

IL PARERE DELLO SPECIALISTA

I probiotici nelle patologie gastrointestinali: acquisizioni e limiti

Gianfranco Delle Fave¹, Cristiano Pagnini²

¹ Ordinario di Gastroenterologia, Sapienza Università di Roma; ² UOC Gastroenterologia e Endoscopia Digestiva, Ospedale S. Giovanni Addolorata, Roma; Onlus Sant'Andrea, Roma

Summary. L'eterogeneità nel microbiota intestinale, risulta essere di genere, di distretto corporeo, di età, e risente inoltre dell'alimentazione abituale. È importante sottolineare che la diversità tra individuo e individuo, in termini di specie e ceppi batterici, è piuttosto rimarchevole: ogni individuo in genere ha un proprio pattern distintivo di composizione batterica del microbiota. I numerosissimi studi sui meccanismi di azione dei probiotici, hanno risentito e risentono della difficoltà di "traslare" dal laboratorio (studi in vitro) i risultati ottenuti, all'uso prettamente clinico. Infatti, la riproduzione in vitro di un ambiente così variegato in termini di chimica e di fisica, come è l'intestino umano, risulta praticamente impossibile. Esistono quindi dei limiti ai risultati finora prodotti. Un esempio di ciò è dato dalla necessità di fornire l'evidenza che ogni batterio somministrato per via orale sia in grado di sopravvivere al pH acido gastrico e al pH alcalino intestinale, nonché alla bile presente in esso. Giusto per ricordare che nello stomaco vige un pH 2 <; a partire dal duodeno il pH va a superare gli 8-8,4 < e inoltre è presente la bile che chimicamente è un detergente. Nel colon il pH è 7. Non è possibile dunque eseguire i test in condizioni di "real world": in altre parole, il probiotico o la miscela di probiotici assunti si troveranno difficilmente nelle condizioni sperimentali utilizzate per caratterizzarli. Questo va sottolineato in quanto, recentemente, due articoli, uno in vitro e un altro come redazionale apparso su questa stessa rivista, hanno comparato diversi lattobacilli attualmente in commercio in condizioni di *simulated gastric and intestinal secretion* e tali dati sono stati poi ripresi e riportati a implicazioni cliniche. In altre parole, la valenza del superare il pH acido e il pH alcalino del duodeno e dell'intestino non può assolutamente esser traslata nella pratica clinica in quanto la media di ore in cui l'intestino è a completo digiuno, cioè come rappresentato nello studio in vitro, è completamente diversa. Questo è dimostrato dal fatto che questi integratori sono in commercio da anni ed esistono lavori che ne dimostrano l'efficacia clinica a livello dell'intestino tenue e del colon. Nel 2018, un lavoro ha dimostrato come utilizzando la tecnica molecolare di finger DNA, trattando per 7 giorni con *Lactobacillus rhamnosus* GG e confrontandolo con lo stesso ceppo al dosaggio doppio, il DNA di questo batterio, è stato ritrovato e quantificato nei soggetti trattati nella mucosa nell'ultimo tratto del colon. Questo dato è in palese contraddizione con le deduzioni fatte da Vecchione e Gasbarrini che hanno dimostrato come in 30 minuti in ambiente acido il tale ceppo scompare, non fornendo alcuna indicazione su come questo abbia un'attività clinicamente dimostrata. Questo ed altri esempi dimostrano come sia impossibile trarre alcuna indicazione dagli esperimenti in vitro in condizioni di simulate "fisiologiche" funzioni gastrointestinali; l'acritico trasferimento di questi dati ai risultati ottenuti negli ultimi 20-25 anni da questi batteri ne dimostra la loro non traslabilità nella pratica clinica.

Introduzione

I probiotici possono essere definiti come organismi vivi che esercitano un beneficio in termini di salute, nei riguardi dell'ospite che li assume.

I meccanismi attraverso cui questo avviene sono ancora oggetto di dibattito.

Se negli ultimi anni, è vero che sono state raccolte numerose acquisizioni circa i meccanismi suddetti, è altrettanto vero che le dimostrazioni scientifiche su cui si basano queste acquisizioni restano tuttora con un livello di evidenza non del tutto sufficiente.

Un grande interesse è andato progressivamente sviluppandosi per l'uso dei probiotici nel trattamento di alcune malattie e questo è dimostrato da due fattori:

- al 2017, sono stati pubblicati oltre 1500 trial con i probiotici. Questo numero è vertiginosamente salito nel 2018. Va sottolineato come per alcuni ceppi batterici siano più frequenti le *reviews* sistematiche che i trial clinici;

- più di 20 patologie sono state in qualche modo associate alle alterazioni del microbiota, in particolare, quello intestinale (Tab. I).

Inoltre hanno contribuito a questa situazione altri fattori come:

- la "relativa semplicità della procedura di identificazione, isolamento e riproduzione";
- lo scarsissimo numero di effetti collaterali;
- il costo relativamente basso nella produzione;
- la tassonomica definizione di "integratori alimentari";
- la possibilità di associarli ad altri alimenti (yogurt, formaggi, estratti di frutta, latte...).

Purtroppo, i dati a sostegno di questo interesse pur essendo riferiti a numerosissimi studi, presentano dei limiti: non sono comparabili facilmente tra di loro, per le metodologie utilizzate, in particolare: l'uso

di differenti batteri, la mancanza di studi comparativi tra differenti specie di batteri, la non riproducibilità di alcuni dati, la mancanza di disegni scientifici appropriati con *end-points* dichiarati, l'eterogeneità dei soggetti studiati in termine di genetica, età, sesso, patologie, alimentazione, ecc.

Quest'ultimo fatto è di cruciale importanza, infatti, l'eterogeneità nel microbiota intestinale, risulta essere di genere, di distretto corporeo (ad es. il microbiota dell'intestino è diverso da quello del colon), di età, e non tiene conto che il microbioma risente dell'alimentazione abituale.

Quindi ne consegue che la comparazione di dati europei, non europei, asiatici ecc, non sempre riportata negli studi e nelle numerose *reviews* pubblicate anche da organismi "titolati", è in grado di fornire risposte mai definitive, ai quesiti sopra menzionati ma piuttosto risposte limitative e soprattutto cautelative.

Questa interazione, specialmente tra pro-

TABELLA I.**Poteniali patologie gastrointestinali.**

Tattamento e prevenzione della diarrea acuta nel bambino e nell'adulto Prevenzione della diarrea acuta associata ad antibiotici Prevenzione della diarrea <i>Clostridium difficile</i> Prevenzione della diarrea indotta da radiazioni
Prevenzione del cancro coloretale
Coadiuvante nel trattamento dell'infezione da <i>Helicobacter pylori</i>
Coadiuvante nella prevenzione e trattamento dell'encefalopatia epatica
Coadiuvante nel trattamento delle patologie "immunitarie"
Malattie infiammatorie intestinali: <ul style="list-style-type: none"> • morbo di Crohn • colite ulcerosa • infiammazione della <i>pouch</i> intestinale (post resezione chirurgica)
Sindrome dell'intestino irritabile
Colica del bambino
Malassorbimento del lattosio
Enterocolite necrotizzante
Steatosi epatica non alcolica
Coadiuvante nella prevenzione delle infezioni sistemiche (anche in quelle post-chirurgiche)

biotici e microbi residenti nell'intestino è, in linea di massima, il meccanismo chiave che potenzialmente influenza la salute dell'ospite. Stime suggeriscono che più di 40 trilioni di cellule batteriche sono presenti nel colon di un essere umano adulto. Tutti assieme i microbi intestinali raggiungono circa 600.000 geni per ogni essere umano ma questo non è uguale, come detto, per tutti i distretti del corpo umano (Tab. II).

È importante sottolineare che la diversità tra individuo e individuo, in termini di specie

e ceppi batterici, è piuttosto rimarchevole: ogni individuo in genere ha un proprio *pattern* distintivo di composizione batterica del microbiota. Questa viene determinata, in parte, dal genotipo dell'ospite, dalla colonizzazione al momento della nascita e quindi, attraverso una trasmissione verticale, al determinismo delle abitudini alimentari.

L'interazione tra batteri intestinali e il loro ospite è una relazione di simbiosi.

Infatti, i batteri intestinali hanno un'importante funzione nella regolazione dell'immu-

nità: presenza della mucosa del piccolo e grande intestino nelle placche del Peyer, e nei follicoli linfoidi.

Queste strutture sono fondamentali per indurre la risposta adattativa del sistema immune.

In condizione di malattia, in particolare dell'apparato digerente, la flora intestinale degli individui tende a cambiare. Ad esempio, nelle malattie infiammatorie intestinali è stata dimostrata come sia diminuita la diversità e l'eterogeneità dei ceppi batterici presenti, rispetto alla stessa, in condizione di non malattia.

Questo può avvenire attraverso l'interazione con i microbi commensali o potenzialmente patogeni, generando prodotti metabolici come ad esempio gli acidi grassi a catena corta oppure comunicando con la cellula ospite attraverso segnali chimici. Questi meccanismi possono innescare un'azione antagonista sui potenziali patogeni in ambiente intestinale che risulta beneficiarne. Infine, possono rinsaldare le barriere intestinali, dilatate dall'infiammazione, diminuendo i livelli della stessa e aumentando la risposta immune agli antigeni.

Questo fenomeno viene ritenuto capace di generare effetti benefici che includono ad esempio, l'incidenza e la severità della diarrea. Questo infatti è uno dei più largamente riconosciuti uso dei probiotici.

Meccanismi di azione

I numerosissimi studi sui meccanismi di azione dei probiotici, hanno risentito e risentono della difficoltà di "traslare" dal laboratorio (studi in vitro), i risultati ottenuti, all'uso clinico.

Infatti, la riproduzione in vitro di un ambiente così variegato in termini di chimica e di fisica, che è l'intestino umano, risulta praticamente impossibile "in toto" e gli scienziati hanno affrontato gli argomenti limitatamente al set sperimentale da loro scelto.

Questo ha portato e porta al fatto che un criterio generale viene ridotto a limitati e parcellari set sperimentali che non è possibile riportare a quadri generali sia pur di settore. Ne consegue che esistono dei limiti ai risultati finora prodotti. Questi possono essere riassunti già da quanto prima detto, dalle differenze del microbiota umano e dalle differenti metodologie di lavoro.

Va osservato come esistono più lavori in

TABELLA II.**Microbiota intestinale umano.**

Stomaco e duodeno	<ul style="list-style-type: none"> • Sono relativamente pochi microrganismi presenti, $\geq 10^3$ cellule per grammo di contenuto • Principalmente lattobacilli e streptococchi • Questo è dovuto alla presenza di acido, bile, enzimi pancreatici che sopprimono la maggior parte dei microbi ingeriti. Inoltre la costante attività motoria impedisce la stabile colonizzazione nel lume gastrico e del piccolo intestino
Digiuno e ileo	<ul style="list-style-type: none"> • Qui il numero dei batteri aumenta progressivamente da 10^4 nel digiuno fino alla 10^7 per grammo di contenuto nell'ileo
Colon	<ul style="list-style-type: none"> • Il colon è il più "popolato" da anaerobi: circa 10^{12} cellule per grammo di contenuto

TABELLA III.

Probiotici.

Benefici immunologici:
<ul style="list-style-type: none"> • attivare macrofagi locali per aumentare la presentazione di antigene linfocitario B e migliorare la produzione della secrezione di immunoglobulina A (IgA), sia localmente che sistemicamente • modulare il profilo delle citochine • indurre tollerabilità agli antigeni alimentari
Benefici non immunologici:
<ul style="list-style-type: none"> • digerire cibo e competere con sostanze nutritive con agenti patogeni • alterare il pH locale per creare un ambiente non favorevole per agenti patogeni • produrre batteri per inibire agenti patogeni • cercare radicali superossidanti • stimolare la produzione di cellule mucipare epiteliali • rafforzare la funzione della barriera intestinale • garantire aderenza con agenti patogeni • modificare agenti patogeni derivati da tossine

vitro che in vivo e che la maggior parte di questi sono su bambini. Minore è il numero di lavori sugli adulti.

Pochissimi studi sono stati affrontati con metodologie accurate e quindi con risultati soddisfacenti dal punto di vista scientifico e quindi traslazionale.

Dati più interessanti sono stati ottenuti in alcune patologie (Tab. I).

I più significativi sono i dati sulle diarree da retrovirus sempre nei bambini e sulla diversa composizione del microbiota intestinale nelle malattie infiammatorie gastroentericali. Sono stati, inoltre, sviluppati diversi *trials* per valutare l'efficacia in clinica delle varie specie e sottospecie di lattobacilli somministrati in singola specie o in miscele di specie (Tab. III).

Pochissimi sono gli studi comparativi in doppio cieco tra un probiotico verso un altro a confronto. Un esempio di ciò è dato dalla necessità di fornire l'evidenza che ogni batterio somministrato per via orale sia in grado di sopravvivere a pH acido gastrico e a pH alcalino intestinale e alla bile presente in esso. L'ambiente intestinale umano è un ambiente piuttosto "ostile".

Infatti, come prima detto, il numero dei batteri che formano il microbioma intestinale è diverso e raggiunga il suo massimo nel colon.

Giusto per ricordare che nello stomaco vige un pH 2 ≤; a partire dal duodeno il pH va a superare gli 8-8,4 ≤ e inoltre è presente la bile che chimicamente è un detergente. Nel colon il pH è circa 7.

Questi test devono essere fatti per poter prendere in considerazione un lattobacillo per l'uso in clinica. Quindi i lattobacilli attualmente in commercio sono stati sottoposti, in un modo o nell'altro, a questi test. Quello che non è stato possibile eseguire sono i test in condizioni di "real world", cioè nella usuale pratica clinica anche se alcuni di questi lattobacilli sono in commercio da qualche decina di anni.

In altre parole, il probiotico o la miscela di probiotici assunti si troveranno difficilmente nelle condizioni sperimentali utilizzate per caratterizzarli.

Questo va sottolineato in quanto, recentemente, due articoli, uno in vitro e un altro come redazionale apparso su questa stessa rivista, hanno comparato diversi lattobacilli attualmente in commercio in vitro prima, in condizioni di *simulated gastric and intestinal secretion* e quindi, nel secondo lavoro, sono stati ripresi questi dati e riportati a criteri puramente clinici.

È importante sottolineare come nello studio in vitro si sperimentavano i batteri in cui la variante era il pH gastrico e/o la secrezione intestinale più bile.

Da un punto di vista strettamente fisiologico a eccezione del digiuno notturno, le condizioni chimico-fisiche dell'intestino sono completamente differenti, ciò dovuto al cibo assunto, alle ore nelle quali il cibo transita attraverso l'intestino, a potenziali farmaci che modificano transito e pH intestinale e che quindi rendono di minor valore i risultati ottenuti in vitro.

In altre parole, la valenza del superare il pH acido e il pH alcalino del duodeno e dell'intestino non può assolutamente esser traslata nella pratica clinica in quanto la media di ore in cui l'intestino è a completo digiuno, cioè come rappresentato nello studio in vitro, è completamente diverso. Infatti, lo stomaco e il duodeno impiegano tra le 3 e le 4 ore per svuotarsi, lo stesso dicasi, se non di più, per il piccolo intestino tenue e l'ileo. Quindi, per più della metà del tempo delle 24 ore della giornata nell'intestino vige un pH diverso da quello dello studio in vitro. Questo è dimostrato dal fatto che questi integratori da anni, come menzionato, sono in commercio e esistono lavori che dimostrano un'efficacia clinica a livello dell'intestino e del colon.

In altre parole, i batteri, le spore, i lieviti, passano le barriere suddette e giungono nel colon dove svolgono la loro azione provocando, come dimostrato da una recentissima *systematic review* sui dati *Cochrane* 2018 dalla dottoressa Parker (*Nutrition*), che dimostra che le evidenze di tipo A, cioè supportate da dati scientificamente accettabili, sono semplicemente quattro e riguardano principalmente condizioni patologiche come: incidenza di diarrea (pediatrico), la durata della di diarrea (pediatrico), l'ospedalizzazione e la lunghezza del periodo di diarrea (pediatrico/adulti), l'incidenza di diarrea associata a *Clostridium difficile*, in pazienti trattati con antibiotici (pediatrici/adulti).

In questi studi, inoltre, l'evidenza di effetti indesiderati è praticamente inesistente.

Se questo dato lo paragoniamo alla *systematic review* della *Cochrane* del 2015 risulta evidente come siano 4 o 5 i lattobacilli e i lieviti che abbiano fornito gli studi con evidenza 1 (Tab. IV) (Yacult, Activia, Dicoflor, LGG, Codex).

Per quanto riguarda le altre patologie, sempre diarrea associata ad antibiotici, diarrea e infiammazione delle Pouch nelle malattie infiammatorie gastroentericali, trattamento della diarrea acuta negli adulti, sono ancora più o meno gli stessi batteri e lieviti che mostrano un livello di evidenza 2 nell'indurre la remissione della diarrea nel mantenimento della remissione, nel trattamento della diarrea acuta negli adulti.

Quanto al *Clostridium difficile* associato a diarrea o prevenzione il livello è 3.

TABELLA IV.

Livelli di evidenza per i benefici del trattamento relativi alla domanda: "Questo intervento aiuta?" (Oxford Centre for Evidence-Based Medicine).

Adulti	Ceppo dei probiotici
DIARREA Diarrea associata ad antibiotici (Livello evidenza 1)* <ul style="list-style-type: none"> • Yacult • Activia • Dicoflor • Codex 	<ul style="list-style-type: none"> • Yogurt con <i>Lactobacillus casei</i> DN114, <i>L. bulgaricus</i>, e <i>Streptococcus thermophilus</i> • <i>L. acidophilus</i> CL1285 e <i>L. casei</i> (Bio-K+1285) • <i>L. rhamnosus</i> GG • <i>Saccharomyces boulardii</i> CNCM I-745
Diarrea associata ad antibiotici (Livello evidenza 2)** <ul style="list-style-type: none"> • VSL#3 • Activia 	<ul style="list-style-type: none"> • <i>L. acidophilus</i> NCFM, <i>L. paracasei</i> Lpc-37, <i>Bifidobacterium lactis</i> Bi-07, <i>B. lactis</i> BI-04 • <i>B. bifidum</i> W23, <i>B. lactis</i> W18, <i>B. longum</i> W51, <i>Enterococcus faecium</i> W54, <i>L. acidophilus</i> W37 e W55, <i>L. paracasei</i> W72, <i>L. plantarum</i> W62, <i>L. rhamnosus</i> W71, e <i>L. salivarius</i> W24
IBD - INFIAMMAZIONE DELLA "POUCH" (Livello evidenza 2)** Mantenimento della remissione clinica <ul style="list-style-type: none"> • VSL#3 • Lacteol 	<ul style="list-style-type: none"> • Miscela contenente ceppi di <i>L. plantarum</i>, <i>L. casei</i>, <i>L. acidophilus</i>, <i>L. delbrueckii subsp. bulgaricus</i>, <i>B. infantis</i>, <i>B. longum</i>, <i>B. breve</i> e <i>S. salivarius subsp. thermophilus</i>
DIARREA Trattamento di diarrea acuta negli adulti (Livello evidenza 2)** <ul style="list-style-type: none"> • Lactofluorene • Dicoflor • Codex 	<ul style="list-style-type: none"> • <i>L. paracasei</i> B 21060 o <i>L. rhamnosus</i> GG • <i>Saccharomyces boulardii</i> CNCM I-745, ceppi di <i>S. cerevisia</i>
Prevenzione di <i>Clostridium difficile</i> - associato a diarrea (o prevenzione di recidiva) (Livello evidenza 2)*** <ul style="list-style-type: none"> • VSL#3 	<ul style="list-style-type: none"> • <i>L. acidophilus</i> CL1285 e <i>L. casei</i> LBC80R • Yogurt con <i>L. casei</i> DN114 e <i>L. bulgaricus</i> e <i>S. thermophilus</i>

* Revisione sistematica di trial randomizzati; ** Trial randomizzato o studio osservazionale con risultati molto importanti; *** Studio non randomizzato/studio di follow-up.

I prodotti associati a questi effetti sono: Activia, Lactéol, Dicoflor, Codex e Lactofluorene, VSL#3.

Infine solo un lavoro viene citato nella *systematic review* del 2018 riguardante il *bacterium clausii*, riguardante l'efficacia nella prevenzione della diarrea associata ad antibiotici nei bambini (Goldberg 2015).

È stato dimostrato come ultimo dato, infine, sempre nel 2018, come utilizzando la tecnica molecolare di finger DNA, trattando per 7 giorni con *Lactobacillus rhamnosus* GG (Dicoflor Plus 12 MLD di batteri) e con-

frontandolo con lo stesso ceppo al dosaggio doppio, il DNA di questo batterio è stato ritrovato nella mucosa dei soggetti trattati e quantificato nell'ultimo tratto del colon.

In aggiunta, è stata dimostrata l'efficacia nell'indurre un decremento statistico delle citochine infiammatorie: interleuchina IL-17 e TNF-alfa.

Questo dato è in palese contraddizione con le deduzioni fatte da Vecchione e Gasbarrini che avrebbero dimostrato come in 30 minuti in ambiente acido il Dicoflor scompare.

Un dato fondamentale nel valutare que-

sti lavori è se il batterio studiato aderisce alla mucosa intestinale o, come riportato da numerosi studi in letteratura, solo come presenza nelle feci.

Appare evidente che tra essere presente nelle feci e aderire alla mucosa intestinale, passi una grande differenza e sostanziale. Recentemente è stato dimostrato come il *Lactobacillus rhamnosus* GG (Dicoflor) somministrato, sia stato ritrovato nella mucosa rettale nei soggetti cui era stato somministrato. Questo è stato fatto attraverso uno studio che valutava il DNA somministrato e il DNA ritrovato (2018).

Stesso discorso: non è stato ritrovato in molti dei lattobacilli studiati, un unico riferimento al *bacillus clausii* (Enterogermina) si riferisce a uno studio in vitro in cui il batterio veniva ritrovato nella mucosa di pollo (2005).

La comparazione quindi tra questi due batteri o altri batteri, dimostra come sia impossibile trarre alcuna indicazione circa le differenze tra di loro, ma soprattutto come dati tratti dagli esperimenti in vitro in condizioni di simulate "fisiologiche" funzioni gastrointestinali e il loro rispettivo acritico trasferimento ai dati clinici e ai risultati nell'uomo ottenuti negli ultimi 20-25 anni da questi batteri, sia in palese contraddizione.

Conclusioni

In conclusione, questa breve revisione dei dati della letteratura scientifica sui probiotici dimostra che solamente in pochissimi studi è stato possibile ricavare dei dati scientificamente robusti e tali da poterne indirizzare l'uso in clinica.

I dati analizzati in maniera estremamente adeguata sulle *systematic reviews* identificate sui lavori della *Cochrane Library*, di 35 *reviews* identificate, solo 14 hanno fornito dati utilizzabili ed in particolare, il livello A e/o 1, sono stati identificati per la diarrea acuta o provocata da antibiotici in particolare nei bambini; lo stesso dicasi per la rettocolite ulcerosa anche in forma di pouch, Non sono risultati conclusivi i lavori per la malattia di Crohn, sono risultati accettabili quelli sulle coliti "non differenziate", non sono risultati conclusivi i lavori per le patologie epatiche e, infine, anche i dati nel trattamento e nella prevenzione della infezione da *Clostridium difficile* non sono risultati conclusivi.

Quello che viene da tutti sottolineato è che, pur se i probiotici usati nei disordini

gastrointestinali possono avere un effetto benefico, la mancanza di dati come la specie, i ceppi, il dosaggio, il processo di manifattura, le condizioni di stoccaggio, di spedizione dei probiotici usati, non vengono quasi mai determinati. Questo è un "bias" che contribuisce a determinare la non conclusività e la mancanza di risultati robusti in questo interessantissimo campo.

Conflitto di interessi

Gli Autori dichiarano di aver ricevuto finanziamenti o hanno in atto contratti o altre forme di finanziamento, personali o istituzionali, con Onlus S. Andrea.

Bibliografia di riferimento

CADTH. *Probiotics for Antibiotic-Associated Diarrhea and Clostridium difficile Infection: A review of Clinical Effectiveness*. Rapid Response Service. Version 1.0; September 20, 2018, Report Length: 29 pages.

Guarino A, Ashkenazi S, Gendrel D, et al.; European Society for Pediatric Gastroenterology, Hepatology, and Nutrition; European Society for

Pediatric Infectious Diseases. *European Society for Pediatric Gastroenterology, Hepatology, and Nutrition/European Society for Pediatric Infectious Diseases evidence-based guidelines for the management of acute gastroenteritis in children in Europe: update 2014*. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2014;59:132-52.

Hill C, Guarner F, Reid G, et al. *Expert consensus document. The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics consensus statement on the scope and appropriate use of the term probiotic*. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* 2014;11:506-14.

Ianiro G, Sciumè GD, Gasbarrini A. *Nuove acquisizioni sui probiotici: dalla ricerca alla pratica clinica*. *Il medico pediatra* 2018;27(4):29-34.

Ianiro G, Rizzati G, Plomer M, et al. *Bacillus clausii for the treatment of acute diarrhea in children; a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials*. *Nutrients* 2018;10(8) pii: E1074.

Kolaček S, Hojsak I, Berni Canani R, et al.; ESPGHAN Working Group for Probiotics and Prebiotics. *Commercial Probiotic Products: A Call for Improved Quality Control. A Position Paper by the ESPGHAN Working Group for Probiotics and Prebiotics*. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2017;65:117-24.

Pagnini C, Corleto VD, Martorelli M, et al. *Mucosal adhesion and anti-inflammatory effects of Lactobacillus rhamnosus GG in the human colonic mucosa: a proof-of-concept study*. *World Gastroenterol* 2018;24:4652-62.

Parker E, Roy Tina BS, D'Adamo C, et al. *Probiotics and gastrointestinal conditions: an overview of evidence from the Cochrane Collaboration*. *Nutrition* 2018; 45:125-34.

Szajewska H, Kolodziej M. *Systematic review with meta-analysis: Saccharomyces boulardii in the prevention of antibiotic-associated diarrhoea*. *Aliment Pharmacol Ther* 2015;42:793-801.

Szajewska H, Skorcka A, Rusczyński M, et al. *Meta-analysis: Lactobacillus GG for treating acute gastroenteritis in children-up dated analysis of randomised controlled trials*. *Aliment Pharmacol Ther* 2013;38:467-76.

Vecchione A, Celandroni F, Mazzantini D, et al. *Compositional Quality and Potential Gastrointestinal Behavior of Probiotic Products Commercialized in Italy*. *Front Med (Lausanne)* 2018;5:59.

World Gastroenterology Organisation Global Guidelines. *Probiotics and Prebiotics*. February 2017.