

Amelia Licari<sup>1</sup>, Fabio Cardinale<sup>2</sup>,  
Alberto Chiara<sup>3</sup>, Lorenzo Drago<sup>4</sup>,  
Alberto Flores D'Arcais<sup>5</sup>, Luigi Nespoli<sup>6</sup>,  
Guido Pellegrini<sup>7</sup>, Gian Luigi Marseglia<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Dipartimento di Scienze Clinico-Chirurgiche, Diagnostiche e Pediatriche, Università di Pavia, Fondazione IRCCS Policlinico San Matteo, Pavia;

<sup>2</sup>UOC Pediatria Generale e Allergo-Pneumologia, Azienda Ospedaliero-Universitaria "Conorziale-Policlinico", Ospedale Pediatrico Giovanni XXIII, Bari;

<sup>3</sup>UO Pediatria e Nido, Ospedale Civile di Voghera, ASST di Pavia;

<sup>4</sup>Laboratorio di Analisi Cliniche e Microbiologiche, IRCCS Istituto Galeazzi, Università di Milano; <sup>5</sup>UO Pediatria, AO Ospedale Civile di Legnano;

<sup>6</sup>UO Pediatria, AO Ospedale di Circolo di Varese, Università dell'Insubria, Varese; <sup>7</sup>UO Pediatria, ASST Valtellina e Alto Lario, Sondrio

# Efficacia clinica di *Lactobacillus salivarius* LS01 e *Bifidobacterium breve* BR03 in pazienti pediatriche affetti da dermatite atopica

## BACKGROUND

La dermatite atopica (DA) è la più comune malattia infiammatoria cronica della cute ed è definita come un eczema pruriginoso, a decorso cronico-ricidivante, con una distribuzione delle lesioni tipica a seconda dell'età e spesso associata ad altre malattie atopiche quali rinite allergica e asma<sup>1</sup>. La sua frequenza è variabile in età pediatrica, con valori che oscillano attorno al 10% nel mondo occidentale, ma con tendenza ad aumentare negli ultimi anni, fino al 20%. In Italia i dati più recenti indicano una prevalenza del 10,1% nella popolazione pediatrica in età scolare (6-7 anni) e del 7,7% in età adolescenziale (13-14 anni)<sup>1</sup>.

La DA compare di solito nella prima infanzia e può persistere in età adulta. Si manifesta con lesioni eczematose localizzate principalmente al volto, al collo e alle pieghe flessorie degli arti. I pazienti presentano inoltre una marcata secchezza cutanea, che persiste anche nei periodi di remissione. Clinicamente la DA può colpire i bambini in diverse fasce di età: può insorgere già nel neonato, solitamente dal 4° mese di vita, oppure avere inizio dopo il 2° anno di età. Nel 40% degli individui la DA si risolve spontaneamente dopo la pubertà e in un ulteriore 50% dei casi si attenua; solo in pochi pazienti la sintomatologia persiste dopo i 30 anni di età. Per quanto riguarda la patogenesi, la DA è considerata una malattia multifattoriale, determinata da una complessa interazione

tra fattori genetici predisponenti e fattori ambientali scatenanti.

Sono stati descritti due principali modelli patogenetici per la malattia; il primo considera la DA come una patologia determinata da un difetto di barriera cutanea, mentre il secondo è basato sull'ipotesi che la DA sia una malattia immuno-mediata determinata dall'attivazione aberrante del sistema immunitario caratterizzata dallo *shift* verso una prevalente risposta Th2. Attualmente si ritiene che entrambi questi modelli abbiano un ruolo chiave nella spiegazione della complessità della patogenesi della DA<sup>2</sup>. Uno dei fattori patogenetici più importanti della DA è la presenza di difetti delle funzioni di barriera cutanea che svolgono un ruolo critico nell'induzione dell'infiammazione e dell'attivazione del sistema immunitario dopo esposizione ad allergeni ambientali e patogeni infettivi<sup>3,4</sup>. Le attuali conoscenze patogenetiche sui meccanismi cellulari e molecolari dell'infiammazione atopica definiscono la DA come il risultato di un'immuno-reazione linfocitaria IgE-mediata, in cui risultano prevalenti le citochine di tipo Th2, in particolare IL-4 e IL-5<sup>3,4</sup>.

Da un punto di vista terapeutico è dunque necessario intervenire su entrambi i meccanismi patogenetici: il difetto di barriera cutanea e lo stato di infiammazione immuno-mediato. I cardini della terapia della DA comprendono l'idratazione cutanea e il ripristino della fisiologica barriera cutanea, l'uso di terapie antifiammatorie topiche (steroidi e inibitori della calcineurina),

il controllo delle sovrainfezioni e l'eliminazione di fattori scatenanti, come gli allergeni e le sostanze irritanti <sup>5</sup>.

A oggi, non esiste una cura definitiva per la DA, per cui l'obiettivo del trattamento è quello di migliorare i sintomi e di ottenere, attraverso un approccio multidisciplinare, il controllo della malattia. La terapia della DA si basa essenzialmente sull'uso di topici steroidei nella fase di acuzie e di idratanti/emollienti topici come complemento indispensabile alla terapia topica steroidea. Ovviamente la tipologia di terapia deve essere scelta sulla base della gravità della malattia. Le forme più lievi di DA vengono trattate unicamente con terapie topiche e i cortisonici topici rappresentano i farmaci di prima linea. Estremamente utili risultano gli emollienti, meglio se supplementati con ceramidi, per correggere la xerosi cutanea <sup>6</sup>.

Una possibile alternativa, soprattutto per i trattamenti a lungo termine, è rappresentata dagli inibitori della calcineurina (*tacrolimus* e *pimecrolimus*), approvati rispettivamente nel 2000 e nel 2001 per il trattamento della DA nell'adulto e nel bambino a partire dai 2 anni di età. I casi più gravi necessitano di terapia sistemica (steroidi per os e ciclosporina) e fisica (fototerapia con UVB a banda stretta e la PUVA terapia) <sup>5</sup>.

La migliore comprensione della patogenesi della DA ha permesso la ricerca di nuove strategie terapeutiche per questa patologia. Tra le nuove opzioni terapeutiche, i probiotici hanno suscitato crescente interesse.

I probiotici sono definiti dalla *United Nation's Food and Agricultural Organization* (FAO) e dall'Organizzazione Mondiale della Sanità (OMS) come "microrganismi vivi che, quando somministrati in quantità adeguate, conferiscono un beneficio per la salute dell'ospite" <sup>7</sup>. La maggior parte dei probiotici appartiene ai ceppi batterici dei Lactobacilli e dei Bifidobacteria.

L'uso dei probiotici è stato recentemente studiato nella cura della DA nella popolazione pediatrica con risultati incoraggianti.

È stato dimostrato che i probiotici posseggono proprietà immunomodulatorie <sup>8</sup>, essendo in grado di stimolare il sistema immunitario intestinale <sup>9</sup>, migliorare le funzioni di barriera mucosale <sup>10</sup>, indurre la produzione di citochine anti-infiammatorie <sup>11</sup> e facilitare il mantenimento dell'immunotolleranza <sup>12 13</sup>.

Recenti studi hanno mostrato un miglioramento nella qualità della vita in pazienti con DA trattati con probiotici <sup>14</sup>. Esistono evidenze sul ruolo benefico di alcuni ceppi (soprattutto *L. rhamnosus* e alcuni Bifidobatteri) nei pazienti pediatrici, mentre i dati sulle terapie negli adulti sono ancora insoddisfacenti <sup>15 16</sup>. Tuttavia, uno studio randomizzato e controllato ha dimostrato che l'associazione di *Lactobacillus salivarius* LS01 e *Bifidobacterium breve* BR03 somministrata in adulti con DA moderata-grave, porta a un significativo beneficio clinico (indice SCORAD e DLQ), riduce la traslocazione microbica intestinale, migliora il rapporto Th17/Treg e Th1/Th2 e riduce la carica stafilococcica <sup>3</sup>.

Considerando le evidenze in ambito pediatrico, due studi hanno dimostrato un miglioramento della DA in seguito alla supplementazione con probiotici in una coorte di bambini allattati esclusivamente al seno <sup>18</sup> o con allergia alle proteine del latte <sup>19</sup>. Weston et al. hanno dimostrato, in uno studio randomizzato e controllato, il miglioramento della severità della DA in seguito a supplementazione con probiotico *L. fermentum* VRI-003 PCC in una coorte di bambini con DA moderata/severa <sup>20</sup>.

Inoltre, autori neozelandesi hanno evidenziato un miglioramento della DA in una coorte di bambini dopo aggiunta di *L. rhamnosus* e *B. lactis*, ma solo in quelli in cui era presente una sensibilizzazione alimentare <sup>21</sup>. Studi recenti hanno confermato questi risultati, giustificando ulteriori ricerche in questo ambito <sup>22-25</sup>.

Considerando il razionale dell'uso dei probiotici nella DA e gli studi clinici nella popolazione pediatrica, vogliamo, in questo studio, valutare gli effetti del probiotico (contenente *L. salivarius* LS01 e *B. breve* BR03) come coadiuvante nel trattamento della DA, e, in particolare, gli effetti sulla severità di malattia in pazienti pediatrici, ai quali è stata fornita l'integrazione per un periodo di almeno 12 settimane.

## MATERIALI E METODI

È stato condotto uno studio clinico multicentrico, retrospettivo che ha coinvolto cinque centri italiani: Fondazione IRCCS Policlinico San Matteo (Pavia), Azienda Ospedaliera della Provincia di Pavia (Voghera), Azienda Ospedaliera "Ospedale Civile di Legnano" (Legnano), Azienda Ospedaliera di Valtellina

e Valchiavenna (Sondrio), Azienda Ospedaliera Giovanni XXIII (Bari).

Sono stati inclusi nello studio tutti i pazienti pediatrici affetti da DA lieve-moderata, afferenti ai centri coinvolti nel periodo compreso da settembre 2014 a maggio 2015, ai quali è stata aggiunta alla terapia standard, prescritta secondo linee guida EADV 2012 (*European Academy of Dermatology and Venereology*), l'integrazione con un probiotico contenente *L. salivarius* LS01 e *B. breve* BRO3 (dose di  $1 \times 10^9$  CFU/g per ciascun ceppo probiotico).

Criteri di inclusione:

- età compresa tra 6 mesi e 16 anni;
- diagnosi di DA lieve e moderata valutata mediante l'utilizzo di un indice di severità della DA (SCORAD index <sup>26</sup>): SCORAD < 40;
- supplementazione con il probiotico in studio per almeno 12 settimane consecutive.

Criteri di esclusione:

- precedenti trattamenti con probiotici nei 2 mesi antecedenti l'inizio della supplementazione.

Le valutazioni cliniche sono state effettuate prima dell'inizio del trattamento (T1) e a 2 (T2), 6 (T3), 12 (T4) e 20 (T5) settimane.

Come *endpoint* primario, è stata valutata l'efficacia clinica della supplementazione dell'associazione di *L. salivarius* LS01 e *B. breve* BRO3 attraverso l'analisi degli score clinici SCORAD <sup>26</sup> e PO-SCORAD <sup>27</sup>. Inoltre sono stati considerati il numero di episodi di riacutizzazione della DA e i dati relativi a eventuali eventi avversi per

tutto il periodo di supplementazione del probiotico in studio e durante il periodo di follow-up.

La valutazione statistica ha considerato il test del "Chi-quadrato" per stabilire l'associazione tra le caratteristiche esaminate e il consumo dei probiotici. Un valore di  $p < 0,05$  è stato considerato statisticamente significativo per tutte le analisi condotte. L'eventuale variazione delle variabili di efficacia relative alla severità dei sintomi durante l'intero trattamento è stata valutata rispetto al basale. Per gli eventi avversi è stata prevista una descrizione qualitativa e in percentuale rispetto alla popolazione di pazienti considerata.

## RISULTATI

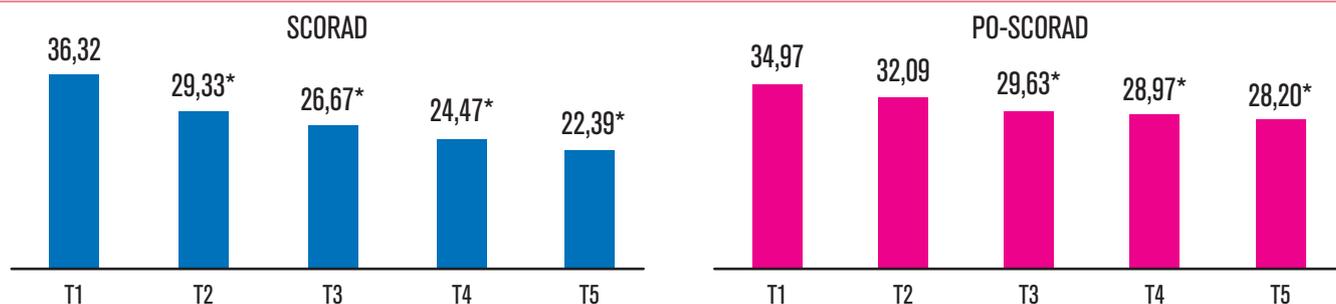
Sono stati inclusi nello studio 106 soggetti (età media 7 anni; 56 maschi e 50 femmine), affetti da DA lieve-moderata (SCORAD < 40), ai quali è stata aggiunta alla terapia standard la supplementazione con *L. salivarius* LS01 e *B. breve* BRO3 per un periodo di almeno 12 settimane. Tutti i pazienti hanno proseguito il loro trattamento di base con farmaci topici (idratanti, emollienti, eventuali steroidi in caso di riacutizzazione).

Alla prima visita di arruolamento, i valori medi di SCORAD e PO-SCORAD sono stati rispettivamente 36 e 35.

Per quanto riguarda l'*endpoint* primario, la supplementazione con *L. salivarius* LS01 e *B. breve* BRO3 ha portato a una riduzione statisticamente significativa di SCORAD (dal T2) e di PO-SCORAD (dal T3) ( $p < 0,05$ ) (Fig. 1).

### Figura 1.

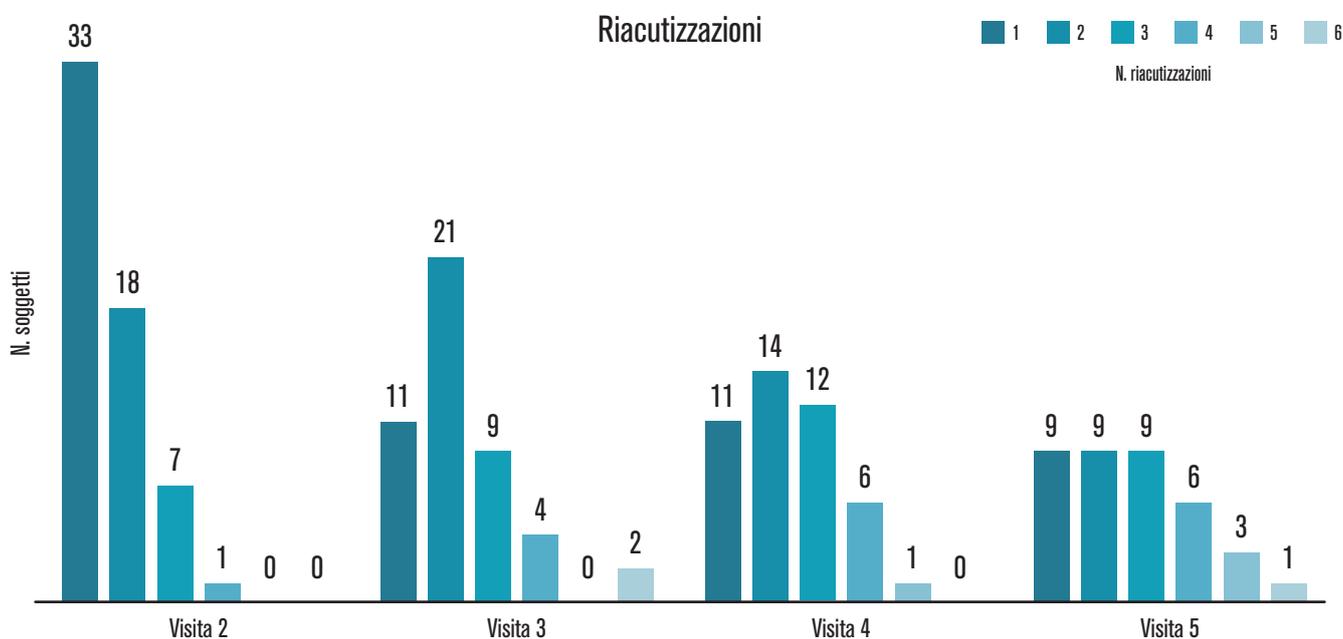
I punteggi di SCORAD e PO-SCORAD sono stati analizzati al basale (T1), dopo 2 (T2), 6 (T3), 12 (T4) settimane di somministrazione di *L. salivarius* LS01 e *B. breve* BRO3 e dopo 8 settimane dalla sospensione del trattamento con i probiotici (T5). Sono mostrati i valori medi e la significatività statistica (\*), calcolata come variazione rispetto al basale.



\*  $p < 0,05$ ; T test T (2,3,4,5) vs T1

**Figura 2.**

Numero di soggetti inclusi nello studio che hanno presentato riacutizzazioni (n. da 1 a 6) di DA durante il follow-up.



Al miglioramento clinico è inoltre associata una riduzione del numero delle riacutizzazioni della DA, che si è mantenuta anche dopo 8 settimane dal termine della somministrazione dei due ceppi probiotici in studio (T5) (Fig. 2).

Non sono stati riportati eventi avversi per nessuno dei pazienti trattati.

**DISCUSSIONE E CONCLUSIONI**

La supplementazione con *L. salivarius* LS01 e *B. breve* BR03, in aggiunta alle terapie standard, ha mostrato risultati promettenti nel determinare una riduzione della gravità dei sintomi cutanei nei bambini affetti da DA lieve-moderata, con un profilo di sicurezza ottimale. Tale risultato è in linea con gli studi già presenti in letteratura, relativamente ai due ceppi da noi studiati. Tale effetto può essere riconducibile alle già dimostrate proprietà di tipo immunomodulatorio (*cross-talk* mucosale, implementazione della funzione di barriera mucosale, produzione di citochine anti-infiammatorie, con conseguente possibile induzione della tolleranza) di tali ceppi.

Il limite principale dello studio è rappresentato dalla mancanza di un gruppo di controllo.

Sono comunque necessari ulteriori studi per confermare l'efficacia della supplementazione con probiotici nei bambini affetti da DA ed eventualmente valutarne il ruolo nella prevenzione della malattia, al fine di considerare tale supplementazione parte integrante degli attuali presidi terapeutici.

**Bibliografia**

- Carroll CL, Balkrishnan R, Feldman SR, et al. *The burden of atopic dermatitis: impact on the patient, family, and society*. *Pediatr Dermatol* 2005;22:192-9.
- Leung DY, Guttman-Yassky E. *Deciphering the complexities of atopic dermatitis: shifting paradigms in treatment approaches*. *J Allergy Clin Immunol* 2014;134:769-79.
- Iemoli E, Trabattoni D, Parisotto S, et al. *Probiotics reduce gut microbial translocation and improve adult atopic dermatitis*. *J Clin Gastroenterol* 2012;46:S33-40.
- Drago L, Iemoli E, Rodighiero V, et al. *Effects of Lactobacillus salivarius LS01 (DSM 22775) treatment on adult atopic dermatitis: a randomized placebo-controlled study*. *Int J Immunopathol Pharmacol* 2011;24:1037-48.
- Wolter S, Price HN. *Atopic dermatitis*. *Pediatr Clin North Am* 2014;61:241-60.
- Marseglia A, Licari A, Agostinis F, et al. *Local rhamnose, ceramides and L-isoleucine in atopic eczema: a randomized, placebo controlled trial*. *Pediatr Allergy Immunol* 2014;25:271-5.
- Joint FAO/WHO. *Expert consultation on evaluation of health*

- and nutritional properties of probiotics in food including powder milk with live lactic acid bacteria. WHO 2001.
- <sup>8</sup> Lammers KM, Brigidi P, Vitali B, et al. Immunomodulatory effects of probiotic bacteria DNA: IL-1 and IL-10 response in human peripheral blood mononuclear cells. *FEMS Immunol Med Microbiol* 2003;38:165-72.
  - <sup>9</sup> Mueller C, Macpherson AJ. Layers of mutualism with commensal bacteria protect us from intestinal inflammation. *Gut* 2006;55:276-84.
  - <sup>10</sup> Ramakrishna BS. Probiotic-induced changes in the intestinal epithelium: implication in the gastrointestinal disease. *Trop Gastroenterol* 2009;30:76-85.
  - <sup>11</sup> Pessi T, Sütas U, Hume M, et al. Interleukin-10 generation in atopic children following oral Lactobacillus rhamnosus GG. *Clin Exp Allergy* 2000;30:180-8.
  - <sup>12</sup> Huurre A, Laiinen 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.
  - <sup>13</sup> Drago L, De Vecchi E, Gabrieli A, et al. Immunomodulatory effects of Lactobacillus salivarius LS01 and Bifidobacterium breve BR03, alone and in combination, on peripheral blood mononuclear cells of allergic asthmatics. *Allergy Asthma Immunol Res* 2015;7:409-13.
  - <sup>14</sup> Tao TC, Chang CJ, Hsu YH, et al. Probiotics for allergy diseases: realities and myths. *Pediatr Allergy Immunol* 2010;21:900-19.
  - <sup>15</sup> Isolauri E, Salminen S. Probiotics: use in allergic disorders: a Nutrition, Allergy, Mucosal Immunology, and Intestinal Microbiota (NAMI) Research Group Report. *J Clin Gastroenterol* 2008;42:91-6.
  - <sup>16</sup> Johannsen H, Prescott SL. Practical prebiotics, probiotics and synbiotics for allergists: how useful are they? *Clin Exp Allergy* 2009;39:1801-14.
  - <sup>17</sup> Drago L, Iemoli E, Rodighiero V, et al. Effects of Lactobacillus salivarius LS01 (DSM 22775) treatment on adult atopic dermatitis: a randomized placebo-controlled study. *Int J Immunopathol Pharmacol* 2011;24:1037-48.
  - <sup>18</sup> Isolauri E, Arvola T, Sutas Y, et al. Probiotics in the management of atopic eczema. *Clin Exp Allergy* 2000;30:1604-10.
  - <sup>19</sup> Majamaa H, Isolauri E. Probiotic: a novel approach in the management of food allergy. *J Allergy Clin Immunol* 1997;99:179-85.
  - <sup>20</sup> Weston S, Halbert A, Richmond P, et al. Effect of probiotics on atopic dermatitis: a randomized controlled trial. *Arch Dis Childhood* 2005;90:892-7.
  - <sup>21</sup> Sistek D, Kelly R, Wickens K, et al. Is the effect of probiotics confined to food sensitized children? *Clin Exp Allergy* 2006;36:629-33.
  - <sup>22</sup> Han Y, Kim B, Ban J, et al. A randomized trial of Lactobacillus plantarum CJLP133 for the treatment of atopic dermatitis. *Pediatr Allergy Immunol* 2012;23:667-73.
  - <sup>23</sup> Drago L, Toscano M, De Vecchi E, et al. Changing of fecal flora and clinical effect of L. salivarius LS01 in adults with atopic dermatitis. *J Clin Gastroenterol* 2012;46:S56-63.
  - <sup>24</sup> Iemoli E, Trabattini D, Parisotto S, et al. Probiotics reduce gut microbial translocation and improve adult atopic dermatitis. *J Clin Gastroenterol* 2012;46:S33-40.
  - <sup>25</sup> Licari A, Marseglia A, Castellazzi AM, et al. Atopic dermatitis: is there a role for probiotics? *J Biol Regul Homeost Agents* 2015;29(Suppl 1):18-24.
  - <sup>26</sup> Severity scoring of atopic dermatitis: the SCORAD index. Consensus Report of the European Task Force on Atopic Dermatitis. *Dermatology* 1993;186:23-31.
  - <sup>27</sup> Stalder JF, Barbarot S, Wollenberg A, et al.; PO-SCORAD Investigators Group. Patient-Oriented SCORAD (PO-SCORAD): a new self-assessment scale in atopic dermatitis validated in Europe. *Allergy* 2011;66:1114-21.