

Lactobacillus paracasei CBA L74 e malattie infettive minori: risultati di uno studio randomizzato controllato italiano

Nocerino R, Paparo L, Terrin G, et al.

Cow's milk and rice fermented with *Lactobacillus paracasei* CBA L74 prevent infectious diseases in children: A randomized controlled trial

Clin Nutr. 2017;36(1):118-125

Metodo

Obiettivo (con tipo studio)

Trial clinico randomizzato, in doppio cieco, multicentrico, con l'obiettivo di valutare la frequenza di infezioni comuni in bambini frequentanti comunità educative (asilo nido o scuola materna) durante l'utilizzo di specifici alimenti fermentati con il batterio *L. paracasei* CBA L74.

Popolazione

Bambini sani di età compresa tra 12-48 mesi che frequentano asilo nido e scuola materna per almeno 5 giorni la settimana, reclutati da pediatri di libera scelta in Italia.

Criteri di esclusione: età inferiore ai 12 mesi o superiore ai 48 mesi, malattie croniche, difetti cardiaci congeniti, malformazioni del tratto respiratorio, urinario o gastrointestinale, interventi chirurgici del tratto respiratorio, urinario o gastrointestinale, allergia alimentare comprovata o sospetta, malnutrizione, uso di probiotici, antibiotici o immunostimolatori nelle 2 settimane precedenti l'arruolamento.

Intervento

Supplementazione quotidiana per 3 mesi durante la stagione invernale di 7 g di prodotto dietetico in polvere derivato rispettivamente da: gruppo A (allocati 144 bambini): latte di mucca fermentato con *L. paracasei* CBA L74 (5.9x 10⁹ UFC/g); gruppo B (allocati 144 bambini): riso fermentato con *L. paracasei* CBA L74 (5.9x 10⁹ UFC/g).

Controllo

Gruppo C (allocati 144 bambini): placebo ovvero maltodestrine, di simile contenuto energetico e confezione.

Outcome/Esiti

L'outcome principale è la proporzione di bambini che presentavano almeno un episodio di infezione di comunità (CID). La diagnosi è stata posta dal pediatra di famiglia secondo definizioni standardizzate.

Outcome secondari: proporzione di bambini con CID ricorrenti (≥ 3 episodi), numero totale di CID, uso di farmaci (antipiretici, antibiotici, steroidi), visite in Pronto Soccorso, visite dal pediatra di famiglia e ospedalizzazioni. Inoltre è stato confrontato il dosaggio di marker fecali dell'immunità innata (α e β -defensine e cathelicidina LL-37) e acquisita (IgA secretorie). È stata registrata la comparsa di eventi avversi.

Tempo

Lo studio si è svolto da Gennaio a Marzo 2012.

Risultati principali

Sono stati arruolati 391 bambini (età media 32 mesi) di cui 377 (193 maschi) hanno completato lo studio (137 nel gruppo A, 118 nel gruppo B, 122 nel gruppo C). Al momento dell'arruolamento non presentavano sintomi di infezioni respiratorie e non erano febbrili. Nessuno di loro era stato vaccinato contro il rotavirus e contro l'influenza. L'analisi dei risultati è stata condotta secondo l'intention-to-treat per l'outcome primario, assegnando l'evento peggiore (un episodio di CID) ai 14 bambini con dati mancanti. La proporzione dei bambini che si sono ammalati è risultata essere minore nei due gruppi di intervento (51.8% nel gruppo A, 65.9% nel gruppo B) rispetto al gruppo placebo (80.3%): la riduzione del numero di episodi è stata quantificata come absolute risk difference ed è risultata essere -29% (IC 95% -39%, -18%, $p < 0.001$) confrontando il gruppo A con il gruppo C e -14% (IC 95% -25%, -4%, $p < 0.01$) se il confronto era fra il gruppo B e il gruppo C. Questi risultati corrispondono ad un NNT=3 per il gruppo A e NNT=7 per il gruppo B vs gruppo C. la proporzione di bambini che ha presentato almeno un episodio di gastroenterite acuta è risultata minore nei due gruppi di intervento (13.1% nel gruppo A, 19.5% nel gruppo B) rispetto al gruppo placebo (31.1%). Durante il periodo di studio la probabilità di ricevere un trattamento farmacologico è stato significativamente più basso nei due gruppi di intervento rispetto al gruppo placebo (gruppo A: OR 0.26, IC 95% 0.15, 0.43; gruppo B: OR 0.55, IC 95% 0.33, 0.91). Inoltre il 37% dei bambini nel gruppo C ha presentato infezioni ricorrenti contro il 10% del gruppo A e 22% del gruppo B ($p < 0.001$). Inoltre, sono risultati aumentati alcuni indicatori dell'immunità acquisita e innata nei due gruppi di intervento rispetto al gruppo placebo a 3 mesi rispetto ai valori di base, mentre si è osservata una correlazione negativa tra la presenza di questi indicatori ed il rischio di malattie infettive.

Conclusioni

L'uso di prodotti alimentari fermentati con *L. paracasei* CBA L74 può essere raccomandato come una strategia valida nella prevenzione di malattie infettive nei bambini che frequentano asili e scuole dell'infanzia, agendo verosimilmente attraverso la stimolazione dell'immunità innata e acquisita.

Altri studi sull'argomento

La ricerca oggetto di questa scheda è rivolta all'esame di una efficacia sulla salute del bambino di un alimento fermentato. In questo caso l'alimento non è arricchito con un probiotico, ma viene utilizzato un batterio per favorire la fermentazione del latte (di riso o di vacca) e successivamente viene inattivato, pur rimanendo presente nell'alimento. Il batterio si ritrova intero ma non vivo nell'alimento finale: in questo caso non possiamo parlare di alimenti con probiotici ma di alimenti funzionali. Questa particolare categoria di alimenti non ha un riconoscimento ufficiale da parte degli enti governativi e manca una legislazione ad hoc. Una definizione e descrizione di questi alimenti è offerta dal **Glossario [1-3]**. Una pubblicazione del 2014 ha descritto gli effetti nella sperimentazione in vitro e in vivo degli alimenti prodotti utilizzando il *L. paracasei* CBA L74, sottolineando la capacità, dopo aver assimilato questi prodotti, di favorire la inibizione della produzione di citokine proinfiammatorie ma non di quella antinfiammatorie. Questi effetti sarebbero causati non dal batterio inattivato ma dalle componenti metaboliche prodotte dai processi della fermentazione. Sarebbe presente, inoltre, una particolare sensibilità alla protezione dell'apparato enterico verso i microrganismi patogeni enterici. La presenza del batterio inattivo, ossia morto, offre una garanzia e una ulteriore sicurezza per l'alimentazione umana [4]. Una revisione sistematica aggiornata al giugno 2015 sull'utilizzo di formule a base di latte fermentato indica l'assenza di chiari benefici (prevenzione allergia, crescita, diarrea acuta), sebbene non possano essere esclusi miglioramenti sulla sintomatologia gastrointestinale (sonno disturbato, rigurgiti, singhiozzo, coliche). La revisione documenta inoltre l'assenza di effetti negativi sulla salute [5]. Uno studio prospettico ha misurato gli effetti di una supplementazione di latte fermentato tre volte al giorno dalla nascita per 6 settimane con *L. casei* DN114001 vivo rispetto a un gruppo di controllo che assumeva lo stesso latte fermentato ma con la presenza dei batteri inattivati. Su 104 madri partecipanti, il trial ha provato che l'assunzione da parte della mamma del latte fermentato con la presenza dei probiotici era associata a una più bassa incidenza di disturbi gastrointestinale e a un minore utilizzo di farmaci nel lattante dai 2 ai 6 mesi di vita. Non sono state tuttavia rilevate differenze nello stato immunitario tra i due gruppi [6].

Che cosa aggiunge questo studio

Questo studio propone l'utilizzo e un possibile meccanismo d'azione di un alimento fermentato con batteri, presenti ma non vitali nel prodotto finale, per prevenire le comuni infezioni dell'età pediatrica.

Commento

Validità interna

Revisione ben condotta e che rispetta tutti i criteri per valutare la qualità delle revisioni sistematiche e metanalisi.

Disegno dello studio: studio randomizzato in doppio cieco con randomizzazione a blocchi generata a computer. Gli autori hanno dichiarato la cecità dei ricercatori, genitori, bambini, pediatri e del valutatore degli outcome. Non è riportato il numero dei pediatri coinvolti, la loro collocazione geografica, i loro conflitti di

interesse e quanti casi tra gli eligibili abbiano effettivamente partecipato. Non sono descritti i casi che hanno rifiutato di partecipare dopo la randomizzazione (41/432) né i persi al follow-up, comunque limitati. L'analisi per l'outcome primario è stata effettuata per intention to treat, non è specificato se anche per gli outcome secondari. Manca un gruppo di controllo senza somministrazione di placebo o di alimento con probiotico, necessario per comprendere l'effetto placebo. È stata eseguita un'analisi per valutare l'effetto di alcune variabili sull'outcome primario. La valutazione della aderenza al protocollo si è basata sul peso delle confezioni restituite e sulle note dei genitori. Il supporto di un "clinical trial monitor" indipendente non è stato ben descritto. Il trial è stato registrato presso il **National Institutes of Health (Box)**. L'outcome primario registrato è la valutazione dell'efficacia del latte o riso fermentato somministrato giornalmente per tre mesi sulla comparsa delle comuni infezioni respiratorie e gastrointestinali e sulla comparsa di sintomi respiratori e gastrointestinali in bambini di 12-48 mesi frequentanti una comunità scolastica. Nel registro non sono indicati outcome secondari. Il tempo dell'intervento indicato nel protocollo registrato è da febbraio 2013 a giugno 2013, data finale per la raccolta dei dati per l'outcome primario.

Esiti: l'outcome primario si basa su una diagnosi di malattia infettiva posta dal pediatra sulla base di criteri così ampi da risultare non significativi; ad esempio la gastroenterite era definita dalla presenza di 3 o più scariche morbide/liquide in 24 ore con o senza febbre o vomito. L'infezione delle alte vie respiratorie si poneva anche con un solo sintomo (rinorrea, tosse, faringodinia, afonia, respiro corto, otalgia, otorrea, estroflessione della membrana timpanica con o senza iperemia) in assenza o presenza di uno o più sintomi generali (febbre, cefalea, agitazione, mialgia, irritabilità). Oltre alla difficoltà di definire un quadro infettivo in base a una eterogeneità e scarsa specificità dei sintomi sopraindicati, la ricerca avrebbe potuto considerare un periodo di follow-up successivo all'interruzione della somministrazione dell'alimento in modo da conoscere possibili differenze significative dello stato di salute tra i tre gruppi.

Conflitto di interesse: lo studio è stato finanziato con fondi del Ministero della Salute e dell'azienda Heinz Italia SpA. Gli autori dichiarano di non avere rapporti finanziari relativi a questo articolo e di non avere conflitti di interesse direttamente correlati al contenuto del lavoro.

Trasferibilità

Popolazione studiata: i bambini presi in esame sono sovrapponibili a quelli che comunemente afferiscono ai nostri ambulatori. **Tipo di intervento:** l'intervento è stato realizzato in Italia in un ambiente di cure primarie. La mancata definizione delle malattie infettive riduce il riconoscimento di una reale efficacia clinica dell'intervento. Potrebbe essere riproposto dopo ulteriori conferme di efficacia e della valutazioni di eventuali effetti indesiderati attraverso trial indipendenti e non finanziati dall'industria.

1. Food and Agriculture Organization and World Health Organization Expert Consultation. Evaluation of health and nutritional properties of powder milk and live lactic acid bacteria. Córdoba, Argentina: Food and Agriculture Organization of the United Nations and World Health Organization; 2001.
2. Diplock AT, Aggett PJ, Ashwell M, et al. Scientific concepts of functional foods in Europe: consensus document. *Br J Nutr.* 1999;81:1-27.
3. The European Food Information Council (eufic). Functional food. 08 June 2006.
4. Zagato E, Mileti E, Massimiliano L, et al. Lactobacillus paracasei CBA L74 metabolic products and fermented milk for infant formula have anti-inflammatory activity on dendritic cells in vitro and protective effects against colitis and an enteric pathogen in vivo. *PLoS One.* 2014;9(2):e87615
5. Szajewska H, Skórka A, Pieścik-Lech M. Fermented infant formulas without live bacteria: a systematic review. *Eur J Pediatr.* 2015;174(11):1413-20
6. Ortiz-Andrellucchi A, Sánchez-Villegas A, Rodríguez-Gallago C, et al. Immunomodulatory effects of the intake of fermented milk with Lactobacillus casei DN114001 in lactating mothers and their children. *Br J Nutr.* 2008;100(4):834-45

Box

Perché la registrazione di un trial avviene prima della sua esecuzione.

Le riviste scientifiche più importanti normalmente pubblicano articoli originati da trial che vengono effettuati solo dopo l'approvazione da parte di un comitato etico e la registrazione ad un apposito registro pubblico, disponibile alla consultazione su un sito web e gestito da un ente no-profit o governativo, come ad esempio ClinicalTrials.gov o [WHO International Clinical Trials Registry Platform \(ICTRP\)](http://WHO International Clinical Trials Registry Platform (ICTRP)) seguendo regole ben definite per la compilazione degli item del registro stesso (icmje recommendations clinical trial registration). Di norma nel registro, compilato prima dell'esecuzione del trial, tra i diversi dati utili per la definizione della ricerca, vengono indicati gli outcome primari e secondari e i metodi statistici che saranno impiegati nell'analisi dei dati raccolti dai ricercatori. Questa dichiarazione di intenti, prima di effettuare un trial è una garanzia di trasparenza e un impegno da parte dei ricercatori di non modificare l'esecuzione dello studio durante lo svolgimento del trial. In questo modo si riduce il rischio di una manipolazione dei dati nel corso o alla fine dello studio, scegliendo ad esempio degli outcome che a una analisi a posteriori risultano significativi in modo da far risaltare un miglioramento dell'esito.

Glossario

Probiotico

Microrganismo vivo che, se somministrato in adeguate quantità, conferisce un beneficio alla salute all'ospite [1].

Alimento funzionale

Non sono presenti definizioni governative o di agenzie pubbliche per la salute per questa categoria di alimenti. Una definizione del European Commission's Concerted Action on Functional Food Science in Europe (FuFoSE), coordinata dall'International Life Science Institute (ILSI) indica che: un cibo può essere considerato come "funzionale" se è stato pienamente dimostrato che esso porta a beneficio a una o più funzioni specifiche del corpo, oltre gli effetti di una adeguata nutrizione, in modo rilevante per il miglioramento dello stato di salute, del benessere o per la riduzione di rischio per una malattia. Gli alimenti funzionali devono dimostrare i loro effetti in quantità che normalmente possono essere consumate nella dieta, pertanto essi non possono essere pillole, capsule ma parti di un normale modello di dieta [2]. Il concetto di alimento funzionale è stato utilizzato in Giappone per la prima volta negli anni '80 del secolo scorso con il riconoscimento che un miglioramento della qualità e dell'aspettativa di vita era correlato alla presenza di alimenti che in modo specifico potevano promuovere la salute o ridurre il rischio di comparsa di malattie. Gli alimenti funzionali più utilizzati sono il latte a basso contenuto di grasso, latticini arricchiti con probiotici o acidificati, caffè, the, cereali, prodotti con basso contenuto di colesterolo, vino rosso, prodotti a base di soia, succhi di frutta, pesce con acidi grassi omega-3. La componenti "attive" nei cibi funzionali possono essere minerali, vitamine, antiossidanti, acidi grassi, fibre, prebiotici, sostanze fitochimiche, probiotici [3].

Scheda redatta dal gruppo di lettura di Verona:

Paolo Brutti, Paolo Fortunati, Donatella Merlin, Federica Carraro, Claudio Chiamenti, Franco Raimo, Mara Tommasi.