

Gianluca Ianiro, Antonio Gasbarrini

Area di Medicina Interna, Gastroenterologia ed Oncologia, Fondazione Policlinico Universitario Agostino Gemelli IRCCS, Università Cattolica del Sacro Cuore, Roma, Italia

Bacillus clausii per il trattamento della diarrea acuta nei bambini: una revisione sistematica con metanalisi di trial randomizzati e controllati

INTRODUZIONE

La diarrea acuta si riferisce all'evacuazione di 3 o più scariche/die di feci poco formate o liquide che dura da meno di 14 giorni. Sebbene sia una malattia prevenibile, la diarrea acuta rimane una delle principali cause di morbilità e mortalità nei bambini di tutto il mondo, con il risultato di 525.000 decessi all'anno tra i bambini di età inferiore ai 5 anni. La maggior parte di queste mortalità si verificano nei Paesi in via di sviluppo. Altre conseguenze dirette della diarrea nei bambini includono lo scarso accrescimento, la malnutrizione, la compromissione dello sviluppo cognitivo. La diarrea acuta nei bambini è causata da una vasta gamma di agenti patogeni – compresi i patogeni virali, batterici e protozoari. Attualmente, l'Organizzazione Mondiale della Sanità (OMS) raccomanda il trattamento della diarrea acuta pediatrica con reidratazione orale con sali (ORS) e alimentazione continua per la prevenzione e il trattamento della disidratazione, nonché l'integrazione di zinco per abbreviare la durata e la gravità della diarrea.

I probiotici sono microrganismi viventi che, se ingeriti in quantità adeguate, danno dei benefici per la salute umana. È stato suggerito che i probiotici modulino la risposta immunitaria, la produzione di agenti antimicrobici e la competizione nei siti di assorbimento e

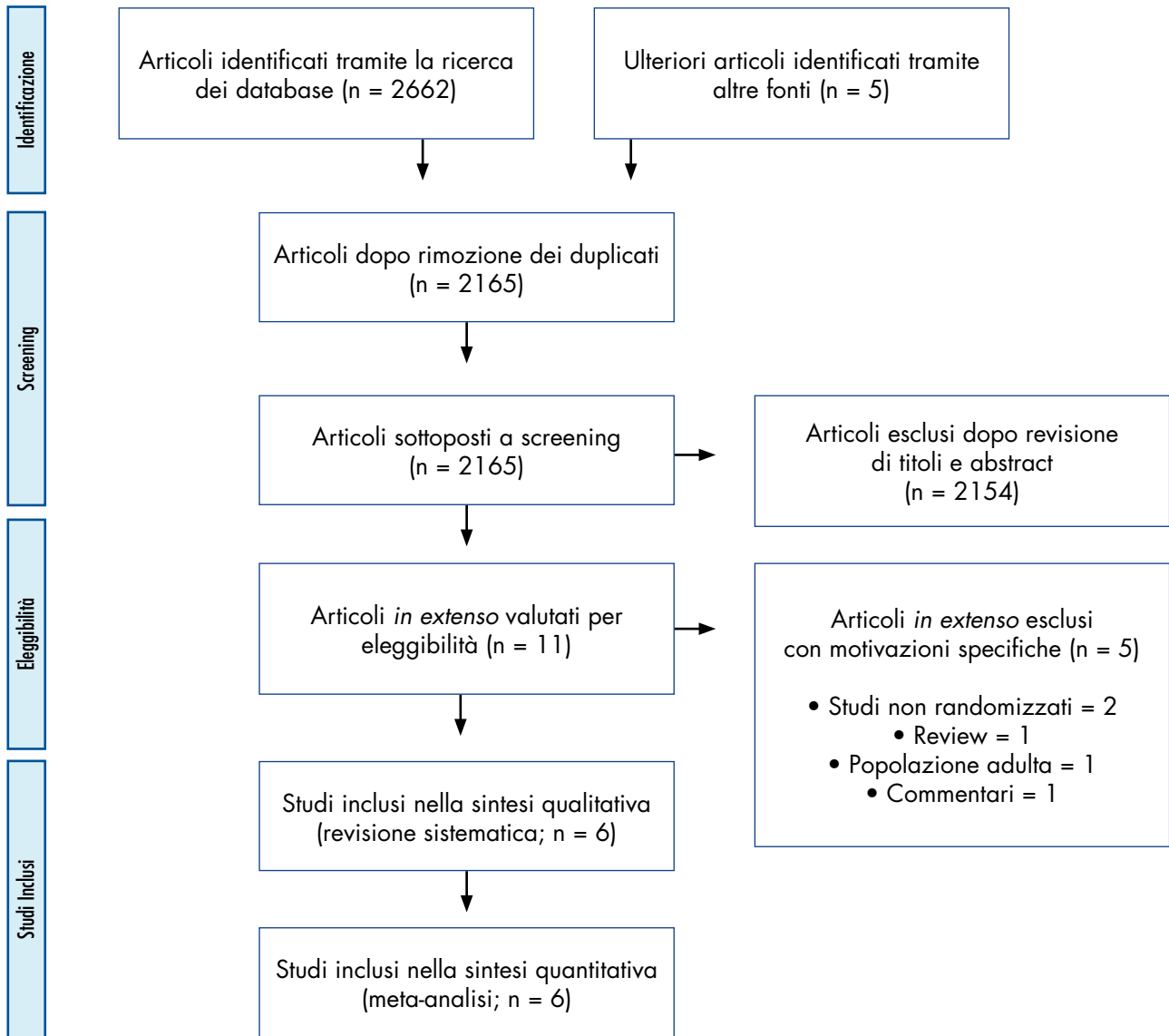
adesione dei nutrienti da parte degli agenti patogeni. *Bacillus clausii* è un batterio bacilliforme, non patogeno, sporigeno, aerobio, Gram-positivo, che è in grado di sopravvivere al transito attraverso l'ambiente acido dello stomaco e di colonizzare l'intestino anche in presenza di antibiotici.

Esistono studi clinici prospettici condotti su soggetti adulti che comprovano che *Bacillus clausii* è efficace e sicuro nel trattamento e nella prevenzione della diarrea acuta. Inoltre, l'*European Society for Pediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition* (ESPGHAN) e l'*European Society of Pediatric Infectious Diseases* (ESPID) attualmente raccomandano l'uso di *Lactobacillus rhamnosus* GG e *Saccharomyces boulardii* nella gestione dei bambini con acuta diarrea in aggiunta alla terapia reidratante, mentre manca una raccomandazione per *Bacillus clausii* a causa di dati limitati¹². Lo scopo di questo studio è di effettuare una revisione sistematica di studi controllati randomizzati che hanno valutato l'efficacia e la sicurezza di *Bacillus clausii* nel trattamento della diarrea acuta infantile.

Secondo le nostre conoscenze, nessuna revisione sistematica con meta-analisi che affronti l'efficacia di *Bacillus clausii* nella diarrea pediatrica acuta è stata pubblicata ad oggi.

Figura 1.

Diagramma di flusso PRISMA (*Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses*) del processo di ricerca degli articoli da includere nella meta-analisi.



METODI

Criteria di inclusione degli studi nella meta-analisi

Abbiamo incluso:

- studi controllati randomizzati condotti su bambini di età < 18 anni con diarrea acuta (14 giorni);
- i pazienti nei gruppi sperimentali dovevano ricevere *Bacillus clausii* a qualsiasi dose e dei seguenti strain: O/C, SIN, N/R e T;
- i pazienti nei gruppi di controllo dovevano ricevere un placebo, uno standard adeguato di cura per la diarrea acuta al posto del probiotico o nessun trattamento;
- gli outcome primari dovevano essere: la durata della diarrea, la frequenza dell'alvo dopo l'intervento, e la durata del ricovero;
- gli outcome secondari dovevano essere: episodi di vomito, la qualità della vita, e gli eventi avversi.

Strategia di ricerca per l'identificazione degli studi

I seguenti database elettronici sono stati sistematicamente cercati fino a ottobre 2017 per rilevare gli studi da includere: MEDLINE (via PubMed/OVID), EMBASE (via OVID), database centrale Cochrane (tramite CENTRAL), Google Scholar e ClinicalTrials.gov (<https://clinicaltrials.gov>).

L'ultima ricerca in letteratura è stata condotta il 23 ottobre 2017.

RISULTATI

La ricerca della letteratura ha recuperato 2.165 potenziali citazioni rilevanti. Dopo aver esaminato attentamente titoli e abstract, 2.154 citazioni sono state escluse. Per le restanti 11 citazioni, sono stati ottenuti e valutati gli articoli *in extenso* e 6 citazioni sono state incluse nel database finale.

Cinque articoli sono stati esclusi per i seguenti motivi: 2 studi erano non randomizzati, uno studio era condotto in una popolazione adulta, uno era un articolo di revisione e uno era un commento. La Figura 1 è una flow-chart riassuntiva del percorso fatto per arrivare ai 6 articoli finali e la Tabella 1 ne riassume le caratteristiche. Di questi, uno è stato eseguito in Italia, uno in Kenya, uno nelle Filippine, e 3 in India. Tre di essi sono stati pubblicati come articoli originali, uno come abstract di congresso, uno come tesi di laurea e uno come relazione di studio clinico. Due su 6 studi erano multicentrici. Tutti e 6 gli studi includevano come outcome la durata della diarrea, 4 includevano anche la frequenza delle feci e 3 anche la durata del ricovero ospedaliero.

Complessivamente, 1.298 pazienti sono stati arruolati nei 6 studi selezionati. Tra questi, 467 pazienti erano trattati con *Bacillus clausii*. Nello studio di Canani et al. (2007) i pazienti sono stati assegnati a 6 diversi gruppi: un gruppo di controllo (n = 92), un gruppo trattato con *Bacillus clausii* (n = 100), un gruppo trattato con *Lactobacillus casei* (n = 100), un gruppo trattato con *Saccharomyces boulardii* (n = 91), un gruppo trattato con *Lactobacillus delbrueckii var bulgaricus*, *Lactobacillus acidophilus*, *Streptococcus thermophilus*, *Bifidobacterium bifido* (n = 97) e un gruppo trattato con *Enterococcus faecium* (n = 91). Tutti i gruppi, a eccezione del gruppo di controllo e del gruppo che riceveva *Bacillus clausii*, sono stati esclusi da questa meta-analisi.

Quindi, in totale, 919 pazienti sono stati inclusi nella meta-analisi (467 nel gruppo sperimentale e 452 nel gruppo di controllo). L'età dei pazienti variava da 3 mesi a 12 anni. Quattro studi hanno arruolato pazienti ricoverati, mentre due hanno arruolato pazienti ambulatoriali.

In tutti e 6 gli studi clinici, il gruppo di controllo è stato trattato con ORS.

Effettuando una meta-analisi dei 6 randomizzati, abbiamo riscontrato una riduzione significativa della durata della diarrea (media differenza = 9,12 h, p = 0,015). Il test di eterogeneità per la durata della diarrea ha mostrato una sostanziale eterogeneità tra i 6 studi (test Q di Cochrane, p = 0,02, I² = 63,4%). Quattro studi (697 partecipanti) hanno valutato la frequenza dell'alvo dopo l'intervento e la loro valutazione collettiva mediante meta-analisi ha mostrato che *Bacillus clausii* riduce in maniera non significativa la frequenza dell'alvo dopo l'intervento (differenza media = 0,19 evacuazioni, p = 0,14) rispetto al gruppo di controllo che ha ricevuto ORS con o senza integrazione di zinco. Infine, la durata del ricovero è stata valutata in 3 studi su 291 pazienti e lo studio meta-analitico ha dimostrato una riduzione significativa della durata del ricovero (media differenza = 0,85 giorni, p = 0,017) per quelli trattati con *Bacillus clausii* rispetto a ORS con o senza. Il test di eterogeneità per la durata della degenza ospedaliera ha mostrato una sostanziale eterogeneità tra i 3 studi (test Q di Cochrane, p = 0,03, I² = 71,3%).

DISCUSSIONE

Abbiamo condotto una revisione sistematica e una meta-analisi di studi controllati randomizzati per stimare l'efficacia di *Bacillus clausii* nel trattamento della diarrea acuta nei bambini. I risultati di questo studio indicano che *Bacillus clausii* in combinazione con ORS potrebbe ridurre significativamente la durata di diarrea acuta infantile e la durata della degenza rispetto alla sola ORS.

A nostra conoscenza, questa è la prima revisione sistematica incentrata su studi controllati randomizzati di *Bacillus clausii* nella diarrea acuta dell'infanzia. In questa recensione la durata della diarrea è stata ridotta di una media di 9,12 ore nei pazienti sottoposti a terapia aggiuntiva con *Bacillus clausii* rispetto ai controlli (p = 0,015). Le differenze interindividuali fra i risulta-

Tabella I.
Caratteristiche degli studi inclusi

Autori, anno pubblicazione (nazione)	Disegno di studio	Pazienti trattati (I/C)	M/F (in %)	Età	Intervento vs comparatore (dose e durata)	Misure di outcome	Follow-up	Risultati principali
Canani et al., 2007 (Italia)	Multicentrico, singolo-cieco, randomizzato e controllato	100/92	47/53	Mediana 18 mesi	1×10 ⁹ CFU di <i>B. clausii</i> bid per 5 gg + ORS per 3-6 h vs ORS per 3-6 h	Durata diarrea, caratteristiche dell'alvo (numero e consistenza evacuazioni), vomito, febbre, ricovero ospedaliero, sicurezza e tollerabilità	Gg 1-7 dopo il trattamento	Non differenze sostanziali fra i gruppi in termini di durata della diarrea o altri outcome. <i>B. clausii</i> è stato ben tollerato, senza eventi avversi riportati
Lahiri, 2008 (India)	Multicentrico, in aperto, randomizzato e controllato a gruppi paralleli, di fase III	132/132	54,5/45,5	Media 1,6 anni	2×10 ⁹ CFU di <i>B. clausii</i> bid + ORS + 20 mg/die di zinco, per 5 gg vs ORS + 20 mg/die di zinco, per 5 gg	Durata diarrea, caratteristiche dell'alvo (numero e consistenza evacuazioni), vomito, eventi avversi, e tollerabilità	Gg 6-10 dopo il trattamento	Durata media (SD) della diarrea inferiore nel gruppo sperimentale (48,6 (38,2) h), rispetto al gruppo di controllo (56,1 (40) h; p = 0,13). Differenza nel numero medio (SD) di evacuazioni statisticamente non significativo (p = 0,19)
Lahiri, Jadhav et al., 2015 (India)	In aperto, randomizzato e controllato	69/62	63,4/36,6	6 mesi-12 anni	2×10 ⁹ CFU di <i>B. clausii</i> bid + ORS + zinco, per 5 gg vs ORS + zinco per 5 gg	Durata diarrea, durata ospedalizzazione, frequenza dell'alvo, costi diretti e indiretti	Ore 6, 12, 24, 36, 48, 60, e 72 dopo il trattamento	Durata media della diarrea 22,64 ore e durata media della degenza in ospedale 2,78 gg nel gruppo <i>B. clausii</i> rispetto a 47,05 h e 4,30 gg, rispettivamente, nel gruppo di controllo (p < 0,01 per la durata della diarrea). Il trattamento con <i>B. clausii</i> ha ridotto i costi totali del trattamento di 472 rupie indiane rispetto al solo ORS
Lahiri, D'Souza et al., 2015 (India)	In aperto, randomizzato e controllato	80/80	52,5/47,5	Fino a 6 anni	2×10 ⁹ CFU di <i>B. clausii</i> bid + ORS + zinco, per 5 gg vs ORS + zinco per 5 gg	Durata diarrea, frequenza dell'alvo, % di bambini senza disidratazione, % bambini che beneficiavano dell'allattamento al seno	Ore 6, 12, 24, 36, 48, 60, e 72 dopo il trattamento	Durata media diarrea: 22.26 h e numero medio evacuazioni 1,15 nel gruppo <i>B. clausii</i> vs 34,16 h e 1,70, nel gruppo di controllo (p < 0,05)
Maugo, 2012 (Kenya)	Doppio cieco, randomizzato e controllato	51/51	51,1/48,9	Media: <i>B. clausii</i> 11,3 vs controlli 11,9 mesi	2×10 ⁹ CFU di <i>B. clausii</i> bid + ORS + zinco per 5 gg vs zinco + ORS + placebo per 5 gg	Durata diarrea, durata ospedalizzazione, riduzione degli eventi diarroici	Gg 1-7 dopo il trattamento	La durata media (SD) della diarrea nel gruppo <i>B. clausii</i> è stata minore (77,59 (34,10) h) rispetto al gruppo placebo (86,74 (40,16) h), con una differenza media tra i gruppi di 9,15 h (p = 0,248). Riduzione significativa del numero medio di evacuazioni nel g 3 (2,74 (1,81) movimenti nel gruppo <i>B. clausii</i> rispetto a 3,80 (2,70) movimenti nel gruppo placebo, differenza media = 1,05; p = 0,033) e g 4 (1,45 (1,13) movimenti nel gruppo <i>B. clausii</i> vs 2,35 (2,19) movimenti nel gruppo placebo, differenza media = 0,9; p = 0,018) nel gruppo <i>B. clausii</i> vs gruppo placebo
Urtula e Dacula, 2008 (Filippine)	Monocentrico randomizzato e controllato	35/35	NR	NR	2×10 ⁹ o 4×10 ⁹ CFU di <i>B. clausii</i> /die, in base all'età, + ORS, per 3 gg vs ORS per 3 gg	Durata diarrea, durata ospedalizzazione, frequenza dell'alvo	Dopo il 3° g di terapia	Durata media (SD) della diarrea significativamente più breve nel gruppo <i>B. clausii</i> (69,84 (16,84) h) rispetto al gruppo di controllo (83,76 (22,05) h) (p = 0,005), con differenza assoluta della durata della diarrea tra gruppi di 13,92 h. Anche la durata media della degenza ospedaliera è stata più breve nel gruppo <i>B. clausii</i> (59,0 h contro 76,8 h) (p = 0,063)

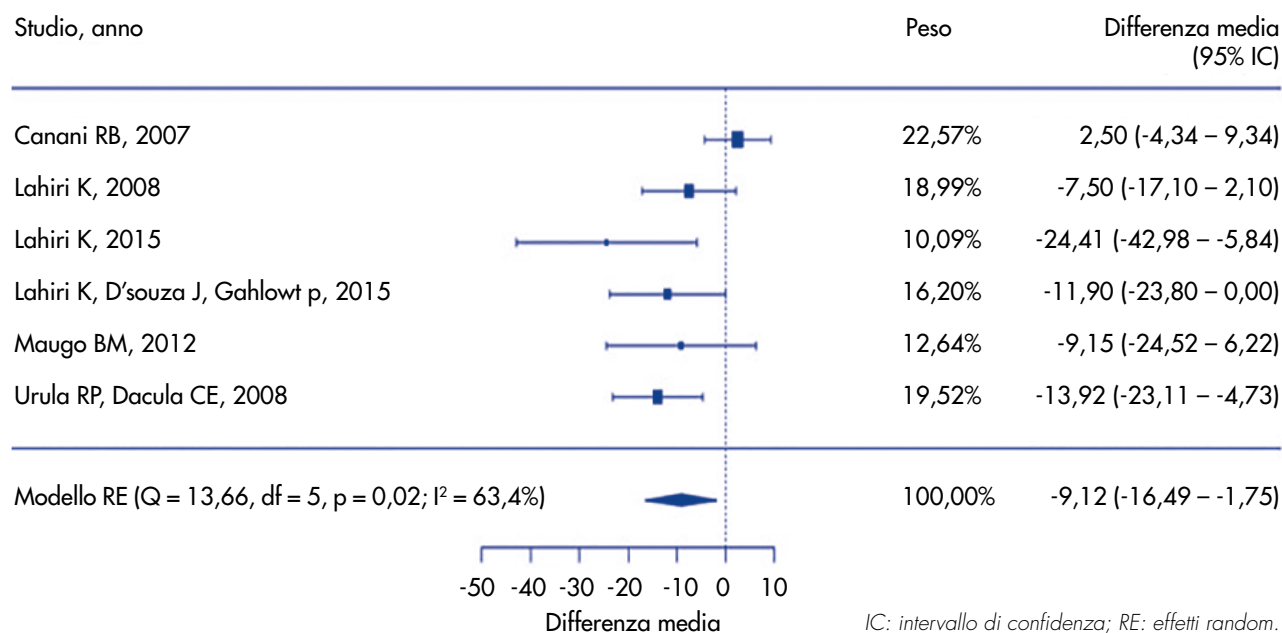
bid: 2 volte al giorno; *B. clausii*: *Bacillus clausii*; C: controllo; CFU: colony-forming-unit; ORS: reidratazione orale standard con sali; SD: Deviazione standard; g: giorno.

ti dei vari studi potrebbero essere dovute ai differenti dosaggi di *Bacillus clausii* nei diversi studi controllati randomizzati, e l'integrazione di zinco fornita o meno in alcuni protocolli di studio (Tab. I).

I nostri risultati hanno anche mostrato che la somministrazione di *Bacillus clausii* ha significativamente ridotto la durata del ricovero in ospedale per una media di 0,85 giorni rispetto ai controlli (p = 0,017). La ridu-

Figura 2.

Forest Plot che mostra l'effetto del *Bacillus clausii* sulla durata media della diarrea.



zione della degenza ospedaliera di *Bacillus clausii* è importante considerando che, nei paesi a basso reddito, i bambini con meno di 3 anni hanno in media 3 episodi di diarrea ogni anno. La diarrea infantile costituisce pertanto un notevole onere economico a livello mondiale. I risultati di questo studio rivestono particolare importanza, poiché tali riduzioni della durata della degenza ospedaliera e della durata di diarrea che sono stati ottenuti con *Bacillus clausii* nella nostra analisi possono offrire significativi benefici sociali ed economici nel trattamento della diarrea infantile acuta, in particolare nei paesi a basso e medio reddito.

Ulteriori studi potrebbero essere necessari per chiarire il rapporto costo-efficacia dell'uso di *Bacillus clausii* nel trattamento della diarrea acuta infantile.

L'effetto del *Bacillus clausii* sulla riduzione della frequenza dell'alvo rispetto alla sola ORS non ha raggiunto significatività statistica dopo aver unito i risultati di 4 studi clinici ($p = 0,14$). Questo risultato potrebbe avere spiegazioni diverse. Innanzitutto, valutare un risultato così specifico, quale la frequenza dell'alvo, può essere difficile. Inoltre, questi 4 studi differivano per dimensioni del campione, disegno dello studio e protocolli di trattamento. Di conseguenza, potrebbero essere neces-

sari ampi studi per chiarire l'efficacia di *Bacillus clausii* sulla riduzione della frequenza dell'alvo della diarrea pediatrica acuta.

Infine, la nostra revisione sistematica ha fatto evincere che il trattamento con *Bacillus clausii* è ben tollerato e non ha gravi eventi avversi.

Sono stati proposti diversi meccanismi per spiegare l'effetto del *Bacillus clausii* contro la diarrea acuta infantile. Urdaci et al. hanno scoperto che *Bacillus clausii* possiede attività antimicrobiche e immunomodulatorie. Inoltre, è stato scoperto che i ceppi di *Bacillus clausii* rilasciano in concomitanza della sporulazione delle sostanze antimicrobiche attive in particolare contro *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecium* e *Clostridium difficile*.

Questi risultati sono coerenti con gli effetti benefici ottenuti da *Bacillus clausii* nel nostro studio.

La nostra revisione presentava dei limiti che devono essere considerati nell'interpretazione dei nostri risultati, inclusi un non chiaro ottenimento del cieco in 5 studi, differenze nella definizione di diarrea e dei criteri di inclusione ed esclusione dei vari studi.

In sintesi, i nostri risultati indicano che *Bacillus clausii* potrebbe rappresentare un'efficace opzione terapeutica.

tica nella diarrea acuta infantile, con un buon profilo di sicurezza. Una limitazione di questa meta-analisi è rappresentata dall'eterogeneità che abbiamo riscontrato tra gli studi, che ci impedisce di disegnare in modo definitivo conclusioni, per cui sono necessari ulteriori studi ben progettati per confermare i nostri risultati.

MESSAGGI CHIAVE

- Questa è la prima revisione sistematica con meta-analisi di studi randomizzati controllati su *Bacillus clausii* nella diarrea acuta in età pediatrica.
- In questa meta-analisi il trattamento con *Bacillus clausii* ha ridotto, rispetto alla terapia standard, la durata della diarrea di una media di 9,12 ore ($p = 0,015$).
- Inoltre, la terapia con *Bacillus clausii* ha ridotto significativamente la durata del ricovero in ospedale di una media di 0,85 giorni rispetto al controllo ($p = 0,017$).
- L'aggiunta del ceppo probiotico *Bacillus clausii* alla terapia di supporto standard può non solo essere utile nel migliorare le condizioni cliniche dei pazienti pediatrici con diarrea acuta, ma anche essere efficace nel far risparmiare risorse al sistema sanitario, in termini di riduzione dell'ospedalizzazione

BIBLIOGRAFIA ESSENZIALE

- Burke RM, Rebolledo PA, Embrey SR, et al. *The burden of pediatric diarrhea: a cross-sectional study of incurred costs and perceptions of cost among Bolivian families*. BMC Public Health 2013;13:708.
- Canani RB, Cirillo P, Terrin G, et al. *Probiotics for treatment of acute diarrhoea in children: randomised clinical trial of five different preparations*. BMJ. 2007;335:340.
- Cenci G, Trotta F, Caldini G. *Tolerance to challenges miming gastrointestinal transit by spores and vegetative cells of Bacillus clausii*. J Appl Microbiol. 2006;101:1208-15.
- Guarino A, Ashkenazi S, Gendrel D, et al. *European Society for Pediatric Gastroenterology, Hepatology, and Nutrition/ European Society for Pediatric Infectious Diseases evidence-based guidelines for the management of acute gastroenteritis in children in Europe: update 2014*. J Pediatr Gastroenterol Nutr. 2014;59:132-52.
- Lahiri K, D'Souza J, Gahlot P. *Beneficial role of probiotic in acute childhood diarrhea*. J Harmoniz Res Med Hlth Sci 2015;2:26-30.
- Lahiri K, Jadhav K, Gahlot P, et al. *Bacillus clausii as an adjuvant therapy in acute childhood diarrhoea*. IOSR:JMS 2015;14:74-6.
- Lahiri KR. *GMA-CO Clinical Study Report: ENTER_L_01486*. Sanofi-Aventis 2008.
- Maugo BM. *Effectiveness of Bacillus clausii in reducing duration of illness in acute diarrhoea in children 6-59 months of age admitted with severe dehydration*. Doctoral dissertation, University of Nairobi, Kenya, 2012.
- Urdaci MC, Bressollier P, Pinchuk I. *Bacillus clausii probiotic strains: antimicrobial and immunomodulatory activities*. J Clin Gastroenterol 2004;38(6 Suppl):S86-90.
- Urtula RP, Dacula CE. *Bacillus clausii an adjunct treatment for pediatric patients with acute non-bloody diarrhea: a randomized, controlled clinical trial [abstract]*. In: 3rd International Probiotic Conference, February 2008:14S.