

UNIVERSITÀ' DEGLI STUDI DI PADOVA  
DIPARTIMENTO DI MEDICINA

CORSO DI LAUREA IN DIETISTICA  
Presidente Prof.ssa Valerie Tikhonoff

TESI DI LAUREA

**IMPATTO DI UNA DIETA RICCA IN PROBIOTICI E  
PREBIOTICI IN GRAVIDANZA SULLE INFEZIONI NEONATALI  
E RELATIVI SINTOMI NEL NEONATO E LATTANTE**

Relatore

Dott.ssa Romina Valentini

Laureando

Corinna Matassoni

Anno accademico 2022-2023

## INDICE

### **Abstract**

### **CAPITOLO 1: Introduzione ai concetti teorici fondamentali**

- 1.1. Il microbiota: definizione e funzioni nell'organismo
- 1.2. Il microbiota intestinale e vaginale durante la gravidanza
- 1.3. Sviluppo del microbiota neonatale
- 1.4. Effetti del microbiota sulla salute del neonato nel breve e lungo periodo
- 1.5. Sintomi di infezione comuni nel neonato
- 1.6. I probiotici: cosa sono, fonti, effetti sull'organismo e somministrazione
- 1.7. I prebiotici: cosa sono, fonti, effetti sull'organismo e somministrazione
- 1.8. Gli alimenti fermentati: cosa sono, fonti, effetti sull'organismo

### **CAPITOLO 2: Realizzazione dello studio e risultati**

- 2.1. Progettazione dello studio:
  - 2.1.1. Obiettivi, ipotesi di partenza
  - 2.1.2. Specifiche del campione di riferimento
  - 2.1.3. Materiali, modalità e tempistiche dell'intervento: raccomandazioni nutrizionali e prodotti probiotici
  - 2.1.4. Materiali, modalità e tempistiche del monitoraggio: questionari su sintomi di infezioni neonatali
- 2.2. Attuazione pratica dell'intervento: reclutamento pazienti, somministrazione delle raccomandazioni, invio e svolgimento dei questionari
- 2.3. Risultati: risultati attesi e risultati effettivi

### **CAPITOLO 3: Discussione e conclusioni**

- 3.1. Discussione
  - 3.1.1. Limiti dello studio
  - 3.1.1. Confronto dei risultati con la letteratura scientifica
  - 3.1.2. Prospettive future
- 3.2. Conclusioni

### **Allegati**

### **Bibliografia**

### **Ringraziamenti**

## ABSTRACT

**Razionale e scopo:** Lo studio si pone come obiettivo quello di indagare l'impatto di una dieta ricca in probiotici e prebiotici nella gestante, sulle infezioni neonatali ed i relativi sintomi associati. Il razionale si basa sul ruolo centrale del microbiota per la salute dell'organismo: una dieta ricca in probiotici ed in prebiotici permette di ottimizzare l'equilibrio del microbiota intestinale e vaginale materno, che a sua volta influisce sullo sviluppo e la composizione del microbiota del nascituro, il quale ha a sua volta un ruolo fondamentale nello sviluppo del sistema immunitario del neonato e quindi nello sviluppo di sintomi di infezioni neonatali.

**Materiali e metodi:** Sono state reclutate pazienti in stato di gravidanza afferenti all'ambulatorio dedicato alla gravidanza presso l'UOC Dietetica e Nutrizione Clinica di Padova. A queste si sono fornite delle raccomandazioni nutrizionali specifiche per una dieta ricca in probiotici e prebiotici e/o una supplementazione di prodotti probiotici. Per verificare l'impatto dell'intervento, è stato inviato alle pazienti un questionario appositamente formulato che indaga la presenza di sintomi neonatali.

**Risultati:** Dai risultati non emerge una correlazione tra l'intervento tramite raccomandazioni per un'augmentata assunzione di probiotici e prebiotici ed una diminuzione dell'insorgenza di sintomi di infezioni nel neonato. Tale esito è principalmente dovuto alla limitata numerosità campionaria che impedisce di trarre delle conclusioni attendibili.

**Discussione:** Si sottolineano i limiti dello studio, quali le limitate tempistiche di svolgimento, la limitata numerosità campionaria, e l'influenza di ulteriori fattori confondenti che influiscono sullo sviluppo del microbiota e del sistema immunitario neonatale.

**Conclusione:** Lo studio a sé stante non permette di trarre delle conclusioni significative, a causa dei limiti riportati, ma mette in evidenza la potenziale efficacia di un intervento precoce tramite l'alimentazione materna sul benessere del neonato. Lo studio fornisce un modello di riferimento per approfondire tale ambito. Si sottolinea quindi l'importanza di ampliare tale progetto di studio e svolgere ulteriori studi al fine di ottenere delle raccomandazioni applicabili nella pratica clinica ed ambulatoriale e contribuire quindi ad un miglioramento del benessere del neonato, della madre e del nucleo familiare circostante.

## CAPITOLO 1

### 1.1 Il microbiota: definizione e funzioni nell'organismo

Il termine microbiota deriva dal greco dalla composizione dei termini micro e -biota, ossia «l'insieme di esseri viventi in un luogo», ed indica l'insieme dei microrganismi viventi che occupano un ambiente. In particolare, il microbiota umano si riferisce alla moltitudine di microrganismi che occupano diversi ambienti ed apparati nell'organismo umano, tra cui batteri, archeobatteri, parassiti, funghi e virus <sup>1</sup>.

Durante l'evoluzione, alcuni microrganismi hanno infatti sviluppato una profonda relazione con l'organismo umano, colonizzandone diversi compartimenti in contatto con l'ambiente esterno, quali la pelle, la cavità nasale e orale, il tratto urogenitale e vaginale e il tratto gastrointestinale <sup>2</sup>.

Questa stretta relazione tra microbiota ed organismo può essere definita come una vera e propria simbiosi, termine composto che deriva dal greco *συμβίωσις* «convivenza», e *βίωω* «vivere», che indica un'associazione intima, spesso obbligata, fra organismi di specie diverse e che comporta fenomeni di coevoluzione <sup>3</sup>.

Il microbiota può essere caratterizzato da una condizione di eubiosi, termine composto che deriva dal greco eu- ('buono') e *βίος* ('vita'), che indica uno stato di adeguato equilibrio ed armonia nella composizione, oppure può essere caratterizzato da una condizione opposta di disbiosi, per cui vi è uno stato di alterato equilibrio microbico: in base alla diversa condizione del microbiota, questo instaura con l'organismo ospitante una relazione di simbiosi che può risultare vantaggiosa oppure svantaggiosa per quest'ultimo <sup>4</sup>.

Il numero di microrganismi che costituisce questo ecosistema è stimato essere oltre a  $10^{14}$ , superando di circa 10 volte il numero di cellule che compongono il nostro organismo, ed il microbioma, ossia i geni che vanno a costituire il microbiota, supera di 100 volte il genoma umano<sup>5</sup>.

Da ciò si può intuire la vastità e la complessità di questo ecosistema, da cui emerge la stretta correlazione simbiotica tra il microbiota e l'organismo umano, nella sua funzionalità ed evoluzione, e per questo motivo ci si può riferire all'organismo umano nel complesso come un "superorganismo", in quanto questi microrganismi sono in coevoluzione e co-esistenza con l'uomo per tutta la durata della vita, fin dai primi momenti.

In particolare, il microbiota intestinale si riferisce ai microrganismi che colonizzano il tratto gastrointestinale dell'organismo umano, creando un equilibrio complesso con il nostro organismo, in una relazione reciproca molto stretta con la salute dell'organismo<sup>5,6,7</sup>.

Quest'ultimo ha una particolare rilevanza per la salute dell'organismo, infatti proprio nel tratto gastrointestinale si collocano la maggior parte dei microrganismi che colonizzano l'organismo umano, in particolare nell'intestino crasso: è stato osservato infatti che ci sono  $10^{10}$ - $10^{12}$  microrganismi vivi per grammo solamente nel colon umano.

I batteri dell'intestino sono principalmente anaerobi, ossia vivono o crescono con difficoltà in presenza di ossigeno. Questi possono essere distribuiti in tre gruppi principali sulla base dei loro effetti sulla salute dell'organismo umano:

- Batteri potenzialmente benefici, come Lactobacilli e Bifidobacteria;
- Batteri potenzialmente patogeni, come alcune specie di Clostridia, Bacteroides e Enterobacteriaceae
- Batteri commensali, come alcuni ceppi di Bacteroides, con un impatto complessivamente neutro sull'organismo.

Il microbiota si considera quindi equilibrato e favorevole per un buon mantenimento dello stato di salute, se è composto prevalentemente da batteri con proprietà benefiche come ceppi di Lactobacilli e Bifidobacteria<sup>8,9</sup>.

Il microbiota intestinale offre al nostro organismo importanti benefici, implementando diverse funzioni. In particolare, contribuisce allo sviluppo e mantenimento dell'integrità della mucosa intestinale, che è fondamentale per regolare la permeabilità della barriera intestinale, migliora la funzionalità e motilità intestinale, ha un importante ruolo nello sviluppo del sistema immunitario e nella regolazione della risposta infiammatoria, influenzando la produzione di citochine e di IL-8 e contrasta inoltre la colonizzazione da parte di patogeni, competendo per le fonti nutritive e producendo sostanze antimicrobiche, come ad esempio AMPs e catelicidina.

Ha inoltre un ruolo importante anche nel metabolismo di alcuni macronutrienti e micronutrienti. In particolare, il microbiota è in grado di fermentare alcuni polisaccaridi complessi indigeribili dagli enzimi umani, sintetizzando SCFAs, ossia acidi grassi a corta catena. Questi acidi grassi, che sono l'acido acetico, propionico e butirrico, sono a loro

volta coinvolti in essenziali funzioni dell'organismo umano quali: processi di regolazione del metabolismo cellulare come l'espressione dei geni, differenziazione cellulare, proliferazione e apoptosi, influenzano il metabolismo glucidico e lipidico, influenzano il sistema immunitario e vengono assorbiti ed utilizzati come substrato energetico per l'organismo. Il butirrato in particolare è il principale substrato energetico delle cellule della mucosa intestinale ed influenza l'attività del sistema immunitario, in quanto ha un effetto anti-infiammatorio e un'attività antitumorale e può attenuare la traslocazione batterica, rinforzando l'integrità dell'epitelio intestinale.

Il microbiota è inoltre in grado di metabolizzare i sali biliari e di effettuare la sintesi di alcune vitamine quali: vitamina B12, folati, prodotti come molecola secondaria del metabolismo microbico, vitamina K, riboflavina, biotina, acido nicotinico, acido pantotenico, piridossina e tiamina <sup>5,7,8,10</sup>.

Considerata la molteplicità e l'importanza delle funzioni svolte dal microbiota intestinale, si può comprendere come la sua composizione e di conseguenza la sua attività siano in grado di influenzare lo stato di salute dell'intero organismo del soggetto ospitante, in particolare sono state osservate associazioni dirette tra il microbiota intestinale, il sistema nervoso centrale ed il sistema immunitario. Sono state identificate altre funzioni svolte dal microbiota, al di fuori del tratto gastro intestinale, che riguardano la funzionalità di fegato, reni, pelle e la regolazione dei lipidi circolanti e di alcuni ormoni.

Il microbiota si sviluppa fin dai primi stadi di vita e la sua composizione è soggetta a modificazioni indotte dai comportamenti dell'organismo umano ospitante e da altri stimoli ambientali. Tra questi si mette in rilievo il ruolo dell'alimentazione, l'interazione con il sistema immunitario, la localizzazione geografica, vivere in un ambiente urbano o rurale, eventuali condizioni patologiche, interventi chirurgici, abitudine al fumo, depressione, utilizzo di antibiotici e altri farmaci...

In particolare, è stato dimostrato che una dieta equilibrata e ricca in fibre determina un rafforzamento di diversi ceppi batterici favorevoli, la cui azione di contrasto ad altri batteri patogeni risulta di conseguenza più efficace, mentre i trattamenti antibiotici vanno ad alterare drasticamente la composizione del microbiota, sia per quanto riguarda la densità che la qualità dei ceppi presenti, favorendo una successiva disbiosi, ossia uno squilibrio del microbiota intestinale e lo sviluppo di batteri patogeni <sup>2, 5, 10</sup>.

## 1.2 Il microbiota intestinale e vaginale durante la gravidanza

È fondamentale caratterizzare il microbiota vaginale materno, al fine di comprenderne le interazioni con il microbiota intestinale materno e il microbiota del nascituro.

Per le donne, il microbiota vaginale è indubbiamente una delle comunità microbiche più importanti nell'organismo, determinante per la salute e benessere generali proprie, ma anche del futuro nascituro <sup>11</sup>.

Le donne sane non in stato di gravidanza presentano un microbiota vaginale dominato da specie di *Lactobacillus*, in particolare *L. crispatus* (CST I), *L. gasseri* (CST II), *L. iners* (CST III) e *L. jensenii* (CST V), che sono stati collegati ad uno stato di salute vaginale<sup>11</sup>. La predominanza di Lattobacilli permette infatti di mantenere un pH vaginale adeguatamente acido, grazie alla produzione di acido lattico da parte di questi ceppi batterici, i quali producono anche composti antimicrobici come batteriocine e perossido di idrogeno, che contribuiscono al mantenimento dell'omeostasi di questo compartimento corporeo <sup>2</sup>.

La gravidanza porta a dei cambiamenti a livello del microbiota vaginale, a causa di importanti variazioni ormonali, immunologiche e metaboliche che sopraggiungono in seguito al concepimento <sup>7, 12</sup>.

Nello specifico, il microbiota vaginale durante la gravidanza presenta una minore diversità di specie presenti ed una maggiore stabilità di composizione, e sono generalmente predominanti le specie di *Lactobacillus* quali *L. crispatus* or *L.iners*, ma è stata osservata frequentemente anche la presenza di *Bifidobacterium*, *Streptococcus* e *Prevotella*.

L'aumentata stabilità del microbiota associata con la condizione della gravidanza evidenzia l'importanza delle specie batteriche appartenenti al ceppo del Lattobacilli nel mantenere un ecosistema vaginale ottimale per la salute della madre e del feto, anche se i meccanismi alla base della correlazione tra la composizione del microbiota vaginale e l'impatto sull'organismo non sono ancora comprese totalmente nella letteratura scientifica <sup>11, 12</sup>.

Altri fattori che hanno un impatto rilevante sulla composizione del microbiota vaginale sono il modello dietetico, il ciclo ormonale naturale, l'eventuale uso di contraccettivi, probiotici e integratori vitaminici, anche se non si conoscono ancora i

meccanismi esatti attraverso cui questi fattori influenzano la composizione del microbiota<sup>11</sup>.

Si precisa che le alterazioni peculiari del periodo di gestazione non riguardano unicamente il microbiota vaginale, ma anche quello intestinale, le cui variazioni influenzano il metabolismo della madre nel breve e nel lungo termine e del neonato<sup>12</sup>.

La gravidanza può infatti essere associata all'insorgenza di alterazioni metaboliche come insulino-resistenza, dislipidemia e ipertensione, le quali vanno a loro volta ad impattare sul microbiota intestinale materno<sup>14</sup>.

Esiste inoltre una stretta associazione tra il microbiota intestinale e quello vaginale ed urinario, la quale è stata messa in evidenza in particolare da studi sulla patogenesi delle infezioni delle vie urinarie nella donna.

È stata quindi caratterizzato l'asse tra il microbiota intestinale e il microbiota vaginale ed urinario, costituito da una relazione di interconnessione e crosstalk tra queste nicchie di ecosistemi, grazie al collegamento diretto che esiste fra alimentazione, intestino e quindi microbiota intestinale e microbiota vaginale, il quale è influenzato dagli ecosistemi microbici presenti nel tratto intestinale ed a livello fecale.

Nello specifico, è stata messa in evidenza la correlazione tra disbiosi intestinale e disbiosi vaginale, attraverso l'associazione tra l'iperproliferazione del batterio E.coli a livello intestinale e l'insorgenza di UTI, ossia infezioni del tratto urinario<sup>2,11</sup>.

Al fine di ottimizzare la composizione del microbiota in gravidanza, è importante porre attenzione ai fattori ambientali che possono ottimizzare o compromettere la composizione di questo ecosistema: emerge infatti dalla letteratura che i trattamenti antibiotici influenzano negativamente il microbiota, mentre i trattamenti probiotici e prebiotici sono in grado di apportare un'influenza positiva, inoltre anche un'alimentazione sana ed equilibrata è fondamentale per permettere una composizione microbica favorevole per la salute della madre e di conseguenza anche del feto.

Per quanto riguarda l'alimentazione in particolare, è stato osservato che un elevato apporto di carboidrati, fibre e ferro contribuiscono allo sviluppo di un microbiota intestinale favorevole, mentre un eccessivo apporto di proteine, carenza di ferro, scarso apporto di fibre, eccessivo apporto di carne, grassi di origine animale, alimenti processati e zuccheri semplici, contribuiscono allo sviluppo di un microbiota intestinale sfavorevole per l'integrità della barriera intestinale, con la possibilità di sviluppare uno stato



infiammatorio cronico, coinvolto nella patogenesi di diverse patologie quali obesità, sindrome metabolica e diabete gestazionale, associate a loro volta ad una alterazione anche nello sviluppo del microbiota del nascituro <sup>13, 14</sup>.

### **1.3. Sviluppo del microbiota neonatale**

Il microbiota del neonato si inizia a sviluppare fin dalle prime fasi di vita, precedenti al momento del parto, e il suo sviluppo e la composizione variano in base a fattori prenatali propri dell'organismo e materni, perinatali, post-natali ed ambientali esterni.

Una fase di fondamentale importanza nello sviluppo dell'organismo nella sua interezza e di conseguenza anche del microbiota, sono i "Primi mille giorni", ossia il periodo che intercorre dal momento del concepimento fino al compimento del secondo anno di vita. Questa particolare fase è stata individuata come cruciale per lo sviluppo dell'organismo e l'esposizione ai diversi fattori che lo possono influenzare, sia positivamente che negativamente, conduce a degli effetti sia nel breve che nel lungo termine.

Nel contesto specifico del microbiota, si ha evidenza che questo ecosistema si sviluppi principalmente fino ai 2-3 anni di vita, ed intorno a quest'età la composizione, varietà e capacità funzionali del microbiota assomigliano già a quelle dell'individuo adulto.

Il concetto dei "Primi mille giorni" evidenzia l'importanza di intervenire fin da prima della nascita e nei primi anni di vita, al fine di poter favorire un adeguato sviluppo dell'organismo nella sua interezza e del microbiota: questo particolare periodo è infatti caratterizzato da una rapida maturazione dell'organismo in ambito metabolico, endocrino, neurale ed immunitario <sup>5, 14</sup>.

Come precedentemente indicato, i fattori che influenzano lo sviluppo e la composizione del microbiota del neonato possono essere suddivisi in: fattori prenatali, perinatali, post-natali ed ambientali, tra cui i principali si possono osservare nella *Figura 1*. Si possono inoltre individuare tre fasi principali in cui può verificarsi il trasferimento verticale di specie microbiche dalla madre al bambino e l'istituzione del microbiota intestinale infantile: in utero, alla nascita e attraverso l'allattamento al seno <sup>15</sup>.

Tra i fattori prenatali che influenzano il microbiota del neonato, si individuano la genetica dell'organismo ospitante e fattori caratterizzanti l'ambiente pre-natale.

Uno dei principali fattori che determina lo sviluppo del microbiota neonatale deriva proprio dall'influenza che il neonato riceve direttamente dal microbiota e dall'organismo materno: è infatti ampiamente riconosciuto in letteratura che il microbiota del neonato sia derivato da quello della madre, attraverso una trasmissione verticale <sup>15</sup>. Si ha evidenza a tal proposito, che il feto entra a contatto con i componenti del microbiota materno già prima del momento del parto ed il trasferimento microbico verticale può essere avviato già durante la gravidanza, in quanto è stata osservata la presenza di comunità batteriche anche nel liquido amniotico, placenta, cordone ombelicale e utero. Ciò è confermato dalla stretta correlazione che si è osservata tra la composizione del microbiota materno e quello del neonato nei primi giorni di vita, anche se sono necessari ulteriori studi per determinare il meccanismo di impatto di questi microrganismi sullo sviluppo del nascituro <sup>5, 12, 15, 16</sup>. Il microbiota materno produce inoltre dei composti che vengono trasportati al feto attraverso un percorso trans-placentare, contribuendo a loro volta allo sviluppo del feto, tra queste sostanze in particolare si individuano gli acidi grassi a corta catena (SCFAs), che sono prodotti dalla fermentazione da parte del microbiota intestinale materno di sostanze prebiotiche, le quali verranno più specificatamente descritte successivamente nel capitolo 1.7 <sup>7</sup>.

Risulta quindi evidente che la prima e la principale fonte di microrganismi che andranno a colonizzare l'organismo del neonato è il microbiota della madre, il quale entra a contatto con il feto sia prima della nascita, che durante il parto e nei momenti successivi <sup>16</sup>.

In particolare, sono stati osservati alcuni fattori che, tramite l'esposizione materna, sono in grado di influenzare la composizione del microbiota sia della madre che del nascituro, e tra questi si individuano:

- **Dieta materna:** la nutrizione è infatti un fattore chiave che modella il microbiota intestinale. I cambiamenti nella dieta materna durante la gravidanza e l'allattamento sono stati correlati con un'alterazione del microbiota dell'intestino materno e del latte materno, ma anche del microbiota intestinale infantile, con maggiori effetti osservati tra i neonati allattati al seno rispetto ai neonati alimentati con latte artificiale. Sono inoltre presenti evidenze della correlazione tra alimentazione scorretta ed un'influenza negativa sullo stato di salute del neonato, in particolare attraverso un'alterazione a livello del microbiota del latte materno

e del neonato, ma le evidenze sugli effetti diretti sull'influenza del microbiota del neonato sono limitate e non ancora comprese appieno. Queste evidenze sostengono la potenziale efficacia di interventi nutrizionali sulla madre finalizzati ad ottenere o mantenere un'adeguata composizione del microbiota, per migliorare gli outcome di salute e ridurre il rischio di malattia, sia nella madre che nel feto;

- Supplementazione di probiotici: è stata osservata una correlazione tra la supplementazione materna di ceppi probiotici di Lactobacilli e Bifidobacterium e la maggiore presenza di questi ceppi nel microbiota dei corrispettivi figli, immediatamente dopo la nascita, anche se ad oggi non ci sono evidenze sulla persistenza e la durata dell'influenza sul microbiota del neonato;
- Uso di antibiotici durante la gravidanza: è stata osservata una differenza significativa tra il microbiota di neonati le cui madri hanno utilizzato antibiotici prima del parto, rispetto ai bambini le cui madri non hanno assunto antibiotici, evidenziando un'associazione tra esposizione materna ad antibiotici ed una riduzione nella biodiversità del microbiota intestinale.
- Altri fattori pre-natali che sono stati osservati e messi in rilievo per la loro potenziale capacità di influenzare il microbiota materno e quindi quello del neonato sono:
- BMI pre-gestazionale e incremento ponderale durante la gravidanza: emerge dalla letteratura scientifica una modesta associazione tra una diminuita biodiversità del microbiota del neonato ed una minore presenza di Bifidobatteri e uno stato di sovrappeso-obesità materno o eccesso di incremento ponderale durante la gravidanza;
- Stress materno e disturbi dell'umore: un aumentato stress porta ad aumentati livelli di cortisolo, che sono associati ad una modificazione nella composizione del microbiota materno ed i rispettivi neonati, i quali presentavano un maggiore presenza di ceppi di Proteobatteri ed una minore presenza di Lactobacilli e Bifidobatteri rispetto al gruppo di controllo;
- Differenze etniche;
- Altre patologie materne che portano ad alterazione della composizione del microbiota del neonato: HIV, GBS, eczema atopico, IBD, sviluppo di diabete gestazionale, asma materna <sup>5, 7, 14,15</sup>.

È importante sottolineare che si tratta, tuttavia, di evidenze ad oggi ancora limitate, che necessitano di ulteriori studi ed approfondimenti, in quanto vi è una difficoltà nell'analizzare il contributo e l'interazione dell'esposizione materna prenatale ad un singolo fattore sul microbiota intestinale del neonato, a causa della presenza di numerosi fattori interferenti, per cui è necessaria un'analisi molto complessa e duratura nel tempo, al fine di comprendere i meccanismi che mettono in correlazione questi due aspetti.

I fattori perinatali principali che condizionano lo sviluppo del microbiota neonatale sono: tipologia di parto, età gestazionale, peso alla nascita, tipologia e durata di allattamento e svezzamento <sup>14,16</sup>.

Con l'evento della nascita avviene la colonizzazione batterica dell'organismo del neonato, ciò accade grazie al contatto diretto del neonato con il microbiota della madre caratteristico di diverse regioni corporee in base alla tipologia di parto: attraverso il parto eutocico il feto è esposto al contatto con il microbiota vaginale ed intestinale materno, mentre attraverso il parto cesareo il feto entra principalmente a contatto con il microbiota materno situato a livello cutaneo.

Ciò ha un impatto sulla composizione del microbiota, con esiti differenziali tra neonati nati con parto naturale rispetto a quelli nati con parto cesareo: si è osservato che i bambini nati da parto naturale presentano un microbiota che rispecchia il microbiota vaginale materno, composto principalmente da *Lactobacillus*, *Sneathia* spp., e *Prevotella*, mentre quelli nati da parto cesareo presentano un microbiota più affine ai microrganismi rilevati sulla cute della madre e nell'ambiente esterno circostante, ossia *Staphylococcus*, *Propionibacterium* spp., e *Corynebacterium*, con una minore presenza di *Bifidobacterium*, *Lactobacillus* e *Bacteroides* <sup>5, 15, 16</sup>.

Queste differenze sulla composizione del microbiota neonatale, contribuiscono a rafforzare l'associazione che è stata osservata tra parto cesareo ed alcune patologie correlate a disordini del sistema immunitario quali asma ed allergie ed altre patologie come diabete mellito di tipo 2 ed obesità <sup>7</sup>.

Ciò mette in evidenza che il parto è un punto critico e cruciale per il trasferimento verticale delle specie microbiche e l'iniziale sviluppo del microbiota umano e da questa considerazione si deduce l'importanza di effettuare interventi mirati ad un'adeguata composizione del microbiota vaginale ed intestinale materno, al fine di permettere un

imprinting iniziale sulla composizione del microbiota del neonato il più favorevole possibile al mantenimento di un buono stato di salute <sup>5,15</sup>.

È importante considerare anche che la nutrizione materna ha un impatto maggiore sul microbiota di neonati nati con parto eutocico, rispetto a quelli nati da parto cesareo, in quanto l'alimentazione interagisce in modo importante con il microbiota intestinale e vaginale della madre, mentre il microbiota cutaneo è principalmente condizionato dall'ambiente esterno <sup>7</sup>.

Anche l'età gestazionale influisce sulla composizione iniziale del microbiota neonatale: i neonati pretermine mostrano infatti una minore biodiversità del microbiota ed una maggiore presenza di batteri facoltativi anaerobi quali *Enterobacter*, *Enterococcus*, *Klebsiella*, e *Staphylococcus*, rispetto ai nati a termine <sup>14</sup>.

Un altro fattore chiave in grado di modellare il microbiota intestinale infantile è l'allattamento e le diverse modalità con cui questo viene effettuato <sup>15,16</sup>.

La dieta svolge notoriamente infatti un ruolo fondamentale nella regolazione della composizione del microbiota intestinale e questo è vero fin dal primo alimento che assume il neonato, ossia il latte, grazie alle sue componenti nutritive e bioattive.

In particolare, l'allattamento materno apporta numerosi importanti benefici sia alla madre che al neonato, fornendo l'alimento ideale per soddisfare le necessità del neonato, ed impatta sul microbiota di quest'ultimo, permettendo una maggiore presenza di ceppi di Bifidobatteri e Lactobacilli, rispetto ai neonati nutriti tramite latte formula, che invece presentano maggiormente ceppi quali *Bacteroides*, *Staphylococci*, *Enterococci*, e *Clostridia* <sup>12,14</sup>.

Il latte materno è un alimento con una composizione specificatamente adatta per fornire al neonato i macronutrienti e micronutrienti di cui ha bisogno per il proprio sviluppo, in grado di adattarsi nel tempo alle necessità del neonato <sup>16</sup>.

I meccanismi attraverso cui il latte materno esercita un'influenza sul microbiota neonatale sono resi possibili grazie alla presenza di un microbiota nel latte materno stesso, che viene trasmesso direttamente al neonato insieme a metaboliti microbici e altre componenti del latte materno che fungono da efficaci substrati per il microbiota neonatale.

Il microbiota del latte materno è un'unità dinamica e complessa caratterizzata dalla presenza di numerose specie diverse tra cui si identificano Lactobacilli, Staphylococci,

Streptococchi e Bifidobatteri e la sua composizione è influenzata da numerosi fattori quali: l'alimentazione materna, la presenza di microrganismi a livello della cute prossima alla ghiandola mammaria e di eventuali microrganismi presenti nella cavità orale del neonato, andamento ponderale materno, stadio della lattazione ed esposizione ad antibiotici.

Hanno un ruolo importante in questo contesto anche alcune componenti del latte materno come gli oligosaccaridi del latte umano (HMO), i fattori antimicrobici e gli anticorpi che hanno a loro volta un impatto sul microbiota infantile.

Gli HMO in particolare, sono abbondanti nel latte materno e si ritiene che alimentino selettivamente i ceppi benefici di *Bifidobacterium*, con conseguente maggiore abbondanza di queste specie batteriche nell'intestino dei neonati che assumono il latte materno rispetto ai neonati nutriti con latte artificiale <sup>7, 15</sup>.

A conferma di ciò è stata infatti osservata la presenza di *Bifidobacterium longum*, *Bifidobacterium pseudocatenulatum* e *Streptococcus thermophilus* nelle feci materne, latte materno e campioni fecali del neonato, mettendo in evidenza la correlazione tra microbiota intestinale materno, latte materno e microbiota intestinale del neonato <sup>7</sup>.

Le differenze nella composizione del microbiota indotta dalla tipologia di parto ed allattamento si mantengono fino ai 12-24 mesi di vita e vanno poi ad attenuarsi gradualmente in base ai fattori post-natali ambientali a cui è esposto il neonato.

I fattori ambientali esterni che condizionano lo sviluppo del microbiota neonatale sono: l'uso di antibiotici, che possono andare a disgregare il delicato ecosistema del microbiota neonatale, e l'esposizione a microrganismi nell'ambiente esterno, ad esempio attraverso il contatto con animali domestici, in quanto questo costituisce una fonte di varie specie di microrganismi che possono interagire e colonizzare il microbiota, contribuendo a sviluppare una migliore immunotolleranza <sup>12, 16</sup>.

Durante i primi anni di vita, grazie all'influenza di tutti questi fattori, si ha un aumento della biodiversità del microbiota che risponde in modo dinamico agli stimoli e si avvicina gradualmente verso un profilo microbiotico tipico dell'adulto, con tempistiche che variano per ogni individuo.

Il profilo del microbiota, una volta maturo, risulta maggiormente resiliente agli stimoli ambientali esterni e la composizione e le variazioni interindividuali in età adulta sono principalmente influenzate da fattori quali: l'indice di massa corporea, stile di vita ed abitudini alimentari, la presenza di patologie, utilizzo di antibiotici, condizioni

infiammatorie, invecchiamento, stress fisico e psicologico, ed altri fattori esterni quali l'abitudine al fumo e l'inquinamento dell'ambiente esterno<sup>5, 7, 14</sup>.

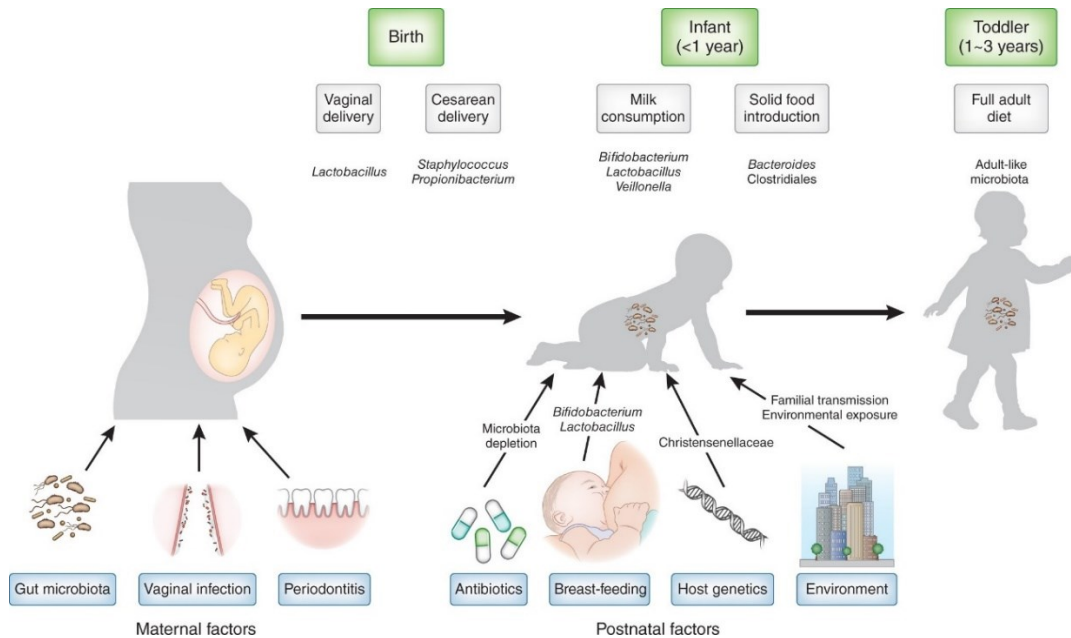


Figura 1, fonte bibliografica 12: Fattori materni e postnatali principali che interferiscono sullo sviluppo e composizione del microbiota intestinale del neonato e del bambino.

#### 1.4 Effetti del microbiota sulla salute del neonato nel breve e lungo periodo

Lo sviluppo del microbiota ha un impatto importante sullo stato di salute del neonato e sul mantenimento di esso, sia nel breve termine, fin dai primi stadi di vita, che nel lungo termine, fino all'età adulta e senile<sup>5</sup>.

Il microbiota intestinale non ha infatti degli effetti solo a livello locale sul tratto gastrointestinale, ma ha delle implicazioni anche a livello di altri sistemi ed apparati dell'organismo<sup>7</sup>.

Il microbiota instaura infatti una rete di interconnessione con la funzione immunitaria, il sistema nervoso e la regolazione metabolica dell'organismo, che va poi a determinare il metabolismo dei nutrienti, lo sviluppo, la crescita e predispone ad outcome sulla salute anche nel lungo termine.

La presenza, infatti, di un microbiota intestinale in eubiosi o disbiosi, ossia in uno stato di equilibrio o disequilibrio, influenza in maniera rispettivamente positiva o negativa

l'assunzione e assorbimento di nutrienti, il mantenimento della funzione della barriera intestinale, lo sviluppo del sistema immunitario e la risposta immunitaria, la crescita dell'organismo e lo sviluppo endocrino e neurologico.

Da ciò deriva che, se si instaura una interazione maladattativa tra il microbiota nel neonato, l'organismo stesso del neonato e l'ambiente circostante, è possibile che si verifichi la presentazione di outcome negativi sulla salute del neonato <sup>14</sup>.

Le condizioni che vanno ad alterare l'omeostasi di questo delicato ecosistema possono infatti indurre o aumentare il rischio di sviluppo di patologie nel corso della vita: è stata osservata una chiara correlazione tra i fattori che vanno ad alterare il microbiota e diverse condizioni immunologiche, metaboliche, e neurologiche sia in età pediatrica che in età adulta, quali ad esempio asma, dermatite atopica, diabete, patologie allergiche, IBS, obesità, alterazioni della composizione corporea, patologie cardiovascolari, ipertensione e disordini neurologici, oltre che disturbi del tratto gastro-intestinale <sup>11, 13, 16</sup>.

Si ha ad esempio evidenza che la presenza di ceppi di *Lactobacillus*, favorita da un allattamento al seno, potrebbe avere un ruolo preventivo nello sviluppo di patologie allergiche, mentre le riduzioni nella diversità del microbiota dell'intestino o nella ricchezza della specie benefiche quali i Bifidobatteri e Lattobacilli, individuate fra i neonati alimentati tramite latte-formula, sono state associate con i rischi futuri aumentati di malattie atopiche e metaboliche compreso, il diabete, l'obesità e la sindrome dell'intestino irritabile <sup>15, 16</sup>.

Per quanto riguarda l'aspetto neurologico, è stata individuata una stretta correlazione tra microbiota intestinale e sistema nervoso, ben definito nell'identificazione del concetto di asse intestino-cervello <sup>7</sup>.

Una delle principali ricadute sulla salute complessiva del neonato riguarda la stretta relazione che esiste tra il microbiota e il sistema immunitario: è infatti essenziale una relazione equilibrata tra questi due elementi, al fine di garantire un'adeguata risposta all'esposizione di agenti patogeni e modulare la risposta infiammatoria <sup>5, 12</sup>.

Un'importante influenza dei batteri dell'intestino superiore sulla funzione immunitaria è stata suggerita dalla presenza nell'intestino tenue di un grande numero di strutture linfoidi organizzate, dette Placche di Peyer. L'epitelio in queste regioni contiene dei centri germinali linfoidi finalizzati all'induzione di una risposta immunitaria adattiva ed è specializzato nell'assorbimento e nel trasporto degli antigeni, il quale dipende dalla



permeabilità intestinale che risulta fortemente influenzata dalla composizione del microbiota <sup>17</sup>.

A tale proposito, diversi studi hanno riportato che la disbiosi nel neonato induca il sistema immunitario ad instaurare stato pro-infiammatorio cronico, favorendo quindi danni tissutali ed ostacolando la risoluzione delle infezioni e riparazione dei tessuti, disturbando la fisiologica regolazione immunitaria, potenzialmente esponendo l'organismo allo sviluppo nel lungo termine di malattie infiammatorie croniche intestinali, allergie e patologie autoimmuni.

Un inadeguato sviluppo del sistema immunitario nel neonato, espone inoltre il soggetto ad una maggiore presenza di infezioni tipiche dell'età neonatale e dei relativi sintomi, con una maggiore difficoltà nella risoluzione di queste infezioni.

In conclusione, lo sviluppo di un microbiota adeguato fin dai primi giorni e mesi di vita, permette di influenzare positivamente lo sviluppo del sistema immunitario, il quale risulta fondamentale per la difesa dell'organismo da agenti patogeni ed infezioni, sostenendo il mantenimento di un buono stato di salute dell'individuo <sup>12, 16</sup>.

### **1.5 Sintomi di infezione comuni nel neonato**

Nei paragrafi precedenti è stato sottolineato come l'adeguato sviluppo del microbiota intestinale, fin dalle prime fasi di vita, abbia un ruolo fondamentale per determinare un adeguato sviluppo del sistema immunitario dell'organismo del neonato, il quale ha un ruolo nella gestione dell'insorgenza di infezione neonatali e dei relativi sintomi. Di seguito verranno approfondite le infezioni e relativi sintomi che più comunemente si riscontrano nei neonati nei primi mesi di vita, la cui relativa presenza e frequenza è correlata alla capacità dell'organismo di reagire all'insorgenza di infezioni, grazie alla funzionalità del sistema immunitario.

Le infezioni che più comunemente si riscontrano nel neonato sono le infezioni del tratto urinario (UTI), l'otite (OMA), tonsillite, infezioni respiratorie e infezioni relative al tratto gastrointestinale

I segni e sintomi dell'infezione nei neonati tendono a essere aspecifici, ossia gli stessi sintomi possono essere correlati ad infezioni in diversi distretti corporei, e sono: vomito o alimentazione scarsa, incremento della sonnolenza o letargia, febbre o

ipotermia, tachipnea, eruzioni cutanee, diarrea, dolore e distensione addominale, irritabilità, brividi e tremori <sup>18</sup>.

In particolare, in bambini di età compresa tra 0-59 giorni, la WHO definisce come infezione clinica severa un quadro di sintomatologia che prevede almeno uno dei sintomi seguenti: movimento assente o solo se stimolato, incapacità totale di nutrirsi o scarsa nutrizione, temperatura corporea superiore a 38 °C o inferiore a 35.5 °C e compressione severa della cassa toracica durante l'inspirazione. Altri sintomi che possono indicare la presenza di un'infezione batterica severa, oltre a quelli appena elencati, sono le convulsioni ed un respiro accelerato, ossia superiore a 60 respiri al minuto <sup>19</sup>.

Le infezioni del tratto urinario, il cui acronimo è UTI, sono delle infezioni comuni che possono insorgere anche nelle prime fasi di vita, la cui prevalenza è infatti del 7,5% in femmine con età 0-3 mesi e del 2,4% e 20,1% in maschi della medesima età, rispettivamente circoncisi e non circoncisi <sup>20</sup>. In generale è stata osservata in letteratura una prevalenza del 6% in bambini con età inferiore a 5 anni.

I sintomi che caratterizzano in modo specifico questa infezione sono principalmente l'emissione di urine torbide e maleodoranti, ma si manifesta spesso anche attraverso gli altri sintomi aspecifici precedentemente elencati <sup>21</sup>.

I disturbi respiratori e i relativi sintomi si manifestano frequentemente in età neonatale e possono essere correlati a diverse tipologie di fattori eziologici.

Questi si possono manifestare attraverso sintomatologie come l'alterazione respiro più pesante ed ansimante, tosse, rumori respiratori sibilanti o rantolanti e mancanza del respiro. Questi si possono verificare sia in condizioni di normalità, che in presenza di raffreddore, in condizioni di sforzo fisico o durante la notte <sup>22</sup>.

L'otite media acuta, il cui acronimo è OMA, è una fra le patologie più frequenti in età pediatrica: oltre il 60% dei bambini al di sotto dei 3 anni di vita presenta infatti almeno un episodio, ed il sintomo specifico principale che si correla a questo disturbo è il dolore riferito all'orecchio, ma si può manifestare anche attraverso ulteriori sintomi aspecifici tipici delle infezioni del neonato <sup>23, 24</sup>.

Le infezioni possono coinvolgere anche il tratto gastrointestinale, ed in particolare nei neonati e lattanti si possono osservare sintomi quali: rigurgito, vomito, coliche, diarrea, costipazione e dischezia.

Con il termine diarrea si intende il passaggio quotidiano ricorrente di 3 o più scariche abbondanti e non formate. La costipazione, che si può considerare come un disturbo opposto rispetto alla diarrea, si definisce, nei bambini fino ai 4 anni, come la presenza per almeno 1 mese di almeno due dei seguenti elementi: due o meno di due scariche a settimana, storia di eccessiva ritenzione delle feci, movimenti intestinali dolorosi, storia di feci di largo diametro, presenza di grandi masse fecali nel retto.

La prevalenza di diarrea è stata osservata essere pari al 2,4% in bambini con età <1 anno e del 6,4% in bambini di 1-3 anni, mentre la prevalenza di costipazione è pari al 2,9% nel primo anno di vita ed incrementa fino al 10,1% nel secondo anno.

Le coliche sono un disturbo molto frequente ed impattante in età infantile, emerge infatti dalla letteratura che circa il 20% dei bambini presenta un pianto prolungato ed ulteriori segni e sintomi che conducono alla diagnosi di colica, ed è stato osservato che il pianto prolungato tende a risolversi intorno alle 3-4 settimane di vita <sup>25</sup>.

Secondo i criteri diagnostici di Roma IV, le coliche si manifestano in lattanti di età inferiore ai 5 mesi attraverso periodi ricorrenti di pianto prolungato, agitazione o irritabilità che si verificano senza causa evidente e non possono essere prevenuti né risolti dal genitore, senza nessuna evidenza di difetto di crescita, febbre o malattia. In particolare, il pianto o stato di agitazione riferiti dovrebbero essere di almeno 3 ore al giorno per almeno 3 giorni a settimana.

Altri sintomi associati alle coliche e ad altri disturbi gastrointestinale sono: discomfort nei processi digestivi a livello del tratto gastrointestinale, gonfiore, costipazione, diarrea e rigurgito <sup>26</sup>.

È importante considerare che l'insorgenza dei sintomi, oltre ad avere un impatto sul benessere dell'organismo del neonato, impatta anche sulla qualità di vita sia del neonato che di chi se ne prende cura. Questi influenzano infatti la capacità di nutrirsi, la qualità del sonno e lo stato di attivazione o stanchezza dell'organismo nel neonato, ma influenzano anche le abitudini quotidiane della famiglia, la qualità del sonno dei genitori e la relazione tra genitore e figlio e possono inoltre essere fonte di stress e preoccupazioni importanti<sup>22, 27</sup>. Per questo motivo, un intervento mirato ad ottimizzare la salute del neonato, permette di migliorare innanzitutto lo stato di salute dell'organismo dell'individuo, ma anche di impattare positivamente sulla qualità di vita di chi si prende cura del bambino.

## 1.6 I probiotici: cosa sono, fonti, effetti sull'organismo e somministrazione

Al fine di migliorare ed ottimizzare la composizione del microbiota, è possibile intervenire attraverso l'assunzione di una dieta ricca in probiotici, prebiotici e simbiotici le cui proprietà verranno di seguito approfondite.

In breve, vengono definiti probiotici i microrganismi vivi e vitali che, se somministrati in quantità adeguata, conferiscono benefici alla salute dell'ospite, i prebiotici sono invece sostanze non digeribili che costituiscono un substrato energetico per il microbiota e producono un effetto fisiologico benefico sull'ospite stimolando in maniera selettiva la crescita o l'attività di un numero limitato di batteri indigeni ed i simbiotici sono prodotti contenenti sia probiotici che prebiotici, che permettono di ottenere simultaneamente e sinergicamente i vantaggi derivanti dall'assunzione di questi <sup>17, 28</sup>.

Per quanto riguarda la sicurezza dell'assunzione nello specifico e delicato contesto della gravidanza, la supplementazione di prodotti probiotici e prebiotici è considerata sicura per l'uso durante e dopo la gravidanza e durante l'allattamento e non è associata ad effetti collaterali pericolosi o gravi per la salute della madre e del bambino. Gli effetti collaterali segnalati sono minimi e sono principalmente legati all'effetto osmotico ed all'aumentata fermentazione a livello intestinale, che possono portare all'insorgenza di diarrea, gonfiore, crampi e flatulenza. È importante tenere conto che anche la gravidanza stessa porta all'insorgenza di sintomi comuni a livello gastrointestinale, in particolare nausea e vomito, malattia da reflusso e costipazione.

L'insorgenza di questi effetti collaterali dipende inoltre dallo stato di salute dell'ospite, dalla tipologia di probiotici e prebiotici assunti, ad esempio i prebiotici con lunghezza della catena più corta possono avere maggiori effetti collaterali e dalla composizione e dalla funzione del microbiota intestinale stesso, che possono essere migliorate con la supplementazione di tali sostanze: emerge infatti che i benefici derivanti dalla supplementazione di probiotici e prebiotici superino l'entità di questi minimi effetti avversi <sup>8, 12, 29</sup>.

Al fine di prevenire l'insorgenza di questa sintomatologia, si consiglia di introdurre i probiotici e prebiotici nella propria alimentazione con gradualità, in particolare se non si è abituati ad assumerne, e valutarne la quantità tollerata.

In questa sezione si andrà ad approfondire in particolare la categoria dei probiotici.

Il termine “probiotico” può essere riferito solamente ai microrganismi viventi il cui consumo è stato dimostrato di avere effetti benefici sulla salute, in studi umani controllati. Queste sostanze sono contenute in alcuni alimenti oppure possono essere integrate in vari tipi di prodotti, quali alimenti, medicinali e supplementi dietetici.

I ceppi batterici di *Lactobacillus* e di *Bifidobacterium* sono quelli che vengono utilizzati più comunemente come probiotici, altre specie utilizzate sono *Saccharomyces*, *Streptococcus*, *Enterococcus*, *Bacillus*, *Pediococcus*, *Leuconostoc*, and *Escherichia coli*<sup>17, 28</sup>. Dai vari studi presenti in letteratura riguardo alla supplementazione nell’ambito specifico della gravidanza, i ceppi più comunemente utilizzati sono: *Lactobacillus rhamonosus*, *Lactobacillus acidophilus* e *Bifidobacterium animalis*.

I prodotti probiotici in commercio, secondo il Ministero della Salute, devono soddisfare i seguenti requisiti:

- essere usati tradizionalmente per integrare la microflora (microbiota) intestinale dell’uomo;
- essere considerati sicuri per l’impiego nell’uomo e non devono essere portatori di antibiotico-resistenza acquisita e/o trasmissibile;
- essere attivi a livello intestinale in quantità tale da moltiplicarsi in tale sede<sup>30</sup>.

Ulteriori requisiti minimi, sono stati identificati nelle *Linee Guida Pratiche della World Gastroenterology Organisation Probiotici e Prebiotici*, che sanciscono che i prodotti probiotici devono: essere specifici nel genere e nel ceppo, contenere batteri vivi, essere somministrati in dosi adeguate entro la scadenza e devono dimostrare di essere efficaci in studi umani controllati.

Le forme più comuni di alimenti ricchi in probiotici sono i prodotti caseari, in particolare yogurt ed alcuni altri alimenti fermentati, che verranno trattati nello specifico al sottocapitolo 1.8, e gli alimenti fortificati con probiotici.

Tuttavia, sono disponibili anche compresse, pillole e bustine che contengono batteri in forma liofilizzata<sup>17</sup>.

Dal 2002, con l’avvento della direttiva 2002/46/CE sugli integratori alimentari, che ha aperto il suo campo di applicazione anche alle “fonti concentrate” di sostanze ad “effetto fisiologico”, sono stati legalmente ammessi come integratori alimentari prodotti a base di soli “probiotici” senza componenti nutrizionali associate.

I prodotti conformi alle Linee Guida su probiotici e prebiotici del Ministero della Salute risultano plausibilmente in grado di favorire l'equilibrio del microbiota intestinale e possono quindi indicare in etichetta tale effetto fisiologico ed impiegare termini che lo sottendono come "probiotico".

Sulla base delle evidenze scientifiche disponibili, la quantità minima sufficiente per ottenere una temporanea colonizzazione dell'intestino da parte di un ceppo microbico è di almeno  $10^9$  cellule vive per giorno e di conseguenza la porzione di prodotto raccomandata per il consumo giornaliero deve essere pari a  $10^9$  cellule vive. L'uso di quantità inferiori può essere consentito solo se adeguati studi scientifici supportano comunque, per il ceppo in questione, la capacità di colonizzare a livello intestinale.

I probiotici, come precedentemente riportato nella definizione, giungono vitali ed attivi a livello intestinale e apportano degli effetti benefici al microbiota ed all'organismo nel complesso.

In generale, i probiotici sostengono il microbiota naturale dell'intestino ed agiscono migliorando la salute intestinale.

I probiotici contribuiscono inoltre a regolare la funzione immunitaria: essi, infatti, agiscono sull'ecosistema intestinale stimolando i meccanismi immunitari della mucosa ed entrano in competizione con i microrganismi potenzialmente patogeni <sup>17</sup>.

Nel contesto specifico della gravidanza, l'integrazione probiotica è stata associata a diversi benefici per la salute: permette di sostenere un apparato digerente sano, ha un ruolo nella prevenzione del diabete gestazionale, della mastite, della stitichezza, della depressione post-parto e della sovraccrescita di batteri patogeni come lo Streptococco del gruppo B, contribuisce a prevenire gli esiti negativi della gravidanza e della nascita prematura. L'integrazione probiotica in gravidanza permette infatti un miglioramento del metabolismo del glucosio, una riduzione dell'infiammazione e un minore rischio di infezione. Inoltre, l'ottimizzazione della composizione del microbiota intestinale materno permette di sostenere anche l'equilibrio intestinale dei neonati, influenzando la composizione del loro microbiota intestinale, come sostenuto precedentemente nel capitolo dedicato.

Nel complesso, si può quindi affermare che una supplementazione di probiotici contribuisce ad un miglioramento generale dello stato di salute per gli individui in pre-gravidanza, in gravidanza e dopo il parto e per il neonato <sup>29</sup>.

L'effetto "fisiologico" volto a favorire l'equilibrio del microbiota intestinale è vincolato alla capacità di un probiotico di colonizzare a livello intestinale, grazie all'apporto di un numero sufficiente di cellule vive con le quantità di assunzione indicate, e per questo risulta fondamentale porre attenzione alla posologia con cui questi prodotti vengono assunti, al fine di ottenere i benefici desiderati <sup>30</sup>. Inoltre, la risposta di un individuo a un intervento può essere unica, in parte determinata dallo stato di salute, età e dalla composizione di partenza del microbiota intestinale <sup>29</sup>.

Oltre all'azione sul microbiota intestinale, ci sono evidenze in letteratura sull'azione dei probiotici anche a livello del microbiota vaginale, favorendo e ripristinando l'omeostasi del microbiota anche in questo ambiente, che sarà poi determinante per la colonizzazione microbica del neonato con il parto naturale, anche se si hanno ancora poche conoscenze sui meccanismi coinvolti.

In particolare, è emerso che i probiotici sono in grado di ridurre l'abbondanza di ceppi patogeni anche a livello del microbiota vaginale, come ad esempio il ceppo di *Prevotella* spp., associato a esiti negativi per la salute come forme gravi della condizione infiammatoria vaginite aerobica e neoplasia intraepiteliale cervicale e sono in grado di aumentare in modo statisticamente significativo la presenza di Lactobacilli, indicativi di uno stato di salute vaginale.

Attualmente, non vi sono però ancora evidenze chiare ed univoche riguardo l'azione dei probiotici orali sul microbiota vaginale, a causa della presenza di diversi fattori interferenti, ma si tratta di un ambito oggetto di crescente interesse e ricerca <sup>2, 11</sup>.

Per quanto concerne i benefici di una supplementazione di probiotici materni sull'organismo del neonato, si ha evidenza che questa porti alla colonizzazione del microbiota intestinale infantile, in particolare per quanto riguarda la quantità di microrganismi presenti nel microbiota del neonato, e vi sono prove, seppur ancora limitate, anche sull'impatto sulla tipologia e varietà di microrganismi presenti. I dati disponibili indicano inoltre che la supplementazione probiotica materna durante la gravidanza influenzi la colonizzazione del microbiota del latte materno, che viene a sua volta assunto dal neonato.

In particolare, emerge dalla letteratura scientifica che la supplementazione probiotica durante la gravidanza e/o l'allattamento aumenta il numero di Bifidobatteri nell'intestino del bambino e aumenta il tenore di Lactobacilli nei campioni fecali

neonatali, inoltre la supplementazione materna con probiotici con ceppo di *Lactobacillus* è stata osservata essere in grado di ridurre il ceppo di *Staphylococcal* nel latte materno.

Oltre agli effetti diretti sulla composizione del microbiota nel neonato, la supplementazione probiotica materna è stata osservata essere in grado di migliorare i sintomi clinici di mastite e ridurre la malattia atopica in infanti, riducendo il rischio di eczema.

Emerge quindi dalla letteratura l'effettiva possibilità di migliorare la salute dei neonati fornendo alla madre una supplementazione di probiotici durante la gravidanza, anche se ulteriori ricerche sono necessarie per poter comprendere appieno questi meccanismi e le tipologie di intervento più efficaci <sup>15</sup>.

### **1.7 I prebiotici: cosa sono, fonti, effetti sull'organismo e somministrazione**

I prebiotici sono delle sostanze che contribuiscono a nutrire un gruppo selezionato di microrganismi che compongono il microbiota intestinale, in quanto gli enzimi umani non sono in grado di digerirli adeguatamente e vengono quindi successivamente degradati ed utilizzati come substrato energetico dal microbiota dell'intestino, favorendo lo sviluppo dei batteri benefici rispetto a quelli nocivi <sup>6,17</sup>.

Questa categoria di prodotti comprende principalmente polisaccaridi non-amidacei e oligosaccaridi: tra questi si identificano i fruttani a corta e lunga catena, rispettivamente Fructo-oligosaccaridi (FOS) e inulina, i Galacto-oligosaccaridi (GOS) e il lattulosio <sup>17,31</sup>.

Sono presenti nella letteratura scientifica diverse definizioni del termine "prebiotico", che verranno di seguito brevemente riassunte.

Il concetto di prebiotico è stato introdotto per la prima volta nel 1995 da Glenn Gibson e Marcel Roberfroid, definendo tali sostanze come "ingredienti alimentari non digeribili fermentati selettivamente che consentono cambiamenti specifici, sia nella composizione e/o attività nella microflora gastrointestinale, che conferiscono benefici al benessere e alla salute degli ospiti". Successivamente, nel 2008, l'Associazione Scientifica Internazionale di Probiotici e Prebiotici (ISAPP), adotterà a sua volta una definizione sovrapponibile a quest'ultima <sup>6, 31,32</sup>.

Durante l'incontro tecnico della FAO nel 2007 a Roma "FAO Technical Meeting on Prebiotics", è stato definito il termine "prebiotico" come "un componente alimentare non vitale che conferisce un beneficio per la salute all'ospite mediante la modulazione della



microflora" e tale definizione è stata integrata anche nelle Linee guida sui probiotici e i prebiotici del Ministero della Salute italiano nel 2018 <sup>30,31</sup>.

I requisiti minimi che devono soddisfare i prodotti prebiotici, secondo la FAO e il Ministero della Salute italiano, sono: essere sicuri sia per gli uomini che per le donne, in base agli usi tradizionali, non essere riconosciuti come "novel food", ai sensi del regolamento (UE) 2015/2283, e devono essere ingeriti in una quantità giornaliera plausibile per avere un effetto "prebiotico", secondo le evidenze scientifiche disponibili <sup>30</sup>. Ulteriori criteri stabiliti dalla ISAPP per classificare un composto come prebiotico prevedono che questo debba essere resistente al pH acido dello stomaco ed agli enzimi dei mammiferi e non debba essere assorbibile nel tratto gastrointestinale<sup>6</sup>. È importante chiarire la differenza tra il concetto di fibra alimentare e di sostanza prebiotica, precisando che tutti i prebiotici principali sono fibre, mentre non tutte le fibre alimentari hanno effetti prebiotici.

Le fibre alimentari sono definite come dei carboidrati con un grado di polimerizzazione (DP) uguale o superiore a 3, che non possono essere idrolizzati dagli enzimi umani endogeni nell'intestino tenue, e sono classificate in solubili e insolubili oppure in base alla viscosità e fermentabilità. Gli enzimi umani non sono in grado di degradare diversi legami glicosidici presenti in un sottoinsieme di polisaccaridi, come cellulosa, emicellulosa, mucillagine, pectina e lignina, e quelli non digeriti da enzimi umani sono spesso parzialmente fermentati nel tratto gastrointestinale. Sono solo alcune però le fibre alimentari che sono anche in grado di stimolare selettivamente la crescita e/o l'attività dei batteri intestinali potenzialmente associati alla salute e al benessere e che possono essere quindi definite come prebiotiche <sup>6, 31</sup>.

I prebiotici più comunemente conosciuti e studiati sono:

- Oligofruttosio,
- Galacto-oligosaccaridi (GOS): prodotti derivati dal lattosio che stimolano notevolmente Bifidobacteria e Lactobacilli ed in misura minore Enterobacteria, Bacteroidetes e Firmicutes
- Fruttani: La loro struttura è una catena lineare di fruttosio con legame  $\beta(2 \rightarrow 1)$ . Si suddividono a loro volta in frutto-oligosaccaridi (FOS), con grado di polimerizzazione (DP) di massimo 10 e inulina, con DP fino a 60.
- Lattulosio <sup>6, 17, 30, 31, 33</sup>.

Ci sono inoltre delle nuove sostanze emergenti che attualmente sembrano esercitare effetti prebiotici, ma necessitano di ulteriori studi, come xilooligosaccaridi, oligosaccaridi di soia, isomaltooligosaccaridi, acido lattobionico, oligosaccaridi della pectina (POS) amido resistente e polifenoli ed alcune altre sostanze non assimilabili alla categoria dei carboidrati, come ad esempio i flavoni derivati dal cacao <sup>6, 31</sup>.

I prebiotici sono sostanze naturalmente presenti in natura e possono essere assunti tramite l'assunzione dei vegetali che ne sono ricchi oppure tramite l'estrazione, che permette di isolare la sostanza prebiotica dal vegetale interessato o attraverso tecniche di sintesi enzimatica <sup>32</sup>.

Gli alimenti vegetali in cui i probiotici sono naturalmente presenti in maggiore quantità sono: asparagi, barbabietola da zucchero, aglio, cicoria, cipolla, topinambur, grano, avena, miele, banana, orzo, pomodoro, segale, soia, latte umano e vaccino, piselli, fagioli, ecc., e da evidenze recenti anche in alghe e microalghe <sup>6</sup>.

In particolare, inulina e oligofruttosio si trovano in natura in carciofi, asparagi, banana, radici di cicoria, cipolle, porri, avena e frumento, aglio, mentre sono vegetali ricchi in FOS carciofi, cicoria, cipolle, porri, aglio e asparagi, alcuni cereali come l'avena, e la più alta concentrazione di FOS è stata trovata nel tubero Yacon <sup>8, 32</sup>.

L'inulina è ampiamente disponibile in circa 36.000 specie di piante, in particolare le radici di cicoria sono considerate come la fonte più ricca di inulina; altre fonti naturali di inulina includono radici di cicoria, topinambur, tuberi di dalia, Yacon, asparagi, porri, cipolle, banane, grano, avena e aglio <sup>9, 31</sup>.

L'azione dei prebiotici sul microbiota intestinale deriva dal fatto che queste sostanze costituiscono un substrato energetico per il microbiota, ed in quanto tali vengono fermentate e degradate dai microrganismi presenti.

Come precedentemente affermato, i prebiotici possono influenzare selettivamente il microbiota intestinale, nella sua composizione e funzionalità, incrementando il numero di batteri anaerobi benefici e riducendo la popolazione di microrganismi patogeni <sup>6, 17</sup>. È stato in particolare osservato che i prebiotici favoriscono la presenza di *Bifidobacterium*, *Lactobacillus acidophilus*, *Lacto-bacillus rhamnosus* e *Faecalibacterium prausnitzii* <sup>8, 9, 15, 32</sup>. Questi microrganismi benefici competono con specie dannose per le fonti energetiche e promuovono la produzione di sostanze di fermentazione benefiche <sup>30</sup>.

I prodotti della fermentazione dei prebiotici sono principalmente gli acidi grassi a corta catena (SCFA), ossia l'acido lattico, l'acido butirrico e l'acido propionico, i quali impattano a loro volta sulla composizione del microbiota intestinale. Queste molecole sono inoltre abbastanza piccole da diffondersi attraverso gli enterociti intestinali ed entrare nella circolazione sanguigna e sono quindi in grado di influenzare non solo il tratto gastrointestinale, ma anche altri organi e apparati dell'organismo e sono in grado di oltrepassare la placenta e giungere al feto, apportandone dei benefici e contribuendo all'imprinting iniziale del microbiota del futuro nascituro <sup>6,7</sup>.

Si verifica inoltre il fenomeno del cross-feeding, per cui un sottoprodotto della fermentazione di un prebiotico complesso è un substrato per un altro microrganismo. Ad esempio, il *Ruminococcus bromii* è in grado di degradare gli amidi resistenti e diverse specie batteriche possono utilizzare i prodotti di fermentazione di questa reazione.

I prebiotici sono inoltre in grado di modificare l'ambiente dell'intestino grazie all'effetto butirrogenico che deriva dalla produzione degli SCFA, i quali vanno a ridurre il pH intestinale: questo impatta sulle specie acido-sensibili, quali i batteroidi e promuove la formazione del butirrato da Firmicutes <sup>6,7,31</sup>.

Sono stati individuati dei fattori che possono influenzare l'entità gli effetti benefici dei prebiotici su uno specifico organismo quali, la lunghezza delle catene di ITF, il vegetale da cui sono ottenuti, dose, introduzione dietetica abituale di fibra, composizione del microbiota intestinale di partenza, età e stato di salute generale.

I prebiotici esercitano una notevole influenza sulla salute umana e ciò li rende agenti interessanti per contribuire a migliorare la qualità della vita e lo stato di salute dell'organismo nel complesso. Gli effetti benefici di un'assunzione di prebiotici sono quindi mediati dagli effetti benefici di una composizione adeguata del microbiota e dagli effetti benefici derivanti dalla produzione degli SCFAs. I principali vantaggi derivati dalla supplementazione di prebiotici, riguardano il tratto intestinale, il metabolismo energetico e di macro- e micro-nutrienti, il sistema immunitario ed alcuni altri ambiti che sono ad oggi ancora oggetto di studio e ulteriore approfondimento <sup>6,32</sup>.

Per quanto riguarda il tratto gastrointestinale, i prebiotici favoriscono una migliore funzionalità della barriera intestinale, in particolare il butirrato influenza lo sviluppo epiteliale intestinale, contribuiscono al bilanciamento del pH intestinale, migliorano la

regolarità e consistenza dell'alvo e difendono l'organismo ospitante dall'attacco e la traslocazione di microbi potenzialmente patogeni.

Per quanto riguarda gli effetti sul metabolismo, questi sono: aumentata sensibilità insulinica, miglioramento del profilo lipidico e modulazione del metabolismo lipidico, produzione di vitamine ed enzimi digestivi ed aumentato senso di sazietà, grazie alla presenza di SCFAs nel lume del colon che migliorano l'espressione di glucagone-like peptide-1 (GLP-1), aumentando i livelli plasmatici di GLP-1 e diminuendo l'ormone grelina, responsabile della regolazione del senso di fame e sazietà.

La presenza di SCFA, porta inoltre ad una diminuzione del pH, che rende maggiormente biodisponibili alcuni micronutrienti, come il calcio, migliorandone quindi l'assorbimento <sup>6,9,17,32,33</sup>.

I benefici dei probiotici coinvolgono anche il sistema immunitario, in particolare permettono la modulazione della risposta immunitaria, una riduzione della popolazione di batteri patogeni, protezione dallo stress ossidativo, prevenzione delle reazioni infiammatorie associate e regolazione della presenza dei linfociti e dei leucociti nei tessuti linfoidei, attraverso l'aumento della popolazione di microrganismi protettivi rispetto a quelli nocivi. In particolare, si attribuiscono agli SCFA una capacità immunomodulatoria ed antiinfiammatoria, influenzando la segnalazione di alcuni recettori coinvolti, la funzione delle cellule T e la produzione di citochine pro-infiammatorie <sup>7,17,31,33</sup>.

Sono inoltre presenti evidenze in letteratura riguardo ulteriori potenziali effetti benefici dei prebiotici sul microbiota e sull'organismo, anche se questi necessitano di ulteriori studi e trial clinici per poter essere definiti con ulteriore chiarezza. Tra questi potenziali effetti si ha un ruolo di prevenzione per alcuni disturbi cronici gastrointestinali e cancro del colon-retto e sono stati osservati anche degli effetti sul sistema nervoso, il quale risulta collegato al microbiota intestinale attraverso l'"asse intestino-cervello" <sup>6,9</sup>.

Per quanto riguarda i benefici specifici nell'assunzione di prebiotici nel corso della gravidanza, è emerso che la supplementazione materna di prebiotici durante la gravidanza e l'allattamento ha un impatto sulla colonizzazione microbica dell'intestino infantile e del microbiota del latte materno ed è stato osservato che i metaboliti dei prebiotici materni sono in grado di attraversare la placenta e possono influenzare quindi lo sviluppo del sistema immunitario fetale, nelle modalità precedentemente descritte <sup>15</sup>.

È importante rimarcare che la conoscenza e la comprensione di questo ambito di ricerca è ancora limitato, seppur promettente, in quanto si tratta di un ambito di recente crescente interesse.

### **1.8 Gli alimenti fermentati: cosa sono, fonti, effetti sull'organismo**

Gli alimenti fermentati sono definiti come alimenti prodotti grazie alla crescita microbica controllata e la conversione di alcune componenti alimentari attraverso l'azione enzimatica di alcuni microrganismi, i quali richiedono un substrato alimentare su cui poter agire. Quest'ultimo può essere un vegetale, come verdure, semi di soia, altri legumi, cereali, radici amidacee, uva e altri frutti, un prodotto lattiero-caseario, carne o pesce.

I microrganismi coinvolti, in genere batteri, lieviti o muffe, sono naturalmente presenti o vengono aggiunti appositamente per avviare la fermentazione.

Ci sono diverse variabili nel processo di fermentazione, tra cui i microrganismi e i metaboliti coinvolti nel processo, i substrati nutrizionali e le condizioni ambientali, le cui combinazioni danno origine a migliaia di varianti di alimenti fermentati, che si possono classificare in base a queste variabili nominate.

I cibi fermentati sono stati consumati, nel corso della storia umana, da diverse culture in tutto il mondo ed inizialmente questo processo è stato eseguito come metodo di conservazione, poiché permette la generazione di metaboliti antimicrobici, come ad esempio acidi organici, etanolo e batteriocini, che riducono il rischio di contaminazione con microrganismi patogeni <sup>10, 28, 34</sup>. Oltre a questa proprietà, i prodotti acquisiscono tramite la fermentazione nuovi e desiderabili gusti e texture, che sono completamente diversi da quelli presenti nelle materie prime. Con lo sviluppo di conoscenze ulteriori, agli alimenti fermentati si sono attribuite anche proprietà nutrizionali e funzionali migliorate rispetto all'alimento di partenza, grazie alla trasformazione dei substrati e alla formazione di prodotti finali bioattivi e biodisponibili <sup>34</sup>.

È importante considerare che gli alimenti fermentati sono sempre ottenuti con l'azione di microrganismi, ma non tutti gli alimenti fermentati contengono ancora i microrganismi vivi quando vengono consumati, a causa di alcuni processi di trattamento dei prodotti come la pastorizzazione, cottura o filtrazione, che possono infatti uccidere i microrganismi presenti <sup>10</sup>.

In generale, la maggior parte dei prodotti fermentati, tra cui crauti, kimchi, kefir, yogurt, formaggio, kombucha e miso, contiene almeno  $10^6$ - $10^9$  cellule microbiche per grammo, di cui alcune geneticamente simili ai ceppi utilizzati come probiotici e che per la maggior parte sopravvivono al passaggio attraverso il tratto digestivo umano. La concentrazione di questi è variabile a seconda di diversi fattori coinvolti nel processo di produzione e conservazione, la tipologia di matrice alimentare ed il momento in cui i prodotti vengono analizzati e consumati <sup>28,34</sup>.

Risulta quindi importante chiarire la differenza tra il concetto di alimenti fermentati ed alimenti probiotici, che spesso vengono sovrapposti o confusi: un alimento fermentato può essere definito come probiotico solo se deriva dal processo di fermentazione attuato da ceppi batterici classificati come probiotici o a cui sono stati aggiunti dei microrganismi probiotici e deve inoltre esserci evidenza della presenza di questi microrganismi in adeguate quantità nell'alimento e della loro capacità di giungere vivi nel tratto gastrointestinale <sup>10</sup>.

Esistono migliaia di diversi tipi di alimenti fermentati e bevande, tra cui quelli maggiormente diffusi sono lo yogurt ed altri prodotti caseari fermentati, i cui effetti benefici sulla salute umana e sul microbiota intestinale sono stati ampiamente esaminati e confermati nella letteratura scientifica <sup>28,34</sup>.

Lo yogurt è un prodotto popolarmente consumato, che deriva dalla fermentazione del latte, che porta alla produzione di acido lattico, il quale altera la consistenza e il contenuto di nutrienti, fino ad ottenere il prodotto finale.

I microrganismi coinvolti in questo specifico processo sono i microrganismi del genere *Lactobacillus* o *Streptococcus*, in particolare *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* e *Streptococcus thermophilus*, i quali si ritiene abbiano proprietà probiotiche. Il consumo di yogurt, infatti, è stato osservato essere in grado di influenzare la composizione microbica intestinale. Un'ulteriore conferma della presenza di questi ceppi batterici si ha considerando che è stata approvata un claim sulla salute dall'EFSA che afferma che le colture batteriche effettivamente presenti in vivo nello yogurt migliorano la digestione del lattosio negli individui con alterata tolleranza a questo zucchero.

Altri prodotti caseari con proprietà probiotiche confermate dalla letteratura scientifica sono il kefir e prodotti addizionati con probiotici come latte, yogurt o yogurt da bere <sup>10, 33, 34</sup>.

Esistono altri alimenti fermentati non caseari in cui è stata dimostrata la presenza di microrganismi vivi, tra cui prodotti derivati della soia come miso, tempeh e natto, vegetali fermentati come kimchi e crauti e la bevanda kombucha <sup>28</sup>.

Di seguito sono analizzati alcuni di questi prodotti fermentati, in particolare quelli che sono poi stati inclusi all'interno delle raccomandazioni nutrizionali elaborate per l'attuazione dell'intervento in questo specifico progetto di studio.

I prodotti fermentati derivati dalla soia sono principalmente prodotti che provengono dalla cultura Orientale, anche se al giorno d'oggi vi è un crescente interesse e consumo di questi alimenti anche nei Paesi Occidentali. Tra questi, in particolare vi sono il Tempeh ed il Miso.

Il Tempeh è un alimento tradizionale indonesiano prodotto dalla fermentazione di soia bollita con una cultura di avviamento di specie fungine di *Rhizopus oligosporus*, che produce una morbida torta bianca con una consistenza gommosa e sapore di funghi. Questo prodotto contiene batteri lattici, *Enterococcus faecium* e funghi filamentosi *Rhizopus*. Le evidenze in letteratura suggeriscono che il Tempeh potrebbe influenzare il microbiota intestinale negli esseri umani, ma sono necessari ulteriori studi per confermare ciò.

Il Miso è una pasta tradizionale giapponese di soia fermentata. Viene prodotto facendo fermentare la soia con 'Koji', prodotto da una muffa *Aspergillus oryzae*, oppure con *Saccharomyces cerevisiae* e batteri dell'acido lattico. Un'analisi microbica del miso ha rivelato la presenza della specie *Bacillus* nel prodotto finale, ma vi sono prove limitate per gli effetti del miso sulle condizioni gastrointestinali e sul microbiota intestinale <sup>28</sup>.

I crauti sono invece un alimento tipico della cucina tedesca e di alcune regioni del Nord Italia come Friuli Venezia Giulia e Trentino Alto Adige. Si tratta di un prodotto alimentare ottenuto dalle foglie del cavolo cappuccio, tagliate a listerelle sottili, disposte a strati in fusti di legno, con sale, pepe e aromi, e lasciate fermentare <sup>35</sup>.

Per quanto riguarda il pane a lievitazione naturale, i microrganismi vivi sono presenti nell'impasto ma non sopravvivono al processo di cottura.

La cultura del lievito madre viene prodotta dalla fermentazione della farina da parte di batteri lattici e lieviti che provengono dalla farina e dall'ambiente circostante e sono state identificate in questi impasti diverse specie, per la maggior parte del ceppo di *Lactobacillus*.

Nonostante il pane di pasta madre non possa essere definito come un alimento con potenziali proprietà probiotiche, in quanto gli organismi presenti nell'impasto non sopravvivono alla cottura, sono comunque presenti evidenze in letteratura che suggeriscono l'esistenza di potenziali effetti dell'assunzione di questo alimento mediati dal microbiota intestinale, in cui è stato osservato un aumento dei Bifidobatteri, anche se non vi sono ancora prove chiare ed univoche.

Esistono diversi meccanismi attraverso i quali gli alimenti fermentati possono esercitare effetti benefici sulla salute del nostro organismo.

Il potenziale effetto degli alimenti fermentati in quanto possibili alimenti probiotici, è confermato nella letteratura scientifica per quanto riguarda prodotti come yogurt e prodotti addizionati di probiotici, grazie al loro contenuto di microrganismi con una comprovata azione probiotica nell'organismo umano: questi possono alterare la composizione microbica intestinale o la funzione del microbiota autoctono ed hanno inoltre un ruolo nel normale sviluppo del sistema immunitario e della funzione neurale .

L'evidenza della presenza di questa proprietà probiotica è invece ancora limitata e poco chiara per gli altri prodotti fermentati.

Altri meccanismi coinvolti che giustificano ulteriori effetti benefici degli alimenti sottoposti a fermentazione sul nostro organismo sono: la produzione di peptidi bioattivi, ammine biogeniche ed immunoregolatori, la conversione di composti fenolici in composti biologicamente attivi, la riduzione degli anti-nutrienti e riduzione della presenza di tossine, come ad esempio l'acido fitico, una migliorata conservazione, migliorate proprietà organolettiche e migliorata digeribilità, ad esempio del lattosio contenuto nello yogurt <sup>10, 28, 34</sup>.

In particolare, i batteri dell'acido lattico, rilevanti sia per gli alimenti fermentati lattiero-caseari che non caseari, generano peptidi bioattivi e poliammine con potenziali effetti sulla salute immunitaria e cardiovascolare, grazie alle loro proprietà antipertensive, antimicrobiche, antiossidanti e immunomodulanti <sup>28, 33</sup>.

Grazie all'insieme dei meccanismi appena descritti, la presenza di microrganismi e dei prodotti della fermentazione può fornire proprietà aggiuntive all'alimento, che vanno oltre all'assunzione di macronutrienti e micronutrienti, apportando ulteriori benefici importanti per la salute del microbiota e dell'organismo nel complesso <sup>34</sup>.



## **CAPITOLO 2: Realizzazione dello studio e risultati**

### **2.1 Progettazione dello studio**

#### **2.1.1 Obiettivi, ipotesi di partenza**

Lo studio attuato in questo progetto di tesi si pone come obiettivo principale quello di indagare l'impatto di una dieta ricca in probiotici e prebiotici nella gestante, sulle infezioni nel neonato ed i sintomi associati.

L'ipotesi di partenza prevede che una dieta ricca in probiotici e prebiotici nella donna in gravidanza sia in grado di influire positivamente sullo sviluppo del sistema immunitario del neonato, permettendo una riduzione nella presentazione di sintomi associati alle infezioni tipiche dell'età neonatale.

Il razionale dello studio si basa sul ruolo centrale del microbiota per la salute dell'organismo ed in particolare sull'influenza che ha questo rispetto allo sviluppo e funzionamento del sistema immunitario<sup>5, 12</sup>. Secondo quanto emerge dalla letteratura, una dieta ricca in probiotici e prebiotici permette di ottimizzare l'equilibrio del microbiota intestinale e vaginale materno, e questo a sua volta influisce, sia attraverso una trasmissione diretta che indirettamente, sullo sviluppo e la composizione del microbiota del nascituro<sup>5, 11, 14, 15</sup>. Lo sviluppo di un microbiota adeguato fin dalle prime fasi di vita influisce a sua volta sullo sviluppo del sistema immunitario del neonato, a maggior ragione considerando che si agisce nel periodo dei "Primi mille giorni", identificato come cruciale per lo sviluppo dell'organismo in quanto è caratterizzato da una rapida maturazione strutturale e funzionale dell'organismo<sup>5, 11</sup>. Un adeguato sviluppo del sistema immunitario permette di conseguenza all'organismo di riuscire a reagire prontamente all'insorgenza di infezioni tipiche dell'età neonatale e quindi di modulare la frequenza ed intensità di presentazione dei sintomi associati e di conseguenza influire positivamente sulla qualità di vita del neonato e della famiglia<sup>17</sup>.

#### **2.1.2 Specifiche del campione di riferimento**

Le pazienti reclutate nello studio sono pazienti che, nel periodo tra marzo e settembre 2023, si sono rivolte all'ambulatorio dedicato alla gravidanza presso l'UOC Dietetica e Nutrizione Clinica dell'Azienda Ospedaliera di Padova.

Al fine di escludere dallo studio i principali fattori confondenti che influiscono a loro volta sullo sviluppo del microbiota e del sistema immunitario del neonato, si sono

identificati quattro criteri di esclusione che verranno di seguito approfonditi: parto cesareo, parto prematuro, impossibilità di effettuare l'allattamento materno e utilizzo di antibiotici nel periodo di svolgimento dello studio.

Il primo criterio di esclusione prevede che la madre, al fine di partecipare allo studio, abbia effettuato un parto eutocico e non un parto cesareo. Secondo quanto emerge dalla letteratura si verificano infatti esiti differenziali nella composizione del microbiota tra neonati nati con parto naturale rispetto a quelli nati con parto cesareo: si è osservato che i bambini nati da parto naturale presentano un microbiota che rispecchia il microbiota vaginale materno, composto principalmente da *Lactobacillus*, *Sneathia* spp., e *Prevotella*, mentre quelli nati da parto cesareo presentano un microbiota più affine ai microrganismi rilevati sulla cute della madre e nell'ambiente esterno circostante, ossia *Staphylococcus*, *Propionibacterium* spp. e *Corynebacterium*, con una minore presenza di *Bifidobacterium*, *Lactobacillus* e *Bacteroides* <sup>7, 15, 16</sup>.

Sono inoltre state escluse dallo studio le gestanti che hanno svolto un parto prematuro, in quanto emerge dalla letteratura che anche l'età gestazionale influisce sulla composizione iniziale del microbiota neonatale ed in particolare i neonati pretermine presentano una minore biodiversità del microbiota ed una maggiore presenza di batteri facoltativi anaerobi potenzialmente patogeni, quali *Enterobacter*, *Enterococcus*, *Klebsiella* e *Staphylococcus* <sup>14</sup>.

Il terzo criterio prevede l'esclusione dallo studio delle pazienti che non hanno allattato al seno il proprio figlio, in quanto la letteratura mette in evidenza l'importanza del ruolo dell'allattamento materno nel favorire lo sviluppo di un microbiota intestinale adeguato nel lattante, grazie alla presenza di un microbiota nel latte materno stesso, metaboliti microbici e altre componenti del latte materno che fungono da efficaci substrati per il microbiota neonatale <sup>7</sup>. È stato osservato infatti che il microbiota di neonati allattati al seno è caratterizzato da una maggiore presenza di ceppi di Bifidobatteri e Lactobacilli, rispetto ai neonati nutriti tramite latte formula, che invece presentano maggiormente ceppi quali *Bacteroides*, *Staphylococci*, *Enterococci* e *Clostridia* <sup>12, 14</sup>.

Un ultimo importante criterio per la selezione del campione è quello secondo cui la partecipante allo studio non deve aver assunto antibiotici durante il periodo di svolgimento dello stesso, in quanto è stata osservata una differenza significativa tra il microbiota di neonati le cui madri hanno utilizzato antibiotici prima del parto, i quali

presentavano una ridotta biodiversità di microrganismi, rispetto ai bambini le cui madri non hanno assunto antibiotici <sup>14</sup>.

Sono presenti ulteriori numerosi fattori che influiscono sullo sviluppo della composizione del microbiota del neonato, specificati nel capitolo 1.3, ma si è scelto di applicare quelli con una maggiore rilevanza ed evidenza scientifica, al fine di eliminare i principali fattori confondenti ed al tempo stesso permettere di reclutare un sufficiente numero di pazienti per lo svolgimento dello studio.

Inizialmente era stata identificata come numerosità auspicabile del campione un totale di 30 pazienti, ma sono emersi alcuni fattori per cui il numero effettivo di pazienti reclutate all'interno dello studio è risultato inferiore, tra cui: la necessità che la paziente partorisce nelle tempistiche adeguate rispetto allo svolgimento dello studio, l'effettivo interesse delle pazienti a prendere parte allo studio e la possibilità e disponibilità a seguire le raccomandazioni e supplementazioni previste.

Il numero di pazienti reclutate nello studio corrisponde complessivamente a 9, mentre hanno effettivamente proseguito con l'intervento e la compilazione dei questionari, un numero totale di 7 pazienti, con un'età media di 35,7 anni. Una paziente è stata esclusa dallo studio in quanto ha comunicato di non aver potuto effettuare l'allattamento al seno per problematiche cliniche, mentre una seconda paziente non è stata contattabile per lo svolgimento dei questionari ed è di conseguenza stata esclusa.

Per lo svolgimento dello studio sono stati individuati tre gruppi di intervento:

- Gruppo A: intervento tramite la somministrazione di raccomandazioni nutrizionali per una dieta ricca in probiotici e prebiotici ed una supplementazione di prodotti probiotici;
- Gruppo B: intervento tramite la somministrazione di raccomandazioni nutrizionali per una dieta ricca in probiotici e prebiotici, senza una supplementazione di prodotti probiotici;
- Gruppo C: gruppo di controllo a cui non è stata fornita nessuna indicazione specifica a riguardo di probiotici e prebiotici, ma solamente le informazioni ed indicazioni per una sana alimentazione in gravidanza che verrebbero normalmente fornite alla paziente in ambulatorio.

Il campione individuato è stato randomizzato nei tre gruppi di intervento appena descritti, utilizzando il software <https://www.randomizer.org/>, un servizio offerto da

Social Psychology Network, che permette di ordinare una serie di numeri, in questo caso da 1 a 30, casualmente tramite un algoritmo complesso che utilizza il metodo "Math.random" <sup>36</sup>. Per i primi 10 numeri della serie è stato associato il gruppo A, per i numeri tra la 10<sup>a</sup> e 20<sup>a</sup> posizione della serie il gruppo B e per gli ultimi 10 numeri il gruppo C.

Da questo procedimento è emersa la seguente distribuzione delle pazienti che hanno partecipato allo studio, che nel complesso risulta omogenea per i vari gruppi di intervento:

NUMERO PAZIENTE	GRUPPO DI INTERVENTO
1	C
2	C
3	A
4	C
5	B
6	A
7	A
8	B
9	A

Le pazienti che sono state escluse dallo studio sono state le numero 3 e 4. Si riporta inoltre che la data presunta del parto della paziente n.9 è stata posticipata e riprogrammata rispetto alla data attesa, pertanto ai fini dell'analisi dei risultati di questo specifico progetto di tesi le tempistiche non permettono di includere le risposte ai questionari di tale paziente. Nel complesso il campione effettivo è stato quindi distribuito in: 2 pazienti nel gruppo A, 2 pazienti nel gruppo B e 2 pazienti nel gruppo C.

### **2.1.3 Materiali, modalità e tempistiche dell'intervento: raccomandazioni nutrizionali e prodotti probiotici**

Le “Raccomandazioni nutrizionali per una alimentazione ricca in prebiotici e probiotici” fornite al gruppo di intervento A e B sono riportate nell'Allegato 1a.

Queste sono state suddivise in tre parti che verranno di seguito approfondite.

Nella prima parte si sono riportate delle indicazioni generali che spiegano come applicare effettivamente le raccomandazioni nei vari pasti della giornata e le tempistiche affinché queste possano risultare efficaci: in particolare si prevede che la paziente assuma almeno due porzioni al giorno di alimenti ricchi in probiotici e prebiotici, distribuite nei pasti della giornata, per un periodo di almeno due settimane precedenti la data presunta del parto.

Viene inoltre rimarcata l'importanza di condurre uno stile alimentare vario, equilibrato e sicuro nel corso della gravidanza e si presume che le partecipanti allo studio siano già orientate verso un'alimentazione adeguata al periodo della gestazione, in quanto si tratta di pazienti afferenti all'ambulatorio dedicato alla gravidanza presso l'UOC Dietetica e Nutrizione Clinica e quindi già seguite da un punto di vista alimentare.

La seconda parte delle raccomandazioni consiste in un elenco di alimenti ricchi in probiotici e prebiotici, rappresentato graficamente all'interno di una tabella, al fine di rendere il contenuto chiaro ed immediatamente comprensibile.

In particolare, si sono inseriti tra gli alimenti ricchi in prebiotici i vegetali che, come specificato nel capitolo 1.7, risultano ricchi di sostanze prebiotiche. Si sono riportati tali alimenti suddivisi per le categorie di verdura, cereali, frutta e varie, selezionando quelli di uso comune e facile reperibilità. Si è inoltre cercato di rispettare il più possibile la stagionalità di frutta e verdura, considerando il periodo di attuazione dello studio primaverile e estivo, anche se si sono fatte alcune eccezioni al fine di fornire una maggiore varietà di scelta. In particolare, gli alimenti prebiotici consigliati sono: cicoria, carciofo, asparagi, porro, avena, banana, mela, kiwi, cipolla ed aglio <sup>6, 8, 9, 31, 32</sup>.

Tra i prodotti ricchi in probiotici, si sono riportati i latticini quali yogurt bianco naturale, yogurt da bere probiotico bianco naturale e latte con fermenti probiotici, le cui proprietà probiotiche sono accertate e confermate nella letteratura scientifica. È stato escluso il kefir, nonostante abbia anch'esso delle comprovate proprietà probiotiche, in quanto può contenere alcol, anche se solo in tracce, considerando che questa sostanza è

assolutamente controindicata nel periodo di gestazione. Si sono riportati anche alcuni altri alimenti fermentati con potenziali proprietà probiotiche, selezionando quelli di uso comune, come crauti, tempeh, miso e pane di pasta madre, escludendo invece altri alimenti il cui uso e reperibilità sono piuttosto limitati nei nostri territori, come kombucha, natto e kimchi <sup>28, 33, 34</sup>.

Nella terza parte delle raccomandazioni nutrizionali si sono riportate alcune idee pratiche e semplici per la creazione di pasti che includano tali alimenti, al fine di facilitare l'effettiva applicazione delle raccomandazioni nella vita quotidiana, considerando che la paziente si trova nel periodo finale della gestazione, caratterizzato da numerose novità, difficoltà e preoccupazioni per la nuova vita in arrivo.

In particolare, si sono riportati dei consigli per la composizione di colazione e spuntini, pranzo e cena e delle ricette semplici e veloci per facilitare l'introduzione degli alimenti ricchi in probiotici e prebiotici proposti, come ad esempio: porridge di avena, macedonia di frutta, preparazioni varie a base di verdure ed insalate, salsa all'aglio e salsa tzatziki con yogurt, bruschette con pane di pasta madre ed alcune modalità di preparazione del tempeh <sup>37</sup>.

Sono state inoltre suggerite alla paziente alcuni riferimenti su dove poter reperire il pane di pasta madre, riportate nell'Allegato 2, al fine di facilitare ulteriormente la paziente nel seguire le raccomandazioni dietetiche fornite.

È stata elaborata anche una variante di queste raccomandazioni nutrizionali senza glutine, riportata nell'Allegato 1b, destinata ad eventuali pazienti con celiachia, al fine di permettere anche a queste pazienti di seguire le raccomandazioni fornite senza difficoltà aggiuntive, anche se nel campione effettivamente presente nello studio non ne erano presenti.

Al gruppo di intervento A è inoltre stata consigliata una supplementazione con prodotti probiotici, riportata nell'Allegato 3.

Sono stati selezionati e consigliati alcuni prodotti probiotici presenti in commercio, la cui composizione e il quantitativo di microrganismi indicati nell'assunzione raccomandata, risultano adeguati alle finalità dello studio, secondo le evidenze scientifiche presenti in letteratura.

In particolare, si sono selezionati dei prodotti che apportassero almeno la quantità minima sufficiente per ottenere una temporanea colonizzazione dell'intestino da parte di

un ceppo microbico, pari ad un consumo giornaliero di almeno  $10^9$  cellule vive, indicata dalle «Linee guida su probiotici e prebiotici» del 2018 del Ministero della Salute<sup>30</sup>.

Si sono selezionati alcuni prodotti contenenti ceppi di specie batteriche utilizzate in letteratura nell'ambito specifico della gravidanza e prodotti il cui utilizzo è specificatamente consigliato nella fase di gestazione: in particolare tra questi si individuano i ceppi di *Lactobacillus rhamnosus*, *Lactobacillus acidophilus*, *L. casei*, *L. lactis*, *Bifidobacterium Lactis* ed alcuni ceppi di *Enterococcus faecium* e *Saccharomyces boulardii* <sup>14, 15, 38</sup>.

Per quanto riguarda le tempistiche di assunzione, diversi studi presi in esame, aventi come obiettivo quello di migliorare lo sviluppo e stato di salute del neonato, hanno attuato la supplementazione di probiotici a partire dalla 36<sup>a</sup> settimana gestazionale, e similmente è stata proposta nel presente studio un'alimentazione ricca in prebiotici e probiotici ed una supplementazione di probiotici a partire almeno dalle due settimane precedenti la data del parto prevista <sup>14, 15</sup>.

Sono presenti anche altri studi che effettuano un intervento materno di una durata maggiore, che inizia già nelle fasi del primo o secondo trimestre e si prolunga per 4-6 settimane, ma in questi l'obiettivo dell'intervento era principalmente incentrato su un miglioramento dello stato di salute della madre e non del neonato, ad esempio per quanto riguarda il metabolismo lipidico e glucidico e lo stato di infiammazione <sup>39, 40, 41</sup>.

#### **2.1.4 Materiali, modalità e tempistiche del monitoraggio: questionari su sintomi di infezioni neonatali**

Al fine di valutare l'impatto dell'intervento nutrizionale sull'effettivo sviluppo di infezioni e dei sintomi correlati nel neonato, è stato appositamente formulato un questionario che indaga la frequenza ed intensità di presentazione delle infezioni e sintomi che più comunemente si riscontrano in età neonatale, riportato nell'Allegato 4a.

È stato elaborato anche un questionario in lingua inglese, presente nell'allegato 4b, nell'eventualità della possibile presenza di barriere linguistiche, al fine di permettere comunque un ottimale comprensione dei quesiti. Questo si sarebbe utilizzato per una paziente appartenente al campione dello studio, la quale non è però stata reperibile per la compilazione dei questionari e di conseguenza è stata esclusa dal progetto.

Nelle metanalisi e review sistematiche presenti in letteratura che indagano gli effetti sul microbiota del neonato di una supplementazione materna di probiotici e prebiotici, la verifica dell'impatto dell'intervento viene effettuata nella maggior parte dei casi attraverso delle metodologie di rilevazione della composizione del microbiota, attraverso delle analisi delle feci del neonato, analisi di coltura, sequenziamento di RNA, analisi dei ceppi batterici presenti tramite PCR (polymerase chain reaction) ed analisi metagenomiche <sup>14</sup>.

In questo studio si è utilizzato invece uno strumento indiretto, ossia un questionario che non va a rilevare direttamente la composizione del microbiota, ma va ad indagare la presenza di sintomi relativi ad infezioni tipiche neonatali, correlati allo sviluppo del sistema immunitario neonatale, fortemente influenzato dalla composizione del microbiota intestinale. Da un lato si tratta di una misurazione indiretta che potrebbe essere influenzata da ulteriori fattori confondenti, dall'altro si tratta di un metodo semplice, rapido e poco costoso che permette di verificare se vi è un effettivo impatto dell'intervento sullo stato di salute del neonato e quindi sulla qualità di vita di esso e del nucleo familiare.

Per quanto riguarda le tempistiche nella verifica dell'impatto dell'intervento, queste sono molto varie negli studi presenti in letteratura, e spaziano da 1-2 settimane, 1 mese, 3 mesi, 6 mesi, 12 mesi <sup>14, 15</sup>.

Per questo specifico studio si sono adottate delle tempistiche affini ad altri studi rilevanti presenti in letteratura ed al tempo stesso compatibili con le tempistiche di svolgimento del progetto: si è quindi deciso di inviare il questionario a distanza di 2 settimane, 1 mese e 3 mesi dalla data del parto. È importante tenere inoltre in considerazione il fatto che più ci si allontana dal momento della nascita, più aumenta l'influenza di fattori esterni ed ulteriori rispetto ai fattori strettamente correlati al microbiota materno.

Per formulare il questionario, si è fatto riferimento alle principali infezioni neonatali e relativi sintomi messi in evidenza dalla letteratura scientifica e sono stati inoltre inseriti alcuni quesiti presenti in questionari validati specifici per alcune tipologie di infezioni, che verranno di seguito descritti.

Per quanto riguarda la sezione di "sintomi generali", si è fatto riferimento ad una "Panoramica sulle infezioni neonatali" e le "Linee guida sul trattamento di possibili infezioni batteriche severe in neonati e lattanti" della World Health Organization.



In particolare, da questi sono emersi sintomi tipici delle infezioni del neonato, quali: febbre o ipotermia, irritabilità, alimentazione scarsa, incremento della sonnolenza o letargia, movimento assente o solo se stimolato e convulsioni <sup>18,19</sup>.

Per quanto riguarda l'ambito dei sintomi respiratori, sono stati adottati come riferimento i criteri diagnostici per alcuni disturbi respiratori tipici dell'età neonatale ed un questionario validato e standardizzato, formulato da un team multidisciplinare in base a "The international study for Asthma and Allergies in Childhood (ISAAC)", uno studio epidemiologico che indaga la presenza di asma, rinite ed eczema nei bambini. Il questionario sopra nominato ha dimostrato di possedere una buona affidabilità nel breve termine, di essere facilmente comprensibile e con un buon tasso di risposte. Si tratta inoltre di un questionario specificatamente formulato per neonati e bambini in età pre-scolare, i cui quesiti si riferiscono ai 3 mesi precedenti, e risulta quindi compatibile con le peculiarità dello studio messo in atto. In particolare, esso indaga la frequenza, intensità e modalità di presentazione dei sintomi respiratori quali: alterazione del respiro pesante o ansimante, tosse, rumori respiratori sibilanti o rantolanti e mancanza del respiro in condizioni di normalità, in presenza di raffreddore, in condizioni di attività e sforzo fisico e durante la notte <sup>22</sup>.

È stato inserito nel questionario anche il sintomo di tachipnea, ossia respiro accelerato, individuato dalle linee guida WHO come possibile indicatore della presenza di un'infezione batterica <sup>19</sup>.

Per quanto riguarda i sintomi gastrointestinali, si sono adottati come principale riferimento i criteri di Roma del 2016, stabiliti dalla "Rome Foundation" e si sono inoltre integrati alcuni altri sintomi caratteristici dell'età neonatale ed infantile individuati nella letteratura scientifica.

*La Fondazione di Roma* è un'organizzazione indipendente dedicata a sostenere la formulazione di raccomandazioni scientifiche per la diagnosi, la classificazione e il trattamento dei disturbi gastrointestinali funzionali nell'età adulta ed infantile, grazie alla collaborazione di scienziati e medici di tutto il mondo, al fine di migliorare l'ambito della ricerca e della pratica clinica <sup>18, 42,43</sup>.

I sintomi individuati dalle fonti appena descritte sono: rigurgito, vomito, gonfiore e distensione addominale, diarrea, costipazione e coliche. Per quanto riguarda i sintomi di diarrea, costipazione e coliche, si è riportata una descrizione della manifestazione di tali

disturbi, riportata nel capitolo 1.5, al fine di rendere più chiara e corretta la compilazione del questionario <sup>18, 25, 26</sup>.

Si sono infine inseriti alcuni sintomi caratteristici di altre infezioni ricorrenti nel neonato, quali eruzioni cutanee, urine torbide o maleodoranti come possibile sintomo delle infezioni delle vie urinarie (UTI) e dolore riferito all'orecchio come possibile sintomo di otite media acuta (OMA) <sup>18, 21, 23</sup>. È stato infine inserito uno spazio in cui si potessero inserire eventuali ulteriori sintomi non contemplati, al fine di rendere il questionario il più completo possibile.

È importante tenere in considerazione che, durante i primi anni di vita, i neonati non sono in grado di riportare con precisione sintomi meno visibili come nausea o dolore e l'identificazione di questi dipende dalla capacità del genitore di interpretare i segnali del neonato, per identificare quale sia effettivamente il sintomo coinvolto <sup>15</sup>.

Al fine di valutare l'entità dei sintomi di infezioni riscontrati nel bambino, può essere interessante valutare anche come questi vadano effettivamente ad impattare sulla qualità di vita della famiglia nel complesso.

A tale proposito, sono stati individuati due questionari validati nella letteratura scientifica che, oltre ad indagare i sintomi di specifici disturbi neonatali, pongono l'attenzione sull'importanza di valutare anche l'effettivo impatto di questi sintomi sulla qualità di vita ed il benessere del neonato e dell'intero nucleo familiare.

In particolare, uno studio ha incluso nel questionario validato utilizzato anche dei quesiti per indagare la qualità di vita del neonato per quanto riguarda la nutrizione, il risveglio, l'espletamento delle funzioni fisiologiche e il livello di stanchezza e dei quesiti per indagare l'impatto sulla qualità di vita del nucleo familiare per quanto riguarda lo svolgimento di attività quotidiane e della routine, il riposo notturno, un eventuale stato di stress e preoccupazioni riguardo alla salute del figlio <sup>22</sup>.

Anche in un altro questionario, validato ed attinente al tema dello studio, sono stati inseriti dei quesiti sull'impatto sulla qualità di vita, in particolare per quanto riguarda l'impatto psicologico, sulla vita di coppia, sul rapporto con il figlio, sulla vita quotidiana e nel complesso.

La valutazione dell'impatto sulla qualità di vita, oltre ad essere un ulteriore strumento per valutare l'entità dei sintomi neonatali, aiuta il genitore ad inquadrare,

quantificare e verbalizzare le proprie preoccupazioni ed eventuali disagi correlati con la presenza di questi sintomi <sup>27</sup>.

Di tutte queste evidenze, articoli e questionari si è fatto tesoro per la realizzazione di un questionario valido, facilmente comprensibile e il più possibile completo, che indaga le principali infezioni e relativi sintomi caratteristici del neonato e l'impatto di questi sulla qualità di vita del neonato e del nucleo familiare.

## **2.2 Attuazione pratica dell'intervento: reclutamento pazienti, somministrazione delle raccomandazioni, invio e svolgimento dei questionari**

La fase iniziale di reclutamento delle pazienti è stata effettuata dal personale dietistico presente nell'ambulatorio dedicato alla gravidanza presso l'UO Dietetica e Nutrizione Clinica dell'Azienda Ospedaliera di Padova, presentando alle pazienti la possibilità di partecipare allo studio ed introducendole poi all'effettivo svolgimento di esso.

Alle pazienti che soddisfavano i criteri di inclusione e che hanno espresso interesse per lo studio, è stato fornito il consenso informato riportato nell'Allegato 5, la cui compilazione era necessaria ed obbligatoria per poter effettivamente partecipare. Questo documento riporta le informazioni principali sullo scopo e modalità di svolgimento dello studio, garantisce il rispetto della privacy e riservatezza e richiede alla paziente di comunicare l'indirizzo e-mail e numero di telefono attraverso i quali poter essere contattate per l'invio dei questionari. Le pazienti sono quindi state inserite progressivamente nello schema di randomizzazione e, in base al gruppo assegnato, sono state spiegate e fornite loro le raccomandazioni nutrizionali e/o il consiglio sulla supplementazione di prodotti probiotici. Per le pazienti appartenenti al gruppo C di controllo non si è fornita alcuna indicazione specifica per quanto riguarda prebiotici e probiotici, ma si è proseguito con il regolare svolgimento della visita ambulatoriale.

Al fine di standardizzare tale procedura, nell'eventualità che la dietista responsabile non fosse stata presente nell'ambulatorio, è stato redatto un documento, ossia la "Procedura pratica per l'attuazione dello studio" riportata nell'Allegato 6, in modo che anche eventuali sostituti potessero reclutare correttamente le pazienti, fornendo una descrizione dettagliata del procedimento da seguire per il reclutamento, l'inserimento ed avviamento di ogni paziente nello studio.

Le pazienti sono state successivamente ricontattate tramite e-mail o, se necessario, tramite SMS e chiamata, al fine di ricevere comunicazione sulla data esatta del parto.

È stato quindi successivamente inviato loro il “Questionario per indagare i sintomi di infezione nel neonato e lattante” a distanza di due settimane, un mese e tre mesi dalla data del parto comunicata.

Il questionario è stato formulato utilizzando il programma di Moduli Google, che permette di poter inviare agevolmente tramite e-mail i quesiti e poterne visionare automaticamente le risposte, una volta compilato dalla paziente. Le risposte ai questionari sono state successivamente analizzate attraverso un’analisi statistica descrittiva ed un confronto con i dati presenti in letteratura, al fine di trarre le opportune conclusioni.

### **2.3 Risultati: risultati attesi e risultati effettivi**

Sulla base delle evidenze e delle considerazioni che hanno portato allo sviluppo del progetto di studio, ci si attende di osservare una differenza nella presenza di infezioni e della gravità dei relativi sintomi nei neonati appartenenti ai diversi gruppi di intervento: in particolare ci si aspetta una maggiore diminuzione di tali sintomi nei neonati appartenenti al gruppo di intervento A, a cui è stata somministrata una dieta ricca in probiotici e prebiotici ed una supplementazione con specifici prodotti probiotici. Per quanto riguarda il gruppo di intervento B, a cui sono state fornite esclusivamente le raccomandazioni dietetiche, ci si aspetta comunque di osservare una minore presenza di infezioni e relativi sintomi neonatali rispetto al gruppo di controllo C.

È di fondamentale importanza precisare che, data la limitata numerosità del campione, è possibile elaborare alcune considerazioni, ma non è possibile trarre delle conclusioni significative sull’intervento svolto in questo specifico progetto di studio, né effettuare dei confronti significativi tra i vari gruppi di intervento. I presupposti alla base dello studio si possono però prendere in considerazione per l’eventuale proseguimento dello studio in atto e per lo sviluppo futuro di ulteriori studi di maggiore portata che permettano di ottenere, attraverso una metodologia simile a quella applicata in questo progetto, un quantitativo di dati tale da poter trarre delle considerazioni di maggiore rilevanza in questo ambito.

Considerate le tempistiche di svolgimento dello studio limitate, al momento dell'analisi dei risultati deve ancora incorrere la data di invio di alcuni questionari a distanza di 3 mesi dalla data del parto e di conseguenza, nell'analisi che verrà di seguito effettuata, si considera come periodo di riferimento complessivo il primo mese di vita del neonato, al fine di poter confrontare i dati emersi dalle risposte al questionario disponibili nei diversi gruppi di intervento.

Con il proposito di effettuare una descrizione maggiormente esaustiva del campione, si sono raccolti ulteriori dati inerenti alle pazienti partecipanti allo studio, i quali verranno discussi nei paragrafi sottostanti.

Innanzitutto, è stata rilevata l'età delle pazienti e si è osservato che nel gruppo A le pazienti avevano un'età media pari a 33 anni, nel gruppo B di 36,5 anni e nel gruppo C di 39,5 anni, con un'età media complessiva del campione pari a 36,3 anni, con una deviazione standard relativamente ridotta, pari a 3,72 anni.

È stato inoltre indagato il l'indice di massa corporea (BMI) pregestazionale e l'incremento ponderale delle pazienti e si è osservato che:

- le pazienti appartenenti al gruppo A presentavano un BMI di 29,64 kg/m<sup>2</sup> indicativo di sovrappeso e un BMI di 30 kg/m<sup>2</sup> indicativo di obesità di primo grado, con un incremento ponderale rispettivamente di 7,2 kg e 8,3kg, entrambi adeguati rispetto all'incremento ponderale auspicabile, pari a 7-11,5 kg per un BMI pregestazionale indicativo di sovrappeso e pari a 5-9 kg per un BMI pregestazionale indicativo di obesità

- le pazienti appartenenti al gruppo B presentavano un BMI di 29 kg/m<sup>2</sup> indicativo di sovrappeso e 23,8 kg/m<sup>2</sup> indicativo di normopeso, con un incremento ponderale rispettivamente di 11kg, adeguato rispetto all'incremento auspicabile nel sovrappeso pregestazionale, e 18 kg, elevato rispetto ad un incremento atteso di 11,5-16 kg indicato per un BMI pregestazionale indicativo di normopeso

- le pazienti appartenenti al gruppo C presentavano un BMI di 32,6 kg/m<sup>2</sup> indicativo di obesità di primo grado e 19,9 kg/m<sup>2</sup> indicativo di normopeso, con un incremento ponderale rispettivamente di 1,7kg, ridotto rispetto all'incremento auspicabile con obesità pregestazionale, e 5kg, ridotto rispetto all'incremento auspicabile in caso di normopeso pregestazionale.

Si è inoltre indagato il modello dietetico adottato dalle pazienti nel corso della gravidanza, a prescindere dalla presenza eventuale delle raccomandazioni dietetiche aggiuntive per un elevato consumo di alimenti probiotici e prebiotici, tenendo presente che si tratta di pazienti afferenti all'ambulatorio di Nutrizione Clinica e quindi già assistite da un punto di vista nutrizionale. Da tale indagine è emerso che una paziente nel gruppo A ha adottato un piano alimentare finalizzato al trattamento dell'obesità, una paziente del gruppo B ha adottato un modello alimentare di tipo vegano ed una paziente del gruppo C ha seguito un piano alimentare finalizzato alla prevenzione del diabete gestazionale, predisposti dall'ambulatorio dedicato.

Per quanto riguarda la presenza di diabete gestazionale, nessuna delle pazienti presentava un DGM conclamato, ma la presenza di tale patologia è risultata dubbia in una paziente appartenente al gruppo B ed in una appartenente al gruppo C.

Si riporta inoltre la presenza di ulteriori patologie delle pazienti nei diversi gruppi di intervento, anche se si specifica che non si tratta di patologie per le quali è stata identificata nella letteratura scientifica una correlazione significativa con il microbiota neonatale e la presenza di infezioni neonatali:

- nel gruppo A una paziente presentava emofilia ed un'altra paziente presentava ipercolesterolemia familiare
- nel gruppo B una paziente presentava ipotiroidismo
- nel gruppo C entrambe le pazienti presentavano un esordio precedente di DCA, di cui una con meccanismi compensatori in atto, ed una paziente presentava anemia ferropriva.

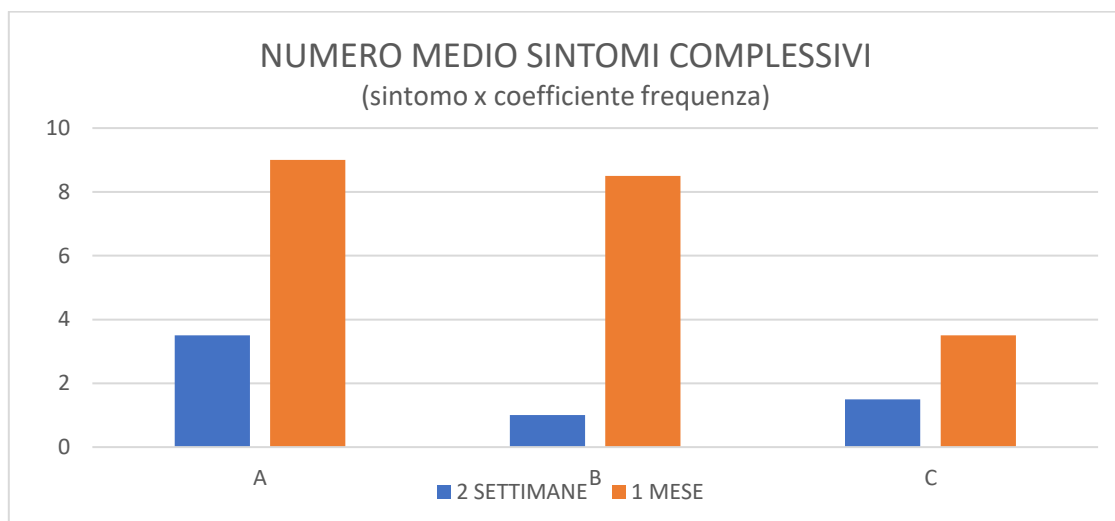
Si specifica inoltre che, coerentemente con i criteri di esclusione dello studio descritti nei capitoli precedenti, nessuna delle pazienti è stata sottoposta a terapia antibiotica durante il periodo di svolgimento dello studio.

Procedendo con l'osservazione delle risposte riportate nei questionari compilati dalle pazienti ed effettuando un'analisi descrittiva dei dati emersi, si possono effettuare alcune considerazioni che sono qui di seguito riportate.

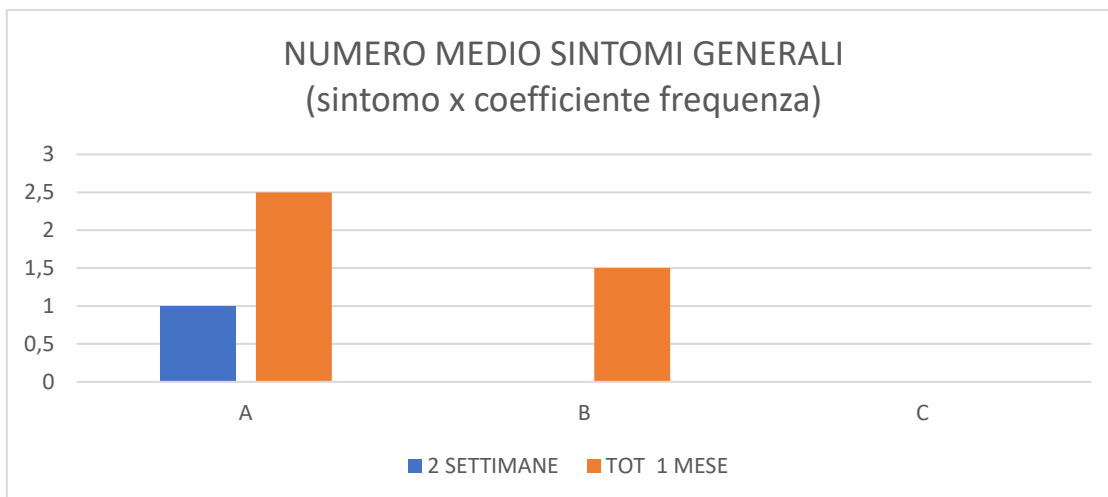
Al fine di effettuare un'analisi statistica descrittiva dei dati, si è calcolato il numero medio di sintomi manifestati dai neonati nei diversi gruppi di intervento, in base al numero di sintomi presentati e la relativa frequenza, per avere un dato che rappresenti quanto effettivamente i sintomi si sono manifestati in ogni neonato. Per ottenere tale dato,

tenendo in considerazione anche la frequenza di presentazione dei sintomi, è stato moltiplicato ogni sintomo riportato nel questionario per il coefficiente di frequenza, corrispondente alla frequenza indicata per lo specifico sintomo in ogni neonato, pari a 0 se “mai”, 1 se “occasionalmente”, 2 se “qualche volta”, 3 se “di frequente”, 4 se “spesso”. Si è poi effettuata una somma di tutti i sintomi presentanti per ogni neonato moltiplicati per tale coefficiente ed è stata effettuata una media dei sintomi presentati a 2 settimane e ad 1 mese dalla data del parto. Tale procedimento è stato effettuato per i diversi gruppi di intervento (A, B, C) sia per tutti i sintomi nel complesso, che separatamente per le diverse categorie di sintomi, ossia sintomi generali, respiratori, gastrointestinali a altri sintomi.

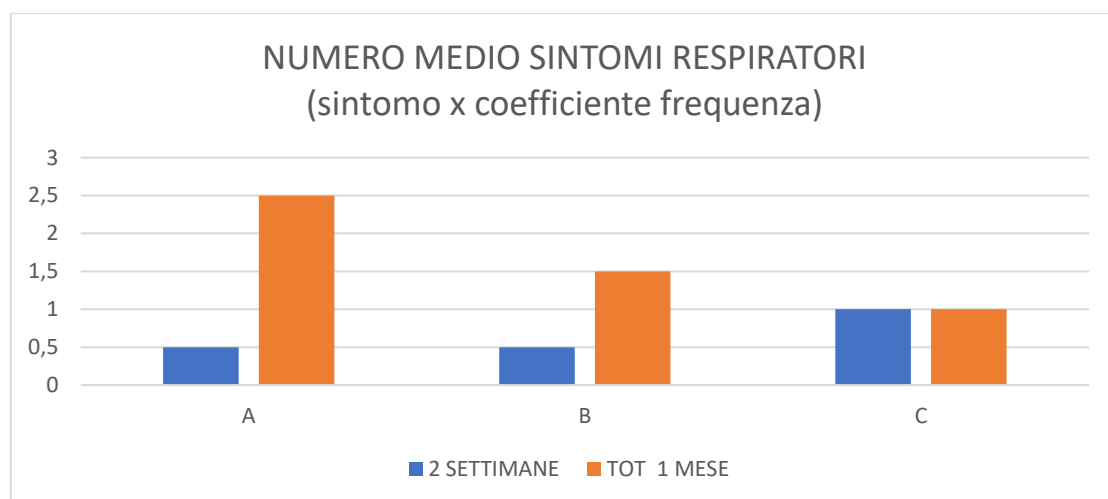
I valori ottenuti rispettivamente nel periodo delle prime due settimane di vita e del primo mese di vita, sono riassunti nei grafici seguenti:



*Figura 2.1a Numero medio di sintomi complessivi, moltiplicati per il relativo coefficiente di frequenza, manifestati nei neonati appartenenti ai gruppi di intervento A, B, C nel periodo delle prime due settimane di vita e del primo mese di vita.*



*Figura 2.1b Numero medio di sintomi generali, moltiplicati per il relativo coefficiente di frequenza, manifestati nei neonati appartenenti ai gruppi di intervento A, B, C nel periodo delle prime due settimane di vita e del primo mese di vita.*



*Figura 2.1c Numero medio di sintomi respiratori, moltiplicati per il relativo coefficiente di frequenza, manifestati nei neonati appartenenti ai gruppi di intervento A, B, C nel periodo delle prime due settimane di vita e del primo mese di vita.*



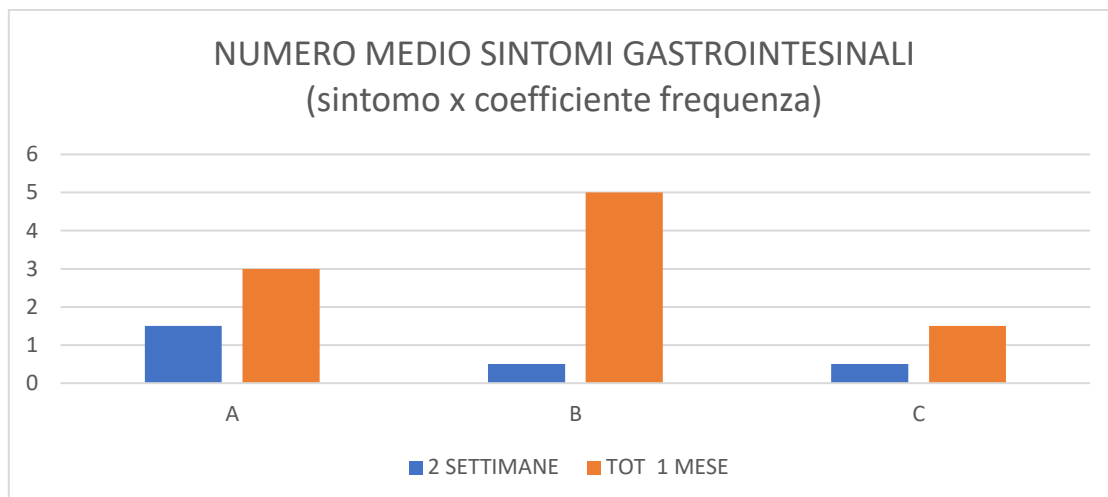


Figura 2.1d Numero medio di sintomi gastrointestinali, moltiplicati per il relativo coefficiente di frequenza, manifestati nei neonati appartenenti ai gruppi di intervento A, B, C nel periodo delle prime due settimane di vita e del primo mese di vita.

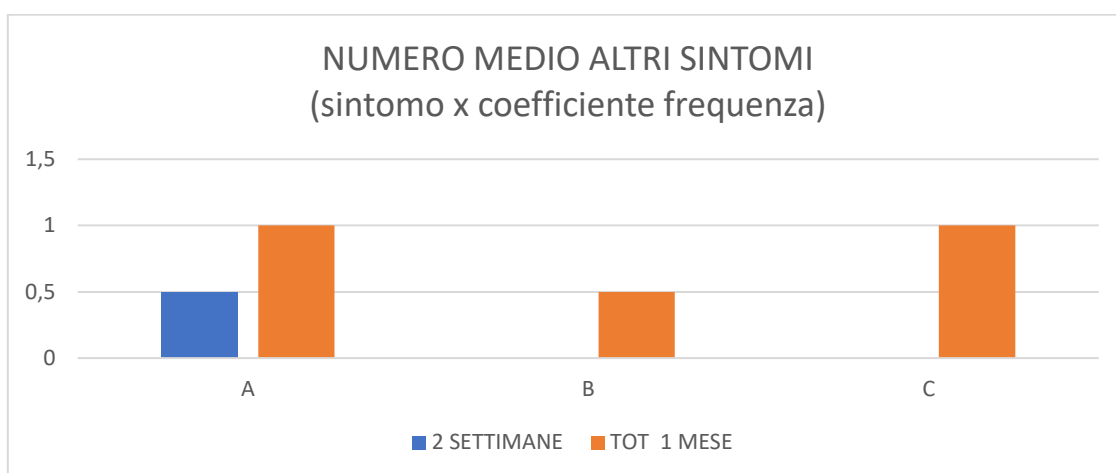


Figura 2.1e Numero medio di altri sintomi, moltiplicati per il relativo coefficiente di frequenza, manifestati nei neonati appartenenti ai gruppi di intervento A, B, C nel periodo delle prime due settimane di vita e del primo mese di vita.

Limitandosi ad osservare i grafici riportati, emerge in generale una tendenza ad una minore manifestazione di sintomi neonatali nel gruppo C, rispetto ai gruppi A e B nelle varie categorie di sintomi, sia a 2 settimane che ad 1 mese di vita del neonato.

In particolare, emerge che:

- la manifestazione complessiva di sintomi ad 1 mese è minore nel gruppo C, mentre a 2 settimane di vita è minore nel gruppo B (Figura 2.1a)
- la manifestazione di sintomi generali è minore a 2 settimane nel gruppo B e C, in cui risulta pari a 0 e ad 1 mese è minore nel gruppo C (Figura 2.1b)
- la manifestazione di sintomi respiratori è minore a 2 settimane nel gruppo A e B e ad 1 mese è minore nel gruppo C (Figura 2.1c)
- la manifestazione di sintomi gastrointestinali è minore a 2 settimane nel gruppo B e C e ad 1 mese è minore nel gruppo C (Figura 2.1d)
- la manifestazione di altri sintomi a 2 settimane è minore nel gruppo B e C, pari a 0, e ad 1 mese è minore nel gruppo B (Figura 2.1e)

Da questi dati si nota una discrepanza rispetto all'ipotesi iniziale, ma a causa della limitata numerosità campionaria, non è possibile trarre delle conclusioni dai dati emersi e non si esclude la possibilità che ampliando il campione si potrebbe ottenere un esito differente.

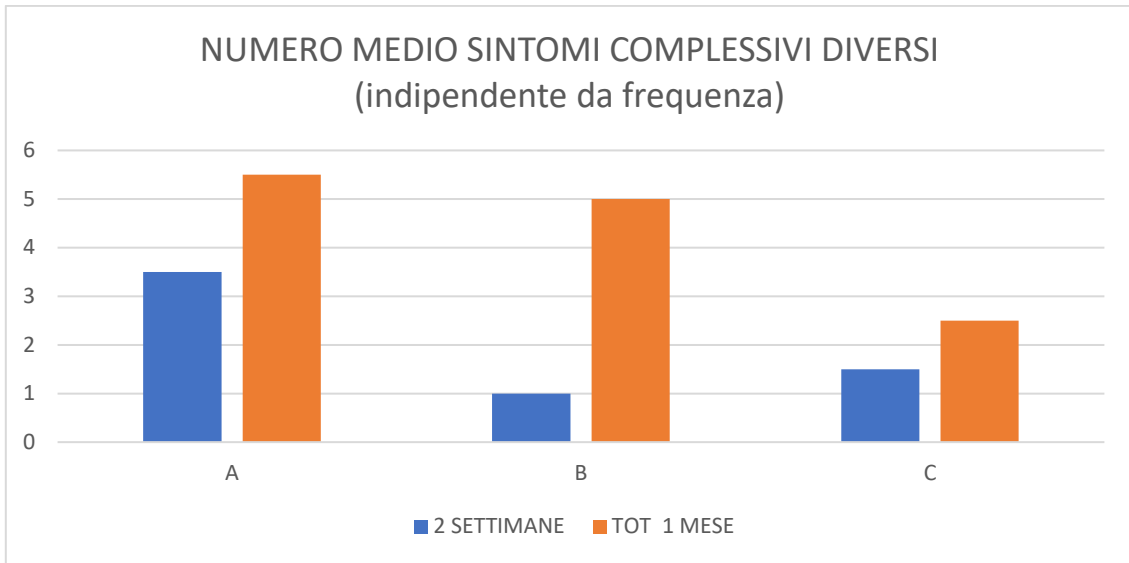
La mancanza di significatività dei dati ad oggi ottenuti viene inoltre confermata dal calcolo degli intervalli di confidenza al 95% relativi ai valori di stima puntuale, ossia la media, dei diversi gruppi di intervento, i cui valori vanno a sovrapporsi tra loro, rendendo di conseguenza le distribuzioni non significativamente diverse tra loro. Si riporta di seguito la Tabella 2.1 contenente gli intervalli di confidenza calcolati per i valori di sintomi medi complessivi (rappresentati nella Figura 2.1a), specificando che anche per le categorie di sintomi considerate singolarmente si verifica una sovrapposizione degli intervalli di confidenza individuati.

*Tabella 2.1 Intervalli di confidenza del numero medio di sintomi complessivi, moltiplicati per il corrispondente coefficiente di frequenza, nei gruppi di intervento A, B, C nel periodo delle prime due settimane di vita e del primo mese di vita del neonato.*

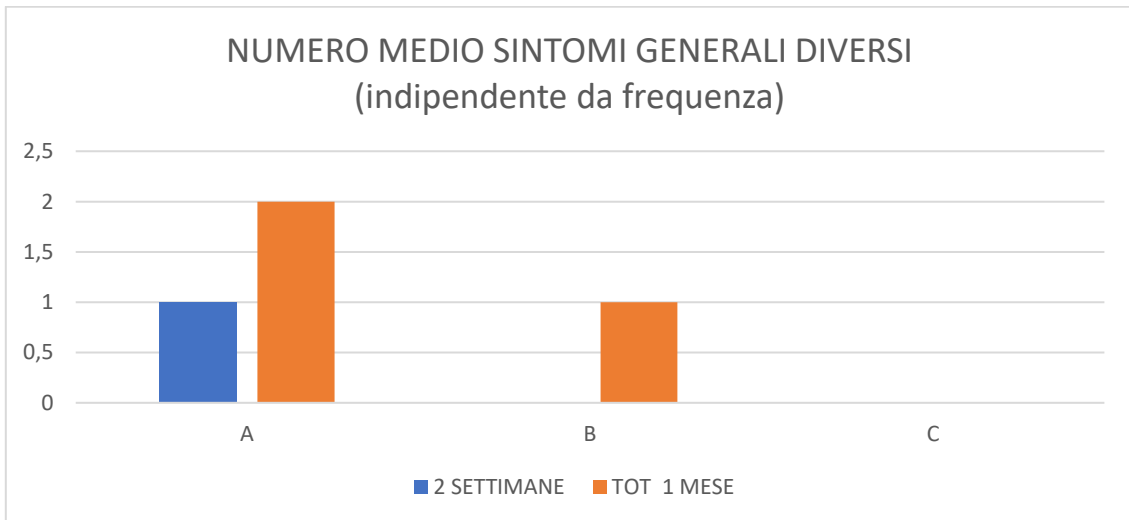
Gruppo di intervento	INTERVALLO DI CONFIDENZA NUMERO MEDIO DI SINTOMI COMPLESSIVI (sintomo x coefficiente di frequenza)			
	2 SETTIMANE		1 MESE	
	Limite minimo	Limite massimo	Limite minimo	Limite massimo
A	2,369	4,631	6,738	11,262
B	-1,262	3,262	5,107	11,893
C	0,369	2,631	0,107	6,893

Si è inoltre calcolato il numero medio di sintomi diversi che sono insorti in ogni neonato nei tre gruppi di intervento. Per ottenere tale valore è stato calcolato quanti sintomi differenti ogni bambino ha presentato, sia nelle prime due settimane che nel primo mese di vita, a prescindere dalla frequenza di presentazione, per avere un'informazione esclusivamente sulla varietà dei sintomi presentati. Tale procedimento è stato effettuato per i diversi gruppi di intervento (A, B, C) sia per tutti i sintomi nel complesso che separatamente per le diverse categorie di sintomi individuate, ossia generali, respiratori, gastrointestinali e altri.

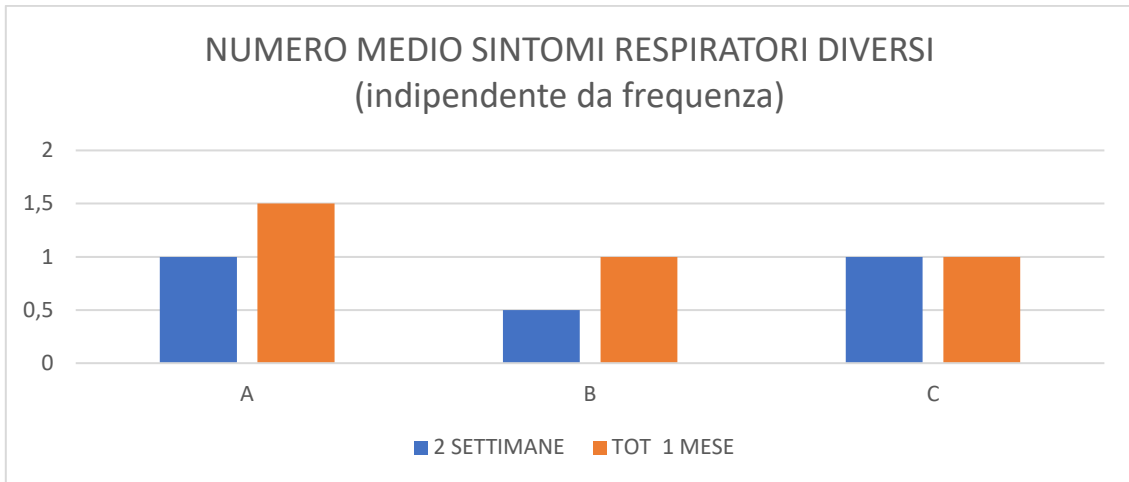
I valori emersi sono riassunti nei grafici nelle pagine seguenti.



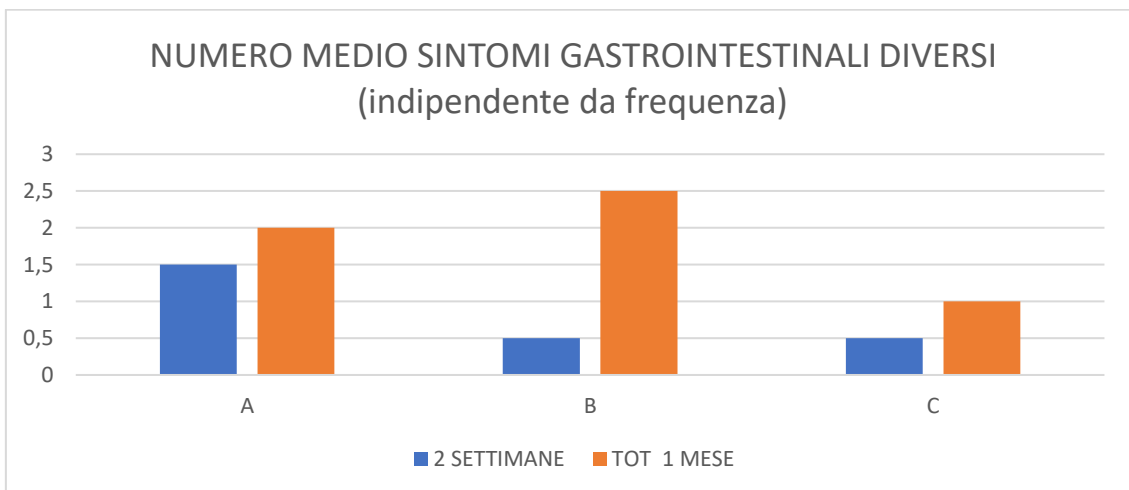
*Figura 2.2a Numero medio di sintomi complessivi diversi, indipendente dalla frequenza di presentazioni, manifestati nei neonati appartenenti ai gruppi di intervento A, B, C nel periodo delle prime due settimane di vita e del primo mese di vita.*



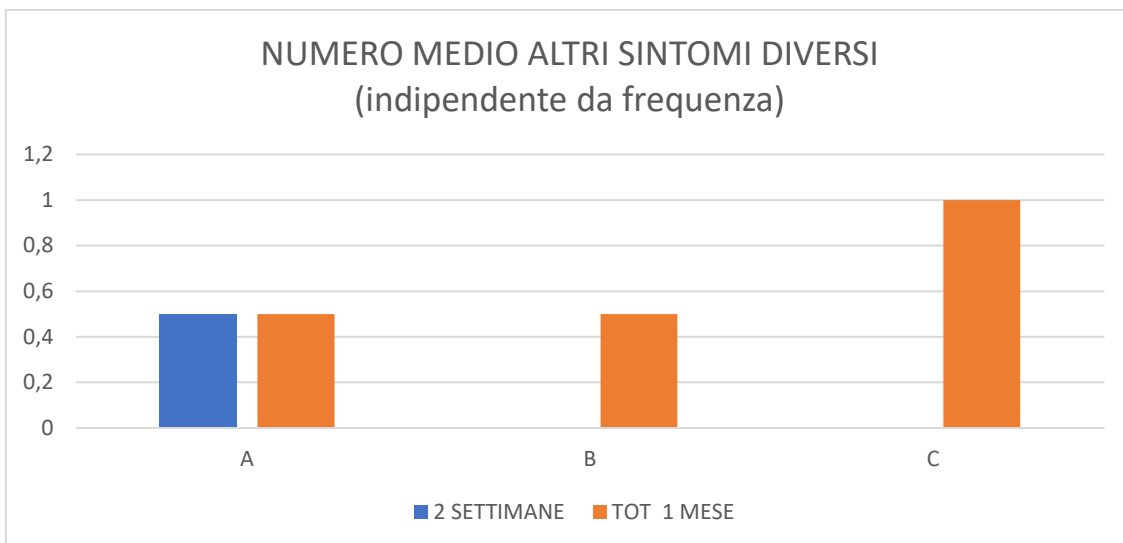
*Figura 2.2b Numero medio di sintomi generali diversi, indipendente dalla frequenza di presentazioni, manifestati nei neonati appartenenti ai gruppi di intervento A, B, C nel periodo delle prime due settimane di vita e del primo mese di vita.*



*Figura 2.2c Numero medio di sintomi respiratori diversi, indipendente dalla frequenza di presentazioni, manifestati nei neonati appartenenti ai gruppi di intervento A, B, C nel periodo delle prime due settimane di vita e del primo mese di vita.*



*Figura 2.2d Numero medio di sintomi gastrointestinali diversi, indipendente dalla frequenza di presentazioni, manifestati nei neonati appartenenti ai gruppi di intervento A, B, C nel periodo delle prime due settimane di vita e del primo mese di vita.*



*Figura 2.2e Numero medio di altri sintomi diversi, indipendente dalla frequenza di presentazioni, manifestati nei neonati appartenenti ai gruppi di intervento A, B, C nel periodo delle prime due settimane di vita e del primo mese di vita.*

Analizzando i grafici, emerge complessivamente una tendenza ad un maggiore numero di sintomi neonatali diversi nel gruppo A e B, rispetto al gruppo C.

In particolare, emerge che:

- il numero di sintomi complessivi diversi manifestati a 2 settimane di vita è minore nel gruppo B, mentre ad 1 mese è minore nel gruppo C (Figura 2.2a)
- il numero di sintomi generali diversi manifestati a 2 settimane è minore nel gruppo B e C, in cui risulta pari a 0 e ad 1 mese è minore nel gruppo C (Figura 2.2b)
- il numero di sintomi respiratori diversi manifestati a 2 settimane è minore nel gruppo B e ad 1 mese è minore nel gruppo B e C (Figura 2.2c)
- la manifestazione di sintomi gastrointestinali diversi a 2 settimane è minore nel gruppo B e C e ad 1 mese è minore nel gruppo C (Figura 2.2d)
- la manifestazione di altri sintomi diversi a 2 settimane è minore nel gruppo B e C, pari a 0, e ad 1 mese è minore nel gruppo A e B (Figura 2.2e)

Anche da queste osservazioni emerge una mancata concordanza con l'ipotesi di partenza dello studio, ma anche in questo contesto ciò può essere giustificato mediante le medesime considerazioni riguardo la limitata numerosità campionaria precedentemente effettuate.

La mancanza di significatività dei dati ad oggi ottenuti viene inoltre confermata, allo stesso modo di quanto riferito riguardo l'indice medio precedentemente analizzato, dal calcolo degli intervalli di confidenza al 95% relativi ai valori di stima puntuale dei diversi gruppi di intervento. I valori degli intervalli di confidenza si sovrappongono anche in questo caso rendendo le distribuzioni non significativamente diverse tra loro. Si riporta di seguito la Tabella 2.2 con gli intervalli di confidenza calcolati per i valori medi del numero di sintomi complessivi diversi, rappresentati nella Figura 2.2a, specificando che anche per le categorie di sintomi considerate singolarmente si verifica una sovrapposizione degli intervalli di confidenza individuati.

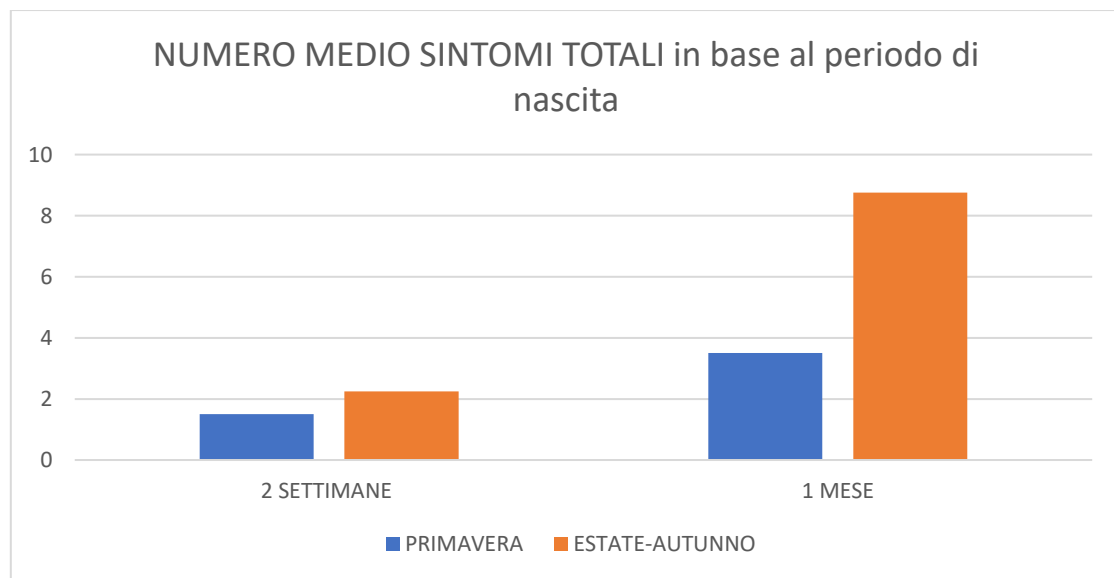
*Tabella 2.2 Intervalli di confidenza del numero medio di sintomi complessivi diversi, indipendente dalla frequenza di manifestazione, nei gruppi di intervento A, B, C nel periodo delle prime due settimane di vita e del primo mese di vita del neonato.*

Gruppo di intervento:	INTERVALLO DI CONFIDENZA NUMERO MEDIO DI SINTOMI COMPLESSIVI DIVERSI (indipendente da frequenza)			
	2 SETTIMANE		1 MESE	
	Limite minimo	Limite massimo	Limite minimo	Limite massimo
A	2,369	4,631	2,107	8,893
B	-1,262	3,262	5	5
C	0,369	2,631	-0,893	5,893

Non è stata individuata e descritta la mediana in quanto, avendo solamente n.2 unità statistiche per ogni gruppo di intervento, tale indice corrisponde esattamente alla media.

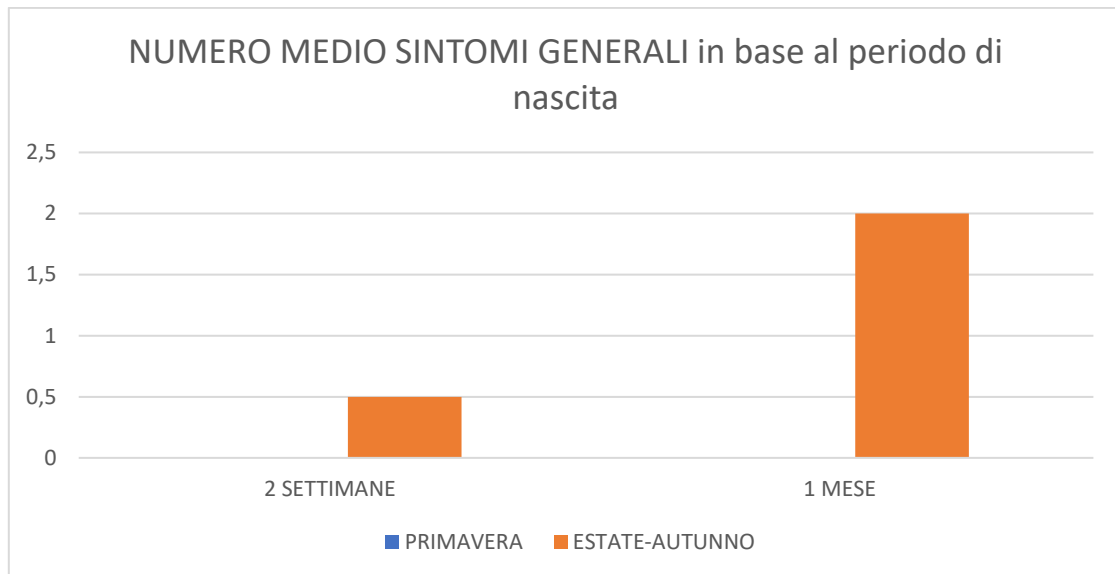
Un ulteriore fattore che contribuisce a spiegare e giustificare i risultati emersi dai questionari, è la correlazione che emerge, seppur permanga l'impossibilità di ottenere significatività statistica, tra il numero di sintomi riscontrati e il periodo stagionale in cui è avvenuto il parto. Secondo quanto stabilito dallo schema di randomizzazione, le prime due pazienti partecipanti allo studio sono state inserite nel gruppo di intervento C, il quale è risultato manifestare nel complesso meno sintomi rispetto agli altri gruppi di intervento,

mentre le pazienti successive sono state inserite nei gruppi A e B. Ne è conseguito che, considerato il periodo di svolgimento dello studio, le pazienti appartenenti al gruppo C hanno partorito nel periodo finale della primavera, in particolare ad aprile e giugno, mentre le pazienti del gruppo A e B hanno partorito nel periodo tardo estivo-autunnale, in particolare nei mesi di agosto e settembre. Suddividendo le pazienti tra quelle il cui parto è avvenuto in periodo primaverile, corrispondenti a quelle appartenenti al gruppo C, e in periodo tardo estivo-autunnale, corrispondenti a quelle appartenenti ai gruppi A e B, emerge che i neonati nati nel periodo tardo estivo-autunnale hanno manifestato un maggiore numero di sintomi rispetto a quelli nati nel periodo primaverile, sia per quanto riguarda i sintomi totali, generali, respiratori e gastrointestinali. Non emerge tale correlazione per quanto riguarda la voce “altri sintomi”, che include anche eruzioni cutanee e infezioni delle vie urinarie, meno suscettibili ai cambiamenti stagionali. Questa correlazione si può chiaramente osservare nei grafici riportati di seguito.

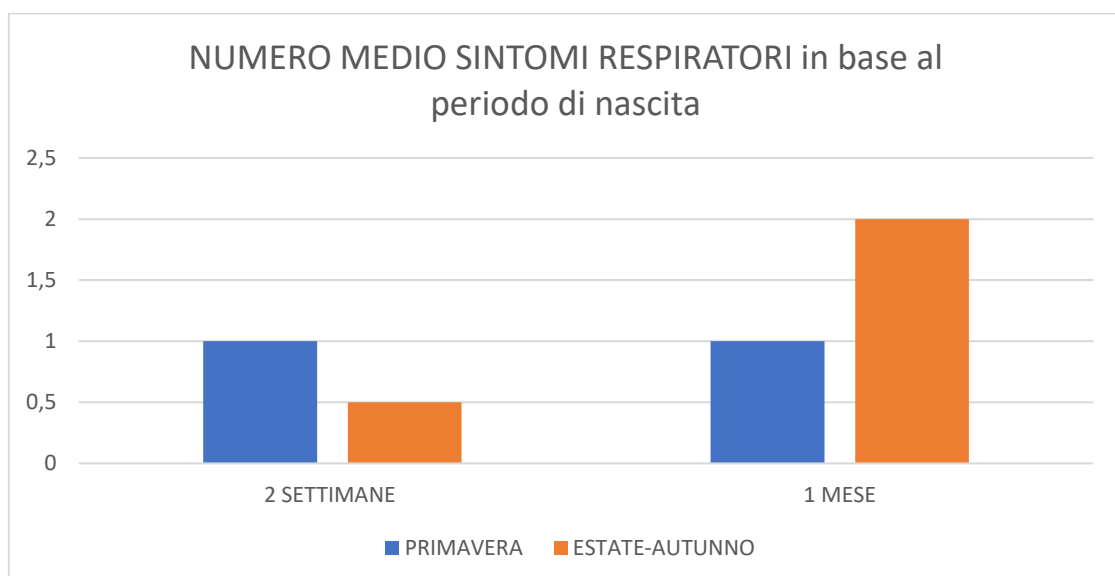


*Figura 2.3a Numero medio di sintomi totali, moltiplicati per il relativo coefficiente di frequenza, manifestati nei neonati nati nel periodo primaverile e nel periodo estivo-autunnale*

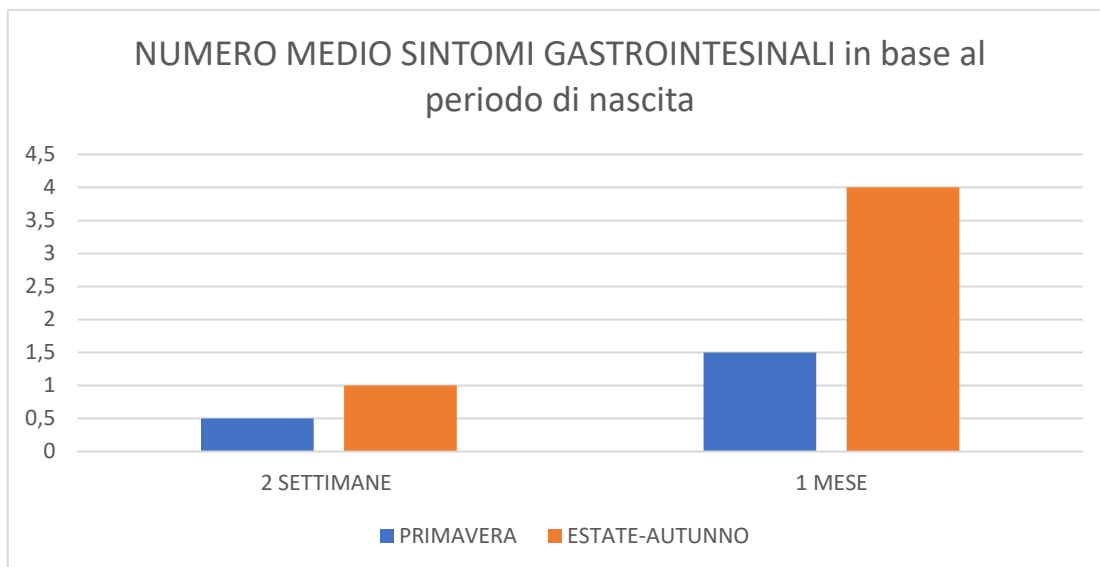




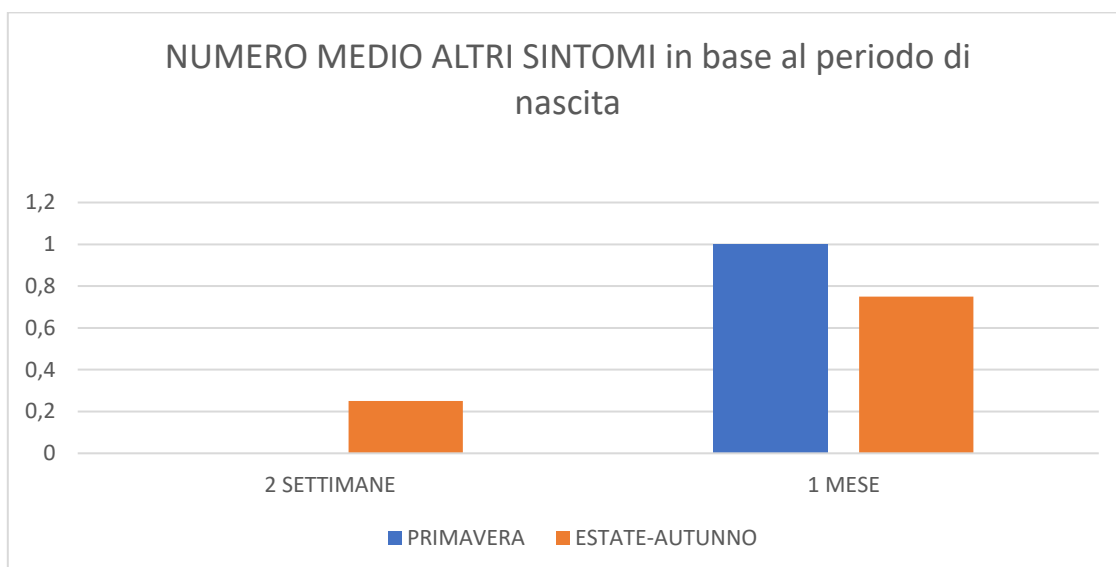
*Figura 2.3b Numero medio di sintomi generali, moltiplicati per il relativo coefficiente di frequenza, manifestati nei neonati nati nel periodo primaverile e nel periodo estivo-autunnale*



*Figura 2.3c Numero medio di sintomi respiratori, moltiplicati per il relativo coefficiente di frequenza, manifestati nei neonati nati nel periodo primaverile e nel periodo estivo-autunnale*



*Figura 2.3d Numero medio di sintomi gastrointestinali, moltiplicati per il relativo coefficiente di frequenza, manifestati nei neonati nati nel periodo primaverile e nel periodo estivo-autunnale*



*Figura 2.3e Numero medio di altri sintomi, moltiplicati per il relativo coefficiente di frequenza, manifestati nei neonati nati nel periodo primaverile e nel periodo estivo-autunnale*

Procedendo con l'analisi descrittiva, è stata calcolata la moda nei diversi gruppi di intervento, moltiplicando ogni singolo sintomo per il coefficiente relativo alla frequenza di presentazione ed osservando quindi quale sintomo fosse stato maggiormente presente. Da tale analisi è emerso che:

- i sintomi maggiormente presenti nel gruppo A sono stati “irritabilità e stato di agitazione” e “coliche”
- il sintomo maggiormente presente nel gruppo B è stato “coliche”
- il sintomo maggiormente presente nel gruppo C è stato “distensione addominale e/o gonfiore”
- il sintomo maggiormente presente nel complesso è stato “coliche”, seguito da “irritabilità, stato di agitazione”
- la categoria maggiormente presente in tutti i gruppi di intervento e nel complesso è la categoria dei sintomi gastrointestinali

Al fine di effettuare un'analisi completa dei sintomi neonatali rilevati dai questionari, oltre agli indici di centralità, quali la media, la mediana e la moda appena descritti, si sono presi in considerazione e si sono calcolati gli indici di variabilità quali il range, la varianza e la deviazione standard.

Per quanto riguarda il range, ossia la differenza tra il valore minimo e massimo osservato, considerando che ogni gruppo di intervento è composto da 2 unità statistiche, i valori minimi e massimi corrispondono esattamente ai due valori rilevati. Di seguito si riportano i grafici che confrontano i range nel numero medio di sintomi complessivi, tenendo conto anche della frequenza di presentazione di essi tramite il coefficiente di frequenza corrispondente, e del numero medio di sintomi complessivi diversi, indipendente dalla frequenza di presentazione.

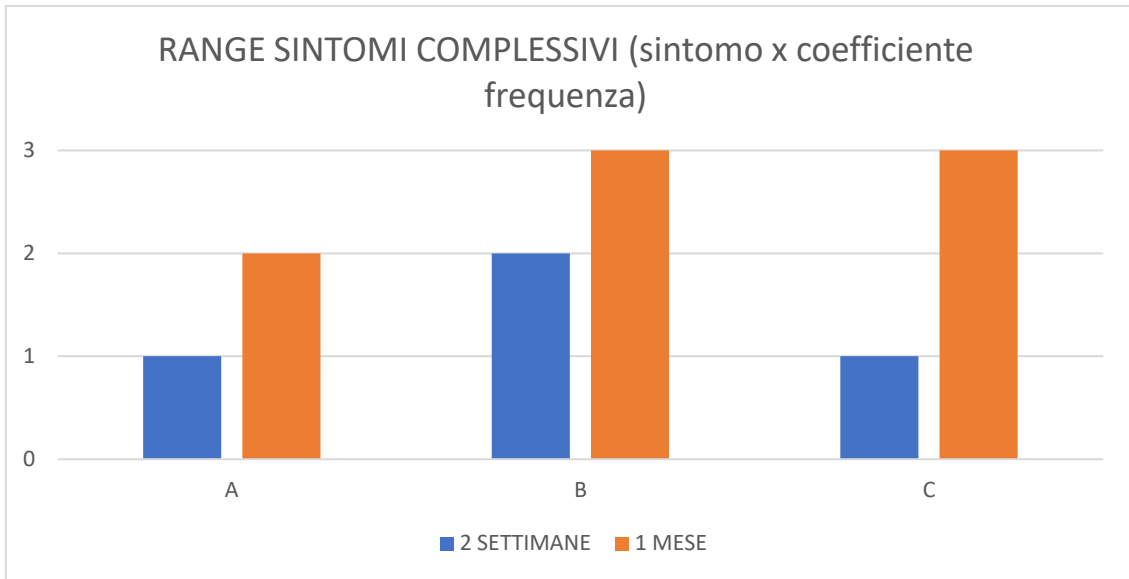


Figura 2.4a Range del numero medio di sintomi complessivi, moltiplicati per il relativo coefficiente di frequenza, manifestati nei neonati appartenenti ai gruppi di intervento A, B, C nel periodo delle prime due settimane di vita e del primo mese di vita.

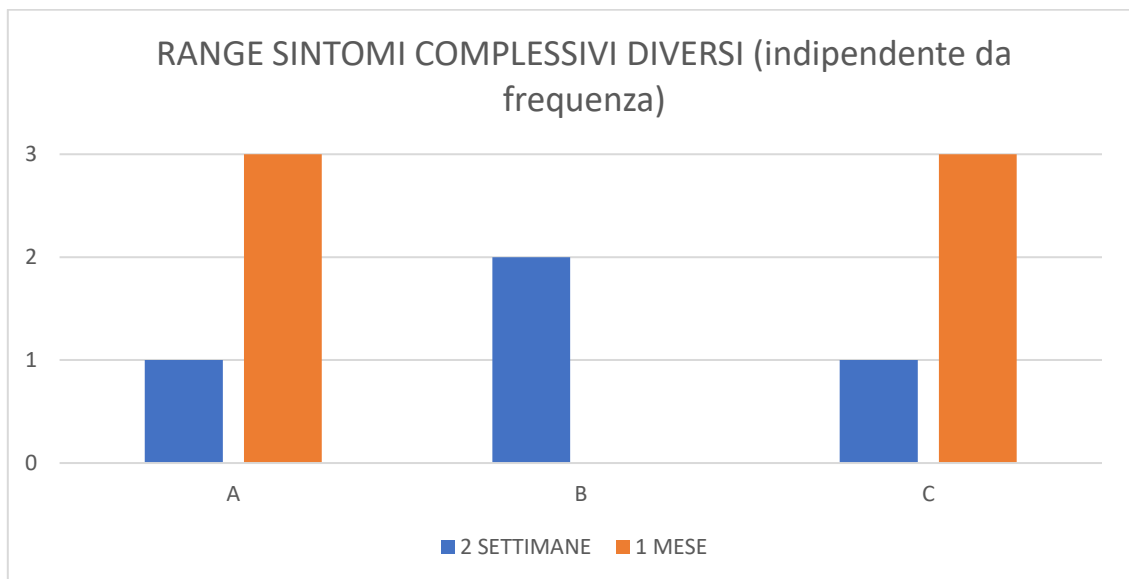


Figura 2.4b Range del numero medio di sintomi complessivi diversi, indipendente dalla frequenza di presentazione, manifestati nei neonati appartenenti ai gruppi di intervento A, B, C nel periodo delle prime due settimane di vita e del primo mese di vita.

Si sono inoltre calcolate la varianza e la deviazione standard, o scarto quadratico medio, per il numero medio di sintomi neonatali complessivi, sia tenendo in considerazione la frequenza di presentazione, che tenendo in considerazione solo il numero di sintomi diversi manifestati indipendentemente dalla frequenza, separatamente nei neonati appartenenti ai diversi gruppi di intervento (A, B, C). Di seguito si riportano i grafici rappresentativi della deviazione standard calcolata, indicativa della variabilità della distribuzione statistica nei diversi gruppi di intervento:

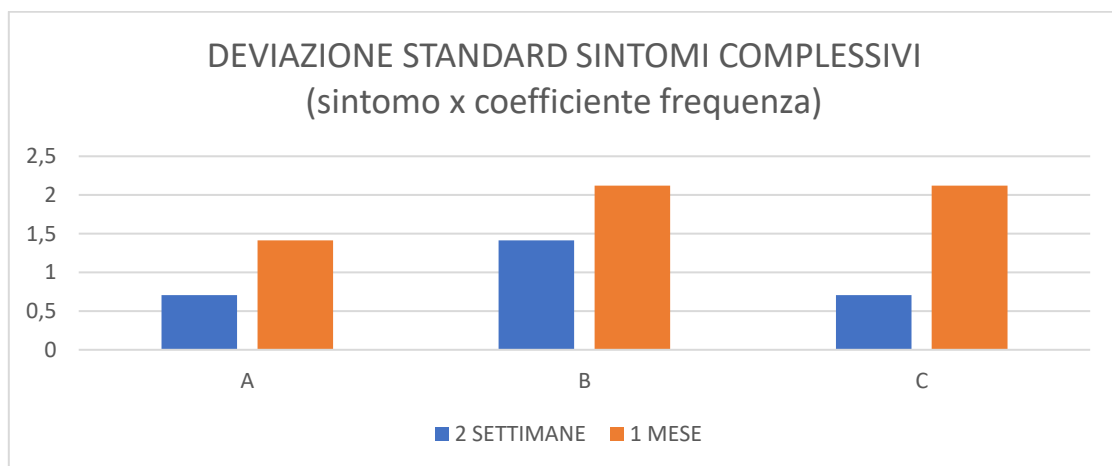


Figura 2.5a Deviazione standard del numero medio di sintomi complessivi, moltiplicati per il relativo coefficiente di frequenza, manifestati nei neonati appartenenti ai gruppi di intervento A, B, C nel periodo delle prime due settimane di vita e del primo mese di vita.

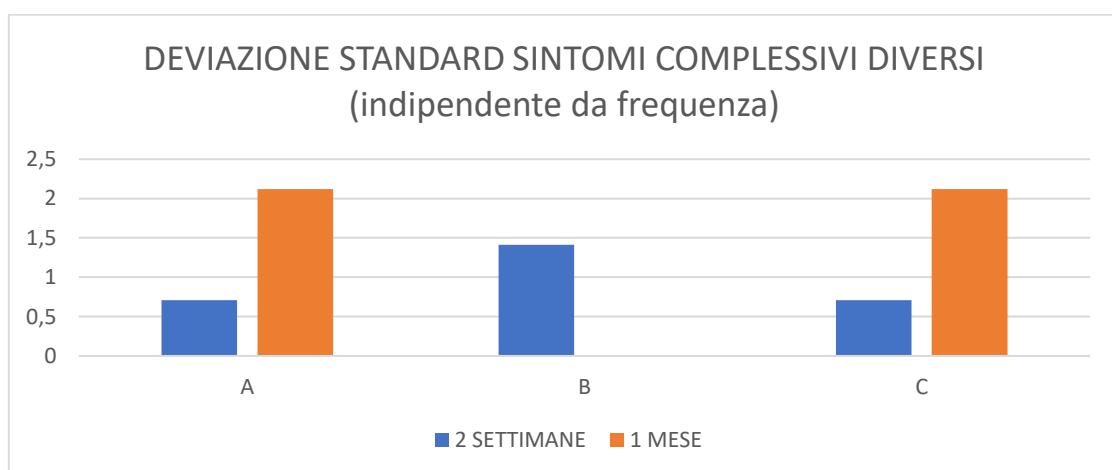


Figura 2.5b Deviazione standard del numero medio di sintomi complessivi diversi, indipendente dalla frequenza di presentazione, manifestati nei neonati appartenenti ai gruppi di intervento A, B, C nel periodo delle prime due settimane di vita e del primo mese di vita.

Gli indici di variabilità appena descritti esprimono la dispersione dei dati rispetto alla media individuata, ossia permettono di osservare quanto i valori rilevati si distanziano dal valore di centralità di ogni distribuzione. Sia dall'analisi del range che della deviazione standard, emerge coerentemente che:

- per quanto riguarda la manifestazione complessiva dei sintomi tenendo in considerazione anche la frequenza di presentazione, questa risulta maggiormente variabile a 2 settimane nel gruppo B e ad 1 mese nel gruppo B e C, mentre risulta più stabile nel gruppo A sia a 2 settimane che ad 1 mese di vita del neonato (Figura 2.4a e 2.5a)
- per quanto riguarda il numero di sintomi diversi manifestati, indipendentemente dalla frequenza, emerge una maggiore variabilità a 2 settimane nel gruppo B ed una maggiore variabilità ad 1 mese nel gruppo A e C (Figura 2.4b e 2.5b).

La minore variabilità osservata nel gruppo A per quanto riguarda la manifestazione complessiva dei sintomi e la relativa frequenza, potrebbe trovare spiegazione nell'aumentata assunzione di sostanze probiotiche e prebiotiche, le quali agiscono influenzando il microbiota neonatale e quindi lo sviluppo del sistema immunitario, diminuendo l'influenza di altri fattori presenti, i quali invece hanno un maggiore impatto nel gruppo di intervento C, in cui non vi è un'aumentata assunzione di probiotici e prebiotici e nel gruppo B in cui vi è un'aumentata assunzione di probiotici e prebiotici tramite l'alimentazione, ma non tramite prodotti probiotici.

Nel complesso, però non emerge un unico gruppo di intervento che presenta una variabilità nettamente minore, bensì ciò varia in base all'intervallo di tempo che si prende in considerazione ed in base all'indice di riferimento.

Risulta comunque inadeguato trarre delle conclusioni definitive da tali osservazioni, così come riportato per gli indici precedentemente analizzati, a causa della attualmente limitata numerosità campionaria.

Non è stata effettuata la rappresentazione grafica tramite box plot, in quanto con 2 unità statistiche per ogni gruppo di intervento, non è possibile individuare un valore minimo, 25°percentile, mediana, 75° percentile e valore massimo della distribuzione, indispensabili per tale rappresentazione grafica. Si riporta però un grafico con i medesimi principi, in cui si identificano i valori di mediana, corrispondente anche alla media, valore

minimo e valore massimo della distribuzione per ogni gruppo di intervento, al fine di racchiudere in un'unica rappresentazione grafica il valore centrale della distribuzione, ossia la media o mediana, ed anche la variabilità di essa.

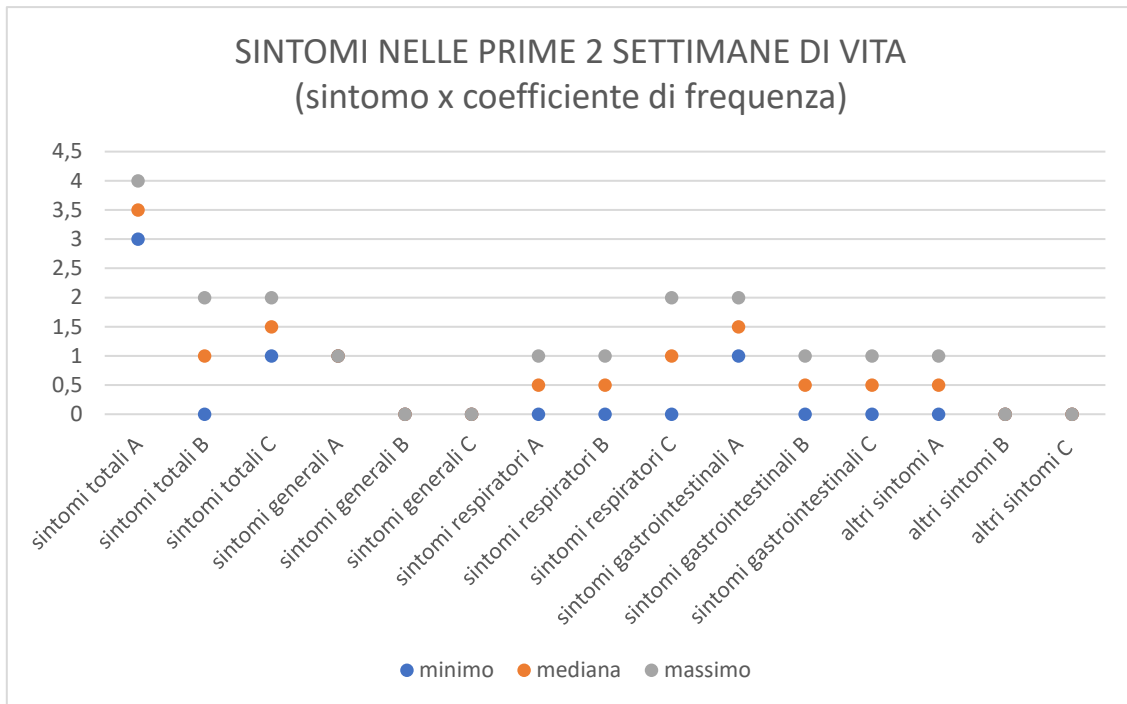


Figura 2.6 a Rappresentazione grafica di media o mediana, valore minimo e valore massimo del numero medio di sintomi complessivi e nelle singole categorie di sintomi, moltiplicati per il relativo coefficiente di frequenza, manifestati nei neonati appartenenti ai gruppi di intervento A, B, C nel periodo delle prime due settimane di vita.

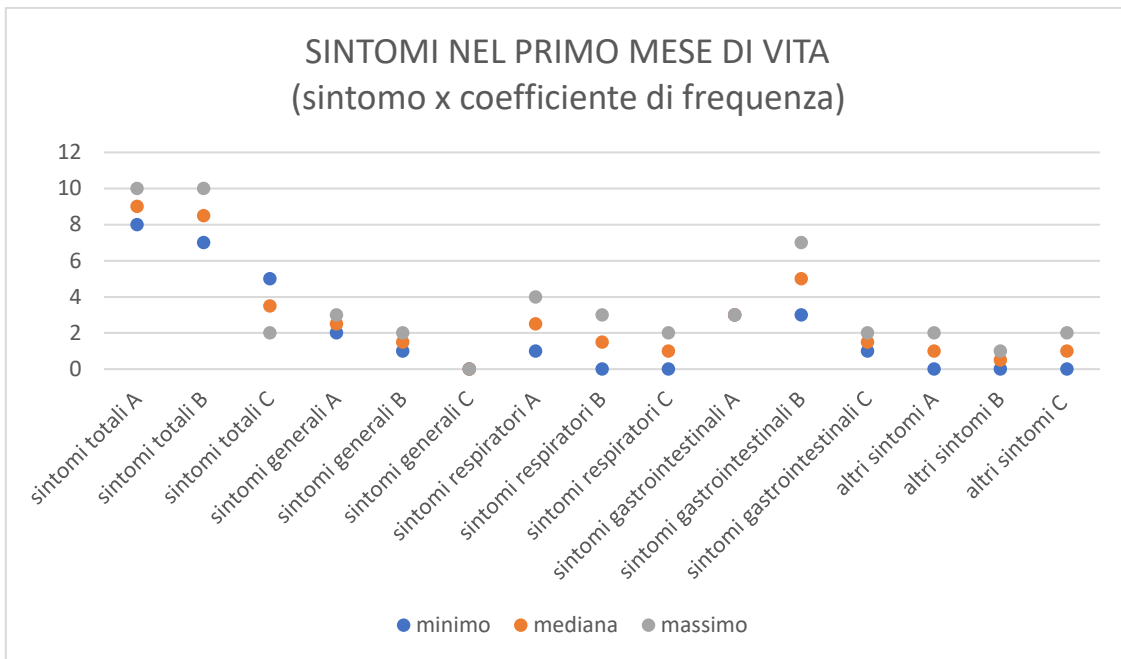


Figura 2.6b Rappresentazione grafica di media o mediana, valore minimo e valore massimo del numero medio di sintomi complessivi e nelle singole categorie di sintomi, moltiplicati per il relativo coefficiente di frequenza, manifestati nei neonati appartenenti ai gruppi di intervento A, B, C nel periodo del primo mese di vita.

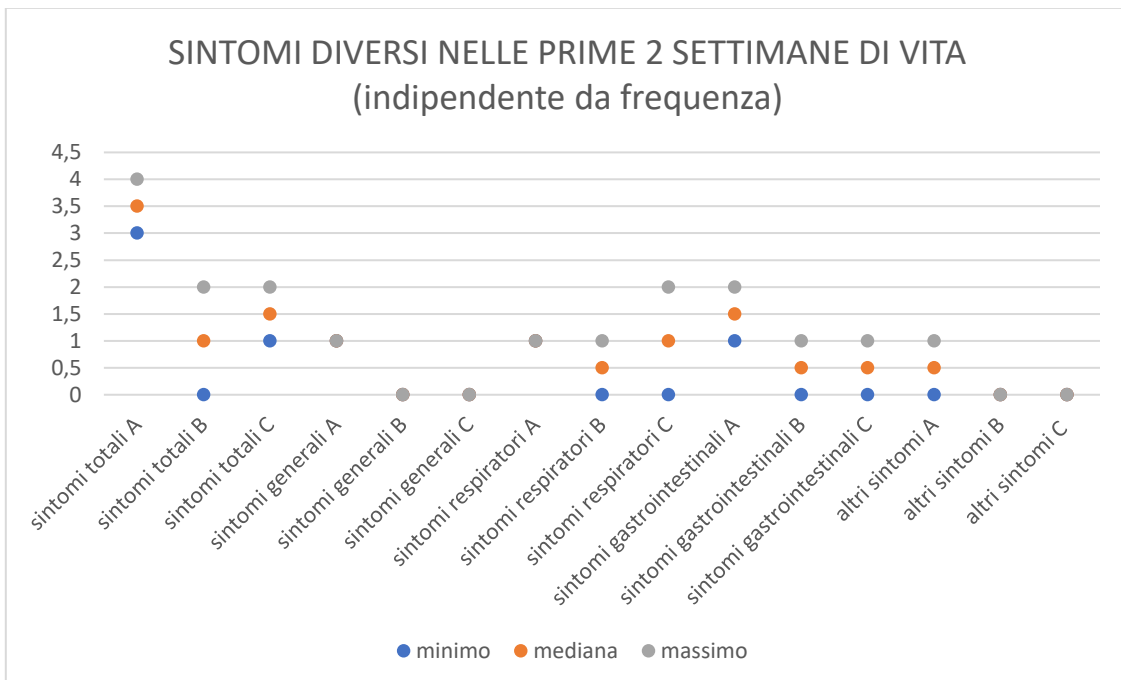


Figura 2.7a Rappresentazione grafica di media o mediana, valore minimo e valore massimo del numero medio di sintomi diversi complessivi e nelle singole categorie di sintomi, indipendente dalla frequenza di manifestazione, manifestati nei neonati appartenenti ai gruppi di intervento A, B, C nel periodo delle prime due settimane di vita.



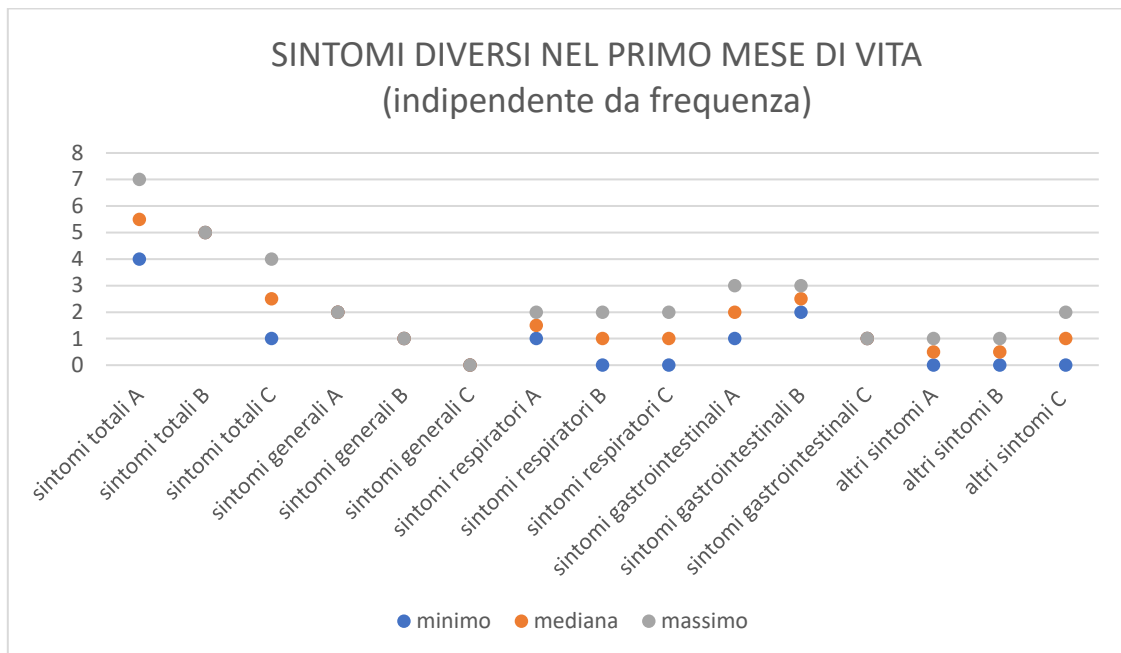


Figura 2.7b Rappresentazione grafica di media o mediana, valore minimo e valore massimo del numero medio di sintomi diversi complessivi e nelle singole categorie di sintomi, indipendente dalla frequenza di manifestazione, manifestati nei neonati appartenenti ai gruppi di intervento A, B, C nel periodo del primo mese di vita.

Da tali grafici, si deducono le stesse osservazioni riportate nei paragrafi precedenti in cui sono stati analizzati separatamente gli indici di centralità e di variabilità. Questa rappresentazione grafica permette in aggiunta di ottenere una visione immediata, complessiva e completa dei risultati emersi dalla compilazione dei questionari, mostrando contemporaneamente il valore medio e la variabilità della manifestazione dei sintomi nei diversi gruppi di intervento A, B, C, sia complessivamente che nelle singole categorie di sintomi individuate.

Per quanto riguarda l'analisi dell'impatto dello stato di salute del neonato sulla qualità di vita del neonato stesso e del nucleo familiare, è stata calcolata la percentuale di neonati il cui stato di salute ha avuto un impatto sulla qualità di vita e la percentuale di nuclei familiari la cui qualità di vita è stata compromessa dallo stato di salute del neonato, nei diversi gruppi di intervento nel periodo di 2 settimane e del primo mese di vita. I risultati emersi sono riassunti nei grafici sottostanti.

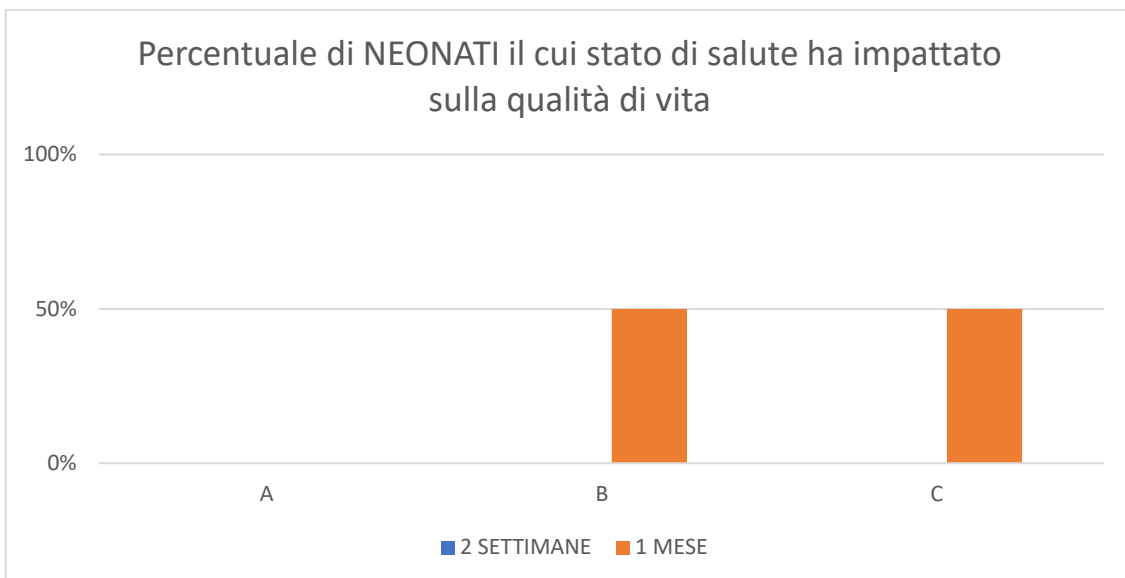


Figura 2.8 a Percentuale di neonati il cui stato di salute ha impattato sulla qualità di vita nei gruppi di intervento A, B, C nel periodo delle prime due settimane e del primo mese di vita.

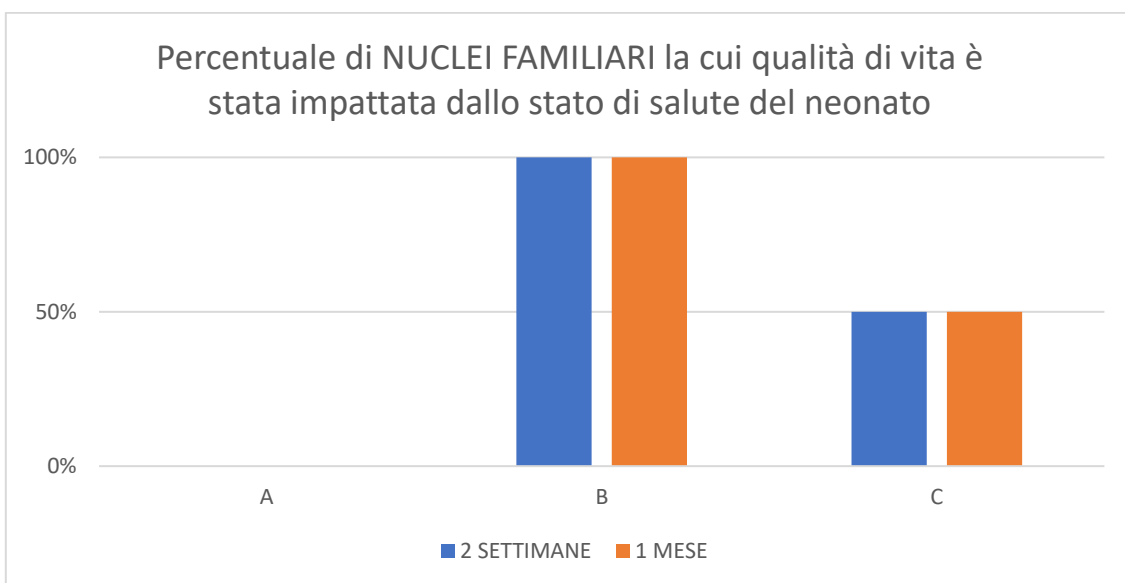


Figura 2.8b Percentuale di nuclei familiari la cui qualità di vita è stata impattata dallo stato di salute del neonato, nei gruppi di intervento A, B, C nel periodo delle prime due settimane e del primo mese di vita.

Dall'osservazione dei grafici si deduce che a 2 settimane di vita nessuno dei neonati ha subito un impatto negativo sulla propria qualità di vita correlato al proprio stato di salute, mentre ad 1 mese di vita il 50% dei neonati del gruppo B e C ha subito un impatto negativo sulla propria qualità di vita (Figura 2.8a).

Nel gruppo A, non è stato rilevato alcun impatto negativo, dovuto allo stato di salute del neonato, sulla qualità di vita né del neonato stesso né dei genitori e del nucleo familiare coinvolto.

Per quanto riguarda il nucleo familiare, è stato segnalato un impatto negativo sulla qualità di vita in quantità maggiore nel gruppo B, ossia nel 100% dei nuclei familiari a 2 settimane e di conseguenza anche ad 1 mese di vita nel neonato e nel gruppo C è stato rilevato un impatto sul 50% dei nuclei familiari a 2 settimane e ad 1 mese di vita del neonato (Figura 2.8b).

Limitandosi ad osservare tale esito, il diminuito impatto sulla qualità di vita dei neonati e dei nuclei familiari coinvolti nel gruppo di intervento A sembrerebbe confermare l'ipotesi iniziale dello studio, secondo cui una dieta ricca in probiotici e prebiotici associata ad un'assunzione di prodotti probiotici, permette di influire beneficamente sul microbiota intestinale neonatale, migliorando lo stato di salute del neonato e quindi la qualità di vita complessiva del neonato e del nucleo familiare. È importante però effettuare un'analisi completa dei dati e segnalare quindi che la diminuzione dell'impatto sulla qualità di vita osservata nel gruppo A non trova corrispondenza con un'effettiva diminuzione della presenza di sintomi neonatali, i quali invece emergono dai questionari essere tendenzialmente maggiori nel gruppo A rispetto al gruppo di intervento C, in cui è stato rilevato un maggiore impatto negativo sulla qualità di vita sia del neonato che del nucleo familiare.

Tali discrepanze vengono ancora una volta giustificate dalla limitata numerosità campionaria che non permette di ottenere una visione rappresentativa dell'impatto dell'intervento svolto nel progetto di studio e non permette quindi di trarre delle opportune conclusioni significative.

Si è andato inoltre ad osservare la moda della distribuzione, ossia quali fossero gli aspetti che hanno maggiormente subito un impatto negativo a causa dello stato di salute del neonato ed è emerso che:

- lo stato di salute del neonato ha impattato sulla qualità di vita dei neonati stessi nel gruppo B e C per quanto riguarda le “ore di riposo”, mentre nel gruppo A, come si evince dal grafico, i neonati non hanno avuto un impatto negativo sulla propria qualità di vita
- lo stato di salute del neonato ha impattato sulla qualità di vita del nucleo familiare in particolare per quanto riguarda il “riposo notturno e le ore di sonno” nei gruppi B e C, e per quanto riguarda la “Preoccupazione riguardo alla salute del figlio” in un neonato del gruppo B, mentre nel gruppo A, come si evince dal grafico, il nucleo familiare non ha avuto un impatto negativo sulla propria qualità di vita.

Alla luce di tutte le considerazioni effettuate in questo capitolo, si rimarca la precisazione che, data la limitata numerosità campionaria, le considerazioni che emergono dall'analisi dei dati non permettono di trarre delle conclusioni significative riguardo l'efficacia dell'intervento effettuato. Le discrepanze emerse tra l'ipotesi iniziale e i risultati effettivamente rilevati possono essere giustificate quindi considerando la limitata quantità di questionari ad oggi disponibili, la quale conduce ad una scarsa rilevanza statistica dei dati ad oggi ottenuti e la correlazione che è emersa tra la presenza di sintomi e il periodo stagionale in cui è nato ogni neonato, poiché sotto questo punto di vista le pazienti non sono risultate distribuite omogeneamente nei diversi gruppi di intervento. Al fine di poter trarre dal progetto di studio in atto delle adeguate considerazioni e conclusioni con una maggiore rilevanza statistica, emergerebbe come indispensabile un ampliamento e prosecuzione di tale studio.

I presupposti e le modalità di svolgimento, raccolta ed elaborazione dei dati del progetto di studio possono risultare preziose sia per l'ampliamento del progetto di studio in atto, che per lo sviluppo futuro di ulteriori studi di maggiore portata che permettano di ottenere, attraverso una metodologia simile a quella applicata in questo progetto, un quantitativo di dati tale da poter trarre delle considerazioni di maggiore rilevanza in questo ambito.

Questo progetto di studio si propone quindi come modello di studio da ampliare ed applicare in ulteriori studi futuri, al fine di poter contribuire concretamente ad arricchire le evidenze presenti nella letteratura scientifica, per quanto riguarda il ruolo di un'aumentata assunzione di sostanze prebiotiche e probiotiche nella madre durante il

periodo di gestazione nella prevenzione dei sintomi di infezioni neonatali, permettendo una migliore qualità di vita e benessere sia del neonato, che della madre e del nucleo familiare coinvolto.

## **CAPITOLO 3: Discussione e conclusioni**

### **3.1 Discussione**

#### **3.1.1 Limiti dello studio**

Lo studio oggetto di questo progetto di tesi presenta alcune limitazioni importanti da tenere in considerazione al fine di interpretare con adeguatezza i risultati emersi. Delineare in modo preciso i limiti dello studio, permette inoltre di indirizzare all'elaborazione di ulteriori studi o all'ampliamento dello studio in atto, tenendo come riferimento la progettazione ed attuazione di questo studio, al fine di trarre delle considerazioni di maggiore rilevanza scientifica e contribuire in modo significativo ad implementare le conoscenze ed applicazioni pratiche nell'ambito dell'assunzione di probiotici e prebiotici in gravidanza e dei benefici per il neonato.

In particolare, una prima limitazione che caratterizza lo studio è la scarsa numerosità campionaria. Questa è correlata principalmente alle tempistiche limitate di svolgimento dello studio e quindi la necessità di selezionare pazienti che partoriscono in tempi adeguati. Altri aspetti che hanno contribuito a limitare la numerosità del campione sono stati: il rispetto dei criteri di inclusione, la presenza di un effettivo interesse delle pazienti a partecipare allo studio, in particolare la disponibilità a procurarsi i prodotti probiotici consigliati, ad adottare le raccomandazioni dietetiche previste e la disponibilità a ricevere e compilare il questionario.

Un ulteriore importante fattore che ha interferito sui risultati emersi dai questionari è stata l'influenza della stagione climatica in cui i neonati sono nati sulla presentazione di sintomi di infezioni neonatali, in quanto, seguendo lo schema di randomizzazione generato, le pazienti non sono risultate distribuite omogeneamente secondo questo punto di vista, come è stato approfondito nella sezione dedicata del capitolo precedente.

Un ulteriore limite da considerare è costituito dalle tempistiche limitate per la raccolta dei questionari: a tale proposito si specifica che si proseguirà comunque con l'invio dei questionari a 3 mesi dalla data del parto alle pazienti a cui ad oggi non sono ancora stati inviati, per completare la raccolta dati per lo studio in atto.

Al fine di garantire che vi sia un'adeguata comprensione del questionario e quindi una compilazione corretta si è cercato di formulare un questionario completo, ma al tempo stesso semplice, prevedendo la spiegazione con un linguaggio di uso comune dei sintomi

il cui significato potrebbe non essere immediatamente comprensibile alla popolazione generale.

In aggiunta, vi sono alcuni aspetti che potrebbero contribuire ad aumentare la qualità dello studio, oltre a quelli precedentemente segnalati quali una dilatazione delle tempistiche ed incremento della numerosità campionaria.

In primo luogo, risulterebbe utile affiancare alla verifica dell'impatto dell'intervento tramite questionari, un'analisi diretta della composizione del microbiota del neonato con tecniche come analisi di coltura, sequenziamento di RNA, PCR ed analisi metagenomiche, per verificare se vi è effettivamente corrispondenza tra quanto emerge dai questionari e la reale composizione del microbiota neonatale.

In secondo luogo, potrebbe contribuire ad aumentare la qualità dello studio, la verifica dell'effettiva aderenza delle pazienti alle raccomandazioni dietetiche e all'assunzione dei prodotti probiotici consigliati attraverso dei brevi questionari o domande riguardo agli alimenti e prodotti effettivamente assunti.

Rimane importante riconoscere l'impossibilità di isolare, nel corso dell'intervento, i numerosi fattori confondenti che influiscono sullo sviluppo del microbiota del neonato, sullo sviluppo del suo sistema immunitario e sulla manifestazione di sintomi di infezioni neonatali. Nello studio si sono eliminati i principali fattori materni confondenti tramite i criteri di esclusione adottati per la selezione del campione, ma rimangono comunque presenti ulteriori fattori materni ed ambientali che influiscono in tale ambito, come è stato illustrato nel capitolo dedicato allo sviluppo del microbiota neonatale.

Le limitazioni illustrate potrebbero essere in parte colmate dalla possibilità di proseguire lo svolgimento dello studio messo in atto, al fine di dilatare le tempistiche ed aumentare sensibilmente la numerosità del campione, per poter quindi ottenere un numero di dati sufficientemente consistente al fine di poter effettivamente trarre delle conclusioni rilevanti dal presente progetto.

In conclusione, la consapevolezza dei limiti dello studio messo in atto allo stato attuale è fondamentale per poter trarre delle adeguate conclusioni dai risultati emersi e soprattutto per poter eventualmente proseguire lo svolgimento del progetto ed adottare tale studio come esempio di riferimento per la strutturazione di futuri studi con il medesimo obiettivo.

### 3.1.2 Confronto dei risultati con la letteratura scientifica

Considerando i limiti dello studio descritti nei paragrafi precedenti, risulta importante confrontare i risultati emersi dallo studio messo in atto, con quelli emersi da studi simili presenti nella letteratura scientifica, individuando i punti in comune ed i punti che li differenziano.

Secondo quanto emerso dall'analisi dei risultati ottenuti tramite i questionari, effettuata nel capitolo 2.3, l'ipotesi alla base dello studio non è stata confermata, in quanto non è stata osservata una correlazione tra l'intervento tramite una dieta ricca in probiotici e prebiotici, ma ciò è dovuto principalmente all'impossibilità di trarre delle adeguate conclusioni dai dati considerata la limitata numerosità campionaria e all'influenza della stagionalità sull'insorgenza di sintomi. Da ciò consegue che, così come non è possibile affermare l'efficacia dell'intervento svolto basandosi sui dati emersi, non si può nemmeno escludere che, se venissero raccolti un numero sensibilmente maggiore di questionari, si potrebbe ottenere un esito differente.

La letteratura scientifica mette ad oggi in evidenza che l'uso di probiotici e prebiotici sia uno strumento promettente per migliorare il benessere fisico, mentale ed il microbiota della madre e del neonato, per alleviare alcuni disturbi e quindi migliorare il benessere generale del neonato <sup>38,44</sup>.

Come è stato illustrato nei capitoli precedenti, emerge chiara dalla letteratura scientifica l'evidenza che l'alimentazione sia un fattore chiave per modulare il microbiota di ogni individuo, e ciò accade anche nella gestante. Vi sono inoltre numerosi studi ed evidenze riguardo ai fattori che contribuiscono ad influenzare lo sviluppo del microbiota neonatale, tra cui in particolare si individuano il microbiota vaginale materno che entra a contatto con il feto al momento del parto, il possibile contatto con ceppi batterici in utero e la composizione del microbiota del latte materno, fattori influenzati a loro volta dall'alimentazione materna. Sono però meno numerosi gli studi che indagano gli effetti dell'alimentazione materna e di un'assunzione di prebiotici e probiotici, direttamente sulla composizione del microbiota neonatale.

In una review sistematica con metanalisi, pubblicata nel 2021, finalizzata a individuare evidenze su fattori di esposizione prenatali che influenzano il microbiota neonatale, emerge tra i fattori con una potenziale influenza anche una supplementazione di probiotici nella gestante. In questa metanalisi si sono analizzati diversi studi in cui è



stato effettuato un intervento di supplementazione di probiotici nella madre con ceppi principalmente di *Lactobacillus* e *Bifidobatteri*, per un periodo variabile dalle 24-36 settimane gestazionali fino al momento del parto o con una prosecuzione anche per alcune settimane successive. In questi studi l'outcome valutato è stato direttamente la composizione del microbiota del nascituro, attraverso tecniche di sequenziamento di RNA. Dai dati emersi, viene messa in rilievo l'evidenza, anche se limitata, che la supplementazione probiotica materna durante la gravidanza permetta la colonizzazione da parte dei ceppi probiotici somministrati all'interno del microbiota dell'intestino infantile, influenzandone la composizione globale. Poco dopo la nascita si è osservata infatti una differenza statisticamente significativa tra i gruppi con intervento tramite probiotici e tramite placebo in termini di abbondanza relativa di ceppi di *Bifidobatteri* o diversità bifidobatterica tra i 5 giorni e 6 mesi di età, anche se complessivamente i risultati non hanno mostrato alcun effetto persistente nel lungo termine sul microbiota del neonato<sup>14</sup>.

Emergono delle conclusioni simili anche da un'ulteriore review sistematica pubblicata nel 2021, condotta per indagare gli effetti di una supplementazione nutrizionale durante la gravidanza sull'intestino del neonato e sul microbiota del latte materno, tra cui anche una supplementazione di probiotici e prebiotici. Negli studi presi in analisi l'intervento è stato svolto attraverso una somministrazione di ceppi probiotici per un periodo variabile, similmente alla review precedentemente riportata e gli outcome misurati sono stati la composizione del microbiota intestinale neonatale e del microbiota del latte materno.

Anche in questo articolo viene messo in evidenza che la nutrizione materna è un fattore chiave in grado di modellare il microbiota dell'intestino infantile, sostenendo il potenziale degli interventi nutrizionali materni per migliorare gli outcome di salute e ridurre il rischio di malattia nel neonato. I risultati emersi indicano che la supplementazione probiotica durante la gravidanza e l'allattamento è associata con la colonizzazione probiotica dell'intestino infantile, in particolare per quanto riguarda un aumento dei ceppi di *Lattobacilli* e *Bifidobatteri* ed una riduzione di *Staphylococcus*, seppur con prove limitate riguardo gli effetti sulla diversità batterica. I dati disponibili indicano inoltre che la supplementazione probiotica materna durante la gravidanza o l'allattamento provoca la colonizzazione probiotica del microbiota del latte materno, il

quale viene poi assunto dal neonato. La supplementazione materna con prebiotici ha invece fornito dei risultati contrastanti sulla composizione del microbiota intestinale neonatale, per cui vi sono alcune evidenze di efficacia, ma rimangono piuttosto limitate e non definitive. Emerge inoltre da questa metanalisi che una supplementazione di probiotici permette di migliorare generalmente i sintomi clinici di mastite e di ridurre la malattia atopica ed eczema nei neonati<sup>15</sup>.

Vi sono in aggiunta numerosi studi che indagano i fattori chiave che determinano lo sviluppo del sistema immunitario del neonato, e tra questi si individua anche la composizione del microbiota intestinale, il quale può influenzare sia in maniera positiva che negativa tale funzione dell'organismo, come è stato illustrato nei capitoli precedenti.

Sono però ad oggi ancora limitati gli studi che vanno ad analizzare l'intero processo nel complesso, ossia studi che osservino gli effetti di un'alimentazione materna ricca in probiotici e prebiotici sullo sviluppo del sistema immunitario neonatale e la manifestazione dei relativi sintomi, come è stato effettuato in questo specifico progetto di studio.

In questo studio non si è infatti osservato come outcome direttamente la composizione del microbiota neonatale, bensì la presenza di sintomi di infezioni tipiche dell'età neonatale, correlati allo sviluppo del sistema immunitario neonatale, correlato a sua volta con lo sviluppo del microbiota intestinale. È stata preferita una misurazione indiretta, nonostante questa potrebbe essere influenzata da ulteriori fattori confondenti, in quanto si tratta di un metodo semplice, rapido e poco costoso che permette di verificare se vi è un effettivo impatto dell'intervento sullo stato di salute del neonato e quindi sulla qualità di vita di esso e della famiglia.

Sono presenti alcuni studi e metanalisi che, similmente allo studio messo in atto, analizzano gli effetti di un arricchimento della dieta con probiotici, prebiotici e simbiotici, scegliendo come outcome di riferimento gli esiti sulla salute della madre e del neonato.

In particolare, si riportano i risultati emersi da una metanalisi e review sistematica pubblicata nel 2023 che valuta l'efficacia di una supplementazione di probiotici in donne stato di gravidanza o allattamento sul miglioramento della composizione del microbiota intestinale neonatale e sulla manifestazione di sintomi di malessere nel neonato e nella madre. Similmente agli articoli precedentemente riportati, anche in questa metanalisi l'intervento negli studi prevedeva la somministrazione di singoli ceppi o combinazioni di

Lactobacilli e Bifidobatteri, per tempistiche variabili, sia nel primo, secondo che terzo trimestre. In particolare, dalla metanalisi emerge che la supplementazione di probiotici ha ridotto la presenza di ansia e depressione nella donna in gravidanza o in fase di allattamento, ed ha migliorato la salute a livello gastrointestinale e del sistema immunitario del neonato, riducendo la presenza di distensione addominale, coliche addominali, diarrea, riducendo la durata del pianto e la presenza di uno stato di irritabilità ed agitazione nel neonato <sup>38</sup>.

Risultano interessanti anche i risultati di un trial controllato randomizzato, in cui l'intervento di supplementazione di probiotici e prebiotici avviene sul neonato. Si premette che i risultati emersi non sono direttamente confrontabili con quelli ottenuti da questo studio e altri studi simili, data la sostanziale diversità del soggetto su cui si effettua l'intervento. Questo articolo risulta però molto utile al fine di rafforzare l'effettiva presenza del collegamento tra un'adeguata composizione del microbiota ed il miglioramento del benessere del neonato, con una riduzione del rischio di malattie ed in particolare una riduzione del pianto e di uno stato di irritabilità e agitazione, concetto fondamentale alla base del rationale dello studio messo in atto <sup>44</sup>.

Un ulteriore punto importante da sottolineare, emerso dall'analisi degli studi ad oggi presenti nella letteratura scientifica, è che la maggior parte degli studi pubblicati in questo specifico ambito, analizzano gli effetti di una supplementazione di probiotici e prebiotici, mentre sono molto meno presenti degli studi che analizzino gli effetti di un arricchimento della dieta con alimenti ad elevato contenuto di sostanze probiotiche e prebiotiche.

Così come è risultato opportuno analizzare i limiti dello studio messo in atto, può essere interessante effettuare anche alcune considerazioni riguardo ai limiti presenti al giorno d'oggi nella letteratura scientifica.

L'argomento del microbiota intestinale ed in particolare la manipolazione di esso durante la gravidanza al fine di ottimizzare gli outcome di salute sia sulla madre che sul neonato, è indubbiamente un tema di crescente interesse. Al giorno d'oggi, però, gli studi presenti ed analizzati in varie review sistematiche e metanalisi, presentano un'elevata variabilità per quanto riguarda la numerosità del campione, lo stato di salute delle partecipanti, la composizione e la durata del supplemento nutrizionale o raccomandazioni nutrizionali somministrate, le metodologie utilizzate per misurare gli outcome e gli

standard di riferimento <sup>14,15</sup>. Inoltre, è importante tenere presente che, considerata la grande variabilità individuale del microbiota, una somministrazione “standard” di probiotici non può beneficiare ogni individuo nelle stesse modalità, complicando ulteriormente lo studio del ruolo dei probiotici nella modulazione della composizione del microbiota <sup>6</sup>.

Riassumendo, emerge quindi che l’eterogeneità rilevata ad oggi negli studi attuati in questo specifico ambito contribuisce a rendere difficoltoso comparare i risultati emersi nei diversi studi effettuati e quindi l’elaborazione di raccomandazioni pratiche <sup>14,15</sup>.

### **3.1.3 Prospettive future**

Considerando quanto riportato nei paragrafi precedenti, emerge che la conoscenza e la comprensione di questo settore di ricerca sono promettenti, ma ancora limitate al fine formulare conclusioni definitive. Con questo progetto di studio, si vuole contribuire all’elaborazione di nuove evidenze rilevanti e utili, allo scopo di giungere a delle raccomandazioni applicabili nella pratica clinica <sup>15</sup>.

Al fine di ottenere le evidenze necessarie per formulare delle raccomandazioni adeguate, emerge la necessità di una standardizzazione della metodologia per il reclutamento del campione, follow up, raccolta di dati clinici, analisi del microbiota ed outcome di riferimento, oltre che una caratterizzazione completa delle esposizioni ed influenze ambientali e l’utilizzo di una terminologia standardizzata. Tutti questi fattori sono infatti degli elementi fondamentali per permettere un adeguato confronto e sintesi dei risultati nei diversi studi e comprendere quindi i meccanismi di influenza dei vari fattori<sup>14</sup>.

Inoltre, una grande parte degli studi attuati per studiare l’impatto dei probiotici e prebiotici materni sui corrispettivi figli, si sono concentrati principalmente sulle malattie allergiche o metaboliche come outcome principale, mentre servirebbero ulteriori studi sull’impatto di tale tipologia di intervento sul sistema immunitario e sintomi di infezioni neonatali <sup>45</sup>.

Per valutare con maggiore precisione gli effetti sul neonato di un’alimentazione ricca in sostanze probiotiche e prebiotiche nella gestante, sono quindi necessari ulteriori studi clinici a lungo termine, standardizzati ed accuratamente progettati, con una consistente numerosità di campione e delle tempistiche di intervento e monitoraggio

adeguate <sup>6, 14</sup>. A tale scopo, lo studio messo in atto in questo progetto si propone come modello di riferimento per l'implementazione dello stesso e per l'effettuazione di studi futuri con le medesime modalità di intervento e monitoraggio, al fine di ottenere delle evidenze rilevanti in questo ambito.

Si potrebbero inoltre rivelare molto utili per l'effettuazione di studi futuri più avanzati, delle nuove ed innovative metodologie di ricerca della biologia molecolare, quali la genomica, metabolomica e trascrittomica che si occupano rispettivamente dello studio del genoma degli organismi viventi, tra cui anche il microbioma, dell'analisi dei metaboliti derivanti dai loro processi metabolici e dello studio del trascrittoma delle cellule degli organismi viventi, tra cui anche quelle dei microrganismi che compongono il microbiota intestinale <sup>6, 46, 47, 48</sup>. Queste permetterebbero infatti di comprendere con maggiore esattezza i meccanismi di azione del microbiota e la possibilità di interferire con esso tramite gli interventi oggetto di studio.

### **3.2 Conclusioni**

Riassumendo quanto emerso da questo progetto di studio, limitatamente all'analisi dei risultati emersi, non è stata osservata una correlazione tra l'intervento di arricchimento dell'alimentazione della gestante con sostanze prebiotiche e probiotiche ed una diminuzione dell'insorgenza di sintomi di infezioni nel neonato, ma tale esito è principalmente dovuto a delle tempistiche limitate e di conseguenza una limitata numerosità campionaria che impedisce di trarre delle conclusioni attendibili e rilevanti in tale ambito.

Inserendo tale progetto di studio nel contesto della letteratura scientifica ad oggi disponibile, esso si colloca in un ambito di recente crescente interesse, in rapida evoluzione e molto promettente.

Emerge infatti dalle evidenze presenti in letteratura, che una dieta ricca in probiotici e prebiotici possa potenzialmente costituire uno strumento terapeutico preventivo, routinario, non invasivo, efficace al fine di ottimizzare la composizione del microbiota materno e del neonato, favorendo un adeguato sviluppo del sistema immunitario neonatale e quindi una riduzione delle infezioni e dei relativi sintomi.

Per ottenere maggiori certezze ed identificare le modalità di intervento più efficaci in questo ambito, sono però necessari ulteriori studi ed approfondimenti scientifici.

In conclusione, il presente studio si propone come modello di riferimento da ampliare ed applicare per la programmazione di studi futuri di maggiore portata e rilevanza statistica, al fine di contribuire ad apportare ulteriori avanzamenti in tale ambito di ricerca per giungere ad evidenze consistenti, concrete e significative. Ottenere maggiori evidenze e raccomandazioni in questo ambito permetterebbe potenzialmente di impattare efficacemente e positivamente sullo stato di salute, benessere complessivo e qualità di vita del neonato, della madre e del nucleo familiare circostante.

## ALLEGATI

Allegato 1a - Raccomandazioni nutrizionali per un'alimentazione ricca in prebiotici e probiotici

### Raccomandazioni nutrizionali Alimentazione ricca in prebiotici e probiotici

#### RACCOMANDAZIONI INIZIALI:

- Le raccomandazioni riportate in questo documento sono finalizzate a migliorare il benessere e la funzionalità intestinale.
- Seguire queste raccomandazioni per le due settimane precedenti la data presunta del parto.
- Consumare quotidianamente almeno **un pasto principale (pranzo o cena) e la colazione o uno spuntino** con alimenti con proprietà prebiotiche e probiotiche riportati nella tabella e seguendo i consigli per alcune ricette ed idee per il pasto presentate di seguito.
- Assicurarsi in questo modo di assumere quotidianamente **almeno due porzioni** di alimenti ricchi in probiotici e prebiotici
- Condurre uno stile alimentare variato ed equilibrato, seguendo le indicazioni fornite.
- Porre sempre attenzione alla sicurezza alimentare in gravidanza.

#### ALIMENTI RICCHI IN:

PREBIOTICI	PROBIOTICI
<ul style="list-style-type: none"><li>• VERDURE<ul style="list-style-type: none"><li>◦ cicoria (soprattutto radici)</li><li>◦ carciofo</li><li>◦ asparagi</li><li>◦ porro</li></ul></li><li>• CEREALI<ul style="list-style-type: none"><li>◦ avena</li></ul></li><li>• FRUTTA:<ul style="list-style-type: none"><li>◦ banana</li><li>◦ mela</li><li>◦ kiwi</li></ul></li><li>• VARIE:<ul style="list-style-type: none"><li>◦ cipolla</li><li>◦ aglio</li></ul></li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>• LATTICINI:<ul style="list-style-type: none"><li>◦ Yogurt bianco naturale</li><li>◦ Yogurt da bere probiotico bianco naturale</li><li>◦ Latte con fermenti probiotici</li></ul></li><li>• ALTRI ALIMENTI FERMENTATI:<ul style="list-style-type: none"><li>◦ crauti</li><li>◦ tempeh, miso</li><li>◦ pane di pasta madre</li></ul></li></ul>

---

## IDEE PER I PASTI:

### COLAZIONE e SPUNTINI: :

- Tra i latticini preferire yogurt bianco naturale, yogurt da bere probiotico bianco naturale o latte con fermenti probiotici
- Se si consuma del pane, preferire il pane di pasta madre
- Come cereali preferire i fiocchi d'avena
- Tra la frutta preferire: banana, mela, kiwi



### Idee ricette:

- Porridge di avena con yogurt da bere, senza cottura
  - Ingredienti: yogurt bianco naturale da bere, fiocchi d'avena (ogni 10g di fiocchi d'avena, circa 65g di yogurt), per insaporire scegliere tra cacao amaro, cannella, zucchero, marmellata priva di zuccheri aggiunti
  - Procedimento: La sera precedente versate i fiocchi d'avena in una ciotola assieme allo yogurt e mescolate. Insaporire a piacere e riporre nel frigorifero durante la notte. La mattina successiva è possibile aggiungere frutta fresca o frutta secca.
  - In alternativa allo yogurt da bere probiotico bianco naturale, scegliere latte con fermenti probiotici o yogurt bianco naturale (in questo ultimo caso potrebbe essere necessario aggiungere anche dell'acqua alla preparazione per ottenere una consistenza adeguata)
- Macedonia di banana, mela, kiwi

### PRANZO E CENA:

- Tra le verdure preferire: cicoria, carciofo, asparagi, porro
- Utilizzare aglio e cipolla per insaporire i piatti: ad esempio con delle salse o un soffritto
- Se si consuma del pane, preferire il pane di pasta madre

### Idee ricette:

- Preparazioni a base di verdure
  - polpette
  - torta salata
  - passato di verdure con asparagi, porri o carciofi; eventualmente possono essere consumate anche fredde se risultano più appetibili, data la stagionalità
- Insalate:
  - Insalata di cicoria sbollentata e passata in padella
  - Insalata di crauti
  - Insalata con tempeh e verdure di stagione



- Salse:
  - salsa all'aglio
  - salsa tzatziki con yogurt probiotico
- Bruschette con pane di pasta madre
  - Tostare il pane ed insaporire con le salse suggerite o aglio ed olio evo
  - Farcire con le verdure suggerite, anche in base alla stagionalità
- Tempeh:
  - Si mangia bollito, mescolato a zuppe o insalate, alla piastra
  - Insaporirlo con salse, spezie e erbe aromatiche a piacimento
  - Accompagnarlo con verdure e pasta o riso bollito.

#### SALSA ALL'AGLIO

- Ingredienti per 4 persone:
  - 4 cucchiaini di olio extravergine d'oliva
  - 1 cucchiaino di aceto bianco di vino
  - 4 spicchi di aglio fresco
  - 2 pizzichi di sale fino
  - 1 macinata di pepe bianco
- Preparazione
  - Spellare gli spicchi d'aglio e sciogliere il sale e il pepe in un recipiente con l'aceto. Spremere gli spicchi d'aglio in uno spremiaglio e prendere solo la polpa da unire all'aceto. Versare l'olio e montare con una forchetta per emulsionare gli ingredienti.



#### SALSA TZATZIKI CON YOGURT PROBIOTICO

- Ingredienti:
  - 1 cetriolo
  - 400 gr. Yogurt da bere probiotico bianco naturale
  - qb sale
  - 4 cucchiaini olio evo
  - 1 spicchio aglio
  - qb aneto oppure menta fresca.
- Preparazione
  - Grattugiare il cetriolo e mescolarlo in una ciotola insieme allo yogurt, insaporire con sale, aglio tritato, olio e spezie.



## Raccomandazioni nutrizionali (s/glut)

### Alimentazione ricca in prebiotici e probiotici

#### RACCOMANDAZIONI INIZIALI:

- Le raccomandazioni riportate in questo documento sono finalizzate a migliorare il benessere e la funzionalità intestinale.
- Seguire queste raccomandazioni per le due settimane precedenti la data presunta del parto.
- Consumare quotidianamente almeno **un pasto principale (pranzo o cena) e la colazione o uno spuntino** con alimenti con proprietà prebiotiche e probiotiche riportati nella tabella e seguendo i consigli per alcune ricette ed idee per il pasto presentate di seguito.
- Assicursi in questo modo di assumere quotidianamente **almeno due porzioni** di alimenti ricchi in probiotici e prebiotici
- Condurre uno stile alimentare variato ed equilibrato, seguendo le indicazioni fornite.
- Porre sempre attenzione alla sicurezza alimentare in gravidanza.

#### ALIMENTI RICCHI IN:

PREBIOTICI	PROBIOTICI
<ul style="list-style-type: none"><li>● VERDURE<ul style="list-style-type: none"><li>○ cicoria (soprattutto radici)</li><li>○ carciofo</li><li>○ asparagi</li><li>○ porro</li></ul></li><li>● FRUTTA:<ul style="list-style-type: none"><li>○ banana</li><li>○ mela</li><li>○ kiwi</li></ul></li><li>● VARIE:<ul style="list-style-type: none"><li>○ cipolla</li><li>○ aglio</li></ul></li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>● LATTICINI:<ul style="list-style-type: none"><li>○ Yogurt bianco naturale</li><li>○ Yogurt da bere probiotico bianco naturale</li><li>○ Latte con fermenti probiotici</li></ul></li><li>● ALTRI ALIMENTI FERMENTATI:<ul style="list-style-type: none"><li>○ crauti</li><li>○ tempeh, miso (assicurarsi che sia privo di glutine)</li><li>○ pane di pasta madre senza glutine</li></ul></li></ul>

---

## IDEE PER I PASTI:

### COLAZIONE e SPUNTINI: :

- Tra i latticini preferire yogurt bianco naturale, yogurt da bere probiotico bianco naturale o latte con fermenti probiotici
- Se si consuma del pane, preferire il pane di pasta madre, senza glutine
- Tra la frutta preferire: banana, mela, kiwi



### Idee ricette:

- Porridge di riso soffiato con yogurt probiotico da bere, senza cottura
  - Ingredienti: yogurt bianco probiotico naturale da bere, riso soffiato (ogni 10g di cereali, circa 65g di yogurt), per insaporire scegliere tra cacao amaro, cannella, zucchero, marmellata priva di zuccheri aggiunti
  - Procedimento: La sera precedente versate il riso soffiato in una ciotola assieme allo yogurt e mescolate. Insaporire a piacere e riporre nel frigorifero durante la notte. La mattina successiva è possibile aggiungere frutta fresca o frutta secca.
  - In alternativa allo yogurt da bere probiotico bianco naturale, scegliere latte con fermenti probiotici o yogurt bianco naturale (in questo ultimo caso potrebbe essere necessario aggiungere anche dell'acqua alla preparazione per ottenere una consistenza adeguata)
- Macedonia di banana, mela, kiwi

### PRANZO E CENA:

- Tra le verdure preferire: cicoria, carciofo, asparagi, porro
- Utilizzare aglio e cipolla per insaporire i piatti: ad esempio con delle salse o un soffritto
- Se si consuma del pane, preferire il pane di pasta madre senza glutine

### Idee ricette:

- Preparazioni a base di verdure
  - polpette
  - torta salata
  - passato di verdure con asparagi, porri o carciofi; eventualmente possono essere consumate anche fredde se risultano più appetibili, data la stagionalità
- Insalate:
  - Insalata di cicoria sbollentata e passata in padella
  - Insalata di crauti
  - Insalata con tempeh e verdure di stagione

- Salse:
  - salsa all'aglio
  - salsa tzatziki con yogurt probiotico
- Bruschette con pane di pasta madre senza glutine
  - Tostare il pane ed insaporire con le salse suggerite o aglio ed olio evo
  - Farcire con le verdure suggerite, anche in base alla stagionalità
- Tempeh:
  - Si mangia bollito, mescolato a zuppe o insalate, alla piastra
  - Insaporirlo con salse, spezie e erbe aromatiche a piacimento
  - Accompagnarlo con verdure e riso bollito.

#### SALSA ALL'AGLIO

- Ingredienti per 4 persone:
  - 4 cucchiaini di olio extravergine d'oliva
  - 1 cucchiaino di aceto bianco di vino
  - 4 spicchi di aglio fresco
  - 2 pizzichi di sale fino
  - 1 macinata di pepe bianco
- Preparazione
  - Spellare gli spicchi d'aglio e sciogliere il sale e il pepe in un recipiente con l'aceto. Spremere gli spicchi d'aglio in uno spremiaglio e prendere solo la polpa da unire all'aceto. Versare l'olio e montare con una forchetta per emulsionare gli ingredienti.



#### SALSA TZATZIKI CON YOGURT PROBIOTICO

- Ingredienti:
  - 1 cetriolo
  - 400 gr. Yogurt da bere probiotico bianco naturale
  - qb sale
  - 4 cucchiaini olio evo
  - 1 spicchio aglio
  - qb aneto oppure menta fresca.
- Preparazione
  - Grattugiare il cetriolo e mescolarlo in una ciotola insieme allo yogurt, insaporire con sale, aglio tritato, olio e spezie.



## Allegato 2- Riferimenti per reperire pane di pasta madre

### PANE DI PASTA MADRE: DOVE TROVARLO

Alcuni suggerimenti su dove è possibile trovare del pane di pasta madre

- Panifici a Padova:
  - Bottega del Pane 1981 srl, Piazza delle Erbe, 28/29
  - Sobon, sotto il Palazzo della Ragione di Padova (è possibile anche effettuare ordini dal loro sito web:  
<https://www.sobon.it/product-category/pane/>)
- Nei principali supermercati (ad esempio Ali, Lidl, Interspar, Pam...) sono presenti alcuni prodotti confezionati (YukiBio, Morato, Sottolestelle...) oppure nella sezione del pane fresco, se presente
- Si segnalano come marchi che producono pane di pasta madre senza glutine i seguenti: Schar, Doria, Cèrèal, Mulino Bianco



## Allegato 3 - Supplementazione con prodotti probiotici consigliata

### REGIONE DEL VENETO AZIENDA OSPEDALE-UNIVERSITÀ PADOVA

Si consiglia l'assunzione di prodotti probiotici per i 15 giorni precedenti la data del parto.

Alcuni suggerimenti di prodotti sono:

- Bromatech Enterelle (2 compresse dopo colazione) e Bromatech Femelle (2 compresse dopo cena), per un totale di 4 compresse al giorno

oppure

- Solgar Acidophilus Bifido (da 2 a 4 capsule al giorno, con acqua, lontano dai pasti)


Si raccomanda di consultare il medico e leggere le indicazioni riportate sulla confezione.


Data:

Firma:

Allegato 4a – Questionario per indagare i sintomi di infezione nel neonato e lattante

## Questionario per indagare i sintomi di infezione nel neonato e lattante

corinna.matassoni@gmail.com [Cambia account](#) 

 Non condiviso

\* Indica una domanda obbligatoria

### Questionario per indagare i sintomi di infezione nel neonato e lattante

Tutte le domande si riferiscono ai -- giorni precedenti, ossia da -- fino a --.

**SINTOMI GENERALI: \***  
Indicare i sintomi manifestati da suo figlio nei -- giorni precedenti:

	Mai	Occasionalmente (1-2 volte)	Qualche volta (3-5 volte)	Di frequente (5-10 volte)	Spesso (più di 10 volte)
Febbre	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
Ipotermia (temperatura corporea bassa)	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
Irritabilità, stato di agitazione	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
Alimentazione scarsa o assente	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
Immobilità o movimenti minimi solo se stimolato	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
Convulsioni	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>

**SINTOMI RESPIRATORI: \***

Indicare i sintomi manifestati da suo figlio nei -- giorni precedenti:

	Mai	Occasionalmente (1-2 volte)	Qualche volta (3-5 volte)	Di frequente (5-10 volte)	Spesso (più di 10 volte)
Tachipnea (respiro accelerato)	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
Tosse	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
Rumori respiratori anomali (sibili o rantoli)	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
Mancanza respiro, respiro ansimante o pesante	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>

**SINTOMI GASTROINTESTINALI: \***

Indicare i sintomi manifestati da suo figlio nei -- giorni precedenti:

	Mai	Occasionalmente (1-2 volte)	Qualche volta (3-5 volte)	Di frequente (5-10 volte)	Spesso (più di 10 volte)
Vomito	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
Distensione addominale e/o gonfiore	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
Diarrea (emissione frequente di feci liquide o semiliquide)	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
Coliche (si manifestano con: irritabilità improvvisa, lamentele o pianti che iniziano e terminano senza cause esterne manifeste, dolore addominale)	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
Costipazione (scariche rare , dolore e distensione addominale)	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>



**ALTRI SINTOMI: \***

Indicare i sintomi manifestati da suo figlio nei -- giorni precedenti:

	Mai	Occasionalmente (1-2 volte)	Qualche volta (3-5 volte)	Di frequente (5-10 volte)	Spesso (più di 10 volte)
Eruzioni cutanee	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
Urine torbide o maleodoranti	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
Otite	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
Ulteriori sintomi:	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>

Se si sono indicati ulteriori sintomi, specificare quali:

La tua risposta \_\_\_\_\_

Ritiene che lo stato di salute di suo figlio abbia avuto un impatto negativo per quanto riguarda: \*

- Alimentazione
- Ore di riposo
- Non ritengo che lo stato di salute di mio figlio abbia avuto un impatto negativo sulla sua alimentazione o riposo

Ritiene che lo stato di salute di suo figlio abbia avuto un impatto negativo sul nucleo familiare per quanto riguarda: \*

- Svolgimento attività quotidiane e routine
- Riposo notturno e ore di sonno
- Preoccupazione riguardo alla salute del figlio
- Non ritengo che lo stato di salute di mio figlio abbia avuto un impatto negativo sul nucleo familiare


Indietro


Invia

Cancella modulo

Allegato 4b– Questionario in inglese per indagare i sintomi di infezione nel neonato e lattante

## Questionnaire to investigate the symptoms of infection in the newborn and infant

corinna.matassoni@gmail.com [Cambia account](#) 

 Non condiviso

\* Indica una domanda obbligatoria

### Questionnaire to investigate the symptoms of infection in the newborn and infant

All questions relate to the preceding – days

**GENERAL SYMPTOMS: \***  
Indicate the symptoms of your child during the previous--5 days:

	Never	Occasionally (1-2 times)	Sometimes (3-5 times)	Frequently (5-10 times)	Often (more than 10 times)
Fever	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
Hypothermia (low body temperature)	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
Poor or absent nutrition	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
Immobility or minimum movement only when stimulated	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>

**RESPIRATORY SYMPTOMS: \***

Indicate the symptoms of your child during the previous -- days:

	Never	Occasionally (1-2 times)	Sometimes (3-5 times)	Frequently (5- 10 times)	Often (more than 10 times)
Tachypnea (accelerated breathing)	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
Cough	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
Abnormal breathing sounds (wheezing)	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
Shortness of breath, wheezing or heavy breathing	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>

**GASTROINTESTINAL SYMPTOMS: \***

Indicate the symptoms of your child during the previous -- days:

	Never	Occasionally (1-2 times)	Sometimes (3-5 times)	Frequently (5- 10 times)	Often (more than 10 times)
Vomiting	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
Abdominal distension and/or swelling	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
Diarrhea (frequent release of liquid or semi- liquid stools)	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
Colic (presentation: sudden irritability, complaints or crying that begin and end without obvious external causes, abdominal pain)	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
Constipation (rare discharge, pain and abdominal distension)	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>

**OTHER SYMPTOMS: \***

Indicate the symptoms of your child during the previous -- days:

	Never	Occasionally (1-2 times)	Sometimes (3-5 times)	Frequently (5- 10 times)	Often (more than 10 times)
Skin rash	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
Cloudy or malodorous urine	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
Otitis	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
Other symptoms:	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>

If additional symptoms are indicated, specify:

La tua risposta \_\_\_\_\_

I believe that my child's state of health has had a negative impact on: \*

- Nutrition
- Rest hours, sleep
- I do not believe that my child's state of health has had a negative impact on his diet or rest

I believe that the state of health of my child has had a negative impact on the household in terms of: \*

- Daily activities and routine
- Night rest and hours of sleep
- Concern about the health of the child
- I do not believe that my child's state of health has had a negative impact on the household

Indietro

Invia

Cancello modulo

## Allegato 5 - Consenso informato

*Università degli Studi di Padova*

*Corso di laurea in Dietistica*

### **Responsabile del progetto:**

- **Relatrice progetto di tesi: Dott.ssa Romina Valentini**
- **Studentessa tesista (3° anno, Corso di Laurea in Dietistica): Corinna Matassoni**

### **Modulo di consenso informato per la partecipazione allo studio dal titolo:**

**IMPATTO DI UNA DIETA RICCA IN PROBIOTICI E PREBIOTICI IN GRAVIDANZA  
SULLE INFEZIONI NEONATALI E RELATIVI SINTOMI NEL NEONATO E LATTANTE**

Prima di decidere liberamente se vuole partecipare a questo studio, **LEGGA ATTENTAMENTE** questo consenso informato e ponga al responsabile della ricerca tutte le domande che riterrà opportune al fine di essere pienamente informato degli scopi, delle modalità di esecuzione dell'esperimento e dei possibili inconvenienti connessi. La preghiamo di ricordare che questo è un progetto di ricerca e che la sua partecipazione è completamente volontaria. Lei si potrà ritirare in qualunque momento.

### **SCOPO DELLO STUDIO**

La ricerca ha lo scopo di valutare l'effettivo ruolo di una dieta ricca in probiotici e prebiotici nella gestante sull'impatto nello sviluppo di infezioni e relativi sintomi nel neonato e lattante.

### **STRUMENTI UTILIZZATI**

- Documento cartaceo con raccomandazioni dietetiche per un'alimentazione ricca in prebiotici e probiotici
- Suggerimenti per una supplementazione di probiotici
- Questionario inviato tramite e-mail sulle infezioni neonatali e sintomi, compilabile online

### **PROCEDURA SPERIMENTALE**

#### **PRIMA DEL PARTO:**

- Al gruppo di pazienti aderenti allo studio e selezionate per l'effettuazione dell'intervento, verranno fornite delle raccomandazioni dietetiche specifiche per un'alimentazione ricca in prebiotici e probiotici attraverso un documento cartaceo.
- Verrà inoltre fornita ad una parte delle partecipanti allo studio, il suggerimento di assumere una supplementazione di specifici ceppi di probiotici.
- Queste raccomandazioni dovranno essere seguite per le due settimane precedenti la data presunta del parto.

#### **DOPO IL PARTO:**

- Si richiede alla madre di segnalare il più prontamente possibile (entro qualche giorno) la data di compimento del parto, comunicandola tramite un SMS alla

dott.ssa Valentini Romina ( Tel. 049.8218653, cell. 3357005327) , in modo da permettere l'invio dei questionari successivi secondo le adeguate tempistiche.

- Verrà successivamente inviato tramite e-mail un questionario a 2 settimane, 1 mese e 3 mesi successivi al parto, in cui verranno posti dei quesiti riguardanti i sintomi manifestati dal proprio figlio nel periodo di interesse specificato. Si riporta al termine del documento un breve riepilogo dei quesiti che verranno posti.

La studentessa Corinna Matassoni, in qualità di tesista laureanda, si occuperà della gestione delle raccomandazioni dietetiche specifiche e dell'invio dei questionari e dell'elaborazione dei dati emersi.

#### **ALTRE INFORMAZIONI UTILI**

**Riservatezza.** I dati raccolti saranno trattati in accordo con le leggi sulla privacy e in conformità al Decreto Legislativo 30 giugno 2003 n. 196 "Codice in materia di protezione dei dati personali", garantendo l'anonimato dei partecipanti.

Le ricordiamo che in caso lei abbia bisogno di delucidazioni su qualunque aspetto della procedura sperimentale, il responsabile della ricerca, Romina Valentini, e i suoi collaboratori, Corinna Matassoni, sono a Sua completa disposizione.

#### **Compili la parte seguente:**

Il/la sottoscritto/a \_\_\_\_\_

Nato/a il \_\_\_\_\_

E-mail (indirizzo a cui verrà inviato il questionario): \_\_\_\_\_

N. telefono (verrà utilizzato se non sarà contattabile tramite e-mail): \_\_\_\_\_

Dichiara:

- di aver letto attentamente le spiegazioni relative a questo studio e l'intera procedura sperimentale;
- di essere stato informato/a riguardo alle finalità e agli obiettivi della ricerca in questione;
- di aver avuto la possibilità di porre domande a proposito di qualsiasi aspetto della procedura sperimentale e di aver ottenuto risposte soddisfacenti;
- di essere a conoscenza dei disagi dell'esperimento;
- di aver ricevuto soddisfacenti assicurazioni sulla riservatezza delle informazioni ottenute dall'esame della propria persona;
- di essere consapevole di potersi ritirare in qualsiasi fase dello studio;
- di aver liberamente dato il consenso alla partecipazione a questo studio;

Data \_\_\_\_\_

Firma del partecipante: \_\_\_\_\_

Firma del ricercatore \_\_\_\_\_

#### RIEPILOGO QUESITI QUESTIONARIO:

Verrà richiesto di indicare quali sintomi sono stati manifestati e la relativa frequenza.

##### SINTOMI GENERALI:

- febbre
- ipotermia (temperatura corporea bassa)
- irritabilità, stato di agitazione
- alimentazione scarsa o assente
- immobilità o movimenti minimi solo se stimolato
- convulsioni
- SINTOMI RESPIRATORI:
  - tachipnea (respiro accelerato)
  - tosse
  - rumori respiratori anomali (sibili o rantoli)
  - mancanza respiro, respiro ansimante o pesante
- SINTOMI GASTROINTESTINALI
  - vomito
  - distensione addominale e/o gonfiore
  - diarrea (emissione frequente di feci liquide o semiliquide)
  - coliche (si manifestano con: irritabilità improvvisa, lamentele o pianti che iniziano e terminano senza cause esterne manifeste, dolore addominale)
  - costipazione (scariche rare, dolore e distensione addominale)
- ALTRI SINTOMI
  - eruzioni cutanee
  - urine torbide o maleodoranti
  - otite



## Allegato 6 - Procedura pratica per l'attuazione dello studio

### INDICAZIONI PRATICHE PER L'ATTUAZIONE DELLO STUDIO:

- 1) Individuare le pazienti che possono partecipare allo studio:
  - a) i criteri di ESCLUSIONE sono: previsto parto cesareo, prevista mancanza di allattamento materno futuro, prevista nascita prematura, utilizzo di antibiotici durante il periodo di svolgimento dello studio
- 2) Breve spiegazione del progetto di studio (tutte le informazioni necessarie si trovano all'interno del consenso informato)
- 3) Se la partecipante è interessata a partecipare, far firmare 2 copie del consenso informato:
  - a) consegnare una copia alla gestante e conservarne una in ambulatorio
  - b) assicurarsi che siano state inserite correttamente e-mail e numero di telefono, che serviranno poi per ricontattare le partecipanti
- 4) Inserire la partecipante nella tabella di assegnazione ai gruppi, secondo l'ordine di reclutamento nello studio (vedi pagina seguente)
- 5) in base al gruppo a cui è stata assegnata la partecipante procedere:
  - a) GRUPPO A: fornire e spiegare brevemente il documento "*Raccomandazioni nutrizionali, Alimentazione ricca in prebiotici e probiotici*" + foglio con consigliata la supplementazione di probiotici e alcuni esempi di quali prodotti possono essere scelti.
  - b) GRUPPO B: fornire e spiegare brevemente il documento "*Raccomandazioni nutrizionali, Alimentazione ricca in prebiotici e probiotici*"
  - c) GRUPPO C: fornire le informazioni e indicazioni che verrebbero normalmente fornite in ambulatorio alla paziente
- 6) INFORMAZIONI IMPORTANTI DA RIFERIRE ALLA GESTANTE (sono spiegate anche nel documento del consenso informato)
  - a) La e-mail ed eventualmente il numero di telefono verranno utilizzati per ricontattare la madre per la compilazione del questionario
  - b) comunicare alla dott.ssa Valentini la data effettiva del parto il prima possibile
  - c) Per qualsiasi informazione ulteriore rivolgersi alla professoressa Valentini o lasciare il mio contatto:
    - i) mail: [corinna.matassoni@studenti.unipd.it](mailto:corinna.matassoni@studenti.unipd.it);
    - ii) n. telefono: 3701066110

Rimango disponibile per ulteriori chiarimenti a qualsiasi dubbio,  
Grazie per la vostra collaborazione,

Corinna Matassoni

## PROCEDURA ASSEGNAZIONE AI GRUPPI A, B, C

### BREVE SPIEGAZIONE

- Le partecipanti saranno numerate in base all'ordine di reclutamento nello studio (si prende come data di riferimento la firma del consenso informato)
- in base al numero assegnato è stata effettuata una randomizzazione riportata anche nella tabella seguente, per poter effettuare l'assegnazione ai diversi gruppi di intervento/controllo

### COSA FARE:

- Riportare il nominativo delle partecipanti in ordine nella seguente tabella, man mano che aderiscono allo studio
- leggere la lettera del gruppo a cui sono state assegnate e fornire le indicazioni in base al gruppo assegnato
- i primi 3 spazi sono dedicati alle 3 pazienti ricevute la settimana scorsa (13-17 marzo), se esprimono il loro consenso alla partecipazione allo studio

NUMERO	GRUPPO	NOME E COGNOME
1	C	
2	C	
3	A	
4	C	
5	B	
6	A	
7	A	
8	B	
9	A	

## BIBLIOGRAFIA

1. «Microbiota». In Treccani vocabolario online. Consultato 16 aprile 2023.  
<https://www.treccani.it/vocabolario/microbiota#:~:text=di%20micro%2D%20e%20biota%20%C2%ABinsieme,vegetali%20che%20occupano%20un%20microambient e.>
2. Meštrović, Tomislav, Mario Matijašić, Mihaela Perić, Hana Čipčić Paljetak, Anja Barešić, e Donatella Verbanac. «The Role of Gut, Vaginal, and Urinary Microbiome in Urinary Tract Infections: From Bench to Bedside». *Diagnostics (Basel, Switzerland)* 11, fasc. 1 (22 dicembre 2020): 7.  
<https://doi.org/10.3390/diagnostics11010007>.
3. «Simbiosi». In Treccani vocabolario online. Consultato 23 agosto 2023.  
<https://www.treccani.it/vocabolario/simbiosi/>.
4. «Eubiosi». In Treccani vocabolario online. Consultato 23 agosto 2023.  
[https://www.treccani.it/vocabolario/eubiosia\\_%28Neologismi%29/](https://www.treccani.it/vocabolario/eubiosia_%28Neologismi%29/).
5. Thursby, Elizabeth, e Nathalie Juge. «Introduction to the Human Gut Microbiota». *The Biochemical Journal* 474, fasc. 11 (16 maggio 2017): 1823–36.  
<https://doi.org/10.1042/BCJ20160510>.
6. Davani-Davari, Dorna, Manica Negahdaripour, Iman Karimzadeh, Mostafa Seifan, Milad Mohkam, Seyed Jalil Masoumi, Aydin Berenjian, e Younes Ghasemi. «Prebiotics: Definition, Types, Sources, Mechanisms, and Clinical Applications». *Foods (Basel, Switzerland)* 8, fasc. 3 (9 marzo 2019): 92.  
<https://doi.org/10.3390/foods8030092>.
7. Ratsika, Anna, Martin C. Codagnone, Siobhain O'Mahony, Catherine Stanton, e John F. Cryan. «Priming for Life: Early Life Nutrition and the Microbiota-Gut-Brain Axis». *Nutrients* 13, fasc. 2 (28 gennaio 2021): 423.  
<https://doi.org/10.3390/nu13020423>
8. Dou, Yuqi, Xue Yu, Yuanli Luo, Botian Chen, Defu Ma, e Jing Zhu. «Effect of Fructooligosaccharides Supplementation on the Gut Microbiota in Human: A Systematic Review and Meta-Analysis». *Nutrients* 14, fasc. 16 (12 agosto 2022): 3298. <https://doi.org/10.3390/nu14163298>
9. Shoaib, Muhammad, Aamir Shehzad, Mukama Omar, Allah Rakha, Husnain Raza, Hafiz Rizwan Sharif, Azam Shakeel, Anum Ansari, e Sobia Niazi. «Inulin:

- Properties, Health Benefits and Food Applications». *Carbohydrate Polymers* 147 (20 agosto 2016): 444–54. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2016.04.020>
10. International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics. «International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics», s.d. <https://isappscience.org/>.
11. Oerlemans, E., S. Ahannach, S. Wittouck, E. Dehay, I. De Boeck, N. Ballet, B. Rodriguez, I. Tuyvaerts, e S. Lebeer. «Impacts of Menstruation, Community Type, and an Oral Yeast Probiotic on the Vaginal Microbiome». *MSphere* 7, fasc. 5 (26 ottobre 2022): e0023922. <https://doi.org/10.1128/msphere.00239-22>.
12. Tamburini, Sabrina, Nan Shen, Han Chih Wu, e Jose C. Clemente. «The Microbiome in Early Life: Implications for Health Outcomes». *Nature Medicine* 22, fasc. 7 (7 luglio 2016): 713–22. <https://doi.org/10.1038/nm.4142>.
13. Kunasegaran, Thubasni, Vinod R. M. T. Balasubramaniam, Valliammai Jayanthi Thirunavuk Arasoo, Uma Devi Palanisamy, e Amutha Ramadas. «Diet Gut Microbiota Axis in Pregnancy: A Systematic Review of Recent Evidence». *Current Nutrition Reports* 12, fasc. 1 (marzo 2023): 203–14. <https://doi.org/10.1007/s13668-023-00453-4>.
14. Grech, Allison, Clare E. Collins, Andrew Holmes, Ravin Lal, Kerith Duncanson, Rachael Taylor, e Adrienne Gordon. «Maternal Exposures and the Infant Gut Microbiome: A Systematic Review with Meta-Analysis». *Gut Microbes* 13, fasc. 1 (2021): 1–30. <https://doi.org/10.1080/19490976.2021.1897210>
15. Zaidi, Aneesa Z., Sophie E. Moore, e Sandra G. Okala. «Impact of Maternal Nutritional Supplementation during Pregnancy and Lactation on the Infant Gut or Breastmilk Microbiota: A Systematic Review». *Nutrients* 13, fasc. 4 (30 marzo 2021): 1137. <https://doi.org/10.3390/nu13041137>.
16. Nardi, Gianna Maria, Roberta Grassi, Artnora Ndokaj, Michela Antonioni, Maciej Jedlinski, Gabriele Rumi, Katarzyna Grocholewicz, et al. «Maternal and Neonatal Oral Microbiome Developmental Patterns and Correlated Factors: A Systematic Review-Does the Apple Fall Close to the Tree?» *International Journal of Environmental Research and Public Health* 18, fasc. 11 (23 maggio 2021): 5569. <https://doi.org/10.3390/ijerph18115569>.
17. Linee Guida Pratiche della World Gastroenterology Organisation Probiotici e Prebiotici

18. Tesini, Brenda L. «Panoramica sulle infezioni neonatali». <https://www.msmanuals.com/>, luglio 2022. <https://www.msmanuals.com/it-it/professionale/pediatria/infezioni-neonatali/panoramica-sulle-infezioni-neonatali>
19. World Health Organisation. «Managing possible serious bacterial infection in young infants when referral is not feasible». GUIDELINE, 1 giugno 2015.
20. Shaikh, Nader, Natalia E. Morone, James E. Bost, e Max H. Farrell. «Prevalence of Urinary Tract Infection in Childhood: A Meta-Analysis». *The Pediatric Infectious Disease Journal* 27, fasc. 4 (aprile 2008): 302–8. <https://doi.org/10.1097/INF.0b013e31815e4122>.
21. Boon, Hanne A., Ann Van den Bruel, Thomas Struyf, Andreas Gillemot, Dominique Bullens, e Jan Y. Verbakel. «Clinical Features for the Diagnosis of Pediatric Urinary Tract Infections: Systematic Review and Meta-Analysis». *Annals of Family Medicine* 19, fasc. 5 (2021): 437–46. <https://doi.org/10.1370/afm.2684>.
22. Powell, C. V. E., P. McNamara, A. Solis, e N. J. Shaw. «A Parent Completed Questionnaire to Describe the Patterns of Wheezing and Other Respiratory Symptoms in Infants and Preschool Children». *Archives of Disease in Childhood* 87, fasc. 5 (novembre 2002): 376–79. <https://doi.org/10.1136/adc.87.5.376>.
23. Società Italiana di Pediatria. «Gestione dell’otite media acuta in età pediatrica. Linee Guida 2019», s.d. <https://sip.it/2019/06/17/gestione-otite-media-acuta-linee-guida/>.
24. Suzuki, Hijiri G., Juan Emmanuel Dewez, Ruud G. Nijman, e Shunmay Yeung. «Clinical Practice Guidelines for Acute Otitis Media in Children: A Systematic Review and Appraisal of European National Guidelines». *BMJ Open* 10, fasc. 5 (5 maggio 2020): e035343. <https://doi.org/10.1136/bmjopen-2019-035343>.
25. Benninga, Marc A., Christophe Faure, Paul E. Hyman, Ian St James Roberts, Neil L. Schechter, e Samuel Nurko. «Childhood Functional Gastrointestinal Disorders: Neonate/Toddler». *Gastroenterology*, 15 febbraio 2016, S0016-5085(16)00182-7. <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2016.02.016>.
26. Maria Assunta Castelluzzo, Flora Tarsitano, e Licia Pensabene. «Approccio al bambino con disturbi funzionali gastrointestinali». *Prospettive in Pediatria* 46, fasc. 184 (dicembre 2016): 276–89.

27. Bellaiche, M., B. Arnould, K. Benmedjahed, M. Arnould, A. Bocquet, V. Leblanc, S. Penvern-Cortes, B. Tugaut, e C. Jung. «Assessment of the Severity of Infant Crying and Its Impact on Parents: Development and Validation of the ColiQ Questionnaire in France». *Archives De Pediatrie: Organe Officiel De La Societe Francaise De Pediatrie* 28, fasc. 4 (maggio 2021): 264–72.  
<https://doi.org/10.1016/j.arcped.2021.02.018>.
28. Dimidi, Eirini, Selina Rose Cox, Megan Rossi, e Kevin Whelan. «Fermented Foods: Definitions and Characteristics, Impact on the Gut Microbiota and Effects on Gastrointestinal Health and Disease». *Nutrients* 11, fasc. 8 (agosto 2019): 1806.  
<https://doi.org/10.3390/nu11081806>.
29. Sheyholislami, Hauna, e Kristin L. Connor. «Are Probiotics and Prebiotics Safe for Use during Pregnancy and Lactation? A Systematic Review and Meta-Analysis». *Nutrients* 13, fasc. 7 (13 luglio 2021): 2382. <https://doi.org/10.3390/nu13072382>.
30. Direzione generale per l'igiene e la sicurezza degli alimenti e la nutrizione «Linee guida su probiotici e prebiotici». Ministero della Salute, marzo 2018.  
[https://www.salute.gov.it/imgs/C\\_17\\_pubblicazioni\\_1016\\_allegato.pdf](https://www.salute.gov.it/imgs/C_17_pubblicazioni_1016_allegato.pdf).
31. Guarino, Michele Pier Luca, Annamaria Altomare, Sara Emerenziani, Claudia Di Rosa, Mentore Ribolsi, Paola Balestrieri, Paola Iovino, Giulia Rocchi, e Michele Cicala. «Mechanisms of Action of Prebiotics and Their Effects on Gastro-Intestinal Disorders in Adults». *Nutrients* 12, fasc. 4 (9 aprile 2020): 1037.  
<https://doi.org/10.3390/nu12041037>.
32. Hughes, Riley L., David A. Alvarado, Kelly S. Swanson, e Hannah D. Holscher. «The Prebiotic Potential of Inulin-Type Fructans: A Systematic Review». *Advances in Nutrition (Bethesda, Md.)* 13, fasc. 2 (23 settembre 2021): 492–529.  
<https://doi.org/10.1093/advances/nmab119>.
33. Kim, Claire E., Lara S. Yoon, Karin B. Michels, Wynn Tranfield, Jonathan P. Jacobs, e Folasade P. May. «The Impact of Prebiotic, Probiotic, and Synbiotic Supplements and Yogurt Consumption on the Risk of Colorectal Neoplasia among Adults: A Systematic Review». *Nutrients* 14, fasc. 22 (21 novembre 2022): 4937.  
<https://doi.org/10.3390/nu14224937>.
34. Marco, Maria L., Dustin Heeney, Sylvie Binda, Christopher J. Cifelli, Paul D. Cotter, Benoit Foligné, Michael Gänzle, et al. «Health Benefits of Fermented Foods:

- Microbiota and Beyond». *Current Opinion in Biotechnology* 44 (aprile 2017): 94–102. <https://doi.org/10.1016/j.copbio.2016.11.010>.
35. «crauti». In Treccani vocabolario online. Consultato 14 agosto 2023. <https://www.treccani.it/vocabolario/crauti/#:~:text=%E2%80%93%20Prodotto%20a%20limentare%2C%20ottenuto%20dalle%20foglie,salsicce%20e%20ad%20altri%20salumi>.
36. Social Psychology Network. «ABOUT THIS SITE». *Research Randomizer*, s.d. <https://randomizer.org/about/>
37. «Ricette GialloZafferano», s.d. <https://www.giallozafferano.it/ricette-cat/>.
38. Halemani, Kurvatteppa, Asha P. Shetty, Latha Thimmappa, Alwin Issac, Sanjay Dhiraaj, K. Radha, Prabhaker Mishra, e Edlin Glane Mathias. «Impact of Probiotic on Anxiety and Depression Symptoms in Pregnant and Lactating Women and Microbiota of Infants: A Systematic Review and Meta-Analysis». *Journal of Global Health* 13 (12 maggio 2023): 04038. <https://doi.org/10.7189/jogh.13.04038>.
39. Mu, Jinhao, Xian Guo, Yanbing Zhou, e Guoxia Cao. «The Effects of Probiotics/Synbiotics on Glucose and Lipid Metabolism in Women with Gestational Diabetes Mellitus: A Meta-Analysis of Randomized Controlled Trials». *Nutrients* 15, fasc. 6 (12 marzo 2023): 1375. <https://doi.org/10.3390/nu15061375>.
40. Wan, Jiayang, Lin An, Zhenghong Ren, Shuxian Wang, Huixia Yang, e Jingmei Ma. «Effects of Galactooligosaccharides on Maternal Gut Microbiota, Glucose Metabolism, Lipid Metabolism and Inflammation in Pregnancy: A Randomized Controlled Pilot Study». *Frontiers in Endocrinology* 14 (2023): 1034266. <https://doi.org/10.3389/fendo.2023.1034266>.
41. Yefet, Enav, Liron Bar, Ido Izhaki, Rula Iskander, Manal Massalha, Johnny S. Younis, e Zohar Nachum. «Effects of Probiotics on Glycemic Control and Metabolic Parameters in Gestational Diabetes Mellitus: Systematic Review and Meta-Analysis». *Nutrients* 15, fasc. 7 (28 marzo 2023): 1633. <https://doi.org/10.3390/nu15071633>.
42. Organo ufficiale della Società Italiana di Pediatria Preventiva e Sociale. «Consensus I disordini funzionali gastrointestinali in età prescolare». *Pediatria Preventiva & Sociale* Anno X, fasc. Supplemento al numero 3-2015 (s.d.). [https://www.sipps.it/pdf/rivista/anno10/1\\_3ss\\_2015.pdf](https://www.sipps.it/pdf/rivista/anno10/1_3ss_2015.pdf).

43. «Meet the Rome Foundation». *The Rome Foundation*, s.d.  
[https://theromefoundation.org/wp-content/uploads/Rome-Foundation\\_Meet-the-Foundation-booklet\\_2022-updated.pdf](https://theromefoundation.org/wp-content/uploads/Rome-Foundation_Meet-the-Foundation-booklet_2022-updated.pdf).
44. Pärtyy, Anna, Raakel Luoto, Marko Kalliomäki, Seppo Salminen, e Erika Isolauri. «Effects of Early Prebiotic and Probiotic Supplementation on Development of Gut Microbiota and Fussing and Crying in Preterm Infants: A Randomized, Double-Blind, Placebo-Controlled Trial». *The Journal of Pediatrics* 163, fasc. 5 (novembre 2013): 1272-1277.e1-2. <https://doi.org/10.1016/j.jpeds.2013.05.035>.
45. Huang, Ying-Hua, You-Lin Tain, e Chien-Ning Hsu. «Maternal Supplementation of Probiotics, Prebiotics or Postbiotics to Prevent Offspring Metabolic Syndrome: The Gap between Preclinical Results and Clinical Translation». *International Journal of Molecular Sciences* 23, fasc. 17 (5 settembre 2022): 10173.  
<https://doi.org/10.3390/ijms231710173>
46. «Genomica». In *Treccani enciclopedia online*. Consultato 4 ottobre 2023.  
<https://www.treccani.it/enciclopedia/genomica>.
47. «Metabolomica». In *Treccani enciclopedia online*. Consultato 4 ottobre 2023.  
[https://www.treccani.it/enciclopedia/metabolomica\\_%28altro%29/#:~:text=s.%20f.%20In%20biologia%2C%20studio%20sistematico,metaboliti%2C%20che%20compongono%20il%20metaboloma.&text=la%20%C2%ABmetabolomica%C2%BB%20cerca%20nei%20fluidi,se%20una%20cura%20%C3%A8%20efficace](https://www.treccani.it/enciclopedia/metabolomica_%28altro%29/#:~:text=s.%20f.%20In%20biologia%2C%20studio%20sistematico,metaboliti%2C%20che%20compongono%20il%20metaboloma.&text=la%20%C2%ABmetabolomica%C2%BB%20cerca%20nei%20fluidi,se%20una%20cura%20%C3%A8%20efficace).
48. «Trascrittomica». In *Treccani enciclopedia online*. Consultato 4 ottobre 2023.  
[https://www.treccani.it/enciclopedia/trascrittomica\\_%28Lessico-del-XXI-Secolo%29/#:~:text=trascritt%C3%B2mica%20s.%20f.%20%E2%80%93%20Biologia%20che%20mira,seguito%20di%20particolari%20condizioni%20ambientali](https://www.treccani.it/enciclopedia/trascrittomica_%28Lessico-del-XXI-Secolo%29/#:~:text=trascritt%C3%B2mica%20s.%20f.%20%E2%80%93%20Biologia%20che%20mira,seguito%20di%20particolari%20condizioni%20ambientali).



## **RINGRAZIAMENTI**