                                                                                           |                       | E.coli                       | 7.38 $\pm$ 1.67                                        | Standard: 7.59 $\pm$ 0.74<br>Alpha-10: 7.65 $\pm$ 0.63                                               |

|  |                                         |                                                                                                                                                                                                                                    |  |  |                              |             |                                                                                           |
|--|-----------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--|--|------------------------------|-------------|-------------------------------------------------------------------------------------------|
|  |                                         |                                                                                                                                                                                                                                    |  |  | Clostridium                  | 8.10 ± 0.93 | PNSU: 7.47 ± 0.79<br>Standard: 7.98 ± 0.79<br>Alpha-10: 7.55 ± 0.78<br>PNSU: 7.43 ± 0.83  |
|  |                                         |                                                                                                                                                                                                                                    |  |  | 6 months:<br>Bifidobacterium | 9.54 ± 0.77 | Standard: 9.67 ± 0.85 (n=17)<br>Alpha-10: 9.44 ± 0.90 (n= 21)<br>PNSU: 9.52 ± 0.52 (n=16) |
|  |                                         |                                                                                                                                                                                                                                    |  |  | Lactobacillus                | 7.77 ± 1.71 | Standard: 8.14 ± 0.92<br>Alpha-10: 8.34 ± 0.83<br>PNSU: 7.66 ± 2.59                       |
|  |                                         |                                                                                                                                                                                                                                    |  |  | Bacteroides                  | 8.28 ± 0.97 | Standard: 8.22 ± 0.79<br>Alpha-10: 8.35 ± 0.76<br>PNSU: 7.82 ± 0.99                       |
|  |                                         |                                                                                                                                                                                                                                    |  |  | E.coli                       | 7.52 ± 0.66 | Standard: 7.75 ± 1.25<br>Alpha-10: 7.53 ± 2.06<br>PNSU: 8.12 ± 1.01                       |
|  |                                         |                                                                                                                                                                                                                                    |  |  | Clostridium                  | 7.94 ± 1.00 | Standard: 8.14 ± 1.11<br>Alpha-10: 7.93 ± 0.91<br>PNSU: 7.46 ± 0.86                       |
|  | <b>Adjustment for confounders</b>       | <b>Limitations</b>                                                                                                                                                                                                                 |  |  |                              |             |                                                                                           |
|  | Weight, length, BMI, head circumference | all infants had been breast-fed before being recruited in the study, so it's possible that a threshold level of bifidobacteria was already established. Feeding of 1 to 2 tablespoon of fruit purees per day from 4 months of age. |  |  |                              |             |                                                                                           |

| Author,<br>publication,<br>year, country,<br>region | Study name<br>Follow up<br>period                                                                                 | Study size and selection                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         | Exposure                                                                                                                                                                                                                                                                         | Outcome                                                                                                                                                                  | Quantity            | Mean $\pm$ SD<br>(log10 cfu/g<br>stool) | Mean $\pm$ SD<br>(log10 cfu/g stool) |                  |                  |
|-----------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------|-----------------------------------------|--------------------------------------|------------------|------------------|
|                                                     |                                                                                                                   |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  |                                                                                                                                                                                                                                                                                  |                                                                                                                                                                          |                     | Breast-fed<br>n=20                      | Formula-fed<br>Control<br>n=23       | Probio<br>n= 18  | Prebio<br>n=20   |
| Brunser et al.,<br>2006<br><br>Chile                | Effects of<br>probiotic or<br>prebiotic<br>supplemented<br>milk formulas<br>on fecal<br>microbiota<br>composition | 116 infants were enrolled<br><u>included:</u> healthy infants<br>born at term, of either sex,<br>3.5 months old, with birth<br>weight between 3000-<br>4200 g, who had not<br>received antibiotic<br>treatments in the month<br>prior to enrolment were<br>included in the study<br>protocol.<br><br><u>excluded:</u> multiple births,<br>presence of any degree of<br>malnutrition, or<br>gastrointestinal, renal or<br>other chronic diseases. | a)breastfed<br>group<br>b)control<br>group who<br>received a<br>standard<br>formula<br>c)a prebiotic<br>group who<br>received the<br>same formula<br>with FOS (2<br>g/l)<br>d)a probiotic<br>group who<br>received the<br>same formula<br>enriched with<br>10 <sup>8</sup> LA1/g | Effects of a<br>milk formula<br>supplemented<br>with La1 or<br>FOS upon the<br>colonic<br>microbiota of<br>bottle-fed<br>infants<br>compared to<br>breast-fed<br>infants | Tot. Bact. Sample 1 | 10.78 $\pm$ 0.17                        | 10.71 $\pm$ 0.27                     | 10.87 $\pm$ 0.25 | 10.65 $\pm$ 0.24 |
|                                                     |                                                                                                                   |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  |                                                                                                                                                                                                                                                                                  |                                                                                                                                                                          | Sample 2            | 10.67 $\pm$ 0.09                        | 10.72 $\pm$ 0.23                     | 10.87 $\pm$ 0.18 | 10.70 $\pm$ 0.35 |
|                                                     |                                                                                                                   |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  |                                                                                                                                                                                                                                                                                  |                                                                                                                                                                          | Sample 3            | 10.62 $\pm$ 0.17                        | 10.68 $\pm$ 0.24                     | 10.77 $\pm$ 0.27 | 10.61 $\pm$ 0.31 |
|                                                     |                                                                                                                   |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  |                                                                                                                                                                                                                                                                                  |                                                                                                                                                                          | Bifidobacterium     |                                         |                                      |                  |                  |
|                                                     |                                                                                                                   |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  |                                                                                                                                                                                                                                                                                  |                                                                                                                                                                          | Sample 1            | 9.72 $\pm$ 1.70                         | 8.23 $\pm$ 2.60                      | 7.82 $\pm$ 1.87  | 8.68 $\pm$ 1.74  |
|                                                     |                                                                                                                   |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  |                                                                                                                                                                                                                                                                                  |                                                                                                                                                                          | Sample 2            | 9.49 $\pm$ 2.35                         | 9.55 $\pm$ 2.33                      | 9.99 $\pm$ 2.33  | 9.41 $\pm$ 1.90  |
|                                                     |                                                                                                                   |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  |                                                                                                                                                                                                                                                                                  |                                                                                                                                                                          | Sample 3            | 9.11 $\pm$ 2.54                         | 10.11 $\pm$ 1.67                     | 9.12 $\pm$ 1.60  | 9.72 $\pm$ 1.97  |
|                                                     |                                                                                                                   |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  |                                                                                                                                                                                                                                                                                  |                                                                                                                                                                          | Lactobacillus       |                                         |                                      |                  |                  |
|                                                     |                                                                                                                   |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  |                                                                                                                                                                                                                                                                                  |                                                                                                                                                                          | Sample 1            | 6.27 $\pm$ 1.74                         | 3.92 $\pm$ 1.80                      | 3.46 $\pm$ 0.75  | 3.69 $\pm$ 1.46  |
|                                                     |                                                                                                                   |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  |                                                                                                                                                                                                                                                                                  |                                                                                                                                                                          | Sample 2            | 5.13 $\pm$ 1.89                         | 3.43 $\pm$ 0.92                      | 5.64 $\pm$ 2.38  | 3.70 $\pm$ 1.54  |
|                                                     |                                                                                                                   |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  |                                                                                                                                                                                                                                                                                  |                                                                                                                                                                          | Sample 3            | 4.97 $\pm$ 2.34                         | 3.95 $\pm$ 1.57                      | 4.17 $\pm$ 1.50  | 3.61 $\pm$ 1.01  |
|                                                     |                                                                                                                   |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  |                                                                                                                                                                                                                                                                                  |                                                                                                                                                                          | Enterobacteria      |                                         |                                      |                  |                  |
|                                                     |                                                                                                                   |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  |                                                                                                                                                                                                                                                                                  |                                                                                                                                                                          | Sample 1            | 7.17 $\pm$ 2.83                         | 8.96 $\pm$ 0.93                      | 8.76 $\pm$ 1.43  | 9.18 $\pm$ 1.79  |
|                                                     |                                                                                                                   |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  |                                                                                                                                                                                                                                                                                  |                                                                                                                                                                          | Sample 2            | 7.52 $\pm$ 2.43                         | 9.33 $\pm$ 1.37                      | 8.79 $\pm$ 1.63  | 9.49 $\pm$ 1.32  |
|                                                     |                                                                                                                   |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  |                                                                                                                                                                                                                                                                                  |                                                                                                                                                                          | Sample 3            | 8.94 $\pm$ 1.80                         | 9.62 $\pm$ 0.93                      | 8.89 $\pm$ 1.15  | 9.14 $\pm$ 1.34  |
|                                                     |                                                                                                                   |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  |                                                                                                                                                                                                                                                                                  |                                                                                                                                                                          | C.perfringens       |                                         |                                      |                  |                  |
|                                                     |                                                                                                                   |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  |                                                                                                                                                                                                                                                                                  |                                                                                                                                                                          | Sample 1            | 3.87 $\pm$ 1.35                         | 4.46 $\pm$ 1.31                      | 4.25 $\pm$ 1.29  | 4.16 $\pm$ 1.27  |
|                                                     |                                                                                                                   |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  |                                                                                                                                                                                                                                                                                  |                                                                                                                                                                          | Sample 2            | 4.28 $\pm$ 1.55                         | 4.80 $\pm$ 1.34                      | 4.87 $\pm$ 1.54  | 4.20 $\pm$ 1.18  |
|                                                     |                                                                                                                   |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  |                                                                                                                                                                                                                                                                                  |                                                                                                                                                                          | Sample 3            | 4.37 $\pm$ 1.50                         | 4.66 $\pm$ 1.25                      | 4.04 $\pm$ 1.21  | 9.14 $\pm$ 1.34  |
|                                                     |                                                                                                                   |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  |                                                                                                                                                                                                                                                                                  |                                                                                                                                                                          | C. histolyticum     |                                         |                                      |                  |                  |
|                                                     |                                                                                                                   |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  |                                                                                                                                                                                                                                                                                  |                                                                                                                                                                          | Sample 1            | 8.17 $\pm$ 0.27                         | 8.22 $\pm$ 0.30                      | 8.14 $\pm$ 0.38  | 8.23 $\pm$ 0.41  |
|                                                     |                                                                                                                   |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  |                                                                                                                                                                                                                                                                                  |                                                                                                                                                                          | Sample 2            | 8.08 $\pm$ 0.25                         | 8.07 $\pm$ 0.30                      | 8.16 $\pm$ 0.42  | 8.03 $\pm$ 0.25  |
|                                                     |                                                                                                                   |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  |                                                                                                                                                                                                                                                                                  |                                                                                                                                                                          | Sample 3            | 8.14 $\pm$ 0.27                         | 8.13 $\pm$ 0.34                      | 8.05 $\pm$ 0.37  | 8.07 $\pm$ 0.26  |
|                                                     |                                                                                                                   |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  |                                                                                                                                                                                                                                                                                  |                                                                                                                                                                          | Bacteroides         |                                         |                                      |                  |                  |
|                                                     |                                                                                                                   |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  |                                                                                                                                                                                                                                                                                  |                                                                                                                                                                          | Sample 1            | 4.98 $\pm$ 1.68                         | 5.64 $\pm$ 1.99                      | 5.60 $\pm$ 1.97  | 5.05 $\pm$ 1.72  |
|                                                     |                                                                                                                   |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  |                                                                                                                                                                                                                                                                                  |                                                                                                                                                                          | Sample 2            | 5.10 $\pm$ 1.79                         | 5.82 $\pm$ 1.82                      | 5.44 $\pm$ 2.02  | 5.02 $\pm$ 1.45  |
|                                                     |                                                                                                                   |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  |                                                                                                                                                                                                                                                                                  |                                                                                                                                                                          | Sample 3            | 5.80 $\pm$ 2.22                         | 5.92 $\pm$ 1.74                      | 6.09 $\pm$ 1.71  | 5.57 $\pm$ 1.75  |
|                                                     |                                                                                                                   |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  |                                                                                                                                                                                                                                                                                  |                                                                                                                                                                          | Enterococcus        |                                         |                                      |                  |                  |
|                                                     |                                                                                                                   |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  |                                                                                                                                                                                                                                                                                  |                                                                                                                                                                          | Sample1             | 6.30 $\pm$ 1.88                         | 6.86 $\pm$ 1.57                      | 6.12 $\pm$ 0.93  | 6.54 $\pm$ 1.50  |
|                                                     |                                                                                                                   |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  |                                                                                                                                                                                                                                                                                  |                                                                                                                                                                          | Sample 2            | 6.04 $\pm$ 1.72                         | 6.63 $\pm$ 1.36                      | 6.72 $\pm$ 1.22  | 7.29 $\pm$ 1.23  |

|  |                                                                        |                          |  |  |          |             |             |             |             |
|--|------------------------------------------------------------------------|--------------------------|--|--|----------|-------------|-------------|-------------|-------------|
|  |                                                                        |                          |  |  | Sample 3 | 6.81 ± 1.18 | 7.10 ± 1.41 | 6.80 ± 1.53 | 7.10 ± 1.09 |
|  | <b>Adjustment for confounders</b>                                      | <b>Limitations</b>       |  |  |          |             |             |             |             |
|  | Weight, height, weight for height, weight for age and for age z-scores | High drop-out rate (34%) |  |  |          |             |             |             |             |

| Author, publication, year, country, region  | Study name<br>Follow up period                                                                                                                                                                   | Study size and selection                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 | Exposure                                                                                                                                                                                                                                                                                  | Outcome                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    | Quantity                                                                                                                                                                                                      | Mean ± SD<br>(log cfu/g faeces)                                                                                                                                          | Mean ± SD<br>(log cfu/g faeces)                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      |
|---------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|                                             |                                                                                                                                                                                                  |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          |                                                                                                                                                                                                                                                                                           |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            |                                                                                                                                                                                                               | Breast-fed                                                                                                                                                               | Formula-fed                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          |
| Closa-Monasterolo et al., 2013<br><br>Spain | Safety and efficacy of inulin and oligofructose supplementation in infant formula: Results from a randomized clinical trial<br><br><u>Stool samples:</u> at inclusion and at 3 months (± 5 days) | 388 infants<br><u>Included:</u> infants were to be healthy, born a term (>37 weeks gestational age), with normal birth weight according to Spanish references, having at recruitment an age below 4 weeks and normal feeding behavior or skills. Feeding type of formula milk or human milk had to be more than 90% of energy intake at recruitment to be included in the study as formula fed infant or breastfed infant.<br><br><u>Excluded:</u> more than 4 weeks of life, antibiotic treatment, serious respiratory, neurological, gastrointestinal or metabolic disorders, and infections or other serious diseases that could hinder growth. During the study the exclusion criteria were antibiotic treatment and switching to other formulas or complementary feeding for more than 10% of the total energy intake or for more than 3 days.<br><br><u>Stool samples:</u> at allocation: n=161; follow-up: n= 151 | <u>3 groups:</u><br><br>a) Breastfed<br>b) Control formula: supplemented with an amount of maltodextrin equivalent to the weight of the SYN1 in the SYN1 supplemented formula<br>c) SYN1 formula: formula with 0.8 g/dl SYN1 (combination of oligofructose and long-chain inulin (50:50)) | Primary outcome to assess the efficacy of the SYN1-supplemented infant formula was gut microflora. Secondary outcomes to assess efficacy were stools frequency, stools consistency and infections incidence. Main outcome measures to assess safety were growth, water balance and biochemical parameters. Digestive symptoms, crying behavior, dietary intake, maternal report of infant's acceptance of study formula were analysed to assess tolerance. | <u>At recruitment</u><br><br>Bacteroides<br><br>Bifidobacterium<br><br>Enterobact.<br><br>Total counts<br><br><u>Month 3</u><br><br>Bacteroides<br><br>Bifidobacterium<br><br>Enterobact.<br><br>Total counts | n=53<br><br>7.66 ± 2.53<br><br>6.63 ± 1.72<br><br>6.72 ± 2.1<br><br>10.13 ± 1.38<br><br>n=49<br><br>7.77 ± 2.53<br><br>9.45 ± 1.40<br><br>7.64 ± 2.0<br><br>10.56 ± 0.83 | Contr: 7.36 ± 2.08 n=55<br>SYN1: 6.66 ± 1.96 n= 50<br><br>Contr: 6.95 ± 1.85<br>SYN1: 9.08 ± 1.6<br><br>Contr: 7.2 ± 2.45<br>SYN1: 8.44 ± 1.37<br><br>Contr: 10.44 ± 0.87<br>SYN1: 10.11 ± 0.91<br><br>Contr: 8.41 ± 2.27 n=50<br>SYN1: 7.32 ± 2.2 n=52<br><br>Contr: 8.33 ± 1.9<br>SYN1: 9.08 ± 1.6<br><br>Contr: 8.95 ± 1.32<br>SYN1: 8.44 ± 1.37<br><br>Contr: 10.88 ± 1.32<br>SYN1: 10.72 ± 0.88 |
|                                             | <b>Adjustment for confounders</b>                                                                                                                                                                | <b>Limitations</b>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       |                                                                                                                                                                                                                                                                                           |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            |                                                                                                                                                                                                               |                                                                                                                                                                          |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      |
|                                             | Gender, delivery type, gestational age, birth weight, birth length, birth head circumference, maternal education                                                                                 | May be the relative high dropout rate; that infants could have been recruited during the first 4 weeks of life (being influenced by other type of feeding)                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               |                                                                                                                                                                                                                                                                                           |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            |                                                                                                                                                                                                               |                                                                                                                                                                          |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      |

| Author, publication, year, country, region | Study name<br>Follow up period                                                                                                                        | Study size and selection                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          | Exposure                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     | Outcome                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              | Quantity                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        | Mean ± SD<br>(log <sub>10</sub> CFU/g stool)                                                                                                                                 | Mean ± SD<br>(log <sub>10</sub> CFU/g stool)                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             |
|--------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|                                            |                                                                                                                                                       |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 | Breast-fed                                                                                                                                                                   | Formula-fed                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              |
| Euler et al., 2005<br><br>Virginia         | Prebiotic Effect of Fructo-Oligosaccharide Supplemented Term Infant Formula at Two Concentrations Compared with Unsupplemented Formula and Human Milk | 72 infants (58 FF and 14 exclusively HM-fed)<br><u>Included:</u> 2- to 6-week-old healthy infants of gestational age between 37 and 42 weeks. At birth and enrollment, weight for length ratios were required to be between the 10 <sup>th</sup> and 90 <sup>th</sup> percentiles.<br><br><u>excluded:</u> infants were excluded if they had siblings with documented bovine milk protein allergy or a feeding problem that had necessitated a change from bovine milk-based formula to protein hydrolysate formula; birth by caesarean section, any diarrheal episode since birth, suspected or documented systemic or congenital infections and evidence of significant cardiac, respiratory, hematological, gastrointestinal or other systemic diseases; if they were exposed to smoking in the home or had received iron supplements, antimicrobial agents, antifungal medications, suppositories, bismuth-containing medications or any medication that might neutralize or suppress gastric acid secretion. | FF infants were randomized to one of 4 study groups receiving one of two experimental supplemented formulas. All infants received control formula during weeks 1,3 and 5. In a blinded fashion, they received one of the supplemented formulas during either week 2 or week 4 with control formula during either week 4 or week 2.<br><br><u>3 study formulas:</u><br>1.Control formula<br>2.Exp. formula with 1.5g/l FOS<br>3.Exp. formula with 3.0 g/l FOS | <u>Primary</u> efficacy objective was to determine whether either FOS concentration was associated with a change in bifidogenic fecal flora or resulted in fecal flora similar to that of HM-fed infants<br><br><u>Secondary</u> efficacy objective was to determine whether either FOS concentration resulted in a decreased colony count of enterococci, bacteroides or clostridia | <u>Log(base10) organism counts before FOS suppl.</u><br>Bifidobacterium<br><br>Lactobacillus<br><br>Enterococcus<br><br>Bacteroides<br><br>Clostridium<br><br><u>log(base10) organism count at the visit after FOS suppl.</u><br>Bifidobacterium<br><br>Lactobacillus<br><br>Enterococcus<br><br>Bacteroides<br><br>Clostridium | 8.2 ± 1.45<br><br>4.6 ± 2.43<br><br>5.6 ± 1.80<br><br>3.4 ± 1.91<br><br>6.5 ± 1.26<br><br>8.0 ± 1.37<br><br>5.3 ± 2.58<br><br>5.7 ± 1.50<br><br>3.9 ± 2.50<br><br>6.0 ± 1.34 | <u>FOS 1.5:</u> 8.8 ± 1.51<br><u>FOS 3.0:</u> 8.6 ± 1.14<br><u>FOS 1.5:</u> 4.7 ± 2.41<br><u>FOS 3.0:</u> 4.6 ± 2.34<br><u>FOS 1.5:</u> 7.8 ± 1.52<br><u>FOS 3.0:</u> 7.7 ± 1.17<br><u>FOS 1.5:</u> 5.5 ± 2.32<br><u>FOS 3.0:</u> 5.5 ± 2.79<br><u>FOS 1.5:</u> 7.1 ± 1.43<br><u>FOS 3.0:</u> 7.2 ± 1.69<br><br><u>FOS 1.5:</u> 9.1 ± 1.33<br><u>FOS 3.0:</u> 8.6 ± 1.17<br><u>FOS 1.5:</u> 5.2 ± 2.69<br><u>FOS 3.0:</u> 4.8 ± 2.60<br><u>FOS 1.5:</u> 7.8 ± 1.23<br><u>FOS 3.0:</u> 7.6 ± 1.05<br><u>FOS 1.5:</u> 5.7 ± 2.78<br><u>FOS 3.0:</u> 5.5 ± 2.71<br><u>FOS 1.5:</u> 7.8 ± 1.75<br><u>FOS 3.0:</u> 6.9 ± 1.69 |

|  |                                                                                                                                         |                                                                                     |  |  |                                                                                                                                                            |                     |                                                        |
|--|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------|--|--|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------|--------------------------------------------------------|
|  |                                                                                                                                         |                                                                                     |  |  | <u>log(base10)</u><br><u>organism count</u><br><u>at the visit 7</u><br><u>days after</u><br><u>termination of</u><br><u>FOS suppl.</u><br>Bifidobacterium | n= 14<br>8.6 ± 1.65 | FOS 1.5: 9.3 ± 1.28 n= 28<br>FOS 3.0: 8.5 ± 1.14 n= 30 |
|  |                                                                                                                                         |                                                                                     |  |  | Lactobacillus                                                                                                                                              | 4.6 ± 2.43          | FOS 1.5: 4.3 ± 2.35<br>FOS 3.0: 4.1 ± 1.91             |
|  |                                                                                                                                         |                                                                                     |  |  | Enterococcus                                                                                                                                               | 5.6 ± 1.80          | FOS 1.5: 8.0 ± 1.10<br>FOS 3.0: 7.4 ± 1.17             |
|  |                                                                                                                                         |                                                                                     |  |  | Bacteroides                                                                                                                                                | 3.4 ± 1.91          | FOS 1.5: 5.9 ± 2.60<br>FOS 3.0: 5.9 ± 2.27             |
|  |                                                                                                                                         |                                                                                     |  |  | Clostridium                                                                                                                                                | 6.5 ± 1.26          | FOS 1.5: 7.4 ± 1.60<br>FOS 3.0: 6.5 ± 1.54             |
|  | <b>Adjustment for confounders</b>                                                                                                       | <b>Limitations</b>                                                                  |  |  |                                                                                                                                                            |                     |                                                        |
|  | Demographic and birth characteristics including gender, ethnicity, birth weight and length, birth weight for length and gestational age | Last examination 7 days after termination of fructo-oligosaccharide supplementation |  |  |                                                                                                                                                            |                     |                                                        |

| Author,<br>publication,<br>year, country,<br>region | Study name<br>Follow up period                                                                                                                                                                                                                              | Study size and selection                                                                                                                                                                                                                                             | Exposure                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  | Outcome                                                                                                                                                                                                                                                            | Quantity                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  | Mean ± SD<br>(log <sub>10</sub> cfu/g<br>of feces)                                                                                                                 | Mean ± SD<br>(log <sub>10</sub> cfu/g of feces)                                                                                                                               |                                                                                                                                                                               |
|-----------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|                                                     |                                                                                                                                                                                                                                                             |                                                                                                                                                                                                                                                                      |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           |                                                                                                                                                                                                                                                                    |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           | Breast-fed                                                                                                                                                         | Formula-fed<br>Bifidus F.                                                                                                                                                     | Adapted F.                                                                                                                                                                    |
| Langhendries<br>et al.,1995<br><br>Belgium          | Effect of a fermented<br>Infant Formula<br>Containing Viable<br>Bifidobacteria on the<br>Fecal Flora<br>Composition and pH of<br>Healthy Full-Term<br>Infants<br><br>Fecal flora composition<br>and stool pH: recorded<br>at Day 7 and at 1<br>month of age | Two groups of 20 healthy full-<br>term infants in formula groups;<br>14 breast-fed full term infants<br>as control group<br><br><i>The CFU (colony forming<br/>units) were identified in the<br/>feces are only in those children<br/>who are colonized</i>          | Breast-milk<br><br><u>2 formula groups:</u><br><br>a) a whey-<br>adapted<br>nonacidified, low-<br>phosphate infant<br>formula<br><br>b) a whey-<br>adapted low-<br>phosphate infant<br>formula<br>biologically<br>acidified by<br>Streptococcus<br>thermophiles and<br>Lactobacillus<br>helveticus with<br>10 <sup>6</sup> viable<br>bifidobacteria<br>added per gram<br>of powder →<br>“bifidus formula” | Assess the<br>growth,<br>tolerance,<br>and<br>acceptability<br>in infants fed<br>with a<br>fermented<br>infant formula<br>with living<br>bifidobacteria;<br>examine the<br>influence of<br>this formula<br>on the<br>composition<br>of fecal flora<br>and stool pH | <u>Day 7:</u><br>Strepto. Faecalis<br>E.coli<br>Staph. Aureus<br>Staph. Epid.<br>Klebsiellae<br>Enterobacteria<br>Pseudomonas<br>Others<br>Bifidobacteria<br>Bacteroides<br>Clostridia<br>Others<br><br><u>Day 31:</u><br>Strepto. Faecalis<br>E.coli<br>Staph. Aureus<br>Staph. Epid.<br>Klebsiellae<br>Enterobacteria<br>Pseudomonas<br>Others<br>Bifidobacteria<br>Bacteroides<br>Clostridia<br>Others | n=14<br>7.44 ± 0.96<br>7.70 ± 0.47<br>4.32 ± 0.21<br>10.1 ± 0.17<br>7.79 ± 0.28<br>7.09 ± 0.60<br>0<br>10.5 ± 0.25<br>8.51 ± 1.55<br>10.29 ±0.34<br>-<br>0         | n=20<br>7.53 ± 0.55<br>8.01 ± 1.11<br>4.87 ± 0.72<br>9.57 ± 1.03<br>6.50 ± 0.70<br>7.84 ± 0.22<br>5.00 ± 0.00<br>10.19 ±0.2<br>8.60 ± 1.90<br>8.84 ± 1.63<br>10.33 ±0.34<br>0 | n=20<br>7.37 ± 0.94<br>8.04 ± 0.62<br>4.27 ± 0.67<br>7.42 ± 3.41<br>8.00 ± 0.00<br>8.69 ± 1.67<br>0<br>9.35 ± 1.15<br>7.38 ± 1.80<br>10.07 ±0.99<br>-<br>10.18 ±0.40          |
|                                                     |                                                                                                                                                                                                                                                             |                                                                                                                                                                                                                                                                      |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           |                                                                                                                                                                                                                                                                    |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           | n=14<br>7.23 ± 1.07<br>7.64 ± 0.92<br>4.72 ± 0.26<br>8.8 ± 2.0<br>7.48 ± 0.41<br>6.97 ± 1.12<br>0<br>10.23 ±0.33<br>8.61 ± 1.50<br>10.11 ±0.00<br>-<br>10.69 ±0.00 | n=20<br>7.74 ± 0.32<br>7.41 ± 0.81<br>4.63 ± 1.00<br>10.00 ±0.00<br>7.32 ± 0.75<br>7.38 ± 1.46<br>0<br>9.81 ± 0.92<br>8.10 ± 1.87<br>9.38 ± 1.48<br>-<br>10.20 ±0.84          | n=20<br>7.84 ± 0.58<br>7.83 ± 0.24<br>4.93 ± 1.31<br>7.86 ± 3.95<br>7.74 ± 0.33<br>7.52 ± 0.63<br>0<br>7.32 ± 1.70<br>9.75 ± 0.5<br>10.20 ±0.39<br>10.69 ±0.00<br>10.00 ±0.00 |
|                                                     | Adjustment for<br>confounders                                                                                                                                                                                                                               | Limitations                                                                                                                                                                                                                                                          |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           |                                                                                                                                                                                                                                                                    |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           |                                                                                                                                                                    |                                                                                                                                                                               |                                                                                                                                                                               |
|                                                     | Weight, length, head<br>circumference                                                                                                                                                                                                                       | Small sample size; 8 infants were<br>initially excluded from the study,<br>because they did not correctly follow<br>their feeding scheme or because they<br>showed more than two episodes of<br>diarrhea not linked to the allocated<br>formula within the 1st month |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           |                                                                                                                                                                                                                                                                    |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           |                                                                                                                                                                    |                                                                                                                                                                               |                                                                                                                                                                               |



| Author,<br>publication,<br>year,<br>country,<br>region | Study name<br>Follow up period                                                                                                                                                                                                                      | Study size and selection                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    | Exposure                                                                                                                                                                                          | Outcome                                                                                          | Quantity                                                                                                                                                                                                    | Mean ± SD<br>(log10<br>CFU/g<br>feces)           | Mean ± SD<br>(log10 CFU/g<br>feces)              |
|--------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------|--------------------------------------------------|
|                                                        |                                                                                                                                                                                                                                                     |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             |                                                                                                                                                                                                   |                                                                                                  |                                                                                                                                                                                                             | Breast-fed                                       | Formula-fed                                      |
| Rochat et al.,<br>2007<br><br>Italy                    | A whey-predominant formula induces fecal microbiota similar to that found in breast-fed infants<br><br>Follow-up visits at 30 (±2) and 60 (±3) days of age for both groups and additionally at days 90 (±3) and 120 (±4) days for formula-fed group | 60 infants (24 BF and 36 FF)<br><br><u>Included:</u><br>Healthy full-term infants (gestational age between 37 and 42 weeks) with age less than 28 days and weighing between 2500-4200 g, were enrolled in the study if they were being exclusively formula fed or breast milk by enrolment.<br><br><u>excluded:</u><br>Infants with congenital abnormalities or illnesses, including cardiovascular, gastrointestinal, renal, neurological, and/or metabolic disorders were excluded. Furthermore, infants who had been admitted to the intensive care or had required hospital readmission in the first 28 days of life or who were participating in another clinical trial were excluded. | Breast milk;<br><u>Study formula:</u> a reduced protein infant formula, with whey as the predominant protein source and lactose as the sole carbohydrate source and contained 100% vegetable oil. | Fecal microbiota composition of FF infants with those of infants who were exclusively breast-fed | <u>Day 30:</u><br><br><u>Fish:</u><br><br>Bifidobacteria<br>Clostridia<br>Total counts<br><br><u>Plate counts:</u><br><br>Bifidobacteria<br>C. perfringens<br>Enterobacteria<br>Enterococci<br>Lactobacilli | n= 15<br><br>8.5 ± 0.7<br>7.7 ± 0<br>9.7 ± 0.3   | n= 24<br><br>9.0 ± 0.6<br>7.8 ± 0.2<br>9.8 ± 0.2 |
|                                                        |                                                                                                                                                                                                                                                     |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             |                                                                                                                                                                                                   |                                                                                                  | <u>Day 60:</u><br><br><u>Fish:</u><br><br>Bifidobacteria<br>Clostridia<br>Total counts<br><br><u>Plate counts:</u><br><br>Bifidobacteria<br>C. perfringens<br>Enterobacteria<br>Enterococci<br>Lactobacilli | n= 17<br><br>8.8 ± 0.8<br>7.8 ± 0.2<br>9.8 ± 0.2 | n=21<br><br>8.6 ± 0.6<br>7.8 ± 0.2<br>9.7 ± 0.3  |
|                                                        |                                                                                                                                                                                                                                                     |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             |                                                                                                                                                                                                   |                                                                                                  | <u>Day 30:</u><br><br><u>Fish:</u><br><br>Bifidobacteria<br>Clostridia<br>Total counts<br><br><u>Plate counts:</u><br><br>Bifidobacteria<br>C. perfringens<br>Enterobacteria<br>Enterococci<br>Lactobacilli | n= 15<br><br>8.5 ± 0.7<br>7.7 ± 0<br>9.7 ± 0.3   | n= 24<br><br>9.0 ± 0.6<br>7.8 ± 0.2<br>9.8 ± 0.2 |
|                                                        | <b>Adjustment for confounders</b>                                                                                                                                                                                                                   | <b>Limitations</b>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          |                                                                                                                                                                                                   |                                                                                                  |                                                                                                                                                                                                             |                                                  |                                                  |
|                                                        | Weight, length, BMI, head circumference                                                                                                                                                                                                             | Small sample size                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           |                                                                                                                                                                                                   |                                                                                                  |                                                                                                                                                                                                             |                                                  |                                                  |

| Author,<br>publication,<br>year,<br>country,<br>region | Study name<br>Follow up period                                                                                                                                                                                                                                        | Study size and selection                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 | Exposure                                                                                                                                                                                                             | Outcome                                                                                                                                                                                                                                    | Quantity           | Mean $\pm$ SD<br>(log colony-<br>forming<br>units/g) | Mean $\pm$ SD<br>(log colony-<br>forming units/g) |
|--------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------|------------------------------------------------------|---------------------------------------------------|
|                                                        |                                                                                                                                                                                                                                                                       |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          |                                                                                                                                                                                                                      |                                                                                                                                                                                                                                            |                    | Breast-fed<br>n=30                                   | Formula-fed<br>n=30                               |
| Vivatvakin et al., 2010<br><br>Thailand                | Effect of a whey-predominant starter formula containing LCPUFAs and oligosaccharides (FOS/GOS) on gastrointestinal comfort in infants<br><br>Follow-up visits when infants reached the age of 30 $\pm$ 3 days, 60 $\pm$ 3 days, 90 $\pm$ 3 days, and 120 $\pm$ 3 days | Included: 224 infants (Experimental formula 71, control formula 73, breast-fed 80)<br><br><u>included</u> : healthy infants not older than 30 days of age at the time of enrolment, whose mothers had chosen to feed them exclusively with formula from 30 days to 4 month or had chosen to exclusively breast-feed from birth until they were 4 months. Full-term, healthy, weigh between 2500 and 4500g at birth.<br><br><u>excluded</u> : if infants had congenital illnesses or malformation, had significant pre-or post-natal diseases, had required hospitalization for >2 days, received antibiotic treatment, were known to have cow's milk allergy, had parents who were expected to have difficulty complying with the feeding regimen, or if they were participating in another clinical study.<br><br><i>Stool bacterial analysis at 2 months in a subset of 30 infants from each group</i> | a)breastfed group<br>b)experimental formula group: a whey-predominant formula containing LCPUFAs and the prebiotics FOS/GOS<br>c)control group: a standard casein-predominant formula lacking LCPUFAs and prebiotics | GE (gastric emptying) rate was the primary outcome; secondary outcomes were intestinal transit time, digestive tolerance (stool characteristics, infant's behavior), anthropometric measurements and the occurrence of any adverse events. | Bifidobacteria     | 9.73 $\pm$ 1.1                                       | Exp: 9.75 $\pm$ 1.0<br>Con: 9.14 $\pm$ 1.2        |
|                                                        |                                                                                                                                                                                                                                                                       |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          |                                                                                                                                                                                                                      |                                                                                                                                                                                                                                            | Lactobacilli       | 7.91 $\pm$ 0.8                                       | Exp: 8.06 $\pm$ 0.6<br>Con: 7.79 $\pm$ 0.8        |
|                                                        |                                                                                                                                                                                                                                                                       |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          |                                                                                                                                                                                                                      |                                                                                                                                                                                                                                            | Enterobacteriaceae | 8.07 $\pm$ 0.9                                       | Exp: 8.28 $\pm$ 0.6<br>Con: 8.63 $\pm$ 0.6        |
|                                                        |                                                                                                                                                                                                                                                                       |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          |                                                                                                                                                                                                                      |                                                                                                                                                                                                                                            | Clostridia         | 8.22 $\pm$ 1.1                                       | Exp: 7.59 $\pm$ 1.1<br>Con: 8.26 $\pm$ 1.2        |
|                                                        |                                                                                                                                                                                                                                                                       |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          |                                                                                                                                                                                                                      |                                                                                                                                                                                                                                            | Bacteroides        | 7.85 $\pm$ 1.4                                       | Exp: 8.06 $\pm$ 0.7<br>Con: 7.78 $\pm$ 0.5        |
|                                                        | <b>Adjustment for confounders</b>                                                                                                                                                                                                                                     | <b>Limitations</b>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       |                                                                                                                                                                                                                      |                                                                                                                                                                                                                                            |                    |                                                      |                                                   |
|                                                        | Girls and boys, age, weight, height, head circumference                                                                                                                                                                                                               | Low level of samples analyzed                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            |                                                                                                                                                                                                                      |                                                                                                                                                                                                                                            |                    |                                                      |                                                   |

### 3.2.3. Nicht inkludierte Studien

Folgende Studien konnten für die Meta-Analyse nicht herangezogen werden.

**Schmelze et al. 2003 "Randomized double-blind study of the nutritional efficacy and bifidogenicity of a new infant formula containing partially hydrolyzed protein, a high  $\beta$ -palmitic acid level, and nondigestible oligosaccharides":** keine Breastfeed Gruppe als Kontrolle.

**Tuzun et al. 2013 "Breast milk jaundice: effect of bacteria present in breast milk and infant feces":** keine Formulagruppe als Kontrolle.

**Sierra et al. 2015 "Prebiotic effect during the first year of life in healthy infants fed formula containing GOS as the only prebiotic: a multicentre, randomised, double-blind and placebo-controlled trial":** keine Breastfeed Gruppe als Kontrolle.

**Fanaro et al. 2005 "Acidic oligosaccharides from pectin hydrolysate as new component for infant formulae: effect on intestinal flora, stool characteristics, and pH":** keine Breastfeed Gruppe als Kontrolle.

**Wang et al. 2015 "Fecal microbiota composition of breast-fed infants is correlated with human milk oligosaccharides consumed":** keine Angabe der mean  $\pm$  SD log cfu/g feces Einheit. Autor kontaktiert. Antwort erhalten, jedoch keine mean  $\pm$  SD Daten vorhanden.

**Cooke et al. 2005 "Comparing the gut flora of irish breastfed and formula-fed neonates aged between birth and 6 weeks old":** keine Angabe mean  $\pm$  SD log cfu/g feces Einheit. Autor kontaktiert, Antwort erhalten, aber keine mean  $\pm$  SD Daten vorhanden.

**Singhal et al. 2008 "Dietary nucleotides and fecal microbiota in formula-fed infants: a randomized controlled trial":** In der Studie sind der Median und die IQR angegeben. Autor wegen mean  $\pm$  SD Daten kontaktiert, aber keine Antwort erhalten.

**Moro et al. 2003 "Effects of a new mixture of prebiotics on faecal flora and stools in term infants":** In der Studie sind der Median und die IQR angegeben. Autor wegen mean  $\pm$  SD Daten kontaktiert, aber keine Antwort erhalten.

**Yaron et al. 2013 "Effect of high  $\beta$ -palmitate content in infant formula on the intestinal microbiota of term infants":** Die Studie wurde nicht in die Analyse miteinbezogen, da die Formulanahrung mit Palmitinsäure angereichert war.

**Bezirtzoglou et al. 2011 "Microbiota profiles in feces of breast- and formula-fed newborns by using fluorescence in situ hybridization (FISH)":** keine Angabe der mean  $\pm$  SD log cfu/g feces Einheit. Autor kontaktiert.

**Scholtens et al. 2008 "Fecal Secretory Immunoglobulin A is increased in healthy infants who receive a formula with short-chain galacto-oligosaccharides and long-chain fructo-oligosaccharides":** keine Angabe der mean  $\pm$  SD log cfu/g feces Einheit. Autor kontaktiert, keine Antwort erhalten.

**Haarman und Knol 2006 "Quantitative real-time PCR analysis of fecal Lactobacillus species in infants receiving a prebiotic infant formula":** keine Angabe der mean  $\pm$  SD log cfu/g feces Einheit. Autor kontaktiert, keine Antwort erhalten.

**Chierici et al. 1997 "Experimental milk formulae with reduced protein content and desialyated milk proteins":** influence on the faecal flora and the growth of term newborn infants": keine mean  $\pm$ SD log cfu/g feces Einheit. Autor kontaktiert, keine Antwort erhalten.

**Knol et al. 2005 "Colon microflora in infants fed formula with galacto- and fructo-oligosaccharides: more like breast-fed infants":** keine mean  $\pm$  SD log cfu/g feces Einheit. Autor kontaktiert, keine Antwort erhalten.

**Haarman und Knol 2005 "Quantitative real-time PCR assays to identify and quantify fecal bifidobacterium species in infants receiving a prebiotic infant**

**formula"**: keine mean  $\pm$  SD log cfu/g feces Einheit. Autor kontaktiert, keine Antwort erhalten.

**Penders et al. 2005 "Quantification of bifidobacterium spp., Echerichia coli and Clostridium difficile in faecal samples of breast-fed and formula-fed infants by real-time PCR"**: keine mean  $\pm$  SD Einheit log cfu/g feces Einheit. Autor kontaktiert, Antwort erhalten, aber keine mean  $\pm$  SD Daten vorhanden.

**Hascoet et al. 2011 "Effect of formula composition on the development of infant gut microbiota"**: keine mean  $\pm$  SD Einheit log cfu/g feces Einheit. Autor kontaktiert, Antwort erhalten. Keine mean  $\pm$  SD Daten verfügbar.

**Oswari et al. 2013 "Comparison of stool microbiota compositions, stool alpha1-antitrypsin and calprotection concentrations, and diarrhoeal morbidity of Indonesian infants fed breast milk or probiotic/prebiotic-supplemented formula"**: keine mean  $\pm$  SD log cfu/g feces Einheit. Autor kontaktiert, keine Antwort erhalten.

**Nakamura et al. 2009 "Molecular ecological analysis of fecal bacterial populations from term infants fed formula supplemented with selected blends of prebiotics"**: keine mean  $\pm$  SD log cfu/g feces Einheit. Autor kontaktiert, keine Antwort erhalten.

**Fan et al. 2013 "Diversity of the intestinal microbiota in different patterns of feeding infants by Illumina high-throughput sequencing"**: keine mean  $\pm$  SD log cfu/g feces Einheit. Autor kontaktiert, keine Antwort erhalten.

**Costalos et al. 2008 "The effect of a prebiotic supplemented formula on growth and stool microbiology of term infants"**: keine Breastfeed Gruppe als Kontrolle.

**Giovanninni et al. 2014 "Prebiotic effect of an infant formula supplemented with galacto-oligosaccharides: randomized multicenter trial"**: Daten der bakteriellen Kolonisierung der Breastfeed Gruppe nicht angegeben. Beim Vergleich der

Formulagruppen - Angabe Median (Q1-Q3). Autor kontaktiert bezüglich Daten zur Breastfeed Gruppe und mean  $\pm$  SD log cfu/g feces, keine Antwort erhalten.

**Bakker-Zierikzee et al. 2005 "Effects of infant formula containing a mixture of galacto- and fructo- oligosaccharides or viable Bifidobacterium animalis on the intestinal microflora during the first 4 months of life":** keine mean  $\pm$  SD log cfu/g feces. Autor kontaktiert, keine Antwort erhalten.

**Rinne et al. 2004 "Similar bifidogenic effects of prebiotic-supplemented partially hydrolyzed infant formula and breastfeeding on infant gut microbiota":** Angabe der Daten als Median (IQR). Bei Autor nachgefragt bezüglich mean  $\pm$  SD log cfu/g feces Einheiten; keine Antwort erhalten.

**Xia et al. 2012 "Quantitative analysis of intestinal bacterial populations from term infants fed formula supplemented with fructo-oligosaccharides":** Bei Autor nachgefragt bezüglich mean  $\pm$  SD log cfu/g feces Einheit; keine Antwort erhalten.

### 3.2.4. Qualität der Studien

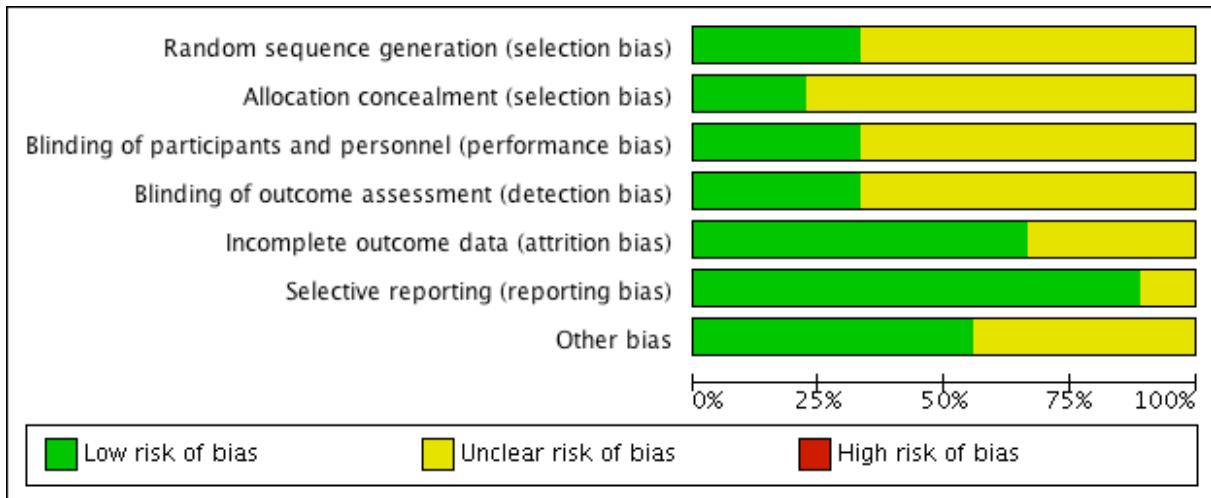


Abbildung 5: "Risk of Bias"-Graph der Einzelstudien nach dem „Cochrane Collaboration's tool for assessing risk of bias“ [Higgins und Green 2011]

|                        | Random sequence generation (selection bias) | Allocation concealment (selection bias) | Blinding of participants and personnel (performance bias) | Blinding of outcome assessment (detection bias) | Incomplete outcome data (attrition bias) | Selective reporting (reporting bias) | Other bias |
|------------------------|---------------------------------------------|-----------------------------------------|-----------------------------------------------------------|-------------------------------------------------|------------------------------------------|--------------------------------------|------------|
| Ben 2008               | ?                                           | ?                                       | ?                                                         | ?                                               | ?                                        | +                                    | ?          |
| Benno 1984             | ?                                           | ?                                       | ?                                                         | ?                                               | ?                                        | +                                    | ?          |
| Brück 2006             | ?                                           | ?                                       | ?                                                         | +                                               | +                                        | +                                    | +          |
| Brunser 2006           | +                                           | ?                                       | +                                                         | +                                               | +                                        | +                                    | +          |
| Closa-Monasterolo 2013 | +                                           | +                                       | +                                                         | +                                               | +                                        | +                                    | +          |
| Euler 2005             | ?                                           | ?                                       | ?                                                         | ?                                               | ?                                        | ?                                    | ?          |
| Langhendries 1995      | ?                                           | ?                                       | ?                                                         | ?                                               | +                                        | +                                    | +          |
| Rochat 2007            | ?                                           | ?                                       | ?                                                         | ?                                               | +                                        | +                                    | ?          |
| Vivatvakin 2010        | +                                           | +                                       | +                                                         | ?                                               | +                                        | +                                    | +          |

Abbildung 6: "Risk of Bias"-Zusammenfassung der Einzelstudien nach dem „Cochrane Collaboration's tool for assessing risk of bias“ [Higgins und Green 2011]

### 3.2.5. Anmerkung zu den verwendeten Studien

Da in einigen Studien mehrere Formulanahrungen getestet wurden, wurde für die erste Analyse nur die Kontrollformula herangezogen.

In den Studien wurden zu unterschiedlichen Zeitpunkten die Stuhlproben analysiert. Für die Analyse wurde immer die letzte analysierte Stuhlprobe herangezogen.

Die Studie Langhendries et al. [1995] untersuchte zwei verschiedene Formulanahrungen. Für die erste Analyse wurde die „Adapted Formula“, als Kontrollformula, herangezogen.

Für die zweite Analyse wurden Studien, in denen die Säuglinge eine angereicherte Formula erhielten herangezogen.

Die Studie von Euler et al. [2005] untersuchte eine Formulanahrung mit Fructooligosacchariden in unterschiedlichen Konzentrationen. Aus diesem Grund wurden die Gruppen, mit Hilfe einer Formel aus dem „Cochrane Handbook“, kombiniert.

Bifidobacterium (mean  $\pm$  SD):

|          |                |   |                |
|----------|----------------|---|----------------|
| FOS 1.5: | 9.3 $\pm$ 1.28 | } | 8.9 $\pm$ 1.26 |
| FOS 3.0: | 8.5 $\pm$ 1.14 |   |                |

Lactobacillus (mean  $\pm$  SD):

|          |                |   |                |
|----------|----------------|---|----------------|
| FOS 1.5: | 4.3 $\pm$ 2.35 | } | 4.2 $\pm$ 2.08 |
| FOS 3.0: | 4.1 $\pm$ 1.91 |   |                |

Bacteroides (mean  $\pm$  SD):

|          |                |   |                |
|----------|----------------|---|----------------|
| FOS 1.5: | 5.9 $\pm$ 2.60 | } | 5.9 $\pm$ 2.41 |
| FOS 3.0: | 5.9 $\pm$ 2.27 |   |                |



Die Studie von Brunser et al. [2006] untersuchte eine präbiotische Formula mit 2g/l Fructo-oligosacchariden und eine angereicherte probiotische Formula mit  $10^8$  La 1 pro Gramm. Für die Meta-Analyse wurden die Gruppen, mit Hilfe einer Formel aus dem „Cochrane Handbook“, kombiniert.

Bifidobacterium (mean  $\pm$  SD):

|         |                 |   |                 |
|---------|-----------------|---|-----------------|
| Probio: | 9.12 $\pm$ 1.60 | } | 9.44 $\pm$ 1.81 |
| Prebio: | 9.72 $\pm$ 1.97 |   |                 |

Lactobacillus (mean  $\pm$  SD):

|         |                 |   |                 |
|---------|-----------------|---|-----------------|
| Probio: | 4.17 $\pm$ 1.50 | } | 3.88 $\pm$ 1.28 |
| Prebio: | 3.61 $\pm$ 1.01 |   |                 |

Bacteroides (mean  $\pm$  SD):

|         |                 |   |                 |
|---------|-----------------|---|-----------------|
| Probio: | 6.09 $\pm$ 1.71 | } | 5.82 $\pm$ 1.42 |
| Prebio: | 5.57 $\pm$ 1.75 |   |                 |

Die Studie von Brück et al. [2006] untersuchte eine präbiotische Formula angereichert mit  $\alpha$ -lac (Alpha-10) (25%  $\alpha$ -lactalbumin, 15% GMP (casein glycomacropeptide )) und eine Formula mit  $\alpha$ -lac mit reduziertem GMP (PSNU) (25%  $\alpha$ -lac, 10% CGMP). Für die Meta-Analyse wurden die Gruppen, mit Hilfe einer Formel aus dem „Cochrane Handbook“, kombiniert.

Bifidobacterium (mean  $\pm$  SD):

|           |                 |   |                 |
|-----------|-----------------|---|-----------------|
| Alpha-10: | 9.44 $\pm$ 0.90 | } | 9.47 $\pm$ 0.75 |
| PSNU:     | 9.52 $\pm$ 0.52 |   |                 |

Lactobacillus (mean  $\pm$  SD):

|           |                 |   |                 |
|-----------|-----------------|---|-----------------|
| Alpha-10: | 8.34 $\pm$ 0.83 | } | 8.05 $\pm$ 1.82 |
| PSNU:     | 7.66 $\pm$ 2.59 |   |                 |

Bacteroides (mean  $\pm$  SD):

|           |                 |   |                 |
|-----------|-----------------|---|-----------------|
| Alpha-10: | 8.35 $\pm$ 0.76 | } | 8.12 $\pm$ 0.89 |
| PSNU:     | 7.82 $\pm$ 0.99 |   |                 |

## 4. Ergebnisse der Meta-Analyse Stillen versus Formulanahrung

### 4.1. Ergebnisse der Meta-Analyse Stillen versus Formulanahrung ohne Anreicherungen

#### 4.1.1. Bifidobakterien

Abb. 7 zeigt den Einfluss des Stillens oder der Formulanahrung im Hinblick auf die Bifidobakterien, dargestellt als Forest Plot. In Bezug auf die Bifidobakterien konnte kein signifikanter Unterschied zwischen der Ernährung mit Formulanahrung und dem Stillen festgestellt werden (WMD 0.20; 95% CI [-0.30, 0.70];  $p=0.43$ ).

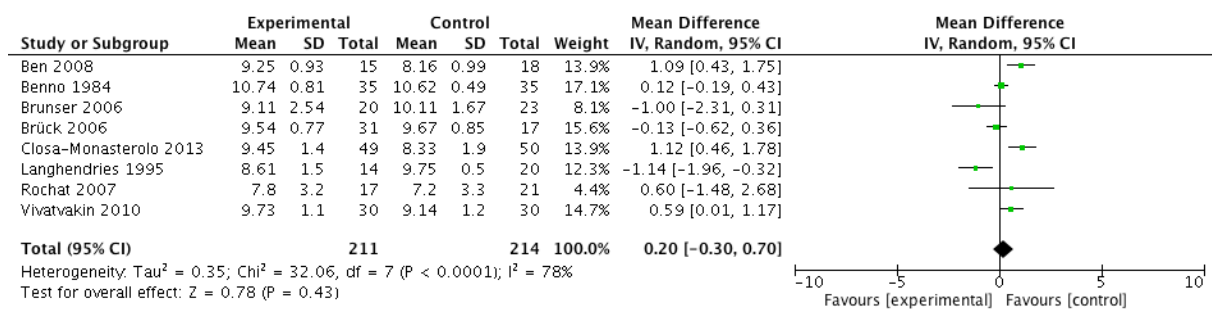


Abbildung 7: Forest Plot mit 95%-CI: Vergleich der Anzahl der Bifidobakterien in der Darmflora gestillter und nicht gestillter Säuglinge

### 4.1.2. Laktobazillen

Die Ergebnisse der Art der Säuglingsnahrung auf die Laktobazillen sind als Forest Plot in Abb. 8 dargestellt. Es konnte kein signifikanter Unterschied zwischen Stillen und Formulanahrung in Hinblick auf die Laktobazillen beobachtet werden (WMD -0.10; 95% CI [-1.03, 0.82],  $p=0.83$ ).

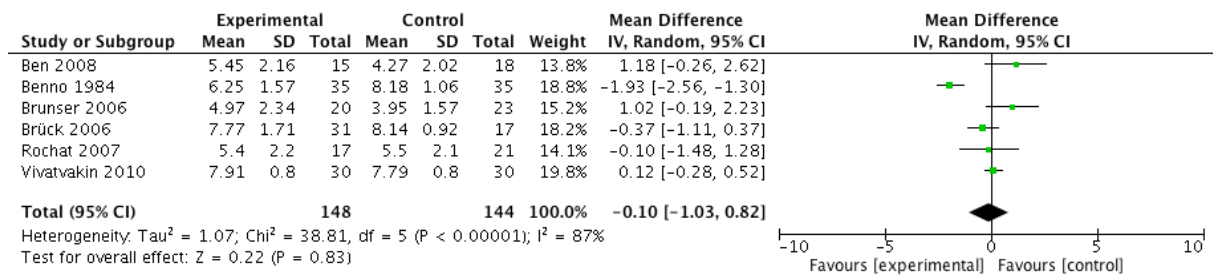


Abbildung 8: Forest Plot mit 95% - CI: Vergleich der Anzahl der Laktobazillen in der Darmflora gestillter mit der von nicht gestillten Säuglingen

### 4.1.3. Bacteroides

Der Einfluss des Stillens im Vergleich zu Formulanahrung auf die Darmflora in Bezug auf die Bacteroides ist als Forest Plot in Abb. 9 dargestellt. Signifikante Unterschiede zwischen der Anzahl an Bacteroides bei gestillten Säuglingen oder Säuglingen, die eine Formulanahrung erhielten, konnten nicht gezeigt werden, obwohl sich ein Trend zu einer geringeren Anzahl in gestillten Säuglingen ablesen lässt (WMD -0.32 [-0.83, 0.18];  $p = 0.21$ )

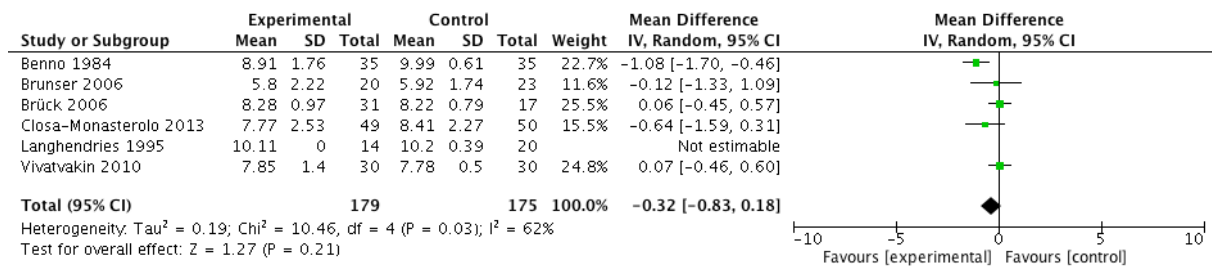


Abbildung 9: Forest Plot mit 95% - CI: Vergleich der Anzahl der Bacteroides in der Darmflora gestillter und nicht gestillter Säuglinge

#### **4.1.4. Heterogenität**

Die Heterogenität der Daten war sehr hoch. Die Ergebnisse des Stillens oder der Formulanahrung in Hinblick auf die Bifidobakterien wiesen eine Heterogenität von  $I^2=78\%$  auf. Ebenso eine hohe Heterogenität zeigten die Ergebnisse des Stillens oder der Formulanahrung hinsichtlich der Laktobazillen mit  $I^2= 87\%$  und der Bacteroides mit  $I^2=62\%$ .

#### **4.1.5. Limitationen**

In der vorliegenden Arbeit wurden Studien bis in das Jahr 2013 einbezogen. Aufgrund fehlender Daten, die von den Autoren nicht eingeholt werden konnten, ist nicht auszuschließen, dass diese Studien die Ergebnisse der Meta-Analyse beeinflussen würden.

In der Studie von Ben et al. [2008] war die Zahl der beteiligten Kinder für die bakterielle und SCFA Analyse sehr klein, aufgrund der Verweigerung der Eltern und dem Scheitern an der Entnahme frischer Stuhlproben. Des Weiteren waren Dateien von Säuglingen nicht vollständig, aufgrund schlechter Kommunikation und der mangelnden Teilnahme an den Follow-up Untersuchungen aufgrund der schlechten Erreichbarkeit [Ben et al. 2008].

In der Studie von Closa-Monasterolo et al. [2013] gab es eine hohe Ausfallsrate, die als mögliche Limitierung betrachtet werden kann. Eine weitere Limitierung der Studie war, dass Säuglinge in den ersten vier Wochen nach der Geburt rekrutiert wurden und daher möglicherweise durch eine andere Art der Fütterung beeinflusst waren [Closa-Monasterolo et al. 2013].

Weitere Limitationen sind, dass die Probengröße relativ klein war, Studien teilweise eine hohe Ausschlussrate hatten, manche Säuglinge vor der Rekrutierung in die Studie gestillt wurden, sowie der Geburtsvorgang (vaginale Geburt oder Kaiserschnitt), die Einnahme von Antibiotika und die Zufütterung, weshalb es möglich ist, dass dies die anschließende Analyse beeinflusste.

#### 4.1.6. Diskussion

Die Besiedelung der Darmflora wird durch verschiedene Faktoren beeinflusst. Die Kolonisierung in den ersten sechs Lebensmonaten wird durch den Geburtsvorgang (vaginal oder chirurgisch), der Art der Säuglingsnahrung (Stillen oder Formula), der Einnahme von Antibiotika und durch Umwelteinflüsse beeinflusst [Yang et al. 2016].

Der Fokus der vorliegenden Arbeit lag auf der Besiedelung der Darmflora durch den Einfluss der Art der Säuglingsnahrung – Stillen vs. Formulaernährung. Dabei wurden die Auswirkungen des Stillens oder der Formulanahrung im Hinblick auf die Anzahl der Bifidobakterien, Laktobazillen und Bacteroides untersucht.

Es wurden acht Studien in die Analyse eingeschlossen, darunter drei asiatische, vier europäische und eine südamerikanische Studie.

In der Studie von Ben et al. [2008] wurden von einer Subpopulation (BF: n=15, FF: n=18) Stuhlproben zur Analyse genommen. Nach 3 Monaten konnte eine signifikant höhere Anzahl der Bifidobakterien (BF  $9.25 \pm 0.93$  / FF  $8.16 \pm 0.99 \log_{10}$  CFU/g) und der Laktobazillen (BF  $5.45 \pm 2.16$  / FF  $4.27 \pm 2.02 \log_{10}$  CFU/g) bei gestillten Säuglingen im Vergleich zur Gruppe, die durch eine Formulanahrung ernährt wurde (Formula ohne GOS – Frisolac H, Friesland Nutrition, Netherlands) festgestellt werden [Ben et al. 2008].

In der Studie von Benno et al. [1984] wurden 70 Säuglinge im Alter zwischen 28 und 46 Tagen untersucht. Dabei wurden insgesamt 35 Säuglinge gestillt und 35 mit Formula ernährt. Diese Studie konnte keine signifikanten Unterschiede bei den Bifidobakterien (BF  $10.74 \pm 0.81$  / FF  $10.62 \pm 0.49 \log_{10}$  CFU/g) bei gestillten oder durch Formula ernährten Säuglingen feststellen. Hingegen waren die Laktobazillen (BF  $6.25 \pm 1.57$  / FF  $8.18 \pm 1.06 \log_{10}$  CFU/g /  $p < 0.01$ ) und die Bacteroides (BF  $8.91 \pm 1.76$  / FF  $9.99 \pm 0.61 \log_{10}$  CFU/g /  $p < 0.01$ ) in der Formula-Gruppe signifikant höher verglichen mit den gestillten Säuglingen [Benno et al. 1984a].

Die Studie von Brunser et al. [2006] analysierte die Stuhlproben von 20 gestillten und 23 nicht gestillten Säuglingen. Die Ergebnisse der Studie konnten keine signifikanten



Unterschiede in der Anzahl der Bifidobakterien (BF  $9.11 \pm 2.54$ / FF  $10.11 \pm 1.67 \log_{10}$  CFU/g), und der Bacteroides (BF  $5.80 \pm 2.22$  / FF  $5.92 \pm 1.74 \log_{10}$  CFU/g) in der Mikrobiota gestillter Kinder (BF), im Vergleich zu Säuglingen, die durch die Kontroll-Formula (Nan 2, Nestlé Chile, Santiago, Chile) (FF) ernährt wurden, feststellen. Die Anzahl der Laktobazillen (BF  $4.97 \pm 2.34$  / FF  $3.95 \pm 1.57 \log_{10}$  CFU/g) war in der Darmflora gestillter Kinder im Vergleich zur formulaernährten Gruppe signifikant höher [Brunser et al. 2006].

Im Rahmen der Studie von Closa-Monasterolo et al. [2013] wurde von 151 Säuglingen die Stuhlproben jeweils zu Beginn der Studie und nach 3 Monaten analysiert. Die Analyse der Stuhlproben kam zu dem Ergebnis, dass es hinsichtlich der Bacteroides signifikante Unterschiede zwischen den gestillten Säuglingen und der Kontrollformula gibt (BF  $7.77 \pm 2.53$  / FF  $8.41 \pm 2.27 \log_{10}$  CFU/g), in Hinblick auf Bifidobakterien es jedoch keine Unterschiede zwischen den beiden Gruppen gibt (BF  $9.45 \pm 1.40$  / FF  $8.33 \pm 1.9 \log_{10}$  CFU/g) [Closa-Monasterolo et al. 2013].

Bei der Studie von Rochat et al. [2007] wurden am Tag 60 die Stuhlproben von 17 gestillten und 21 Formula ernährten Säuglingen untersucht. Als Kontroll-Formula wurde eine proteinreduzierte Formulanahrung gewählt (1,8g/100kcal), (New NAN Nestlé, Switzerland). Diese Formulanahrung setzte sich zusammen aus Molkenprotein (70%), Laktose als einzige Kohlenhydratquelle und 100% pflanzlichem Öl. Diese Studie konnte keine signifikanten Unterschiede bei der Anzahl der Bakterien, in gestillten oder formulaernährten Kindern feststellen. Rochat et al. [2010] schließt darauf, dass New NAN Formula in der untersuchten Perspektive die Darmflora auf ähnliche Weise beeinflusst wie Muttermilch [Rochat et al. 2007].

Die Studie von Vivatvakin et al. [2010] analysierte die Stuhlprobe einer Subpopulation von jeweils 30 Säuglingen pro Gruppe. Die Kontroll-Gruppe wurde mit einer Standard molkebasierenden Formula mit einem niedrigen Gehalt an Präbiotika und LCPUFAs (long chain poly unsaturated fatty acids) ernährt. Auch diese Studie hatte keine signifikanten Ergebnisse beobachtet [Vivatvakin et al. 2010].

In der Studie von Langhendries et al. [1995] wurden Stuhlanalysen von 14 gestillten und 20 Formula ernährten Säuglingen untersucht. Bei der Kontroll-Formula handelte

es sich um eine molkebasierte, phosphatarmer Formulanahrung. Auch hier konnten keine signifikanten Unterschiede zwischen der Formulagruppe und der Gruppe gestillter Säuglinge, hinsichtlich der Besiedelung der Darmflora durch Bifidobakterien und Bacteroides festgestellt werden [Langhendries et al. 1995].

Die Studie von Brück et al. [2006] untersuchte die intestinale Mikrobiota von 31 gestillten und 17 nicht gestillten Säuglingen. Als Kontroll-Formula wurde eine im Handel erhältliche Standard-Formula verwendet. Auch diese Studie konnte keine Unterschiede zwischen den Gruppen im Hinblick auf die Darmflora feststellen. Es konnte jedoch beobachtet werden, dass die Clostridien und Bacteroides bei den formulaernährten Kindern höheren Schwankungen unterlagen [Bruck et al. 2006].

Zusammenfassend lässt sich festhalten, dass diese Meta-Analyse acht Studien umfasste und keine signifikanten Ergebnisse zum Vorschein bringen konnte. Unter den verwendeten Studien befanden sich sechs Ergebnisse die einen signifikanten Unterschied zwischen dem Einfluss der Formulanahrung oder der Muttermilch auf die Darmflora verzeichnen konnten. Drei davon konnten in Folge der Ernährung durch Formula ausgemacht werden und drei bei den gestillten Säuglingen. Bei den durch Formulanahrung ernährten Säuglingen konnte in zwei Studien eine signifikant höhere Anzahl an Bacteroides festgestellt werden (BF 8.91 / FF 9.99 [Benno et al. 1984b]; BF 7.77 / FF 8.41 [Closa-Monasterolo et al. 2013]) und einmal eine signifikant höhere Anzahl an Laktobazillen (BF 6.25 / FF 8.18 [Benno et al. 1984b]).

Bei den signifikant erhöhten Bacteroides bei Säuglingen, die durch eine Standard-Formula (oder angereicherter Formula) ernährt wurden, dürfte es sich um eine Tendenz handeln die sich oftmals im Vergleich zu gestillten Säuglingen vorfindet. Der diesbezügliche Zusammenhang scheint noch nicht gänzlich geklärt zu sein. Die Tendenz zur erhöhten Anzahl an Bacteroides bei Formula ernährten Säuglingen scheint sich durch die Ernährung mit stark angereicherter Formulanahrung fortzusetzen bzw. zu steigern.

Bei den Laktobazillen fällt es schwer diese über die Ergebnisse der Meta-Analyse hinaus weiter zu kontextualisieren, vor allem da sowohl in den gestillten, als auch bei den Formula ernährten Säuglingen eine erhöhte Anzahl gemessen werden konnte.

Bezüglich der Bifidobakterien lässt sich festhalten, dass sich die Hersteller der Formulanahrungen bei der Zusammensetzung an der Darmflora gestillter Kinder orientieren und sich oftmals daran versuchen, vor allem die Anzahl der Bifidobakterien gestillter Kinder damit zu erreichen.

Sowohl für die Bifidobakterien, als auch für die Laktobazillen wird eine positive Wirkung für den Säugling angenommen. Daher versuchen sich die Hersteller der Formulanahrung entweder daran die Zusammensetzung der Muttermilch oder die der Darmflora nachzuahmen. Letzteres geschieht dadurch, dass die Formulanahrung mit Prä- oder Probiotika angereichert wird, beispielsweise durch GOS.

Da sich nun bezüglich der Standard-Formula keine signifikanten Unterschiede bei der Zusammensetzung der Darmflora im Hinblick auf Bifidobakterien, Laktobazillen und Bacteroides haben ausmachen lassen, verfolgt die nun folgende zweite Meta-Analyse das Ziel mögliche Unterschiede in der Darmflora bei der Ernährung durch angereicherte Formulanahrung zu evaluieren.

## 4.2. Ergebnisse der Meta-Analyse Stillen versus angereicherter Formulanahrung

### 4.2.1. Bifidobakterien

Der Einfluss des Stillens oder der Formulanahrung im Hinblick auf die Bifidobakterien sind als Forest Plot in Abb. 10 dargestellt. Bei dem Vergleich der Art der Säuglingsanfangsnahrung in Bezug auf die Bifidobakterien, konnte kein signifikanter Unterschied festgestellt werden (WMD 0.10; 95% CI [-0.13, 0.33];  $p=0.40$ ).

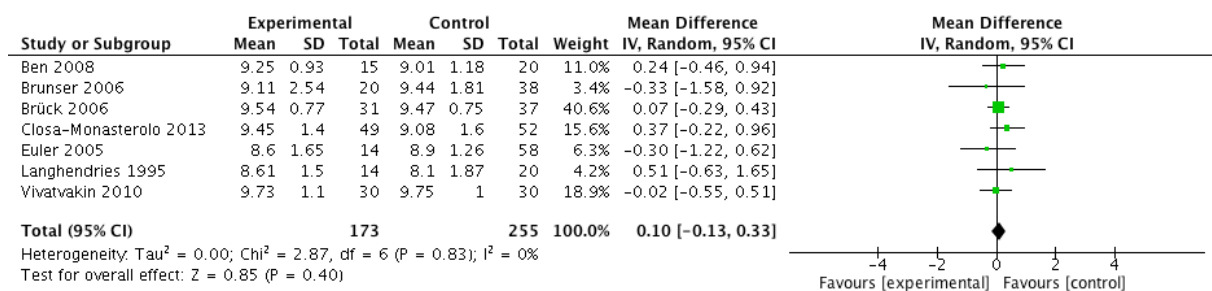


Abbildung 10: Forest Plot mit 95%-CI: Vergleich der Anzahl der Bifidobakterien in der Darmflora (gestillt vs. mit angereicherter Formulanahrung ernährter Säuglinge)

#### 4.2.2. Laktobazillen

Abb. 11 zeigt den Einfluss der Art der Säuglingsnahrung auf die Laktobazillen. Bei dem Vergleich der Art der Säuglingsnahrung in Bezug auf die Laktobazillen, konnte kein signifikanter Unterschied festgestellt werden (WMD 0.00; 95% CI [-0.44, 0.44];  $p=0.99$ ).

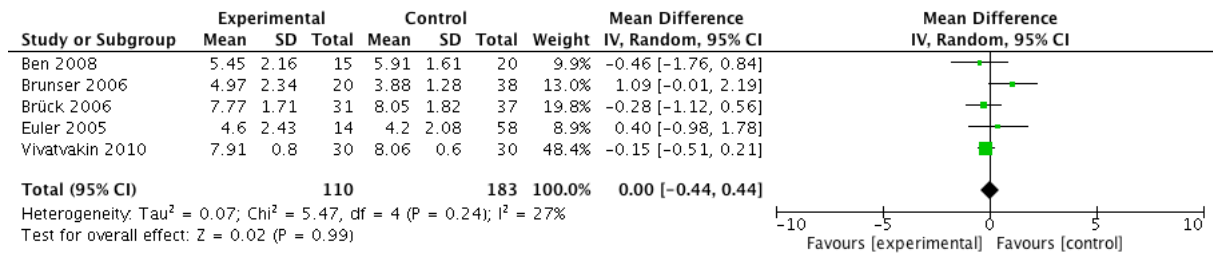


Abbildung 11: Forest Plot mit 95%-CI: Vergleich der Anzahl der Laktobazillen in der Darmflora (gestillt vs. mit angereicherter Formulanahrung ernährter Säuglinge)

### 4.2.3. Bacteroides

Die Ergebnisse des Stillens oder der Formulanahrung auf die Darmflora in Bezug auf die Bacteroides sind als Forest Plot in Abb. 12 dargestellt. Signifikante Unterschiede zwischen der Anzahl an Bacteroides bei gestillten Säuglingen oder Säuglingen die eine Formulanahrung erhielten, konnten nicht gezeigt werden, obwohl sich ein Trend zu einer geringeren Anzahl in gestillten Säuglingen ablesen lässt (WMD -0.33 [-1.06, 0.41];  $p = 0.38$ )

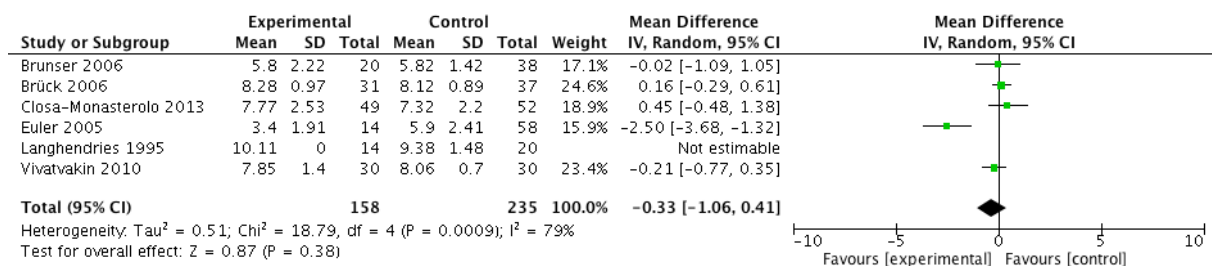


Abbildung 12: Forest Plot mit 95%-CI: Vergleich der Anzahl der Bacteroides in der Darmflora (gestillt vs. mit angereicherter Formulanahrung ernährter Säuglinge)

#### **4.2.4. Heterogenität**

Die Ergebnisse des Stillens oder der Formulanahrung im Hinblick auf die Bifidobakterien wiesen eine Heterogenität von  $I^2=0\%$  auf. Eine durchschnittliche Heterogenität zeigten die Ergebnisse des Stillens oder der Formulanahrung hinsichtlich der Laktobazillen mit  $I^2= 27\%$  und eine hohe Heterogenität konnte bei den Bacteroides mit  $I^2=79\%$  beobachtet werden.

#### 4.2.5. Diskussion

In die zweite Meta-Analyse wurden sieben Studien, in denen eine angereicherte Formulanahrung im Vergleich zu Muttermilch untersucht wurde, eingeschlossen, darunter zwei asiatische, drei europäische, eine südamerikanische und eine US-amerikanische Studie.

In der Studie von Ben et al. [2008] konnte zwischen Säuglingen (n=20) die mit einer GOS-Formula ernährt wurden (Frisolac Advanced, Friesland Nutrition, Netherlands) und gestillten Kindern (n=15) weder bei den Bifidobakterien (BF  $9.25 \pm 0.93$  / GOS-F  $9.01 \pm 1.18 \log_{10}$  CFU/g), noch bei den Laktobazillen (BF  $5.45 \pm 2.16$  / GOS-F  $5.91 \pm 1.61 \log_{10}$  CFU/g) signifikante Unterschiede festgestellt werden. Im Vergleich zur Standard-Kontroll Formula (1. Meta-Analyse) konnte also sowohl bei der mit Galactooligosacchariden angereicherten Formula, als auch bei den gestillten Kindern eine signifikant höhere Anzahl von Bifidobakterien und Laktobazillen festgestellt werden [Ben et al. 2008].

Die Studie von Brunser et al. [2006] untersuchte eine präbiotische Formula mit 2g/l Fructo-oligosacchariden und eine angereicherte probiotische Formula mit  $10^8$  La 1 pro Gramm. Für die Meta-Analyse wurden die Gruppen, mit Hilfe einer Formel aus dem „Cochrane Handbook“, kombiniert. Hinsichtlich der Bifidobakterien und Bacteroides zeigten sich keine signifikanten Unterschiede zwischen Stillen und den angereicherten Formulanahrungen. Bei den Laktobazillen wurden eine signifikant höhere Anzahl in gestillten Säuglingen ( $4.97 \pm 2.34$ ) gefunden, als in der kombinierten angereicherten Formula ( $3.88 \pm 1.28$  [prä  $3.61 \pm 1.01$ ; pro  $4.17 \pm 1.50$ ]) [Brunser et al. 2006].

In der Studie von Closa-Monasterolo et al. [2013] wurden eine Formulanahrung mit 0.8 g/dl SYN1 (Kombination von Oligofructose und langkettigem Inulin 50:50) untersucht. Es konnten keine signifikanten Unterschiede in Hinblick auf Bifidobakterien und Bacteroides ausgemacht werden [Closa-Monasterolo et al. 2013].

Die Studie von Euler et al. [2005] enthielt zwei Formulagruppen, weshalb für die Meta-Analyse die Formulanahrungen mit Hilfe der Formel aus dem „Cochrane Handbuch“ kombiniert wurden. Dabei wurde eine Gruppe mit einer 1.5 g/l fructo-oligosaccharid



(FOS) Formula und eine weitere mit einer 3.0 g/l fructo-oligosaccharid Formula ernährt. Diese wurden in der Meta-Analyse zusammengefasst und mit den Ergebnissen der gestillten Gruppe verglichen. Signifikante Unterschiede haben sich bei den Bacteroides in der kombinierten Formulanahrung im Vergleich zu den gestillten Säuglingen gezeigt (BF 3.5 ± 2.28 / FF 5.9 ± 2.41). In Bezug auf die Bifidobakterien und Laktobazillen wurden keine Unterschiede festgestellt [Euler et al. 2005].

Die Studie von Vivatvakin et al. [2010], in der eine Formulanahrung mit LCPUFAs und Präbiotika angereichert wurde, erbrachte keine signifikanten Unterschiede bei der Besiedelung der Darmflora im Vergleich mit gestillten Kindern [Vivatvakin et al. 2010].

In der Studie von Langhendries et al. [1995] wurde eine molkebasierte, phosphatarne Formulanahrung, biologisch angesäuert durch *Streptococcus thermophilus* und *Lactobacillus helveticus* mit 10<sup>6</sup> lebensfähigen Bifidobakterien pro Gramm („bifidus formula“) angereichert. Im Vergleich zu gestillten Kindern konnten keine signifikanten Unterschiede festgestellt werden. Wobei festzuhalten ist, dass auch hier die Tendenz der höheren Besiedelung der Darmflora durch die untersuchten Bakterienstämme bei den gestillten Kindern aufzufinden ist [Langhendries et al. 1995].

Die Studie von Brück et al. [2006] untersuchte eine präbiotische Formula angereichert mit  $\alpha$ -lac (Alpha-10) (25%  $\alpha$ -lactalbumin, 15% GMP (casein glycomacropeptide )) und eine Formula mit  $\alpha$ -lac mit reduziertem GMP (PSNU) (25%  $\alpha$ -lac, 10% CGMP). Für die Meta-Analyse wurden die Gruppen, mit Hilfe einer Formel aus dem „Cochrane Handbook“, kombiniert. In der Studie konnten zwischen den Gruppen keine signifikanten Unterschiede festgemacht werden [Bruck et al. 2006].

In dieser zweiten Meta-Analyse konnten ebenfalls keine signifikanten Ergebnisse ausgemacht werden. Nur zwei Studien brachten signifikante Unterschiede in der Anzahl der Bakterien zum Vorschein. Eine erhöhte Anzahl der Bacteroides in der Studie von Euler et al. [2005] bei der die Gruppe durch eine mit Fructooligosacchariden angereicherte Formulanahrung ernährt wurde (BF 3.4 / FF 5.9) und ein signifikantes Ergebnis bei der Anzahl der Laktobazillen in der Gruppe der gestillten Säuglinge in der Studie von Brunser et al. [2006] (BF 4.97 / FF 3.88) [Euler et al. 2005; Brunser et al. 2006].

## 5. Schlussbetrachtung

Die Empfehlungen für exklusives Stillen in den ersten sechs Lebensmonaten kommt nicht nur der Gesundheit des Säuglings zugute, sondern auch der stillenden Mutter.

Die Muttermilch ist in ihrer Zusammensetzung und Komplexität einzigartig. Zahlreiche Studien konnten zeigen, dass das Stillen einen positiven Einfluss auf die Darmflora und auf das Immunsystem des Kindes hat.

Die feine Abstimmung der Muttermilch auf den Bedarf des Kindes, ihre Veränderung der Zusammensetzung während der Laktationsphasen, die Aufteilung in Vorder- und Hintermilch, die circadiane Rhythmik, die Einflüsse auf die Darmflora, die antipathogene Wirkung der HMOs und vieles mehr, stellen Aspekte der Komplexität der Muttermilch dar, der kaum mit einer Formulanahrung gleichzukommen ist.

Mitunter aus den hier genannten Gründen gilt Muttermilch als der Goldstandard in der Ernährung des Säuglings.

Der theoretische Teil dieser Arbeit konnte unter anderem die Bedeutung des Stillens einmal mehr hervorheben, im Unterschied zu den, im empirischen Teil durchgeführten, Meta-Analysen. Im Hinblick auf die Besiedelung der Darmflora, konkreter der Anzahl der Bifidobakterien, Laktobazillen und Bacteroides, konnten keine signifikanten Unterschiede zwischen gestillten und formulaernährten Säuglingen festgestellt werden. Ebenfalls gilt dies für die Darmflora von Säuglingen, die mit einer angereicherten Formulanahrung ernährt wurden.

Möglicherweise könnte die Art der Ernährung des Säuglings auf die Anzahl anderer Bakterien einen bedeutenderen Einfluss haben. Beispielsweise konnten die Studien von Penders et al. [2005, 2006] eine höhere Anzahl an *C. difficile* und an *E. coli* bei formulaernährten Säuglingen feststellen [Penders et al. 2005; Penders et al. 2006]. Auch die Untersuchung des Einflusses der Art der Säuglingsnahrung auf Staphylokokken könnte zu signifikanteren Ergebnissen führen. Hier konnte beispielsweise die Studie von Balmer et al. [1994] eine höhere Anzahl bei gestillten Säuglingen feststellen [Balmer et al. 1994].

Ebenfalls sollte bei der Betrachtung dieser Meta-Analysen der Einfluss der Confounder berücksichtigt werden, die von Bedeutung sein können. Zu bedenken gilt hier mitunter die Art des Geburtsvorgangs (vaginal oder chirurgisch), das Gestationsalter, als auch die Art der maternalen Ernährung.

Demnach gilt es festzuhalten, dass anhand der Ergebnisse der hier durchgeführten Meta-Analysen, sich im Hinblick auf die Anzahl der untersuchten Bakterien, keine signifikanten Unterschiede aufgrund der Art der Säuglingsernährung ausmachen ließen.

## 6. Zusammenfassung

Stillen stellt die beste Ernährung für den Säugling dar. Dennoch werden weltweit nur rund 38% der Säuglinge exklusiv in den ersten sechs Lebensmonaten gestillt. Das Stillen legt einen der ersten Grundsteine für die gesundheitliche Entwicklung des Säuglings. Nicht nur, dass das Stillen einen Schutz vor gegenwärtigen Erkrankungen und Infektionen bietet, wirkt es auch präventiv auf etwaige NCDs im späteren Leben. Die Vorteile der Muttermilch wirken also weit über das gegenwärtige Stillen hinaus und bieten einen umfassenderen Schutz vor Krankheiten bis hinein in das spätere Leben.

Bei der vorliegenden Arbeit handelt sich um eine Meta-Analyse bei der untersucht wurde, ob das Stillen einen positiveren Effekt auf die Zusammensetzung der Darm-Mikrobiota des Säuglings hat, als Formulanahrung. Die Literaturrecherche erfolgte von August bis Oktober 2015 in den Online-Datenbanken Embase, Scopus und PubMed. Des Weiteren wurden die Bibliotheksdatenbanken der Fachbereichsbibliothek für Pharmazie und Ernährungswissenschaften sowie der Medizinischen Universität in die Literatursuche miteinbezogen. Eingeschlossen wurden randomisierte kontrollierte Studien, Fall-Kontroll-Studien und Kohortenstudien. Eingeschlossen wurden Studien, welche Säuglinge mit einem Alter zwischen 0-12 Monaten, Reifgeborene (37 vollendete bis < 42 SSW) und Säuglinge mit einem Geburtsgewicht zwischen 2500-4500g untersuchten. Anschließend wurden zwei Analysen mit dem Review Manager der Cochrane Collaboration durchgeführt. In der ersten Analyse wurde die Darmflora gestillter Säuglinge mit der Darmflora von Säuglingen, die mit einer Standard-Formula ernährt wurden, verglichen. Hingegen wurde in der zweiten Analyse die Kolonisierung der Darmflora gestillter Säuglinge mit der Darmflora von Säuglingen, die mit einer angereicherten Formula ernährt wurden, verglichen.

In der ersten Meta-Analyse konnten keine signifikanten Unterschiede zwischen der Darmflora gestillter und nicht gestillter Säuglinge, in Hinblick auf Bifidobakterien (WMD 0.20; 95% CI [-0.30, 0.70];  $p=0.43$ ), Laktobazillen (WMD -0.10; 95% CI [-1.03, 0.82],  $p=0.83$ ) und Bacteroides (WMD -0.32 [-0.83, 0.18];  $p = 0.21$ ) ausgemacht werden. In Bezug auf die Bacteroides lässt sich ein Trend zu einer geringeren Anzahl in gestillten Säuglingen ablesen.

Bei den Ergebnissen der zweiten Meta-Analyse konnten ebenfalls keine signifikanten Unterschiede zwischen Bifidobakterien (WMD 0.10; 95% CI [-0.13, 0.33];  $p=0.40$ ), Laktobazillen (WMD 0.00; 95% CI [-0.44, 0.44];  $p=0.99$ ) und Bacteroides (WMD -0.33 [-1.06, 0.41];  $p = 0.38$ ), zwischen der Darmflora gestillter Säuglinge und jener, die mit einer angereicherten Formula ernährt wurden, festgestellt werden.

Aus dieser Perspektive erscheint die Wirkung der Beimengung von Oligosacchariden in der Formulanahrung fraglich. Zumindest konnten keine Unterschiede zwischen den mit Fructo- oder Galactooligosacchariden versetzten Formulanahrungen und den Standard-Formulanahrungen, hinsichtlich der Anzahl der Bifidobakterien, der Laktobazillen oder der Bacteroides, ausgemacht werden.

Wenngleich die Meta-Analysen keine signifikanten Ergebnisse liefern konnten, bedeutet das nicht, dass das Stillen nicht weiter als „Goldstandard“ der Ernährung des Säuglings betrachtet werden sollte. Zahlreiche Studien zeigen die Komplexität der Muttermilch auf, der industrielle Formulanahrung nicht gerecht werden kann. Die Ernährung des Säuglings mit Formula stellt zwar eine gute Alternative dar, sollte die Möglichkeit zu Stillen nicht gegeben sein, doch kann diese keineswegs als gleichwertiger Ersatz betrachtet werden.

## 7. Summary

Breastfeeding is the best nutrition for the infant. Nevertheless, just around 38% of the infants worldwide are exclusively breastfed for the first six months of their life. Breastfeeding is one of the first foundation stones for the health development of the infant. Breastfeeding not only provides protection against present diseases and infections, it also acts preventively on any NCDs later in life. Not only during the period of breastfeeding the infant can benefit from breast milk, because it provides protection against diseases up to later life.

The present work is a meta-analysis in which it was investigated, if breastfeeding has a more positive effect on the composition of the intestinal microbiota of the infant than formula feeding. The literature research was carried out from August to October 2015 in the online databases Embase, Scopus and PubMed. Furthermore, the library databases of Pharmacy and Nutritional Sciences as well as the library of the Medical University of Vienna were included in my research on literature. Randomized controlled trials, case-control studies and cohort studies were included. Studies were included if the age of the investigated infants were between 0-12 months, full-term infants (37 completed to <42 weeks) and infants with a birth weight between 2500-4500g. Subsequently two analyses were performed with the Review Manager of the Cochrane Collaboration. In the first analysis the intestinal flora of breast-fed infants was compared to the intestinal flora of infants who have been fed a standard formula. In the second analysis, the colonization of intestinal flora of breast-fed infants was compared to the intestinal flora of infants who have been fed with an enriched formula.

In the first analysis no significant differences were observed between the intestinal flora of breast-fed and non breast-fed infants in relation of bifidobacteria (WMD 0.20; 95% CI [-0.30, 0.70];  $p=0.43$ ), lactobacilli (WMD -0.10; 95% CI [-1.03, 0.82],  $p=0.83$ ) and bacteroides (WMD -0.32 [-0.83, 0.18];  $p = 0.21$ ). Regarding to the bacteroides there is a trend of lower counts in breastfed infants.

In the second analysis no significant differences were noticed regarding bifidobacteria (WMD 0.10; 95% CI [-0.13, 0.33];  $p=0.40$ ), lactobacilli (WMD 0.00; 95% CI [-0.44,

0.44];  $p=0.99$ ) and bacteroides (WMD -0.33 [-1.06, 0.41];  $p = 0.38$ ) between the intestinal flora of breast-fed infants and those who were fed with an enriched formula.

According to this perspective the effect of the addition of oligosaccharides to infant formula is questionable. At least no differences between fructo- or galactooligosaccharides enriched-formulas and standard-formulas were observed in relation to bifidobacteria, lactobacilli and bacteroides.

Although the meta-analyses could not provide significant results, breastfeeding should further be considered as the “gold standard” for nourishing infants. Numerous studies demonstrate the complexity of breast milk, which industrial formula can not provide. Although the diet of the infant with formula provides a good alternative, if the opportunity of breastfeeding is not given, but formula cannot be regarded as an equivalent replacement.

## 8. Literaturverzeichnis

- AAP.** 2012. 'Breastfeeding and the use of human milk', *American Academy of Paediatrics (AAP)*.
- Adlerberth, I.** 2008. 'Factors influencing the establishment of the intestinal microbiota in infancy.' in, *Personalized Nutrition for the Diverse Needs of Infants and Children: 62nd Nestle Nutrition Workshop, Pediatric Program* (S. Karger AG).
- Adlerberth, I., and A. E. Wold.** 2009. 'Establishment of the gut microbiota in Western infants', *Acta Paediatrica, International Journal of Paediatrics*, 98: 229-38.
- Agostoni, C., C. Braegger, T. Decsi, S. Kolacek, B. Koletzko, K. F. Michaelsen, W. Mihatsch, L. A. Moreno, J. Puntis, R. Shamir, H. Szajewska, D. Turck, and J. van Goudoever.** 2009. 'Breast-feeding: A commentary by the ESPGHAN Committee on Nutrition', *J Pediatr Gastroenterol Nutr*, 49: 112-25.
- Ajetunmobi, O. M., B. Whyte, J. Chalmers, D. M. Tappin, L. Wolfson, M. Fleming, A. MacDonald, R. Wood, and D. L. Stockton.** 2015. 'Breastfeeding is associated with reduced childhood hospitalization: evidence from a Scottish Birth Cohort (1997-2009)'.
- Anderson, J. W., D. T. Johnstone Bm Fau - Remley, and D. T. Remley.** 1999. 'Breast-feeding and cognitive development: a meta-analysis'.
- Andreas, N. J., B. Kampmann, and K. Mehning Le-Doare.** 2015. 'Human breast milk: A review on its composition and bioactivity'.
- Assuncao, M. L., H. S. Ferreira, S. B. Coutinho, L. M. Santos, and B. L. Horta.** 2015. 'Protective effect of breastfeeding against overweight can be detected as early as the second year of life: a study of children from one of the most socially-deprived areas of Brazil', *J Health Popul Nutr*, 33: 85-91.
- Azad, M. B., T. Konya, H. Maughan, D. S. Guttman, C. J. Field, R. S. Chari, M. R. Sears, A. B. Becker, J. A. Scott, and A. L. Kozyrskyj.** 2013. 'Gut microbiota of healthy Canadian infants: profiles by mode of delivery and infant diet at 4 months', *CMAJ*, 185: 385-94.
- Ballard, O., and A. L. Morrow.** 2013. 'Human milk composition: nutrients and bioactive factors'.
- Balmer, S. E., L. S. Hanvey, and B. A. Wharton.** 1994. 'Diet and faecal flora in the newborn: Nucleotides', *Archives of Disease in Childhood*, 70: F137-F40.



- Balmer, S. E., and B. A. Wharton.** 1989. 'Diet and faecal flora in the newborn: Breast milk and infant formula', *Archives of Disease in Childhood*, 64: 1672-77.
- Ben, X. M., Zong-Tai Li J Fau - Feng, Sheng-Yun Feng Zt Fau - Shi, Ya-Dong Shi Sy Fau - Lu, Rui Lu Yd Fau - Chen, Xiao-Yu Chen R Fau - Zhou, and X. Y. Zhou.** 2008. 'Low level of galacto-oligosaccharide in infant formula stimulates growth of intestinal Bifidobacteria and Lactobacilli'.
- Benno, Y., K. Sawada, and T. Mitsuoka.** 1984a. 'The intestinal microflora of infants: composition of fecal flora in breast-fed and bottle-fed infants', *Microbiology and Immunology*, 28: 975-86.
- . 1984b. 'The intestinal microflora of infants: composition of fecal flora in breast-fed and bottle-fed infants', *Microbiol Immunol*, 28: 975-86.
- Bezirtoglou, E., A. Tsiotsias, and G. W. Welling.** 2011. 'Microbiota profile in feces of breast- and formula-fed newborns by using fluorescence in situ hybridization (FISH)', *Anaerobe*, 17: 478-82.
- BfR.** 2007. 'Säuglingsnahrung aus Sojaweiß ist kein Ersatz für Kuhmilchprodukte', Accessed 30.3.2016.  
[http://www.bfr.bund.de/cm/343/saeuglingsnahrung\\_aus\\_sojaweiß\\_ist\\_kein\\_ersatz\\_fuer\\_kuhmilchprodukte.pdf](http://www.bfr.bund.de/cm/343/saeuglingsnahrung_aus_sojaweiß_ist_kein_ersatz_fuer_kuhmilchprodukte.pdf).
- . 2012. 'Bundesinstitut für Risikobewertung. Unterschiede in der Zusammensetzung von Muttermilch und industriell hergestellter Säuglingsanfangs- und Folgenahrung und Auswirkungen auf die Gesundheit von Säuglingen.', Accessed 16.1.2016.  
<http://www.bfr.bund.de/cm/343/unterschiede-in-der-zusammensetzung-von-muttermilch-und-industriell-hergestellter-saeuglingsanfangs-und-folgenahrung.pdf>.
- Bruck, W. M., M. Redgrave, K. M. Tuohy, B. Lonnerdal, G. Graverholt, O. Hernell, and G. R. Gibson.** 2006. 'Effects of bovine alpha-lactalbumin and casein glycomacropeptide-enriched infant formulae on faecal microbiota in healthy term infants', *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition*, 43: 673-79.
- Brunser, O., G. Figueroa, M. Gotteland, E. Haschke-Becher, C. Magliola, F. Rochat, S. Cruchet, R. Palframan, G. Gibson, F. Chauffard, and F. Haschke.** 2006. 'Effects of probiotic or prebiotic supplemented milk formulas on fecal microbiota composition of infants', *Asia Pacific Journal of Clinical Nutrition*, 15: 368-76.

- Chichlowski, M., J. B. German, C. B. Lebrilla, and D. A. Mills.** 2011. 'The influence of milk oligosaccharides on microbiota of infants: opportunities for formulas', *Annual review of food science and technology*, 2: 331-51.
- Closa-Monasterolo, R., M. Gispert-Llaurado, V. Luque, N. Ferre, C. Rubio-Torrents, M. Zaragoza-Jordana, and J. Escribano.** 2013. 'Safety and efficacy of inulin and oligofructose supplementation in infant formula: Results from a randomized clinical trial', *Clinical Nutrition*, 32: 918-27.
- Coppa, G. V., O. Gabrielli, L. Zampini, T. Galeazzi, A. Ficcadenti, L. Padella, L. Santoro, S. Soldi, A. Carlucci, E. Bertino, and L. Morelli.** 2011. 'Oligosaccharides in 4 different milk groups, bifidobacteria, and ruminococcus obeum', *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition*, 53: 80-87.
- Coppa, G. V., L. Zampini, T. Galeazzi, and O. Gabrielli.** 2006. 'Prebiotics in human milk: a review', *Digestive and Liver Disease*, 38: S291-S94.
- Curria, A., and K. Peterson.** 2011. 'Practical Application of Osmometry for the Evaluation of Human Milk and Infant Nutritional Products in the Neonatal Intensive Care Setting', Accessed 30.3.2016. <http://www.aicompanies.com/documents/file/PAS2011-3320MBM.pdf>.
- DACH.** 2015. *Referenzwerte für die Nährstoffzufuhr* (Deutsche Gesellschaft für Ernährung, Österreichische Gesellschaft für Ernährung, Schweizerische Gesellschaft für Ernährung: 2. Auflage, 1. Ausgabe, Bonn).
- Daniels, M. C., and L. S. Adair.** 2005. 'Breast-feeding influences cognitive development in Filipino children', *J Nutr*, 135: 2589-95.
- Euler, A. R., D. K. Mitchell, R. Kline, and L. K. Pickering.** 2005. 'Prebiotic effect of fructo-oligosaccharide supplemented term infant formula at two concentrations compared with unsupplemented formula and human milk', *J Pediatr Gastroenterol Nutr*, 40: 157-64.
- Fallani, M., S. Amarri, A. Uusijarvi, R. Adam, S. Khanna, M. Aguilera, A. Gil, J. M. Vieites, E. Norin, D. Young, J. A. Scott, J. Dore, and C. A. Edwards.** 2011. 'Determinants of the human infant intestinal microbiota after the introduction of first complementary foods in infant samples from five European centres', *Microbiology*, 157: 1385-92.
- Fan, W., G. Huo, X. Li, L. Yang, C. Duan, T. Wang, and J. Chen.** 2013. 'Diversity of the intestinal microbiota in different patterns of feeding infants by Illumina high-

- throughput sequencing', *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 29: 2365-72.
- Fanaro, S., R. Chierici, P. Guerrini, and V. Vigi.** 2003. 'Intestinal microflora in early infancy: Composition and development', *Acta Paediatrica, International Journal of Paediatrics, Supplement*, 91: 48-55.
- Favier, C. F., W. M. de Vos, and A. D. Akkermans.** 2003. 'Development of bacterial and bifidobacterial communities in feces of newborn babies', *Anaerobe*, 9: 219-29.
- Ferdouse, and Monirujjaman.** 2010. 'Human Milk Oligosaccharides important for infant defense.', *Nova Journal of Medical and Biological Sciences.*, Vol 2(2), 2014:1-7.
- Grenham, S., G. Clarke, J. F. Cryan, and T. G. Dinan.** 2011. 'Brain-gut-microbe communication in health and disease', *Front Physiol*, 2: 94.
- Guaraldi, F., and G. Salvatori.** 2012. 'Effect of breast and formula feeding on gut microbiota shaping in newborns', *Frontiers in cellular and infection microbiology*, 2: 94.
- Guarner, F., and J. R. Malagelada.** 2003. 'Gut flora in health and disease', *Lancet*, 361: 512-9.
- Haarman, M., and J. Knol.** 2005. 'Quantitative real-time PCR assays to identify and quantify fecal Bifidobacterium species in infants receiving a prebiotic infant formula', *Applied and environmental microbiology*, 71: 2318-24.
- Harmsen, H. J. M., A. C. M. Wildeboer-Veloo, G. C. Raangs, A. A. Wagendorp, N. Klijn, J. G. Bindels, and G. W. Welling.** 2000a. 'Analysis of intestinal flora development in breast-fed and formula-fed infants by using molecular identification and detection methods', *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition*, 30: 61-67.
- Harmsen, H. J., A. C. Wildeboer-Veloo, G. C. Raangs, A. A. Wagendorp, N. Klijn, J. G. Bindels, and G. W. Welling.** 2000b. 'Analysis of intestinal flora development in breast-fed and formula-fed infants by using molecular identification and detection methods', *J Pediatr Gastroenterol Nutr*, 30: 61-7.
- Heikkila, M. P., and P. E. Saris.** 2003. 'Inhibition of Staphylococcus aureus by the commensal bacteria of human milk', *J Appl Microbiol*, 95: 471-8.
- Hennet, T., A. Weiss, and L. Borsig.** 2014. 'Decoding breast milk oligosaccharides', *Swiss Medical Weekly*, 144: w13927.

- Higgins, JPT., and S. Green.** 2011. 'Cochrane Handbook for Systematic Reviews of Interventions Version 5.1.0 [updated March 2011]. The Cochrane Collaboration, 2011. Available from <http://www.chochrane-handbook.org/>'.
- Horta, B. L., C. Loret de Mola, and C. G. Victora.** 2015. 'Long-term consequences of breastfeeding on cholesterol, obesity, systolic blood pressure and type 2 diabetes: a systematic review and meta-analysis', *Acta Paediatr*, 104: 30-7.
- Horta, B. L., and C. G. Victora.** 2013. 'Long-term effects of breastfeeding-a systematic review', *WHO*.
- Hunt, K. M., J. A. Foster, L. J. Forney, U. M. Schutte, D. L. Beck, Z. Abdo, L. K. Fox, J. E. Williams, M. K. McGuire, and M. A. McGuire.** 2011. 'Characterization of the diversity and temporal stability of bacterial communities in human milk', *PLoS One*, 6: e21313.
- Ip, S., M. Chung, G. Raman, P. Chew, N. Magula, D. DeVine, T. Trikalinos, and J. Lau.** 2007. 'Breastfeeding and maternal and infant health outcomes in developed countries', *Evid Rep Technol Assess (Full Rep)*: 1-186.
- Knol, J., P. Scholtens, C. Kafka, J. Steenbakkers, S. Gro, K. Helm, M. Klarczyk, H. Schopfer, H. M. Bockler, and J. Wells.** 2005. 'Colon microflora in infants fed formula with galacto- and fructo-oligosaccharides: more like breast-fed infants', *J Pediatr Gastroenterol Nutr*, 40: 36-42.
- Koenig, J. E., A. Spor, N. Scalfone, A. D. Fricker, J. Stombaugh, R. Knight, L. T. Angenent, and R. E. Ley.** 2011. 'Succession of microbial consortia in the developing infant gut microbiome', *Proc Natl Acad Sci U S A*, 108 Suppl 1: 4578-85.
- Koletzko, B., Geoff Baker S Fau - Cleghorn, Ulysses Fagundes Cleghorn G Fau - Neto, Sarath Neto Uf Fau - Gopalan, Olle Gopalan S Fau - Hernell, Quak Seng Hernell O Fau - Hock, Pipop Hock Qs Fau - Jirapinyo, Bo Jirapinyo P Fau - Lonnerdal, Paul Lonnerdal B Fau - Pencharz, Hildegard Pencharz P Fau - Pzyrembel, Jaime Pzyrembel H Fau - Ramirez-Mayans, Raanan Ramirez-Mayans J Fau - Shamir, Dominique Shamir R Fau - Turck, Yuichiro Turck D Fau - Yamashiro, Ding Yamashiro Y Fau - Zong-Yi, and D. Zong-Yi.** 2005. 'Global standard for the composition of infant formula: recommendations of an ESPGHAN coordinated international expert group'.

- Koletzko, B., H. Rodriguez-Palmero M Fau - Demmelmair, N. Demmelmair H Fau - Fidler, R. Fidler N Fau - Jensen, T. Jensen R Fau - Sauerwald, and T. Sauerwald.** 2001. 'Physiological aspects of human milk lipids'.
- Kramer, M. S., Elena Aboud F Fau - Mironova, Irina Mironova E Fau - Vanilovich, Robert W. Vanilovich I Fau - Platt, Lidia Platt Rw Fau - Matush, Sergei Matush L Fau - Igumnov, Eric Igumnov S Fau - Fombonne, Natalia Fombonne E Fau - Bogdanovich, Thierry Bogdanovich N Fau - Ducruet, Jean-Paul Ducruet T Fau - Collet, Beverley Collet Jp Fau - Chalmers, Ellen Chalmers B Fau - Hodnett, Sergei Hodnett E Fau - Davidovsky, Oleg Davidovsky S Fau - Skugarevsky, Oleg Skugarevsky O Fau - Trofimovich, Ludmila Trofimovich O Fau - Kozlova, Stanley Kozlova L Fau - Shapiro, and S. Shapiro.** 2008. 'Breastfeeding and child cognitive development: new evidence from a large randomized trial'.
- Ladomenou, F., Anthony Moschandreas J Fau - Kafatos, Yiannis Kafatos A Fau - Tselentis, Emmanouil Tselentis Y Fau - Galanakis, and E. Galanakis.** 2010. 'Protective effect of exclusive breastfeeding against infections during infancy: a prospective study'.
- Langhendries, J. P., J. Detry, J. V. Hees, J. M. Lamboray, J. Darimont, M. J. Mozin, M. C. Secretin, and J. Senterre.** 1995. 'Effect of a fermented infant formula containing viable bifidobacteria on the fecal flora composition and pH of healthy full-term infants', *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition*, 21: 177-81.
- LGL.** 2012. 'Bayerisches Landesamt für Gesundheit und Lebensmittelsicherheit. Stillen.', Accessed 16.1.2016. <http://www.lgl.bayern.de/gesundheit/praevention/kindergesundheit/stillen/index.htm>.
- Li, R., D. Dee, C. M. Li, H. J. Hoffman, and L. M. Grummer-Strawn.** 2014. 'Breastfeeding and risk of infections at 6 years', *Pediatrics*, 134 Suppl 1: S13-20.
- Lonnerdal, B.** 2003. 'Nutritional and physiologic significance of human milk proteins'.
- Mackie, R. I., A. Sghir, and H. R. Gaskins.** 1999. 'Developmental microbial ecology of the neonatal gastrointestinal tract', *American Journal of Clinical Nutrition*, 69: 1035S-45S.

- Mariat, D., O. Firmesse, F. Levenez, V. Guimaraes, H. Sokol, J. Dore, G. Corthier, and J. P. Furet.** 2009. 'The Firmicutes/Bacteroidetes ratio of the human microbiota changes with age', *BMC Microbiol*, 9: 123.
- Marques, T. M., R. Wall, R. P. Ross, G. F. Fitzgerald, C. A. Ryan, and C. Stanton.** 2010. 'Programming infant gut microbiota: Influence of dietary and environmental factors', *Current Opinion in Biotechnology*, 21: 149-56.
- Martin, M.A., and D.A. Sela.** 2013. 'Infant Gut Microbiota: Developmental Influences and Health Outcomes'.
- Moro, G. E., F. Mosca, V. Miniello, S. Fanaro, J. Jelinek, B. Stahl, and G. Boehm.** 2003. 'Effects of a new mixture of prebiotics on faecal flora and stools in term infants', *Acta Paediatrica, International Journal of Paediatrics, Supplement*, 91: 77-79.
- Moro, G. E., B. Stahl, S. Fanaro, J. Jelinek, G. Boehm, and G. V. Coppa.** 2005. 'Dietary prebiotic oligosaccharides are detectable in the faeces of formula-fed infants', *Acta Paediatrica, International Journal of Paediatrics*, 94: 27-30.
- Morrow, A. L., G. M. Ruiz-Palacios, M. Altaye, X. Jiang, M. L. Guerrero, J. K. Meinzen-Derr, T. Farkas, P. Chaturvedi, L. K. Pickering, and D. S. Newburg.** 2004. 'Human milk oligosaccharides are associated with protection against diarrhea in breast-fed infants', *J Pediatr*, 145: 297-303.
- O'Sullivan, Aifric, Marie Farver, and Jennifer T. Smilowitz.** 2015. 'The Influence of Early Infant-Feeding Practices on the Intestinal Microbiome and Body Composition in Infants', *Nutrition and Metabolic Insights*, 8: 1-9.
- Oddy, W. H., T. A. Mori, R. C. Huang, J. A. Marsh, C. E. Pennell, P. T. Chivers, B. P. Hands, P. Jacoby, P. Rzehak, B. V. Koletzko, and L. J. Beilin.** 2014. 'Early infant feeding and adiposity risk: from infancy to adulthood', *Ann Nutr Metab*, 64: 262-70.
- Palmer, C., E. M. Bik, D. B. DiGiulio, D. A. Relman, and P. O. Brown.** 2007. 'Development of the human infant intestinal microbiota', *PLoS biology*, 5: 1556-73.
- Penders, J., C. Thijs, C. Vink, F. F. Stelma, B. Snijders, I. Kummeling, P. A. Van Den Brandt, and E. E. Stobberingh.** 2006. 'Factors influencing the composition of the intestinal microbiota in early infancy', *Pediatrics*, 118: 511-21.

- Penders, J., C. Vink, C. Driessen, N. London, C. Thijs, and E. E. Stobberingh.** 2005. 'Quantification of Bifidobacterium spp., Escherichia coli and Clostridium difficile in faecal samples of breast-fed and formula-fed infants by real-time PCR', *FEMS Microbiology Letters*, 243: 141-47.
- RIS.** 2016, BGBl. II Nr. 109/2014. 'Bundeskanzleramt Rechtsinformationssystem. Verordnung der Bundesministerin für Gesundheit, Familie und Jugend über Säuglingsanfangsnahrung und Folgenahrung.', Accessed 17.1.2016. <https://www.ris.bka.gv.at/GeltendeFassung.wxe?Abfrage=Bundesnormen&Gesetzesnummer=20005699&ShowPrintPreview=True>.
- Rochat, F., C. Cherbut, D. Barclay, G. Puccio, A. Fazzolari-Nesci, D. Grathwohl, and F. Haschke.** 2007. 'A whey-predominant formula induces fecal microbiota similar to that found in breast-fed infants', *Nutrition Research*, 27: 735-40.
- Rubaltelli, F. F., R. Biadaoli, P. Pecile, and P. Nicoletti.** 1998. 'Intestinal flora in breast- and bottle-fed infants', *Journal of Perinatal Medicine*, 26: 186-91.
- Sadauskaite-Kuehne, V., Zilvinas Ludvigsson J Fau - Padaiga, Edita Padaiga Z Fau - Jasinskiene, Ulf Jasinskiene E Fau - Samuelsson, and U. Samuelsson.** 2004. 'Longer breastfeeding is an independent protective factor against development of type 1 diabetes mellitus in childhood'.
- Satokari, R. M., E. E. Vaughan, C. F. Favier, J. Dore, C. Edwards, and W. M. De Vos.** 2002. 'Diversity of Bifidobacterium and Lactobacillus spp. in breast-fed and formula-fed infants as assessed by 16S rDNA sequence differences', *Microbial Ecology in Health and Disease*, 14: 97-105.
- Scholtens, P. A., P. Alliet, M. Raes, M. S. Alles, H. Kroes, G. Boehm, L. M. Knippels, J. Knol, and Y. Vandenplas.** 2008. 'Fecal secretory immunoglobulin A is increased in healthy infants who receive a formula with short-chain galacto-oligosaccharides and long-chain fructo-oligosaccharides', *J Nutr*, 138: 1141-7.
- Sherman, P. M., M. Cabana, G. R. Gibson, B. V. Koletzko, J. Neu, G. Veereman-Wauters, E. E. Ziegler, and W. A. Walker.** 2009. 'Potential Roles and Clinical Utility of Prebiotics in Newborns, Infants, and Children: Proceedings from a Global Prebiotic Summit Meeting, New York City, June 27-28, 2008', *Journal of Pediatrics*, 155: S61-S70.
- Sierra, C., M. J. Bernal, J. Blasco, R. Martinez, J. Dalmau, I. Ortuno, B. Espin, M. I. Vasallo, D. Gil, M. L. Vidal, D. Infante, R. Leis, J. Maldonado, J. M. Moreno, and E. Roman.** 2015. 'Prebiotic effect during the first year of life in

- healthy infants fed formula containing GOS as the only prebiotic: a multicentre, randomised, double-blind and placebo-controlled trial', *Eur J Nutr*, 54: 89-99.
- Smilowitz, J. T., David A. Lebrilla Cb Fau - Mills, J. Bruce Mills Da Fau - German, Samara L. German Jb Fau - Freeman, and S. L. Freeman.** 2014. 'Breast milk oligosaccharides: structure-function relationships in the neonate'.
- Soto, A., V. Martin, E. Jimenez, I. Mader, J. M. Rodriguez, and L. Fernandez.** 2014. 'Lactobacilli and bifidobacteria in human breast milk: influence of antibiotherapy and other host and clinical factors', *J Pediatr Gastroenterol Nutr*, 59: 78-88.
- Stark, P. L., and A. Lee.** 1982. 'The microbial ecology of the large bowel of breast-fed and formula-fed infants during the first year of life', *J Med Microbiol*, 15: 189-203.
- Unicef.** 2015. 'Breastfeeding Advocacy Initiative. ', Accessed 18.1.2016. [http://www.unicef.org/nutrition/files/Breastfeeding\\_Advocacy\\_Strategy-2015.pdf](http://www.unicef.org/nutrition/files/Breastfeeding_Advocacy_Strategy-2015.pdf).
- Vandenplas, Y.** 2002. 'Oligosaccharides in infant formula', *British Journal of Nutrition*, 87: S293-S96.
- Victora, C. G., R. Bahl, A. J. Barros, G. V. Franca, S. Horton, J. Krasevec, S. Murch, M. J. Sankar, N. Walker, and N. C. Rollins.** 2016. 'Breastfeeding in the 21st century: epidemiology, mechanisms, and lifelong effect'.
- Vivatvakin, B., Apiradee Mahayosnond A Fau - Theamboonlers, Philippe G. Theamboonlers A Fau - Steenhout, Nelly J. Steenhout Pg Fau - Conus, and N. J. Conus.** 2010. 'Effect of a whey-predominant starter formula containing LCPUFAs and oligosaccharides (FOS/GOS) on gastrointestinal comfort in infants'.
- Ward, Robert E., Milady Niñonuevo, David A. Mills, Carlito B. Lebrilla, and J. Bruce German.** 2006. 'In Vitro Fermentation of Breast Milk Oligosaccharides by Bifidobacterium infantis and Lactobacillus gasseri', *Applied and environmental microbiology*, 72: 4497-99.
- Weng, M., and W. A. Walker.** 2013. 'The role of gut microbiota in programming the immune phenotype', *J Dev Orig Health Dis*, 4: 203-14.
- WHO.** 2014. 'Global Nutrition Targets 2025: Breastfeeding policy brief', Accessed 18.1.2016. [http://www.who.int/nutrition/publications/globaltargets2025\\_policybrief\\_breastfeeding/en/](http://www.who.int/nutrition/publications/globaltargets2025_policybrief_breastfeeding/en/).



- . 2015. 'Global Targets 2025. To improve maternal, infant and young child nutrition.', Accessed 18.1.2016. <http://www.who.int/nutrition/global-target-2025/en/>.
- . 2016. 'Infant and young child feeding. ', Accessed 18.1.2016. <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs342/en/>.
- Yang, I., E. J. Corwin, P. A. Brennan, S. Jordan, J. R. Murphy, and A. Dunlop.** 2016. 'The Infant Microbiome: Implications for Infant Health and Neurocognitive Development', *Nurs Res*, 65: 76-88.
- Zheng, J. S., H. Liu, J. Li, Y. Chen, C. Wei, G. Shen, S. Zhu, H. Chen, Y. M. Zhao, T. Huang, and D. Li.** 2014. 'Exclusive breastfeeding is inversely associated with risk of childhood overweight in a large Chinese cohort'.
- Zock, P. L., M. B. de Vries Jh Fau - Katan, and M. B. Katan.** 1994. 'Impact of myristic acid versus palmitic acid on serum lipid and lipoprotein levels in healthy women and men'.