



UNIVERSITÀ DEL PIEMONTE ORIENTALE

Dipartimento di Medicina Traslazionale
CORSO DI LAUREA MAGISTRALE
IN SCIENZE INFERMIERISTICHE E OSTETRICHE
Presidente: Prof. Fabrizio Faggiano

TESI DI LAUREA

*“EFFETTO DELL’USO DI PROBIOTICI E PREBIOTICI SUI SINTOMI
DEI PAZIENTI CON INTOLLERANZA AL LATTOSIO”*

Relatore:

Professoressa Flavia Prodám

Correlatore:

Dottorssa Valentina Antoniotti

Candidata: Antonia Caridi

Anno Accademico 2022/2023

Sommario

INTRODUZIONE.....	4
L'INTOLLERANZA AL LATTOSIO	6
Cause e meccanismi:	7
Sintomi:.....	8
Diagnosi:	9
Epidemiologia:.....	11
GESTIONE DEI SINTOMI E CONSIDERAZIONI DIETETICHE.....	12
PREBIOTICI E PROBIOTICI	13
Prebiotici	13
Probiotici.....	14
Probiotici e prebiotici per la salute intestinale.....	16
OBIETTIVO DELLO STUDIO	17
MATERIALI E METODI	17
DEFINIZIONE PICO	17
SELEZIONE DEGLI STUDI.....	18
Criteri di inclusione.....	18
Criteri di esclusione.....	18
Banche dati consultate:	18
STRATEGIA DI RICERCA	18
STRINGHE DI RICERCA.....	19
ANALISI QUALITATIVA DEGLI STUDI	22
RISULTATI.....	22
DISCUSSIONE.....	30
Limiti degli studi.....	32
CONCLUSIONI	34
BIBLIOGRAFIA	35

Abstract

Obiettivo:

Negli ultimi anni, è aumentato l'interesse nell'impiego di probiotici e prebiotici come possibile trattamento di supporto per l'intolleranza al lattosio, rivolgendo particolare attenzione a come possano favorirne la digestione. Questo si verifica attraverso la capacità dei composti di aumentare la presenza di batteri benefici nell'intestino e di ridurre la quantità di lattosio presente nei prodotti fermentati. L'obiettivo di questa revisione della letteratura è quello di valutare se l'assunzione di probiotici o prebiotici per via orale in pazienti affetti da intolleranza al lattosio migliori la sintomatologia gastrointestinale associata alla patologia.

Materiali e metodi:

Per svolgere la revisione è stato definito un PICO con l'obiettivo di caratterizzare:

Popolazione (P), Intervento (I), Controllo (C) ed un Outcome (O):

P = Popolazione di adulti intolleranti al lattosio, I = Uso di probiotici e/o prebiotici, C =Pazienti a cui non vengono somministrati probiotici e/o prebiotici, O =sintomi gastrointestinali. La revisione è avvenuta interrogando le banche dati di Pubmed, Cinhal e Medline Plus.

Risultati:

Tutti gli studi analizzati, anche se con diversi gradi di efficacia, sono concordi nel dire che l'utilizzo di probiotici e prebiotici abbiano influenzato in maniera positiva la sintomatologia legata all'intolleranza al lattosio ed i risultati ottenuti al lactose breath test.

Conclusioni:

I risultati di questa revisione della letteratura propendono a supporto dell'integrazione di probiotici e prebiotici in pazienti affetti da intolleranza al lattosio per ridurre sintomi quali: dolore addominale, diarrea, vomito, gonfiore

e flatulenze. Non sono stati rilevati particolari effetti collaterali, rendendo questo tipo di trattamento sicuro. Rimangono comunque dei limiti relativi agli studi analizzati, pertanto sono indispensabili ulteriori studi a lungo termine per valutare la persistenza degli effetti benefici e le conseguenze della sospensione del trattamento.

INTRODUZIONE

L'intolleranza al lattosio è una patologia caratterizzata dall'incapacità di digerire il lattosio a causa di ridotti o assenti livelli di enzima lattasi. Questa patologia è sempre più diffusa e impatta con sintomi più o meno importanti sulla vita di moltissime persone. Secondo una revisione sistematica pubblicata su Lancet nel 2017, che includeva circa l'84% della popolazione mondiale, la prevalenza di questa malattia è stimata intorno al 68% e colpisce all'incirca due terzi della popolazione. Inoltre, la prevalenza può variare di molto in base al gruppo etnico e alla localizzazione geografica. (1)

La fermentazione del lattosio nel colon produce diossido di carbonio, idrogeno e acidi grassi a corta catena (SCFA), causando sintomi quali dolore e distensione addominale, nausea, diarrea e flatulenze. Questa sintomatologia conduce a una ridotta assunzione di latticini, evento associato a un'alterazione della flora microbica intestinale e ad un aumento dell'incidenza di altre patologie intestinali, quali la sindrome dell'intestino irritabile (IBS) e la malattia infiammatoria cronica intestinale (IBD) (2). Inoltre, i latticini rappresentano una fonte di alta qualità di micronutrienti come calcio, potassio, vitamine B e D; la mancanza di tali elementi nella dieta è correlata a malattie ossee, tra cui fratture ed osteoporosi. (3)(4)

Non esiste concordanza assoluta su un esame considerato "gold standard" per misurare e definire il malassorbimento del lattosio e la valutazione di sensibilità e specificità dei diversi metodi di analisi è impegnativa. Inizialmente, il campionamento di biopsie digiunali era stato proposto come gold standard, ma è stato considerato inaffidabile a causa della distribuzione irregolare dell'attività della lattasi nella mucosa del piccolo intestino. (5) Le

biopsie digiunali sono state quindi sostituite dalla biopsia endoscopica duodenale, soprattutto a causa della loro invasività. Nella pratica clinica, le biopsie sono spesso troppo costose e invasive, per cui il test dell'idrogeno nel respiro o breath test è diventato il metodo più utilizzato.

La dietoterapia è attualmente la terapia più efficace e consiste nell'evitare o ridurre l'assunzione di alimenti contenenti lattosio utilizzando i derivati vegetali o i prodotti delattosati, considerando che questi ultimi, anche se in quantità minime variabili, contengono comunque lattosio e possono quindi causare sintomi in relazione al grado di tolleranza individuale. Inoltre, esistono in commercio dei farmaci composti dall'enzima lattasi (es. Lactojoy, Lactosolution, Digerlat, ecc.) che riducono i sintomi, ma con molte limitazioni, tra le quali l'assunzione del giusto dosaggio in relazione all'alimento assunto e la durata temporale limitata nel tempo.

Nel corso degli ultimi anni è stato rivolto con interesse lo sguardo verso l'utilizzo dei probiotici e dei prebiotici in quanto potenziale terapia di supporto per l'intolleranza. I probiotici sono batteri vivi che si trovano normalmente all'interno della flora gastrointestinale ed esercitano i loro effetti benefici sull'ospite attraverso quattro meccanismi principali: l'interferenza con i potenziali patogeni, il miglioramento della funzione di barriera, si occupano di immunomodulazione e producono neurotrasmettitori che variano dal microbiota residente e comunicano con i componenti cellulari dell'asse intestino-cervello. (6) Si occupano, inoltre, di promuovere la digestione del lattosio grazie alla loro capacità di incrementare la flora intestinale e di ridurre la concentrazione di lattosio nei prodotti fermentati.

I prebiotici sono stati descritti come "un ingrediente alimentare non digeribile che influisce positivamente sull'ospite stimolando selettivamente la crescita e/o l'attività di uno o di un numero limitato di batteri nel colon, migliorando così la salute dell'ospite" (7). Dato il potenziale metabolico codificato nei geni ospitati dal nostro microbiota intestinale, molti ricercatori stanno iniziando a considerare il nostro microbiota come un ulteriore organo del corpo umano. In effetti, i microbi intestinali sono coinvolti nella normale fisiologia

dell'apparato digerente e nelle alterazioni, possono interrompere le interazioni benefiche tra microbiota e ospite, con un effetto diretto sulla salute umana (8).

L'INTOLLERANZA AL LATTOSIO

L'intolleranza al lattosio è una condizione caratterizzata dall'incapacità dell'organismo di scindere il lattosio nei due monosaccaridi che lo compongono, ossia glucosio e galattosio (uno zucchero presente nel latte e nei prodotti caseari). Sebbene l'intolleranza al lattosio in età adulta non sia una condizione pericolosa per la vita, può avere un impatto significativo sulla vita quotidiana e sulle scelte alimentari di un individuo. Esistono diversi termini per descrivere lo status di digestione del lattosio, elencati nella tabella 1 (9)

Tabella 1

TERMINE	DEFINIZIONE
Persistenza della lattasi (LP)	Un tratto genetico dominante di solito associato a livelli elevati e continui di produzione di lattasi in età adulta.
Non persistenza della lattasi (LNP)	Un tratto genetico recessivo associato a una diminuzione della lattasi intestinale a < 10 u/g di tessuto tra la fine dello svezzamento e l'età adulta.
Deficit di lattasi (LD)	Riduzione dell'enzima lattasi intestinale per qualsiasi causa, sia genetica (LNP) che secondaria, come malattie o lesioni della mucosa prossimale dell'intestino tenue.
Mal digestione del lattosio (LM)	Incapacità di digerire il lattosio per qualsiasi motivo, LNP primaria, ma anche cause secondarie. I test più comuni per la carenza di lattasi sono in realtà per la LM.

Intolleranza al lattosio (LI)	Sintomi avversi derivanti dall'ingestione di lattosio, tra cui flatulenze, gas, gonfiore, crampi, diarrea e, raramente, vomito. La LI può manifestarsi senza LM.
LI auto-riferita (SRLI)	Persone che si ritengono intolleranti al lattosio senza aver effettuato il test per la LM. Caratteristiche psicologiche possono giocare un ruolo nell'evitamento del latte.
Sensibilità al lattosio (LS)	Sintomi avversi con o senza sintomi di LI e che possono includere anche depressione, cefalea e affaticamento, con o senza LM. I sintomi della LS possono sovrapporsi alla sindrome dell'intestino irritabile.

Cause e meccanismi:

La causa principale dell'intolleranza al lattosio risiede nell'insufficiente produzione di lattasi, l'enzima responsabile dell'idrolisi dei monosaccaridi del lattosio. L'intolleranza al lattosio può essere congenita, una rara condizione genetica, o acquisita, sviluppandosi spesso più tardi nella vita a causa di una diminuzione della produzione di lattasi.

A partire dall'ottava settimana di gestazione, l'attività della lattasi può essere rilevata sulla superficie mucosa dell'intestino. L'attività aumenta fino alla 34a settimana e raggiunge il suo picco alla nascita. La capacità di digerire il lattosio durante il periodo dell'allattamento al seno è essenziale per la salute e lo sviluppo del neonato e il latte materno viene digerito dai neonati di tutte le razze ed etnie umane ad eccezione di una rara assenza congenita dell'enzima intestinale lattasi. Tuttavia, dopo i primi mesi di vita, l'attività della lattasi inizia a diminuire. Gli esseri umani sono gli unici mammiferi che consumano il latte di altri animali, infatti con lo svezzamento e l'introduzione di alimenti solidi nella dieta del bambino, l'assunzione di latte materno diminuisce e l'organismo inizia a regolare la produzione di lattasi in risposta alla minore richiesta di

digerire il lattosio. In molti individui, questa riduzione dell'attività della lattasi prosegue fino a livelli non rilevabili nell'età adulta, un fenomeno noto come "lattasi non persistenza". Tuttavia, va notato che la velocità e l'estensione della diminuzione dell'attività della lattasi possono variare considerevolmente tra le persone e possono essere influenzate da fattori genetici, ambientali e dietetici. (10)

Il declino dell'attività della lattasi nell'età adulta è quindi un aspetto fisiologico e la maggior parte degli adulti nel mondo diventa naturalmente intollerante al lattosio nel corso del tempo. Tuttavia, nei casi in cui l'attività della lattasi persista, è possibile continuare a godere dei benefici nutrizionali dei prodotti lattiero-caseari anche in età adulta.

Per coloro che mantengono livelli significativi di attività della lattasi nell'età adulta, si parla di "persistenza della lattasi". Questo tratto è più comune nelle popolazioni in cui storicamente il latte animale è stato parte importante della dieta, poiché la persistenza della capacità di digerire il lattosio avrebbe fornito un vantaggio adattativo. Tuttavia, è interessante notare che l'emergere della persistenza della lattasi è un evento relativamente recente nella storia evolutiva umana, verificatosi solo negli ultimi 7.500-10.000 anni, in concomitanza con lo sviluppo dell'agricoltura e dell'allevamento del bestiame. (11)

In conclusione, l'impatto della digestione e della mal digestione del lattosio negli esseri umani è un argomento multifattoriale che coinvolge aspetti biologici, evolutivi e culturali. La comprensione di come e perché alcuni individui sviluppano la persistenza della lattasi è fondamentale per comprendere la diversità genetica e le abitudini alimentari delle popolazioni umane in tutto il mondo.

Sintomi:

I sintomi comuni dell'intolleranza al lattosio includono gonfiore, gas, diarrea e dolore addominale. Occasionalmente anche nausea e vomito. Questi sintomi insorgono quando il lattosio non digerito fermenta nel colon, provocando la

produzione di gas e causando distensione e malessere. La gravità dei sintomi varia da individuo a individuo ed è influenzata da fattori quali l'età, l'etnia e la quantità di lattosio consumata. Questi sintomi, sono in grado di influenzare la vita sociale e le scelte alimentari di un individuo, con conseguenze più o meno gravi.

Diagnosi:

La diagnosi di intolleranza al lattosio prevede una combinazione di valutazione clinica ed esami di laboratorio. Esistono attualmente diversi tipi di test eseguibili, con vantaggi e svantaggi ad essi correlati. L'analisi genetica può individuare specifiche mutazioni genetiche correlate all'intolleranza al lattosio. Tuttavia, anche nel caso in cui il test genetico risultasse positivo per la non persistenza della lattasi, si limiterebbe a indicare una riduzione dell'attività dell'enzima, senza fornire dettagli sui sintomi effettivamente manifestati dal paziente. (12)

Tra le diverse metodologie utilizzate per la diagnosi del malassorbimento del lattosio abbiamo:

- **Biopsie intestinali.** L'esame considerato "gold standard" per la diagnosi dell'ipolattasia nell'adulto è la misurazione delle attività del lattosio, della saccarasi e della maltasi e la successiva determinazione del rapporto lattosio: saccarasi (L:S) nelle biopsie intestinali. Tuttavia effettuando un'analisi costo-beneficio sembra essere un esame troppo invasivo per la diagnosi di una condizione così lieve e i suoi risultati potrebbero essere influenzati dalla disseminazione irregolare dell'attività lattasica lungo la mucosa dell'intestino tenue. (13)
- **Test di tolleranza al lattosio (LTT):** In questo test, il paziente assume 50 g di lattosio sciolto in acqua. Campioni di sangue capillare per testare la concentrazione di glucosio plasmatico vengono prelevati a -5, 0, 15, 30, 45 e 60 minuti. La media delle determinazioni a -5 e 0 minuti viene utilizzata come concentrazione di glucosio pre-test. Il glucosio viene misurato nel sangue intero calibrato sul plasma. Un aumento del glucosio plasmatico di 1,4 mmol/L o superiore indica

tolleranza al lattosio. La digestione del lattosio determina l'innalzamento della glicemia; l'assenza di tale aumento indica un fallimento e quindi una positività al test.

- **Test rapido del lattosio (QLT):** Un metodo nuovo, sviluppato negli ultimi anni per la diagnosi endoscopica dell'ipolattasia nell'adulto. Questo test si basa su una reazione colorimetrica che si sviluppa incubando un campione della biopsia endoscopica del duodeno post-bulbare con del lattosio su una piastra. La reazione colorimetrica si sviluppa entro 20 minuti dopo l'idrolisi del lattosio nei pazienti con normolattasia (risultato positivo), mentre nessuna reazione si sviluppa nei pazienti con severa ipolattasia (risultato negativo). Il QLT test identifica efficacemente i pazienti con ipolattasia duodenale grave e i risultati dei test hanno mostrato una sensibilità ed una specificità dei risultati del 100% (14). Il QLT sembra inoltre essere in grado di identificare il sottogruppo di pazienti con ipolattasia con bassa produzione di H₂, che non vengono comunemente rilevati dal HBT, risultando anche più semplice e meno costoso rispetto ai test genetici. (15)
- **Il test del respiro al lattosio (Lactose Breath Test, LBT)** rappresenta un test indiretto per il malassorbimento del lattosio ed è comunemente considerato la tecnica più affidabile, non invasiva ed economica. In base a diversi studi, il LBT mostra una buona sensibilità (valore medio del 77,5%) e un'eccellente specificità (valore medio del 97,6%) (13,16). Campioni di aria endo-alveolare vengono raccolti prima della somministrazione di 25 g di lattosio e ogni 30 minuti per 4 ore, utilizzando un sistema a due confezioni. I campioni vengono poi analizzati immediatamente per l'idrogeno utilizzando un modello di cromatografo a gas a sensore solido. I risultati sono espressi in parti per milione (p.p.m.) ed il test viene considerato positivo per il malassorbimento del lattosio quando si registra un aumento del valore di H₂ maggiore di 20 p.p.m. rispetto al valore di base.

Epidemiologia:

Il malassorbimento del lattosio è diffuso nella maggior parte del mondo, con tassi di prevalenza variabili tra le diverse popolazioni e, in diversa misura, anche all'interno dei singoli paesi. La frequenza complessiva stimata del malassorbimento del lattosio è di circa due terzi della popolazione mondiale. Alcuni paesi, come il Canada e l'Australia, presentano una grande variazione interna tra le popolazioni native e altri gruppi. Questo è probabilmente legato allo sviluppo preferenziale della persistenza della lattasi durante gli ultimi 5.000-10.000 anni, in particolare nelle aree in cui il bestiame domestico è stato storicamente importante. Questo è stato, in particolare, il caso nel nord Europa e in alcune altre regioni (compresi diversi popoli nomadi), dove i prodotti lattiero-caseari sono diventati un componente chiave della dieta, contribuendo quindi a una pressione evolutiva per sviluppare la capacità di digerire il lattosio. (17)

In Italia la prevalenza del malassorbimento primario dell'adulto nel lattosio varia tra le varie aree geografiche, con un numero maggiore nel nord Italia (52%), seguito dalle aree del sud (41%) e infine del centro (19%). Anche se ulteriori studi devono essere eseguiti utilizzando più eterogeneità nella scelta dei campioni dalle varie regioni.

La storia dell'Italia ha prodotto un mosaico di popolazioni con vari gradi di mescolanza di gruppi etnici provenienti dal nord Europa, dove prevale l'assorbimento del lattosio, e dall'area mediterranea, dove esistono alte frequenze di ipolattasia. La bassa prevalenza del malassorbimento del lattosio riscontrata nel campione del centro Italia, secondo l'ipotesi culturale-storica, suggerisce che le persone in questa regione sono discendenti da una popolazione con una cultura pastorale o agro-pastorale mista. (18)

GESTIONE DEI SINTOMI E CONSIDERAZIONI DIETETICHE

Sebbene non esista una cura per l'intolleranza al lattosio, i soggetti che ne soffrono possono gestire efficacemente la condizione attraverso modifiche della dieta. In base al grado di intolleranza, la maggior parte delle persone può tollerare piccole quantità di lattosio senza accusare sintomi gravi.

Un consumo regolare e crescente sembra ridurre i sintomi gastrointestinali derivanti dall'adattamento batterico nel colon, probabilmente grazie all'aumento dell'attività della beta-galattosidasi nelle feci, tuttavia, i risultati sono ancora contrastanti. (19)

Per tale ragione limitare il consumo di lattosio con la riduzione dell'assunzione di alimenti e bevande che lo contengono è il modo più diretto per gestire l'intolleranza. Ciò include in maniera diretta latte, formaggi, yogurt e altri prodotti lattiero-caseari, ma con l'aumento dei cibi processati il lattosio può essere trovato anche all'interno di alimenti che normalmente non lo contengono. Infatti, grazie alle sue caratteristiche ed al suo costo ridotto, viene utilizzato in diverse preparazioni industriali come colorante, dolcificante, emulsionante e conservante anche in prodotti non legati al mondo caseario. Tra i prodotti più diffusi che possono contenerlo troviamo anche moltissimi farmaci, all'interno dei quali viene utilizzato come eccipiente.

Esistono degli integratori di lattasi, disponibili in diverse formulazioni quali compresse o gocce e possono essere assunti prima di consumare alimenti contenenti lattosio. Questi integratori forniscono l'enzima lattasi che manca nel corpo, aiutando a digerire il lattosio in modo più efficiente, ma hanno delle limitazioni legate alla tolleranza individuale, alla durata temporale ridotta e alla difficoltà a rapportare la quantità di lattosio assunta con la quantità di enzima da assumere.

Nel corso degli ultimi anni è aumentata sul mercato la disponibilità di numerosi prodotti lattiero-caseari già trattati con l'enzima lattasi o privi di lattosio. Esistono inoltre numerose alternative vegetali ai prodotti lattiero-caseari tradizionali, come il latte di mandorla, il latte di soia, il latte di cocco e il latte

di riso e sono ancora in aumento le alternative di bevande vegetali che simulano per consistenza e gusto il latte e i suoi derivati. Queste opzioni sono sempre prive di lattosio e possono essere utilizzate come sostituti nei pasti e nelle ricette.

PREBIOTICI E PROBIOTICI

Prebiotici

La definizione più utilizzata per definire i prebiotici è quella fornita da Gibson e Roberfroid nel 1995: "un ingrediente alimentare non digeribile che agisce in modo benefico sull'ospite stimolando in modo selettivo la crescita e/o l'attività di uno o di un numero limitato di batteri nel colon." (20)

Il concetto di selettività è considerato centrale quando parliamo di prebiotici; poiché a differenza delle fibre, i prebiotici come frutto-oligosaccaridi e galatto-oligosaccaridi stimolano principalmente la proliferazione di *Lactobacillus* e *Bifidobacterium*. Ciò ha importanti implicazioni cliniche poiché la selettività contrasta la promozione di potenziali patogeni o di microrganismi produttori di gas, che potrebbero causare effetti indesiderati.

Il concetto di selettività è stato messo successivamente in discussione, infatti è stata proposta una definizione alternativa di prebiotico come; "un composto non digeribile che, attraverso la sua metabolizzazione da parte dei microrganismi nell'intestino, modula la composizione e/o l'attività del microbiota intestinale, conferendo così un effetto fisiologico benefico all'ospite." In tal modo, è stata abbandonata l'esigenza di selettività e specificità ed espanso il concetto di metabolismo oltre la fermentazione. In sostegno a ciò, attirano l'attenzione sulla dimostrazione di effetti potenzialmente benefici i prebiotici non dipendenti dalla fermentazione. È stato inoltre proposto che non solo i carboidrati, ma anche altri macronutrienti possano agire come prebiotici. Infatti, sono stati aggiunti alla lista usuale i seguenti candidati prebiotici: "amido resistente, pectina, arabinoxilano, cereali integrali, varie fibre alimentari e non carboidrati che agiscono attraverso una modulazione del microbiota intestinale." (21)

Probiotici

Il Ministero della salute definisce i probiotici come: “microrganismi che si dimostrano in grado, una volta ingeriti in adeguate quantità, di esercitare funzioni benefiche per l'organismo.” E per alimenti/integratori con probiotici: “si intendono quegli alimenti che contengono, in numero sufficientemente elevato, microrganismi probiotici vivi e attivi, in grado di raggiungere l'intestino, moltiplicarsi ed esercitare un'azione di equilibrio sulla microflora intestinale mediante colonizzazione diretta. Si tratta quindi di alimenti in grado di promuovere e migliorare le funzioni di equilibrio fisiologico dell'organismo attraverso un insieme di effetti aggiuntivi rispetto alle normali attività nutrizionali.”

Recentemente, un altro panel dell'ISAPP (International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics) ha riesaminato il termine probiotico e si è espresso a favore del mantenimento della definizione dell'Organizzazione per l'Alimentazione e l'Agricoltura dell'Organizzazione Mondiale della Sanità. (22)

Sono state elencate 4 categorie di composti o prodotti contenenti microrganismi vivi e sono destinati all'uso umano, e hanno affrontato le loro implicazioni normative:

1) Coltura vivente o attiva

Questi prodotti, come gli yogurt, contengono colture vive e attive, ma, a meno che non venga fornita prova che conferiscono un beneficio per la salute (cosa che alcuni fanno), questa dicitura non dovrebbe essere interpretata come un'attività probiotica.

2) Probiotico in cibo o integratore senza una rivendicazione di salute specifica

Tali prodotti dichiarano di "contenere probiotici". Devono essere sicuri e fornire prove di un beneficio generale per la salute umana. In alcune giurisdizioni, l'uso del termine "probiotico" è stato considerato come una rivendicazione di salute implicita (basata sulle precedenti definizioni di

probiotico) e, quindi, vietato in assenza di prove accettabili di un beneficio per la salute.

3) Probiotico in cibo o integratore con una rivendicazione specifica di salute

Questa categoria richiede che il prodotto abbia dimostrato prove convincenti di una specifica azione sulla salute, come "rafforzare le difese naturali del corpo". Ad esempio, in Europa, l'Autorità Europea per la Sicurezza Alimentare richiede le seguenti prove a sostegno di una rivendicazione di salute:

- a. Caratterizzazione del ceppo o di ciascuno dei ceppi in un mix o combinazione probiotica.
- b. Identificazione della relazione di salute considerata come un effetto fisiologico benefico per la popolazione target (cioè, la popolazione generale o una sua parte definita).
- c. Dimostrazione degli effetti sulla popolazione sana

4) Farmaco probiotico

Qui il probiotico viene utilizzato per trattare o prevenire una malattia specifica. Negli Stati Uniti e altrove, è ora categorizzato come un farmaco (definito come un articolo destinato all'uso nella diagnosi, cura, mitigazione, trattamento o prevenzione di malattie) e deve soddisfare tutti i requisiti normativi per essere approvato come tale.

Probiotici e prebiotici per la salute intestinale

I prebiotici e i probiotici svolgono un ruolo cruciale nel mantenimento della salute intestinale e possono avere implicazioni significative per coloro che soffrono di intolleranze o allergie alimentari, ma anche riguardo le malattie che generalmente colpiscono il bordo spazzolato intestinale (ad esempio, la malattia celiaca, la giardiasi, il sovraccrescimento batterico, la gastroenterite virale, la radioterapia e altre) che possono portare a una mal digestione secondaria del lattosio. (10) I prebiotici sono sostanze non digeribili che favoriscono la crescita e l'attività dei batteri benefici nell'intestino, agendo come "cibo" per i batteri probiotici, incoraggiando la proliferazione e il mantenimento di un ambiente intestinale favorevole. I probiotici invece sono ceppi di batteri che possono conferire benefici alla salute quando consumati in quantità adeguate. Questi microrganismi possono aiutare a riequilibrare la flora intestinale, promuovere una migliore digestione e assorbimento dei nutrienti e supportare il sistema immunitario. Inoltre, i prebiotici e i probiotici possono contribuire a ridurre l'infiammazione intestinale e a rafforzare la barriera intestinale, fornendo un ulteriore beneficio per coloro che lottano con intolleranze alimentari e condizioni correlate ad alterazioni intestinali.

Esistono molte specie di probiotici ed è generalmente accettato che non tutti siano uguali e che la loro efficacia possa dipendere dal diverso ceppo di appartenenza o dalla combinazione di probiotici differenti. Ci sono buone evidenze a supporto dell'efficacia di diversi probiotici in alcune delle più comuni malattie gastrointestinali, ad esempio l'uso di *S. boulardii* e dei LABs e della combinazione dei due per la diarrea associata all'uso di antibiotici (23). Inoltre altri studi mostrano come i probiotici riducano la durata dei sintomi nella diarrea infettiva acuta e siano efficaci quanto la terapia standard (mesalazina) nell'indurre o mantenere la remissione della rettocolite ulcerosa o nel morbo di Crohn. (24)

I probiotici possono svolgere un ruolo importante anche nella prevenzione e nel trattamento di tutti i tipi di allergie alimentari, andando ad influire anche

sulla risposta immunitaria causata dalle allergie. Il primo obiettivo è capire la funzione di particolari batteri nell'intestino in relazione alle allergie alimentari e quale tipo di probiotici sia più benefico, in secondo luogo, ampliare lo studio clinico dei probiotici sui disturbi metabolici per investigare specificamente gli effetti dei probiotici sull'asse cervello-intestino dell'ospite, scegliere i probiotici dominanti come materiale di base per gli integratori probiotici e quindi determinare come questi integratori probiotici migliorino la salute, se abbiano lo stesso effetto sulle allergie alimentari in tutte le fasce d'età e se diversi ceppi abbiano effetti diversi nel trattamento delle allergie alimentari. (25)

OBIETTIVO DELLO STUDIO

Alla luce delle precedenti evidenze scientifiche e plausibilità biologiche, questo elaborato si pone l'obiettivo di effettuare una revisione della letteratura per riuscire a comprendere se ci sia, e in che misura essa si manifesti, una correlazione sulla sintomatologia dell'intolleranza al lattosio attraverso l'uso di probiotici e prebiotici.

MATERIALI E METODI

Per effettuare questa revisione è stato utilizzato il modello PRISMA (Preferred Reporting Items for Systematic reviews and Meta-Analyses) (26)

DEFINIZIONE PICO

In relazione all'obiettivo, è stata utilizzata una metodologia PICO:

P (Popolazione) = Popolazione di adulti intolleranti al lattosio

I (Intervento) = Uso di probiotici e/o prebiotici

C (Comparazione) = Pazienti a cui non vengono somministrati probiotici e/o prebiotici

O (Outcome) = sintomi gastrointestinali

SELEZIONE DEGLI STUDI

Sono stati poi selezionati alcuni criteri di inclusione ed esclusione degli studi:

Criteri di inclusione

- Studi randomizzati controllati
- Studi che trattano pazienti adulti intolleranti al lattosio
- Studi che includono il trattamento con probiotici/ prebiotici

Criteri di esclusione

- Tutti gli studi clinici che trattano l'intolleranza al lattosio con altri metodi (farmaci/dieta)
- Tutti gli studi clinici che associano l'intolleranza ad altre patologie e non hanno come outcome la funzionalità di probiotici o prebiotici.
- Studi rivolti a popolazione pediatrica

Banche dati consultate:

Pubmed, Cinhal e Medline Plus.

STRATEGIA DI RICERCA

La ricerca è stata effettuata su PUBMED nel mese di Settembre ed ha prodotto 153 risultati. Sono stati poi applicati i filtri "Free full text e abstract available" con l'ottenimento di 46 risultati. Sono stati applicati i criteri di esclusione elencati al punto 3.7 e al termine sono stati ritenuti adeguati e analizzati 3 articoli. Successivamente è stato usato il database EBSCO per cercare gli articoli su banche dati quali MEDLINE e CINHAL. La stringa di ricerca utilizzata in questo caso è la seguente: "Lactose intolerance OR lactose digestion OR lactose intolerant AND prebiotics OR probiotics OR lactobacillus" ed ha portato all'ottenimento di un ulteriore studio ottenuto dal database MEDLINE. È stata inoltre effettuata una ricerca manuale che ha portato all'inserimento di un ulteriore articolo tratto dal Journal of Functional Foods. Tutti gli studi ottenuti sono stati inseriti all'interno della tabella n° 2

Parole chiave

- Lactose intolerance
- Intolerance
- Lactose
- Alactasia
- Hypolactasia
- Lactose Malabsorption
- Malabsorption
- Probiotics
- Prebiotics
- beneficial bacteria
- lactobacillus
- Lactose intolerance symptoms
- Bloating
- Flatulence
- Diarrhea
- gastric distress
- dyspepsias

STRINGHE DI RICERCA

P= INTOLLERANTI AL LATTOSIO

("Lactose intolerance"[MeSH Terms] OR "Lactose intolerance"[Text Word] OR "Intolerance"[Text Word] OR "Lactose"[Text Word] OR "Alactasia"[Text Word] OR "Hypolactasia"[Text Word] OR "Lactose Malabsorption"[Text Word] OR "Malabsorption"[Text Word])

I= USO DI PROBIOTICI E PREBIOTICI

("Probiotics"[MeSH Terms] OR "Probiotics"[Text Word] OR "probiotic"[Text Word] OR "Prebiotics"[MeSH Terms] OR "Prebiotics"[Text Word] OR "prebiotic"[Text Word] OR "beneficial bacteria"[Text Word] OR "lactobacillus"[MeSH Terms] OR "lactobacillus"[Text Word])

O= SINTOMI GASTROINTESTINALI

("Lactose intolerance symptoms"[Text Word] OR "bloating"[Text Word] OR ("flatulence"[MeSH Terms] OR "flatulence"[All Fields] OR "flatulency"[All Fields] OR "flatulent"[All Fields]) OR "diarrhea"[MeSH Terms] OR "diarrheas"[Text Word] OR "gastric distress"[Text Word] OR "dyspepsias"[Text Word])

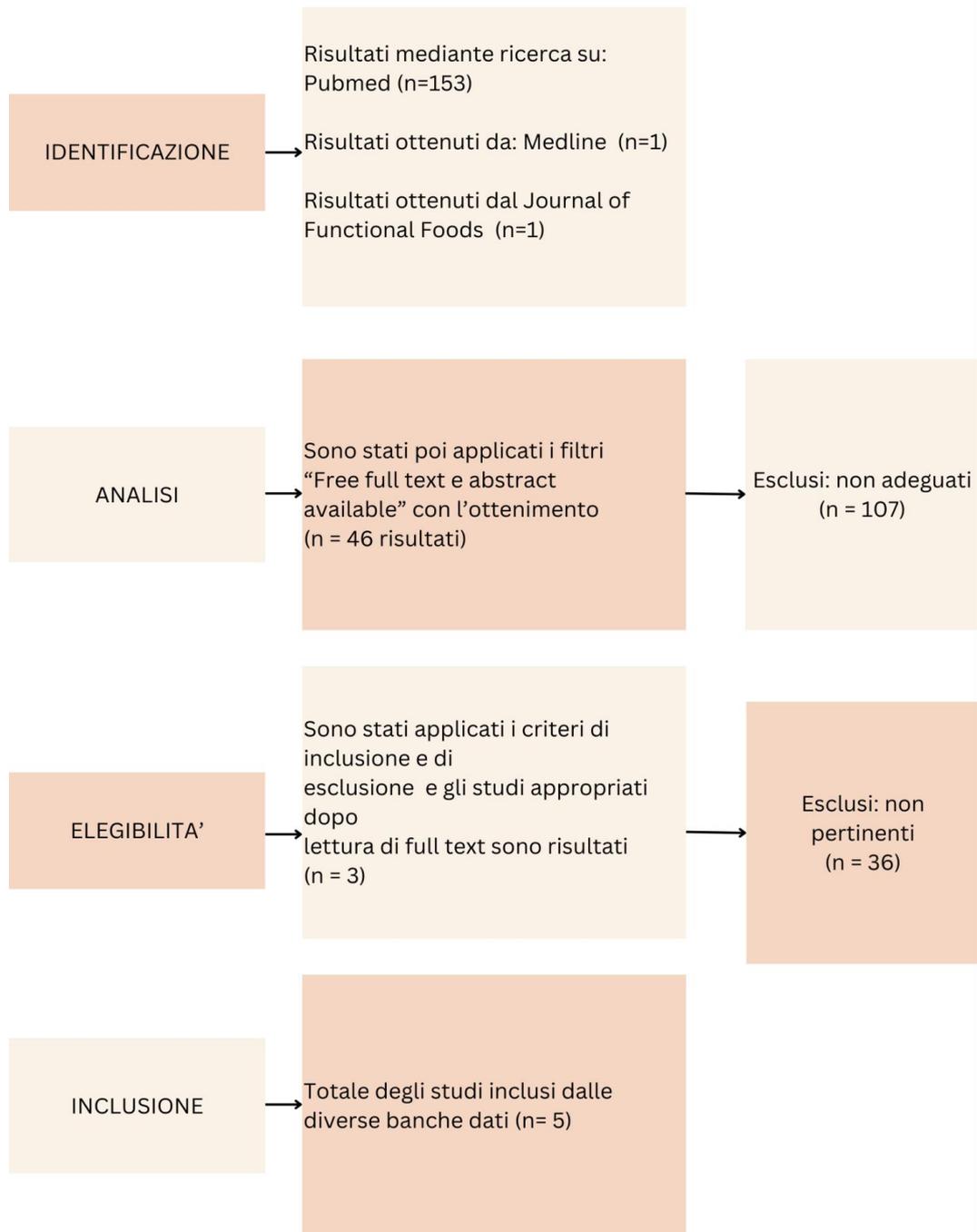
La **stringa finale**, unita con l'utilizzo dell'operatore booleano AND è la seguente:

("Lactose intolerance"[MeSH Terms] OR "Lactose intolerance"[Text Word] OR "Intolerance"[Text Word] OR "Lactose"[Text Word] OR "Alactasia"[Text Word] OR "Hypolactasia"[Text Word] OR "Lactose Malabsorption"[Text Word] OR "Malabsorption"[Text Word]) AND ("Probiotics"[MeSH Terms] OR "Probiotics"[Text Word] OR "probiotic"[Text Word] OR "Prebiotics"[MeSH Terms] OR "Prebiotics"[Text Word] OR "prebiotic"[Text Word] OR "beneficial bacteria"[Text Word] OR "lactobacillus"[MeSH Terms] OR "lactobacillus"[Text Word]) AND ("Lactose intolerance symptoms"[Text Word] OR "bloating"[Text Word] OR ("flatulence"[MeSH Terms] OR "flatulence"[All Fields] OR "flatulency"[All Fields] OR "flatulent"[All Fields]) OR "diarrhea"[MeSH Terms] OR "diarrheas"[Text Word] OR "gastric distress"[Text Word] OR "dyspepsias"[Text Word])

Filtri e limiti impostati

Free full text e abstract available

Il processo di selezione e inclusione degli studi viene mostrato di seguito. A tutti gli studi ottenuti sono stati applicati i criteri di inclusione e di esclusione precedentemente citati ottenendo così 5 studi che sono stati analizzati.



ANALISI QUALITATIVA DEGLI STUDI

Per valutare la qualità generale degli studi inclusi è stata utilizzata la JADAD scale (27)

La scala è composta da cinque criteri e i punti vengono assegnati come segue:

- Lo studio è stato descritto come randomizzato? (1 punto per il sì, 0 punti per il no)
- Il metodo utilizzato per generare la sequenza di randomizzazione era descritto e appropriato? (1 punto per il sì, 0 punti per il no)
- Lo studio è stato descritto come in doppio cieco? (1 punto per sì, 0 punti per no)
- Il metodo del doppio cieco è stato descritto e appropriato? (1 punto per sì, 0 punti per no)
- Sono stati descritti i ritiri e gli abbandoni? (1 punto per sì, 0 punti per no)

Il punteggio totale varia da 0 a 5, e un punteggio più alto indica una migliore qualità metodologica.

- Lo studio Savaiano, D. ha ottenuto un punteggio di 3 punti (1,0,1,0,1)
- Lo studio Pakdaman, M. ha ottenuto un punteggio di 4 punti (1,0,1,1,1)
- Lo studio Vitellio, P. ha ottenuto un punteggio di 3 punti (1,1,1,0,0)
- Lo studio Roškar, I. ha ottenuto un punteggio di 3 punti (1,0,1,1,0)
- Lo studio Ojetti, V. ha ottenuto un punteggio di 3 punti (1,1,0,0,1)

RISULTATI

La revisione della letteratura ha portato a valutare l'utilizzo di probiotici e prebiotici nell'intolleranza al lattosio in relazione ai sintomi gastrointestinali. Dopo l'analisi dei criteri di inclusione ed esclusione sono stati analizzati 5 studi che comprendevano 250 pazienti totali.

Il primo studio analizza l'uso di un nuovo galatto-oligosaccaride (RP-G28) su 85 soggetti grazie al quale si è osservato un miglioramento della digestione del lattosio e dei sintomi associati all'intolleranza al lattosio. Le conclusioni dello studio mettono in luce una significativa riduzione del dolore addominale dopo il trattamento con RP-G28. Questo dato è di particolare rilievo poiché il dolore addominale è spesso il principale sintomo scatenante degli altri sintomi correlati all'intolleranza al lattosio, derivante dalla stimolazione nervosa causata dalla distensione dell'apparato gastrointestinale. (28)

Il secondo studio esamina gli effetti del *Lactobacillus acidophilus* sui sintomi dell'intolleranza al lattosio sui 38 pazienti selezionati. I risultati di questa ricerca hanno dimostrato che il ceppo DDS-1 di *Lactobacillus acidophilus* è sicuro da consumare e ha portato a un miglioramento del punteggio dei sintomi addominali, in particolare per quanto riguarda la diarrea, i crampi e il vomito dopo l'assunzione di lattosio. (29)

Il terzo esperimento valuta gli impatti dell'utilizzo combinato di *Bifidobacterium longum* BB536 e *Lactobacillus rhamnosus* HN001 insieme alla vitamina B6 sui sintomi, sul microbiota intestinale e sul profilo metabolico in un gruppo di 23 pazienti con disturbi gastrointestinali funzionali persistenti, che seguono una dieta priva di lattosio e con diagnosi di intolleranza al lattosio. Questa ricerca dimostra come il trattamento con probiotici e vitamina B6 possa risultare benefico nel mitigare i sintomi gastrointestinali e i disturbi funzionali attraverso un'ottimizzazione positiva della composizione microbica intestinale. (30)

Il quarto studio valuta gli effetti di un prodotto probiotico contenente *Bifidobacterium animalis* subsp. *animalis* IM386 e *Lactobacillus plantarum* MP2026 su 44 individui intolleranti al lattosio. La conclusione dello studio suggerisce che la combinazione di questi ceppi probiotici abbia mostrato potenziale nell'alleviare alcuni sintomi gastrointestinali nei soggetti intolleranti al lattosio. I risultati hanno indicato un miglioramento tendenziale dei sintomi dopo il periodo di trattamento in entrambi i gruppi, tuttavia, le

differenze tra il gruppo probiotico e il gruppo placebo non hanno raggiunto una significatività statistica. (31)

Il quinto ed ultimo studio si pone lo scopo di valutare l'effetto dell'integrazione con tilattasi o *Lactobacillus reuteri* rispetto al placebo sull'escrezione di idrogeno nel respiro e sui sintomi gastrointestinali durante il breath test (H₂-LBT) nei 60 pazienti intolleranti al lattosio che sono stati selezionati. Le conclusioni di questo studio indicano che sia il tilattasi (un enzima esogeno) che il *Lactobacillus reuteri* sono risultati efficaci nel trattamento dell'intolleranza al lattosio. Si è osservato che l'efficacia del tilattasi è stata più marcata rispetto a quella del *L. reuteri*. Tuttavia, la variabilità nei livelli di carenza di enzimi lattasici tra i pazienti intolleranti al lattosio potrebbe spiegare la risposta inferiore al *L. reuteri* rispetto al tilattasi. (32)

La sintesi completa degli studi è stata inserita nelle seguenti tavole sinottiche

Tabella 2

AUTORI	OBIETTIVI	METODO DI STUDIO	PARTECIPANTI	OUTCOME OSSERVATI	INTERVENTO	RISULTATI	CONCLUSIONI
Dennis A Savaiano, Andrew J Ritter, Todd R Klaenhamer, Gareth M James, Amy T Longcore, Justin R Chandler, W Allan Walker, Howard L Foyt	Miglioramento della digestione del lattosio e dei sintomi legato all'intolleranza al lattosio grazie ad un nuovo galatto-oligosaccaride (RP-G28)	Trial clinico randomizzato in doppio cieco.	Sono stati inclusi adulti di età compresa tra 18 e 64 anni, con storia attuale o recente di intolleranza ai latticini durata almeno 1 mese. Per confermare l'intolleranza al lattosio i soggetti sono stati sottoposti al breath test con 25gr di lattosio. Sono stati selezionati 395 soggetti, 310 sono stati esclusi e 85 sono stati randomizzati tra la terapia ed il placebo.	Gli outcome principali studiati sono la riduzione della produzione di idrogeno dopo assunzione di RP-G28 e la conseguente riduzione dei sintomi legati all'intolleranza.	È stata somministrata al gruppo di controllo una quantità precisa di RP-G28, in quantità via via maggiore (da 1.5 gr a 15 gr), mentre al gruppo placebo è stato somministrato uno sciroppo di consistenza e dolcezza simile	All'Hydrogen Breath test non ci sono differenze significative (p=0,1909). Significativa riduzione del dolore addominale a tempo 0 (p=0,0389) e dopo 30 giorni (p=0,0288)	Le conclusioni raggiunte da questo studio evidenziano soprattutto una riduzione del dolore addominale dopo trattamento con RP-G28. Il dolore addominale è un sintomo molto importante, poiché spesso è la causa degli altri sintomi legati all'intolleranza al lattosio, che insorgono a causa di una stimolazione nervosa dovuta alla distensione gastro intestinale. Per tale ragione è importante approfondire dosaggio e modalità di assunzione di questo oligosaccaride, valutandone gli effetti a lungo termine e introducendolo così nella terapia dell'intolleranza al lattosio, effettuando ricerche anche su campioni più estesi. Punti di forza e applicazioni future: Essendo il dolore comune anche ad altre patologie intestinali, altri ambiti di esplorazione potrebbero essere l'applicazione di questa terapia a malattie quali IBD e IBS.

AUTORI	OBIETTIVI	METODO DI STUDIO	PARTECIPANTI	OUTCOME OSSERVATI	INTERVENTO	RISULTATI	CONCLUSIONI
Michael N Pakdama n, Jay K Udani, Jhanna Pamela Molina, Michael Shahani	L'obiettivo di questo studio è valutare gli effetti del <i>Lactobacillus acidophilus</i> sui sintomi dell'intolleranza al lattosio	Crossover, randomizzato, doppio cieco e gruppi controllati e placebo	I partecipanti sono dei volontari reclutati online, con età compresa tra i 18 e i 75 anni, un BMI compreso tra i 18 e i 35, score di 10 o più in un test che valutava i sintomi a 6h post ingestione di lattosio e disposti a smettere di assumere probiotici o prodotti degradanti la lattasi almeno 2 settimane prima dello studio. Venivano esclusi pazienti con diverse patologie gastrointestinali. Sono stati reclutati 126 elementi, 38 sono stati selezionati e randomizzati (18 hanno iniziato con il prodotto e 20 con il placebo) Soltanto 22 soggetti hanno terminato completamente lo studio.	L'obiettivo dello studio era valutare l'efficacia del <i>DDS-1</i> nell'alleviare sintomi quali diarrea, crampi addominali, vomito, flatulenze e altri sintomi gastrointestinali. Gli outcome secondari invece prevedevano lo studio dell'idrogeno prodotto dall'organismo, la consistenza e qualità delle feci attraverso la scala bristol, i livelli di colture batteriche nelle feci e la qualità di vita raccolta tramite un questionario sulla qualità della vita.	I soggetti hanno partecipato a un disegno crossover a 2 bracci, ogni braccio per 4 settimane assumevano prodotto attivo (<i>DDS-1</i>) o placebo (maltodestrina), con un periodo di washout di 2 settimane durante il crossover. I pazienti dovevano assumere il prodotto una volta al giorno per 4 settimane.	Significativa riduzione di diarrea ($p = 0,033$), crampi addominali ($p = 0,012$), vomito ($p = 0,0002$) e punteggi dei sintomi complessivi ($p = 0,037$). Non sono stati significativi gli outcome su borborigmi e flatulenze.	Il presente studio ha rilevato che questo ceppo <i>DDS-1</i> di <i>Lactobacillus acidophilus</i> , è sicuro da consumare e migliora il punteggio dei sintomi addominali per quanto riguarda la diarrea, i crampi e il vomito dopo l'assunzione di lattosio. Punti di forza e applicazioni future: Essendosi rivelato così efficace, sarebbe interessante studiare questo ceppo di <i>DDS-1</i> in relazione ad altre patologie, sia gastrointestinali che riguardanti altri distretti corporei. Rimane in ogni caso necessario prolungare la durata di osservazione dello studio e l'effetto successivo alla sospensione del trattamento.

AUTORI	OBIETTIVI	METODO DI STUDIO	PARTECIPANTI	OUTCOME OSSERVATI	INTERVENTO	RISULTATI	CONCLUSIONI
Paola Vitello, Giuseppe Celano, Leonilde Bonfrate, Marco Gobetti, Piero Portincasa, Maria De Angelis	Questo studio si propone di indagare gli effetti di una nuova formulazione di <i>Bifidobacterium longum BB536</i> e <i>Lactobacillus rhamnosus HN001</i> con vitamina B6 sui sintomi, sul microbiota intestinale e sul profilo metabolico in una coorte di pazienti con disturbi funzionali gastrointestinali persistenti che seguono una dieta priva di lattosio e con una diagnosi di intolleranza al lattosio.	Lo studio è un crossover randomizzato, in doppio cieco.	Il gruppo iniziale era composto da 135 pazienti adulti sintomatici di entrambi i sessi (54 maschi e 81 femmine). I criteri di esclusione erano: malattie organiche con diagnosi di anomalia strutturale del tratto gastrointestinale (es malattie infiammatorie dell'intestino come il M. Crohn o la colite ulcerosa), gravidanza, interventi chirurgici sull'addome nei sei mesi precedenti, malattie infettive, abuso di droga o alcool, disturbi metabolici, malattie mentali, concomitanti malattie immunologiche, ematologiche o neoplastiche concomitanti, grave insufficienza epatica, insufficienza cardiaca grave e incapacità di fornire il consenso informato. Sono stati esclusi anche 15 pazienti con diagnosi di IBS. I 99 pazienti rimanenti sono stati sottoposti al breath test all'idrogeno (H2) per rilevare l'intolleranza e 75 pazienti (19 maschi e 56 femmine, età media 46 anni) sono risultati positivi. I pazienti sono stati incoraggiati a seguire una dieta priva di lattosio per almeno sei mesi. I pazienti (N = 34) sono stati arruolati in ultima analisi se i sintomi (cioè, alterazioni delle abitudini intestinali, come costipazione o diarrea, gonfiore e dolore addominale) persistevano dopo sei mesi. A causa dell'abbandono di 11 pazienti la coorte finale era composta da 23 soggetti.	L'obiettivo primario era determinare se l'integrazione alimentare con i probiotici rispetto al placebo fosse in grado di migliorare i sintomi (gonfiore e dolore addominale), usando come scala di valutazione la VAS. (La scala è visualizzata come una linea orizzontale che va da 0 a 100, dove 0 è "nessuna percezione" e 100 è "la peggiore percezione possibile". L'esito secondario era la valutazione dei cambiamenti dei movimenti intestinali, misurati con la scala delle feci di Bristol. Questa scala rappresenta uno strumento di diagnosi per classificare le feci (1-7) e quindi le abitudini intestinali. Una risposta sintomatica caratterizzata da una diminuzione di almeno il 30% della VAS globale o della scala di Bristol è stata definita come risposta clinica.	I soggetti sono stati randomizzati a ricevere il probiotico (3 g in bustine contenenti <i>B. longum BB536</i> quattro miliardi di UFC, <i>L. rhamnosus HN001</i> un miliardo di CFU con vitamina B6 1,4 mg) o il placebo (bustine simili contenenti maltodestrine, amido di mais, biossido di silicio e nessun probiotico). Lo studio prevedeva un primo periodo di un mese di trattamento seguito da 15 giorni di wash-out, e un secondo periodo di trattamento di un mese dopo il cross-over. Le analisi sono state eseguite ai giorni 0 (T0), 30 (T30), 45 (T45) e 75 (T75) e comprendevano sintomi, valutazioni antropometriche, microbiota fecale e le relative misurazioni del metabolismo. Per valutare l'aderenza al trattamento dello studio e per registrare gli eventi avversi, i pazienti sono stati intervistati regolarmente da personale medico in cieco. La compliance è stata calcolata in base alla risposta allo studio e l'aderenza è stata considerata accettabile se >80%.	Riduzione significativa del gonfiore, rispetto al placebo (p= 0,028). Il trattamento ha causato un aumento significativo di specie di <i>Bifidobacterium</i> e <i>Lactobacillus</i> , della frequenza dei movimenti intestinali e un miglioramento significativo della scala Bristol. Diminuzione significativa del numero di giorni con evacuazione incompleta.	Lo studio mostra come il trattamento con probiotici e vitamina B6 può essere utile per alleviare i sintomi gastrointestinali e disturbi funzionali gastrointestinali attraverso una modulazione positiva della composizione microbica intestinale. Punti di forza ed applicazioni future: Lo studio ha utilizzato diversi metodi per valutare i cambiamenti nel microbiota intestinale, tra cui le analisi metagenomiche e metabolomiche, che forniscono una visione completa della comunità microbica. Le possibili applicazioni future dei risultati includono lo sviluppo di nuovi trattamenti con probiotici per individui con intolleranza al lattosio.

AUTORI	OBIETTIVI	METODO DI STUDIO	PARTECIPANTI	OUTCOME OSSERVATI	INTERVENTO	RISULTATI	CONCLUSIONI
<p>Roskar, I.; Štigelj, K.; Stempelj, M.; Volfand, I.; Štambuc, B.; Malovrh, S.; Rogelj, I.</p>	<p>Effetti di un probiotico contenente <i>Bifidobacterium animalis</i> subsp. <i>animalis</i> IM386 e <i>Lactobacillus plantarum</i> MP2026 negli intolleranti al lattosio</p>	<p>Studio clinico randomizzato, controllo con placebo</p>	<p>I pazienti sono stati invitati a partecipare allo studio durante le visite in clinica o ambulatorio. Dopo aver ottenuto il consenso informato, è stata eseguita una valutazione di screening. Tutti i soggetti sono stati sottoposti al breath test (HBT) con 25 gr di lattosio. Gli individui sono stati considerati idonei se alla prima visita avevano un'età compresa tra 18 e 75 anni e presentavano un HBT positivo per idrogeno o metano e almeno uno dei cinque sintomi di intolleranza al lattosio (diarrea, dolore addominale, vomito, flatulenza o borborigmi). I criteri di esclusione erano: donne in gravidanza o in allattamento; disturbi gastroenterici noti come pancreatite, ulcera peptica, celiachia, malattia infiammatoria intestinale; avevano eseguito esami radiologici o endoscopici nel mese precedente alla visita; avevano fatto un clistere o una colonoscopia nelle 2 settimane precedenti alla visita; o avevano assunto antibiotici, lattasi o probiotici nelle 2 settimane precedenti alla visita. Complessivamente sono stati inclusi 53 soggetti nello studio, di cui 44 soggetti, 36 donne (81,8%) e 8 uomini (18,2%), sono stati randomizzati. I restanti 9 soggetti sono stati esclusi per non aver soddisfatto tutti i criteri di inclusione ed esclusione. Dei soggetti randomizzati, 22, con un'età mediana di 28 anni, sono stati assegnati al gruppo di prova/probiotico, mentre 22 soggetti, con un'età mediana di 31 anni, sono stati assegnati al gruppo di controllo/placebo. La randomizzazione non è stata stratificata per variabili demografiche e c'è stato uno squilibrio di genere tra i gruppi, poiché il braccio del placebo includeva tutti gli 8 uomini arruolati. Dopo la randomizzazione, 6 soggetti sono usciti dallo studio (5 su richiesta dei soggetti, 1 a causa del test del respiro negativo H2/CH4 alla 2ª visita - prima del periodo di trattamento). I restanti 38 soggetti sono stati analizzati per l'esito primario.</p>	<p>Sono stati misurati due outcome: L'outcome primario era la variazione nella gravità dei cinque sintomi più comuni dell'intolleranza al lattosio - diarrea, flatulenza, dolore addominale, gorgogli e vomito. L'outcome secondario invece prevedeva la misurazione della variazione nei livelli di idrogeno e metano nell'aria espirata nel breath test.</p>	<p>I soggetti assumono 1 capsula del prodotto assegnato (probiotico o placebo) due volte al giorno per 6 settimane. Durante questo periodo, devono continuare la loro dieta abituale con o senza lattosio, ma devono evitare altri prodotti mirati ad alleviare i sintomi dell'intolleranza. I sintomi vengono misurati attraverso questionari di autovalutazione. Dopo aver completato il periodo di trattamento, viene eseguita una valutazione post-trattamento con l'analisi dei questionari ed il Breath test, sia a 6 settimane che a 8.</p>	<p>Nonostante le differenze nel cambiamento medio dei punteggi riportati dai pazienti per i sintomi, non sono emerse differenze statisticamente significative tra i gruppi probiotico e placebo. Nel gruppo probiotico, sono state trovate deboli correlazioni solo tra il valore di picco del metano e il dolore addominale ($p < 0,05$).</p>	<p>La conclusione dello studio suggerisce che la combinazione di ceppi probiotici <i>B. animalis</i> subsp. <i>animalis</i> IM386 e <i>L. plantarum</i> MP2026 è stata ben tollerata e ha dimostrato il potenziale per alleviare alcuni sintomi gastroenterici nei soggetti intolleranti al lattosio (LI). I risultati hanno indicato una tendenza al miglioramento dei sintomi dopo il periodo di trattamento in entrambi i gruppi, con ulteriore miglioramento osservato nel gruppo probiotico alla fine del periodo di follow-up. Tuttavia, le differenze tra i gruppi probiotico e placebo non sono risultate statisticamente significative. L'effetto placebo, comunemente osservato negli studi clinici, è stato evidente in entrambi i gruppi durante il periodo di trattamento. Gli autori hanno suggerito che il miglioramento osservato nei sintomi nel gruppo probiotico potrebbe essere collegato alla colonizzazione temporanea dell'intestino da parte dei batteri probiotici somministrati, influenzando la composizione e il modello metabolico della microbiota intestinale. Sono raccomandate ulteriori ricerche con un campione più ampio e un focus su approcci individualizzati, considerando la diversità della microbiota individuale, per risultati più conclusivi.</p>

AUTORI	OBIETTIVI	METODO DI STUDIO	PARTICIPANTI	OUTCOME OSSERVATI	INTERVENTO	RISULTATI	CONCLUSIONI
Ojetti, V.; Gigante, G.; Gabrielli, M.; Ainora, M.E.; Mannocci, A.; Lauritano, E.C.; Gasbarrini, G.; Gasbarrini, A.	Lo scopo di questo studio è quello di valutare se attraverso l'integrazione con il tilattasi o <i>Lactobacillus reuteri</i> rispetto al placebo si ha un effetto sull'escrezione di idrogeno nel respiro e sui sintomi gastrointestinali nei pazienti intolleranti al lattosio durante il breath test (H2-LBT).	Lo studio è un trial clinico randomizzato.	I partecipanti sono sessanta pazienti intolleranti al lattosio (6 maschi, 54 femmine, età media 32 ± 5 anni) e sono stati randomizzati in tre gruppi da 20: gruppo tilattase; gruppo placebo; e gruppo <i>Lactobacillus reuteri</i> . Sono stati selezionati i pazienti consecutivi che si sono rivolti alla struttura dello studio da settembre a dicembre 2007 per la presenza di sintomi gastrointestinali dopo l'ingestione di lattosio. I pazienti positivi all'H2LBT (Lactose breath test) sono stati considerati idonei per lo studio. I criteri di esclusione erano: età < 18 o > 65 anni; diagnosi di sovraccrescita batterica dell'intestino tenue (valutata mediante breath test al glucosio anormale) e storia di allergia alle proteine del latte. Tutti i pazienti hanno completato lo studio.	Per un totale di 8 ore (durante H2-LBT e nelle 4 ore successive), tutti i pazienti sono stati invitati a compilare un diario in cui registrare l'eventuale comparsa di sintomi legati all'intolleranza (gonfiore, dolore addominale, flatulenza e diarrea) la cui gravità è stata valutata mediante una scala analogica visiva (il punteggio va da 0, assente a 10, grave). Per ogni paziente, è stato calcolato un punteggio clinico medio, ottenuto dalla media dei punteggi parziali di ciascun sintomo. La stessa procedura era stata eseguita per l'H2-LBT iniziale (basale). Gli outcome primari erano il tasso di normalizzazione dell'idrogeno al breath test e gli effetti sui sintomi gastrointestinali.	I partecipanti sono stati divisi in 3 gruppi, ed hanno assunto terapie differenti: il gruppo tilattasi (Lactigest®), 4 pillole (9.000 U) 15 minuti prima del LBT di controllo; il gruppo placebo-4 pillole 15 minuti prima del LBT di controllo; il gruppo <i>Lactobacillus reuteri</i> (Reuterin®), 2 pillole (10*8CFU) durante i 10 giorni precedenti il LBT di controllo. Per ridurre al minimo l'escrezione basale di idrogeno, ai pazienti è stato chiesto di consumare una cena a ridotto contenuto di carboidrati il giorno precedente il test e di rimanere a digiuno per almeno 12 ore il giorno del test. Prima di iniziare il test, i pazienti hanno effettuato un lavaggio della bocca con 20 ml di clorexidina 0,05%. Non è stato consentito fumare e fare esercizio fisico per 30 minuti prima e durante il test. Il test basale è stato eseguito immediatamente prima dell'ingestione di lattosio. Poi è stata somministrata una dose di 25 g di lattosio e sono stati prelevati campioni di respiro ogni 30 minuti per 4 ore. I risultati sono stati espressi come parti per milione (p.p.m.). L'H2-LBT è stato considerato positivo per il malassorbimento del lattosio quando è stato registrato un aumento del valore di H2 superiore a 20 parti per milione (p.p.m.) rispetto al valore basale. L'intervallo di tempo medio tra il test basale e quello successivo all'intervento è stato di 42 giorni (intervallo 30-60 giorni).	Miglioramento significativo per tutti i sintomi gastrointestinali, per il punteggio clinico medio e per la secrezione di idrogeno nei due gruppi trattati ($p < 0.0001$). Inoltre, il trattamento con tilattasi è stato significativamente più efficace di quello con LR nel ridurre i sintomi ($p < 0.0001$) e nell'escrezione di idrogeno ($p < 0.01$).	Le conclusioni di questo studio sono che sia il Tilattasi (enzima esogeno) che il <i>Lactobacillus reuteri</i> si sono dimostrati utili per il trattamento dell'intolleranza al lattosio, migliorando significativamente i risultati del test del respiro all'idrogeno (H2-LBT) e alleviando i sintomi associati rispetto a un placebo. L'efficacia del Tilattasi è risultata più forte rispetto a quella del <i>Lactobacillus reuteri</i> , ma la variabilità nei livelli di carenza di enzimi lattasici tra i pazienti intolleranti al lattosio potrebbe spiegare la risposta inferiore al <i>Lactobacillus reuteri</i> rispetto al Tilattasi. Lo studio suggerisce che il <i>Lactobacillus reuteri</i> ha potenziali vantaggi migliori rispetto al Tilattasi, poiché viene somministrato a un dosaggio standard indipendentemente dall'assunzione di lattosio, e i suoi effetti potrebbero persistere dopo l'interruzione del trattamento a causa dell'attività continua di β -galattosidasi durante la colonizzazione intestinale.

DISCUSSIONE

Questa revisione di studi clinici randomizzati (RCT) valuta gli effetti della supplementazione con probiotici o prebiotici basandosi su due diversi fattori. In primo luogo sono stati considerati i sintomi clinici dell'intolleranza al lattosio e successivamente, in alcuni studi, sono stati valutati i risultati del test del respiro all'idrogeno. L'uso dei probiotici nella gestione dei sintomi della mal digestione del lattosio è già stato affrontato in diversi studi, che valutavano l'uso di prodotti fermentati, basandosi sulla conoscenza che i prodotti fermentati contengano livelli di lattosio inferiori rispetto ai prodotti non fermentati. (33) La fermentazione riduce in maniera significativa la quantità di lattosio nel latte, specialmente nello yogurt, ma anche nel latte acidificato, nel latticello e nel kefir. È possibile quindi che i microrganismi contenenti lattasi originari del latte fermentato continuino ad essere attivi nel tratto intestinale e partecipino all'idrolisi del lattosio ingerito. (34) Questo spiegherebbe perché nell'analisi della maggior parte degli RCT inclusi nella revisione, si sia riscontrato che la supplementazione con probiotici quali *L. acidophilus* DDS-1, *B. Longum*, *L. Rhamnosus* e *L. Reuteri* in individui intolleranti al lattosio riduca in maniera significativa sintomi quali crampi addominali, diarrea, vomito, gonfiore e/o flatulenza.

Per quanto riguarda l'efficacia del DDS-1, un ceppo unico di *Lactobacillus acidophilus* può aiutare a migliorare i sintomi gastrointestinali dell'intolleranza al lattosio come diarrea, crampi addominali e vomito. La mancanza di effetti significativi su HBT è stata riscontrata anche in un altro studio effettuato sul *Lactobacillus acidophilus* BG2FO4, nel quale è emerso che il probiotico è sopravvissuto al passaggio attraverso l'intero tratto gastrointestinale, vista la sua presenza vitale nei campioni di feci, ma non è stato rilevato nell'intestino 12 ore dopo l'ingestione, nonostante le proprietà di aderenza intestinale di questo organismo e l'assenza di acido gastrico (uno dei gruppi dello studio assumeva omeprazolo). Ciò si è riflettuto dalla mancanza di miglioramento nell'escrezione complessiva di idrogeno nel respiro (35)

L'utilizzo di *B. longum* e *L. rhamnosus HN001* con vitamina B6 hanno mostrato una riduzione del gonfiore addominale e in generale un miglioramento della costipazione. Come dimostrato anche nello studio di Jiang et al. nel quale hanno riscontrato che il consumo di latte arricchito con *B. longum* ha portato a una significativa riduzione della flatulenza rispetto al consumo di latte pastorizzato (36). Inoltre anche un recente studio del 2019 (37) suggerisce che una formulazione composta da *L. acidophilus*, *L. rhamnosus*, *L. casei*, *B. breve*, *S. thermophilus*, *B. longum*, e *B. infantis* abbia prodotto dei miglioramenti riguardanti il gonfiore e le flatulenze in pazienti affetti da intolleranza al lattosio.

Nel contesto dello studio in cui sono stati utilizzati *L. plantarum* e *B. animalis*, non è emerso alcun effetto statisticamente significativo dei probiotici sui sintomi clinici. Poiché gli effetti benefici di questi microorganismi sono stati dimostrati in altri studi sui pazienti intolleranti al lattosio, mostrando che la supplementazione di questi bifidobatteri potrebbe influenzare i batteri del colon e aumentare il numero dei principali gruppi di microflora (38), gli autori hanno ipotizzato che il miglioramento osservato nei sintomi nel gruppo trattato potrebbe derivare dalla colonizzazione temporanea dell'intestino da parte dei batteri probiotici somministrati, con possibile impatto sulla composizione e sul modello metabolico del microbiota intestinale, e che la mancanza di un effetto significativo possa dipendere dalla dose somministrata.

La supplementazione con probiotici, investigata in quattro studi (29-30-31-32), ha quasi sempre portato ad un miglioramento negli esiti dei pazienti intolleranti, come nel caso della tilattasi, i cui effetti benefici erano già noti da precedenti studi (39) mentre la supplementazione con prebiotici, valutata solo in uno studio (28), ha avuto un effetto benefico sui sintomi clinici, confermando quanto emerso in studio del 2017 (40) che sostiene che i galatto-oligosaccaridi a catena corta possono causare un cambiamento nella composizione del microbiota, aumentando la presenza di batteri benefici per la salute come *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, *Faecalibacterium* e *Roseburia*, che fermentano il lattosio nell'intestino e riducono la presenza di specie

potenzialmente dannose come le Enterobatteriacee nei pazienti affetti da intolleranza al lattosio. In particolare si osserva una riduzione del dolore addominale dopo trattamento con RP-G28, mentre la produzione di idrogeno misurata in parti per milione al tempo 0 ed al 36° giorno ha mostrato evidenze non statisticamente significative.

Attualmente la maggior parte della letteratura scientifica consultata durante la stesura di questo elaborato riguardante l'argomento è concorde nel dire che i risultati ottenuti in questo ambito non siano sufficienti per chiarire i diversi dubbi riguardo i benefici legati ai trattamenti con probiotici e prebiotici. La quantità di studi ed i campioni di popolazione sono infatti ridotti, così come la durata, che non permette la piena valutazione degli effetti a lungo termine. Rimangono quindi molte domande da indagare in questo ambito, come la vitalità e i tassi di recupero fecale, i cambiamenti nel microbiota intestinale, ecc. Inoltre, dovrebbero essere valutate le dosi ottimali, il confronto tra ceppi e probiotici diversi, probiotici singoli rispetto a combinazioni di probiotici o in associazione ai prebiotici e l'efficacia di vari probiotici in diverse condizioni patologiche.

Limiti degli studi

Ogni studio preso in esame presentava dei limiti.

Savaiano D.- Limiti: per valutare la riduzione dei sintomi sono stati impiegati i punteggi medi, pertanto potrebbero riflettere solo una leggera variazione numerica nell'abbassamento dei sintomi complessivi. Tuttavia, un miglioramento significativo in uno di essi potrebbe aver avuto un impatto importante sul benessere del paziente; di conseguenza, è importante valutare i sintomi singolarmente e utilizzare metodi aggiuntivi per quantificare oggettivamente i risultati clinicamente significativi.

Pakdaman M. - Limiti: Un limite importante di questo studio è il periodo di tempo limitato a quattro settimane. Infatti outcome non significativi come le

flatulenze, in altri studi con durata prolungata, hanno avuto esito differente. Un'altra limitazione legata alla durata è l'assenza di campioni di feci che dimostrino la persistenza a lungo termine del ceppo di lattobacillo nelle feci.

Vitellio P.- Limiti: Lo studio presenta diverse limitazioni che devono essere prese in considerazione nell'interpretazione dei risultati. Tali limitazioni includono: Dimensioni ridotte del campione, breve durata del trattamento (4 settimane), mancata valutazione di altri composti del latte come grassi e proteine e mancanza di valutazione degli effetti a lungo termine.

Roškar I.- Limiti: Lo studio presenta diversi limiti che dovrebbero essere presi in considerazione: campione ridotto, squilibrio nella distribuzione di genere tra il gruppo probiotico e quello del placebo, mancanza di dati sulla persistenza dei ceppi probiotici nelle feci e sulla loro influenza sulla composizione/attività della microbiota intestinale, forte effetto placebo, il periodo di follow-up è stato relativamente breve (2 settimane) e gli effetti a lungo termine della supplementazione con probiotici non sono stati approfonditamente indagati. Inoltre lo studio si è basato su valutazioni autoriportate dei sintomi, che possono essere soggette a interpretazione individuale e bias. Misure oggettive, oltre alle segnalazioni soggettive, potrebbero migliorare la robustezza dei risultati. Nonostante lo studio abbia osservato tendenze di miglioramento nei sintomi nel gruppo probiotico, queste tendenze non hanno raggiunto la significatività statistica rispetto al gruppo del placebo.

Ojetti V. - Limiti: I limiti di questo studio sono: assenza di controllo nel braccio del probiotico: il gruppo trattato con *Lactobacillus reuteri* non è stato sottoposto a un controllo, differenze significative nei regimi posologici tra i due gruppi di trattamento, mancanza di considerazioni su effetti collaterali, breve durata del trattamento (10 giorni) senza dati a lungo termine. Lo studio inoltre riconosce una risposta inferiore al trattamento con *Lactobacillus reuteri* rispetto al Tilattasi, ma non fornisce una spiegazione chiara di questa differenza.

CONCLUSIONI

L'impiego di probiotici e prebiotici ha dimostrato di essere un trattamento efficace nella mitigazione dei sintomi associati all'intolleranza al lattosio. Tuttavia, poiché le prove attuali sugli effetti dei probiotici sono ancora inconcludenti, è necessario condurre ulteriori studi al fine di approfondire il loro potenziale. Un limite significativo degli studi finora condotti è rappresentato dalla loro breve durata, pertanto, sono necessarie indagini a lungo termine per valutare la persistenza degli effetti positivi derivanti dall'assunzione di probiotici e prebiotici. Questi studi consentirebbero anche di esaminare se i sintomi tendono a peggiorare dopo l'interruzione dell'integrazione. Si raccomanda altresì la realizzazione di ricerche più estese, focalizzate su approcci individualizzati che tengano conto della diversità del microbiota individuale, al fine di ottenere risultati più risolutivi. Nonostante ciò, anche una modesta riduzione dei sintomi legati a questa condizione non dovrebbe essere sottovalutata, poiché si tradurrebbe in un miglioramento della qualità di vita per una vasta porzione della popolazione mondiale.

BIBLIOGRAFIA

1. Storhaug C, Fosse S, Fadnes L Country, regional, and global estimates for lactose malabsorption in adults: a systematic review and meta-analysis, *The Lancet Gastroenterology and Hepatology* (2017) 2(10) 738-746
2. He T, Priebe MG, Zhong Y, Huang C, Harmsen HJ, et al. Effects of yogurt and bifidobacteria supplementation on the colonic microbiota in lactose-intolerant subjects. *J Appl Microbiol.* 2008 Feb;104(2):595-604.
3. Hodges, J. K., Cao, S., Cladis, D. P., & Weaver, C. M. (2019). Lactose Intolerance and Bone Health: The Challenge of Ensuring Adequate Calcium Intake. *Nutrients*, 11(4) 2019 Mar
4. Weaver C.M., Plawecki K.L. Dietary calcium: Adequacy of a vegetarian diet. *Am. J. Clin. Nutr.* 1994;59:1238S–1241S.
5. Hovde Ø, Farup PG. A comparison of diagnostic tests for lactose malabsorption-which one is the best? *BMC Gastroenterol.* 2009 Oct 31;9:82.
6. Sánchez B, Delgado S, Blanco-Míguez A, Lourenço A, Gueimonde M, et al. Probiotics, gut microbiota, and their influence on host health and disease. *Mol Nutr Food Res.* 2017 Jan;61(1).
7. Davani-Davari D, Negahdaripour M, Karimzadeh I, Seifan M, Mohkam M, Masoumi SJ, Berenjian A, Ghasemi Y. Prebiotics: Definition, Types, Sources, Mechanisms, and Clinical Applications. *Foods.* 2019 Mar 9;8(3):92. doi: 10.3390/foods8030092. PMID: 30857316; PMCID: PMC6463098.
8. Sommer, F., Bäckhed, F., The gut microbiota, masters of host development and physiology. *Nat. Rev. Microbiol.* 2013, 11, 227–238.
9. Szilagyí A, Ishayek N. Lactose Intolerance, Dairy Avoidance, and Treatment Options. *Nutrients.* 2018 Dec 15;10(12):1994. doi: 10.3390/nu10121994. PMID: 30558337; PMCID: PMC6316316.
10. Deng Y, Misselwitz B, Dai N, Fox M. Lactose Intolerance in Adults: Biological Mechanism and Dietary Management. *Nutrients.* 2015 Sep

18;7(9):8020-35. doi: 10.3390/nu7095380. PMID: 26393648; PMCID: PMC4586575.)

11. Tishkoff SA, Reed FA, Ranciaro A, et al. Convergent adaptation of human lactase persistence in Africa and Europe. *Nat Genet* 2007;39:31-40
12. Di Rienzo T, D'Angelo G, D'Aversa F, Campanale MC, Cesario V, Montalto M, Gasbarrini A, Ojetti V. Lactose intolerance: from diagnosis to correct management. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*. 2013;17 Suppl 2:18-25. PMID: 24443063.
13. NEWCOMER AD, MCGILL DB, THOMAS PJ, HOFMANN AF. Prospective comparison of indirect methods for detecting lactase deficiency. *N Engl J Med* 1975; 293:1232-1236.
14. Kuokkanen M, Myllyniemi M, Vauhkonen M, Helske T, Kääriäinen I, Karesvuori S, Linnala A, Härkönen M, Järvelä I, Sipponen P. A biopsy-based quick test in the diagnosis of duodenal hypolactasia in upper gastrointestinal endoscopy. *Endoscopy*. 2006 Jul;38(7):708-12. doi: 10.1055/s-2006-925354. Epub 2006 Jun 6. PMID: 16761211.
15. Ojetti V, La Mura R, Zocco MA, Cesaro P, De Masi E, La Mazza A, Cammarota G, Gasbarrini G, Gasbarrini A. Quick test: a new test for the diagnosis of duodenal hypolactasia. *Dig Dis Sci*. 2008 Jun;53(6):1589-92. doi: 10.1007/s10620-007-0027-7. PMID: 17932760.
16. METZG, JENKINS DJ, PETERS TJ, NEWMANA, BLENDIS LM. Breath hydrogen as a diagnostic method for hypolactasia. *Lancet* 1975;1(7917):1155-1157.
17. Itan Y, Powell A, Beaumont MA, Burger J, Thomas MG. The origins of lactase persistence in Europe. *PLoS Comput Biol*. 2009 Aug;5(8):e1000491. doi: 10.1371/journal.pcbi.1000491. Epub 2009 Aug 28. PMID: 19714206; PMCID: PMC2722739.
18. Cavalli-Sforza LT, Strata A, Barone A, Cucurachi L. Primary adult lactose malabsorption in Italy: regional differences in prevalence and relationship to lactose intolerance and milk consumption. *Am J Clin*

- Nutr. 1987 Apr;45(4):748-54. doi: 10.1093/ajcn/45.4.748. PMID: 3565303.
19. Briet F, Pochart P, Marteau P, Flourie B, Arrigoni E, Rambaud JC. Improved clinical tolerance to chronic lactose ingestion in subjects with lactose intolerance: a placebo effect? *Gut*. 1997;41(5):632-5.
 20. Gibson GR, Roberfroid MB. Dietary modulation of the human colonic microbiota. Introducing the concept of prebiotics. *J Nutr* 1995;125:1401–1412.
 21. Quigley EMM. Prebiotics and Probiotics in Digestive Health. *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2019 Jan;17(2):333-344. doi: 10.1016/j.cgh.2018.09.028. Epub 2018 Sep 26. PMID: 30267869.
 22. 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; 11:506–514.
 23. McFarland L.V. (2006) Meta-analysis of probiotics for the prevention of antibiotic associated diarrhea and the treatment of *Clostridium difficile* disease *Am J Gastroenterol* 101: 812–822
 24. Verna EC, Lucak S. Use of probiotics in gastrointestinal disorders: what to recommend? *Therap Adv Gastroenterol*. 2010 Sep;3(5):307-19. doi: 10.1177/1756283X10373814. PMID: 21180611; PMCID: PMC3002586.
 25. Huang YY, Liang YT, Wu JM, Wu WT, Liu XT, Ye TT, Chen XR, Zeng XA, Manzoor MF, Wang LH. Advances in the Study of Probiotics for Immunomodulation and Intervention in Food Allergy. *Molecules*. 2023 Jan 27;28(3):1242. doi: 10.3390/molecules28031242. PMID: 36770908; PMCID: PMC9919562.
 26. Moher D, Liberati A, Tetzlaff J, et al. Preferred reporting items for systematic reviews and meta-analyses: the PRISMA statement. *BMJ*. 2009 Jul 21;339: b2535

27. Jadad AR, Moore RA, Carroll D, Jenkinson C, Reynolds DJ, Gavaghan DJ, McQuay HJ. Assessing the quality of reports of randomized clinical trials: is blinding necessary? *Control Clin Trials*. 1996 Feb;17(1):1-12. doi: 10.1016/0197-2456(95)00134-4. PMID: 8721797.
28. Savaiano DA, Ritter AJ, Klaenhammer TR, James GM, Longcore AT, Chandler JR, Walker WA, Foyt HL. Improving lactose digestion and symptoms of lactose intolerance with a novel galacto-oligosaccharide (RP-G28): a randomized, double-blind clinical trial. *Nutr J*. 2013 Dec 13;12:160. doi: 10.1186/1475-2891-12-160. PMID: 24330605; PMCID: PMC3878758.
29. Pakdaman MN, Udani JK, Molina JP, Shahani M. The effects of the DDS-1 strain of lactobacillus on symptomatic relief for lactose intolerance - a randomized, double-blind, placebo-controlled, crossover clinical trial. *Nutr J*. 2016 May 20;15(1):56. doi: 10.1186/s12937-016-0172-y. PMID: 27207411; PMCID: PMC4875742.
30. Vitellio P, Celano G, Bonfrate L, Gobbetti M, Portincasa P, De Angelis M. Effects of *Bifidobacterium longum* and *Lactobacillus rhamnosus* on Gut Microbiota in Patients with Lactose Intolerance and Persisting Functional Gastrointestinal Symptoms: A Randomised, Double-Blind, Cross-Over Study. *Nutrients*. 2019 Apr 19;11(4):886. doi: 10.3390/nu11040886. PMID: 31010241; PMCID: PMC6520754.
31. Roškar, Irena & Švigelj, Karmen & Stempelj, Mateja & Volfand, Jasna & Štabuc, Borut & Malovrh, Špela & Rogelj, Irena. (2017). Effects of a probiotic product containing *Bifidobacterium animalis* subsp. *animalis* IM386 and *Lactobacillus plantarum* MP2026 in lactose intolerant individuals: Randomized, placebo-controlled clinical trial. *Journal of Functional Foods*. 35. 1-8. 10.1016/j.jff.2017.05.020.

32. Ojetti V, Gigante G, Gabrielli M, Ainora ME, Mannocci A, Lauritano EC, Gasbarrini G, Gasbarrini A. The effect of oral supplementation with *Lactobacillus reuteri* or tilactase in lactose intolerant patients: randomized trial. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*. 2010 Mar;14(3):163-70. PMID: 20391953.
33. Kilara A, Shahani KM. Lactase activity of cultured and acidified dairy products. *J Dairy Sci*. 1976;59:2031–5. doi:10.3168/jds.S0022-0302(76)84484-0.
34. Alm L. Effect of fermentation on lactose, glucose, and galactose content in milk and suitability of fermented milk products for lactose intolerant individuals. *J Dairy Sci*. 1982 Mar;65(3):346-52. doi: 10.3168/jds.S0022-0302(82)82198-X. PMID: 7076958.
35. Saltzman JR, Russell RM, Golner B, Barakat S, Dallal GE, Goldin BR. A randomized trial of *Lactobacillus acidophilus* BG2FO4 to treat lactose intolerance. *Am J Clin Nutr*. 1999 Jan;69(1):140-6. doi: 10.1093/ajcn/69.1.140. PMID: 9925136.
36. Jiang T, Mustapha A, Savaiano DA. Improvement of lactose digestion in humans by ingestion of unfermented milk containing *Bifidobacterium longum*. *J Dairy Sci*. 1996 May;79(5):750-7. doi: 10.3168/jds.S0022-0302(96)76422-6. PMID: 8792277.
37. Gingold-Belfer R, Levy S, Layfer O, Pakanaev L, Niv Y, Dickman R, Perets TT. Use of a Novel Probiotic Formulation to Alleviate Lactose Intolerance Symptoms-a Pilot Study. *Probiotics Antimicrob Proteins*. 2020 Mar;12(1):112-118. doi:10.1007/s12602-018-9507-7. PMID: 30617948.

38. Zhong Y, Huang CY, He T, Harmsen HM. Effect of probiotics and yogurt on colonic microflora in subjects with lactose intolerance. *Wei Sheng Yan Jiu*. 2006 Sep;35(5):587-91. Chinese. PMID:17086711.
39. Portincasa P, Di Ciaula A, Vacca M, Montelli R, Wang DQ, Palasciano G. Beneficial effects of oral tilactase on patients with hypolactasia. *Eur J Clin Invest*. 2008 Nov;38(11):835-44. doi:10.1111/j.1365-2362.2008.02035.x. PMID: 19021701.
40. Azcarate-Peril MA, Ritter AJ, Savaiano D, Monteagudo-Mera A, Anderson C, Magness ST, Klaenhammer TR. Impact of short-chain galactooligosaccharides on the gut microbiome of lactose-intolerant individuals. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2017 Jan 17;114(3):E367-E375. doi: 10.1073/pnas.1606722113. Epub 2017 Jan 3. PMID: 28049818; PMCID: PMC5255593.