

**UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI PADOVA**  
**FACOLTÀ DI MEDICINA E CHIRURGIA**  
*Scuola di Specializzazione in Igiene e Medicina Preventiva*



**STUDIO EPIDEMIOLOGICO DI EFFICACIA SULLA REGOLARE**  
**ASSUNZIONE DI *FLORA PLUS BIANCO***  
**LATTE FERMENTATO CON FERMENTI PROBIOTICI**

**Introduzione**

Secondo il ricercatore inglese Fuller (1989) il probiotico è un microrganismo vivente che esercita un effetto positivo sulla salute dell'ospite con il risultato di rafforzare l'ecosistema intestinale.

I fermenti lattici sono quei preparati contenenti batteri vivi con la funzione di riequilibrare la flora intestinale.

Tra questi, i gruppi principalmente utilizzati sono *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus lactis*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus bulgaricus*, *Streptococcus thermophilus* e *Bifidobacterium bifidum*.

In seguito alle recenti acquisizioni nel campo della scienza dell'alimentazione che hanno evidenziato benefici alla salute quando consumati in quantità adeguata come parte di un alimento o di un integratore, oggi alcuni produttori hanno iniziato ad aggiungerli ai loro prodotti. Essendo, generalmente, batteri già presenti nel corpo umano, essi riescono a riportare la flora batterica ad una condizione di normalità, nel caso quest'ultima sia stata compromessa a causa di cure con antibiotici, da stress ovvero da alimentazione scorretta.

***Flora Plus Bianco*** è un latte fermentato con fermenti probiotici, ottenuto a partire da latte fresco pastorizzato scremato, latte fresco pastorizzato intero e si caratterizza per la presenza di *Lactobacillus bulgaricus*, *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus acidophilus* e *Bifidobacterium lactis*.

È un prodotto che è stato sviluppato dal settore Ricerca & Sviluppo della Centrale del Latte di Vicenza Spa.

La tecnologia produttiva di ***Flora Plus Bianco*** prevede alcune fasi ben definite che garantiscono la qualità del prodotto.

Il latte crudo, raccolto giornalmente presso produttori, certificati secondo la Norma UNI 10939 "rintracciabilità di filiera", selezionati nelle province di Vicenza, Padova e Venezia, viene controllato e stoccato nei serbatoi di ricevimento; successivamente è sottoposto ad un processo di pastorizzazione, omogeneizzazione e di titolazione del grasso.

Segue un trattamento di sterilizzazione a 130°C che elimina la maggior parte della flora microbica per ottenere un substrato ideale per la fermentazione dei batteri lattici e probiotici; inoltre ha lo scopo di stabilizzare la componente proteica (sieroproteine solubili) al fine di avere una struttura del prodotto omogenea.

Il latte viene raffreddato ad una temperatura intorno ai 35-37°C in maturatori coibentati per la fermentazione. Si inoculano quindi i fermenti liofilizzati (*Lactobacillus delbrueckii* sub. *bulgaricus*, *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus acidophilus* NCFM e *Bifidobacterium lactis*).

Al raggiungimento del valore di pH di circa 4,60-4,50 si procede alla rottura del coagulo, alla miscelazione e al raffreddamento del prodotto ad una temperatura che consenta il rallentamento delle fermentazioni ed il confezionamento.

Al latte fermentato viene quindi miscelato un semilavorato, pari a circa il 15% del prodotto finito. Il Flora Plus Bianco è confezionato in contenitori (bottiglie da 100 g) sterilizzati in ambiente controllato.

L'unità di vendita da 6 pezzi, viene trasferita in cella frigorifera a +4°C per il raffreddamento definitivo in modo da bloccare ulteriori fermentazioni; vi rimane per almeno 2 giorni per ottenere la consistenza e viscosità tipiche.

La distribuzione e la vendita avviene seguendo la catena del freddo.

Su campioni di **Flora Plus Bianco** sono state eseguite analisi chimiche per valutare l'effetto delle fermentazioni sul substrato latte e microbiologiche per calcolare l'entità numerica della flora lattica e dei ceppi probiotici oggetto dello studio.

Le analisi sono state eseguite nel Laboratorio della Centrale del Latte di Vicenza, seguendo metodiche interne certificate.

Le conte dei fermenti sono state eseguite secondo la norma UNI 10356 per quanto riguarda lo *Streptococcus thermophilus* e il *Lactobacillus* spp., mentre per il *Lactobacillus acidophilus* NCFM e il *Bifidobacterium lactis* sono state utilizzate metodiche interne fornite dalla casa produttrice dei fermenti.

La scelta dei ceppi probiotici è avvenuta attraverso un processo di selezione rivolto ad assicurare l'identità tassonomica, la sicurezza e l'efficacia.

Secondo le Linee Guida sui probiotici redatte dal Ministero della Salute (revisione: giugno 2007) si definiscono le principali caratteristiche dei microrganismi probiotici, i quali devono soddisfare i seguenti requisiti:

- essere sicuri per l'impiego nell'uomo; un utile riferimento potranno essere i riferimenti emanati dall'EFSA, come la precisazione che i microrganismi probiotici non devono essere portatori di antibiotico-resistenze acquisite e/o trasmissibili;
- essere attivi e vitali a livello intestinale in quantità tale da giustificare gli eventuali effetti benefici osservati in studi di efficacia;
- essere in grado di persistere e moltiplicarsi nell'intestino umano;
- essere in grado di conferire un beneficio fisiologico.

I risultati delle analisi indicano che il processo fermentativo modifica sostanzialmente le caratteristiche del latte iniziale. Oltre ad uno sviluppo esponenziale dei fermenti lattici, si registra una produzione di acido lattico, una elevata attività della betagalattosidasi, una attività proteolitica con produzione di peptidi e aminoacidi, una attività lipasica con liberazione di acidi grassi, una produzione di niacina ed acido folico per le vitamine, la produzione di sostanze aromatiche quali il l'acetaldeide, il diacetile e l'acetoino, che caratterizzano il sapore dei lattici fermentati.

Il lattosio presente nel latte iniziale in quantità pari al 4,8%, per effetto della fermentazione si riduce al 2,2%; il lattosio residuo non è mai stato oggetto di fenomeni di intolleranza, data la contemporanea presenza di betagalattosidasi.

Nel *Flora Plus Bianco* molte di queste molecole sono considerate “bioattive”, tanto che gli effetti benefici del consumo di un latte fermentato, possono essere attribuiti sia ai fermenti probiotici, che ai loro metaboliti.

Nelle Linee Guida sui probiotici redatte dal Ministero della Salute si riporta che l’evoluzione delle conoscenze relative alle attività probiotiche è rapidissima, testimoniata dal numero di nuove recensioni che appaiono nelle banche dati tipo Medline. Nella stessa pubblicazione si citano dei lavori scientifici che “hanno evidenziato una positiva azione dei probiotici nel ridurre i tempi di recupero da diarrea indotta da terapie con antibiotici. Diversi di questi documenti suggeriscono l’importanza della dose somministrata ai fini di ottenere un effetto positivo; tale importanza è anche implicita nella definizione stessa di probiotico.”

Le analisi microbiologiche eseguite sulle due produzioni utilizzate per il test evidenziano che la quantità di microrganismi probiotici presenti nel prodotto è superiore a  $1 \times 10^7$  per ml. Questi risultati soddisfano le Linee Guida sui probiotici redatte dal Ministero della Salute che indicano che “la quantità sufficiente per ottenere una temporanea colonizzazione sia di almeno  $10^9$  cellule vive per giorno per persona adulta. Tale quantità di cellule deve essere presente nella porzione giornaliera dell’alimento”; nel caso del *Flora Plus Bianco* la porzione è il flacone da 100 grammi.

Allo scopo di avere conferma sui possibili effetti benefici risultanti dalla assunzione di *Flora Plus Bianco*, è stato condotto uno studio epidemiologico di coorte su volontari.

Lo studio è stato realizzato dalle Dottoresse Chiara Bertoncetto, Romina Cazzaro, Anna Ferraresso e Barbara Pellizzari e coordinato dal Prof. Giorgio Moretti.

### **Materiali e metodi**

Al fine di valutare gli eventuali effetti riscontrabili in seguito ad assunzione regolare di *Flora Plus Bianco*, è stata costituita una coorte di 38 volontari, disponibile ad assumere il prodotto per un periodo di un mese ed a registrare le eventuali modificazioni sulla percezione dello stato di benessere che si fossero manifestate.

Ad ogni soggetto componente la coorte è stato consegnato un questionario al tempo zero, avente lo scopo di far conoscere l’eventuale presenza di sintomi e/o di particolari comportamenti.

Lo stesso questionario è stato riproposto nel tempo intermedio, dopo circa 15 giorni dall’inizio della prova, e quindi al termine della prova stessa.

Al termine della prova, a tutti i partecipanti è stato consegnato anche un questionario per la valutazione organolettica e globale di *Flora Plus Bianco*.

Ogni partecipante si è impegnato ad assumere giornalmente una confezione del prodotto, preferibilmente al mattino, per un periodo di un mese, di non assumere contemporaneamente altri prodotti dello stesso tipo, di non assumere farmaci e di mantenere le solite abitudini alimentari e di vita.

Ad ogni partecipante veniva consegnato periodicamente, con cadenza settimanale, una adeguata quantità del prodotto tale da soddisfare il suo fabbisogno quotidiano.

I dati ottenuti dai questionari sono stati inseriti in apposito software (Excel 2000) e quindi elaborati statisticamente.

## **Risultati**

La coorte di volontari è risultata essere costituita da 38 soggetti, di cui 32 femmine e 6 maschi. Il range dell'età va da un minimo di 18 anni ad un massimo di 65, con una media di 42,3 anni ed una mediana di 43,5 anni.

Tutti i 38 partecipanti hanno compilato il questionario d'entrata e quello intermedio, mentre 35 sono stati i soggetti che hanno compilato il questionario finale: in totale sono ritornati 111 questionari.

Durante il periodo di prova si sono registrati tre abbandoni.

I dati relativi alle domande dei tre questionari (questionario di inizio, intermedio e finale) sono riassunti nelle tabelle 1 – 9.

Nelle tabelle 10 - 21 sono riportati i risultati del questionario relativo alla valutazione organolettica e globale di *Flora Plus Bianco*.

## **Discussione**

La distribuzione dell'età del campione ha andamento normale, con la media e la mediana che si equivalgono.

La totalità del campione (38 persone) ha compilato i questionari iniziale ed intermedio, mentre 35 sono stati i soggetti che hanno compilato anche quello finale. Le tre persone che non hanno compilato il questionario finale non hanno completato la prova e la decisione di sospendere l'assunzione di *Flora Plus Bianco* è stata motivata in un caso dalla non gradevolezza del prodotto ritenuto troppo dolce e dalla persistenza dei sintomi, in un altro caso dall'aumento dei livelli glicemici in soggetto diabetico ed in un terzo caso dal peggioramento dei sintomi intestinali (dolore addominale).

I sintomi maggiormente denunciati nel questionario iniziale sono stati il gonfiore addominale (71,1%), il mal di testa (47,4%), i crampi addominali (42,1%) ed il dolore addominale (36,8%) (Tabella 1).

All'inizio della prova, secondo i dati desunti dal questionario iniziale, la percentuale di soggetti che avevano dichiarato genericamente di soffrire di disturbi addominali era dell'81,6%, mentre alla fine della prova stessa la percentuale scende al 62,9%, indicando una progressiva diminuzione durante tutto il periodo considerato (Tabella 2). Tale andamento sembra presente in ogni specifico sintomo dichiarato.

Prendendo in esame i dati relativi ai singoli sintomi dichiarati si può notare come questi segnalino un miglioramento in media del 20%, con una certa variabilità tra sintomo e sintomo.

In particolare, la comparsa di gonfiore addominale diminuisce con il protrarsi della prova, passando dal 15,8% di coloro che non avevano mai dichiarato tale sintomo al 37,1% alla fine della prova. Si può notare che tale andamento è simile per tutti coloro che avevano dichiarato in modo diverso la frequenza con cui compariva il sintomo (Tabella 3).

Leggermente diversi sono i dati sulla sensazione di svuotamento intestinale: si nota un generico miglioramento all'interno della coorte con un aumento dal 21,1% al 37,1% di coloro che dichiarano di non avere mai tale sensazione, ma la situazione si inverte per coloro che dichiarano di avere la sensazione solo qualche volta, passando dal 28,9% al 42,9% (Tabella 4). È curioso che questo andamento in controtendenza compaia solo tra questa categoria di persone mentre tra coloro che manifestano spesso o sempre la sensazione di mancato svuotamento l'andamento è nettamente positivo. È probabile che la sensazione di mancato svuotamento che compare occasionalmente sia dovuta a qualche altro fattore, attualmente non conosciuto. D'altra parte l'andamento positivo registrato nella totalità dei casi viene

confermato dalle risposte date alla successiva domanda che investigava sulla difficoltà di evacuazione: i dati indicano infatti che in seguito alla regolare assunzione di **Flora Plus Bianco** la situazione migliora decisamente per tutta la coorte, passando la percentuale di coloro che non denunciano alcuna difficoltà di evacuazione dal 34,2% al 60,0%. Tale andamento è presente in tutti coloro che avevano denunciato nel questionario iniziale una diversa difficoltà nell'evacuazione (Tabella 5).

La frequenza di dolori addominali subisce anch'essa una forte flessione, passando gli individui che mai avevano dichiarato tale sintomo dal 52,6%, come dichiarato nel questionario iniziale, all'82,9%, come si evince dal questionario finale. Anche in questo caso, l'andamento positivo è dichiarato da tutti coloro che avevano denunciato questo disturbo con frequenze diverse (Tabella 6). Lo stesso andamento si registra anche per la frequenza dei crampi addominali (Tabella 7), confermando quindi, anche in questo caso il miglioramento progressivo che si è manifestato dopo l'assunzione regolare di **Flora Plus Bianco**.

Particolarmente interessante è il dato relativo alla frequenza di mal di testa, disturbo questo spesso messo in associazione con problemi intestinali. Dai dati ottenuti si osserva che la frequenza del disturbo diminuisce in modo consistente e coloro che ne dichiarano l'assenza passano dalla percentuale del 50% a quella del 71,4% dopo la prova (Tabella 8).

Infine, nulla si può dire circa la frequenza di dolore durante l'evacuazione in quanto i dati ottenuti non consentono di dare una chiara interpretazione del fenomeno (Tabella 9): infatti, non si registra un generico miglioramento del sintomo e, tra coloro che hanno dichiarato diverse frequenze del dolore si nota per alcuni un miglioramento e, per altri, un peggioramento. È probabile che per questi aspetti subentrino altri fattori che non sono stati considerati in questo studio.

Come già illustrato, l'assunzione di **Flora Plus Bianco** da parte dei componenti la coorte ha avuto la durata di circa un mese: durante questo periodo è stato compilato un questionario intermedio, circa 15 giorni dopo l'inizio della prova, ed uno finale al termine della stessa. I dati che si sono registrati in questi due questionari non sempre hanno indicato un andamento costante nella stessa direzione ma, alle volte, da un questionario all'altro si assiste ad una inversione di tendenza. Nella analisi su descritta si è tenuto conto essenzialmente dei dati iniziali e di quelli finali, interpretando i dati anomali mostrati nel questionario intermedio come dati derivanti da una situazione che ancora non si era stabilizzata: ciò farebbe intendere che l'effetto benefico indotto dalla regolare assunzione di **Flora Plus Bianco** passa attraverso una fase di adattamento dell'organismo che, in taluni casi e situazioni, richiede tempi più lunghi.

Il questionario relativo al gradimento di **Flora Plus Bianco** espresso dai componenti la coorte che si è volontariamente assoggettata all'assunzione del prodotto, ha dato risultati decisamente positivi ed incoraggianti. Infatti, alle domande che chiedevano giudizi sulla nota aromatica, sulla consistenza, sulla dolcezza, sul colore e sul gradimento del prodotto le risposte decisamente positive sono state la grande maggioranza, poche quelle di sufficienza e neanche una negativa (Tabelle 10, 11, 12, 13, 14).

Anche le domande circa la confezione ottengono risposte positive, con solo due risposte negative nei riguardi delle indicazioni in etichetta che sono state ritenute insufficienti (Tabelle 15, 16, 17).

Importante infine la risposta data alla domanda se si intende continuare ad assumere **Flora Plus Bianco**: ben 25 soggetti su 27 rispondono positivamente, indicando così che l'assunzione del prodotto aveva apportato non solo un generico aumento benessere ma anche qualcosa di più.

## Conclusioni

Le conclusioni che si possono trarre dallo studio epidemiologico di efficacia sulla regolare assunzione di **Flora Plus Bianco** possono essere così riassunte:

- lo studio ha evidenziato che l'assunzione di **Flora Plus Bianco** ha portato una notevole attenuazione dei sintomi denunciati;
- in seguito a tale diminuzione di entità e di frequenza dei disturbi è aumentata la percezione di benessere dei soggetti componenti la coorte.
- il fatto che i dati registrati nel questionario intermedio non indichino sempre lo stesso andamento migliorativo come quello dei dati del questionario finale, fa supporre che per evidenziare l'efficacia di **Flora Plus Bianco** è necessario, soprattutto per alcune condizioni, un periodo di adattamento più o meno lungo, valutabile in due o tre settimane;
- particolarmente interessanti si sono rivelati i dati relativi alla diminuzione della frequenza del mal di testa, sintomo questo spesso associato ai disturbi intestinali;
- non di minore importanza sono i dati relativi alla accettazione di **Flora Plus Bianco**: come evidenziato dai risultati ottenuti, il prodotto è risultato gradito pressoché dall'intera coorte;
- incoraggiante, infine, è la dichiarazione di gran parte dei partecipanti di continuare a consumare **Flora Plus Bianco**, facendo così intendere non solo di aver gradito il prodotto ma anche di averne ricavato un sensibile beneficio.

IL DIRETTORE DELLA SCUOLA  
(Prof. Valeria Marin)

Padova, 13 luglio 2007