

De hygiënehypothese onder de loep

The hygiene hypothesis revisited

S. Croon¹, prof. dr. Ir. G. Rijkers², dr. A. Budding³, prof. dr. E. de Jong⁴, dr. E. Knol⁵, dr. H. Smits⁶, B. Tool⁷, prof. dr. Ir. R. Kort⁸

SAMENVATTING

De hygiënehypothese stelt dat door verbetering van de hygiëne en de afname van kinderziekten het menselijk afweersysteem inadequaat reageert op relatief onschuldige prikkels, waarmee een verklaring wordt geboden voor de toename in prevalentie van onder meer eczeem, astma en allergieën in de geïndustrialiseerde wereld. Op 20 september 2018 vond een debat plaats over de hygiënehypothese in ARTIS-Micropia, Amsterdam. Experts op het gebied van microbiologie, immunologie en infectiepreventie gingen met elkaar en 60 genodigden in debat over de hygiënehypothese aan de hand van 5 stellingen. De eerste 3 stellingen betroffen het gebruik van de term 'hygiënehypothese', in hoeverre de hypothese bevestigd of ontkracht kan worden en of het voorkomen van allergieën door middel van toediening van micro-organismen effectief is. De laatste 2 stellingen gingen over de vraag of intensief contact met micro-organismen een overactief immuunsysteem voorkomt en of buitenspelen dan wel een bepaald voedingspatroon allergieën en auto-immuunziekten kunnen voorkomen. Onder het expertpanel was consensus over het belang van blootstelling aan een hoge diversiteit van micro-

SUMMARY

The hygiene hypothesis states that as a result of improved hygiene and reduction of childhood diseases, the human immune system overreacts to relatively harmless stimuli, offering an explanation for the increase in the prevalence of eczema, asthma and allergies in the industrialised world. On the 20th of September 2018, a debate on the hygiene hypothesis took place in ARTIS-Micropia, Amsterdam. Experts in the fields of microbiology, immunology and infection prevention debated with each other and with the audience about 5 statements regarding the hygiene hypothesis. The first 3 statements dealt with the use of the name 'hygiene hypothesis', whether we can confirm or disprove the hypothesis and whether prevention of allergies by administration of micro-organisms is effective. The last 2 statements stated that intensive contact with micro-organisms prevents an overactive immune system and that playing outside and having a certain dietary pattern can prevent autoimmune and allergic diseases. The experts in the panel reached consensus about the importance of exposure to a high diversity of micro-organisms in early life to prevent an overactive immune system. They agreed

¹BSc-student, University College Roosevelt (UCR), Science Department, Middelburg, ²professor in Biomedical and Life Sciences, University College Roosevelt (UCR), Science Department, Middelburg, ³klinisch microbioloog, afdeling Medische Microbiologie en Infectiepreventie, Amsterdam UMC, locatie VUmc, ⁴professor in Cellulaire Immuunregulatie, afdeling Experimentele Immunologie, Amsterdam UMC, locatie AMC, ⁵associate professor, immunoloog, afdeling Immunologie en Dermatologie/Allergologie, UMC Utrecht, ⁶associate professor, immunoloog, afdeling Parasitologie, LUMC, Leiden, ⁷directeur, Maag Lever Darmstichting, Amersfoort, ⁸professor in Microbiologie, ARTIS-Micropia Chair, afdeling Moleculaire Celbiologie, VU Amsterdam, Amsterdam.

Correspondentie graag richten aan: dhr. R. Kort, VU Amsterdam, afdeling Moleculaire Celbiologie, De Boelelaan 1108, 1081 HZ Amsterdam, tel.: +31-205987241, e-mailadres: r.kort@vu.nl

Belangenconflict: geen gemeld. Financiële ondersteuning: geen gemeld.

Trefwoorden: allergie, ARTIS-Micropia-debat, auto-immuunziekten, hygiënehypothese.

Keywords: allergy, ARTIS-Micropia debate, auto-immune diseases, hygiene hypothesis.

ONTVANGEN 15 NOVEMBER 2018, GEACCEPTEERD 21 DECEMBER 2018.

organismen vroeg in het leven om een overactief immuunsysteem te voorkomen, maar er is meer onderzoek nodig om uitspraken te kunnen doen over effectieve en praktische interventies in ons dagelijks leven.

(NED TIJDSCHR ALLERGIE, ASTMA, KLIN IMMUNOL 2019;19:55-60)

that more research is needed in the coming years to be able to substantiate effective and practical interventions in our daily lives.

INTRODUCTIE

In de geïndustrialiseerde wereld is sinds de vorige eeuw sprake van een toename van chronische ontstekingsziekten zoals auto-immuunziekten en allergische aandoeningen. Wereldwijd lijden 1 miljard mensen aan een allergie en met de snelle toename wordt verwacht dat dit aantal in 2050 rond de 4 miljard ligt.¹ De hygiënehypothese tracht deze toename van allergieën en auto-immuunziekten te verklaren. De hypothese stelt dat een gebrek aan blootstelling aan micro-organismen in het vroege leven leidt tot een overactief, slecht afgestemd immuunsysteem dat reageert op relatief onschuldige prikkels, zoals bestanddelen in voeding, de darmmicrobiota en lichaamseigen cellen.²

Charles Harrison Blackley, de ontdekker van het mechanisme achter hooikoorts, schreef al in 1880 dat deze aandoening vaker voorkomt bij aristocraten en stedelingen dan bij boeren. Het concept van de hygiënehypothese werd echter pas in 1989 bekend door een publicatie van de epidemioloog David Strachan. Hij bestudeerde de epidemiologie van hooikoorts bij 17.414 Engelse kinderen en vond een negatieve correlatie tussen het aantal kinderen in het gezin en hooikoorts bij kinderen van 11 jaar. Op basis hiervan stelde hij dat een lagere incidentie van infecties in de vroege kinderjaren een verklaring zou kunnen zijn voor de snelle stijging van allergische ziekten in de 20ste eeuw.³ Verder liet Bach in 2002 zien dat een afname van infectieziekten, zoals tuberculose, mazelen en bof, correleert met een toename in allergieën en auto-immuunziekten, zoals de ziekte van Crohn, diabetes type 1 en astma.⁴ Graham Rook gaf in 2003 met zijn 'old friends'-hypothese ook een verklaring voor de toenemende incidentie van allergieën en auto-immuunziekten. Rook's voorstel is in essentie een verfijning van de hygiënehypothese. Hij betoogt dat blootstelling van het immuunsysteem aan 'oude' micro-organismen, die al langdurig aanwezig waren tijdens de co-evolutie van mens en microbe, essentieel is.⁵ Tot deze micro-organismen behoren de parasiet toxoplasma, de maagbacterie *Helicobacter pylori*, *Mycobacterium tuberculosis*, darmparasieten (nematoden) en pseudo-commensalen. Onder de laatstgenoemde groep worden micro-orga-

nismen in de grond en in gefermenteerde voeding gerekend. Gedurende de evolutie van de mens stond men hier onvermijdelijk mee in contact en verwierven deze micro-organismen een rol binnen het aansturen en afstemmen van een gezond immuunsysteem. De blootstelling aan deze micro-organismen is in de moderne omgeving afgenomen door tal van factoren, waaronder de overgang naar een stedelijke leefomgeving bestaande uit asfalt en beton, verandering van het voedingspatroon, zuivering van drinkwater, aanleg van riolering en het veelvuldig gebruik van antibiotica. Dit gebrek aan contact tussen microben en het immuunsysteem verhoogt de kans op moderne ontstekingsaandoeningen.⁶

Tijdens het debat over de hygiënehypothese bij ARTIS-Micropia gingen verschillende experts op het gebied van microbiologie, immunologie en infectiepreventie met elkaar in discussie over 5 stellingen over de hygiënehypothese. De uitkomsten van deze discussies, inclusief aanbevelingen voor de toepassing hiervan, staan hieronder per stelling samengevat.

STELLING 1:

DE BIODIVERSITEITSHYPOTHESE IS EEN BETERE NAAM DAN DE HYGIËNEHYPOTHESE

De term 'hygiëne' kan op verschillende manieren worden uitgelegd en daarom bij het algemene publiek tot verwarring leiden. De hypothese zou, onterecht, kunnen oproepen om de persoonlijke hygiëne te verminderen. Verminderde persoonlijke hygiëne levert echter geen winst op en leidt in sommige gevallen juist tot een verhoogd risico op infectieziekten. Daardoor zou een andere naam wenselijk kunnen zijn, zoals de biodiversiteitshypothese, om de juiste boodschap aan het grote publiek af te geven. Deze naam impliceert praktisch gezien hetzelfde als de oude naam, namelijk dat het van belang is dat het immuunsysteem contact maakt met een hoge diversiteit aan micro-organismen. Deze nieuwe naam maakt ook duidelijker dat de afname in microbiële biodiversiteit binnen een individu of groep gecorreleerd is met de toename in allergieën en auto-immuunziekten. Daarnaast past de nuancering die

Rook met zijn 'old friends'-hypothese aanbracht ook beter in deze benaming.

Hoewel er consensus is over het feit dat de naam 'hygiënehypothese' de lading onvoldoende dekt, zijn er ook argumenten om deze wel te behouden. Het is een naam die bekend is bij het grote publiek en die een bepaalde beeldvorming oproept. Iets wat een naam als biodiversiteitshypothese mogelijk minder doet. Van belang is in ieder geval om het concept genuanceerd aan het publiek uit te leggen om te voorkomen dat er onjuiste conclusies worden getrokken, bijvoorbeeld dat een goede hygiëne of het vaccineren van kinderen niet nodig of zelfs ongewenst zou zijn.

STELLING 2: HET HUIDIGE KENNISNIVEAU IS ONVOLDOENDE OM DE HYGIËNEHYPOTHESE TE BEVESTIGEN OF TE ONTKRACHTEN

Er wordt inmiddels al meer dan 3 decennia onderzoek gedaan naar de juistheid van de hypothese. Het merendeel van de populatiestudies die momenteel voltooid of nog bezig zijn, onderzoekt correlaties. Er is onlangs een groot-schalig onderzoek in Finland gestart waarin deelnemers leefstijladviezen kregen en de onderzoekers inzetten op verschillende factoren in plaats van één. Deelnemers kregen bijvoorbeeld het advies om veel met hun kind naar buiten te gaan, een gevarieerd eetpatroon met veel groenten, fruit en gefermenteerde voeding te volgen en een huisdier te nemen. Uit dit onderzoek is gebleken dat de incidentie van allergieën bij de mensen met een aangepaste leefstijl lager is dan die bij de mensen uit de controlegroepen.⁷ Omdat dit soort studies geen direct causaal verband aanduidt, hebben deze studies geen absolute bewijskracht voor de hygiënehypothese. Studies die mogelijke causale verbanden wél onderzoeken, bijvoorbeeld door middel van een interventie met probiotica, bacteriële lysaten en nematoden, zijn daarom van groot belang voor de microbiologische en immunologische onderbouwing van de hygiënehypothese. Studies met specifieke probiotica laten *in vitro* en bij proefdieren overtuigende effecten zien, maar er is geen consensus onder het panel van experts over de effectiviteit van probioticagebruik bij mensen.⁸ Aangezien de hygiënehypothese in verband wordt gebracht met een afname van microbiële diversiteit is een gelijktijdige analyse van de samenstelling van de populatie micro-organismen in ons lichaam (de humane microbiota) van belang.⁹ Met moderne moleculair-microbiologische technieken kan tegenwoordig een goed beeld van de samenstelling en onderlinge verhoudingen van de microbiële populaties worden verkregen. Bovendien is er steeds meer bekend over de moleculaire mechanismen die ten grondslag lig-

gen aan de interactie tussen bacteriën en de gastheer. Zo hebben studies laten zien dat veranderingen in de compositie van de darmmicrobiota geassocieerd zijn met ontstekingsziekten, waaronder astma, allergie, chronische inflammatoire darmziekten en diabetes type I.¹⁰ Daarnaast is de activiteit van bijvoorbeeld bacteriële *Ruminococcus* en *Bacteroides*-soorten in de dikke darm van belang voor de omzetting van vezels in korteketenvezuren (voornamelijk butyraat, propionaat en acetaat), die allergische reacties kunnen onderdrukken.¹¹

STELLING 3: HET VOORKÓMEN VAN ALLERGIEËN DOOR HET TOEDIENEN VAN BEPAALDE MICRO- ORGANISMEN WERKT NOG NIET

Het geheel voorkomen van allergieën door middel van micro-organismen is waarschijnlijk niet mogelijk. Er zijn wel verschillende studies gedaan met probiotica, die verschillende resultaten tonen. Er moet rekening gehouden worden met het feit dat de samenstelling van de darmmicrobiota sterk varieert tussen personen en dat verschillen in de individuele genetische achtergrond een rol kunnen spelen. Variatie tussen subgroepen is dus logisch, maar maakt eenduidige conclusies uit onderzoek lastig. Een ander punt is dat er geen goede biomarkers zijn waarmee bepaald kan worden of een kind in zijn latere leven allergisch wordt. In onderzoeken naar specifieke groepen worden momenteel vaak hoogrisicokinderen geïncludeerd. Dit zijn kinderen waarvan de directe familie een atopische ziekte heeft. Een van deze studies toonde aan dat door toediening van probiotica het percentage van kinderen met eczeem op de leeftijd van 3 maanden drastisch daalde.¹² Het doel van dit onderzoek was echter om astma-incidentie te verminderen, maar daarin werd op de leeftijd van 6 jaar geen verschil gevonden.¹³ De tot nu toe uitgevoerde onderzoeken tonen aan dat het toedienen van probiotica een positief effect op eczeem zou kunnen hebben, maar de onderliggende mechanismen van succes en falen zijn nog grotendeels onduidelijk. In de toekomst is meer onderzoek nodig, waarbij het goed zou zijn gebruik te maken van alternatieven voor de standaard onderzoeksmethoden (dubbelblinde, gerandomiseerde, placebo-gecontroleerde, klinische trials).¹⁴

STELLING 4: INTENSIEF CONTACT MET MICRO-ORGANISMEN VROEG IN HET LEVEN VOORKOMT EEN ONOPGEVOED IMMUUNSISTEEM

Intensief contact met micro-organismen in de eerste maanden na de geboorte is belangrijk, maar nog belangrij-

ker is dat dit contact divers is. Wat tot nu toe uit onderzoek geconcludeerd kan worden, is dat beschermende effecten niet terug te voeren zijn op 1 of 2 micro-organismen, maar dat het juist belangrijk is om blootgesteld te worden aan een hoge diversiteit van micro-organismen. Dat betekent niet dat kinderen veel infectieziekten moeten doormaken, maar wel dat ze in contact moeten komen met verschillende typen micro-organismen, die de darmen en andere oppervlaktes kunnen koloniseren. Eerder werd al de 'old friends'-hypothese genoemd. Deze micro-organismen zouden vroeg in het leven geschikt kunnen zijn om het immuunsysteem op te voeden en ze niet alleen het verschil tussen 'eigen en lichaamsvreemd' te laten herkennen maar ook tussen 'onschuldig en gevaarlijk'. We moeten echter wel beseffen dat onder deze micro-organismen ook ziekteverwekkers zitten. Dankzij het Rijksvaccinatieprogramma zijn veel van die ziekteverwekkers buiten spel gezet, waarbij we in ogenschouw moeten nemen dat dit afhankelijk is van een goed werkend immuunsysteem. Voor bijvoorbeeld patiënten met een verzwakt immuunsysteem in ziekenhuizen of elders kan ieder micro-organisme, een bekende ziekteverwekker of niet, tot een levensbedreigende infectie leiden. Hier schuilt meteen een gevaar: blootstelling aan de zogenaamde 'old friends' kan ook het risico op infectie verhogen. Belangrijk is dat niet iedere doorgemaakte infectie lijkt te beschermen tegen allergieën en auto-immuunziekten; het zijn vooral de micro-organismen die via het maag-darmstelsel in ons lichaam geïntroduceerd worden die dit effect lijken te hebben.¹⁵ Over het algemeen kun je stellen dat het aanpakken van de 'old friends' door de verbetering van de hygiënestandaard een enorm positief effect heeft op ons alledaagse leven en onze levensduur.

Een divers contact met bepaalde micro-organismen vroeg in het leven leidt dus tot de ontwikkeling van een gebalanceerd en goed opgevoed immuunsysteem. De allerbelangrijkste periode daarvoor is kort na de geboorte. Tijdens de foetale periode wordt reeds een compleet immuunsysteem aangelegd. Op het moment dat het kind wordt geboren, wordt dit immuunsysteem blootgesteld aan allerlei micro-organismen. Uit dierproeven weten we dat als dit niet gebeurt het immuunsysteem zich niet gebalanceerd ontwikkelt. De moeder heeft de grootste invloed op de ontwikkelende microbiota van het kind, aangezien de meeste micro-organismen in het vroege leven van haar komen. Daarbij spelen ook de vader en eventuele oudere broertjes, zusjes en (huis)dieren een grote rol, alsmede de directe leefomgeving. Er zou dus gesteld kunnen worden dat het van belang is dat ook de ouders en hun oudere kinderen in contact komen met diverse micro-organismen, door bij-

voorbeeld contact met (huis)dieren, zodat micro-organismen via hen aan de baby kunnen worden overgedragen. Het belang van het geboortekanaal voor de aanleg en de samenstelling van de microbiota van de baby is aangetoond in een onderzoek dat vaginale geboortes en keizersneden vergelijkt. Hieruit blijkt dat kinderen die met een keizersnede geboren worden een andere microbiota ontwikkelen dan kinderen die natuurlijk ter wereld komen.¹⁶ Ander onderzoek wijst uit dat keizersnede-kinderen die direct na de geboorte worden blootgesteld aan vaginaal vocht van de moeder in de eerste 30 dagen een microbiota ontwikkelen die meer vergelijkbaar is met die van vaginaal geboren kinderen, in tegenstelling tot onbehandelde keizersnede-kinderen.¹⁷ Verder onderzoek wijst uit dat kinderen die via een keizersnede geboren zijn een verhoogd risico hebben op astma, eczeem, coeliakie, diabetes type I en obesitas.¹⁸⁻²⁰ Op grond van deze en andere onderzoeken kan geconcludeerd worden dat stelling 4 aannemelijk is.

STELLING 5:
ALS JONGE KINDEREN MEER Zouden
BUITENSPELEN, PROBIOTICA DRINKEN EN
DIVERSE EN GEFERMENTEERDE VOEDING
ETEN, VERLAAGT DAT DE KANS OP
CHRONISCHE ONTSTEKINGSZIEKTEN

Het is vastgesteld dat de diversiteit en het aantal micro-organismen in personen die opgroeien in welvarende stedelijke omgevingen zijn afgenomen.²¹ Dit betekent dat in landen zoals Nederland kinderen in iedere fase van het leven minder in aanraking komen met dergelijke micro-organismen. Zoals eerder beschreven kan een gebrek aan contact met diverse micro-organismen in het vroege leven een negatieve invloed hebben op de ontwikkeling van allergieën en auto-immuunziekten. Hoe we echter de vertaalslag naar de praktijk moeten maken en de verworven inzichten kunnen inzetten om ontstekingsziekten te voorkomen, is nog aan discussie onderhevig. Het is niet mogelijk om onderzoek uit te voeren waarbij 1 groep kinderen volledig vrij van micro-organismen opgroeit en de andere groep juist met een hoge blootstelling. Het is vooral belangrijk om de huidige situatie waarin kinderen opgroeien te vergelijken met een interventiesituatie, waarvan je hoopt dat er sprake is van een positief effect. Positieve aanwijzingen voor dagelijks gebruik van probiotica zijn maar sporadisch te vinden. Dat wordt mede veroorzaakt door de grote variatie aan probiotica, al dan niet goed gedefinieerd, die op de markt verkrijgbaar zijn en door een sterk wisselende kwaliteit van het onderzoek dat is uitgevoerd. Ook de beperkte soortenrijkheid van de meeste huidige probiotica zou een rol kunnen spelen. Onlangs is

AANWIJZINGEN VOOR DE PRAKTIJK

- 1 Intensiveer het contact met een diverse microbiologische (buiten)wereld, vooral in de eerste 1000 dagen.**
- 2 Stimuleer de diversiteit aan darmmicrobiota door middel van borstvoeding, vooral in de eerste 6 maanden, gevolgd door een zo gevarieerd mogelijk dieet, gefermenteerde voeding, contact met (huis)dieren en een groene, natuurlijke leefomgeving.**
- 3 Laat je bij de keuze van probiotica zo veel mogelijk leiden door wetenschappelijk onderzoek met specificaties van aandoening, behandelregime, micro-organismen en dosering.**

er desondanks een gids verschenen waarin een overzicht wordt gegeven van in Nederland verkrijgbare (combinaties van) probiotica met bewezen effectiviteit in het verminderen van diarreecomplicaties bij antibioticagebruik.²²

Het is zover nu bekend niet mogelijk om met behulp van probiotica de samenstelling van de darmmicrobiota permanent te veranderen, ook niet wanneer deze binnen de eerste 6 maanden van het leven, ten tijde van de belangrijkste ontwikkeling, worden gegeven. Het is dus ook onduidelijk of blootstelling aan micro-organismen door buitenspelen later nog invloed zou kunnen hebben op de samenstelling van de darmmicrobiota. Het vertalen van de bevindingen uit populatiestudies naar de toepassing in de praktijk van alledag is dus niet eenvoudig. Voor fabrikanten van producten die de samenstelling van de darmmicrobiota trachten te moduleren, zoals met probiotica, bestaat er Europese regelgeving omtrent het bewijzen van effecten op de gezondheid. Het wordt door dergelijke wetgeving steeds moeilijker om een nieuw levensmiddel met een gezondheidsclaim op de markt te brengen, wat kan leiden tot een versmalling, of op zijn minst tot een beperking, van de biodiversiteit in onze dagelijkse voeding. Mogelijk kan de herwaardering voor gefermenteerde voeding, waarbij zuivel, vlees, vis, groente en fruit omgezet worden

door gecontroleerde microbiële groei, leiden tot een voedingspatroon, waardoor deels gecompenseerd wordt voor het tekort aan microbiële blootstelling.²³

CONCLUSIE

Educatie is van belang, zowel over de precieze interpretatie van de hygiënehypothese als over de positieve effecten van contact met micro-organismen vroeg in het leven en de voortzetting hiervan op latere leeftijd. Er zijn momenteel veel onderzoeken gaande naar de invloed van biodiversiteit op de functionaliteit van onze darmmicrobiota en ons immuunsysteem. Uit al deze onderzoeken is het echter niet eenvoudig om handzame adviezen voor toepassing in de dagelijkse praktijk te genereren. De moeilijkheid zit hem erin dat aan de ene kant veel immuunziektes multifactorieel bepaald zijn, waardoor een bepaald effect moeilijk te herleiden is, en aan de andere kant dat de microbiota tussen personen sterk varieert, waardoor resultaten moeilijk te generaliseren zijn. Aanvullend onderzoek zal daarom uitsluitel moeten geven over de effectiviteit van (gepersonaliseerde) interventies om de verregaande, nadelige gevolgen op onze gezondheid te voorkomen die volgen uit de hygiënehypothese.

REFERENTIES

1. European Academy of Allergy and Clinical Immunology. Global Atlas of Allergy. Beschikbaar via: <http://www.eaaci.org/GlobalAtlas/GlobalAtlasAllergy.pdf> 2014.
2. Olszak T, An D, Zeissig S, et al. Microbial exposure during early life has persistent effects on natural killer T cell function. *Science* 2012;336:489-93.
3. Strachan DP. Hay fever, hygiene, and household size. *BMJ* 1989;299:1259.
4. Bach J. The effect of infections on susceptibility to autoimmune and allergic diseases. *N Engl J Med* 2002;347:911-20.
5. Rook GA, Martinelli R, Brunet LR. Innate immune responses to mycobacteria and the downregulation of atopic responses. *Curr Opin Allergy Clin Immunol* 2003;3:337-42.
6. Rook GA, Dalgleish A. Infection, immunoregulation, and cancer. *Immunol Rev* 2011;240:141-59.
7. Pelkonen AS, Kuitunen M, Dunder, et al. Allergy in children: practical recommendations of the Finnish Allergy Programme 2008-2018 for prevention, diagnosis, and treatment. *Pediatr Allergy Immunol* 2012;23:103-16.
8. Sharma G, Im SH. Probiotics as a potential immunomodulating pharmacobiotics in allergic diseases: Current status and future prospects. *Allergy Asthma Immunol Res* 2018;10:575-90.
9. Blaser MJ, Falkow S. What are the consequences of the disappearing hu-

- man microbiota? *Nat Rev Microbiol* 2009;7:887-94.
10. Haahtela T, Holgate S, Pawankar R, et al. WAO Special Committee on Climate Change and Biodiversity. The biodiversity hypothesis and allergic disease: world allergy organization position statement. *World Allergy Organ J* 2013;6:3.
 11. Trompette A, Gollwitzer ES, Yadava K, et al. Gut microbiota metabolism of dietary fiber influences allergic airway disease and hematopoiesis. *Nat Med* 2014;20:159-66.
 12. Niers L, Martin R, Rijkers G, et al. The effects of selected probiotic strains on the development of eczema (the Panda study). *Allergy* 2009;64:1349-58.
 13. Gorissen DMW, Rutten NBMM, Oostermeijer CMJ, et al. Preventive effects of selected probiotic strains on the development of asthma and allergic rhinitis in childhood. The Panda study. *Clin Exp Allergy* 2014;44:1431-3.
 14. Zeilstra D, Younes JA, Brummer, et al. Perspective: Fundamental limitations of the randomized controlled trial method in nutritional research: The example of probiotics. *Adv Nut* 2018;9:561-71.
 15. Matricardi PM, Rosmini F, Riondino S, et al. Exposure to foodborne and orofecal microbes versus airborne viruses in relation to atopy and allergic asthma: epidemiological study. *BMJ* 2000;320:412-7.
 16. Dominguez-Bello MG, Costello EK, Contreras M, et al. Delivery mode shapes the acquisition and structure of the initial microbiota across multiple body habitats in newborns. *Proc Natl Acad Sci* 2010;107:11971-5.
 17. Dominguez-Bello MG, De Jesus-Laboy KM, Shen N, et al. Partial restoration of the microbiota of cesarean-born infants via vaginal microbial transfer. *Nat med* 2016;22:250.
 18. Mueller NT, Bakacs E, Combellick J, et al. The infant microbiome development: mom matters. *Trends mol med* 2015;21:109-17.
 19. Mitselou N, Hallberg J, Stephansson O, et al. Cesarean delivery, preterm birth, and risk of food allergy: Nationwide Swedish cohort study of more than 1 million children. *J Allergy Clin Immunol* 2018;142:1510-4.
 20. Van Nimwegen FA, Penders J, Stobberingh EE, et al. Mode and place of delivery, gastrointestinal microbiota, and their influence on asthma and atopy. *J Allergy Clin Immunol* 2011;128:948-55.
 21. Von Hertzen L, Hanski I, Haahtela T. Natural immunity: biodiversity loss and inflammatory diseases are two global megatrends that might be related. *EMBO rep* 2011;12:1089-93.
 22. Agamennone V, Krul CAM, Rijkers G, et al. A practical guide for probiotics applied to the case of antibiotic-associated diarrhea in The Netherlands. *BMC Gastroenterol* 2018;18:103.
 23. Marco ML, Heeney D, Binda S, et al. Health benefits of fermented foods: microbiota and beyond. *Curr Opin Biotechnol* 2017;44:94-102.