

I probiotici: da Metchnikoff alle attuali possibilità preventive e terapeutiche

Probiotics: from Metchnikoff to the current preventive and therapeutic possibilities

Caramia G.

Key words: probiotics, probiotics therapy, intestinal microflora.

Riassunto

Dopo la segnalazione di Metchnikoff, circa un secolo fa, il quale per primo ipotizzò che alcuni batteri intestinali “producono sostanze utili contro un precoce invecchiamento”, gli studi sono progrediti lungo tutto l’arco del secolo da poco concluso dando luogo ad un notevole progresso delle conoscenze sul ruolo svolto dai microrganismi intestinali. Oggi tali microrganismi, chiamati “probiotici”, se rispettano determinati requisiti, sono molteplici e vengono prodotti su vasta scala. Attualmente si prospetta il loro razionale impiego, a scopo preventivo e terapeutico, non solo in alcune patologie gastrointestinali quali la diarrea infettiva, come raccomandato dalla Società Italiana di Gastroenterologia ed Epatologia Pediatrica, di Infettivologia Pediatrica e da Società Internazionali, ma anche in altre condizioni patologiche quali la dermatite atopica ed affezioni correlate come raccomandato dalle Linee Guida della American Academy of Dermatology Association. Il loro impiego va inoltre sempre più estendendosi ad altre condizioni morbose quali le malattie infiammatorie intestinali, le malattie respiratorie e persino alla prevenzione delle carie dentarie, patologie tutte in cui bisognerà attentamente valutare il loro reale effetto preventivo-terapeutico.

Non è dato sapere se Leonardo da Vinci (1452-1519) nella sua genialità quando affermava che “la vita dell’uomo si fa delle cose mangiate” immaginasse quanto i nutrienti, oltre a dare il sostentamento per vivere, possono condizionare lo stato di

benessere dell’uomo come risulta oggi sempre più evidente. Senza eccedere in ottimismo e pensare di aver trovato una panacea valida per tutti i mali, in attesa di ulteriori approfonditi studi che chiariscano i meccanismi d’azione in ogni singola patologia, vi sono fondati motivi per ritenere che i probiotici, ed anche i prebiotici, si stanno dimostrando sempre più fattori condizionanti lo stato di salute ed elementi di prevenzione e cura di molte condizioni patologiche.

Abstract

About a century ago, Metchnikoff first hypothesised that some intestinal bacteria “produce compounds useful against a premature ageing”. Since then, studies progressed over last century, leading to a remarkable improvement of the knowledge about the role of intestinal micro-organisms.

Nowadays a number of different micro-organisms satisfying certain requisites are named probiotics and are produced on a large scale. At present, a rational use of probiotics with preventive and therapeutic purposes has been proposed not only for some gastrointestinal pathologies, such as the infective diarrhea (as recommended by the Italian Society of Pediatric, the Italian Society of Gastroenterology and Hepatology, the Italian Society of Pediatric Infectious Disease, and by International Societies), but also for other pathologic conditions, such as the atopic dermatitis and related affections (as suggested by the American Academy of Dermatology Association guide lines). Moreover, the use of probiotics is going to be extended to other pathologies, such as the inflammatory intestinal and respiratory diseases, and even to the prevention of tooth decay, although the actual preventive and therapeutic effects of probiotics onto these pathologies have to be carefully investigated.

Relazione in parte presentata alle “3 Giornate Pediatriche Astigiane”, 10-11 ottobre 2003

Primario Emerito di Pediatria e Neonatologia - Azienda Ospedaliera Materno-Infantile “G. Salesi” - Ancona

Indirizzo per la corrispondenza (Corresponding author): Giuseppe Caramia - Via E. Toti, 1 - 60100 Ancona - tel. 071/36938, 335/6166470 - fax 071/3589180 - e-mail: caramiag@libero.it

It is unknown if the genius Leonardo Da Vinci (1452-1519), stating that “man’s life is built up by food” imagined how nutrients can influence human health, besides being essential for life, as it is today increasingly evident.

Avoiding an excessive optimism and the thought that an efficacious panacea for all troubles has been found, there are sound reasons to believe that probiotics, and prebiotics as well, can influence human health, through the prevention and therapy of many diseases, although further studies are still requested to fully clarify the mechanisms of action of these micro-organisms on each pathology.

Introduzione e cenni storici

I microrganismi sono stati sempre collegati, nel nostro inconscio, a possibili condizioni patologiche: non sempre però essi svolgono un ruolo patogeno per la salute dell’uomo.

Tale concetto trova le sue radici in quanto affermato da Metchnikoff circa un secolo fa nel 1907, il quale per primo ipotizzò che alcuni batteri intestinali “producono sostanze utili contro un precoce invecchiamento”¹.

Elia Metchnikoff, nato a Ivanovska in Ucraina il 16/05/1845 e divenuto professore universitario di zoologia ed anatomia comparata all’università di Odessa, intorno al 1870 soggiornò lungo la costa atlantica e mediterranea nella speranza che il clima di tali regioni potesse essere benefico per la salute della moglie.

Nel 1874 in occasione di un viaggio a Messina studiando lo sviluppo embrionario degli organismi microscopici marini poté osservare al microscopio che se veniva introdotta nel corpo delle larve di stella marina una spina lontano dai vasi sanguigni e dalle strutture nervose, questa veniva ben presto circondata da numerosissime “cellule mobili”, i globuli bianchi, grazie a movimenti “ameboidi”. Suppose pertanto che queste cellule potessero svolgere una chiara finalità protettiva servendo così alla difesa dell’organismo contro gli intrusi proprio come si può osservare nell’uomo.

In quei giorni il patologo tedesco R.L. Virchow si trovò di passaggio a Messina e Metchnikoff poté esporgli le sue teorie sui sistemi di difesa dell’organismo. Virchow, benché colpito dalle tesi del ricercatore, gli fece osservare che l’opinione più accreditata tra i patologi era opposta a quanto egli affermava. Infatti, in quel periodo si pensava che i globuli bianchi inglobassero gli agenti patogeni per poi diffonderli in tutto l’organismo.

Metchnikoff lungo il viaggio di ritorno ad Odessa per diffondere le sue tesi, fece tappa a Vienna dal suo amico zoologo, Carl Claus, il quale gli propose di chiamare il fenomeno osservato con il termine di “fagocitosi” e la cellula che possedeva tale funzione “fagocita”.

Nonostante Elia Metchnikoff avesse scoperto una tra le più importanti funzioni del sistema di difesa dell’organismo, che gli valse il Nobel nel 1908, il suo nome è legato alla scoperta dell’importanza di un buon equilibrio nell’ambito della flora batterica intestinale, in particolare alla possibile importanza della batterioterapia orale.

Infatti, interessandosi anche dei fenomeni dell’invecchiamento, notò che le persone ultracentenarie che vivevano in Caucasia e Bulgaria facevano largo uso nell’alimentazione di latte acido.

Esaminò quindi un gran numero di campioni di latte acido al microscopio e osservò la presenza in essi di un bacillo, da lui denominato *Lactobacillus bulgaricus*: ipotizzò pertanto che alcuni batteri intestinali producessero delle tossine responsabili di un invecchiamento precoce che potevano essere neutralizzate da sostanze prodotte da tale lattobacillo.

La teoria di Metchnikoff che il latte acido potesse allungare la vita fu accolta favorevolmente non solo in Europa ma anche oltre Oceano per cui sorsero industrie per la produzione di yogurt in tutto il mondo. In realtà, già negli anni ‘20 ricerche microbiologiche dimostrarono che i lattobacilli presenti nell’intestino non erano gli stessi utilizzati per le produzioni di latte fermentato. La sua geniale ipotesi, non ostante fosse stata successivamente derisa dalla comunità scientifica dell’epoca, rimase però nell’immaginario collettivo e subì quindi, con il passare degli anni e con il progredire delle conoscenze, una lenta evoluzione scientifica. Questa è stata segnata da Zobel e Andersen nel 1936, con l’affermazione dell’esistenza nel grosso intestino di una “pellicola microbica” costituita da una popolazione di molte specie batteriche aderenti l’un l’altro, costituenti un complesso ecosistema sede di intense attività metaboliche, e nel 1965 ad opera dei veterinari Lilly e Stillwell con l’introduzione del termine “probiotico”, un sinonimo di antibiotico, ma è esplosa solo negli ultimi quindici anni.

Elia Metchnikoff morì a Parigi nel 1916 all’età di settantuno anni, per quei tempi longevo.

Dopo la prima affermazione di Metchnikoff si è assistito ad un fiorire di ricerche, soprattutto negli ultimi anni, nel tentativo di evidenziare l’esistenza di un equilibrio dinamico tra nutrizione, microflora intestinale e salute dell’ospite.

Dalla microflora intestinale ai probiotici

È stato così evidenziato che durante la vita fetale l’intestino è sterile ma subito dopo la nascita si ha una sua rapida colonizzazione ad opera di batteri e si sviluppa una microflora intestinale varia in rapporto al tipo di parto, all’ambiente in cui vive il neonato e all’alimentazione. I nati da parto fisiologico hanno infatti una flora da contaminazione per il passaggio attraverso il canale da parto e all’ambiente nosocomiale mentre quelli nati da taglio cesareo hanno una flora condizionata dall’ambiente ma più povera e tardiva².

Tabella 1

PRINCIPALI PROBIOTICI

• Batteri:	<i>Bifidobatteri gram-positivi:</i>	B. adolescentis, B. bifidum, B. brevis, B. infantis, B. lactis, B. longum, B. thermophilum
	<i>Lattobacilli gram-positivi:</i>	L. acidophilus, L. bifidus, L. brevis, L. casei Shirota, L. clusei, L. delbrueckii spp Bulgaricus (Lb12), L. fermentum, L. gasseri, L. johnsonii, L. lactis, L. plantarum, L. reuteri, L. Sp. rhamnosus (LGG), L. salivarium
	<i>Cocchi gram-positivi:</i>	Streptococcus thermophilus, Enterococcus faecium, S. Intermedius, Streptococcus a-emolitico
	<i>Cocchi gram-negativi:</i>	E. coli Nissle (1917)
	<i>Bacilli sporigeni Gram positivi:</i>	B. subtilis, B. clausii, B. cereus
• Miceti:	Saccharomyces boulardii, Saccharomyces cerevisiae	

(da Shah e Guarino e coll.^{10,16} modificata)

Inoltre l'inizio e il tipo di alimentazione svolgono un ruolo di primo piano sullo sviluppo della flora intestinale. L'alimentazione con latte materno, per il contenuto in oligosaccaridi, stimola la crescita intestinale di bifidobatteri e lattobacilli con effetti benefici indotti da tale flora e rappresentati da: miglioramento delle funzioni digestive e dell'assorbimento di nutrienti e minerali, stimolo del sistema immunitario e della sintesi di alcune vitamine, riduzione del rischio di allergie ed ostacolo allo sviluppo di flora patogena³⁻⁷.

Il bambino allattato artificialmente sviluppa invece una flora batterica mista con minor numero di bifidobatteri e con maggior presenza di altri germi (batterioidi, clostridi, stafilococchi) che, in alcune situazioni particolari, possono avere anche effetti patogeni⁶.

Con l'inizio del svezzamento si ha una diversificazione della dieta che determinerà, nell'adulto, caratteristiche compositive della microflora intestinale strettamente individuali condizionate da variabili fisiologiche quali l'età, l'alimentazione, lo stile di vita, interazioni fra i vari costituenti della flora stessa, e patologiche quali malattie intestinali, in particolare infettive, trattamenti antibiotici, radioterapia, ecc.: meno influenti risultano invece l'etnia e i fattori climatico-ambientali. La crescita ed il metabolismo della microflora intestinale dipende dalla disponibilità dei vari substrati che sono per la maggior parte di origine alimentare.

L'intestino viene così a contenere secondo alcuni, in una superficie stimata di circa 250 m², una popolazione di migliaia di miliardi di microrganismi pari a 10¹⁴ appartenenti a 17 famiglie, 45 generi e quasi 500 specie⁸.

Dei numerosi batteri che costituiscono la microflora intestinale e che concorrono a soddisfare al fabbisogno vitaminico quotidiano (per esempio vit. K), solo i bifidobatteri, gli eubatteri e i lattobacilli sono considerati universalmente benefici e particolarmente vantaggiosi per l'organismo ospite. Ciò avviene non solo a livello intestinale, come sopra riportato, ma anche favorendo la resistenza alla colonizzazione da parte di patogeni, condizionando positivamente la risposta immunitaria dell'organismo, migliorando il decorso clinico di varie condizioni patologiche, riducendo l'attività di enzimi mutageni, e svolgendo un certo effetto ipocolesterolemizzante^{4,6}.

La messa in evidenza delle prime azioni positive sull'organismo umano esercitate da alcuni microrganismi ha determinato, nel 1965 ad opera dei veterinari Lilly e Stillwell⁹, l'introduzione del termine "probiotico". Con tale termine, che da un punto di vista etimologico significa a favore della vita (pro bios) ed è antinomio di antibiotico, sono stati classificati successivamente vari microrganismi ad azione probiotica che nel 2001 erano 56 specie di lattobacilli e 29 di bifidobatteri (Tab. 1)¹⁰. Attualmente, però in base alle più recenti revisioni di Schaafsma, Salminen ed altri AA.¹¹⁻¹³ per probiotico si intende: un microrganismo di provenienza dall'intestino dell'uomo, in grado di non perdere le proprie caratteristiche durante la conservazione, non patogeno e privo di effetti collaterali (produzione di gas, attività azoreduttasi, nitroreduccasi, ecc.), resistente ad acidi gastrici e sali biliari in modo da superare la barriera gastroduodenale, in grado di essere attivi e vitali nelle condizioni ambientali dell'intestino cioè di aderire alle cellule intestinali umane, colonizzare l'intestino (anche se solo in maniera temporanea), produrre sostanze antimicrobiche (batteriocine, acido lattico, perossido di idrogeno ed alcune proteasi), svolgere azione antagonista verso i batteri patogeni, effetto trofico sulla mucosa intestinale, stimolante del sistema immunitario intestinale (GALT) e sistemico e vantaggioso per il benessere e la salute dell'ospite¹⁰⁻¹⁵.

Da quanto ora riportato, nonostante i microrganismi utilizzati nel processo della fermentazione dei prodotti lattiero-caseari, inizialmente lo yogurt e i lattici fermentati abbiano iniziato l'attuale era dei probiotici e sono comunemente chiamati "Fermenti Lattici" (Lactic Acid Bacteria) perché producono acido lattico, non possono essere considerati ceppi batterici probiotici in quanto non di derivazione umana. Tale denominazione è pertanto riservata ad altri microrganismi oggi contenuti oltre che nello yogurt nei lattici fermentati e non fermentati, nelle mousse, nelle formule per l'infanzia, in succhi, bevande, formaggi freschi a pasta molle, ecc. In seguito alle numerose ricerche tali microrganismi sono in continua crescita e vengono oggi considerati dei supplementi alimentari (Tab. 1). La loro vita negli alimenti è tanto più breve quanto maggiore è l'acidità mentre più liquido è l'alimento che li contiene più velocemente raggiungono l'intestino. Secondo alcuni è sufficiente uno yogurt o un bicchiere di latte pro-

Tabella 2

SITI INTESTINALI BERSAGLIO DI SPECIFICI PROBIOTICI

Effetti e conseguenze sulla risposta immune da parte di specifici probiotici

Probiotici	Target	Effetto immunologico	Conseguenze
• <i>L. casei</i> , <i>L. plantarum</i>	Placche di Peyer	Migrazione cellule T CD4 +> produzione IgA	Attivazione risposta immune MALT
• <i>L. rhamnosus</i> , <i>S. thermophilus</i> , <i>L. delbrueckii bulgaricus</i> , <i>Lactococcus lactis</i>	Cellule epiteliali	Produzione citochine Effetto immunomodulatore	> cellule IgA secretorie potenzia barriera intestinale
• <i>L. acidophilus</i>	Mucosa intestinale	Attivazione mucosa intestinale	> cellule IgA + intestinali

(da Guarino e coll.¹⁶ modificata)

biotico per soddisfare il fabbisogno giornaliero nella persona sana^{11,13,16-18}.

Aspetti fisiopatologici e meccanismo d'azione dei probiotici

Le migliorate possibilità di indagini e verifica oggi disponibili hanno spinto molti ricercatori a indagare i meccanismi d'azione dei probiotici evidenziando che tali meccanismi sono di natura diretta ed indiretta.

I meccanismi diretti, si basano soprattutto su dati in vitro e in vivo sono a favore dell'ipotesi della competizione, cioè dell'antagonismo tra microrganismi buoni, bifidobatteri e lattobacilli, e cattivi, *Bacteroides* ed *E. Coli*, creando un ambiente ostile per la colonizzazione di questi ultimi e sviluppo dei primi con ripercussioni sul sistema immune del bambino¹⁹ e su reperti sierologici e clinici: per esempio riduzione delle IgE, dell'eczema atopico o dell'allergia al latte vaccino²⁰.

Per tale ipotesi, confermata da numerosi studi, depongono anche la competizione con i patogeni per alcuni nutrienti, l'inibizione competitiva di siti recettoriali di microrganismi patogeni, la produzione di acidi organici ad azione batteriostatica, la modificazione della composizione di mucine, l'idrolisi di recettori e tossine, la produzione di IL-10 e TGF-beta e la mancata produzione di citochine pro infiammatorie: TNF-alfa, IL-1, IL-6, IL-8, IL-12²¹⁻²⁸.

Tutto ciò non spiega però gli effetti clinici antinfettivi di tipo indiretto o immunomediato extraintestinali dei probiotici la cui azione inizia nell'intestino per una interazione con il sistema immune mucosale modificando la risposta in ogni sua fase.

In seguito a modifiche a livello delle placche di Peyer, alla formazione di aggregati linfoidi, all'interessamento dell'epitelio specializzato nel trasporto di antigeni dal lume intestinale e dagli organi linfoidi della mucosa intestinale, le cellule immuni arrivano ai linfonodi regionali e, attraverso il dotto toracico, alla circolazione generale da dove possono popolare le mucose del tratto respiratorio, genitourinario, le ghiandole esocrine come quella mammaria, ecc. La somministrazione orale di batteri può quindi dar luogo, in siti mucosali distanti

dall'intestino, alla comparsa di una popolazione di cellule attivate o modulate in maniera specifica e diversa in rapporto sia alle diverse specie e ceppi di probiotici somministrati sia ai diversi siti bersaglio delle strutture intestinali dove questi hanno esplicato la loro azione (Tab. 2)^{17, 26-30}.

Influenzando la composizione della microflora intestinale, l'azione dei probiotici, si estrinseca pertanto sui vari aspetti della risposta immune come riportato schematicamente:

- Risposta immune aspecifica: vari lattobacilli stimolano l'immunità aspecifica (produzione di TNF-alfa IL-6, IL-10 da parte dei mononucleati periferici)³¹ senza scatenare una risposta pro infiammatoria, il *L. acidophilus* aumenta la fagocitosi di neutrofili in topi germ-free e la clearance intestinale di *E. coli*³². LGG aumenta l'espressione dei recettori per la chemochina e per le Ig sulla superficie dei neutrofili³³.
- Risposta umorale: alcuni probiotici sono in grado di intervenire sulla risposta immune umorale, ed in particolare sulla produzione di IgA secretorie (*L. casei*, *L. acidophilus*, *L. Lactis* e *B. bifidum*) e sul numero di linfociti B IgG+ presenti nella lamina propria³⁴⁻³⁶.
- Risposta cellulare: diversi ceppi di lattobacilli modificano, in maniera dipendente dal ceppo, dalla dose e dalla durata del trattamento, l'espressione di linfociti T CD8+ nella mucosa intestinale³⁷.
- Produzione di citochine e loro regolazione: specifici batteri modulano la produzione di specifiche citochine e intervengono nella polarizzazione della risposta T in Th1 (protezione dalle infezioni), Th2 (risposta di tipo allergico)^{26,39}. LGG aumenta la escrezione con il latte materno del transforming growth factor TGF-Beta2 riducendo il rischio di eczema atopico nei bambini nei primi due anni⁴⁰.

Aspetti terapeutici

I numerosi studi sperimentali sugli effetti metabolici e clinici, nell'animale da esperimento e nell'uomo, dei lattobacilli e/o bifidobatteri e di molti prodotti del commercio denominati poi probiotici, ha indotto la comunità scientifica a far luce sul-

la sicurezza e sulla loro reale azione positiva sulla salute dell'uomo. Un importante studio multicentrico Europeo "PRO-DEMO" iniziato nel 1996 e concluso nel 1999² e la ricerca condotta su Medline e sulla Cochrane Library, volta a reperire rassegne e studi clinici randomizzati, in doppio cieco, contro placebo, permettono oggi di valutare meglio i vari probiotici usati e le varie condizioni patologiche nelle quali sono stati impiegati. Da tutto ciò va subito rilevato che solo per quattro ceppi, *Lactobacillus casei* ceppo rhamnosus GG (il più usato in senso assoluto), *Saccharomyces cerevisiae* e *Boulardii*, *Lactobacillus paracasei* Shirota e il *Bifidobacterium lactis* BB12 vi è un discreto numero di studi mentre per gli altri gli studi sono ancora pochi e le informazioni, circa i reali risultati che si possono ottenere, sono pertanto ancora scarse. Dall'esame della letteratura, possiamo inoltre distinguere due gruppi di condizioni cliniche o patologie sottoposte a trattamento: quelle per le quali vi è una fondata evidenza di efficacia e quelle con evidenza di efficacia emergente ma da confermare (Tab. 3).

Diarrea da infezioni intestinali

Per vari decenni i probiotici sono stati proposti, con maggiore o minore convinzione, nella profilassi e terapia della gastroenterite dell'infanzia, importante patologia in particolare nei primi due anni di vita che necessita di una terapia efficace e sicura. Solo negli ultimi anni però sono stati condotti studi clinici controllati che ne hanno definitivamente provato l'efficacia¹⁷.

In ambito preventivo, studi effettuati in bambini della prima-seconda infanzia, alcuni dei quali ospedalizzati, hanno dimostrato che l'aggiunta al latte di *Bifidobacterium bifidum* e *Streptococcus thermophilus* riduce sensibilmente (da 2 a 4 volte) l'incidenza di infezione subclinica (aumento del titolo anticorpale) e clinica (diarrea) da Rotavirus^{41,42}. Sebbene la somministrazione di *Lactobacillus* GG, riduca sensibilmente il rischio di gastroenterite virale, tre recenti studi clinici controllati in doppio cieco non hanno permesso di trarre delle conclusioni di efficacia definitive anche per le differenze cliniche e statistiche⁴³⁻⁴⁵.

In ambito terapeutico, oltre allo studio multicentrico europeo di Guandalini e coll.⁴⁶ che ha evidenziato una riduzione della durata della diarrea da Rotavirus, due recenti metanalisi, una che ha preso in considerazione tutte le preparazioni di probiotici⁴⁷ ed una gli studi effettuati con solo lattobacilli⁴⁸ hanno dimostrato un effetto significativo nel trattamento della diarrea acuta infettiva con riduzione della durata e della frequenza delle scariche di diarrea. Fra tutti i probiotici studiati, il *Lactobacillus* GG rappresenta il microrganismo il cui effetto terapeutico è più riproducibile. L'analisi degli studi effettuati con lattobacilli ha messo in evidenza un'azione dose-dipendente e suggerito che per ottenere un effetto terapeutico

Tabella 3

PATOLOGIE ED EFFICACIA DEI PROBIOTICI

Patologie con fondata evidenza di efficacia

- Diarrea da infezioni intestinali: efficacia terapeutica: terap. e prevent. se da Rotavirus
- Diarrea da antibiotici: efficacia preventiva
- Diarrea del viaggiatore: efficacia preventiva
- Malattie atopiche: efficacia preventiva e terapeutica (eczema atopico, rinite allergica, allergia alimentare, asma)
- Carie dentarie: efficacia preventiva

Patologie con evidenza di efficacia da confermare

- Diarrea da infezioni intestinali: efficacia preventiva
- Diarrea da antibiotici: efficacia terapeutica
- Diarrea del viaggiatore: efficacia terapeutica
- Infezione da *Helicobacter Pylori*: efficacia terapeutica
- Malattie infiammatorie intestinali: efficacia preventiva e terapeutica
- Malattie respiratorie: efficacia preventiva

co costante è opportuno superare la dose soglia di 10 miliardi di "colony-forming units" in quanto vi è una certa "resistenza alla colonizzazione"^{49,50}. Un'altra metanalisi condotta in bambini di età inferiore ai 5 anni ha evidenziato una riduzione della durata della diarrea di circa un giorno in particolare nei bambini ospedalizzati⁵¹.

Altre due recenti indagini cliniche randomizzate con una associazione di *Lactobacillus rhamnosus* 19070-2 and *Lactobacillus reuteri* DSM 12246 (10¹⁰ CFU per ciascun ceppo contro placebo, due volte al dì per 5 giorni) hanno evidenziato una riduzione statisticamente significativa del numero delle scariche e della durata della diarrea, con ridotto periodo di escrezione dei Rotavirus, sia in bambini ricoverati, sia in bambini trattati a domicilio⁵². I risultati ottenuti, con riduzione della durata di ospedalizzazione, erano più evidenti se il trattamento iniziava precocemente appena compariva la diarrea. Quest'ultimo aspetto viene sottolineato anche da Costa-Ribeeiro e coll. i quali ritengono che il *Lactobacillus* GG sia più utile nelle diarre protratte in quanto per estrinsecare la sua efficacia deve prima colonizzare l'intestino per poter poi promuovere la produzione di mucina e di anticorpi contro l'agente patogeno⁵³.

Tutti questi dati confermano il corretto orientamento preso da tempo dalla Società Italiana di Gastroenterologia ed Epatologia Pediatrica e dalla Società Italiana di Infettivologia Pediatrica con le linee guida per l'approccio al bambino con gastroenterite acuta, successivamente recepite da un gruppo di revisori internazionali⁵⁴⁻⁵⁶ anche per ridurre i costi economici che tale patologia comporta e che sono legati alla durata della sintomatologia.

Diarrea da antibiotici

La diarrea associata alla somministrazione di antibiotici ("antibiotic-associated diarrhea" AAD) rappresenta, anche in età

pediatrica, una complicanza piuttosto frequente della terapia antibatterica che si verifica in una percentuale di pazienti compresa tra il 8 e il 30%⁵⁷. È dovuta all'alterazione dell'ecosistema intestinale che dà luogo sia ad una alterazione delle funzioni metaboliche della flora stessa, con diminuita digestione dei carboidrati non assorbibili e conseguente diarrea osmotica, sia alla proliferazione di microrganismi patogeni⁵⁸. L'incidenza dell'AAD, dipende dalla classe di antibiotico utilizzato e dalla presenza di fattori di rischio⁵⁹ ed è considerata una complicanza lieve se non dà luogo alla colite pseudomembranosa.

In ambito preventivo, Surawicz et al. (59//d4) hanno per primi dimostrato una riduzione > 50% dell'incidenza di AAD in seguito alla contemporanea somministrazione, con l'antibiotico, di *Saccharomyces boulardii*. Tale risultato, con un significativo effetto preventivo, è stato confermato e in uno studio randomizzato, in doppio cieco, contro placebo (riduzione dell'incidenza)⁶⁰ e in quattro successive metanalisi in seguito alla somministrazione di probiotici in particolare *Lactobacillus GG* (riduzione dell'incidenza e durata), *Saccharomyces boulardii* (riduzione dell'incidenza) o di lattobacilli. In particolare il *Lactobacillus GG*, ha dimostrato efficacia sia in soggetti in età pediatrica sia negli adulti⁶¹⁻⁶⁴.

In ambito terapeutico, il *Saccharomyces boulardii* e il *Lactobacillus GG* sono stati usati con successo anche nella terapia dell'infezione da *Clostridium difficile* e della colite pseudomembranosa^{57,64-67} ma la loro reale efficacia terapeutica richiede ulteriori conferme.

Diarrea del viaggiatore

Secondo i dati presentati alla "V Conference on Travel Medicine" di Ginevra del 1997, il più comune enteropatogeno responsabile della diarrea del viaggiatore ("traveler's diarrhea" TD), che interessa anche soggetti in età pediatrica, è rappresentato dall'*Escherichia coli* enterotossigeno (ETEC) (85% dei casi). Oltre a questo vanno ricordati gli enteropatogeni: *Shigella* spp., *Salmonella* spp., *Campylobacter jejuni*, *Aeromonas* spp., *Plesiomonas shigelloides*, *Cryptosporidium parvum* ed anche i Rotavirus e la *Giardia lamblia*, responsabili, questi ultimi due, di forme particolarmente persistenti di TD^{68,69}.

Il periodo medio di incubazione è, in generale, di circa 3-10 giorni ed il quadro clinico e sintomatologico, pur dipendendo dall'agente eziologico responsabile della malattia, è in genere caratterizzato da 6 o più scariche al giorno con crampi e nausea^{68,69}.

In ambito preventivo, oltre al rispetto di specifici comportamenti e abitudini alimentari la profilassi con probiotici, che potenziano l'immunità, le difese locali e la naturale resistenza alla colonizzazione dell'intestino da parte dei patogeni, rappresenta un importante e sicuro aspetto preventivo⁷⁰.

Indagini sperimentali hanno evidenziato che il *Bifidobacterium longum* inibisce competitivamente il legame dell'ETEC al recettore glicolipidico situato sulla superficie della mucosa intestinale, impedendo così la colonizzazione ad opera dei patogeni: risultati simili sono stati ottenuti con *Lactobacillus GG*^{71,72}.

Mentre diversi studi hanno fornito risultati variabili con differenti tipi di probiotici la somministrazione di *Lactobacillus GG* o *Saccharomyces boulardii* ha esercitato un significativo effetto profilattico riducendo l'incidenza della TD.

Ulteriori studi clinici controllati sono necessari per stabilire definitivamente l'efficacia dei probiotici in questa indicazione clinica.

In ambito terapeutico alcuni svolgono certamente un effetto benefico ma, in generale, gli studi sono ancora limitati per poter esprimere un giudizio in merito.

Infezione da *Helicobacter pylori*

L'infezione da *Helicobacter pylori* dà luogo ad una gastrite ed è la causa principale dell'ulcera peptica. Rappresenta inoltre un importante fattore di rischio per lo sviluppo di cancro e linfoma gastrico per cui le attuali linee guida di Maastricht 2000 raccomandano l'eradicazione dell'infezione che determina la cicatrizzazione dell'ulcera e previene le recidive^{73,74}.

In ambito preventivo non sono note situazioni in cui si possa verificare con una certa ragionevole attendibilità la situazione di dover prevenire l'infezione da *Helicobacter pylori* per cui una terapia preventiva non trova un razionale scientifico.

In ambito terapeutico il notevole numero di schemi terapeutici dell'infezione da *Helicobacter pylori* raccomandati da società scientifiche internazionali sulla base dell'"evidence based medicine"⁷⁴, soprattutto nell'adulto, dimostra che non esiste ancora la terapia "ideale", in termini di efficacia e sicurezza. Una tale situazione e la dimostrazione che in vitro i probiotici (sia lattobacilli che bifidobatteri) inibiscono la crescita del microrganismo e prevengono l'infezione sperimentale inibendo l'adesività dell'*Helicobacter* alla mucosa gastrica, ha indotto numerosi studiosi ad associare tali preparati ai vari protocolli terapeutici⁷⁵.

Dall'esame della letteratura attualmente disponibile non è emerso però un ruolo preciso dei probiotici nel trattamento dell'infezione da *Helicobacter pylori*. I risultati infatti non sono univoci dato che la somministrazione di *Lactobacillus acidophilus* e di una associazione di lattobacilli e bifidobatteri^{76,77} ha determinato un aumento del tasso di eradicazione, il *Lactobacillus casei* assunto con il latte determina un arresto dello sviluppo del patogeno oltre che in vitro anche nello stomaco^{77,78} mentre il *Lactobacillus GG* ha determinato solo una riduzione degli effetti indesiderati indotti dalla terapia antibatterica^{79,80}. Ulteriori studi sono pertanto necessari in quanto non esiste ancora un ruolo preciso dei probiotici nel trat-

tamento dell'infezione da *Helicobacter pylori* anche se alcuni aspetti positivi, come l'arresto dello sviluppo del patogeno o la migliore tollerabilità e compliance alla terapia, sono dei presupposti che favoriscono l'eradicazione dell'infezione^{74,81} come evidenziato da alcuni autori^{81bis}.

Malattie atopiche

Nuovi stimolanti risultati stanno emergendo nell'uso dei batteri probiotici per il trattamento della dermatite atopica e per ritardare la comparsa di allergie alimentari ed eczema atopico nella prima infanzia^{38,82}. Un tale aspetto positivo risiede sia nel fatto che, in pochi decenni, la dermatite atopica è cresciuta in maniera enorme con un incremento che oscilla fra il 2% e il 90%, sia nel fatto che si potrebbe in tal modo ottenere, oltre alla riduzione di una patologia divenuta così frequente, una riduzione del rischio di sviluppo di asma negli anni successivi. I bambini fino a 5 anni hanno subito un incremento della dermatite atopica del 90% mentre fra i 6 e i 10 anni l'incremento è stato del 6% e solo del 2% dopo i 10 anni. Molti dati hanno messo in luce l'importanza dell'inquinamento ambientale ma, oltre a questo un ruolo importante gioca la costituzione atopica e la presenza nel 40% dei bambini con dermatite atopica, del riscontro di un'allergia alimentare che, se opportunamente trattata con una dieta di esclusione porta a notevoli miglioramenti clinici⁸³.

È noto inoltre che specifici ceppi di probiotici, ristabilendo un normale equilibrio della microflora intestinale, hanno dimostrato di svolgere un'attività antipatogena, antinfiammatoria ed antiallergica e l'ipotesi di un eccesso di "igiene" nella genesi delle malattie atopiche può trovare una ragionevole origine nello sviluppo improprio della composizione della suddetta microflora intestinale e, di conseguenza, dell'inadeguata formazione della barriera intestinale, delle IgA di superficie e della GALT^{17,84}. Infatti i linfociti Th0 producono i Th1, per l'azione di stimolo determinata dai liposaccaridi della parete batterica dei Gram negativi, che sono protettivi contro le infezioni, e i Th2 che prevalgono nei soggetti allergici favorendo tali manifestazioni. Se, fin dall'età neonatale, in seguito all'uso di alimenti microbiologicamente sterili o all'abuso di antibiotici si riducono i Gram positivi (bifidobatteri, lattobacilli,) e viene alterato il normale equilibrio della flora intestinale, si ha uno squilibrio delle due popolazioni e si perpetua la risposta immune di tipo Th2 favorendo l'aumento delle allergie e la suscettibilità alle infezioni^{17,85}.

Tale quadro potrebbe essere riportato alla normalità da specifici probiotici che, come è noto, hanno un'azione soppressiva sulla proliferazione di alcune popolazioni linfocitarie^{17,85} e sulla produzione di interleuchine proinfiammatorie a livello locale e sistemico^{86,87} e sull'assorbimento ed utilizzazione dei PUFA della dieta⁸⁸. Ipotesi questa confermata fra l'altro dal miglioramento dell'eczema atopico in seguito alla somministrazione con la dieta dei probiotici⁸⁹.

In ambito preventivo una conferma di quanto sopra esposto viene da un recente studio in doppio cieco randomizzato, nel quale la somministrazione di *Lactobacillus GG* a gravide che avevano una familiarità di eczema atopico o rinite allergica o asma e ai loro neonati fino a sei mesi, riduceva del 50% la frequenza dell'eczema atopico, primo segno di malattia atopica nel primo anno di vita⁹⁰. Tale risultato si è mantenuto pressoché invariato fino al quarto anno di vita in quanto la dermatite atopica è stata riscontrata in un numero significativamente inferiore rispetto al gruppo controllo (26,4% vs 46,3%) evidenziano che l'effetto preventivo della somministrazione del *Lactobacillus GG* sull'eczema atopico si protrae ben oltre la prima infanzia⁹¹.

In ambito terapeutico uno studio in doppio cieco contro placebo controllato, condotto in bambini con dermatite atopica di età compresa fra 1 e 13 anni per valutare l'effetto clinico ed antinfiammatorio di 2 probiotici, *Lactobacillus rhamnosus* 19070-2 e *Lactobacillus reuteri* DSM 122460, somministrati per 6 settimane in associazione, ha evidenziato un significativa riduzione dell'estensione della superficie eczematosa, e un miglioramento della sintomatologia soggettiva soprattutto nei soggetti allergici (IgE elevate e almeno un skin prick test positivo)⁹².

Tutto ciò perché i probiotici, a livello intestinale, sono in grado di modificare l'immunogenicità dell'antigene attraverso un'attività proteolitica, di aumentare la loro degradazione, di ridurre la secrezione dei mediatori dell'infiammazione, di indurre la secrezione di citochine antiinfiammatorie, l'IL-10 e il TGF-beta, e ridurre l'aumentata permeabilità intestinale. Per tali motivi, le Linee Guida della American Academy of Dermatology Association per il trattamento della dermatite atopica indicano, fra le misure preventive da attuare durante la gravidanza e dopo la nascita, l'assunzione di probiotici³⁸.

Carie dentarie

In ambito preventivo ci sembra interessante segnalare che una recente indagine randomizzata e controllata su 594 bambini di età compresa fra 1-6 anni ha evidenziato una riduzione statisticamente significativa delle carie nei bambini che assumevano il latte con l'aggiunta del *Lactobacillus GG*. Tale dato necessita di ulteriori conferme ma la correttezza dell'indagine permette fin da ora di ritenere questa una possibile strada percorribile nella prevenzione delle carie⁹³.

Malattie intestinali di natura infiammatoria

La colite ulcerosa (UC) e la malattia di Crohn (CD) rappresentano le due più importanti malattie infiammatorie croniche dell'intestino (IBD) secondarie ad un'inappropriata funzione del sistema immunitario della mucosa intestinale.

Nonostante la patogenesi di tali condizioni morbose sia ancora da chiarire, è accertato che un'alterata funzione della mucosa intestinale, che funge da barriera, per metterebbe agli antigeni batterici endoluminali della microflora intestinale alterata, fattore centrale nello sviluppo delle IBD, di innescare un'attivazione cronica della cascata immune ed infiammatoria in soggetti geneticamente predisposti^{37,84,85,94-97}. Le attuali linee guida per la cura di tali malattie prevedono l'uso di antibiotici (metronidazolo, ciprofloxacina) e farmaci antinfiammatori convenzionali quali aminosalicilati, corticosteroidi, e immunodepressori come azatioprina, 6-mercaptopurina, metotrexate o ciclosporina. Nei soggetti resistenti nuovi modulatori del sistema immunitario e terapie biologiche con monoclonali anti-TNF- α o citochine antinfiammatorie sono allo studio ma con risultati ancora in corso di valutazione e non sempre soddisfacenti^{96,97}.

Per tale motivo, visto il potenziale ruolo dei batteri endoluminali nell'iniziare l'abnorme processo immune delle malattie infiammatorie croniche e quello dei probiotici nel ristabilire la normale microecologia e permeabilità intestinale, la funzione di barriera immunologica, normalizzando le risposte infiammatorie intestinali con ridotta produzione di citochine pro infiammatorie⁹⁸⁻¹⁰³, molti ricercatori hanno intensificato le indagini sui possibili effetti positivi con l'impiego di probiotici nel tentativo di riequilibrare la microflora intestinale alterata ed ottenere di conseguenza vantaggi clinici nelle IBD¹⁰³⁻¹¹⁰.

Purtroppo però a tutt'oggi, sia a livello preventivo che terapeutico, anche i più recenti studi nella colite ulcerosa e nella malattia di Crohn non sono univoci circa l'efficacia dei vari probiotici¹⁰⁴⁻¹¹⁰. Un recente studio pilota condotto con il *Lactobacillus GG* in soggetti in età adolescenziale affetti da morbo di Crohn, ha evidenziato invece un chiaro miglioramento con riduzione della terapia steroidea per cui è attualmente in corso uno studio randomizzato, in doppio cieco contro placebo in sette università degli Stati Uniti per un'ulteriore conferma dei risultati ottenuti¹⁰.

Dagli studi ora riportati e da altri riguardanti la produzione di citochine antinfiammatorie da parte di alcuni lattobacilli, è stato riscontrato un effetto positivo quando alcuni vengono associati ai comuni farmaci¹¹¹⁻¹¹². Da ciò si evince che la terapia con probiotici delle IBD dovrebbe essere valutata, in ogni singolo caso, in base al quadro infiammatorio del soggetto, grazie anche alle nuove tecniche endoscopiche e radiografiche, piuttosto che su protocolli terapeutici schematici tenendo presenti le possibili associazioni con i prebiotici onde ottenere un migliore effetto terapeutico.

Malattie respiratorie

Da qualche tempo sono comparsi studi, condotti su modelli animali e sull'uomo, che hanno dimostrato effetti positivi del-

la somministrazione di probiotici nella prevenzione delle infezioni respiratorie.

Prendendo in esame solo le indagini più recenti e significative, a livello sperimentale uno studio volto ad indagare l'effetto della somministrazione orale di *Lactobacillus casei* o yogurt sulla prevenzione della infezione polmonare da *P. aeruginosa* in giovani topi ha evidenziato che il *Lactobacillus casei* o lo yogurt aumentano l'eliminazione dello *P. aeruginosa*, l'attività fagocitica dei macrofagi alveolari e i livelli di IgA ed IgM nel lavaggio bronchoalveolare (BAL): tale aumento è dose-dipendente¹¹³. Uno studio più recente condotto sempre su topi ha evidenziato che la somministrazione orale di *Lactobacillus casei* ceppo Shirota attiva il sistema immunitario cellulare e riduce i valori di virus influenzale (IFV) nel lavaggio nasale. Inoltre attiva i natural killer degli splenociti e pneumociti e, da parte dei linfociti nasali, di interferon gamma e tumor necrosis factor alpha importanti nella eliminazione del IFV. Si evidenzia così che tale lattobacillo attiva non solo l'immunità cellulare sistemica ma anche l'immunità cellulare locale migliorando il decorso clinico dell'infezione¹¹⁴. In ambito clinico preventivo, uno studio di cross-over condotto in bambini affetti da fibrosi cistica colonizzati da *Pseudomonas*, ha evidenziato che la somministrazione per lungo termine di *Lactobacillus GG* è associata ad una riduzione degli episodi di esacerbazione respiratoria e ad un miglioramento della funzione respiratoria. L'uso dei probiotici è risultato associato a riduzione dei ricoveri ospedalieri ed a una riduzione delle terapie antibiotiche, rispetto al gruppo controllo¹¹⁵.

Uno studio clinico in doppio cieco, randomizzato ha dimostrato che la somministrazione con il latte di *Lactobacillus GG* per 7 mesi, in 571 bambini di età compresa tra 1 e 6 anni che frequentavano la scuola materna e che pertanto presentarono la maggiore incidenza di infezioni respiratorie, è risultata associata ad una riduzione della gravità e dell'incidenza di otiti, sinusiti, bronchiti e polmoniti rispetto al gruppo controllo. È stata inoltre registrata una riduzione dei giorni di assenza da scuola ed una minore prescrizione di antibiotici evidenziando così che la somministrazione di *Lactobacillus GG* potrebbe avere un grosso impatto non solo clinico ma anche sulla salute pubblica e sugli elevatissimi costi legati alle malattie respiratorie⁴⁴.

Del tutto recentemente è stato condotto uno studio randomizzato su 209 soggetti volto ad evidenziare la presenza nel naso di batteri potenzialmente patogeni (PPB: *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pneumoniae*, β -hemolytic streptococci, ed *Haemophilus influenzae*), che possono essere responsabili di gravi patologie soprattutto in soggetti affetti da particolari patologie, e l'effetto sulla loro presenza nel naso in seguito all'ingestione di probiotici.

Alcuni soggetti sono stati alimentati con latte fermentato contenente probiotici (*Lactobacillus GG*, *Bifidobacterium sp.*, *Lactobacillus acidophilus*, e *Streptococcus thermophilus*)

ed altri con un normale yogurt. È stata evidenziata una significativa riduzione dei ceppi PPB nel gruppo che aveva assunto i probiotici. Il rilievo era più evidente per i batteri grampositivi.

I valori statistici di riduzione dei PPB sono risultati tali da poter anche affermare che esiste un collegamento fra tessuto linfoide dell'intestino e delle alte vie respiratorie¹¹⁶.

Da quanto sopra esposto e se verranno confermati i risultati ora citati ed altri ancora¹¹⁷, l'utilizzo di ceppi probiotici può dimostrarsi un nuovo presidio efficace per la prevenzione delle infezioni recidivanti delle vie aeree ed anche per quelle forme in cui la componente allergica si manifesta nelle età successive.

Considerazioni conclusive

La digestione dei nutrienti, l'assorbimento, la tolleranza nei confronti di antigeni alimentari, la protezione contro agenti infettivi e la convivenza con i germi commensali, rappresentano il risultato di interazioni sofisticate tra flora batterica, mucosa e sistema immune della mucosa intestinale (GALT, gut associated lymphoid tissue)¹¹⁸⁻¹¹⁹.

Si realizza così una particolare barriera mucosale, la famosa "pellicola microbica" o biofilm di Zobell e Andersen del 1936¹²⁰, che condiziona l'assorbimento, previene l'aggressione da parte di noxae patogene e modula le risposte immunitarie nei confronti di antigeni ubiquitari quali batteri commensali ed alimenti (tolleranza).

La normale attività intestinale viene favorita in particolare dalla funzione biologica dei microrganismi probiotici che, aderendo agli enterociti, inibiscono l'attaccamento da parte dei ceppi enteropatogeni attraverso un meccanismo di esclusione competitiva. Danno così luogo alla produzione di batteriocine, citochine ed acidi grassi a corta catena, in particolare l'acido butirrico, che inibiscono la replicazione dei patogeni, promuovono la risposta immunitaria e l'azione antinfiammatoria ed immunostimolante a livello locale e generale anche se, a tutt'oggi, l'effetto diretto di tale modulazione sulla salute non è, per moltissimi aspetti, ancora chiaro.

La terapia con probiotici si basa pertanto sul concetto di creare una condizione in cui si stabilisca una normale e salutare microflora intestinale che potrebbe svolgere, a livello locale e generale, un'azione preventiva e terapeutica per varie condizioni clinico-patologiche^{84,85,118,119}.

Per tale motivo i probiotici, per decenni proposti nella terapia della gastroenterite, pur mancando un reale fondamento scientifico, trovano oggi, per la migliore conoscenza dei diversi meccanismi d'azione, indicazioni che comprendono patologie intestinali ed extra intestinali (Tabb. 3 e 4).

Infatti tenendo presente quanto sopra ricordato circa gli aspetti fisiopatologici, nelle infezioni intestinali il meccanismo d'azione dei probiotici si basa sulla competizione, cioè

sull'antagonismo tra microrganismi (buoni, bifidobatteri e lattobacilli, e cattivi, bacteroides, clostridi, E. coli), sull'inibizione competitiva di siti recettoriali di microrganismi patogeni, sulla produzione di acidi organici ad azione batteriostatica, sulla modificazione della composizione di mucine, sull'idrolisi di recettori e tossine, sulla stimolazione della risposta immune IgA mediata.

Nei soggetti che sviluppano patologie allergiche il meccanismo d'azione è alquanto diverso. Infatti in tali soggetti fin da neonati vi è una microflora intestinale con prevalenza di clostridi sui bifidobatteri¹²¹ per cui nei lattanti con dermatite atopica la somministrazione del *Lactobacillus rhamnosus* GG (LGG), il probiotico più sperimentato e con i migliori risultati terapeutici (Tab. 4), o di *Bifidobacterium lactis* determina oltre al miglioramento del quadro clinico¹²² una riduzione, nel siero e nelle urine, della forma solubile dei CD4 e della proteina eosinofila X (EPX) molecole che rappresentano i marcatori di infiammazione cronica e, la proteina X, di quella allergica. Un'ulteriore conferma e dimostrazione clinica del ruolo della flora intestinale nella genesi dell'eczema atopico e della dermatite atopica deriva dai lavori già citati di Kalliomaki e coll.^{123,124} e di altri studiosi in base ai quali una adeguata flora intestinale, o la somministrazione di alcuni lattobacilli LGG o *L. casei* Shirota, oltre a mantenere integra la barriera intestinale e la capacità da parte dei batteri di degradare le proteine allergizzanti, modula la risposta immune come per esempio la produzione di IgE e IL-10^{125,126}.

Nei soggetti che sviluppano patologie infiammatorie croniche alcune recenti indagini, fra cui una condotta in soggetti in età pediatrica affetti da morbo di Crohn, hanno evidenziando che la somministrazione di LGG ha migliorato la sintomatologia clinica e la permeabilità intestinale¹²⁷.

In tali condizioni patologiche il meccanismo d'azione dei probiotici consiste pertanto nel modificare la microflora, mantenere integra la barriera intestinale, stimolare e regolare la produzione di citochine, impedendo la produzione di citochine pro infiammatorie (per esempio IL-6 e IL-8), mantenere integra la risposta immune locale contro antigeni alimentari¹²⁸⁻¹³¹, evitare la produzione di sostanze mutagene o carcinogenetiche, ridurre i livelli sierici di colesterolo¹⁰.

Altri meccanismi d'azione sono inoltre ipotizzati per un insieme di condizioni patologiche quali le infezioni delle vie urinarie, le connettiviti, i tumori del colon, della vescica¹³², ecc., in cui la somministrazione dei probiotici solleva non pochi interessi per i possibili positivi effetti terapeutici ed i risvolti economici, in termine di riduzione dei costi, che ne possono derivare.

Nel tentativo di trarre dalla vasta letteratura oggi disponibile delle indicazioni conclusive sull'efficacia dei probiotici nelle varie patologie, si è cercato di prendere in considerazione soprattutto le indagini randomizzate in doppio cieco e le metanalisi più recenti e disponibili sull'argomento, tenendo

Tabella 4

PROBIOTICI PER I QUALI SONO STATI RIPORTATI RISULTATI CLINICI SIGNIFICATIVI (SU RIVISTE QUALIFICATE E NELLE VARIE PATOLOGIE)

A piede pagina, sono elencati l'ambito d'azione dei vari probiotici

Ceppo	Condizione patologica
• Lactobacillus rhamnosus GG	1-2-4-5-6-7-8-9-(12)-14-15-16
• Saccharomyces cerevisiae e Boulardii	2-3-4-5-11-14
• Lactobacillus paracasei Shirota	2-5-7-9-(10)-11-(12)-15
• Bifidobacterium lactis: BBI2	1-2-3-4-5-7-11-(12)-15
• Lactobacillus reuterii	1-5-(10)-(12)
• Lactobacillus johnsoudi Lal	6-7-11-15
• Enterococcus faecium SF68	2-5-10-(12)-15
• Lactobacillus acidophilus La5**	2-4-5-7-11
• Bifidobacterium longum BB536	2-4-5*-11-(12)-(15)
• Bifidobacterium breve	(1)-5
• Lactobacillus acidophilus NFCM	1*-5-6-7-(12)
• Lactobacillus rhamnosus GG + L. reuterii DSM	1-5-8***
• Lactobacillus plantarum 299v	5-13
• Escherichia coli (083:K24:H31)	8-17
• Bifidobacterium bifidum	1
• Streptococcus thermophilus	1
1. Diarrea da Rotavirus	10. Colesterolo
2. Diarrea da antibiotici	11. Costipazione cronica
3. Colite pseudo-membr. da Clost. difficile	12. Tumore del colon
4. Diarrea del viaggiatore	13. Sindrome dell'intestino irritabile
5. Altre forme di diarrea batterica acuta	14. Vaginite batterica
6. Helicobacter pylory	15. Modulazione risposta immunitaria
7. Intolleranza al lattosio	16. Carie dentarie
8. Eczema atopico e allergia alimentare	17. Infezioni ricorrenti vie aeree
9. M. intest. infiam. (M. Crohn; Colite ulcer.)	

(): dati su animali e/o biomarcatori solamente; *: dubbia evidenza; **: dato incerto perché il ceppo è di solito somministrato insieme al B. lactis BB12; ***: associazione utilizzata nelle condizioni patologiche 1-5 e 8.
(da Playne MJ. e Salminen S. 2002 modificata)

sempre presente però che i probiotici non sono una panacea utile per tutte le condizioni patologiche¹³³.

Dall'approfondito esame dei numerosi studi sono emerse non poche difficoltà sulla loro esatta valutazione imputate all'eterogeneità clinica per età, caratteristiche dei pazienti, caratteristiche della malattia; all'eterogeneità statistica per dimensione del campione, disegno dello studio, caso controllo, cieco, randomizzato, scelta di parametri di efficacia; all'eterogeneità dei prodotti utilizzati per tipo, dosaggio, durata della somministrazione e alle possibili interferenze della dieta e di altri trattamenti.

Ciò nonostante tenendo presente il concetto della "evidence based medicine" possiamo affermare che oggi, in alcune condizioni cliniche e per alcuni quadri patologici, la somministrazione dei probiotici trova un reale razionale scientifico mentre per altri l'effetto dei probiotici e l'evidenza di efficacia deve essere ancora chiarita e confermata.

Il ruolo dei probiotici nella terapia di diverse condizioni patologiche dell'età evolutiva necessita pertanto di ulteriori ed approfondite indagini. Queste dovranno chiarire anche le specificità di interazioni tra le diverse specie e ceppi di probiotici da un lato e le cellule e i compartimenti del sistema immunitario dall'altro in quanto specifici ceppi possono esse-

re più appropriati di altri nelle varie condizioni patologiche e possono innescare meccanismi e risposte diverse con effetti immunomediati specifici utili per un'appropriata terapia¹³⁴⁻¹³⁷.

L'interazione tra sistema immune e probiotici e, soprattutto il possibile effetto specie/ceppo-specifico, apre infatti la strada ad un utilizzo mirato dei probiotici, in base alla risposta che si vuole attivare o modulare, allo scopo di realizzare obiettivi terapeutici selettivi e specifici in base al quadro patologico da trattare.

Va infine ricordato che se la terapia con probiotici, iniziata circa cento anni fa, tende a creare una condizione in cui si favorisce o ristabilisce una normale e salutare microflora intestinale, la "flora bifidogena", da qualche decennio è stato evidenziato che tale condizione si realizza fisiologicamente nel bambino allattato al seno fin dalla nascita per la presenza nel latte materno di appropriati nutrienti, gli oligosaccaridi. Questi rappresentano una quota importante del latte umano, pari a 20-25 g/l nel colostro e 12-14 g/l nel latte maturo, e sono costituiti da una molecola di lattosio alla quale si aggiungono dei monosaccaridi: fucosio, galattosio, acido sialico.

Tali nutrienti, denominati "prebiotici", favoriscono lo sviluppo di una microflora di bifidobatteri e lattobacilli, stimolano l'as-

sorbimento di calcio, magnesio, ferro e zinco, riducono i livelli sierici di trigliceridi e il rischio di carcinoma del colon, proteggono dalle infezioni, svolgono azione antinfiammatoria e, assorbiti in quantità significativa per cui si riscontrano nel siero e nelle urine, svolgono anche azione energetica^{138,139}. La sostanziale differenza fra prebiotici e probiotici risiede nel fatto che i primi sono degli oligosaccaridi non digeribili che fermentando nel colon possono aumentare la flora bifidogena già esistente ma questa, se non presente, deve essere apportata dall'esterno con la somministrazione dei probiotici.

Nel tentativo di far sviluppare a livello intestinale una microflora fisiologica simile a quella del bambino allattato al seno con i suddetti benefici effetti, varie industrie dietetiche aggiungono ai lattini della prima infanzia, e ad altri alimenti, vari tipi di probiotici e/o prebiotici¹⁴⁰⁻¹⁴².

Ne derivano così degli alimenti funzionali in quanto, indipendentemente dagli effetti nutrizionali, l'alimento induce effetti benefici sull'organismo. Quando probiotici e prebiotici vengono associati ne derivano dei composti, che vengono denominati "simbiotici".

BIBLIOGRAFIA

La rapida evoluzione delle conoscenze sui probiotici e la notevole bibliografia che ne è derivata, non consente di riportare quanto è stato ampiamente consultato. Vengono pertanto citate prevalentemente le fonti più significative degli ultimi cinque anni.

¹ Metchnikoff E.

The prolongation of life.

Putman and Sons, 1907; 1-38.

² Grunlund MM, Lehtonen OP, Eerola E, Kero P.

Faecal microflora in healthy infants born by different methods of delivery: permanent changes in intestinal flora after caesarean delivery.

J Pediatr Gastroenterol Nutr 1999; 28: 19-25.

³ Harmsen HG, Wildeboer-Veloo AC, Roangs GC, Wagendorp AA, et al.

Analysis of intestinal flora development in breast-fed infant by using molecular identifications and deletion methods.

J Pediatr Gastroenterol Nutr 2000; 30: 61-67.

⁴ Mattila-Sandholm T, Blum S, et al.

Probiotics: towards demonstrating efficacy.

Trends Food Science Technology 1999; 10: 393-399.

⁵ Menne E, Guggenbuhl N.

Fn-type chicory inulin hydrolysate has a prebiotic effect in humans.

J Nutr. 2000; 130: 1197-1199.

⁶ Miniello VL, Granier I, Tarantino M, Armenio L.

Alimenti funzionali: i prebiotici.

Riv It Ped 2001; 27: 323-327.

⁷ Moro G, Minoli I, Mosca F, Jelinek J, Stahi B, Boehm G.

Dosage effect of oligosaccharides (OS) on faecal flora and stool characteristics in term infants.

34th Annual Meeting ESPGHAN, Geneva, 9-12 May 2001; 194.

⁸ Probert HM, Gibson GR.

Bacterial biofilms in the human gastrointestinal tract.

Curr Issues Intest Microbiol 2002; 3: 23-27.

⁹ Lilly DM, Stillwell RH.

Probiotics: growth promoting factors produced by microorganisms. Science 1965; 147: 747-748.

¹⁰ Shah NP.

Functional foods from probiotics and prebiotics.

Foodtechnology 2001; 55: 46-53.

¹¹ Schaafsma G.

State of the art concerning probiotic strains in milk products IDF Nutr. Newsl 1996; 5: 23-24.

¹² Salminen S, von Wright A, Morelli L, Marteau P, et al.

Demonstration of safety of probiotics: a review.

Int J Food Microbiol 1998; 44: 93-106.

¹³ Sandholm MT, Blum S, Collins JK, Crittenden R, et al.

Probiotics: towards demonstrating efficacy.

Trends Food Science Technology 1999; 10: 393-399.

¹⁴ Isolauri E.

Probiotics: from anecdotes to clinical demonstration.

J Allergy Clin Immunol 2001; 108: 1062-1064.

¹⁵ Markowitz JE, Bengmark S.

Probiotics in health and disease in the pediatric patient.

Ped Clin North Am 2002; 49: 127-141.

¹⁶ Guarino A, Bruzzese E, De Marco G.

Efficacia dei probiotici nelle infezioni intestinali ed extraintestinali.

Atti 3° Congresso Nazionale Società Italiana Infettivologia Pediatrica, Napoli 2002; 13-25.

¹⁷ Guarino A, Bruzzese E.

I probiotici: indicazioni cliniche certe e potenziali meccanismi d'azione.

Prospettive Pediatria 2001; 31: 309-320.

¹⁸ Chiodi D.

Probiotics.

Atti 2nd Probiotics & Prebiotics, New Foods, Roma 7-9 settembre 2003; 27-30.

¹⁹ Ouwehand A, Isolauri E, Salminen S.

The role of the intestinal microflora for the development of the immune system in early childhood.

Eur J Nutr 2002; 41S1: 132-37.

²⁰ Kirjavainen PV, Arvola T, Salminen SJ, Isolauri E.

Aberrant composition of gut microbiota of allergic infants: a target of bifidobacterial therapy at weaning.

Gut 2002; 51: 51-55.

²¹ Goldin BR, Gorbach SL, Saxelin M, Barakat S, et al.

Survival of Lactobacillus species (strain GG) in human gastrointestinal tract.

Dig Dis Sci 1992; 37: 121-128.

²² Silva M, Jacobus NV, Deneke C, Gorbach SL.

Antimicrobial substance from a human Lactobacillus strain.

Antimicrob Agents Chemother 1987; 31: 1231-1233.

²³ Wilson KH, Perini I.

Role of competition for nutrients in suppression of Clostridium difficile by the colonic microflora.

Infect Immunol 1988; 56: 2610-2614.

²⁴ Bemet MF, Blassart D, Nesser JR, Servin AI.

Lactobacillus acidophilus LA1 binds to human intestinal cell lines and inhibits cell attachment and cell invasion by enterovirulent bacteria.

Gut 1994; 35: 483-489.

- ²⁵ Pothoulakis C, Keily CP, Joshi MA, Gao N, et al. Saccharomyces boulardii inhibits Clostridium difficile toxin A binding and enterotoxicity in rat ileum. Gastroenterology 1993; 104: 1108-1115.
- ²⁶ Erickson KL, Hubbard NE. Probiotic immunomodulation in health and disease. J Nutr 2000; 130S: 403-409.
- ²⁷ Szajewska H. Probiotics and prebiotics in children: clinical evidence. Atti Congresso Milanopediatria 2002; 15-19.
- ²⁸ Morita H, He F, Fuse T, Ouwehand AC, et al. Adhesion of lactic acid bacteria to caco-2 cells and their effect on cytokine secretion. Microbiol Immunol 2002; 46: 293-297.
- ²⁹ Majamaa H, Isolauri E, Saxelin M, Vesikari T. Lactic acid bacteria in the treatment of acute rotavirus gastroenteritis. J Pediatr Gastroenterol Nutr 1995; 20: 333-338.
- ³⁰ Elson CO, Mestecky JF. The mucosal immune system. In: Blaser MJ, Smith PD, Ravdin JI, Greenberg HB, Guerrant RL (eds). Infections of the Gastrointestinal Tract. Raven Press Ltd, New York 1995; 153-162.
- ³¹ Miettinen M, Vuopio-Varkila J, Varkila K. Production of human tumor necrosis factor alpha, interleukin-6, interleukin-10, is induced by lactic acid bacteria. Infect Immun 1996; 94: 5403-5405.
- ³² Neumann E, Oliveira MA, Cabral CM, Moura LN, et al. Monoassociation with Lactobacillus acidophilus UFV-H2b20 stimulates the immune defense mechanisms of germ-free mice. Braz J Med Biol Res 1998; 31: 1565-1573.
- ³³ Pelto L, Isolauri E, Lilius EM, Nuutila J, et al. Probiotic bacteria downregulate the milk-induced inflammatory response in milk-hypersensitive subjects but have an immunostimulatory effect in healthy subjects. Clin Exp Allergy 1998; 28: 1474-1479.
- ³⁴ Perdigon G, Alvarez S, Rachid M, Aguero G, Gobatto N. Immune system stimulation by probiotics. J Dairy Sci 1995; 78: 1597-1606.
- ³⁵ Perdigon G, Fuller R, Raya R. Lactic acid bacteria and their effect on the immune system. Curr Issues Intest Microbiol 2001; 2: 27-42.
- ³⁶ He F, Tuomola E, Arvilommi H, Salminen S. Modulation of immune response through probiotic intake. FEMS Immunol Med Microbiol 2000; 29: 47-52.
- ³⁷ Castellazzi AM, Olivieri M, Avanzini MA. Ecosistema intestinale e immunità. Atti 59° Congresso Nazionale di Pediatria, Roma 2003; 2: 251-252.
- ³⁸ Romei I, Bologgia B, Milanese E, Boner AL. Probiotici e allergie. Atti 59° Congresso Nazionale di Pediatria, Roma 2003; 2: 259-263.
- ³⁹ Miettinen M, Matikainen S, Vuopio-Varkila J, Pirhonen J, et al. Lactobacilli and streptococci induce interleukin-12 (IL-12), IL18, and gamma interferon production in human peripheral blood mononuclear cells. Infect Immun 1998; 66: 6058-6062.
- ⁴⁰ Rautava S, Kalliomaki M, Isolauri E. Probiotics during pregnancy and breast feeding confer immunomodulatory protection against atopic disease in the infant. J Allergy Clin Immunol 2002; 109: 119-121.
- ⁴¹ Oberhelman RA, Gilmer RH, Sheen P, Taylor DN, Black RE, Cabrera L, et al. A placebo-controlled trial of Lactobacillus GG to prevent diarrhea in undernourished Peruvian children. J Pediatr 1999; 134: 15-20.
- ⁴² Phuapradit E, Varavtthya W, Vathanophas K, et al. Reduction of rotavirus infection in children receiving bifidobacteria-supplemented formula. J Med Assoc Thai 1999; 82: 543-548.
- ⁴³ Szajewska H, Kotoska M, Mrukowicz JZ, et al. Efficacy of Lactobacillus GG in prevention of nosocomial diarrhea in infants. J Pediatr 2001; 138: 361-365.
- ⁴⁴ Hatakka K, Savilahti E, Ponka A. Effect of long term consumption of probiotic milk on infections in children attending day care centers: double blind, randomised trial. Br Med J 2001; 322: 1327-1331.
- ⁴⁵ Mastretta E, Longo P, Laccisaglia A, Balbo L, et al. Effect of Lactobacillus GG and breast feeding in the prevention of rotavirus nosocomial infection. J Pediatr Gastr Nutr 2002; 35: 527-531.
- ⁴⁶ Guandalini S, Pensa bene L, Zikri MA, Dias JA, et al. Lactobacillus GG administered in oral rehydration solution to children with acute diarrhea: a multicenter European trial. J Pediatr Gastroenterol Nutr 2000; 30: 54-60.
- ⁴⁷ Szajewska H, Mrukowicz JZ. Probiotics in the treatment and prevention of acute infectious diarrhea in infants and children: a systematic review of published randomized, double-blind, placebo-controlled trials. J Pediatr Gastroenterol Nutr 2001; 33: S17-S25.
- ⁴⁸ Rosenfeldt V, Michaelsen KF, Jakobsen M, Larsen CN, et al. Effect of probiotic Lactobacillus strains in young children hospitalized with acute diarrhea. Pediatr Infect Dis J 2002; 21: 411-416.
- ⁴⁹ Van Niel CW, Feudtner C, Gartson MM, Christakis DA. Lactobacillus therapy for acute infectious diarrhea in children: a meta-analysis. Pediatrics 2002; 109: 678-684.
- ⁵⁰ Meucci S, Cannella C. Yogurt e latticini fermentati: Probiotici e prebiotici. Atti 2nd Probiotics & Prebiotics, New Foods, Roma 7-9 settembre 2003; 36-44.
- ⁵¹ Huang JS, Bousvaros A, Lee JW, Diaz A, Davidson EJ. Efficacy of probiotic use in acute diarrhea in children: a meta-analysis. Dig Dis Sci 2002; 47: 2625-2634.
- ⁵² Rosenfeldt V, Michaelsen KF, Jakobsen M, Larsen CN, et al. Effect of probiotic Lactobacillus strains on acute diarrhea in a cohort of nonhospitalized children attending day-care centers. Pediatr Infect Dis J 2002; 21: 417-419.
- ⁵³ Costa-Ribeiro H, Ribeiro TC, Mattos AP, Valois SS, et al. A limitations of probiotic therapy in acute, severe dehydrating diarrhea. J Pediatr Gastr Nutr 2003; 36: 112-115.
- ⁵⁴ Guarino A, Albano F. Proposte di linee guida per l'approccio ambulatoriale al bambino

- con diarrea acuta.
Riv Ital Pediatr 2000; 26: 1036-1042.
- ⁵⁵ Guarino A, Albano F, Bruzzese E.
Linee guida per l'approccio al bambino con gastroenterite acuta.
Riv Ital Infettiv Pediatr 2001; 3: 61-71.
- ⁵⁶ Guarino A, Albano F.
Guidelines for the approach to outpatient children with acute diarrhoea.
Acta Pediatr 2001; 90: 1087-1095.
- ⁵⁷ Arvola T, Laiho K, Torkkeli S, et al.
Prophylactic Lactobacillus GG reduces antibiotic-associated diarrhea in children with respiratory infections: a randomized study.
Pediatrics 1999; 104: 64-68.
- ⁵⁸ Bergogne-Bérérin E.
Treatment and prevention of antibiotic associated diarrhea.
Int J Antimicrob Agents 2000; 16: 521-526.
- ⁵⁹ McFarland LV.
Epidemiology, risk factors and treatments for antibiotic-associated diarrhea.
Dig Dis 1998; 16: 292-307.
- ⁶⁰ Surawicz CM, Elmer GW, Speelman P, McFarland LV, et al.
Prevention of antibiotic associated diarrhoea by Saccharomyces boulardii.
Gastroenterology 1989; 96: 981-988.
- ⁶¹ Vanderhoof JA, Whitney DB, Antonson DL, Hanner TL, Lupo JV, Young RJ.
Lactobacillus GG in the prevention of antibiotic-associated diarrhea in children.
J Pediatr 1999; 135: 564-568.
- ⁶² Szajewska H, Kotoska M, Mrukowicz JZ, Amanska M, et al.
Efficacy of lactobacillus GG in prevention of nosocomial diarrhea in infants.
J Pediatr 2001; 138: 361-365.
- ⁶³ Cremonini E, Di Caro S, Nista EC, et al.
Metaanalysis: the effect of probiotic administration on antibiotic-associated diarrhoea.
Aliment Pharmacol Ther 2002; 16: 1461-1467.
- ⁶⁴ D'Souza AL, Rajkumar C, Cooke J, Bulpitt CJ.
Probiotics in prevention of antibiotic associated diarrhoea: meta-analysis.
BMJ 2002; 324: 1361-1366.
- ⁶⁵ Biller JA, Katz AJ, Flores AF, Buie TM, Gorbach SL.
Treatment of C. difficile colitis with Lactobacillus GG.
J Pediatr Gastroenterol Nutr 1995; 21: 224-226.
- ⁶⁶ Pochapin MB, Oltikar A, Pringle-Smith R, Schreiber C.
A prospective randomized placebo-controlled trial of Lactobacillus GG in combination with standard antibiotics for the treatment of Clostridium difficile infection.
Am J Gastroenterol 1998; 93: 1697.
- ⁶⁷ Surawicz CM.
Clostridium difficile disease: diagnosis and treatment.
Gastroenterologist 1998; 6: 60-65.
- ⁶⁸ Katelaris PH, Farthing MJG.
Traveler's diarrhea: clinical presentation and prognosis.
Chemotherapy 1995; 41: 40-47.
- ⁶⁹ DuPont HL.
Pathogenesis of traveler's diarrhea.
Chemotherapy 1995; 41: 33-39.
- ⁷⁰ Scarpignato C, Rampal E.
Prevention and treatment of traveler's diarrhea: a clinical pharmacological approach.
Chemotherapy 1995; 41: 48-81.
- ⁷¹ Fujiwara S, Hashiba H, Hirota T, Forstner JF.
Proteinaceous factor(s) in culture supernatant fluids of bifidobacteria which prevents the binding of enterotoxigenic Escherichia coli to ganglioside GM1.
Appl Environ Microbiol 1997; 63: 506-512.
- ⁷² McNaught CE, MacFie I.
Probiotics in clinical practice: a critical review of the evidence.
Nutrition Res 2001; 21: 343-353.
- ⁷³ Suerbaum S, Michetti E.
Helicobacter pylori infection.
N Engl J Med. 2002; 347: 1175-1186.
- ⁷⁴ Malfertheiner E, Mégraud F, O'Morain C, et al.
European Helicobacter Pylori Study Group (EHPSG). Current concepts in the management of Helicobacter pylori infection. The Maastricht 2-2000 Consensus Report.
Aliment Pharmacol Ther 2002; 16: 167-180.
- ⁷⁵ De Vrese M, Schrezenmeier J.
Probiotics and non-intestinal infections.
Br J Nutr 2002; 88: S59-S66.
- ⁷⁶ Sheu BS, Wu JJ, Lo CY, et al.
Impact of supplement with Lactobacillus and Bifidobacterium containing yogurt on triple therapy for Helicobacter pylori eradication.
Aliment Pharmacol Ther 2002; 16: 1669-1675.
- ⁷⁷ Felley CP, Cortesy-Theulaz I, Rivero JL, Sipponen P, et al.
Favourable effect of an acidified milk on helicobacter pylori gastritis in man.
Eur J Gastroenterol Hepatol 2001; 13: 25-29.
- ⁷⁸ Cats A, Kuipers EJ, Bosschaert MA, Pot R, et al.
Effect of frequent consumption of a Lactobacillus casei-containing milk drink in Helicobacter pylori-colonized subjects.
Aliment Pharmacol Ther 2003; 17: 429-435.
- ⁷⁹ Amuzzi A, Cremonini E, Ometti V, et al.
Effect of Lactobacillus GG supplementation on antibiotic-associated gastrointestinal side effects during Helicobacter pylori eradication therapy: a pilot study.
Digestion 2000; 63: 1-7.
- ⁸⁰ Amuzzi A, Cremonini E, Bartolozzi E, et al.
The effect of oral administration of Lactobacillus GG on antibiotic associated gastrointestinal side effects during Helicobacter pylori eradication therapy.
Aliment Pharmacol Ther 2001; 15: 163-169.
- ⁸¹ Gorbach SL.
Probiotics in the third millennium.
Dig Liver Dis. 2002; 34: S2-7.
- ^{81bis} Johnson C, Dickved J, Jonsson H, Roos S.
Anti Helicobacter pylori activity among lactic acid bacteria isolated from gastric biopsies and strains of Lactobacillus reuteri.
16th Int Workshop Gastrointest Pathol Helicobacter 2003; 1633: 473.
- ⁸² Isolauri E, Arvola T, Sutas Y, et al.
Probiotics in the management of atopic eczema.
Clin Exp Allergy 2000; 30: 1604-1610.
- ⁸³ Miraglia del Giudice M Jr, De Luca MG, Caprasto C.
Probiotics and atopic dermatitis. A new strategy in atopic

- dermatitis.
Dig Liver Dis 2002; 34: S68-71.
- ⁸⁴ Guarino A, Bruzzese E, Cerni Canani R. Microflora in inflammatory bowel disease. Atti 2nd Probiotics & Prebiotics, New Foods, Roma 7-9 settembre 2003; 172-193.
- ⁸⁵ Miniello VL, Francavilla R, Natila M, Leone M, Straziuso S, Amenio L. Probiotics: requirements and new perspectives in atopy. Atti 2nd Probiotics & Prebiotics, New Foods, Roma 7-9 settembre 2003; 196-200.
- ⁸⁶ Rautava S, Isolauri E. The development of gut immune responses and gut microbiota: effects of probiotics in prevention and treatment of allergic disease. Curr Issues Intest Microbiol 2002; 3: 15-22.
- ⁸⁷ Heller F, Duchmann R. Intestinal flora and mucosal immune responses. Int J Med Microbiol 2003; 293: 77-86.
- ⁸⁸ Kankaanpää PE, Yang B, Kallio HP, Isolauri E, et al. Influence of probiotic supplemented infant formula on composition of plasma lipids in atopic infants. J Nutr Biochem 2002; 13: 364-369.
- ⁸⁹ Laiho K, Hoppu U, Ouwehand AC, Salminen S, et al. Probiotics: on-going research on atopic individuals. Br J Nutr 2002; 88: S19-27.
- ⁹⁰ Kalliomaki M, Salminen S, Arvilommi H, Kero P, et al. Probiotics in primary prevention of atopic disease: a randomised placebo-controlled trial. Lancet. 2001; 357: 1057-1059.
- ⁹¹ Kalliomaki M, Salminen S, Poussa T, Arvilommi H, et al. Probiotics and prevention of atopic disease: 4-year follow-up of a randomised placebo-controlled trial. Lancet 2003; 361: 1869-1871.
- ⁹² Rosenfeldt V, Benfeldt E, Nielsen SD, Michaelsen KF, Jeppesen DL, Valerius NH, Paerregaard A. Effect of probiotic Lactobacillus strains in children with atopic dermatitis. J Allergy Clin Immunol 2003; 111: 389-395.
- ⁹³ Nase L, Hatakka K, Savilahti E, Saxeiin M, Ponka A, Poussa T, Korpela R, Murman IH. Effect of long-term consumption of a probiotic bacterium, Lactobacillus rhamnosus GG, in milk on dental caries and caries risk in children. Caries Res 2001; 35: 412-420.
- ⁹⁴ Ardizzone S, Porro GB. Inflammatory bowel disease: new insights into pathogenesis and treatment. J Intern Med 2002; 252: 475-496.
- ⁹⁵ Mitsuyama K, Toyonaga A, Sata M. Intestinal microflora as a therapeutic target in inflammatory bowel disease. J Gastroenterol. 2002; 37: 73-77.
- ⁹⁶ Hibi T, Inoue N, Ogata H, Naganuma M. Introduction and overview: recent advances in the immunotherapy of inflammatory bowel disease. J Gastroenterol 2003; 38: 36-42.
- ⁹⁷ Ogata H, Hibi T. Cytokine and anti-cytokine therapies for inflammatory bowel disease. Curr Pharm Des 2003; 9: 1107-1113.
- ⁹⁸ Cucchiara S, Falconieri P, Di Nardo G, Parcella MA, et al. New therapeutic approach in the management of intestinal disease: probiotics in intestinal disease in paediatric age. Dig Liver Dis 2002; 34: 44-47.
- ⁹⁹ Kleeseen B, Kroesen AJ, Buhr HJ, Blaut M. Mucosal and invading bacteria in patients with inflammatory bowel disease compared with controls. Scand J Gastroenterol 2002; 37: 1034-1041.
- ¹⁰⁰ Borrueal N, Carol M, Casellas F, Antolin M, et al. Increased mucosal tumour necrosis factor alpha production in Crohn's disease can be downregulated ex vivo by probiotic bacteria. Gut 2002; 51: 659-664.
- ¹⁰¹ Aratari A, Guagnozzi D, Viscido A, Caprilli R. Microflora, probiotici e IBD. Giorn Gastroent 2002; 7: 63-69.
- ¹⁰² Marteau P, Seksik P, Shanahan F. Manipulation of the bacterial flora in inflammatory bowel disease. Best Pract Res Clin Gastroenterol 2003; 17: 47-61.
- ¹⁰³ Kanauchi O, Mitsuyama K, Araki Y, Andoh A. Modification of intestinal flora in the treatment of inflammatory bowel disease. Curr Pharm Des 2003; 9: 333-346.
- ¹⁰⁴ Prantera C, Scribano ML. Probiotics and Crohn's disease. Dig Liver Dis 2002; 34: 66-67.
- ¹⁰⁵ Sen S, Mullan MM, Parker TJ, Woolner JT, et al. Effect of Lactobacillus plantarum 299v on colonic fermentation and symptoms of irritable bowel syndrome. Dig Dis Sci 2002; 47: 2615-2620.
- ¹⁰⁶ Gionchetti P, Amadini C, Rizzello F, Venturi A, et al. Probiotics-role in inflammatory bowel disease. Dig Liver Dis 2002; 34: 58-62.
- ¹⁰⁷ Hart AL, Stagg AJ, Kamm MA. Use of probiotics in the treatment of inflammatory bowel disease. J Clin Gastroenterol 2003; 36: 111-119.
- ¹⁰⁸ Kuisma J, Mentula S, Jarvinen H, Kahri A, et al. Effect of Lactobacillus rhamnosus GG on ileal pouch inflammation and microbial flora. Aliment Pharmacol Ther 2003; 17: 509-515.
- ¹⁰⁹ Kwon J, Farrell R. Probiotics and inflammatory bowel disease. Bio Drugs 2003; 17: 179-186.
- ¹¹⁰ Guandalini S. Use of Lactobacillus-GG in paediatric Crohn's disease. Dig Liver Dis 2002; 34: 63-65.
- ¹¹¹ Steidler L. Lactobacillus Lactis secreting IL10. Atti 2nd Probiotics & Prebiotics, New Foods, Roma 7-9 settembre 2003; 15-22.
- ¹¹² Guslandi M. Saccharomyces Boulardii. Atti 2nd Probiotics & Prebiotics, New Foods, Roma 7-9 settembre 2003; 23-26.
- ¹¹³ Alvarez S, Herrero C, Bu E, Perdigon G. Effect of Lactobacillus casei and yogurt administration on prevention of Pseudomonas aeruginosa infection in young mice.

- J Food Prot 2001; 64: 1768-1774.
- ¹¹⁴ Hori T, Kiyoshima J, Shida K, Yasui H.
Augmentation of cellular immunity and reduction of influenza virus titer in aged mice fed Lactobacillus casei Strain Shirota.
Clin Diagn Lab Immunol 2002; 9: 105-108.
- ¹¹⁵ Di Benedetto L, Raia V, Pastore A, Albano F, Spagnuolo MI, De Vizia B, Guarino A.
Lactobacillus casei strain GG as adjunctive treatment to children with cystic fibrosis.
J Pediatr Gastroenterol Nutr 1998; 26: 542.
- ¹¹⁶ Glück U, Gebbers JO.
Ingested probiotics reduce nasal colonization with pathogenic bacteria (Staphylococcus aureus, Streptococcus pneumoniae, and β -hemolytic streptococci).
Am J Clin Nutr 2003; 77: 517-520.
- ¹¹⁷ Lodinova-Zadnikova R, Cukrovskaya B, Tlaskalova-Hogenova H.
Influence of oral administration of probiotic E.Coli after birth on frequency of allergies and repeated infections later in life (after 10-20 years).
Atti 59° Congresso Nazionale di Pediatria, Roma 2003; 2: 259-263.
- ¹¹⁸ Rosselli M, Finamore A, Britti MS, Merendino N, et al.
Protective effect of immunomodulation on intestinal cells by probiotics.
Atti 2nd Probiotics and Prebiotics, New Foods, Roma 7-9 settembre 2003; 205-212.
- ¹¹⁹ Morelli L.
Ecosistema intestinale nel neonato e nel lattante.
Atti 59° Congresso Nazionale di Pediatria, Roma 2003; 2: 245-246.
- ¹²⁰ Probert HM, Gibson GR.
Bacterial biofilms in the human gastrointestinal tract.
Curr Issues Intest Microbiol 2002; 3: 23-27.
- ¹²¹ Kalliomaki M, Kirjavainen P, Eerola E, Kero P, Salminen S, Isolauri E.
Distinct patterns of neonatal gut microflora in infants in whom atopy was and was not developing.
J Allergy Clin Immunol 2001; 107: 129-134.
- ¹²² Isolauri E, Arvola T, Sutas Y, Moilanen E, et al.
Probiotics in the management of atopic eczema.
Clin Exp Allergy 2000; 30: 1604-1610.
- ¹²³ Kalliomaki M, Salminen S, Arvilommi H, Kero P, et al.
Probiotics in primary prevention of atopic disease: a randomised placebo-controlled trial.
Lancet 2001; 357: 1057-1059.
- ¹²⁴ Kalliomaki M, Salminen S, Poussa T, Arvilommi H, et al.
Probiotics and prevention of atopic disease: 4-year follow-up of a randomised placebo-controlled trial.
Lancet 2003; 361: 1869-1871.
- ¹²⁵ Matsuzaki T, Yamazaki R, Hashimoto S, Yokokura T.
The effect of oral feeding of lactobacillus casei strain Shirota on immunoglobulin E production in mice.
J Dairy Sci 1998; 81: 48-53.
- ¹²⁶ Pessi T, Sutas Y, Hurme M, Isolauri E.
Interleukin-10 generation in atopic children following oral Lactobacillus rhamnosus GG.
Clin Exp Allergy 2000; 30: 1804-1808.
- ¹²⁷ Gupta P, Andrew H, Kirschner BS, Guandalini S.
Is Lactobacillus GG helpful in children with Crohn's disease? Results of a preliminary, open-label study.
J Pediatr Gastroenterol Nutr 2000; 31: 453-457.
- ¹²⁸ Steidler L, Hans W, Schotte L, Neyrinck S, et al.
Treatment of murine colitis by Lactococcus lactis secreting interleukin-10.
Science 2000; 289: 1352-1355.
- ¹²⁹ Morita H, He F, Fuse T, Ouweland AC, et al.
Adhesion of lactic acid bacteria to caco-2 cells and their effect on cytokine secretion.
Microbiol Immunol 2002; 46: 293-297.
- ¹³⁰ Lammers KM, Helwing U, Swennen F, Rizzello A, et al.
Effect of probiotic strains on interleukin 8 production by Ht 9/19 A cells.
Am J Gastroenterol 2002; 97: 1182-1186.
- ¹³¹ Mastrandrea F.
Probiotics and immunity.
Atti 2nd Probiotics & Prebiotics, New Foods, Roma 7-9 settembre 2003; 156-165.
- ¹³² Cenci G.
Antigenotoxicity: a new tool for probiotics.
Atti 2nd Probiotics & Prebiotics, New Foods, Roma 7-9 settembre 2003; 12-14.
- ¹³³ Markowitz JE, Bengmark S.
Probiotics in health and disease in the pediatric patient.
Ped Clin North Am 2002; 49: 127-141.
- ¹³⁴ Isolauri E, Costa Ribeiro H, Gibson G, Saavedra J, et al.
Functional foods and probiotics: working group report of the first world congress of pediatric gastroenterology, hepatology and nutrition.
J Pediatr Gastroenterol Nutr 2002; 35-S2: 106-109.
- ¹³⁵ Pelosini I, Molina E, Scarpignato C.
Utilizzazione clinica dei probiotici in gastroenterologia: stato attuale e prospettive.
Gastroenterol 2003; S: 28-40.
- ¹³⁶ Isolauri E.
Probiotics for infectious diarrhoea.
Gut 2003; 52: 436-437.
- ¹³⁷ Tannock GW.
Probiotics and Prebiotics: where are we going?
J Antimicrob Chemother 2003; 52: 143.
- ¹³⁸ Gibson GR, Roberfruid MB.
Dietary modulation of the human colonic microbiota: introducing the concept of prebiotics.
J Nutr 1995; 125: 1401-1412.
- ¹³⁹ Guarino A, Bruzzese E, Gaudiello G, Aceto B.
Probiotici e prebiotici nei prodotti dietetici.
Atti 59° Congresso Nazionale di Pediatria, Roma 2003; 2: 253-258.
- ¹⁴⁰ Coppa GV, Bruni S.
Il modello del latte materno.
Atti 59° Congresso Nazionale di Pediatria, Roma 2003; 2: 247-250.
- ¹⁴¹ Mizzoni A.
I prebiotici e new foods.
Atti 2nd Probiotics & Prebiotics, New Foods, Roma 7-9 settembre 2003; 31-35.
- ¹⁴² Cagnasso P.
Nutrition and well-being. The role of food industry.
Atti 2nd Probiotics & Prebiotics, New Foods, Roma 7-9 settembre 2003; 45-46.
- ¹⁴³ Da Payne MJ, Salminen S.
Probiotici. Benefici per la salute: presente e futuro.
Integr Nutr 2002; 5: 15-20.