

Expert opinion [2]

EVIDENCE BASED MEDICINE: *L. REUTERI* LMG P-27481
la sua storia e le sue proprietà

Prof. Lorenzo Morelli
Professore ordinario Microbiologia
Università Cattolica del Sacro Cuore
Piacenza - Cremona

Lorenzo Morelli

Evidence based medicine: *L. reuteri* LMG P-27481 la sua storia e le sue proprietà

Iniziamo dalle definizioni

Probiotico

Fra il 2001 e il 2002, l'Organizzazione Mondiale della Sanità e la FAO riuniscono un gruppo di esperti con il compito di definire e caratterizzare i batteri utilizzati non per la produzione di alimenti fermentati ma per supportare il benessere delle persone. La definizione che ne scaturisce è molto nota (è stata adottata da molti governi, incluso quello italiano) ed è: "microrganismi vivi che, se somministrati in quantità adeguate, conferiscono un beneficio alla salute dell'ospite".

Se questa definizione è nota a livello mondiale, meno noto è il fatto che le procedure di caratterizzazione dei batteri probiotici delineate da WHO/FAO riguardano l'uso negli alimenti e negli integratori alimentari e non l'uso farmaceutico.

Ceppo batterico

Nel documento WHO/FAO viene sottolineato il fatto che le proprietà probiotiche sono legate all'individuo batterico, il ceppo.
In altre parole, come sembra ovvio che le proprietà della Vitamina A non siano le stesse della Vitamina D, così l'appartenenza alla stessa specie batterica non garantisce che le proprietà benefiche siano le stesse.
Facciamo un esempio: *Homo sapiens* è la classificazione tassonomica del genere umano, in cui *Homo* è il genere e *sapiens* è la specie. Ovviamente poi, ognuno di noi, è caratterizzato da un nome e un cognome, cioè gli identificativi personali. Lo stesso vale per i batteri: *Limosilactobacillus reuteri* indica il genere (*Limosilactobacillus*) e la specie (*reuteri*). Le ulteriori indicazioni dopo il nome della specie servono a identificare il singolo individuo batterico.
Le considerazioni di cui sopra rendono possibile la brevettazione dei singoli ceppi batterici, ammesso che sia dimostrata.

Limosilactobacillus reuteri

Una nota storica: il nome del genere è stato, nel 2022, cambiato da *Lactobacillus* a *Limosilactobacillus*, per ragioni di tipo tassonomico. La specie *Lactobacillus reuteri* è stata scoperta negli anni '80 e da allora oggetto di molti studi, per le spiccate proprietà probiotiche di molti ceppi appartenenti a questa specie.

Da ricordare come i nomi dei generi e delle specie vadano scritti in corsivo, come tutte le indicazioni tassonomiche. Esistono infatti regole internazionali per l'identificazione e la nomenclatura dei batteri, con valenze legali.

Il ceppo *L. reuteri* LMG P-27481

Se le caratteristiche benefiche, quelle che sono ricercate in un batterio per l'uso come probiotico, appartengono al singolo ceppo, risulta evidente come gli studi scientifici e clinici si debbano concentrare sul ceppo e, inoltre, come le aziende che investono in questa ricerca possano tutelare la proprietà del ceppo allo studio.

Il miglior strumento di tutela è il brevetto, che richiede, per i batteri, un particolare passaggio burocratico (stabilito, a livello mondiale, da un Trattato delle Nazioni Unite, conosciuto come Trattato di Budapest), che consiste nel depositare il ceppo batterico presso una "libreria batterica" riconosciuta dall'ONU, le cosiddette International Depositary Authority IDA).
Questa necessità deriva dal fatto che le procedure brevettuali richiedono una descrizione completa della "invenzione". Poiché nel caso specifico dei probiotici l'invenzione è un essere vivente, si ritiene che una descrizione completa non sia possibile e si ricorre quindi al "deposito" dell'invenzione presso un ente terzo, le IDA appunto.

Questo strumento è stato usato per proteggere la proprietà del ceppo di *L. reuteri* di cui stiamo parlando, che è stato depositato, come passo preliminare per la brevettazione, presso l'IDA belga, con il numero di registrazione LMG-P27481. Al ceppo è stato poi rilasciata la copertura brevettuale da parte dell'Ufficio Italiano Brevetti e Marchi (UIBM).

Quattro passi nella genomica

Siamo ormai abituati a trovare le analisi del DNA applicate a molte attività umane: dalle indagini forensi alla determinazione dell'origine di un alimento, alla paleo-archeologia.
Anche per i probiotici la possibilità di determinare la sequenza completa del DNA che forma il cromosoma di un batterio è di grande aiuto.
Il ceppo di ***L. reuteri*** **LMG P-27481** è stato analizzato mediante questa tecnica, che ha consentito di evidenziare la presenza sul suo cromosoma (lungo circa 2 milioni di paia di basi) di 188 geni "unici", cioè, posseduti solo da questo batterio. Questi geni sono quindi quelli che conferiscono al ceppo proprietà specifiche, non possedute da altri ceppi.

L'analisi genetica ha quindi, oltre a confermare l'assoluta sicurezza d'uso di questo ceppo, consentito di individuare due grandi potenzialità probiotiche:
- attività antinfiammatoria
- capacità d'inibire la riproduzione di bateri patogeni, in particolare *C. difficile*

Dalla genomica alla clinica

I dati genomici devono però essere confermati attraverso tre ulteriori passaggi:
- gli studi in *vitro*
- gli studi con il modello animale
- gli studi sull'uomo

Nel 2020 è stato pubblicato un grosso lavoro di caratterizzazione di ***L. reuteri*** **LMG P-27481** (Sagheddu et, 2020) che, attraverso studi *in vitro* e successivamente nel modello animale, ha dimostrato una eccezionale capacità di antagonismo su batteri patogeni, in particolare di *C. difficile*.

Inoltre, il modello animale ha confermato le capacità antiinfiammatorie del ceppo, mediante la stimolazione della secrezione di IL10. Questi dati, pubblicati nel 2020, sono già stati riportati in diversi lavori di review come esempio di attività antiinfiammatoria di un ceppo probiotico, a riprova della rilevanza dell'attività di LMG P-27481.

Ma a ulteriore e definitiva conferma delle capacità probiotiche di ***L. reuteri*** **LMG P-27481** viene il recentissimo studio clinico nell'uomo (Saviano et al, 2024) dove, con un reclutamento di ben 113 soggetti, questo ceppo, in associazione con un ceppo di *Lacticaseibacillus rhamnosus*, è riuscito ad azzerare la comparsa di *C. difficile* nei soggetti sottoposti a trattamento antibiotico.

In particolare, nel gruppo controllo di 57 soggetti (trattati con antibiotici ma non con la preparazione probiotica) 16 pazienti (28%) hanno sviluppato forme diarroiche, contro l'11% (6/56) dei soggetti supplementati con il prodotto probiotico.
Anche più interessante il paragone fra le diarree dovute a *C. difficile*: 7 casi nel gruppo controllo e nessun caso nel gruppo trattato.

Si è ottenuto così quello che nella ricerca scientifica è considerato un percorso perfetto di dimostrazione di meccanismo di efficacia:

- basi molecolari dell'ipotetico meccanismo di azione
- evidenze in vitro
- evidenze nel modello animale
- evidenze cliniche nell'uomo

Conclusioni

L. reuteri **LMG P-27481** costituisce uno splendido esempio di caratterizzazione di un ceppo probiotico mediante le più avanzate metodologie.
Infatti per questo ceppo si è utilizzato un approccio combinato di analisi delle potenzialità genetiche (quali geni possiede che lo possano far ritenere potenzialmente probiotico? E inoltre: quali geni lo differenziano dagli altri probiotici in commercio?) e delle attività in vitro e nel modello animale. Non a caso, l'articolo che per la prima volta porta alla ribalta il ceppo ha nel titolo la definizione di *"target specific selection process"*. Per ***L. reuteri*** **LMG P-27481** non si è proceduto con lo schema classico:

1. isolamento di un nuovo ceppo
2. prove fenotipiche a 360° per vedere se il ceppo abbia potenzialità probiotiche

ma si è partiti da una indagine genomica che ha "suggerito" *(target specific)* gli obbiettivi fenotipici da controllare per verificare i caratteri probiotici del ceppo stesso.

Si è quindi arrivati alla conferma definitiva di questo percorso virtuoso con il trial clinico, che ha puntualmente confermato le potenzialità probiotiche suggerite dal precedente percorso di caratterizzazione.

Che questo approccio sia stato virtuoso lo dimostrano anche le citazioni che questo lavoro di selezione *target specific* ha avuto nel poco tempo passato dalla sua pubblicazione. Edito nell'aprile del 2020 è già presente in 4 articoli di review e meta-analisi, tutti con giudizio positivo sulla metodologia adottata e i risultati raggiunti, con una particolare enfasi non solo sulla capacità di contrasto ai batteri patogeni ma anche di attività anti-infiammatoria.

Si può concludere affermando come ***L. reuteri*** **LMG P-27481** appartenga a una specie di lunga e comprovata sicurezza d'uso ma anche che sia il risultato di un processo di selezione innovativo, che ha permesso di evidenziare tutti i suoi punti di forza, a partire dalla base genetica di queste caratteristiche peculiari e uniche.

Riferimenti bibliografici

- Sagheddu V, Uggeri F, Belogi L, Remollino L, Brun P, Bernabè G, Moretti G, Porzionato A, Morelli L, Castagliuolo I, Elli M. The Biotherapeutic Potential of *Lactobacillus reuteri* Characterized Using a Target-Specific Selection Process. Front Microbiol. 2020 Apr 15;11:532.

- Saviano A, Petruzziello C, Cancro C, Macerola N, Petti A, Nuzzo E, Migneco A, Ojetti V.

The Efficacy of a Mix of Probiotics *Limosilactobacillus reuteri* LMG P-27481 and *Lacticaseibacillus rhamnosus* GG (ATCC 53103) in Preventing Antibiotic-Associated Diarrhea and Clostridium difficile Infection in Hospitalized Patients: Single-Center, Open-Label, Randomized Trial. Microorganisms. 2024 Jan 18;12(1):198.

Articoli che citano LMG P-27481

1: Cristofori F, Dargenio VN, Dargenio C, Miniello VL, Barone M, Francavilla R.

Anti-Inflammatory and Immunomodulatory Effects of Probiotics in Gut Inflammation: A Door to the Body. Front Immunol. 2021 Feb 26;12:578386.

2: Nabavi-Rad, A., Sadeghi, A., Asadzadeh Aghdaei, H., Yadegar, A., Smith, S. M., & Zali, M. R. (2022). The double-edged sword of probiotic supplementation on gut microbiota structure in Helicobacter pylori management. Gut Microbes, 14(1).

3: Sun X, Kong J, Zhu S, Liu C.

A systematic review and meta-analysis: the therapeutic and preventive effect of Lactobacillus reuteri DSM 17,938 addition in children with diarrhea. BMC Gastroenterol. 2023 May 5;23(1):141.

4: da Silva TF, Glória RA, Americo MF, Freitas ADS, de Jesus LCL, Barroso FAL, Laguna JG, Coelho-Rocha ND, Tavares LM, le Loir Y, Jan G, Guédon É, Azevedo VAC.

Unlocking the Potential of Probiotics: A Comprehensive Review on Research, Production, and Regulation of Probiotics. Probiotics Antimicrob Proteins. 2024 Mar 28.

Prof. Lorenzo Morelli

Lorenzo Morelli

Reuterin® LMG *Bimbi*

***L. reuteri* LMG P-27481**

Integratore alimentare — Flacone da 5 ml

Reuterin® LMG Bimbi gocce è un integratore alimentare a base di probiotici contenente la specie *L. reuteri* LMG P-27481.
Il ceppo brevettato *L. reuteri* LMG P-27481 colonizza l'intestino ed è in grado di favorire l'equilibrio della flora batterica intestinale.
Studi scientifici hanno dimostrato che questi probiotici sono in grado di superare la barriera gastrica e di arrivare vivi e vitali nell'intestino e di colonizzarlo.
I probiotici sono normali abitanti non patogeni e non tossici del tratto gastrointestinale umano e di altri distretti corporei.

SICUREZZA
La sicurezza dei probiotici è largamente dimostrata da numerosi studi clinici relativi al loro utilizzo. Reuterin® LMG Bimbi gocce può essere usato anche da soggetti intolleranti al glutine e al lattosio.

DOSI E MODALITÀ D'USO
Si consiglia l'assunzione di 5 gocce o a seconda del parere del medico, indifferentemente dai pasti.
Una sola assunzione al giorno è sufficiente per l'apporto di 1 miliardo di probiotici.
Non miscelare con latte o bevande bollenti poiché la vitalità dei probiotici potrebbe venirne compromessa.
Somministrare le gocce tal quali o miscelate in bevande non frizzanti, fredde o tiepide o nel latte, alla temperatura di assunzione (max 37°C).
Agitare vigorosamente il flacone prima dell'uso per garantire un'adeguata risospensione. La presenza di un corpo di fondo non compromette la qualità del prodotto.

MODALITÀ DI CONSERVAZIONE
Conservare in luogo fresco e asciutto, al riparo dalla luce, dall'umidità e da fonti dirette di calore, a temperatura non superiore ai 25°C. Non congelare.

AVVERTENZE
Gli integratori non vanno intesi quali sostituti di una dieta variata, equilibrata e di un sano stile di vita. Non superare la dose giornaliera consigliata.
Tenere fuori dalla portata dei bambini di età inferiore ai tre anni.
Per l'uso nei bambini di età inferiore ai tre anni sentire il parere del medico.
Richiudere il contenitore dopo l'uso. Il periodo di validità si riferisce al prodotto correttamente conservato in confezione integra.

Protetto da Brevetto: 102016000011071
Domanda di Brevetto Europeo: 17749216.2

» Inquadra con lo smartphone il QR Code

» Scopri l'intera linea di prodotti Nóos








Gastrointestinale | Respiratorio | Immunitario | Uditivo | Cavo orale | Malattie rare

Prodotto nello stabilimento di via F. Filzi, 55 - 31036 Istrana (TV)
per conto di

NÓOS srl
Via Campello sul Clitunno 34
00181 Roma **www.noosit.com**

NÓOS PER L'AMBIENTE
PAP 22 | FOGLIETTO | CARTA
Verifica le disposizioni del tuo Comune