

## ORIGINAL ARTICLE

# A mixture of prebiotic oligosaccharides reduces the incidence of atopic dermatitis during the first six months of age

G Moro, S Arslanoglu, B Stahl, J Jelinek, U Wahn, G Boehm



*Arch Dis Child* 2006;91:814–819. doi: 10.1136/adc.2006.098251

See end of article for authors' affiliations

Correspondence to:  
Prof. Dr. med. habil. G  
Boehm, Numico Research  
Germany, Bahnstr. 14–30,  
61381 Friedrichsdorf,  
Germany; guenther.  
boehm@milupa.de

Accepted 19 June 2006  
Published Online First  
27 July 2006

**Background:** Oligosaccharides may alter postnatal immune development by influencing the constitution of gastrointestinal bacterial flora.

**Aims:** To investigate the effect of a prebiotic mixture of galacto- and long chain fructo-oligosaccharides on the incidence of atopic dermatitis (AD) during the first six months of life in formula fed infants at high risk of atopy.

**Methods:** Prospective, double-blind, randomised, placebo controlled trial; 259 infants at risk for atopy were enrolled. A total of 102 infants in the prebiotic group and 104 infants in the placebo group completed the study. If bottle feeding was started, the infant was randomly assigned to one of two hydrolysed protein formula groups (0.8 g/100 ml prebiotics or maltodextrine as placebo). All infants were examined for clinical evidence of atopic dermatitis. In a subgroup of 98 infants, faecal flora was analysed.

**Results:** Ten infants (9.8%; 95% CI 5.4–17.1%) in the intervention group and 24 infants (23.1%; 95% CI 16.0–32.1%) in the control group developed AD. The severity of the dermatitis was not affected by diet. Prebiotic supplements were associated with a significantly higher number of faecal bifidobacteria compared with controls but there was no significant difference in lactobacilli counts.

**Conclusion:** Results show for the first time a beneficial effect of prebiotics on the development of atopic dermatitis in a high risk population of infants. Although the mechanism of this effect requires further investigation, it appears likely that oligosaccharides modulate postnatal immune development by altering bowel flora and have a potential role in primary allergy prevention during infancy.

The prevalence of atopic diseases has steadily increased during the last decade in developed countries.<sup>1–3</sup> The composition of the intestinal flora plays a key role in postnatal development of the immune system.<sup>4</sup> In human milk, neutral oligosaccharides are an important factor that promotes an intestinal flora dominated by bifidobacteria and lactobacilli.<sup>5,6</sup> Based on the analysis of human milk oligosaccharides, a prebiotic mixture of 90% short chain galacto-oligosaccharides (GOS) and 10% long chain fructo-oligosaccharides (FOS) has been developed.<sup>7,8</sup> Studies in preterm<sup>9</sup> and term<sup>10–12</sup> infants have shown that feed supplementation with GOS/FOS produces an intestinal flora similar to that found in breast fed infants. Atopic dermatitis (AD) is usually the first manifestation of allergy during early infancy. It has been reported that AD is associated with delayed maturation of TH1 immune responses during early infancy with raised total IgE and specific IgE to dietary antigens in the serum.<sup>13</sup> Infants with early onset allergic disease are also at risk of other manifestations of allergic disease, a phenomenon described as the allergic march.<sup>14</sup> The intestinal flora is part of a complex ecosystem and many of its constituent bacteria remain unidentified.<sup>15</sup> However, there is strong evidence that the intestinal flora influences the postnatal development of the immune system.<sup>16</sup> Stimulation of the entire intestinal flora by prebiotics might be a more effective method of altering immune development than by adding a single bacterial species to the intestinal ecosystem. However, positive results with probiotics<sup>17</sup> have been reported. The present study was designed to investigate the effect of supplementing infant formula feed with 0.8 g/100 ml of a mixture of GOS/FOS on the incidence of AD during the first six months of life. We hypothesised that the prebiotic

formula would significantly reduce the cumulative incidence of AD in high risk infants at 6 months of age compared with an unsupplemented control group fed an identical formula.

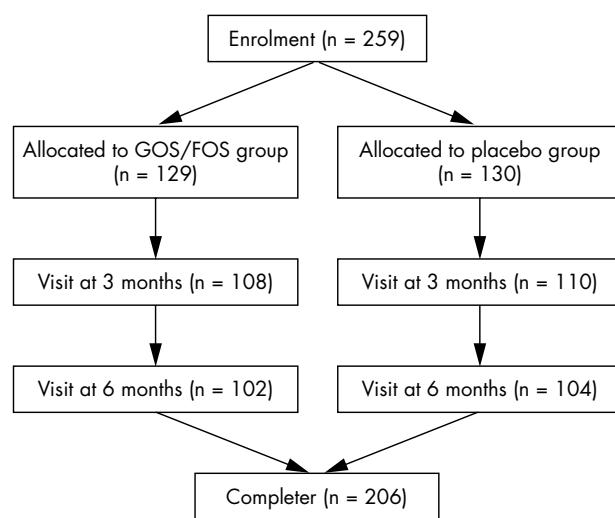
## STUDY POPULATION AND METHODS

The study was a double blind, randomised, placebo controlled trial using a parallel group design. Written parental informed consent was obtained from each participating family and the study protocol was approved by the Ethical Committee of the Macedonio Melloni Maternity Hospital, Milan, Italy. Term infants born between 1 April 2003 and 31 March 2005 at the Macedonio Melloni Maternity Hospital, Milan and with a parental history of atopic eczema, allergic rhinitis, or asthma in either mother or father were eligible for the study. In all cases the parental diagnosis was based on a documented physician's certification.

According to the hospital's policy, breast feeding was recommended to all mothers.

The parents were informed about the study at discharge from the maternity unit and were asked to contact the hospital if they started formula feeding. Inclusion criteria were: gestational age between 37 and 42 weeks, birth weight appropriate for gestational age, and start of formula feeding within the first two weeks of life. When the mother contacted the hospital, the infants were randomly assigned to one of two formula feeds. The recipe of both formulae was based on a hypoallergenic formula with extensively hydrolysed cows' milk whey protein and was supplemented either with 0.8 g GOS/FOS per 100 ml or a 0.8 g maltodextrin/100 ml as

**Abbreviations:** AD, atopic dermatitis; FOS, fructo-oligosaccharides; GOS, galacto-oligosaccharides; HMOS, human milk oligosaccharides



**Figure 1** Disposition of all subjects enrolled in the study.

placebo. Randomisation was by means of a random numbers table and blinding was maintained by coding the two trial formulae with the suffix "N" or "O" to the product name.

The study formulae were fed ad libitum.

Mixed breast and bottle feeding was accepted until the sixth week of life. When the mother started formula feeding according to the inclusion criteria but continued breast feeding for more than six weeks, the infant was excluded from the study.

Study infants were seen on a monthly basis. The parents were interviewed with the aid of a diary. The results obtained before starting test formula feeding (examination day 1) and at the age of 3 and 6 months (examination days 2 and 3, respectively) were used for this analysis.

At each visit the infant's skin was examined for AD according to the diagnostic criteria described by Harrigan and Rabinowitz<sup>17</sup> and Muraro *et al.*<sup>18</sup> The diagnosis of AD was confirmed if the following features were detected: pruritus, involvement of the face, skull facial and/or extensor part of the extremities, and a minimal duration of the symptoms of four weeks.

The severity of the skin alterations was scored by the SCORAD index based on extension, intensity of the skin

symptoms, as well as on the subjective symptoms of pruritus and sleep loss as recommended by the European Task Force on AD.<sup>19,20</sup> The extent of AD was determined by using the SCORAD figure for infants under 2 years. Subjective symptoms and information concerning stool frequency and consistency were obtained during the interviews of the parents based on their diary record. All examinations and interviews were performed exclusively by two of the authors (GM and SA). Anthropometric measurements and recording of crying, regurgitation, vomiting, and stool characteristics were used as secondary parameters to describe safety as well as acceptance and tolerance. For all infants, growth parameters were measured at each study visit. Body weight was measured using a scale with an accuracy of  $\pm 5$  g. The crown–heel length was measured using a special board for newborn and infants with an accuracy of  $\pm 1$  mm and the head circumference was measured using a metal tape with accuracy  $\pm 1$  mm.

The incidence of crying (score 1–3: 1 = practically not crying; 2 = crying in connection with feeding; 3 = crying independently from the meals), regurgitation (score 1–3: 1 = 0; 2 = 1–2; 3 = >2 regurgitations per day), and vomiting (score 1–3: 1 = 0; 2 = 1; 3 = >1 vomiting episodes per day) was recorded on the basis of the parent's interview.

Stool characteristics were recorded with respect to consistency (score 1–5: 1 = watery; 2 = soft; 3 = seedy; 4 = formed; 5 = hard) and frequency. Stool consistency was evaluated on the basis of the appearance of the fresh sample used for the analysis, the questionnaire, and the report of the parents during the interview. The consistency of each stool sample was recorded on the day before the study day; the mean of the scores obtained was used to characterise the stool consistency of that day.

In a subgroup of 98 infants, the parents agreed to collect stool samples for microbiological analysis. The stool samples were obtained at all three examination visits. A volume of 0.2 g of a fresh faecal sample was homogenised in a cryoprotective glycerol transport medium (glycerol 10 ml, oxford 0.1 g, water to 100 ml) and immediately frozen at  $-80^{\circ}\text{C}$ . The samples were transported on dry ice. For the identification of bifidobacteria and lactobacilli, commercially available selective media were used (bifidobacteria: Heipha No 20580e, Heidelberg, Germany; lactobacilli: modified Rogosa agar Heipha 2068e, Heidelberg, Germany) as described previously.<sup>21</sup> The numbers are presented as colony forming units (CFU)/g stool.

**Table 1** Most relevant clinical data of the study population

	GOS/FOS formula	Placebo formula	p value
Enrolled (n) (m/f)	129 (65/64)	130 (63/67)	ns
Completed (n) (m/f)	102 (52/50)	104 (49/55)	ns
Age of mother (years)*	30.0 $\pm$ 5.7	29.0 $\pm$ 5.3	ns
Number of births*	1.53 $\pm$ 0.71	1.57 $\pm$ 0.77	ns
Vaginal delivery (n(%))	72 (70.6)	69 (66.3)	ns
Infants with parental history of allergy:	69	71	ns
only mother (n)			
Infants with parental history of allergy:	28	27	ns
only father (n)			
Infants with bi-parental history of allergy (n)	5	6	ns
Birth weight (g)*	3344 $\pm$ 456	3376 $\pm$ 482	ns
Birth length (cm)*	49.2 $\pm$ 1.5	49.4 $\pm$ 1.9	ns
Birth head circumference (cm)*	34.4 $\pm$ 1.2	34.6 $\pm$ 1.2	ns
Age at first bottle feeding (days)*	11.2 $\pm$ 7.0	11.8 $\pm$ 9.2	ns
Age at full bottle feeding (days)*	21.2 $\pm$ 10.1	21.5 $\pm$ 9.2	ns
Weight gain 0–6 months (g/day)*	27.4 $\pm$ 4.1	26.4 $\pm$ 3.7	ns
Length gain 0–6 months (cm/week)*	0.75 $\pm$ 0.14	0.74 $\pm$ 0.10	ns
Head circumference gain 0–6 months (cm/week)*	0.33 $\pm$ 0.04	0.34 $\pm$ 0.05	ns

\*Data are presented as mean  $\pm$  SD.

**Table 2** Drop out characteristics

	GOS/FOS formula	Placebo formula	p value
n (%)	27 (20.9%)	26 (20.0%)	ns
Male/female	13/14	14/12	ns
Birth weight (g)*	3350±450	3380±460	ns
Birth length (cm)*	49.2±1.7	49.2±1.8	ns
Reasons for dropping out			
Continuation/reestablishment breast feeding	22	21	ns
Hardness of stool	0	2	ns
Flatulence	1	1	ns
Move to other city	1	0	ns
No information	3	2	ns

\*Data are presented as mean±SD.

## Statistics

The results were analysed on a per protocol basis.

Time balanced randomisation was performed with the software Rancode (IDV Gauting, Germany; seed numbers randomised by reaction time) with a random permuted block size of four. Interval data (e.g. anthropometrics) were compared between the groups by two sided *t* test. Bacterial counts in the stool samples were compared by Mann-Whitney U test due to non-parametric data distribution.

Scores with ordinal data (e.g. stool consistency) were compared between the groups by Mann-Whitney U test.

Scores with nominal data (e.g. crying, vomiting, regurgitation) and other nominal data were compared by table analysis of the coded raw data ( $\chi^2$  test). In the case of 2×2 tables, Fisher's exact test was used.

For analyses of the primary outcomes, 95% confidence intervals were calculated using the Wilson score method.<sup>22</sup>

Sample size was calculated based on analysis of the previous years' incidence of AD in the hospital and assuming an effect size similar to that reported for probiotics<sup>16</sup> at that time. Based on this assumption, 108 subjects per group completing the protocol were calculated to provide a power of 80%. The study was completed after a full two year enrolment period to exclude seasonal effects. The drop out rate was slightly higher than assumed (20% versus 15%). Thus, the statistical analysis was performed on the basis of 206 instead of 216 completed cases as planned. A p value <0.05 was considered to be statistically significant.

## RESULTS

A total of 259 infants were enrolled in the study (fig 1). The most relevant clinical data of the study population are summarised in table 1. Fifty three infants left the trial before completing the study. The main reason for drop out was the continuation or reestablishment of breast feeding. The characteristics at birth and the reasons for drop out were not significantly different between the two groups (table 2).

During the six month study period, 10 infants (9.8%; 95% CI 5.4–17.1%) in the GOS/FOS group and 24 infants (23.1%; 95% CI 16.0–32.1%) in the placebo group developed AD (fig 2).

In the group of infants with AD, the SCORAD scores were not significantly different between the group fed the GOS/FOS supplemented formula and the group fed the placebo formula (medians (interquartile range) at 3 months of age: 9.8 (4.8) versus 9.8 (7.5), p = 0.86; and at 6 months of age: 8.9 (12.4) versus 12.8 (5.5), p = 0.18).

In the subgroup of infants with a complete set of stool samples, supplementation with GOS/FOS resulted in a significant increase in the number of bifidobacteria when compared with the placebo group. There was no significant influence on lactobacilli counts (table 3).

Stool characteristics (stool frequency and stool consistency) were significantly influenced by the diet (table 4).

Regarding acceptance and tolerance of the formulae, there were significantly lower reports of regurgitation and crying in the group fed the GOS/FOS supplemented formula, whereas there was no difference in the reported incidence of vomiting between the two groups (table 4).

No adverse effects were observed during the entire study based on the diary record given by the parents and the results of the monthly examinations.

## DISCUSSION

In the present study, the cumulative incidence of AD during the first six months of life was significantly reduced by supplementation of a hypoallergenic formula (extensively hydrolysed cows' milk whey protein) with 0.8 g GOS/FOS per 100 ml. To our knowledge this is the first report showing that prebiotic oligosaccharides can influence the incidence of AD.

The majority of the infants investigated in this study had a maternal history of atopy which is strongly related to the risk of AD at 6 months of life.<sup>23</sup> It is well known that the incidence of AD peaks at 6 months,<sup>24</sup> but the reported absolute incidence varies substantially between different

**Table 3** Bifidobacteria and lactobacilli counts as colony forming units (CFU) per gram fresh stool on three consecutive examination days

	GOS/FOS formula	Placebo formula	p value
n (m/f)	50	44	
At start of the study			
Bifidobacteria (CFU/g stool)*	8.17 (2.3)	8.33 (2.4)	ns
Lactobacilli (CFU/g stool)*	4.70 (0.0)	4.70 (0.6)	0.040
At 3 months of age			
Bifidobacteria (CFU/g stool)*	9.56 (0.9)	8.30 (1.1)	<0.0001
Lactobacilli (CFU/g stool)*	6.04 (1.5)	6.12 (2.1)	ns
At 6 months of age			
Bifidobacteria (CFU/g stool)*	10.28 (0.7)	8.65 (1.2)	<0.0001
Lactobacilli (CFU/g stool)*	5.99 (3.6)	5.90 (2.0)	ns

Data are presented as median (interquartile range).

**Table 4** Stool characteristics at 3 and 6 months of age

	GOS/FOS formula	Placebo formula	p value
n (m/f)	102 (52/50)	104 (49/55)	
At start of formula feeding			
Frequency* (n/day)	2.59±0.9	2.39±1.2	ns
Consistency (score)*	2.3±0.5	2.2±0.5	ns
Infants with score < 2 (n)	20	16	
Infants with score > 4 (n)	0	0	
At 3 months of age			
Frequency* (n/day)	2.34±0.8	1.55±0.6	<0.0001†
Consistency (score)*	2.08±0.5	2.82±0.8	<0.0001‡
Infants with score < 2 (n)	28	0	
Infants with score > 4 (n)	0	0	
At 6 months of age			
Frequency* (n/day)	1.75±0.6	1.50±0.6	0.0059†
Consistency (score)*	2.44±0.7	3.22±0.9	<0.0001‡
Infants with score < 2 (n)	8	0	
Infants with score > 4 (n)	0	9	

\*Data are presented as mean±SD.

†t test.

‡U test.

studies. However, the incidence in infants with comparable risk as in the present study is reported to be approximately 30%.<sup>23 25</sup>

In the present study, a hydrolysed whey protein was used as the basis for both study formulae in accord with recent recommendations for the nutritional management of infants at risk,<sup>26</sup> which might explain the fact that only mild forms of AD occurred.<sup>27</sup>

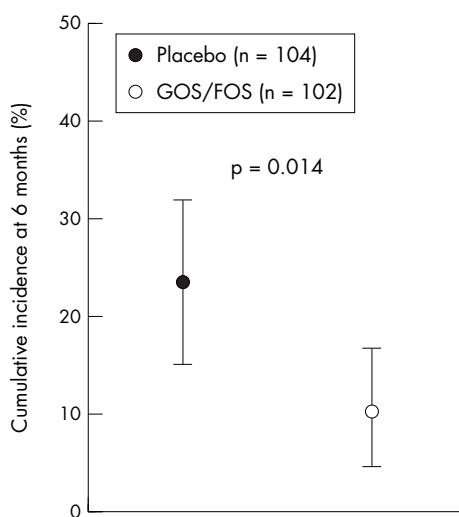
The primary hypothesis of this study was that dietary prebiotics could modulate the postnatal development of the immune system by altering intestinal flora. Although it was not possible to obtain stool samples from all infants, data from the subgroup providing stool samples showed a significant effect of GOS/FOS supplementation on the bifidobacteria counts, similar to a study previously performed in the same hospital<sup>10</sup> using identical microbiological methods.<sup>21</sup> As in the previous studies, the effect of GOS/FOS supplementation on lactobacilli counts was less pronounced. However, in studies using molecular techniques for microbial identification, the effect of GOS/FOS on lactobacilli counts has also been clearly shown.<sup>28</sup>

There is accumulating evidence that human milk oligosaccharides (HMOS) can influence the immune system not only via the intestinal flora but also by direct interaction with immune cells. HMOS have been shown to affect the cytokine production and activation of human cord blood derived T cells in vitro.<sup>29</sup> Furthermore, HMOS can affect the formation of platelet–neutrophil complexes and activation of associated neutrophils in blood of healthy volunteers. Formation of these complexes requires selectins and could be influenced by HMOS.<sup>30</sup> Thus, HMOS could serve as anti-inflammatory components of human milk and contribute to the lower incidence of inflammatory diseases such as necrotising enterocolitis in breast fed versus formula fed infants.<sup>31</sup>

Recently, some effects of dietary carbohydrates such as fructans (inulin and oligofructose) on immune modulation were also investigated. In animal studies, the first evidence of immune modulation was shown primarily on activated immune cells in Peyer's patches, including IL-10 production and natural killer cell cytotoxicity, the concentration of secretory IgA in ileum and caecum, and splenocyte cytokine production. It was speculated that part of the observed effects could be due to interaction of prebiotics with carbohydrate receptors on immune cells.<sup>32</sup> In a murine type I allergy model, the allergic reaction following sensitisation with ovalbumin was attenuated in animals fed with dietary short chain galacto- and long chain fructo-oligosaccharides.<sup>33</sup>

Misikangas *et al*<sup>34</sup> described an association with dietary inulin and adenoma growth in a mouse model with multiple intestinal neoplasia. In contrast to this single observation, Pool-Zobel in a review of 12 studies (animal and human studies) concluded that inulin-type fructans reduce the risk of colon cancer.<sup>35</sup> The Scientific Committee on Nutrition considered the studied GOS/FOS mixture as safe for infant nutrition up to a concentration of 0.8 g/100 ml.<sup>36</sup>

The results of the present study do not allow conclusions concerning the mechanism of the effect that was observed on AD. The complexity of the structures of HMOS indicates that breast feeding is providing further support besides stimulation of the intestinal flora. In comparison, the studied prebiotic mixture is mainly active via its influence on intestinal flora. In summary, the present data show a significant effect of a dietary mixture of GOS/FOS on the incidence of AD at 6 months of age. Although further studies are needed to understand completely the mechanism behind the immune modulating effect of the studied prebiotics, the data support the potential role of prebiotics as dietary manipulation for primary allergy prevention during infancy.



**Figure 2** Cumulative incidence of AD at 6 months of age in the group fed a formula supplemented with GOS and FOS or maltodextrins as placebo. Data are expressed as mean (95% CI).

**Table 5** Regurgitation, vomiting, and crying at 3 and 6 months of age

	GOS/FOS formula	Placebo formula	p value
n (m/f)	102 (52/50)	104 (49/55)	
<b>At 3 months of age</b>			
Regurgitation (n)			0.0192*
0 episodes/day	75	62	
1 episode/day	23	27	
2 or more episodes/day	4	15	
Vomiting (n)			ns*
0 episodes/day	99	92	
1 episode/day	5	10	
2 episodes/day	0	0	
Crying (n)			0.0175*
No	66	48	
In connection with feeding	33	54	
Independent from feeding	3	2	
<b>At 6 months of age</b>			
Regurgitation (n)			0.0027*
0 episodes/day	81	69	
1 episode/day	19	19	
2 or more episodes/day	2	16	
Vomiting (n)			ns*
0 episodes/day	95	100	
1 episode/day	7	4	
2 episodes/day	0	0	
Crying (n)			0.0057*
No	76	57	
In connection with feeding	26	44	
Independent from feeding	0	3	

\* $\chi^2$  test.**What is already known on this topic**

- The intestinal flora plays an important role in postnatal development of the immune system
- Dietary prebiotics (mixture of galacto-oligosaccharides and long-chain fructo-oligosaccharides) stimulate an intestinal flora dominated by bifidobacteria

**What this study adds**

- The studied prebiotic mixture reduces the incidence of AD in infants at risk, which proves the concept of the immune modulating capacity of prebiotics

**ACKNOWLEDGEMENTS**

The authors thank Dr Kock, Laborzentrum Pohlheim, Germany for microbiological analysis, Dr Carlo Gelmetti for dermatological support, and Mr Stanley Norman for editorial advice.

**Authors' affiliations**

**G Moro, S Arslanoglu**, Center for Infant Nutrition, Macedonio Melloni Maternity Hospital, Milan, Italy  
**B Stahl, J Jelinek, G Boehm**, Numico Research Germany, Friedrichsdorf, Germany  
**U Wahn**, Charité Campus Virchow Klinikum, Berlin, Germany  
**G Boehm**, Sophia Children's Hospital, Erasmus University, Rotterdam, Netherlands

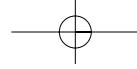
Funding: the study was partially supported by a grant from Numico Research Friedrichsdorf, Germany and the EARNEST program (Food-CT-00678)

Competing interests: none declared

**REFERENCES**

- Holgate ST. The epidemic of allergy and asthma. *Nature* 1999;402(6760 suppl):B2–4.
- Ahberg N, Hesselmar B, Aberg B, et al. Increase of asthma, allergic rhinitis and eczema in Swedish schoolchildren between 1979 and 1991. *Clin Exp Allergy* 1995;25:815–19.
- Kemp A, Björksten B. Immune deviation and the hygiene hypothesis: a review of the epidemiological evidence. *Pediatr Allergy Immunol* 2003;14:74–80.
- Björksten B, Sepp E, Julge K, et al. Allergy development and the intestinal microflora during the first year of life. *J Allergy Clin Immunol* 2001;108:516–20.
- Kunz C, Rudloff S, Baier W, et al. Oligosaccharides in human milk: structural, functional, and metabolic aspects. *Ann Rev Nutr* 2000;20:699–722.
- Boehm G, Stahl B. Oligosaccharides. In: Mattila-Sandholm T, ed. *Functional dairy products*. Cambridge: Woodhead, 2003:203–43.
- Boehm G, Fanaro L, Jelinek J, et al. Prebiotic concept for infant nutrition. *Acta Paediatr* 2003;92(suppl 441):64–7.
- Boehm G, Jelinek J, Stahl B, et al. Prebiotics in infant formulas. *J Clin Gastroenterol* 2004;38:S76–9.
- Boehm G, Lidestri M, Casella P, et al. Supplementation of an oligosaccharide mixture to a bovine milk formula increases counts of faecal bifidobacteria in preterm infants. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed* 2002;86:F178–81.
- Moro G, Minoli I, Mosca M, et al. Dosage related bifidogenic effects of galacto- and fructo-oligosaccharides in formula fed term infants. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2002;34:291–5.
- Schmelze H, Wirth S, Skopnik H, et al. Randomised 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. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2003;36:343–51.
- Knol J, Scholtens B, Kafka C, et al. Colon microflora in infant fed formula with galacto- and fructo-oligosaccharides: more like breast fed infants. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2005;40:36–42.
- Prescott SL. Development of allergen-specific T-cell memory in atopic and normal children. *Lancet* 1999;353:186–200.
- Illi S, von Mutius E, Lau S, et al. The natural course of atopic dermatitis from birth to age 7 years and the association with asthma. *J Allergy Clin Immunol* 2004;113:925–31.
- Köhler H, McCormick BA, Walker WA. Bacterial-enterocyte crosstalk: cellular mechanisms in health and disease. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2003;36:175–85.
- Kalliomäki M, Salminen S, Arvilommi H, et al. Probiotics in primary prevention of atopic diseases: a randomized placebo-controlled trial. *Lancet* 2001;357:1076–9.
- Harrigan E, Rabenison LG. Atopic dermatitis. *Pediatr Allergy Immunol* 1999;19:383–9.
- Muraro A, Dreborg S, Halken S, et al. Dietary prevention of allergic diseases in infants and small children. Part II: Evaluation of methods in allergy prevention studies and sensitization markers. Definitions and diagnostic criteria for allergic diseases. *Pediatr Allergy Immunol* 2004;14:196–205.

- 19 **Kunz B**, Oranje AP, Labreze L, et al. Clinical validation and guidelines for the SCORAD index: Consensus Report of the European Task Force on Atopic Dermatitis. *Dermatology* 1997;195:10–19.
- 20 **Anon**. Severity scoring of atopic dermatitis: the SCORAD index. Consensus Report of the European Task Force on Atopic Dermatitis. *Dermatology* 1993;186:23–31.
- 21 **Fanaro S**, Vigi V, Chierici R, et al. Fecal flora measurements of breast fed infants using an integrated transport and culturing system. *Acta Paediatr* 2003;92:634–5.
- 22 **Newcombe RG**. Two-sided confidence intervals for the single proportion: comparison of seven methods. *Stat Med* 1998;17:857–72.
- 23 **Moore MM**, Rifas-Shiman SL, Rich-Edwards JW, et al. Perinatal predictors of atopic dermatitis occurring in the first six months of life. *Pediatrics* 2004;113:468–74.
- 24 **Bruno G**, Milita O, Ferrara M, et al. Prevention of atopic diseases in high risk babies (long-term follow-up). *Allergy Proc* 1993;14:181–6.
- 25 **Laitinen K**, Kalliomäki M, Poussa T, et al. Evaluation of diet and growth in children with and without atopic eczema: follow-up study from birth to 4 years. *Br J Nutr* 2005;94:565–74.
- 26 **Host A**, Koletzko B, Dreborg S, et al. Dietary products used in infants for treatment and prevention of food allergy. Joint Statement of the European Society for Paediatric Allergology and Clinical Immunology (ESPAcI) Committee on Hypoallergenic Formulas and the European Society for Paediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition (ESPGHAN) Committee on Nutrition. *Arch Dis Child* 1999;81:80–4.
- 27 **Berg von A**, Koletzko S, Grübl A, et al. The effect of hydrolyzed cow's milk formula for allergy prevention in the first year of life: The German Infant Nutritional Intervention Study, a randomized double-blind trial. *J Allergy Clin Immunol* 2003;111:533–40.
- 28 **Bakker-Zierikzee AM**, Alles M, Knol J, et al. Effects of infant formula containing a mixture of galacto- and fructo-oligosaccharides on viable *Bifidobacterium animalis* on the intestinal microflora during the first 4 months of life. *Br J Nutr* 2005;94:783–90.
- 29 **Eiwegger T**, Stahl B, Schmitt J, et al. Human milk-derived oligosaccharides and plant-derived oligosaccharides stimulate cytokine production of cord blood T-cells in vitro. *Pediatr Res* 2004;56:536–40.
- 30 **Bode L**, Rudloff S, Kunz C, et al. Human milk oligosaccharides reduce platelet-neutrophil complex formation leading to a decrease in neutrophil beta 2 integrin expression. *J Leukoc Biol* 2004;76:820.
- 31 **van den Berg A**, van Elburg RM, Teerlink T, et al. A randomized controlled trial of enteral glutamine supplementation in very low birth weight infants: plasma amino acid concentrations. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2005;41:66–71.
- 32 **Watzl B**, Girrbach S, Roller M. Inulin, oligofructose and immunomodulation. *Br J Nutr* 2005;93(suppl 1):S49–55.
- 33 **Garsen J**, Vos P, M'Rabet L, et al. Oral exposure to a mixture of galacto-oligosaccharides and long chain fructo-oligosaccharides as a new concept for allergy prevention. *Allergy Clin Immunol Int* 2005;(suppl 1):572.
- 34 **Miskangas M**, Pajari AM, Päiväranta E, et al. Promotion of adenoma growth by dietary inulin is associated with increase in cyclin D1 and decrease in adhesion proteins in Min/+ mice mucosa. *J Nutr Biochem* 2005;16:402–9.
- 35 **Pool-Zobel B**. Inulin-type fructans and reduction in colon cancer risk: review of experimental and human data. *B J Nutr* 2005;93(suppl 1):S73–90.
- 36 **Scientific Committee on Food**. Additional statement on the use of resistant short chain carbohydrates (oligofructosyl-saccharose and oligo-galactosyl-lactose) in infant formulae and follow-on formulae. SCF/CS/NUT/IF/47 Final. 14 December, 2001.



## ORIGINAL ARTICLE

# Una mezcla de oligosacáridos prebióticos reduce la incidencia de dermatitis atópica durante los primeros seis meses de vida

G. Moro, S. Arslanoglu, B. Stahl, J. Jelinek, U. Wahn, G. Boehm

*Arch Dis Child* 2006; **91**:814–819. doi: 10.1136/adc.2006.098251

**Antecedentes:** Los oligosacáridos pueden alterar el desarrollo inmunitario posnatal al influir en la composición de la microflora bacteriana gastrointestinal.

**Objetivos:** Investigar el efecto de una mezcla prebiótica de galactoligosacáridos y fructoligosacáridos de cadena larga sobre la incidencia de dermatitis atópica (DA) durante los primeros seis meses de vida en lactantes con alto riesgo de atopía alimentados con leche infantil.

**Métodos:** Ensayo prospectivo, doble ciego, aleatorizado y controlado con placebo; se incluyó a 259 lactantes con riesgo de atopía. En total, 102 lactantes del grupo de prebióticos y 104 lactantes del grupo placebo completaron el estudio. Si se iniciaba la alimentación con leches infantiles, se asignaba aleatoriamente a los lactantes a uno de los dos grupos de alimentación con una leche infantil de proteínas hidrolizadas y 0,8 g/100 ml de prebióticos o maltodextrina como placebo (en el grupo de control). Se examinó a todos los lactantes para detectar posibles signos clínicos de dermatitis atópica. En un subgrupo de 98 lactantes se analizó la microflora fecal.

**Resultados:** Diez lactantes (9,8%; IC del 95%, 5,4%–17,1%) del grupo de intervención y 24 (23,1%; IC del 95%, 16,0%–32,1%) del grupo de control presentaron DA. La dieta no influyó en la intensidad de la dermatitis. Los lactantes alimentados con suplementos prebióticos presentaron un número significativamente mayor de bifidobacterias fecales que los del grupo de control, pero no hubo una diferencia significativa en los recuentos de lactobacilos.

**Conclusión:** Los resultados de este estudio demuestran por primera vez que los prebióticos reducen la incidencia de dermatitis atópica en una población de lactantes de alto riesgo. Aunque el mecanismo de este efecto requiere más investigación, parece probable que los oligosacáridos regulen el desarrollo inmunitario posnatal al modificar la microflora intestinal y podrían ser útiles en la prevención primaria de la alergia durante la infancia.

Al final del artículo figuran las adscripciones de los autores.

Correspondencia:  
Prof. Dr. med. habil. G.  
Boehm, Numico Research  
Germany, Bahnstr. 14–30,  
61381 Friedrichsdorf,  
Alemania. Correo electrónico:  
guenther.boehm@milupa.de

Aceptado el 19 de junio de  
2006. Publicado primero  
en internet el 27 de julio  
de 2006.

**L**a prevalencia de las enfermedades atópicas ha aumentando de forma continua en los países desarrollados en los últimos diez años<sup>1–3</sup>. La composición de la microflora intestinal es un factor crucial que influye en el desarrollo del sistema inmunitario después del nacimiento<sup>4</sup>. Los oligosacáridos neutros presentes en la leche humana influyen de forma importante para que la microflora intestinal esté dominada por bifidobacterias y lactobacilos<sup>5,6</sup>. Basándose en el análisis de los oligosacáridos de la leche humana, se ha desarrollado una mezcla prebiótica compuesta en un 90% por galactoligosacáridos (GOS) de cadena corta y en un 10% por fructoligosacáridos (FOS) de cadena larga<sup>7,8</sup>. Los estudios realizados en lactantes prematuros<sup>9</sup> y nacidos a término<sup>10–12</sup> han demostrado que la alimentación complementada con GOS/FOS da lugar a una microflora intestinal similar a la que presentan los lactantes alimentados con leche materna. La dermatitis atópica (DA) es habitualmente la primera manifestación de la alergia al principio

de la lactancia. Se ha comunicado que la DA se asocia a un retraso de la maduración de las respuestas inmunitarias de los TH1 al principio de la lactancia y a concentraciones elevadas de IgE total e IgE específica frente a los antígenos de la dieta presentes en el suero<sup>13</sup>. Los lactantes con alergia de inicio precoz también tienen riesgo de presentar otras manifestaciones alérgicas, un fenómeno denominado marcha alérgica<sup>14</sup>. La microflora intestinal forma parte de un ecosistema complejo y aún no se han identificado muchas de las bacterias que la componen<sup>15</sup>. No obstante, hay pruebas convincentes de que la composición de la microflora intestinal influye en el desarrollo del sistema inmunitario después del nacimiento<sup>16</sup>. La es-

.....  
**Abreviaturas:** DA = dermatitis atópica; FOS = fructo-oligosacáridos; GOS = galacto-oligosacáridos; OSLH = oligosacáridos de la leche humana.

timulación de toda la microflora intestinal con prebióticos podría ser un método más eficaz para alterar el desarrollo inmunitario que la adición de una única especie bacteriana al ecosistema intestinal. Sin embargo, se han obtenido resultados positivos con probióticos<sup>17</sup>. El objetivo del presente estudio era investigar el efecto de una leche infantil para lactantes complementada con 0,8 g/100 ml de una mezcla de GOS/FOS sobre la incidencia de DA durante los primeros seis meses de vida. Se planteó la hipótesis de que la leche infantil prebiótica reduciría significativamente la incidencia acumulada de DA en lactantes de alto riesgo a los 6 meses de edad en comparación con un grupo control de lactantes alimentados con una leche infantil de idéntica composición, pero sin GOS/FOS.

## POBLACIÓN Y MÉTODOS DEL ESTUDIO

El estudio fue un ensayo doble ciego, aleatorizado, de grupos paralelos y controlado con placebo. Se obtuvo el consentimiento informado por escrito de los padres de todos los lactantes participantes y el protocolo del estudio fue aprobado por el Comité de Ética de Investigación Clínica de la Maternidad Macedonio Melloni de Milán, Italia. Eran elegibles para el estudio los lactantes nacidos a término entre el 1 de abril de 2003 y el 31 de marzo de 2005 en la Maternidad Macedonio Melloni de Milán cuyo padre o madre tenían antecedentes de eczema atópico, rinitis alérgica o asma. En todos los casos, el diagnóstico de los padres se basó en un certificado médico documentado.

De acuerdo con la política de fomento de la lactancia materna del hospital, se recomendó a todas las madres que dieran de mamar a sus hijos.

Se dio información sobre el estudio a los padres después del alta de la Unidad de Maternidad y se les pidió que se pusieran en contacto con el hospital si empezaban a alimentar a sus hijos con leche infantil. Los criterios de inclusión fueron los siguientes: edad gestacional de 37 a 42 semanas, peso al nacer apropiado para la edad gestacional e inicio de la alimentación con leche infantil en las dos primeras semanas de vida. Se aleatorizó a los lactantes cuyas madres se pusieron en contacto con el hospital para recibir una de las dos leches infantiles. El contenido de ambas estaba basado en una leche infantil hidrolizada hipoalergénica que contenía seroproteína de leche de vaca complementada con 0,8 g/100 ml de GOS/FOS o con 0,8 g/100 ml de maltodextrina como placebo. La aleatorización se llevó a cabo utilizando una tabla de números aleatorios y el enmascaramiento se mantuvo codificando las dos leches infantiles del ensayo mediante la adición de los sufijos "N" u "O" al nombre del producto.

Las leches infantiles del estudio se administraron a voluntad.

Los lactantes podían recibir paralelamente lactancia materna y alimentación con biberón hasta la sexta semana de vida. Se excluyó del estudio a los lactantes cuyas madres empezaron a alimentarlos con leche infantil de acuerdo con los criterios de inclusión pero continuaron con lactancia materna durante más de seis semanas.

Se examinó mensualmente a los lactantes del estudio. Se entrevistó a los padres utilizando un diario. Para el análisis se emplearon los resultados obtenidos antes de iniciar la alimentación con leche infantil (día de examen 1) y a los 3 y 6 meses de edad (días de examen 2 y 3, respectivamente).

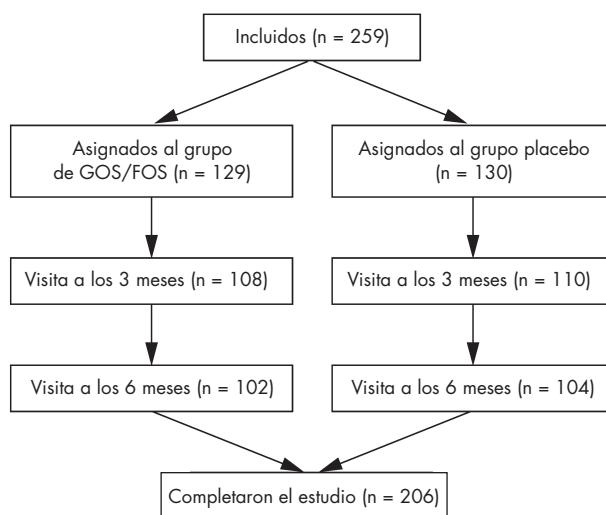
En cada visita se examinó la piel del lactante para detectar la posible presencia de DA con arreglo a los criterios diagnósticos descritos por Harrigan y Rabinowitz<sup>17</sup> y por Muraro y cols.<sup>18</sup>. Se consideró que un lactante tenía DA confirmada si presentaba los signos siguientes: prurito, afectación de la cara, el cráneo facial o la parte extensora de las extremidades, y duración de los síntomas de cuatro semanas como mínimo.

La gravedad de las alteraciones cutáneas se puntuó utilizando el índice SCORAD basándose en la extensión y la intensidad de los síntomas cutáneos, así como en los síntomas subjetivos de prurito y pérdida de horas de sueño tal como recomienda el Grupo de Trabajo Europeo sobre la DA<sup>19,20</sup>. La extensión de la DA se determinó utilizando la gráfica del SCORAD para los lactantes menores de 2 años de edad. Los síntomas subjetivos y la información sobre la frecuencia y la consistencia de las heces se obtuvieron en las entrevistas con los padres a partir de los datos que habían registrado en el diario. Todos los exámenes y entrevistas fueron realizados por dos de los autores (GM y SA). Los valores antropométricos y los datos de episodios de llanto, regurgitación, vómitos y características de las heces se utilizaron como parámetros secundarios para determinar la seguridad, el nivel de aceptación de las leches infantiles y la tolerancia. En cada visita del estudio se determinaron los parámetros del crecimiento en todos los lactantes. El peso corporal se determinó empleando una báscula con un nivel de exactitud de  $\pm 5$  g. La estatura desde la coronilla hasta el talón se determinó utilizando un tablero especial para recién nacidos y lactantes con una exactitud de  $\pm 1$  mm.

Los episodios de llanto (puntuación de 1 a 3: 1 = prácticamente ninguno; 2 = llanto relacionado con la alimentación; 3 = llanto independiente de las comidas), de regurgitaciones (puntuación de 1 a 3: 1 = 0; 2 = 1-2; 3 = > 2 regurgitaciones por día) y de vómitos (puntuación de 1 a 3: 1 = 0; 2 = 1; 3 = > 1 episodios de vómito por día) se obtuvieron a partir de los datos comunicados por los padres en las entrevistas.

Se registraron la consistencia de las heces (puntuación de 1 a 5: 1 = acuosas; 2 = blandas; 3 = en trozos muy pequeños; 4 = con forma; 5 = duras) y la frecuencia de las deposiciones. La consistencia de las heces se evaluó basándose en el aspecto de la muestra fresca utilizada para el análisis, el cuestionario y las respuestas de los padres en la entrevista. La consistencia de cada muestra de heces se registró el día antes del día del estudio; la media de las puntuaciones obtenidas se empleó para caracterizar la consistencia de las heces de ese día.

Los padres de un subgrupo de 98 lactantes accedieron a recoger muestras de las heces de sus hijos para realizar un análisis microbiológico. Las muestras de heces se obtuvieron en las tres visitas de examen. Se homogeneizó un volumen de 0,2 g de una muestra de heces frescas en un medio de transporte con glicerol conservado en frío (10 ml de glicerol, 0,1 g de Oxoid, agua hasta 100 ml) y se congeló inmediatamente a -80 °C. Las muestras se transportaron en hielo seco. Para identificar las bifidobacterias y los lactobacilos se utilizaron medios selectivos comercializados (bifidobacterias: Heipha N.º 20580e, Heidelberg, Alemania; lactobacilos: Rogosaagar Heipha 2068e modificado, Heidelberg, Alemania), tal como se ha descrito pre-



**Figura 1** Distribución de todos los lactantes incluidos en el estudio.

viamente<sup>21</sup>. Los resultados obtenidos se presentan en unidades formadoras de colonias (UFC)/g de heces.

#### Análisis estadístico

Los resultados se analizaron conforme al protocolo.

La aleatorización, homogénea con respecto al tiempo, se llevó a cabo utilizando el programa informático RANCODE (IDV Gauting, Alemania; números de raíz asignados en función del tiempo de reacción), con un tamaño de los bloques permutados al azar de cuatro. Los datos con intervalos (p. ej., antropométricos) de los lactantes de los dos grupos se compararon utilizando la prueba de la *t* bilateral. Los recuentos de bacterias en las muestras de heces se compararon con la prueba de la U de Mann-Whitney porque la distribución de los datos no era paramétrica.

Las puntuaciones con datos ordinales (p. ej., consistencia de las heces) de los lactantes de los dos grupos se compararon empleando la prueba de la U de Mann-Whitney.

Las puntuaciones con datos nominales (p. ej., llanto, vómitos, regurgitaciones) y otros datos nominales se

compararon analizando las tablas de los datos originales codificados (prueba de la  $\chi^2$ ). En el caso de las tablas de  $2 \times 2$ , se utilizó la prueba exacta de Fisher.

Para el análisis de los criterios principales de valoración, se calcularon los intervalos de confianza del 95% aplicando el método de puntuación de Wilson<sup>22</sup>.

El tamaño de la muestra se calculó basándose en el análisis de la incidencia de DA en el hospital en los años anteriores y suponiendo que la magnitud del efecto sería similar al comunicado con probióticos<sup>16</sup> en ese momento. Basándose en esta suposición, se calculó que si 108 sujetos por grupo completaran el protocolo, el estudio tendría una potencia del 80%. El período de inclusión del estudio fue de dos años completos para evitar los efectos estacionales. La tasa de abandono fue ligeramente mayor que la prevista (20% frente al 15%). Por tanto, el análisis estadístico se realizó con los datos de los 206 lactantes que completaron el estudio, en lugar de 216 como estaba previsto. Se consideró que un valor de  $p < 0,05$  era estadísticamente significativo.

#### RESULTADOS

En total se incluyeron 259 lactantes en el estudio (Fig. 1). Los datos clínicos más relevantes de la población del estudio se resumen en la Tabla 1. 53 lactantes abandonaron el estudio antes de su finalización, siendo el motivo principal de abandono la continuación o la reinstauración de la lactancia materna. Las características en el momento del nacimiento y los motivos de abandono de los lactantes de los dos grupos no fueron significativamente diferentes (Tabla 2).

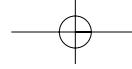
Durante el período de estudio de seis meses, 10 lactantes (9,8%; IC del 95%, 5,4%–17,1%) del grupo de GOS/FOS y 24 (23,1%; IC del 95%, 16,0%–32,1%) del grupo placebo presentaron DA (Fig. 2).

En el grupo de lactantes con DA, las puntuaciones del índice SCORAD de los lactantes del grupo alimentado con leche infantil complementada con GOS/FOS y las de los del grupo alimentado con placebo no fueron significativamente diferentes (medianas [intervalo intercuartílico] a los 3 meses de edad de 9,8 (4,8) frente a 9,8 (7,5),  $p = 0,86$ , y a los 6 meses de edad de 8,9 (12,4) frente a 12,8 (5,5),  $p = 0,18$ ).

**Tabla 1** Datos clínicos más relevantes de la población del estudio

	Leche infantil con GOS/FOS	Leche infantil placebo	Valor de <i>p</i>
Incluidos (n) (v/m)	129 (65/64)	130 (63/67)	ns
Compleitaron el estudio (n) (v/m)	102 (52/50)	104 (49/55)	ns
Edad de la madre (años)*	30,0 ± 5,7		
Número de hijos*	29,0 ± 5,3	ns	
Parto vaginal (n [%])	1,53 ± 0,71	1,57 ± 0,77	ns
Lactantes cuya madre había padecido alergia (n)	72 (70,6)	69 (66,3)	ns
Lactantes cuyo padre había padecido alergia (n)	69	71	ns
Lactantes cuya madre y cuyo padre habían padecido alergia (n)	28	27	ns
Peso al nacer (g)*	5	6	ns
Talla al nacer (cm)*	3.344 ± 456	3.376 ± 482	ns
Perímetro cefálico al nacer (cm)*	49,2 ± 1,5	49,4 ± 1,9	ns
Edad en que recibió el primer biberón (días)*	34,4 ± 1,2	34,6 ± 1,2	ns
Edad en que recibió el primer biberón completo (días)*	11,2 ± 7,0	11,8 ± 9,2	ns
Aumento de peso en los primeros 6 meses de vida (g/día)*	21,2 ± 10,1	21,5 ± 9,2	ns
Aumento de talla en los primeros 6 meses de vida (cm/semana)*	27,4 ± 4,1	26,4 ± 3,7	ns
Aumento del perímetro cefálico en los primeros 6 meses de vida (cm/semana)*	0,75 ± 0,14	0,74 ± 0,10	ns
	0,33 ± 0,04	0,34 ± 0,05	ns

\*Los datos son las medias ± DE; ns = no significativo.

**Tabla 2** Características de los abandonos

	Leche infantil con GOS/FOS	Leche infantil placebo	Valor de p
n (%)			
Varones/mujeres	27 (20,9%)	26 (20,0%)	ns
Peso al nacer (g)*	13/14	14/12	ns
Talla al nacer (cm)*	3.350 ± 450	3.380 ± 460	ns
Motivos del abandono			
Continuación/reinstauración de la lactancia materna	49,2 ± 1,7	49,2 ± 1,8	ns
Endurecimiento de las heces	22	21	ns
Flatulencia	0	2	ns
Traslado a otra ciudad	1	1	ns
Sin información	1	0	ns
	3	2	ns

\*Los datos son las medias ± DE; ns = no significativo.

En el subgrupo de lactantes con una serie completa de muestras de heces, la complementación con GOS/FOS produjo un aumento significativo del número de bifidobacterias en comparación con el grupo de placebo, pero no influyó significativamente en la concentración de lactobacilos (Tabla 3).

La dieta influyó significativamente en las características de las heces (frecuencia y consistencia de las heces) (Tabla 4).

En cuanto al grado de aceptación y la tolerancia de ambas leches infantiles, en el grupo alimentado con la leche infantil complementada con GOS/FOS la incidencia de episodios de regurgitación y llanto fue significativamente menor, aunque no se observaron diferencias en la incidencia de vómitos entre ambos grupos (Tabla 5).

No se registraron efectos adversos a lo largo del estudio según los datos registrados en los diarios por los padres y los resultados de los exámenes mensuales.

**Tabla 3** Recuentos de bifidobacterias y lactobacilos en unidades formadoras de colonias (UFC) por gramo de heces frescas en tres días de examen consecutivos

	Leche infantil con GOS/FOS	Leche infantil placebo	Valor de p
n (v/m)	50	44	
Al principio del estudio			
Bifidobacterias (UFC/g heces)*	8,17 (2,3)	8,33 (2,4)	ns
Lactobacilos (UFC/g heces)*	4,70 (0,0)	4,70 (0,6)	0,040
A los 3 meses de edad			
Bifidobacterias (UFC/g heces)*	9,56 (0,9)	8,30 (1,1)	< 0,0001
Lactobacilos (UFC/g heces)*	6,04 (1,5)	6,12 (2,1)	ns
A los 6 meses de edad			
Bifidobacterias (UFC/g heces)*	10,28 (0,7)	8,65 (1,2)	< 0,0001
Lactobacilos (UFC/g heces)*	5,99 (3,6)	5,90 (2,0)	ns

\*Los datos son las medianas (intervalo intercuartílico); ns = no significativo.

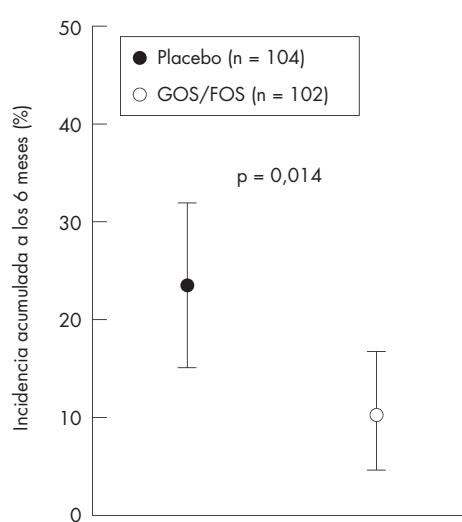
**Tabla 4** Características de las heces a los 3 y 6 meses de edad

	Leche infantil con GOS/FOS	Leche infantil placebo	Valor de p
n (v/m)	102 (52/50)	104 (49/55)	
Al principio de la alimentación con leches infantiles			
Frecuencia* (n/día)	2,59 ± 0,9	2,39 ± 1,2	ns
Consistencia (puntuación)*	2,3 ± 0,5	2,2 ± 0,5	ns
Lactantes con una puntuación < 2 (n)	20	16	
Lactantes con una puntuación > 4 (n)	0	0	
A los 3 meses de edad			
Frecuencia* (n/día)	2,34 ± 0,8	1,55 ± 0,6	< 0,0001†
Consistencia (puntuación)*	2,08 ± 0,5	2,82 ± 0,8	< 0,0001‡
Lactantes con una puntuación < 2 (n)	28	0	
Lactantes con una puntuación > 4 (n)	0	0	
A los 6 meses de edad			
Frecuencia* (n/día)	1,75 ± 0,6	1,50 ± 0,6	0,0059†
Consistencia (puntuación)*	2,44 ± 0,7	3,22 ± 0,9	< 0,0001‡
Lactantes con una puntuación < 2 (n)	8	0	
Lactantes con una puntuación > 4 (n)	0	9	

\*Los datos son las medias ± DE; ns = no significativo.

† Prueba de la t.

‡ Prueba de la U.



**Figura 2** Incidencia acumulada de DA a los 6 meses de edad en los grupos alimentados con leche infantil complementada con GOS y FOS o con maltodextrinas como placebo. Los datos son las medias (IC del 95%).

## DISCUSIÓN

En el presente estudio, se ha comprobado que la adición de 0,8 g de GOS/FOS/100 ml a una leche infantil hidrolizada hiperalérgica (que contenía seroproteína de leche de vaca) redujo significativamente la incidencia acumulada de dermatitis atópica (DA) durante los seis primeros meses de vida. De acuerdo con nuestra experiencia, éste es el

primer estudio que demuestra que los oligosacáridos prebióticos pueden influir en la incidencia de DA.

La mayoría de las madres de los lactantes que participaron en este estudio tenía antecedentes de atopía, hecho que está muy relacionado con el riesgo de presentar DA a los 6 meses de edad<sup>23</sup>. Se sabe con certeza que la incidencia máxima de DA ocurre a los 6 meses de edad<sup>24</sup>, pero las incidencias absolutas publicadas varían considerablemente entre un estudio y otro. Se ha comunicado que la incidencia en lactantes con un riesgo similar a los del presente estudio es aproximadamente del 30%<sup>23,25</sup>.

En el presente estudio se utilizó una seroproteína de leche de vaca hidrolizada como base para las dos leches infantiles estudiadas, con arreglo a las recientes recomendaciones para el tratamiento nutricional de los lactantes con riesgo de atopía<sup>26</sup>, lo que podría explicar el hecho de que sólo se presentaran manifestaciones leves de DA<sup>27</sup>.

La hipótesis principal de este estudio era que los prebióticos de la dieta podían regular el desarrollo del sistema inmunitario después del nacimiento al modificar la microflora intestinal. Aunque no fue posible obtener muestras de heces de todos los lactantes, los datos del subgrupo con tales muestras demostraron que la adición de GOS/FOS tuvo un efecto significativo sobre los recuentos de bifidobacterias, similar al observado en un estudio realizado anteriormente en el mismo hospital<sup>10</sup> en el que se utilizaron métodos microbiológicos idénticos<sup>21</sup>. Al igual que en estudios previos, el efecto de la complementación con GOS/FOS sobre los recuentos de lactobacilos fue menos pronunciado. Sin embargo, en estudios en los que se han utilizado técnicas identificativas de biología molecular, se ha demostrado también claramente el efecto de la mezcla GOS/FOS sobre la colonización de lactobacilos<sup>28</sup>.

**Tabla 5** Regurgitación, vómitos y llanto a los 3 y 6 meses de edad

	Leche infantil con GOS/FOS	Leche infantil placebo	Valor de p
n (v/m)	102 (52/50)	104 (49/55)	
<b>A los 3 meses de edad</b>			
Regurgitación (n)			0,0192*
0 episodios/día	75	62	
1 episodio/día	23	27	
2 o más episodios/día	4	15	
Vómitos (n)			ns*
0 episodios/día	99	92	
1 episodio/día	5	10	
2 episodios/día	0	0	
Llanto (n)			0,0175*
No	66	48	
Relacionado con la alimentación	33	54	
Independiente de la alimentación	3	2	
<b>A los 6 meses de edad</b>			
Regurgitación (n)			0,0027*
0 episodios/día	81	69	
1 episodio/día	19	19	
2 o más episodios/día	2	16	
Vómitos (n)			ns*
0 episodios/día	95	100	
1 episodio/día	7	4	
2 episodios/día	0	0	
Llanto (n)			0,0057*
No	76	57	
Relacionado con la alimentación	26	44	
Independiente de la alimentación	0	3	

\*Prueba de  $\chi^2$ ; ns = no significativo.

Cada vez hay más pruebas de que los oligosacáridos de la leche humana (OSLH) pueden influir en el sistema inmunitario, no sólo a través de la microflora intestinal, sino también al interaccionar directamente con las células inmunitarias. Se ha demostrado que los OSLH afectan a la producción de citocinas y a la activación de linfocitos T derivados de la sangre del cordón umbilical humano *in vitro*<sup>29</sup>. Además, los OSLH pueden afectar a la formación de complejos de plaquetas y neutrófilos y a la activación de neutrófilos asociados en la sangre de voluntarios sanos. Para que se formen estos complejos son necesarias las selectinas, y los OSLH pueden influir en dicha formación<sup>30</sup>. Por tanto, los OSLH podrían ser componentes antinflamatorios de la leche humana y una de las causas de que la incidencia de enfermedades inflamatorias, como la enterocolitis necrosante, sea menor en los lactantes alimentados con leche materna que en los alimentados con leche infantil<sup>31</sup>.

Recientemente también se han investigado ciertos efectos de los hidratos de carbono de la dieta, como los fructanos (inulina y oligofructosa), sobre la regulación del sistema inmunitario. En estudios realizados en animales, las primeras pruebas de un efecto inmunorregulador se observaron principalmente en células inmunitarias activadas en placas de Peyer; entre estas pruebas figuraron la producción de IL-10 y la citotoxicidad de los linfocitos citolíticos naturales, la concentración de IgA secretora en el ileon y el ciego y la producción de citocinas por los esplenocitos. Se postuló que algunos de los efectos observados podrían deberse a la interacción de los prebióticos con receptores de los hidratos de carbono situados en las células inmunitarias<sup>32</sup>. En un modelo murino de alergia de tipo I, la reacción alérgica producida tras la sensibilización con ovoalbúmina se atenuó en aquellos animales cuya dieta contenía galactoligosacáridos de cadena corta y fructoligosacáridos de cadena larga<sup>33</sup>.

Misikangas y cols.<sup>34</sup> describieron una asociación entre la inulina en la dieta y el crecimiento de adenomas en un modelo de ratón con múltiples neoplasias intestinales. En contraste con esta observación única, en una revisión de 12 estudios (realizados en animales y seres humanos) Pool-Zobel concluyó que los fructanos del tipo de la inulina reducen el riesgo de cáncer de colon<sup>35</sup>. El *Scientific Committee on Nutrition* consideró que la mezcla de GOS/FOS estudiada es segura para la nutrición de lactantes en una concentración de hasta 0,8 g/100 ml<sup>36</sup>.

Los resultados del presente estudio no permiten extraer conclusiones sobre cuál es el mecanismo causante del efecto observado sobre la DA. Dada la complejidad de las estructuras de los OSLH, la lactancia materna, además de estimular la microflora intestinal, también tiene otros efectos beneficiosos. En comparación, la principal actividad de la mezcla prebiótica estudiada es su influencia en la microflora intestinal. En resumen, los datos del presente estudio demuestran que una mezcla de GOS/FOS en la dieta tiene un efecto significativo sobre la incidencia de DA a los 6 meses de edad. Aunque es necesario realizar más estudios para conocer completamente el mecanismo causante del efecto regulador del sistema inmunitario de los prebióticos estudiados, los datos respaldan la posible utilidad de los prebióticos como intervención dietética para la prevención primaria de la alergia durante la lactancia.

### Lo que ya se sabe sobre este tema

- La microflora intestinal influye de forma importante en el desarrollo del sistema inmunitario después del nacimiento.
- Los prebióticos de la dieta (una mezcla de galactoligosacáridos y fructoligosacáridos de cadena larga) influyen para que la microflora intestinal esté dominada por las bifidobacterias.

### Información que aporta este estudio

- La mezcla de prebióticos estudiada (0,8 g/100 ml de GOS/FOS) reduce la incidencia de DA en lactantes de riesgo, lo que confirma la hipótesis de que estos prebióticos pueden presentar efecto inmunorregulador.

### AGRADECIMIENTOS

Los autores desean agradecer al Dr. Kock, del Laborzentrum Pohlheim, Alemania, su ayuda en el análisis microbiológico, al Dr. Carlo Gelmetti su ayuda en temas dermatológicos y al Sr. Stanley Norman sus consejos editoriales.

.....

### Adscripciones de los autores

**G. Moro, S. Arslanoglu:** Centro de Nutrición Infantil, Maternidad Macedonio Melloni, Milán, Italia.  
**B. Stahl, J. Jelinek, G. Boehm:** Numico Research Germany, Friedrichsdorf, Alemania.  
**U. Wahn:** Charité Campus Virchow Klinikum, Berlín, Alemania.  
**G. Boehm:** Hospital Infantil Sophia, Universidad Erasmus, Rotterdam, Países Bajos.

Financiación: el estudio se financió en parte con una beca de Numico Research, Friedrichsdorf, Alemania, y el programa EARNEST (Food-CT-00678).

Conflictos de intereses de los autores: ninguno declarado.

### BIBLIOGRAFÍA

- 1 Holgate ST. The epidemic of allergy and asthma. *Nature* 1999;**402**(6760 suppl):B2-4.
- 2 Ahberg N, Hesselmar B, Åberg B, et al. Increase of asthma, allergic rhinitis and eczema in Swedish schoolchildren between 1979 and 1991. *Clin Exp Allergy* 1995;**25**:815-19.
- 3 Kemp A, Björksten B. Immune deviation and the hygiene hypothesis: a review of the epidemiological evidence. *Pediatr Allergy Immunol* 2003;**14**:74-80.
- 4 Björkstén B, Sepp E, Julge K, et al. Allergy development and the intestinal microflora during the first year of life. *J Allergy Clin Immunol* 2001;**108**:516-20.
- 5 Kunz C, Rudloff S, Baier W, et al. Oligosaccharides in human milk: structural, functional, and metabolic aspects. *Ann Rev Nutr* 2000;**20**:699-722.
- 6 Boehm G, Stahl B. Oligosaccharides. In: Mattila-Sandholm T, ed. *Functional dairy products*. Cambridge: Woodhead, 2003:203-43.
- 7 Boehm G, Fanaro S, Jelinek J, et al. Prebiotic concept for infant nutrition. *Acta Paediatr* 2003;**92**(suppl 441):64-7.
- 8 Boehm G, Jelinek J, Stahl B, et al. Prebiotics in infant formulas. *J Clin Gastroenterol* 2004;**38**:S76-9.
- 9 Boehm G, Lidestri M, Casella P, et al. Supplementation of an oligosaccharide mixture to a bovine milk formula increases counts of faecal bifidobacteria in preterm infants. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed* 2002;**86**:F178-81.
- 10 Moro G, Minoli I, Mosca M, et al. Dosage related bifidogenic effects of galacto- and fructo-oligosaccharides in formula fed term infants. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2002;**34**:291-5.
- 11 Schmelz H, Wirth S, Sköpnik H, et al. Randomised 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. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2003;**36**:343-51.
- 12 Knol J, Scholtens B, Kafka C, et al. Colon microflora in infant fed formula with galacto- and fructo-oligosaccharides: more like breast fed infants. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2005;**40**:36-42.
- 13 Prescott SL. Development of allergen-specific T-cell memory in atopic and normal children. *Lancet* 1999;**353**:186-200.

- 14 **Illi S**, von Mutius E, Lau S, et al. The natural course of atopic dermatitis from birth to age 7 years and the association with asthma. *J Allergy Clin Immunol* 2004;113:925-31.
- 15 **Köhler H**, McCormick BA, Walker WA. Bacterial-enterocyte crosstalk: cellular mechanisms in health and disease. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2003;36:175-85.
- 16 **Kalliomäki M**, Salminen S, Arvilommi H, et al. Probiotics in primary prevention of atopic diseases: a randomized placebo-controlled trial. *Lancet* 2001;357:1076-9.
- 17 **Harrigan E**, Rabinowitz LG. Atopic dermatitis. *Pediatr Allergy Immunol* 1999;19:383-9.
- 18 **Muraro A**, Dreborg S, Halken S, et al. Dietary prevention of allergic diseases in infants and small children. Part II: Evaluation of methods in allergy prevention studies and sensitization markers. Definitions and diagnostic criteria for allergic diseases. *Pediatr Allergy Immunol* 2004;14:196-205.
- 19 **Kunz B**, Oranje AP, Labreze L, et al. Clinical validation and guidelines for the SCORAD index: Consensus Report of the European Task Force on Atopic Dermatitis. *Dermatology* 1997;195:10-19.
- 20 **Anon**. Severity scoring of atopic dermatitis: the SCORAD index. Consensus Report of the European Task Force on Atopic Dermatitis. *Dermatology* 1993;186:23-31.
- 21 **Fanaro S**, Vigi V, Chierici R, et al. Fecal flora measurements of breast fed infants using an integrated transport and culturing system. *Acta Paediatr* 2003;92:634-5.
- 22 **Newcombe RG**. Two-sided confidence intervals for the single proportion: comparison of seven methods. *Stat Med* 1998;17:857-72.
- 23 **Moore MM**, Rifas-Shiman SL, Rich-Edwards JW, et al. Perinatal predictors of atopic dermatitis occurring in the first six months of life. *Pediatrics* 2004;113:468-74.
- 24 **Bruno G**, Milita O, Ferrara M, et al. Prevention of atopic diseases in high risk babies (long-term follow-up). *Allergy Proc* 1993;14:181-6.
- 25 **Laitinen K**, Kalliomäki M, Poussia T, et al. Evaluation of diet and growth in children with and without atopic eczema: follow-up study from birth to 4 years. *Br J Nutr* 2005;94:565-74.
- 26 **Host A**, Koletzko B, Dreborg S, et al. Dietary products used in infants for treatment and prevention of food allergy. Joint Statement of the European Society for Paediatric Allergology and Clinical Immunology (ESPAIC) Committee on Hypoallergenic Formulas and the European Society for Paediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition (ESPGHAN) Committee on Nutrition. *Arch Dis Child* 1999;81:80-4.
- 27 **Berg von A**, Koletzko S, Grübl A, et al. The effect of hydrolyzed cow's milk formula for allergy prevention in the first year of life: The German Infant Nutritional Intervention Study, a randomized double-blind trial. *J Allergy Clin Immunol* 2003;111:533-40.
- 28 **Bakker-Zierikzee AM**, Alles M, Knol J, et al. Effects of infant formula containing a mixture of galacto- and fructo-oligosaccharides on viable *Bifidobacterium* animalis on the intestinal microflora during the first 4 months of life. *Br J Nutr* 2005;94:783-90.
- 29 **Eiwegger T**, Stahl B, Schmitt J, et al. Human milk-derived oligosaccharides and plant-derived oligosaccharides stimulate cytokine production of cord blood T-cells in vitro. *Pediatr Res* 2004;56:536-40.
- 30 **Bode L**, Rudloff S, Kunz C, et al. Human milk oligosaccharides reduce platelet-neutrophil complex formation leading to a decrease in neutrophil beta 2 integrin expression. *J Leukoc Biol* 2004;76:820.
- 31 **van den Berg A**, van Elburg RM, Teerlink T, et al. A randomized controlled trial of enteral glutamine supplementation in very low birth weight infants: plasma amino acid concentrations. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2005;41:66-71.
- 32 **Watzl B**, Girrbach S, Roller M. Inulin, oligofructose and immunomodulation. *Br J Nutr* 2005;93(suppl 1):S49-55.
- 33 **Garssen J**, Vos P, M'Rabet L, et al. Oral exposure to a mixture of galacto-oligosaccharides and long chain fructo-oligosaccharides as a new concept for allergy prevention. *Allergy Clin Immunol Int* 2005;(suppl 1):572.
- 34 **Miskangas M**, Pajari AM, Päiväranta E, et al. Promotion of adenoma growth by dietary inulin is associated with increase in cyclin D1 and decrease in adhesion proteins in Min/+ mice mucosa. *J Nutr Biochem* 2005;16:402-9.
- 35 **Pool-Zobel B**. Inulin-type fructans and reduction in colon cancer risk: review of experimental and human data. *B J Nutr* 2005;93(suppl 1):S73-90.
- 36 **Scientific Committee on Food**. Additional statement on the use of resistant short chain carbohydrates (oligofructosyl-saccharose and oligo-galactosyl-lactose) in infant formulae and follow-on formulae. *SCF/CS/NUT/IF/47 Final*. 14 December, 2001.

