RIAP

Rivista di Immunologia
e Allergologia Pediatrica
due 2015 ▪ 30-36

letto e commentato

da: Giampaolo Ricci
Clinica Pediatrica, Università di Bologna
E-mail: giampaolo.ricci@unibo.it

World Allergy Organization-McMaster University Guidelines for Allergic Disease Prevention (GLAD-P): Probiotics

A. Fiocchi, R. Pawankar, C. Cuello-Garcia, et al.

World Allergy Organ J 2015;8:4.

Nel commento di questa linea guida [1] ho cercato di mettere in evidenza gli aspetti che possano essere più direttamente correlati o correlabili con la pratica clinica. Vorrei innanzitutto proporre alla riflessione alcuni aspetti legati al metodo, per proseguire poi con alcune considerazioni legate all'aspetto clinico.

A tale scopo è opportuno ripercorre il percorso proposto dagli estensori che si sono posti tre quesiti: l'uso dei probiotici nella prevenzione delle malattie allergiche è opportuno nelle donne in gravidanza (primo quesito); nelle donne che allattano (secondo quesito) e nei lattanti sani (terzo quesito).

Questi quesiti sono stati approcciati seguendo il *Grading of Reccomendations Assessment, Development and Evaluation* (GRADE) [2], con una revisione sistematica di studi clinici randomizzati controllati cui hanno fatto seguito le raccomandazioni. In sintesi, il metodo GRADE ha come scopo la definizione di un metodo rigoroso ed esplicito per la produzione di raccomandazioni cliniche, partendo dal presupposto che per prendere decisioni in campo sanitario è necessario conoscere vantaggi e svantaggi, benefici e rischi di un intervento; inoltre prevede un approccio strutturato in 3 fasi principali: a) formulazione di un quesito clinico con scelta e valutazione formale degli outcome ad esso correlati; valutazione sistematica della letteratura scientifica e della qualità delle prove reperite; b) valutazione di benefici e rischi associati all'intervento considerando le preferenze dei pazienti, la fattibilità e l'impiego di risorse necessario; c) definizione formale della forza della raccomandazione.

Sotto il profilo metodologico si deve segnalare che le raccomandazioni, come chiaramente spiegato nella parte introduttiva della linea guida, sono dirette ai pazienti, ai clinici e ai politici del settore sanitario con diversi obiettivi; ogni raccomandazione può avere livelli di forza differenti: raccomandazione forte indica che i pazienti vorrebbero fosse attuata, e i clinici dovrebbero attuarla. Raccomandazione condizionale o debole indica che la maggior parte dei pazienti vorrebbero ricevere l'intervento, ma molti non lo vorrebbero, come pure auspica che i clinici riconoscano che scelte diverse possono essere appropriate per pazienti diversi, avvalendosi in questo di strumenti decisionali per aiutare i pazienti a fare scelte coerenti.

Nella descrizione dei risultati viene detto che "le prove di efficacia attualmente disponibili non indicano che la supplementazione di probiotici riduca il rischio di sviluppare allergie nei bambini. Tuttavia considerati gli outcome critici in questo contesto, il panel WAO che ha formulato le linee guida, ha stabilito che l'uso di probiotici porta un netto beneficio derivante principalmente dalla prevenzione dell'eczema".

Quest'ultima, a mio avviso, è la frase che merita un commento approfondito visto che sembra contrastare il significato della frase precedente e che modifica l'atteggiamento finora assunto da altre linee guida compreso quella recente dell'EAACI [3]. Per la prevenzione primaria delle altre patologie allergiche (asma, allergia alimentare, rinite) invece, viene confermato la assenza di prove di efficacia nell'utilizzo dei probiotici.

Per commentare meglio questa frase sono partito dalla descrizione delle prove di efficacia (GRADE) presenti

L'Autore dichiara di non avere alcun conflitto di interesse rispetto agli argomenti trattati nell'articolo.

nell'appendice 2 – Quesito 1: nelle donne in gravidanza, per la prevenzione delle allergie nei loro bambini si devono usare i probiotici o no? In questa appendice vengono dichiarati quanti studi sono stati selezionati per giungere a questo risultato per ognuno degli obiettivi clinici: per la prevenzione dell'eczema sono stati considerati 15 studi randomizzati.
Il commento a questo quesito è applicabile anche agli altri 2 quesiti suddetti in quanto gli stessi studi, in gran parte, sono stati selezionati per la revisione critica.
Come clinico, ho ritenuto opportuno riguardare questi singoli lavori per cercare di comprendere meglio i risultati del quesito. Ho pertanto riportato in due tabelle (Tabb. I, II) le caratteristiche cliniche che dovrebbero meglio chiarire come si è arrivati a queste conclusioni.
Una osservazione preliminare per i 15 lavori considerati [4-18]: tutti i lavori, randomizzati contro placebo, sono stati pubblicati fra il 2001 e il 2012, quindi in un periodo abbastanza ristretto per poter bene essere confrontati.
Bisogna segnalare che il lavoro di Rautava et al. (2002) [5] analizza un sottogruppo di pazienti di un precedente lavoro di Kalliomaki et al. (2001) [4], cosi come quello di Marschan et al. (2008) [9] analizza un sottogruppo di pazienti studiati nel lavoro di Kukkonen et al. (2007) [7].
Nella scelta dei soggetti cui proporre la prevenzione quasi tutti i lavori hanno optato per indagare soggetti in cui fosse presente una familiarità allergica significativa indicando con ciò che i possibili beneficiari di un intervento con probiotici dovrebbero essere i soggetti a rischio.
Il numero complessivo di soggetti eligibili negli studi è rilevante, ma il tipo di probiotico studiato o l'associazione di probiotici è ampiamente differente e, come sottolineano gli Autori, ci troviamo di fronte ad una « eterogeneità degli interventi, … per cui non è stato possibile analizzare gli effetti in modo separato per ciascun gruppo … e non è stato possibile analizzare gli effetti delle singole specie e/o dei singoli ceppi di probiotici".
Questo aspetto, chiaramente messo in luce dalla linea guida, merita una considerazione particolare. Nel termine probiotici sono compresi tutti i batteri che svolgono una azione positiva; in pratica sono organismi vivi che, somministrati in quantità adeguata, apportano un beneficio alla salute dell'ospite, ma la cui modalità di azione può essere diversa. Questo dato, che già gli Autori sottolineano, implica che bisogna verificare se la azione di questi probiotici è uguale oppure esistono differenze di azione. Poiché la letteratura è vasta, riporto a titolo di esempio, solo alcuni dati relativi al *Lactobacillus rhamnosus,* che è stato quello più utilizzato.
In un recente lavoro è stata effettuata una analisi genomica e funzionale comparativa su 100 ceppi di *Lactobacillus rhamnosus* isolati da differenti fonti sia alimentari che habitat del corpo umano (cavità orale, intestino, vagina) [19]; sono stati identificati un ampio range di fenotipi legati a diverse proprietà funzionali, che gli Autori hanno raggruppato in due prevalenti geno-fenotipi (A e B). Il geno-fenotipo A sembra adattarsi stabilmente ad una nicchia ricca di nutrienti come i derivati del latte, ma con una perdita di alcune funzioni biologiche legate alla attività antimicrobica, alla resistenza e alla capacità di adattarsi a diversi habitat. Il geno-fenotipo B mostra invece una maggiore capacità di adattarsi ad habitat diversi con risorse e nutrienti differenti ed diversi effetti sull'ospite.
Uno studio che analizza il rapporto fra carie dentaria e *Lactobacillus rhamnosus* ha evidenziato un ruolo probabilmente causale di due ceppi [20]: il *Lactobacillus rhamnosus LRHMDP2 e LRHMDP3* sono stati isolati nella polpa dentaria e da una analisi dei loro geni emergono differenze rispetto al probiotico *Lactobacillus rhamnosus GG (ATCC 53103*) che non è invece implicato in tale patogenesi.
Anche un confronto fra ceppi di *Lactobacillus* isolati da prodotti caseari del mercato *Lactobacillus rhamnosus GG (ATCC53103), Lactobacillus rhamnosus LrV, Lactobacillus rhamnosus LrI, Lactobacillus casei BL23 (ATCC393) Lactobacillus casei LcY, Lactobacillus casei LcA,* ha mostrato differenti profili genomici, nonché diverse capacità funzionale nel metabolismo glucidico e nella capacità di adesione al muco intestinale [21].
Questo, a mio avviso, come anche sottolineano gli Autori è un punto critico per la definizione della qualità delle prove definita *molto bassa*.
Gli studi selezionati hanno utilizzato ceppi differenti con varie combinazioni: questo deve portare a considerare la possibilità di differenti azioni e interazioni a livelli intestinale, con risultati che potrebbero essere divergenti fra le diverse combinazioni. Il *Lactobacillus rhamnosus GG (ATCC 55103)* è stato comunque il probiotico più studiato da solo o in associazione, ma una analisi di soli questi lavori sarebbe insufficiente.

Tabella I. Principali caratteristiche di arruolamento nei 15 studi selezionati relativi alla comparsa di eczema, per la metanalisi al quesito 1 della linea guida: nelle donne in gravidanza si devono usare i probiotici o no?

Autore	Soggetti a rischio di allergia	N casi	Tipo di probiotico	Durata terapia con probiotici antepartum	Durata terapia negli allattati al seno (mesi)	Durata terapia negli allattati con latte in formula (mesi)
Kalliomaki et al. 2001 [4]	Sì	159	*Lactobacillus rhamnosus GG (ATCC 55103)*	2-4 settimane	6 mesi	6 mesi
Rautava et al. 2002 [5] (1)	Sì	62	*Lactobacillus rhamnosus GG (ATCC 53103)*	4 settimane	3 mesi	3 mesi
Abrahamsson et al. 2007 [6]	Sì	232	*Lactobacillus reuteri (ATCC55730)*	4 settimane	12	12
Kukkonen et al. 2007 [7]	Sì	1223	*Lactobacillus rhamnosus GG (ATCC 55103) Lactobacillus rhamnosus LC705 (DSM7061) Bifidobacterium breve Bb99 (DSM13692), Propionibacterium freudenreichiii ssp shermanii JS (DSM7076)*	2-4 settimane	6 mesi	6 mesi
Huurre et al. 2008 [8]	Sì	171	*Lactobacillus rhamnosus GG (ATCC 55103) Bifidobacterium lactis Bb12*	6 mesi	Fine dell'allattamento	-
Marschan et al. 2008 [9](2)	Sì	98	*Lactobacillus rhamnosus GG (ATCC 55103) Lactobacillus rhamnosus LC705 (DSM7061) Bifidobacterium breve Bb99 (DSM13692), Propionibacterium freudenreichiii ssp shermanii JS (DSM7076)*	2-4 settimane	6 mesi	6 mesi
Wickens et al. 2008 [10]	Sì	512	*Lactobacillus rhamnosus HN001, Bifidobacterium animalis subspec lactis HN019*	5 settimane	6 mesi	24 mesi
Kopp et al. 2008 [11]	Sì	105	*Lactobacillus rhamnosus GG (ATCC 53103)*	4-6 settimane	6 mesi	6 mesi
Niers et al. 2009 [12]	Sì	156	*Bifidobacterium bifidum W23, Bifidobacterium lactis W52 Lactococcus lactis W58*	6 settimane		12 mesi
Dotterud et al. 2010 [13]	No	415	*Lactobacillus rhamnosus GG, Bifidobacterium animalis subsp.Bb-12, Lactobacillus acidophilus La-5*	4 settimane	3 mesi	
Kim et al. 2010 [14]	Sì	112	*Bifidobacterium bifidum BGN4 Bifidobacterium lactis AD011, Lactobacillus acidophilus AD031*	8 settimane	3 mesi	Da 4 a 6 mesi
Boyle et al. 2011 [15]	Sì	250	*Lactobacillus rhamnosus GG (ATCC 53103)*	4 settimane		
Ou et al. 2012 [16]	Sì (materna)	191	*Lactobacillus rhamnosus GG (ATCC 53103)*	4 mesi	6 mesi	6 mesi
Allen et al. 2012 [17]	Maggior parte	454	*Lactobacillus salivarius CUL61 Lactobacillus paracasei CUL08 Bifidobacteriums animalis, sublactis CUL34 Bifidobacterium bifidum CUL20*	4 settimane	6 mesi	6 mesi
Rautava et al. 2012 [18]	Sì	241	*Lactobacillus rhamnosus LPR + Bifidobacterium longum (ATCC BAA-999) o Lactobacillum paracasei ST11 + Bifidobacterium longum (ATCC BAA-999)*	2 mesi	2 mesi	

(1) analisi di un sottogruppo del precedente lavoro di Kalliomaki et al. [4]
(2) analisi di un sottogruppo del precedente lavoro di Kukkonen et al. [7]

La durata della terapia nell'ultimo periodo di gravidanza è abbastanza omogenea in tutti gli studi con un valore fra le 2 e le 6 settimane prima della data prevista del parto.
Nella Tabella II sono invece riportate le principali caratteristiche cliniche associate alla diagnosi di eczema nei 15 studi selezionati utilizzati per l'analisi statistica al quesito 1 della linea guida. La durata prevalente del follow-up è di 24 settimane, durata che per la comparsa della dermatite atopica è congrua in quanto la maggior parte delle forme esordisce entro 24 mesi. I criteri utilizzati per la diagnosi di eczema atopico sono stati quelli più diffusamente riconosciuti dalla letteratura: cioè quelli di Hanifin e Rajka [22] e dell'UK-Working Party's [23]. Il numero di soggetti presenti alla fine del follow-up supera in genere l'80% di quelli arruolati, quindi dati decisamente buoni per essere analizzati statisticamente.
Più difficile è valutare i risultati relativi alla comparsa di eczema in cui la letteratura ha identificato almeno due fenotipi clinici: quello IgE-associato e quello non IgE-associato, fenotipi che hanno caratteristiche cliniche diverse specie in relazione alla evoluzione verso le altre malattie allergiche. Le forme IgE-associate, specie in presenza di sensibilizzazione verso allergeni inalanti, sono quelle in cui si riscontra una evoluzione in rinite e asma allergico. I dati riportati in tabella 2, alla fine del follow-up comprendono 13 lavori (escludendo i due lavori suddetti [5 9] che analizzano un sottogruppo di un lavoro più ampio [4 7]) di cui 6 lavori [4 7 10 13 14 18] con significatività statistica (cioè dimostrano che nel gruppo trattato con probiotici vi è una riduzione nella percentuale di comparsa dell'eczema rispetto al placebo) ma 8 lavori [6 8 10-12 15-17] in cui l'analisi statistica non è significativa (lo studio di Wickens et al. [10] viene contato due volte in quanto il gruppo trattato con *Lactobacillus rhamnosus HN001* evidenzia una significatività statistica mentre quello trattato con *Bifidobacterium animalis subspec lactis HN019* non ha nessuna significatività).
La analisi ristretta alla comparsa di eczema IgE-associato è possibile per 7 lavori: in 4 studi casi si osserva una significatività statistica [6 7 10 17] mentre in 4 casi non vi è [10 12 13 14] (contando sempre doppio il lavoro di Wickens et al. [10]).
Infine la analisi della presenza di una sensibilizzazione allergica valutata mediante IgE specifiche e/o Skin Prick Test è significativa solo in due casi, mentre negli altri 13 non lo è.
Un elemento importante nella lettura di questa linea guida è quello legato alla segnalazione di effetti avversi, analisi che comprendeva anche una ampia revisione di uno studio della Health Techonlogy Assessment [24,] dove, pur con tutti i limiti indicati, non vi erano segnalazioni di importanti effetti avversi e comunque non un aumento del rischio. Da segnalare infine che gli eventi avversi riportati in questi 15 lavori sono di lieve entità clinica e a breve termine senza sostanziali differenze rispetto al placebo.

Conclusioni

Questa linea guida indicano che non vi sono prove di efficacia nella supplementazione di probiotici nella prevenzione primaria delle allergie. La raccomandazione 1 del panel WAO suggerisce "di usare i probiotici nelle donne in gravidanza i cui figli sono ad alto rischio di allergie, perché considerati tutti gli outcomes critici, vi è un netto beneficio derivante principalmente dalla prevenzione dell'eczema (raccomandazione condizionale, qualità delle prove molto bassa)", raccomandazione che viene ripetuta per l'eczema anche per gli altri due quesiti indagati.
Si conferma un profilo di sicurezza elevato visto il basso numero di effetti avversi segnalati. "Il netto beneficio" evidenziato nella prevenzione dell'eczema mi sembra eccessivamente ottimistico visto la ampia eterogeneità degli interventi e la mancata coerenza dei risultati nella analisi statistica. Tuttavia con il sistema GRADE vengono presi in considerazioni aspetti che tengono conto che "bisogna aiutare ogni paziente a giungere a una decisione coerente con i suoi valori e le sue preferenze". Nondimeno pur non escludendo la possibilità di un loro utilizzo in situazioni particolari come una familiarità allergica importante di eczema, non ritengo che si possa estendere e generalizzare tale utilizzo preventivo.
Malattie allergiche ed eczema sono un puzzle complesso dove interagiscono numerosi fattori, difficili da separare ma i cui effetti si sviluppano a distanza di molto tempo pertanto complessi da dimostrare. La linea guida è comunque una sintesi scientifica che ci permette di cogliere i limiti di alcuni studi e dove trarre spunti positivi per nuove ricerche. Ritengo che nuovi trial possano trarre spunto da queste conclusioni, ma ancora non è arrivato il momento di proporre tale approccio preventivo in modo generalizzato.

Tabella II. Principali caratteristiche cliniche associate alla diagnosi di eczema nei 15 studi selezionati utilizzati per l'analisi statistica al quesito 1 della linea guida. (H-R: Hanifin e Rajka; UK-WP: UK Working Party; Pl: Placebo; SPT: skin prick test; IgEs: IgE specifiche)

	Autori	Durata Follow up	Criteri per diagnosi di eczema	Presenti a fine follow up
1	Kalliomaki et al. 2001 [4]	24	Harrigan, 1999	64/77 68/82 (Pl)
2	Rautava et al. 2002 [5] (1)	24	Harrigan, 1999	32 30 (Pl)
3	Abrahamsson et al. 2007 [6]	24	H-R	95/117 93/115(Pl)
4	Kukkonen et al. 2007 [7]	24	UK-WP	461/610 464/613 (Pl)
5	Huurre et al. 2008 [8]	12	H-R	72 68 (Pl)
6	Marschan et al. 2008 [9](2)	24	UK-WP	52 46(Pl)
7	Wickens et al. 2008 [10]	24	UK-WP	144/157 152/158 150/159 (Pl)
8	Kopp et al. 2008 [11]	24	UK-WP	50/54 44/51(Pl)
9	Niers et al. 2009 [12]	24	H-R	50/78 48/78(Pl)
10	Dotterud et al. 2010 [13]	24	UK-WP	138/211 140/204(Pl)
11	Kim et al. 2010 [14]	12	H -R	33/57 35/55 (Pl)
12	Boyle et al. 2011 [15]	12	UK-WP	109/125 103/125 (Pl)
13	Ou et al. 2012 [16]	36		65/95 63/96 (Pl)
14	Allen et al. 2012 [17]	24	Clinica	187/220 172/234(Pl)
15	Rautava et al. 2012 [18]	24	H-R	73/81 (Lrha) 70/82 (Lpar) 62/78(Pl)

* eczema persistente P < 0,003; (1) analisi di un sottogruppo del precedente lavoro di Kalliomaki et al. [4]
(2) analisi di un sottogruppo del precedente lavoro di Kukkonen et al. [7]

	Eczema presente			Sensibilizzazione	
	Probiotico	Placebo	P value	%	P value
	15/64 23%	31/68 46%	0,008	(IgE s) 27% *vs* 25% (Pl) (SPT) 18% *vs* 14% (Pl)	 NS NS
	4/27 15%	14/30 47%	0,0098	(IgEs) 28% *vs* 37% (Pl) (SPT) 23% *vs* 21% (Pl)	 NS NS
	36% IgE-Ecz 8%	34% IgE-Ecz 20%	NS 0,02	(igEs) 37% *vs* 48% (SPT) 18% *vs* 29%	 NS NS
	26% IgE-Ecz 12,4%	32,3% IgE-Ecz 17,7%	0,035 0,025	(IgEs e/o SPT) 28% *vs* 31,2 (Pl)	 NS
	9,7%	17,6%	NS	29% vs 31% (Pl) Sottogrup. con madre sensilizz. 26% *vs* 50% (Pl)	NS 0,023
	31%	39%		(IgEs) 35% *vs* 26% (Pl)	
	Lr 14,8% *Bl* 24,2% IgE-Ecz *Lr* 9,9% *Bl* 12,8%	26,8% 18,5%	0,03 NS 0,04 NS	(SPT) Lr 21,3% e Bl 23,5% *vs* 28,8% (Pl)	 NS
	28%	27,3%	NS	(IgEs x inalanti) 8% *vs* 11,3% (Pl)	 NS
	(Question) 3 mesi 12% 24 mesi 54% (Medico) 3 mesi 6% IgE-ecz 20%	(Question) 3 mesi 29% 24 mesi 68,7% (Medico) 3 mesi 21% IgE-ecz 16,6%	 0,035 0,05 0,021 NS	(IgEs o SPT) 20% *vs* 14,6% (Pl)	 NS
	21% IgE-Ecz 6,9% NonIgE-Ecz 13%	34,3% IgE-Ecz 7,5% NonIgE-Ecz 25,6%	0.022 NS 0,009	(IgEs o SPT) 15,3% *vs* 11,3% (Pl)	 NS
	36,4% IgE-ecz 9,7%	62,9% IgE-ecz 20,7%	0,029 NS	(IgEs) 38,/% *vs* 51,7% (Pl)	 NS
	32%	42%	NS	(SPT) 33% *vs* 33%(Pl)	 NS
	6 mesi 33,3% 18 mesi 25% 36 mesi 24,6%	6 mesi 23,6 18 mesi 17,7% 36 mesi 25%	 NS NS NS	Sintomi allergici 47,7% *vs* 46,9% (Pl)	 NS
	34,1% IgE-ecz 5,3%	32,4% IgE-ecz 12,1%	NS 0,024	10,5% *vs* 18,5%	0,036
	29% (10%)* 29% (6%)*	71% (26%)*	0,001 0,001	(SPT) 22% 26% 26% (Pl)	NS

Bibliografia

1. Fiocchi A, Pawankar R, Cuello-Garcia C, et al. World Allergy Organization-McMaster University Guidelines for Allergic Disease Prevention (GLAD-P): Probiotics. World Allergy Organ J 2015;8:4.
2. Atkins D, Best D, Briss PA, et al. GRADE Working Group. Grading quality of evidence and strength of recommendations. BMJ 2004;328:1490.
3. Muraro A, Halken S, Arshad SH, et al. EAACI food allergy and anaphylaxis guidelines. Primary prevention of food allergy. Allergy 2014;69:590-601.
4. Kalliomaki M, Salminen S, Arvilommi H, et al. Probiotics in primary prevention of atopic disease: A randomised placebo-controlled trial. Lancet 2001;357:1076-9.
5. Rautava S, Kalliomaki M, Isolauri E. Probiotics during pregnancy and breastfeeding might confer immunomodulatory protection against atopic disease in the infant. J Allergy Clin Immunol 2002;109:119-21.
6. Abrahamsson TR, Jakobsson T, Bottcher MF, et al. Probiotics in prevention of IgE-associated eczema: a double-blind, randomized, placebo-controlled trial. J Allergy Clin Immunol 2007;119:1174-80.
7. Kukkonen K, Savilahti E, Haahtela T, et al. Probiotics and prebiotic galacto-oligosaccharides in the prevention of allergic diseases: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. J Allergy Clin Immunol 2007;119:192-8.
8. Huurre A, Laitinen K, Rautava S, et al. Impact of maternal atopy and probiotic supplementation during pregnancy on infant sensitization: a double-blind placebo-controlled study. Clin Exp Allergy 2008;38:1342-8.
9. Marschan E, Kuitunen M, Kukkonen K, et al. Probiotics in infancy induce protective immune profiles that are characteristic for chronic low-grade inflammation. Clin Exp Allergy 2008;38:611-8.
10. Wickens K, Black PN, Stanley TV, et al. A differential effect of 2 probiotics in the prevention of eczema and atopy: A double-blind, randomized, placebo-controlled trial. J Allergy Clin Immunol 2008;122:788-94.
11. Kopp MV, Hennemuth I, Heinzmann A, et al. Double-blind, placebo-controlled trial of probiotics for primary prevention: no clinical effects of Lactobacillus GG supplementation. Pediatrics 2008;121:e850-6.
12. Niers L, Martin R, Rijkers G, et al. The effects of selected probiotic strains on the development of eczema (the PandA study). Allergy 2009;64:1349-58.
13. Dotterud CK, Storro O, Johnsen R, et al. Probiotics in pregnant women to prevent allergic disease: a randomized, double-blind trial. Br J Dermatol 2010;163:616-23.
14. Kim JY, Kwon JH, Ahn SH, et al. Effect of probiotic mix (Bifidobacterium bifidum, Bifidobacterium lactis, Lactobacillus acidophilus) in the primary prevention of eczema: a double-blind, randomized, placebo-controlled trial. Pediatr Allergy Immunol 2010;21:e386-93.
15. Boyle RJ, Ismail IH, Kivivuori S, et al. Lactobacillus GG treatment during pregnancy for the prevention of eczema: a randomized controlled trial. Allergy 2011;66:509-16.
16. Ou CY, Kuo HC, Wang L, et al. Prenatal and postnatal probiotics reduces maternal but not childhood allergic diseases: A randomized, double-blind, placebo-controlled trial. Clin Exp Allergy 2012;42:1386-96.
17. Allen SJ, Jordan S, Storey M, et al. Probiotics and atopic ECZEMA: A double-blind randomised controlled trial. Arch Dis Child 2012;97:A2.
18. Rautava S, Kainonen E, Salminen S, et al. Maternal probiotic supplementation during pregnancy and breast-feeding reduces the risk of eczema in the infant. J Allergy Clin Immunol 2012;130:1355-60.
19. Douillard FP, Ribbera A, Kant R, et al. Comparative genomic and functional analysis of 100 Lactobacillus rhamnosus strains and their comparison with strain GG. PLoS enet 2013;9(8).
20. Nadkarni MA, Chen Z, Wilkins MR, et al. Comparative genome analysis of *Lactobacillus rhamnosus* clinical isolates from initial stages of dental pulp infection: identification of a new exopolysaccharide cluster. PLoS One 2014;9(3).
21. Douillard FP, Kant R, Ritari J, et al. Comparative genome analysis of *Lactobacillus casei* strains isolated from Actimel and Yakult products reveals marked similarities and points to a common origin. Microb Biotechnol 2013;6:576-87. Erratum in: Microb Biotechnol 2014;7:85.
22. Hanifin JM, Rajka G. Diagnostic features of atopic dermatitis. Acta Derm Venereol Suppl (Stockh) 1980;59:44-7.
23. Williams HC, BurneyPGJ, Pembroke AC, et al. The U.K. Working Party's diagnostic criteria for atopic dermatitis. III. Independent hospital validation. Br J Dermatol 1994c;131:406-16.
24. Hempel S, Newberry SJ, Maher AR, et al. Probiotics for the prevention and treatment of antibiotic-associated diarrhea: a systematic review and meta-analysis. JAMA 2012;307:1959-69.