

*Studio pilota, d'intervento con integratore Proxian, randomizzato, in ceco, a bracci paralleli,
spontaneo, no profit*

**Valutazione degli effetti clinici della supplementazione con integratore Proxian nei pazienti
anziani fragili in Nutrizione Enterale (NE), progetto *IntegPro***

Principal investigator:

Dr. Paolo Orlandoni

Responsabile UOSD Nutrizione Clinica; INRCA-IRCCS, POR Ancona

Sommario

Sinossi	3
1. Background e razionale dello studio	7
1.1. Background	7
1.2. Razionale	8
2. Obiettivi dello studio	9
2.1. Obiettivi primari	9
2.2. Obiettivi secondari	9
3. Disegno dello studio	10
3.1. Durata dello studio	10
3.2. Potenza statistica	11
3.3. Procedura di randomizzazione	11
3.4. Arruolamento dei soggetti	12
3.4.1. Criteri d'inclusione pazienti	12
3.4.2. Criteri d'esclusione pazienti	12
3.4.3. Criteri di ritiro pazienti	12
3.4.4. Criteri d'inclusione caregiver	13
3.5. Raccolta dati e misurazioni	13
3.5.1. Raccolta dati e misurazioni pazienti	13
3.5.2. Raccolta dati e misurazioni caregiver	14
4. Prodotto	15
4.1. Tempi e modi di somministrazione	16
4.2. Verifica della compliance	16
5. Analisi dati	16
5.1. Analisi statistica dati pazienti	16
5.2. Analisi dati caregiver	17
6. Trasferibilità dei risultati	17
7. Gestione e conservazione dati	17
8. Bibliografia	18

Sinossi

<u>TITOLO</u>	Valutazione degli effetti clinici della supplementazione con integratore Proxian nei pazienti anziani fragili in Nutrizione Enterale (NE), progetto <i>IntegPro</i>
<u>OBIETTIVI</u>	<p>L'obiettivo primario del presente studio pilota è quello di valutare l'effetto che produce l'integratore di probiotici Proxian, dopo una sua somministrazione per 60 gg, sullo stato d'infiammazione e sull'insorgenza delle infezioni in una popolazione dei pazienti anziani in Nutrizione Enterale con SNG o PEG.</p> <p>Gli obiettivi secondari dello studio sono:</p> <ol style="list-style-type: none">1. Valutare gli effetti della somministrazione dell'integratore alimentare Proxian sullo stato nutrizionale;2. Valutare gli effetti della somministrazione dell'integratore alimentare Proxian sulla motilità intestinale;3. Valutare la compliance dei caregiver alla modalità di somministrazione dell'integratore Proxian e l'impatto sulla gestione della NED.
<u>METODOLOGIA E DISEGNO DELLO STUDIO</u>	Studio pilota, d'intervento, randomizzato, in ceco, a bracci paralleli. Al gruppo d'intervento sarà somministrato l'integratore di probiotici Proxian, al gruppo di controllo sarà somministrato il placebo. Le confezioni dei due prodotti – Proxian e placebo – saranno identiche e saranno identificabili attraverso un apposito codice che i pazienti e i caregiver responsabili della somministrazione non conosceranno. Al gruppo d'intervento sarà somministrata, attraverso la sonda enterale, 1 busta/die di Proxian sciolta in acqua per 60 gg. La somministrazione

	<p>sarà effettuata dai caregiver formali e/o informali (badanti e familiari) che si occupano della gestione del paziente e sarà effettuata a distanza di 1 ora dalla somministrazione della miscela. Per garantire una corretta somministrazione del prodotto tutti i caregiver saranno appositamente istruiti e forniti di istruzioni scritte concernenti la metodologia di somministrazione del prodotto. I caregiver saranno istruiti anche su come riconoscere e annotare l'andamento dell'alvo e degli eventuali effetti avversi dovuti alla somministrazione del prodotto. Al fine di garantire l'aderenza dei partecipanti al progetto, si effettueranno contatti telefonici giornalieri con i caregiver.</p>
<p><u>PRODOTTO</u></p>	<p>Il Proxian è un integratore alimentare sinergico (brevetto Errekappa spa) a base di microorganismi probiotici micro incapsulati gastroprotetti. Uno stick di Proxian contiene le seguenti dosi di microorganismi probiotici: Bifidobacterium lactis (DSM 23032) \geq 1 miliardo cellule/dose, Lactobacillus plantarum LP01 (LMG P-21021) \geq 1 miliardo cellule/dose e Lactobacillus buchneri Lb26 (DSM 16341) tinalizzato, naturalmente ricco in Selenio (20 mg). Sia bifido batteri che i lattobacilli (in particolare il Lactobacillus plantarum) si sono dimostrati molto efficaci per la riduzione della permeabilità intestinale (22). Essendo inoltre Lactobacillus buchneri Lb26 naturalmente ricco in Selenio il Proxian garantisce anche una migliore bio-disponibilità di tale minerale che, insieme allo Zinco, anch'esso contenuto nell'integratore Proxian, contribuisce alla protezione delle cellule dallo stress ossidativo e al normale funzionamento del sistema immunitario. L'impiego della tecnologia brevettata di microincapsulamento,</p>

	<p>garantisce il superamento ottimale della barriera gastrica e il raggiungimento dell'intestino da parte di un numero adeguato di microorganismi vivi e vitali riducendo, in tal modo, il tempo necessario alla colonizzazione dell'intestino e fortificando l'azione benefica rispetto all'impiego degli microorganismi in formula non micro-incapsulata.</p>
<u>DURATA DEL TRATTAMENTO</u>	<p>Il prodotto sarà somministrato per 60 gg.</p>
<u>GRANDEZZA DEL CAMPIONE PAZIENTI E CAREGIVER</u>	<p>La dimensione campionaria è stata stimata sulla base della letteratura scientifica disponibile, utilizzando il software GPower. Prevedendo un'analisi della varianza a misure, due gruppi (gruppo intervento e placebo), due rilevazioni (baseline e 1 follow-up), una potenza dell'80%, un errore alpha di 0.05, una variazione media della PCR da 2.9 (sd=0.7) a 2.4 (sd=0.4) che corrisponde ad un effect size di circa 0.26 (effetto intermedio) ed un effetto nullo sui controlli, la popolazione necessaria è di 32 soggetti (16 casi e 16 controlli). Prevedendo un drop-out rate del 20%, la numerosità necessaria è di 40 soggetti (20 casi e 20 controlli). Nello studio saranno quindi coinvolti 40 pazienti (20 M, 20 F) d'età superiore ai 65 anni in NED presso U.O. Nutrizione Clinica dell'INRCA. Insieme ai pazienti saranno arruolati nello studio anche i 40 caregiver informali (badanti e/o familiari dei pazienti residenti a domicilio) e formali (personale sanitario per i pazienti residenti nelle case di riposo) responsabili della somministrazione dell'integratore Proxian.</p>
<u>CRITERI DI</u>	<u>Criteri d'inclusione pazienti:</u>

<p><u>INCLUSIONE</u></p> <p><u>PAZIENTI E</u></p> <p><u>CAREGIVER</u></p>	<ol style="list-style-type: none"> 1. Et� superiore ai 65 anni 2. Paziente in NED da almeno 1 mese 3. Assenza di antibioticoterapia da almeno 1 mese 4. Consenso informato scritto; per i pazienti con una grave compromissione dello stato cognitivo firmato dell'amministratore legale 5. Presenza di un caregiver (formale o informale) <p><u>Criterio d'inclusione caregiver:</u></p> <p>Volont� di partecipare allo studio espressa attraverso la sottoscrizione del consenso per la partecipazione allo studio.</p>
<p><u>CRITERI DI</u></p> <p><u>ESCLUSINE</u></p> <p><u>PAZIENTI E</u></p> <p><u>CAREGIVER</u></p>	<p><u>Criteri d'esclusione pazienti:</u></p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Diagnosi di pancreatite 2. Ipersensibilit� nota a qualsiasi ingrediente dell'integratore 3. Partecipazione ad altri studi clinici negli ultimi 3 mesi 4. Uso di qualsiasi altro probiotico negli ultimi 30 giorni 5. PCR hs > 10 mg/dL <p><u>Criteri d'esclusione caregiver:</u></p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Non sono previsti i criteri d'esclusione per i caregiver.
<p><u>ANALISI DATI</u></p>	<p>L'ipotesi di studio clinico � che il trattamento con il prodotto Proxian determina la riduzione dello stato infiammatorio e dell'incidenza delle infezioni. L'analisi statistica verr� eseguita con statistica descrittiva e utilizzando test quali l'analisi della varianza e il Test del χ^2.</p> <p>I dati raccolti attraverso le interviste ai caregiver (utilizzando due questionari strutturati) saranno elaborati con le adeguate tecniche applicabili alle analisi qualitative e quantitative.</p>

	I dati forniti dai caregiver non saranno associati in alcun modo con quelli relativi ai loro associati ad eccezione solo dell'informazione concernete l'appartenenza dell'assistito al gruppo d'intervento o di controllo.
--	--

1. Background e razionale dello studio

1.1. Background

Le prime conoscenze relative agli effetti benefici dei batteri probiotici sulla salute umana risalgono alla fine dell'800. Tuttavia, l'interesse del mondo medico e scientifico verso i probiotici si accende maggiormente solo nella seconda metà del secolo scorso in Europa, e ancora più tardi negli Stati Uniti, dove solo verso la fine degli anni '80, in concomitanza al crescente problema di antibiotico-resistenza, furono intrapresi numerosi studi sistematici al fine di valutare le interazioni tra il microbiota e la salute umana e il modo in cui i probiotici possono incidere su entrambi (1). Oggigiorno si sa che i probiotici hanno capacità di modificare il genoma dei batteri normalmente ospitati nell'intestino umano, con effetti sul metabolismo, soprattutto glicidico (2). È stata evidenziata la capacità di determinati ceppi di batteri di modulare il sistema immunitario e di incidere sull'infiammazione sistemica e cronica (3,4,5,6,7). Relativamente alla gestione delle singole patologie, la qualità delle evidenze è alquanto variabile; è abbastanza solida per quanto riguarda alcune patologie del tratto gastrointestinale come, ad esempio, la sindrome dell'intestino irritabile, sulla diarrea nella popolazione pediatrica e sulla dermatite atopica (8, 9,10,11). Gli studi più recenti hanno evidenziato una relazione tra microbiota e sistema nervoso, suggerendo che i probiotici possano influenzare lo stato cognitivo dei pazienti con Alzheimer (12, 13). Con riferimento ad altre patologie, invece, gli studi finora intrapresi, benché numerosi, non sono stati in grado di fornire le evidenze univoche né le certezze sufficienti. Innanzitutto, la maggior parte delle evidenze disponibili deriva ancora dagli studi effettuati in vitro o su animali mentre i trial clinici sono stati svolti sui campioni di dimensioni piuttosto ridotte. Sono pochissimi ancora gli studi che

hanno valutato l'efficacia clinica dei probiotici. Inoltre, notevoli differenze metodologiche concernenti la tipologia dei probiotici somministrati, i dosaggi e la durata della supplementazione, hanno reso impossibile il confronto tra i risultati delle singole ricerche.

1.2.Razionale dello studio

Le conoscenze attualmente disponibili suggeriscono che le modificazioni del microbiota in soggetti anziani riguardano principalmente la riduzione e il cambiamento nella composizione dei Bifidobatteri, batteri che hanno un ruolo determinante nella difesa e stimolazione del sistema immune associato alla produzione di metaboliti, inclusi acidi grassi a catena corta e batteriocine (14,15). Le variazioni nella composizione del microbiota nei soggetti anziani sono associate significativamente con il declino della funzionalità del sistema immunitario (immuno-senescenza) e con l'infiammazione di basso grado (inflammaging) (16, 17). L'alterazione del microbiota (disbiosi) nella popolazione geriatrica non è tuttavia un fenomeno esclusivamente età - correlato, ma risulta associato anche ad altri fattori, spesso concomitanti, quali il decadimento generale delle condizioni di salute, le comorbilità, il frequente uso di antibiotici e antiinfiammatori, la politerapia farmacologica, la malnutrizione, i cambiamenti nella dieta e nelle abitudini alimentari, la ridotta mobilità e l'allettamento (18, 19). Anche la nutrizione enterale (NE), a cui spesso la popolazione geriatrica è sottoposta per disfagia o anoressia, è causa di disbiosi; in particolare, sono esposti i pazienti che ricevono miscele elementari o semi elementari, prive di fibre (20). Tali miscele hanno il grande vantaggio di essere perfettamente assorbite dall'intestino tenue superiore, per cui vengono usate spesso nei soggetti anziani affetti da maldigestione e/o malassorbimento. Di contro, le diete elementari non contengono i residui di carboidrati complessi, come le fibre o gli amidi, utili per il mantenimento del microbiota colico e della funzionalità intestinale, e riducono la secrezione gastrica (ad azione batteriostatica) e quella pancreatico-biliare, favorendo il processo di colonizzazione dell'intestino tenue. Secondo alcuni studi, tali diete rappresentano un mezzo perfetto di coltura per organismi patogeni quali il *Clostridium difficile* (21).

La modulazione del microbiota dell'anziano rappresenta un target particolarmente interessante, in termini di impatto sulla salute, sia per il miglioramento della qualità di vita che per la riduzione delle complicanze, a seguito di varie terapie. In particolare è interessante esplorare l'effetto dei probiotici in pazienti sottoposti a nutrizione enterale sia tramite Sondino naso gastrico (SNG) che tramite Gastrostomia Endoscopica Percutanea (PEG), in quanto viene meno l'influenza della variabilità della dieta per via orale nella interpretazione dei risultati.

2.Obiettivi dello studio

2.1.Obiettivo primario

Valutare l'effetto della somministrazione dell'integratore alimentare Proxian per 60 giorni sullo stato d'infiammazione e sull'insorgenza delle infezioni - gastrointestinali, delle vie urinarie, delle vie respiratorie, LDD - in una popolazione dei pazienti anziani in Nutrizione Enterale con SNG o PEG.

Obiettivi secondari

Gli **obiettivi secondari** dello studio sono:

- a) Valutare gli effetti della somministrazione dell'integratore alimentare Proxian sullo stato nutrizionale;
- b) Valutare gli effetti della somministrazione dell'integratore alimentare Proxian sulla motilità intestinale;
- c) Valutare la compliance dei caregiver **dei pazienti in NED** alla somministrazione dell'integratore Proxian **e la loro percezione del prodotto in** diverse fasi di somministrazione (prima e dopo).

3. Disegno dello studio

3.1.Durata dello studio

Lo studio avrà una durata complessiva di 1 anno e sarà suddiviso in diverse fasi operative come da Flow chart seguente (4 mesi per arruolamento dei pazienti e dei caregiver), 4 mesi dal primo arruolamento per la somministrazione di Proxian secondo i criteri prestabiliti, 4 mesi per le valutazioni e misurazioni post somministrazione, per la elaborazione dei dati e stesura del report e/o del manoscritto.

Flow chart - fasi di realizzazione dello studio IntegPro

MAGGIO 2018	GIUGNO 2018	LUGLIO 2018	AGOSTO 2018	SETTEMBRE 2018	OTTOBRE 2018	NOVEMBRE 2018	DICEMBRE 2018	GENNAIO 2019	FEBBRAIO 2019	MARZO 2019	APRILE 2019
ARRUOLAMENTO PZ E CAREGIVER											
CONSENSO INFORMATO	CONSENSO INFORMATO	CONSENSO INFORMATO	CONSENSO INFORMATO								
INCONTRO CAREGIVER	INCONTRO CAREGIVER	INCONTRO CAREGIVER	INCONTRO CAREGIVER								
SOMMINISTRAZIONE PRODOTTO											
RACCOLTA E REGISTRAZIONE DATI PZ E CAREGIVER											
								ELABORAZIONE DATI	ELABORAZIONE DATI	ELABORAZIONE DATI	
									REPORT	PUBBLICAZIONE	PUBBLICAZIONE

Nell'ambito del presente studio pilota, a seguito della randomizzazione i pazienti arruolati presso la UO Nutrizione Clinica saranno suddivisi in due gruppi; il gruppo d'intervento al quale sarà somministrato l'integratore Proxian e gruppo di controllo al quale sarà somministrato il placebo. Le confezioni dei due prodotti – Proxian e placebo – saranno identiche e saranno identificabili attraverso un apposito codice che il caregiver e il paziente non conosceranno. Al gruppo d'intervento sarà somministrata, attraverso la sonda enterale, 1 bust/die di Proxian sciolta in acqua per 60 gg. La somministrazione sarà effettuata dai caregiver e sarà effettuata a distanza di 1 ora dalla somministrazione della miscela. A tutti i caregiver informali (badanti e familiari) saranno fornite le istruzioni scritte concernenti la metodologia di somministrazione del prodotto. I caregiver saranno istruiti anche su come riconoscere e annotare l'andamento dell'alvo e degli eventuali effetti

avversi dovuti alla somministrazione del prodotto. Al fine di garantire l'aderenza dei partecipanti al progetto, si effettueranno contatti telefonici periodici, a cadenza settimanale, con i caregiver.

3.2. Potenza statistica

La dimensione del campione è stata definita a seguito dell'analisi della letteratura scientifica disponibile (22, 23, 34, 25). La dimensione campionaria è stata stimata utilizzando il software GPower. Prevedendo un'analisi della varianza a misure, due gruppi (gruppo intervento e placebo), due rilevazioni (baseline e 1 follow-up), una potenza dell'80%, un errore alpha di 0.05, una variazione media della PCR da 2.9 (sd=0.7) a 2.4 (sd=0.4) che corrisponde ad un effect size di circa 0.26 (effetto intermedio) ed un effetto nullo sui controlli, la popolazione necessaria è di 32 soggetti (16 casi e 16 controlli). Prevedendo un drop-out rate del 20%, la numerosità necessaria è di 40 soggetti (20 casi e 20 controlli).

Nello studio saranno quindi coinvolti 40 pazienti (20 M, 20 F) d'età superiore ai 65 anni in NE presso U.O. Nutrizione Clinica dell'INRCA da almeno un mese.

Insieme ai pazienti saranno arruolati nello studio anche i loro caregiver informali (badanti e/o familiari dei pazienti residenti a domicilio) e formali (personale sanitario per i pazienti residenti nelle case di riposo) responsabili della somministrazione dell'integratore Proxian.

3.3. Procedura di randomizzazione

Per i pazienti sarà utilizzata la tecnica di randomizzazione basata su una singola sequenza di assegnazioni casuali. Sarà utilizzato un elenco di numeri casuali generati dal computer e ai pazienti sarà assegnato un numero in base al loro ordine d'inclusione nello studio. I soggetti saranno assegnati in modo casuale al gruppo d'intervento o al gruppo di controllo.

Nello studio saranno coinvolti i caregiver dei pazienti arruolati. I caregiver non saranno informati circa l'appartenenza dei loro assistiti al gruppo d'intervento o al gruppo di controllo.

3.4. Arruolamento dei soggetti

I pazienti saranno arruolati presso la UO Nutrizione Clinica INRCA Por di Ancona secondo i seguenti criteri:

3.4.1. Criteri d'inclusione pazienti:

1. Età superiore ai 65 anni
2. Paziente in NED da almeno 1 mese
3. Assenza di antibioticoterapia da almeno 1 mese
4. Consenso informato scritto; per i pazienti con una grave compromissione dello stato cognitivo firmato dell'amministratore legale
5. Presenza di un caregiver (formale o informale)

3.4.2. Criteri d'esclusione pazienti:

1. Diagnosi di pancreatite (26)
2. Ipersensibilità nota a qualsiasi ingrediente dell'integratore
2. Partecipazione ad altri studi clinici negli ultimi 30 giorni
3. Uso di qualsiasi altro probiotico negli ultimi 30 giorni
4. PCR hs > 10 mg/dL

3.4.3. Criteri di ritiro pazienti:

1. Uso di antibiotici durante il periodo di studio
2. Assunzione di probiotici differenti da Proxian
3. Ritiro del consenso informato
4. Compliance all'assunzione inferiore all'80%

3.4.4. Criterio d'inclusione caregiver:

Volontà di partecipare allo studio espressa attraverso la sottoscrizione del consenso per la partecipazione allo studio.

3.5 Raccolta dati e misurazioni

3.5.1. Raccolta dati e misurazioni pazienti

Per i 40 pazienti, che soddisfano i criteri d'inclusione e che saranno individuati con il metodo di randomizzazione semplice dal data base della U.O Nutrizione Clinica, saranno raccolti i seguenti dati ed effettuate le seguenti misurazioni:

Dati precedenti all'arruolamento: saranno estrapolati dal data base della U.O Nutrizione Clinica le informazioni concernenti età, sesso, residenza, patologie e comorbidità, esami ematici precedenti allo studio, informazioni sulle infezioni e/o ricoveri per infezioni nei 3 mesi precedenti all'arruolamento, informazioni circa l'assunzione di antibiotici nel mese precedente, informazioni sulla terapia nutrizionale (tipo miscela e via di somministrazione), informazioni sulla mobilità del paziente e sullo stato nutrizionale (BMI, evoluzione del peso nei tre mesi precedenti all'arruolamento), presenza e stadio delle piaghe da decubito, farmacoterapia.

All'arruolamento: i pazienti o i loro amministratori legali saranno inviatati a firmare il consenso informato. A seguito della sottoscrizione del consenso i pazienti effettueranno gli esami ematochimici eseguendo i test di PCR ad alta sensibilità (PCRhs) per la valutazione dello stato infiammatorio, dell'albumina e della conta linfocitaria. Sarà valutato lo stato nutrizionale mediante la misurazione del peso corporeo (kg), la misurazione o la stima dell'altezza (cm), il calcolo del BMI e la stima dell'eventuale perdita di peso involontaria.

Durante il periodo di somministrazione saranno regolarmente raccolti e inseriti nell'apposito data base del progetto, tutti i dati che vengono raccolti abitualmente in occasione delle visite domiciliari (lesioni da decubito - localizzazione e stadio-, complicanze da NED, altre complicanze, **infezioni e**

somministrazione degli antibiotici, ricoveri -motivo, durata ed esito-, cambiamenti della terapia nutrizionale e/ della via d'accesso, variazioni della terapia farmacologica). A distanza di 30 e 60 gg dall'inizio di somministrazione, i pazienti effettueranno gli esami ematochimici eseguendo i test di PCR ad alta sensibilità (PCRhs) per la valutazione dello stato infiammatorio, dell'albumina e della conta linfocitaria

Fine somministrazione: Al termine della somministrazione sarà rivalutato lo stato nutrizionale dei pazienti con la stessa metodologia utilizzata al t0.

Follow up: A 30 giorni dall'ultima somministrazione del prodotto sarà effettuata la misurazione ematica della PCR hs, dell'albumina e della conta linfocitaria.

3.5.2. Raccolta dati e misurazioni caregiver

I caregiver responsabili della somministrazione del prodotto saranno inviati a firmare il consenso informato per la loro partecipazione allo studio.

Al momento dell'arruolamento saranno raccolti i seguenti dati relativi ai caregiver: sesso, età, grado di parentela, titolo di studio, ore di assistenza quotidiana al paziente in NE.

A tutti i caregiver sarà consegnato un vademecum contenente una descrizione dettagliata delle possibili complicanze da somministrazione del prodotto o da NED – stipsi e diarrea - in modo tale da garantire l'attendibilità dei risultati finali.

I caregiver saranno contattati due volte a settimana per verificare la compliance e raccogliere le loro testimonianze circa le eventuali problematiche, difficoltà e/o eventi avversi.

I caregiver saranno inoltre sottoposti alle interviste che prevedono l'utilizzo di due questionari strutturati. Attraverso un primo questionario, che sarà somministrato all'arruolamento, si raccoglieranno le informazioni concernenti il livello di conoscenza di integratori contenenti i probiotici e la percezione di tali prodotti. Al termine dello studio, i caregiver saranno invitati

nuovamente a rispondere alle domande di un secondo questionario strutturato per valutare la loro compliance alla somministrazione del Proxian e la loro percezione degli integratori di probiotici al termine del periodo di studio.

4. Prodotto

Il Proxian è un integratore alimentare sinergico (brevetto Errekappa spa) a base di microorganismi probiotici micro incapsulati gastroprotetti. Uno stick di Proxian contiene le seguenti dosi di microorganismi probiotici: *Bifidobacterium lactis* (DSM 23032) \geq 1 miliardo cellule/dose, *Lactobacillus plantarum* LP01 (LMG P-21021) \geq 1 miliardo cellule/dose e *Lactobacillus buchneri* Lb26 (DSM 16341) tinalizzato, naturalmente ricco in Selenio (20 mg). Sia bifido batteri che i lattobacilli (in particolare il *Lactobacillus plantarum*) si sono dimostrati molto efficaci per la riduzione della permeabilità intestinale (27). Essendo inoltre *Lactobacillus buchneri* Lb26 naturalmente ricco in Selenio il Proxian garantisce anche una migliore bio-disponibilità di tale minerale che, insieme allo Zinco, anch'esso contenuto nell'integratore Proxian, contribuisce alla protezione delle cellule dallo stress ossidativo e al normale funzionamento del sistema immunitario. L'impiego della tecnologia brevettata di microincapsulamento, garantisce il superamento ottimale della barriera gastrica e il raggiungimento dell'intestino da parte di un numero adeguato di microorganismi vivi e vitali riducendo, in tal modo, il tempo necessario alla colonizzazione dell'intestino e fortificando l'azione benefica rispetto all'impiego degli microorganismi in formula non micro-incapsulata.

Ai fini della validità dello studio è richiesta una compliance minima pari all'80%. Tale compliance sarà verificata attraverso i contatti telefonici con i caregiver che saranno effettuati 2 volte a settimana.

Il prodotto verrà fornito gratuitamente ai pazienti dall'azienda produttrice.

4.1. Tempi e modi di somministrazione

Lo studio prevede che al gruppo d'intervento venga somministrata, attraverso la sonda enterale, 1 bust/die di Proxian sciolta in acqua per 60 gg. La somministrazione sarà effettuata dai caregiver formali e/o informali (badanti e familiari) che si occupano della gestione del paziente e sarà effettuata a distanza di 1 ora dalla somministrazione della miscela.

1. Preparazione della sospensione acquosa:

Versare circa 5-10 ml di acqua in un bicchiere. Aggiungere il contenuto di una bustina e mescolare fino all'ottenimento di una sospensione omogenea.

2. Prelevare con una siringa da 20 ml la sospensione probiotica omogenea e somministrarla tramite sonda.

3. Ripetere la procedura descritta nei punti 1 e 2 nei 60 gg di somministrazione.

4.2. Verifica della compliance

Al fine di garantire una perfetta compliance, i caregiver responsabili della somministrazione dell'integratore saranno contattati giornalmente. Saranno inoltre fornite le istruzioni con le specifiche su come procedere qualora si superano o non si raggiungano le dosi necessarie. Ai fini della validità dello studio sarà considerata una compliance minima dell'80%.

5. Analisi dati

5.1. Analisi statistica dati pazienti

L'ipotesi di studio è che il trattamento con il prodotto Proxian determina la riduzione dello stato infiammatorio e dell'incidenza delle infezioni. L'analisi statistica verrà eseguita con statistica descrittiva e utilizzando test quali l'analisi della varianza e il Test del χ^2 .

5.2. Analisi dati caregiver

I dati raccolti attraverso le interviste ai caregiver saranno elaborati con le adeguate tecniche applicabili alle analisi qualitative. I dati forniti dai caregiver non saranno associati in alcun modo con quelli relativi ai loro associati ad eccezione solo dell'informazione concernente l'appartenenza dell'assistito al gruppo d'intervento o di controllo. I dati raccolti attraverso le interviste ai caregiver (utilizzando un questionario strutturato) saranno elaborati con le adeguate tecniche applicabili alle analisi qualitative. I dati forniti dai caregiver non saranno associati in alcun modo con quelli relativi ai loro associati ad eccezione solo dell'informazione concernente l'appartenenza dell'assistito al gruppo d'intervento o di controllo.

6. Trasferibilità dei risultati

Le evidenze scientifiche sull'efficacia degli integratori di probiotici nella gestione dell'infiammazione, delle infezioni e dello stato nutrizionale in pazienti anziani in NED sono scarsissime. Il presente studio, darà le prime indicazioni sul possibile miglioramento della composizione del microbiota attraverso la supplementazione con integratore di probiotici Proxian e sugli effetti clinici di tale miglioramento in questa popolazione.

7. Gestione e conservazione dati

Tutti i dati saranno riportati nei 2 Case Report Form appositamente predisposti; CFR per i pazienti e CFR per i caregiver. L'equipe di ricerca compierà tutte le azioni occorrenti affinché rimanga mantenuto l'anonimato dei pazienti e dei caregiver.

I pazienti e i caregiver saranno identificati sempre solo ed esclusivamente attraverso un codice d'identificazione e mai con il loro nome e cognome.

I dati dei pazienti e dei caregiver saranno Trattati secondo il Codice di protezione dei dati (DL 196/2003). Tutti i dati e le informazioni saranno conservati in un luogo sicuro garantendo la sicurezza dei dati e la privacy.

8. Bibliografia

1. Vasiljevic T, Shah N.P. Review Probiotics —From Metchnikoff to bioactives, International Dairy Journal 2008 (18): 714–728;
2. McNulty N., Yatsunencko T., Hsiao A. et al. The impact of a consortium of fermented milk strains on the gut microbiome of gnotobiotic mice and monozygotic twins. Science Translational Medicine 2011 (26);3(106):106ra106. doi: 10.1126/scitranslmed.3002701;
3. Lau CS, Chamberlain RS. Probiotics are effective at preventing *Clostridium difficile*-associated diarrhea: a systematic review and meta-analysis. Int J Gen Med. 2016 (22) ;9:27-37. doi: 10.2147/IJGM.S98280;
4. Xi Na., Ciaran K. Probiotics in *Clostridium difficile* Infection. J Clin Gastroenterol 2011. doi: 10.1097/MCG.0b013e31822ec787 ;
5. Mazidi M., Rezaie P., Ferns G.A. et al. Impact of Probiotic Administration on Serum C-Reactive Protein Concentrations: Systematic Review and Meta-Analysis of Randomized Control Trials. Nutrients 2017; 9(1). doi: 10.3390/nu9010020 PMID: PMC5295064,
6. Schwenger E.M., Tejani A. M., Loewen P.S., Probiotics for preventing urinary tract infections in adults and children, 2015, Editorial Group: Cochrane Kidney and Transplant Group. doi: 10.1002/14651858.CD008772.pub2;
7. Quiukui Hao, Bi Rong Dong, Taixiang Wu. Probiotics for preventing acute upper respiratory tract infections, 2015. Editorial Group: Cochrane Acute Respiratory Infections Group, dOI: 10.1002/14651858.CD006895.pub3;
8. Bermudez-Brito M., Plaza-Diaz J., Munos-Quezada S. et al. Probiotics Mechanisms of Action. Ann Nutr Metab 2012; 61:160-174. <https://doi.org/10.1159/000342079>;
9. Wallace T.C., Guarner F., Madsen K. et al. Human gut microbiota and its relationship to health and disease. Nutr Rev. 2011(69) 7:392-403. doi: 10.1111/j.1753-4887.2011.00402.x. Epub 2011 Jun 30;

10. Amara AA, Shibl A. Role of Probiotics in health improvement, infection control and disease treatment and management. Saudi Pharm J. 2015 Apr;23(2):107-14. doi: 10.1016/j.jsps.2013.07.001. Epub 2013 Jul 18;
11. Klaenhammer T.R., Kleerebezem M., Kopp M.V., et al 2012 The impact of probiotics and prebiotics on the immune system. *Nutr Hosp*. 2010; May-Jun;25(3):341-9. doi: 10.1038/nri3312. May-Jun;25(3):341-9;
12. Mayer EA et al. Gut microbes and the brain:paradigm shift in neuroscineces. *J neurosci* 2014; 34: 15490-6;
13. Akbari E., Azemi Z., Kakhaki R.D. Effect of probiotic supplementation on cognitive function and metabolic status in Alzheimer's disease: a randomizes, double blind and controlled trial. *Frontiers in Ageing Neuroscience* 2016; 8 (256): 1-8;
14. Rondanelli M., Giacosa A., Faliva M.A. et al, Review on microbiota and effectiveness of probiotics use in older. *World J Clin Cases*. 2015 Feb 16; 3(2): 156–162. Published online 2015 Feb 16. doi: 10.12998/wjcc.v3.i2.156 ;
15. Firmesse M.O., Levenez F., Guimarães V.D., et al. The *Firmicutes/Bacteroidetes* ratio of the human microbiota changes with age. 2009, *BMC Microbiology*: 9:123 <https://doi.org/10.1186/1471-2180-9-123>;
16. Toward R. E., Walton G. E., Gibson G. R. Immunosenescence and the gut microbiota: The role of probiotics and prebiotics. *Nutrition and Aging* 2012, vol. 1, no. 3,4, pp. 167-180. doi: 10.3233/NUA-130014;
17. Romeo J., Nova E., Wärnberg J. et al. Immunomodulatory effect of fibres, probiotics and synbiotics in different life-stages. *Nat Rev Immunol*. 2012 Oct;12(10):728-34. doi: 10.1038/nri3312.
18. Vaiserman AM, Koliada AK, Marotta F. Gut microbiota: a player in ageing and a target for anti-ageing intervention. *Ageing Res Rev* 2017; 35:36-45

19. Wachholz P., Bôas P., Nunes V. et al. Evidence on the role of prebiotics, probiotics, and synbiotics in gut health and disease prevention in the elderly. 2014 Journal of Clinical Gerontology and Geriatrics. 5. . 10.1016/j.jcgg.2014.01.001;
20. Conlon M.A, Anthony R. Bird. The Impact of Diet and Lifestyle on Gut Microbiota and Human Health. Nutrients 2015 7(1): 17–44. doi: 10.3390/nu7010017 PMID: PMC4303825
21. Stephen JD O'Keefe. Tube feeding, the microbiota, and *Clostridium difficile* infection World J Gastroenterol 2014; 16(2): 139–142. doi: 10.3748/wjg.v16.i2.139;
22. Valentini L, Pinto A, Bourdel-Marchasson I. Impact of personalized diet and probiotic supplementation on inflammation, nutritional parameters and intestinal microbiota e The "RISTOMED project": Randomized controlled trial in healthy older people . Clinical Nutrition 2015; (34): 593-602;
23. Kolb-Bachofen V. A review on the biological properties of C-reactive protein. Immunobiology. 1991;183:133–45.
24. Gewurz H, Mold C, Siegel J, Fiedel B. C-reactive protein and the acute phase response. Adv Intern Med. 1982;27:345–72.
25. Pepys MB. C-reactive protein fifty years on. Lancet. 1981;1:653–7
26. Besselink M.G., Van Santvoort H.C., Buskens E., Probiotic prophylaxis in predicted severe acute pancreatitis: a randomised, double-blind, placebo-controlled trial. 2008; 371(9613):651-659. doi: 10.1016/S0140-6736(08)60207-X.
27. Rao R.K., Samak G. Protection and restitution of Gut Barrier by Probiotics: Nutritional and Clinical Implications. Curr Nutr Food Sci 2013 (9) 2; 99-107;