

I probiotici nella pratica clinica: proprietà, caratteristiche e prove di efficacia del *Lactobacillus casei* Shirota

Enzo Ubaldi¹, Maria Luisa Callegari²

¹ Società Italiana di Medicina Generale e delle Cure Primarie; ² Centro Ricerche Biotecnologiche, Università Cattolica del Sacro Cuore, sede di Piacenza e Cremona

Definizione e caratteristiche dei probiotici

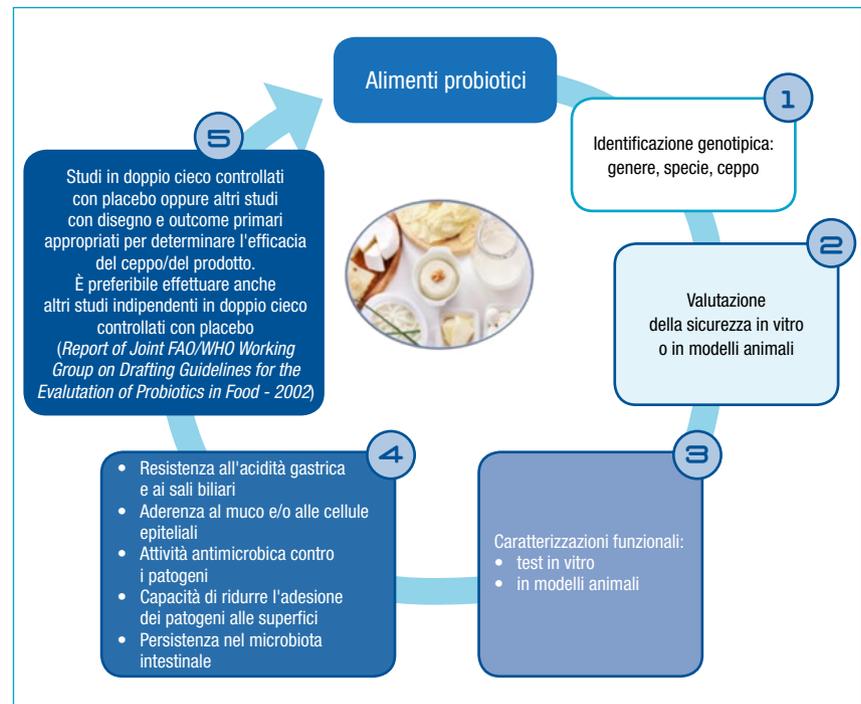
La definizione di probiotico ha subito numerose modificazioni negli anni in funzione di una graduale evoluzione legata all'acquisizione di nuove conoscenze. Nel 2001 un gruppo di esperti della *Food and Agriculture Organization* (FAO) e dell'Organizzazione Mondiale di Sanità (OMS) ha definito i probiotici come microrganismi vivi che, somministrati in quantità adeguata, apportano un beneficio alla salute dell'ospite¹. In questa definizione si sottintende un effetto dose strettamente legato al microrganismo somministrato. La dose ottimale per ottenere l'effetto benefico sull'ospite doveva essere determinata attraverso prove cliniche. Più recentemente, un panel di esperti si è riunito e ha modificato la definizione precedente indicando come ottimale un numero di cellule vive pari a 10⁹ CFU/ml, indipendentemente dal microrganismo considerato². La determinazione della dose ottimale, definita nella riunione del 2001, è stata confermata per i probiotici a uso terapeutico. La determinazione della specie e la tipizzazione del ceppo probiotico sono considerate fondamentali dalle linee guida FAO-OMS (Fig. 1) e per il Ministero della Salute che le ha recepite³. L'appartenenza a una specie conosciuta e utilizzata tradizionalmente come integratore e/o per produrre cibi fermentati è garanzia di sicurezza del microrganismo accanto all'assenza di geni trasmissibili che codificano per antibiotico-

resistenze. Per quanto riguarda, invece, le caratteristiche di probioticità, queste sono ceppo-specifiche, intendendo per ceppo una popolazione batterica derivante dalla moltiplicazione di una singola cellula progenitrice. Tali caratteristiche di probioticità riscontrate in un ceppo non possono essere attribuite a tutti i ceppi appartenenti alla stessa specie. Per questo motivo la specie

e il ceppo batterico devono essere sempre indicati. Le caratteristiche di probioticità devono essere valutate prima "in vitro" e poi "in vivo" come indicato in Figura 1. Tra i pre-requisiti fondamentali per considerare un ceppo come potenzialmente probiotico ci sono la resistenza all'acidità gastrica e ai sali biliari, in quanto fondamentali nelle prime fasi di colonizzazione dell'ospite.

FIGURA 1.

Schema suggerito dagli esperti (FAO/WHO, 2001) per la valutazione dei ceppi probiotici come integratori alimentari¹.



Inoltre, un ceppo incapace di moltiplicarsi nel tratto gastrointestinale non può essere considerato un probiotico. Gli studi clinici in doppio cieco sono indispensabili per valutare gli effetti della somministrazione del ceppo probiotico in esame sulla salute dell'ospite. Comunque, il Ministero della Salute considera per i probiotici contenuti in alimenti e destinati a consumatori sani la sola indicazione d'uso: "Favorisce l'equilibrio della flora intestinale".

Latti fermentati contenenti probiotici e yogurt

Lo yogurt è ottenuto per coagulazione acida di latte vaccino, senza sottrazione di siero, a opera di ceppi appartenenti alle specie *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* e *Streptococcus thermophilus*. I ceppi appartenenti a queste specie sono utilizzati da sempre nelle produzioni lattiero-casearie e non possono essere considerati probiotici poiché non sufficientemente in grado di resistere ai succhi gastrici e ai sali biliari e di conseguenza di colonizzare il tratto gastrointestinale. Si sente tuttavia parlare a volte dello yogurt, nella sua interezza, come "alimento probiotico": questa espressione si riferisce al fatto che il suo consumo consente una migliore digestione del lattosio in

esso contenuto anche in caso di soggetti lattosio intolleranti². Infatti, i ceppi contenuti nello yogurt, una volta ingeriti, entrano in lisi e liberano la β -galattosidasi che degrada il lattosio residuo.

Un'altra tipologia di latte fermentato che sembra essere apprezzata dal consumatore e che viene spesso considerato contenente probiotici è il kefir. Questo latte fermentato è ottenuto utilizzando delle "colture madri" contenenti lieviti e batteri. Ogni "coltura madre" ha una composizione propria, più o meno eterogenea, spesso sconosciuta⁴. All'interno di queste popolazioni sono presenti lattobacilli, responsabili dell'acidificazione del latte, appartenenti a specie diverse non valutate dal punto di vista delle proprietà probiotiche. Possiamo quindi considerare il kefir come un alimento sano e con un basso contenuto in lattosio, ma l'assunzione di probiotici attraverso il suo consumo non è certa.

In alcuni casi i ceppi probiotici sono somministrati utilizzando dei latti fermentati ottenuti con l'impiego di ceppi lattiero-caseari in cui sono aggiunti in un secondo tempo i ceppi probiotici. Questo è dovuto al fatto che il latte non è il substrato ideale per la crescita di tutti i batteri lattici, ma solo di quelli capaci di utilizzare il lattosio e le caseine (Fig. 2).

Caratteristiche del latte fermentato con *Lactobacillus casei* Shirota

Il ceppo *Lactobacillus casei* Shirota (LcS) è un ceppo probiotico poiché capace di superare in elevate percentuali la barriera gastrica e di svilupparsi nell'intestino, colonizzandolo temporaneamente. Per ottimizzare la sua velocità di crescita in matrice latte è stata messa a punto una tecnologia di produzione specifica che si compone di diversi passaggi. Il latte è sterilizzato con un sistema UHT ($T > 120^{\circ}\text{C}$ per pochi secondi) e lasciato riposare a 98°C per 45 minuti. Questi passaggi attivano delle reazioni di Maillard e rendono il substrato più idoneo alla crescita del LcS. Viene quindi inoculato il ceppo che verrà incubato a 37°C per una settimana. Il latte fermentato così ottenuto contiene una carica batterica pari ad almeno $6,5 \times 10^9$ UFC/mL. Dopodiché al prodotto sono aggiunti zuccheri semplici e complessi per mantenere alta la vitalità delle cellule batteriche, garantita anche da una conservazione a temperature comprese tra 0°C e 8°C (Fig. 3).

Il ceppo probiotico LcS

Il LcS appartiene al genere *Lactobacillus* e alla specie *casei*, e il ceppo prende il nome dal dottor Minoru Shirota che nel 1930 lo selezionò e coltivò, presso l'Università di Kyoto, in quanto capace di resistere all'esposizione all'acido gastrico e ai sali biliari così da poter raggiungere e colonizzare l'intestino⁵.

Come per ogni probiotico, per LcS è stata dimostrata la sopravvivenza del ceppo nell'intestino, la modulazione del microbiota intestinale, la produzione di metaboliti benefici, la stabilità del ceppo e il consumo sicuro per l'uomo.

Una delle caratteristiche chiave che deve possedere un ceppo batterico per essere definito probiotico è quella di sopravvivere durante il passaggio lungo il tratto gastrointestinale, in quanto gli effetti benefici per la salute del nostro organismo sono legati alla crescita dei batteri nell'intestino. Il metodo per rilevare questa caratteristica è il rilevamento del ceppo nelle feci di persone che hanno consumato il probiotico. La sopravvivenza di LcS nell'intestino è stata dimostrata in diverse popolazioni, sia in adulti

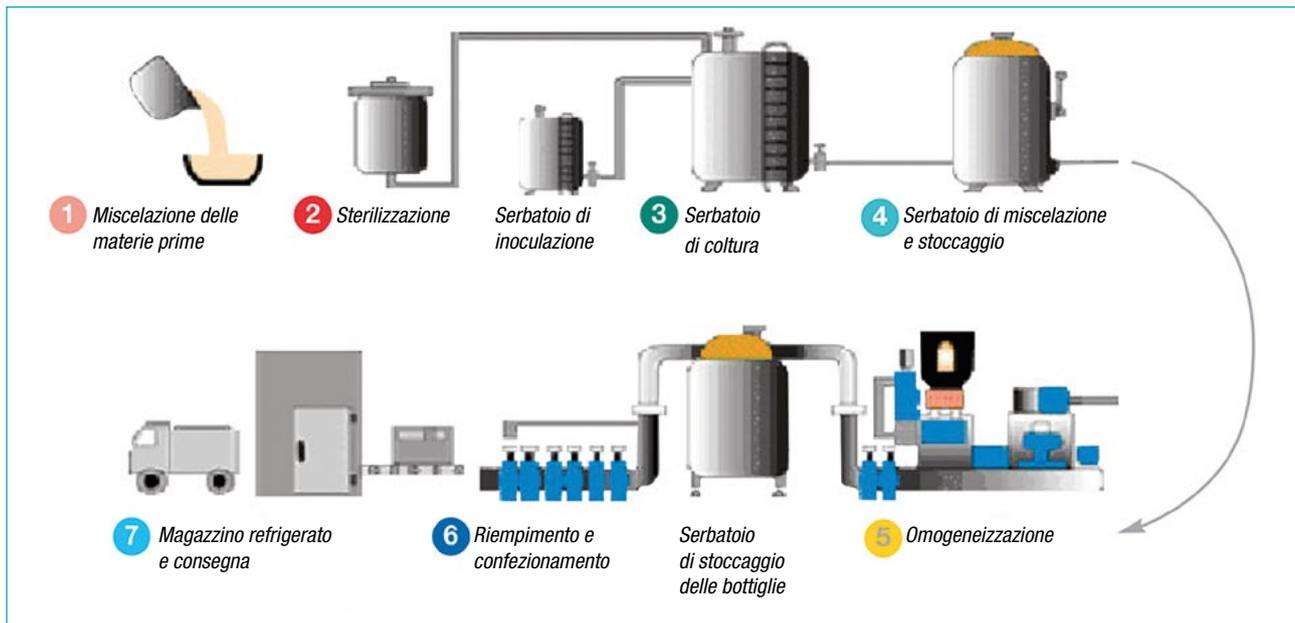
FIGURA 2

Yogurt e latti fermentati probiotici.

Yogurt	Latte fermentato probiotico
<p>Ottenuto per coagulazione acida, senza sottrazione di siero, a opera di batteri lattici specifici (<i>Lactobacillus delbrueckii</i> subsp. <i>bulgaricus</i> e <i>Streptococcus thermophilus</i>), che non riescono a superare la barriera gastrica (NON sono PROBIOTICI)</p>	<p>Prodotto con un ceppo probiotico (ad es. <i>Lactobacillus casei</i> Shirota, LcS) capace di:</p> <ul style="list-style-type: none"> • sopravvivere al passaggio gastrico • giungere vivo e attivo a livello dell'intestino • colonizzarlo temporaneamente
<ul style="list-style-type: none"> • Il latte rappresenta la matrice ideale di crescita per i lattobacilli • Yogurt e latte fermentato probiotico sono adatti ai soggetti lievemente o moderatamente intolleranti al lattosio <ul style="list-style-type: none"> – i batteri presenti idrolizzano il lattosio e completano la loro azione quando ingeriti – quando muoiono dopo ingestione, liberano la beta-galattosidasi che idrolizza il lattosio residuo 	

FIGURA 3.

Schema della tecnologia di preparazione del latte fermentato ottenuto con il ceppo di *Lactobacillus casei* Shirota.



che in bambini, in diverse aree geografiche e in diverse condizioni di salute (Spanhaak 1998, Srinivasan 2006, Tuohy 2007, Bian 2011, Tilley 2014, Utami 2015, Wang 2015, Mai 2017).

La somministrazione di LcS determina nell'intestino un aumento di lattobacilli e bifidobatteri, specie batteriche considerate benefiche (Rao 2009, Bian 2011, Nagata 2011, Pirker 2012, Kato-Kataoka 2016, Motoori 2017), e nel contempo determina una riduzione dei batteri potenzialmente dannosi come *Enterobacteriaceae*, *Streptococchi*, *Stafilococchi*, *Pseudomonas*, *Prevotella* (Shirota 1996, Nagata 2011, Tsuji 2014, Kato-Kataoka 2016, Nagata 2016).

Il microbiota intestinale è generalmente considerato più sano se è prevalentemente saccarolitico, con conseguente produzione di acidi grassi a catena corta, come butirrato, acetato e propionato, che aumentano la motilità intestinale, riducono il pH, forniscono energia per i batteri commensali e per gli enterociti, favoriscono l'assorbimento di minerali, producono vitamine. Al contrario, la fermentazione proteolitica risulta potenzialmente dannosa per la produzione di metaboliti tossici e cancerogeni, come ammoniaca, fenoli, indoli e amine.

LcS ha mostrato un alto profilo di sicurezza nella popolazione generale, con

una storia di oltre 85 anni di consumo, e anche in numerosi studi clinici effettuati in pazienti immunocompromessi e vulnerabili, come pazienti con cirrosi epatica alcolica (Stadlbauer 2008), in ventilazione meccanica a lungo termine (Hayakawa 2012), in donatori di fegato (Eguchi 2010), con cancro alla vescica, alle vie biliari e al colon-retto (Kanazawa 2005, Naito 2008, Sugawara 2006), neonati pretermine con peso molto basso alla nascita (Braga 2011) e bambini in terapia intensiva (Srinivasan 2006). In questi studi non sono stati riportati eventi avversi di rilievo né il trasferimento dei geni di resistenza agli antibiotici nel LcS.

Principali condizioni cliniche con prove di efficacia del LcS

Esiste un'ampia letteratura scientifica relativa a ricerche effettuate con l'utilizzo di LcS, con oltre 400 pubblicazioni e 150 studi condotti sull'uomo a oggi. Nella Tabella I sono riportate le varie condizioni cliniche in cui è stata valutata l'efficacia del LcS in termini preventivi o terapeutici. Di seguito vengono trattate le prove di efficacia di alcune patologie che più frequentemente si incontrano nella pratica clinica della Medicina Generale.

Nell'ambito dei disturbi gastrointestina-

li una quota rilevante di studi sono stati effettuati con l'impiego di LcS nel trattamento della **stipsi**. LcS ha dimostrato di ridurre l'incidenza di feci dure o granulose nella popolazione generale (Sakai 2011). Questo lavoro viene riportato nella linea guida su probiotici e prebiotici della *World Gastroenterology Organisation* del 2017 ⁶. Nei pazienti con stipsi cronica LcS migliora i sintomi gastrointestinali (Koebnick 2003) e il tempo di transito colico (Krammer 2011). LcS ha migliorato l'alvo di 135 anziani residenti in una casa di riposo, riducendo in modo statisticamente significativo sia la stipsi che la diarrea e migliorando la percentuale di pazienti con alvo regolare (van den Nieuwboer 2015) e la stipsi di pazienti con morbo di Parkinson (Cassani 2011). In un recente studio condotto in pazienti cinesi con stipsi cronica secondo i criteri di Roma III, l'uso di LcS per 4 settimane ha ridotto in modo significativo i sintomi correlati alla stipsi, aumentato la frequenza delle defecazioni, migliorato la consistenza delle feci attraverso una modulazione del microbiota intestinale e la produzione di acidi grassi a catena corta ⁷. L'utilizzo dei probiotici è stato classicamente indirizzato a trattare i disturbi gastrointestinali con prevalente diarrea, per cui può risultare concettualmente difficile, anche alla classe medica,

TABELLA I.

Principali aree di ricerca in cui è stato impiegato il *Lactobacillus casei* Shirota⁵.

Disturbi gastrointestinali: stipsi, sindrome dell'intestino irritabile (IBS), malattie infiammatorie intestinali (IBD), intolleranza al lattosio, epatopatie, danno intestinale da farmaci anti-infiammatori non steroidei (FANS)
Malattie infettive: diarrea infettiva, diarrea associata alla terapia antibiotica (AAD) e diarrea associata a <i>Clostridium difficile</i> (CDAD), infezione da <i>Helicobacter pylori</i> , infezioni delle alte vie respiratorie
Malattie metaboliche e rischio cardiovascolare: diabete mellito, resistenza insulinica, ipertensione arteriosa
Asse intestino-cervello: stress, umore, sindrome da fatica cronica
Cancro: colon-retto, vescica, polmone, mammella, cervice uterina, vie biliari e fegato, utero
Sistema immunitario
Miscellanea: patologie della cavità orale, nutrizione enterale, osteoartrite, densità ossea, sport ecc.

trasferire nella pratica clinica i risultati di questi studi di efficacia sulla stipsi. È stato recentemente osservato che LcS migliora la stipsi degli adulti attraverso l'incremento nel colon dell'acido pipercolico⁸.

La gran parte degli studi sul **danno gastrointestinale da FANS** (farmaci antinfiammatori non steroidei), e da ASA a basse dosi, sono stati condotti sulle lesioni gastroduodenali causate dall'uso cronico di questi farmaci, con il conseguente largo impiego degli IPP (Inibitori della Pompa Protonica) ai fini preventivi nei pazienti a rischio. Pochi studi hanno riguardato il danno provocato sull'intestino. Un interessante studio pilota randomizzato e controllato ha valutato l'efficacia di LcS nella prevenzione del danno nel piccolo intestino in 35 pazienti in terapia cronica con ASA a basse dosi e omeprazolo, con anemia di origine sconosciuta⁹. I 13 pazienti trattati con *L. casei*, dopo 3 mesi, hanno mostrato una diminuzione significativa del numero di lesioni dell'intestino tenue rilevate con capsula endoscopica, rispetto ai 12 pazienti di controllo, e un aumento dei livelli sierici di emoglobina che non si è avuto nei controlli. Questi dati necessitano di conferma su numeri più ampi di pazienti

verso placebo e, se confermati, costituirebbero un valido supporto terapeutico per un numero rilevante di pazienti.

Sono stati condotti studi con LcS nella **sindrome dell'intestino irritabile** (Barrett 2008, Thijssen 2015), nel **morbo di Crohn** (Fujimori 2007), nella **colite ulcerosa** (Mitsuyama 2008, Mann 2011, 2014)

Secondo una metanalisi, l'uso dei probiotici, come terapia aggiuntiva agli antibiotici, riduce il rischio di **diarrea associata agli antibiotici** (AAD), con un RR di 0,53 e un NNT di 8, senza nessun evento avverso correlato ai probiotici¹⁰. In uno studio randomizzato controllato condotto in 678 pazienti che dovevano assumere un antibiotico (età media 71 anni), a 340 pazienti è stato somministrato in associazione LcS ($6,5 \times 10^9$ cfu in 65 ml), fino a 3 giorni seguenti la sospensione dell'antibiotico, mentre a 338 pazienti non veniva associato probiotico costituendo il gruppo di controllo. AAD si è verificata in 17/340 (5%) pazienti che assumevano antibiotico + LcS e in 63/338 (18,5%) pazienti con il solo antibiotico ($p < 0,001$). La diarrea associata al *Clostridium Difficile* (CDAD) si è verificata in 1/340 (0,3%) paziente

con antibiotico + LcS e in 21/338 (6,2%) pazienti senza probiotico ($p < 0,001$)¹¹.

Nella **diarrea infettiva**, i probiotici hanno dimostrato ridurre la severità dei sintomi e la durata della diarrea infettiva. In una epidemia di gastroenterite da norovirus, nei pazienti trattati con LcS la durata della febbre è stata di 1,5 giorni, a fronte della durata di 2,9 giorni nel gruppo di controllo ($p = 0,027$)¹².

In relazione alle **infezioni del tratto respiratorio superiore** (URTI), con la somministrazione di LcS per 12 settimane durante la stagione invernale è stata osservata una riduzione significativa dell'incidenza e della durata delle URTI, attraverso la modulazione del sistema immunitario¹³. In un gruppo di atleti con attività fisica di durata, il consumo di LcS per 16 settimane ha ridotto gli episodi di URTI verosimilmente attraverso l'effetto delle IgA salivari, significativamente aumentate rispetto al gruppo placebo¹⁴.

Diversi studi hanno riguardato l'interazione di LcS con l'**asse intestino-cervello** in modelli animali e nell'uomo. Secondo 3 studi in doppio cieco, controllati con placebo, condotti in 140 studenti sani di una facoltà di medicina giapponese, il consumo di LcS nelle 8 settimane precedenti l'esame di stato ha avuto effetti positivi sui disturbi addominali indotti dallo **stress**, sui parametri psicologici (*State Trait Anxiety Inventory score*, STAI) e sui marcatori fisiologici e biochimici di stress (cortisolo salivare, IgA secretorie), sulla qualità del sonno e sulla composizione del microbiota intestinale (Kato-Kataoka 2016, Takada 2016-2017)¹⁵. Sono stati condotti numerosi studi che hanno valutato gli effetti di LcS nelle **malattie metaboliche e cardiovascolari**, ma queste sono aree emergenti di ricerca ed è ancora prematuro il trasferimento di questi risultati nella pratica clinica. Gli effetti metabolici di LcS sono stati studiati in bambini obesi (Nagata 2017), uomini pre-diabetici obesi (Naito 2018), pazienti con diabete tipo

TABELLA II.

Effetti di LcS nella prevenzione della diarrea associata alla terapia antibiotica (AAD) e della diarrea da *Clostridium difficile* (CDAD)¹¹.

	AAD % n		CDAD % n	
Antibiotico + LcS	5	17/340	0,3	1/340
Antibiotico	18,5	63/338	6,2	21/338
	p < 0,001		p < 0,001	

2 (Sato 2017). Uno studio pilota condotto nel Regno Unito ha mostrato effetti benefici sulla glicemia e sulla resistenza insulinica in una popolazione studentesca sana (Hulston 2015). LcS ha avuto un effetto antipertensivo (Nakajima 1995, Watanuki 1999) e, secondo uno studio osservazionale, il rischio di sviluppare ipertensione arteriosa è sostanzialmente più basso in anziani che consumano LcS almeno 3 volte a settimana (Aoyagi 2016). Nell'ambito delle neoplasie, gli studi con LcS vanno dai test di genotossicità a studi epidemiologici retrospettivi e a studi di intervento umano. Sono stati ottenuti risultati clinici positivi nel carcinoma del colon-retto (Ishikawa 2005), della vescica (Aso 1992, 1995), della cervice uterina (Verhoeven 2012), della mammella (Toi 2013), delle vie biliari e del fegato per la riduzione delle infezioni post-operatorie (Eguchi 2010, Kanazawa 2005, Sugawara 2006), del polmone (Masuno 1989, 1991, 1994) e dell'utero (Okawa 1989, 1993). Uno degli studi più significativi è il trial clinico condotto per 4 anni in cui l'utilizzo di LcS in operati di cancro del colon-retto (CRC) ha prodotto una diminuzione significativa dell'insorgenza di CRC con atipia da moderata a grave¹⁵. Come osservato in precedenza, questi risultati nell'ambito delle malattie neoplastiche, pur se positivi, non permettono ancora di dare chiare indicazioni per la pratica clinica quotidiana.

Conflitto di interessi

Gli Autori dichiarano di non aver alcun conflitto di interessi.

Bibliografia

- 1 Joint FAO/WHO Expert Consultation on Evaluation of Health and Properties of Probiotics in Food Including Powder Milk with Live Lactic Acid Bacteria, 2001. Córdoba, Argentina: Oct 1-4, Health and Nutritional Properties of Probiotics in Food Including Powder Milk with Live Lactic Acid Bacteria. doi:10.1201/9781420009613.ch16. <http://www.fao.org/3/a-a0512e.pdf>.
- 2 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.
- 3 www.salute.gov.it/imgs/C_17_publicazioni_1016_allegato.pdf.

Messaggi chiave

1. Il *Lactobacillus casei* Shirota (LcS) è un ceppo probiotico con specifiche caratteristiche.
2. LcS è veicolato in una matrice latte, che ne rappresenta l'ambiente ideale di crescita, sulla quale opera un processo di fermentazione naturale, ottenendo così un latte fermentato contenente almeno 6,5 miliardi di cellule vive in 65 ml.
3. Il latte fermentato con LcS è senza glutine e contiene circa 1 g di lattosio, che lo rende adatto alle persone che ne sono lievemente o moderatamente intolleranti; è privo di effetti collaterali, può essere somministrato a tutti, può essere utilizzato in qualsiasi dieta, addensabile e somministrabile anche per sonda.
4. A differenza dei ceppi batterici contenuti nello yogurt, LcS è un probiotico in quanto capace di resistere ai succhi gastrici e ai sali biliari e di colonizzare l'intestino.
5. La ricerca su LcS ha avuto inizio negli anni Trenta in Giappone ed esiste un'ampia letteratura scientifica (oltre 400 pubblicazioni e 150 studi condotti sull'uomo) che ha documentato gli effetti benefici di LcS in diverse condizioni cliniche.
6. LcS, oltre che per il mantenimento dell'equilibrio del microbiota intestinale in un'ottica preventiva, può essere raccomandato in diverse condizioni cliniche in cui ha dato prova di efficacia come, tra quelle a più elevato impatto nella pratica clinica quotidiana, la stipsi cronica, la prevenzione del danno intestinale da FANS, la prevenzione della diarrea da antibiotici, il trattamento della diarrea infettiva, nelle infezioni delle vie aeree superiori, nello stress e, in prospettiva futura sulla base di ulteriori prove di efficacia, in malattie metaboliche, cardiovascolari e neoplastiche.

4 Pogačić T, Šinko S, Zamberlin S, et al. *Microbiota of kefir grains*. Mljekarstvo 2013;63:3-14.

5 *Lactobacillus casei* Shirota. A summary of the scientific research for healthcare professionals. www.scienceforhealth.it.

6 World Gastroenterology Organisation Global Guidelines. *Probiotics and prebiotics*. February 2017.

7 Chen S, Ou Y, Zhao L, et al. *Differential Effects of Lactobacillus casei Strain Shirota on patients with constipation regarding stool consistency in China*. J Neurogastroenterol Motil 2019;25:148-58.

8 Ou Y, Chen S, Ren F, et al. *Lactobacillus casei strain Shirota alleviates constipation in adults by increasing the pipercolinic acid level in the gut*. Front Microbiol 21 February 2019. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.00324>.

9 Endo H, Higurashi T, Hosono K, et al. *Efficacy of Lactobacillus casei treatment on small bowel injury in chronic low-dose aspirin users: a pilot randomized controlled study*. J Gastroenterol 2011;46:894-905.

10 Videlock EJ, Cremonini F. *Meta-analysis: probiotics in antibiotic-associated diarrhea*. Aliment Pharmacol Ther 2012;35:1355-69.

11 Pirker A, Stockenhuber A, Remely M, et al. *Effects of antibiotic therapy on the gastrointestinal microbiota and the influence*

of Lactobacillus casei. Food Agric Immunol 2012;24:315-30.

12 Nagata S, Asahara T, Ohta T, et al. *Effect of the continuous intake of probiotic-fermented milk containing Lactobacillus casei strain Shirota on fever in a mass outbreak of norovirus gastroenteritis and the faecal microflora in a health service facility for the aged*. Br J Nutr 2011;106:549-56.

13 Shida K, Sato T, Iliuzka R et al. *Daily intake of fermented milk with Lactobacillus casei strain Shirota reduces the incidence and duration of upper respiratory tract infections in healthy middle-aged office workers*. Eur J Nutr 2017;56:45-53.

14 Gleeson M, Bishop NC, Oliveira M, et al. *Daily probiotic's (Lactobacillus casei Shirota) reduction of infection incidence in athletes*. Int J Sport Nutr Exerc Metab 2011;21:55-64.

15 Takada M, Nishida K, Kataoka-Kato A, et al. *Probiotic Lactobacillus casei strain Shirota relieves stress-associated symptoms by modulating the gut-brain interaction in human and animal models*. Neurogastroenterol Motil 2016;28:1027-36.

16 Ishikawa H, Akedo I, Otani T, et al. *Randomized trial of dietary fibre and Lactobacillus casei administration for prevention of colorectal tumours*. Int J Cancer 2005;116:762-7.

L'articolo è open access e divulgato sulla base della licenza "Creative Commons Attribution Non Commercial (CC BY-NC 4.0)", che consente agli utenti di distribuire, rielaborare, adattare, utilizzare i contenuti pubblicati per scopi non commerciali; consente inoltre di realizzare prodotti derivati comunque e sempre solo a fini non commerciali, citando propriamente fonte e crediti di copyright e indicando con chiarezza eventuali modifiche apportate ai testi originali.