



Introduzione

BREVE STORIA DEI PROBIOTICI

Il latte acidificato, simile al nostro yogurt, era già usato dagli Indiani e dai Sumeri nel quarto secolo a.C. La Bibbia dice che Abramo offrì a Dio “latte fermentato” (*Genesi* 18, 1-8), Erodoto (484-425 a.C.), Senofonte (430-355 a.C.) ed Aristotele (384-322 a.C.) ne hanno suggerito l’uso. Fra i Romani il suo consumo era raccomandato come tonico specialmente per i bambini ed i convalescenti. Nel 76 a.C. Plinio ne consigliava la somministrazione per trattare la gastroenterite e Galeno (129-216 d.C.) lo cita estesamente esaltandone l’effetto benefico per il fegato e lo stomaco.

Lo **yogurt** è ottenuto dalla fermentazione del latte. *Lactobacillus bulgaricus* e *Streptococcus thermophilus* sono i due microrganismi che partecipano a questo processo con un rapporto simbiotico. La fermentazione non è possibile in presenza di solo uno di questi batteri, ciascuno dei quali ha un suo ruolo definito nel processo.

Il **kefir** è prodotto aggiungendo al latte di mucca o di pecora grani attivi composti, nel caso del prodotto commercializzato in Italia, da *L. kefirianofaciens*, *Lactococcus lactis*, *S. thermophilus*, *Enterococcus* sp., *Bacillus* sp., *Acetobacter fabarum*, *A. lovaniensis*, *A. orientalis*, *Dekkera anomala*. La composizione dei grani varia molto a seconda del Paese di produzione. Il kefir è stato utilizzato per migliaia di anni sulle montagne del Caucaso, ed era considerato un dono di Allah dal popolo musulmano che vi abitava. Alcuni studiosi ritengono che i grani di kefir fossero la famosa “manna” descritta nella Bibbia ed inoltre che furono gli Angeli che insegnarono ad Abramo come prepararlo. Il nome *kefir* deriverebbe dalla parola turca *keyif*, che significa “buona sensazione”.

Il **kombucha** è il prodotto della fermentazione di foglie secche del tè (*Camellia sinensis*) e di zucchero. Il kombucha è tradizionalmente preparato in casa, senza attrezzature per la fermentazione. La parola *kombucha* si ritiene origini da *kombu*, un tipo di alga, e *cha*, che significa “tè” in Giapponese. Il kombucha è conosciuto con nomi differenti, ad esempio *kocha kinoko* in Giappone, *shenxian cu* in Cina, *hongcha beoseo-tcha* in Korea, *grib* o *tea kvass* in Russia, e *cha-mug* in Thailandia. Si crede che il kombucha sia stato fermentato inizialmente in Cina intorno al 220 a.C.

Le origini del latte fermentato sono legate ad una leggenda che racconta che un mercante che doveva fare un lungo viaggio portò alcuni cibi con sé, compreso del latte, in una sacca fatta con lo stomaco essiccato di una capra. Gli enzimi rimasti nella parete dello stomaco della capra acidificarono il latte coagulando le sue proteine, dando luogo alla cagliata e portando all’invenzione del formaggio, mentre la fermentazione degli zuccheri del latte dette origine allo yogurt. Oltre allo yogurt, numerosi prodotti fermentati sono presenti in tutte le civiltà: fra i più noti, e tuttora diffusi, il kefir e il kombucha.

Siamo perciò certi che la fermentazione è una delle più antiche forme di conservazione del cibo. Louis Pasteur scoprì per primo che era causata da microrganismi. Proprio un collaboratore di Pasteur, Elia Metchnikoff (1845-1916), la studiò a lungo e si può ritenere il padre dei probiotici. Professore di Biologia all'Università di Odessa, da cui si trasferì a Messina per motivi politici dopo l'assassinio dello Zar Alessandro II, nel 1882 scoprì il meccanismo della fagocitosi per cui ricevette il Premio Nobel per la Medicina nel 1908. Nel 1888 si era trasferito a Parigi per lavorare nell'Istituto diretto da Pasteur dedicandosi alla ricerca delle cause dell'invecchiamento. Alla morte di Pasteur, nel 1895, divenne Direttore dell'Istituto. Metchnikoff propose che la putrefazione intestinale provocata dai microrganismi fosse responsabile della brevità della vita ed ipotizzò che la sostituzione di “una popolazione batterica selvaggia con una popolazione batterica coltivata fosse capace di rimuovere i sintomi della vecchiaia e probabilmente aumentare considerevolmente la durata della vita” e che “Visto che la fermentazione lattica serve così bene per arrestare la putrefazione, perché non potrebbe essere utilizzata allo stesso scopo nel tubo digerente?”, e ancora: “Un lettore che conosce poco l'argomento potrebbe essere sorpreso dalla raccomandazione di assumere grandi quantità di microbi, poiché si ha in genere l'idea che i microbi siano tutti dannosi. Tuttavia questa idea è sbagliata. Vi sono microbi utili fra i quali i *Lactobacilli* hanno una onorevole posizione”.¹ Questa teoria era sembrata dimostrata dall'alta percentuale di centenari in Bulgaria, una regione in cui erano consumate grandi quantità di latte fermentato, e dalla scoperta del *Bacillus bulgaricus* da parte del microbiologo bulgaro Stamen Grigoroff nello yogurt (*kisselo-mléko*, “latte fermentato”),² oltre che dagli studi sperimentali nell'uomo di Michel Cohendy, un collega all'Istituto Pasteur, che fornì dati a sostegno dell'ipotesi di Metchnikoff: in due trial trovò che il *Bacillus bulgaricus* (oggi denominato *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*) era recuperabile vivo nelle feci, riduceva la prevalenza di tossine putrefattive ed era utile nel trattamento della colite.^{3,4} Su queste basi scientifiche, l'Istituto Pasteur mise in commercio *Lactobacilli* sotto l'etichetta “Le Ferment”. Si diede così il via all'utilizzo dei primi probiotici per trattare, prevalentemente, la diarrea.^{5,6}

Negli stessi anni un pediatra, Henry Tissier, mostrò che la flora batterica degli infanti sani era in gran parte costituita da un batterio sconosciuto che, per la sua forma, chiamò *Bacillus bifidus communis*,⁷ oggi conosciuto come *Bifidobacterium*. Tissier inoltre notò che altri batteri, come *Enterococcus*, *Bacillus coli* e *Bacillus acidiparalactici*, erano in grado di produrre acido lattico, e decise di chiamarli *good bacteria* e suggerirli come terapia. In particolare, scelse il *Bacillus acidiparalactici* per la sua resistenza e capacità fermentativa.⁸

Su queste basi ed affascinato dai lavori di Louis Pasteur, Robert Koch e soprattutto di Elie Metchnikoff, in Giappone Minoru Shirota (1899-1982), che già prima di completare i propri studi presso la Facoltà di Medicina dell'Università di Tokyo aveva approfondito la possibilità di variare la popolazione batterica intestinale riducendo la presenza di microrganismi non favorevoli al benessere, isolò dalle feci umane *Lactobacillus casei*, cui aggiunse il proprio nome, *Shirota* (LcS). *Lactobacillus casei Shirota* era in grado di giungere vivo nell'intestino, favorendo così l'equilibrio della flora intestinale. Tale fermento venne coltivato in una bevanda di latte scremato che chiamò *yakult* (da *yahurto*, termine esperanto che traduce la parola “yogurt”).

Fa parte della storia dello yogurt anche Isaac Carasso (1874-1939), nato a Salonicco e trasferitosi a Barcellona nel 1916 a causa della guerra dei Balcani. Resosi conto del gran numero di bambini che morivano per problemi intestinali, ispirato dai lavori di Elia Metchnikoff, importò culture di *Bacillus Bulgaricus* dalla Bulgaria e utilizzò anche culture pure dell'Istituto Pasteur, vendendo lo yogurt prodotto in Farmacia con il nome Danone, una variazione del nome in catalano di suo figlio Daniele. Nel 1919 fondò il Groupe Danone.

BIBLIOGRAFIA

1. Metchnikov I. The prolongation of Life Optimistic Studies. London: William Heinemann; 1907. p. 181-2.
2. Grigoroff S. Étude sur une lait fermentée comestible. Le "Kissélo mléko" de Bulgarie. Revue Médicale de la Suisse Romande 1905;24:714-21.
3. Cohendy M. Description d'un ferment lactique puissant capable de s'acclimater dans l'intestin d'homme. Comptes Rendus des Seances et Memoirs de la Societé de Biologie 1906;60:558-60.
4. Cohendy M. Essai de traitement de l'enterite muco-membraneuse aigue par l'acclimation d'un ferment lactique dans le gros intestine. Comptes Rendus des Seances et Memoirs de la Societé de Biologie 1906;60:363.
5. Dunn C. The treatment of summer diarrhea as influenced by etiology. Boston Med Surg J 1909;161:734-9.
6. Mason F. Notes on the lactic ferments as therapeutic agents. Lancet 1908;2:957-9.
7. Tissier H. La réaction cromophile d'Escherich et le bacterium coli. Comptes Rendus des Seances et Memoirs de la Societé de Biologie 1899;53:943-5.
8. Tissier H, Gasching P. Recherches sur la fermentation du lait. Annales de l'Institut Pasteur 1903;8:540-63.

PROBIOTICI E APPARATO DIGERENTE

L'intestino umano contiene microbi, che vanno a costituire il microbiota intestinale (vedi Capitolo 2). Abbiamo scoperto più di 150.000 genomi del microbioma, che possono essere aggregati in 4930 specie,¹ e ammontano a circa 150 volte il numero del genoma umano. Fra l'uomo e i suoi batteri si instaura una stretta collaborazione. Quando questa collaborazione non funziona, i risultati possono essere terribili. Le malattie infiammatorie intestinali, la sindrome del colon irritabile, la diarrea da antibiotici, ad esempio, sembrano tutti avere legami con la disbiosi. Questi aspetti interessano sempre di più il Clinico e, in particolare, il Gastroenterologo, ma un Medico di Medicina Generale deve conoscere quanto il microbiota sia importante in patologie non solo digestive, ma anche ad esempio nel diabete, nella sclerosi multipla, nella sindrome da stanchezza cronica, nell'autismo. In questo libro cercheremo di mettere a punto le evidenze a nostra disposizione sul ruolo del microbiota intestinale nelle patologie digestive e sul possibile impiego dei probiotici.²

C'è ancora incertezza su quali proprietà del microbiota rappresenteranno i biomarcatori più informativi negli studi clinici ed epidemiologici. Poco si sa su come interagiscono i microbiomi di diverse regioni del corpo, come la bocca, l'intestino o la pelle.

Un primo problema per identificare il ruolo terapeutico delle modifiche del microbiota è che gran parte degli studi si concentrano sulla ricerca di base e molto meno sulla valutazione dei trattamenti. In tutto il mondo, ogni anno vengono investiti oltre 100-200 miliardi di dollari a sostegno della ricerca biomedica. Ciò si traduce in circa 1 milione di pubblicazioni all'anno. Gran parte di questo investimento ha sostenuto la ricerca di base. Ad esempio, più di due terzi degli investimenti governativi e di beneficenza nella ricerca biomedica nel Regno Unito sono stati destinati alla ricerca di base, con meno del 10% per la valutazione dei trattamenti. Inoltre, circa l'85% della spesa globale per la ricerca (100-200 miliardi di dollari) vengono regolarmente sprecati in studi mal progettati e ridondanti. Ciò dà una cifra di 85-160 miliardi di dollari sprecati. Fino al 30% dei documenti di ricerca medica originale più influenti in seguito si rivelano sbagliati o esagerati.³

Per cercare di chiarirci le idee sui probiotici, siamo andati a cercare su PubMed la progressione delle pubblicazioni sui probiotici dal 2013 al 2020. Essa è costante, fino ad arrivare ai 2200 articoli. Tuttavia il numero degli articoli dedicati alla terapia, o meglio, ai trial con i probiotici raggiunge appena i 250 nel 2019, una proporzione assai bassa sul totale (circa l'11%). Abbiamo un gran bisogno di trial terapeutici con i probiotici, che utilizzino metodi standardizzati. E ne abbiamo bisogno in aree ben definite e clinicamente rilevanti.

Crediamo che occorrono nuovi robusti pilastri:

- estendere il ruolo dei *N-of-1 trials*, o meglio, dei *one-person trials*. I fattori che influenzano il microbioma sono tanti, troppi per una corretta analisi statistica, ancorché multivariata. Influenzano il microbioma la modalità di nascita, l'allattamento al seno, la dieta, l'attività fisica, le malattie, l'età, i farmaci, la salute delle gengive, ed il momento della giornata. È il tempo della medicina personalizzata. La medicina di precisione richiede un tipo di trial che metta a fuoco la risposta individuale, e non la media della risposta in una popolazione. I *one-person trials* sono all'apice della gerarchia delle evidenze per gli interventi terapeutici, al pari dei *randomized controlled trials*.⁴
- fine del principio “un probiotico per ogni malattia”: è ormai evidente che singoli probiotici agiscono diversamente nello stesso gruppo di pazienti. Un esempio, tra le ormai diffuse evidenze, è il caso dell'uso di diversi probiotici per la prevenzione della infezione da *Clostridium difficile* nei pazienti ospedalizzati. Se la riduzione del rischio cumulativo risulta del 58% (*cumulative risk ratio* 0,42 [0,30-0,57]), poche sono le specie che da sole sostengono il guadagno;^{4,5} ancora, si pensi alla efficacia dei diversi probiotici nella diarrea indotta da antibiotici, qui osservata quantitativamente con la *network analysis*.⁵
- il numero degli esiti di ogni ricerca va ridotto: quanto maggior è il numero degli esiti valutati nel trial, tanto maggiore è il rischio di un risultato falso positivo. Può facilmente essere dimostrato che se vengono eseguiti *k* test statistici, il rischio di almeno un test che risulti falsamente positivo è 1-0,95. Se la ricerca avvia sei test, il rischio che almeno un test risulti falsamente positivo è del 27%; se si effettuano 10 test, il rischio sale al 40%. Tale nota invita ad inibire nella ricerca e nelle pubblicazioni il cosiddetto *P-hijacking* o *P-fishing*. Il valore della *P*, o la significatività statistica, non misura le dimensioni di un effetto, e non valuta l'importanza del risultato. Torna a ricordarlo la American Statistical Association, che ritiene necessario riportare degli *statement* sull'uso corretto della *P*:⁵ il valore della *P* deve essere considerato soltanto come un “frammento” dell'evidenza, da associare alle conoscenze precedenti, alla plausibilità del meccanismo di azione dell'intervento, al disegno dello studio, alla qualità dei dati, ai costi ed ai benefici che l'intervento potrebbe comportare nel mondo reale;
- il miglior test per la validità di un intervento con probiotici non è la significatività statistica ma la replicabilità del risultato.⁶ In effetti i ricercatori sulla medicina dei probiotici non hanno ancora abbracciato pratiche di controllo della qualità per i loro dati. Ciò renderebbe i risultati più riproducibili, e faciliterebbe l'analisi e l'interpretazione dei dati attraverso ricerche differenti. *Nature* sta promuovendo una vasta campagna in favore della replicabilità dei dati,⁷ e ricorda che si arriverà presto ad evitare di pubblicare risultati privi di conferme esterne: *no publication without confirmation*.⁸

IL MERCATO DEI PROBIOTICI

L'offerta e la presenza sul mercato di integratori, alimenti funzionali e preparati farmaceutici con probiotici è in costante aumento, come dimostrano le proiezioni fino al 2030 del mercato USA (FIGURA 1, 2). Anche il numero di pubblicazioni sui probiotici è in costante incremento. Ma che cosa sono esattamente i probiotici? Consumatori e medici ricevono informazioni generiche che suggeriscono come questi prodotti “facciano bene” e siano comunque utili per la salute. L'evidenza per il loro utilizzo è in crescita e la mancanza di effetti collaterali ne supporta la vasta diffusione. Peraltro, i probiotici sono stati ampiamente studiati e recentemente è stato implementato un database denominato PROBIO per facilitare le conoscenze su l'argomento con informazioni su 448

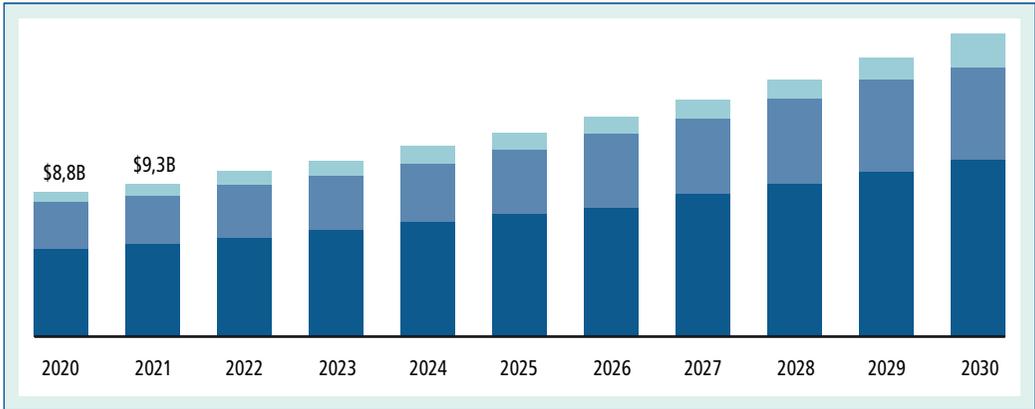


FIGURA 1. Il mercato dei probiotici negli USA.

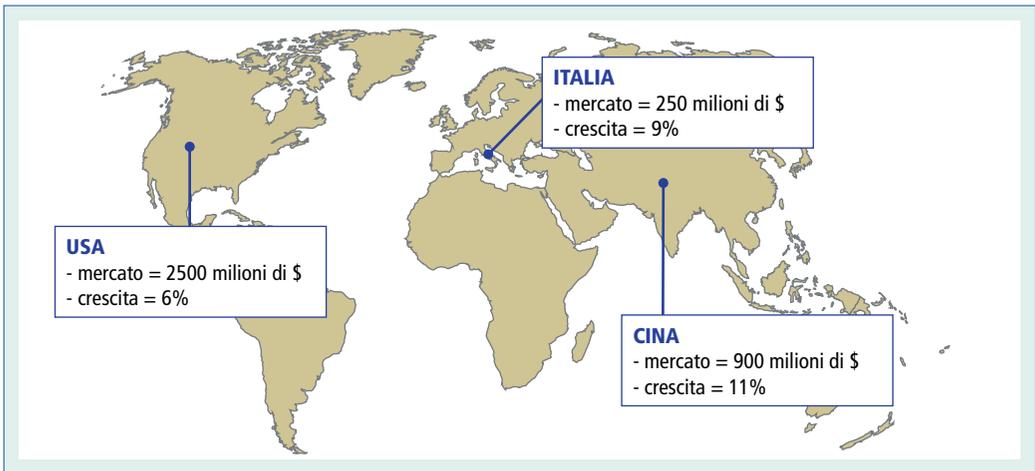


FIGURA 2. Il mercato degli integratori con probiotici nel mondo.

prodotti sul mercato, 167 trial clinici e 382 lavori di ricerca. I dati sono accessibile gratuitamente (<http://bidd2.nus.edu.sg/probio/homepage.htm>). Un'altra interessante pubblicazione ha analizzato i dati sui probiotici identificando ben 2.656.818 voci complessive in PubMed e 205.349 voci per trial clinici.^{9, 10} La **FIGURA 3** mostra il progressivo incremento di trial registrati per probiotici, prebiotici e microbiota. Un'analisi dei trial registrati su *ClinicalTrials.gov* e l'*International Clinical Trials Registry Platform* (ICTRP) dell'Organizzazione Mondiale della Sanità ha mostrato più di 1000 studi clinici. Il numero medio di partecipanti ai trial con probiotici è 74, non diverso da quello di altri trial registrati per altre situazioni.¹⁰ *Lactobacillus rhamnosus* GG (LGG) e *Bifidobacterium animalis ssp. lactis* BB12 sono i ceppi maggiormente studiati. La maggior parte dei trial è stata registrata in USA o Europa (56%). I dati ICTRP mostrano una rapida espansione degli studi in Asia, in particolare in Iran e in Cina.¹¹ Fra gli aspetti più interessanti, è da sottolineare l'incremento significativo negli anni 2001-2019 delle voci "infiammazione" e "disbiosi" (**FIGURA 4**). È anche interessante valutare le principali indicazioni all'utilizzo di probiotici (**FIGURA 5**): appare evidente che cancro, colite, diarrea, disbiosi, infiammazione e malattie infiammatorie croniche intestinali sono le situazioni in cui i probiotici sono stati prevalentemente utilizzati.⁹

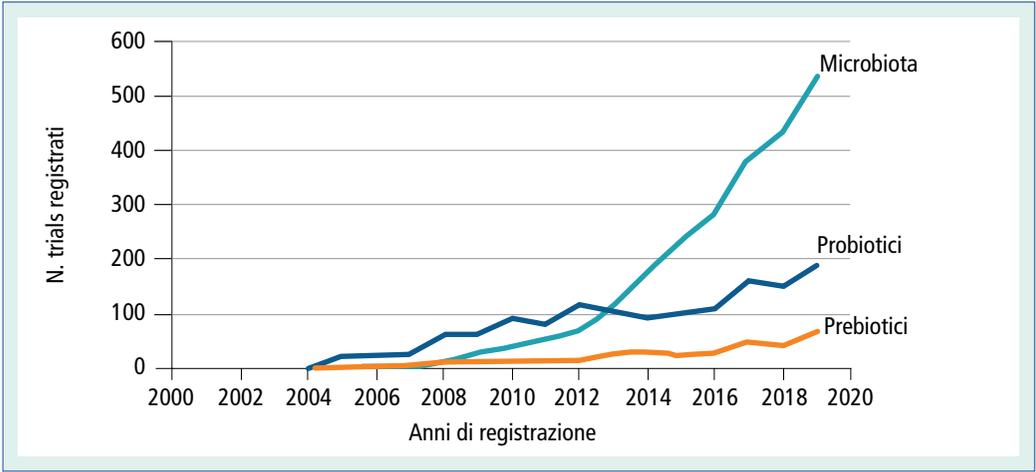


FIGURA 3. Trial registrati con microbiota, probiotici, prebiotici.

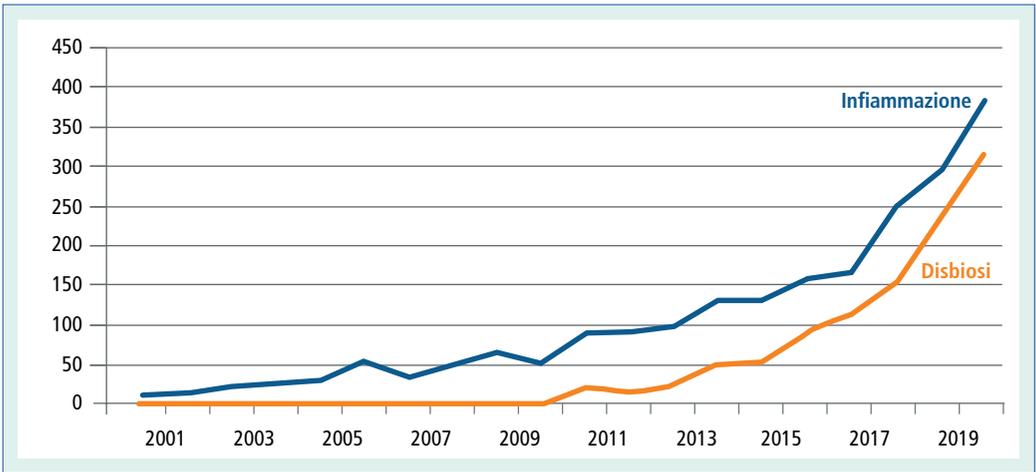


FIGURA 4. Incremento significativo negli anni 2001-2019 delle voci "inflammation" e "dysbiosis".

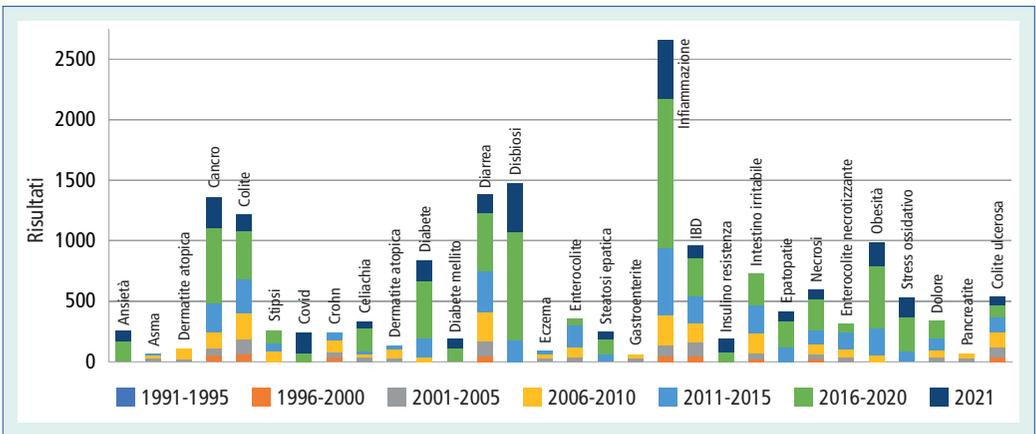


FIGURA 5. Principali indicazioni all'utilizzo di probiotici nella letteratura per anno.

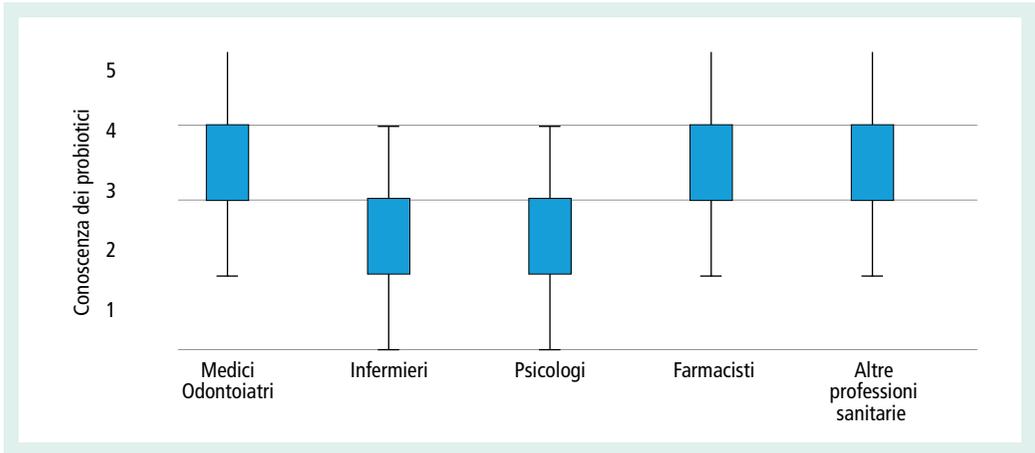


FIGURA 6. Principali utilizzatori di probiotici: autovalutazione della conoscenza dei probiotici da parte del personale sanitario. 1: nessuna; 2: piccola; 3: media; 4: buona; 5: molto buona.

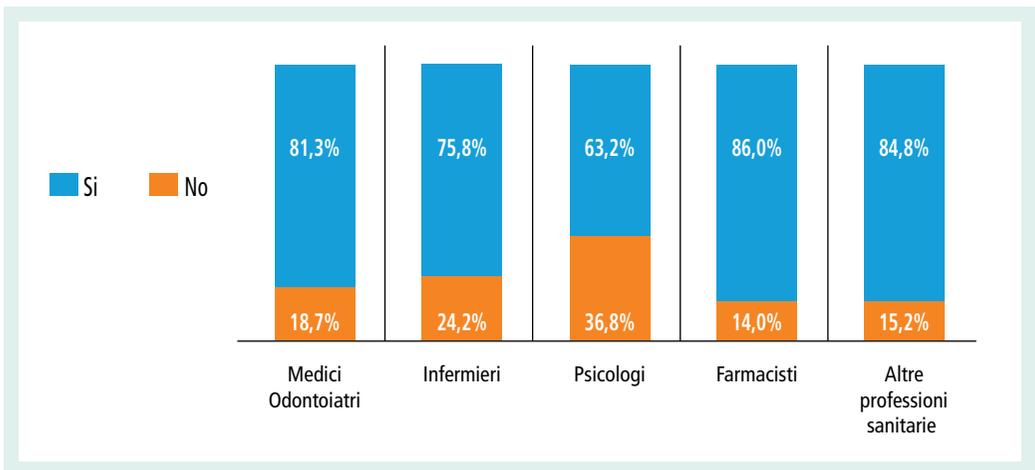


FIGURA 7. Conoscenza dei prodotti probiotici nei professionisti di area medica.

È stato anche condotto un interessante studio *online* per investigare la conoscenza dei probiotici da parte del personale sanitario (FIGURE 6, 7).

Un totale di 1066 professionisti (80,6% donne) di 30 Paesi hanno risposto:¹² la maggior parte valutava la propria conoscenza sui probiotici media (36,4%) o buona (36,2%), soltanto l'8,9% eccellente. I ceppi più conosciuti erano *Lactobacillus acidophilus* (92%), *Bifidobacterium bifidum* (82%), e *Lactobacillus rhamnosus* (62%). L'opinione su quando fosse opportuno assumere probiotici variavano fra 90,2% per l'assunzione durante terapia antibiotica, 83,5% per la diarrea, 70,6% per la stipsi, 63,3% prima di un viaggio, 60,4% per trattare le allergie.

Un'altra interessante indagine ha valutato i sintomi per cui 600 pazienti seguiti da Gastroenterologi hanno assunto i probiotici:¹³ gonfiore addominale piuttosto che diarrea era il principale sintomo per cui erano assunti i probiotici (OR=2,59, IC 95%: 1,52-4,44 per gonfiore; OR=1,03, IC 95% 0,55-1,94 per diarrea). Le ragioni più frequenti per il consumo di probiotici erano la convinzione che potessero migliorare lo stato di benessere e la longevità (54%) migliorando i sintomi gastrointestinali (FIGURE 8, 9).



FIGURA 8. Motivo per cui consumatore assume probiotici: le risposte di 130 soggetti. BMJ Open Gastr 2021;8:e000742.

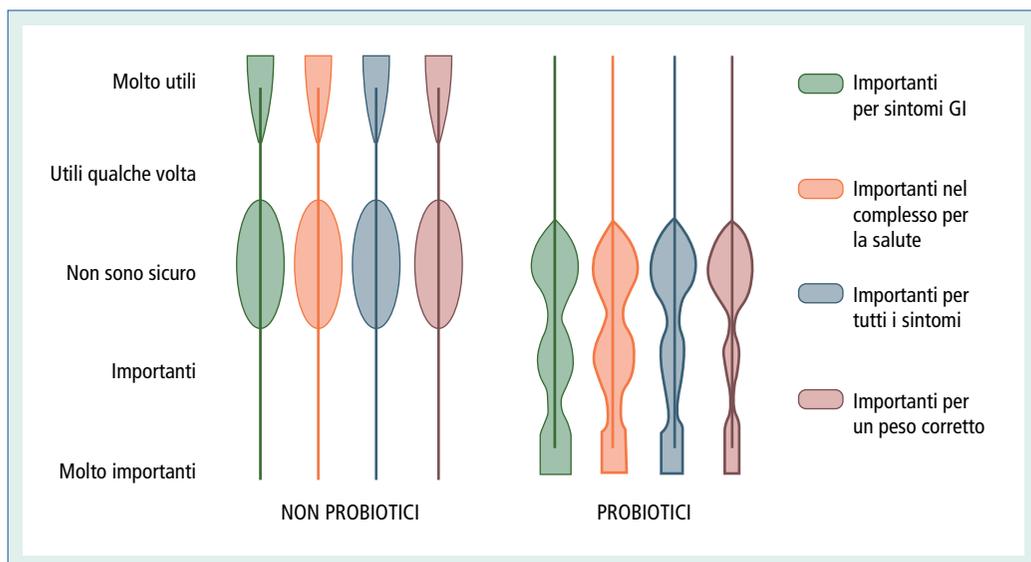


FIGURA 9. Benefici stimati dei probiotici. BMJ Open Gastro 2021;8:e000742

VERSO IL 2030: POSTBIOTICI, METABIOTICI, PARAPROBIOTICI E PROBIOTICI INGEGNERIZZATI

Spesso i probiotici possono essere inefficaci. I motivi per una mancata risposta terapeutica a un trattamento con probiotici della disbiosi possono essere:¹⁴

1. bersaglio sbagliato;
2. probiotico sbagliato o non efficace come sperato;
3. somministrazione in un momento sbagliato;
4. età e situazione nutrizionale del paziente.

In realtà uno dei maggiori problemi nello sviluppo di probiotici efficaci è la limitata quantità di informazioni sul microbiota intestinale e sui prodotti del metabolismo batterico sia nella situazione di salute che nelle malattie. Sono oggi oggetto di ricerca diverse possibilità per superare queste difficoltà: