

**PUÒ UN ESTRATTO CONCENTRATO A BASE DI MIRTILO ROSSO AMERICANO
PREVENIRE INFEZIONI RICORRENTI DEL TRATTO URINARIO NELLE DONNE ?
UNO STUDIO PILOTA**

David T. Bailey^c, Carol Dalton^b, F. Joseph Daugherty^a, Michael S. Tempesta^{a,*}

^aPhenolics, LLC, P.O. Box 2439, 846 San Carlos Avenue, El Granata, CA 94018-2439, USA

^bHelios Integrated Medicine, PC, 4150 Darley Avenue, Boulder, CO 80305, USA

^c328 Overlook Lane, Boulder, CO 80302, USA

*Corresponding author

Abstract

Background: le infezioni del tratto urinario (UTIs dall'inglese Urinary Tract Infections) sono estremamente frequenti e, nonostante il trattamento con antibiotici, le ricadute sono comunemente causa di frustrazione nel paziente e potenzialmente causate dallo sviluppo di resistenze agli antibiotici. L'uso di prodotti a base di mirtillo rosso americano per la prevenzione delle UTIs è recentemente divenuto popolare e sono necessari ulteriori studi clinici per avvallarne l'impiego.

Scopo: questo studio pilota aperto ha esaminato la capacità di un preparato concentrato a base di mirtillo rosso americano nella prevenzione delle UTIs in donne con una storia di infezioni ricorrenti.

Soggetti: sono state incluse donne di età compresa tra 25 e 70 anni con una storia di minimo 6 UTIs nell'anno precedente.

Intervento: le donne hanno assunto due volte al dì per 12 settimane, una capsula contenente 200 mg di un estratto concentrato di mirtillo rosso americano standardizzato al 30% in composti fenolici.

Design: inizialmente è stato utilizzato un questionario per la determinazione della storia medica delle pazienti, alle quali è stato chiesto, ad intervalli mensili, di comunicare qualsiasi tipo di cambiamento. Tutte le donne incluse nello studio sono state sottoposte ad esami delle urine nelle 24 ore precedenti all'inizio dello studio ed una volta al mese per 4 mesi. I soggetti sono stati seguiti in follow-up per i 2 anni successivi.

Risultati: tutte le pazienti hanno partecipato alle 12 settimane di studio e si sono rese disponibili per il follow-up nei due anni successivi. Nel corso dello studio nessuna donna ha avuto un'infezione del tratto urinario. Nessun evento avverso è stato riportato. Due anni dopo, otto delle donne che hanno continuato ad assumere mirtillo, hanno continuato a non presentare alcuna UTI.

Conclusione: Un preparato a base di mirtillo ad elevato contenuto fenolico, può prevenire completamente le infezioni del tratto urinario in donne soggette ad infezioni ricorrenti.

Parole chiave: estratto di mirtillo rosso americano; *Vaccinium macrocarpon*; infezioni del tratto urinario; studio pilota.

Introduzione

Le infezioni del tratto urinario (UTIs) sono estremamente frequenti, in particolare nelle donne, negli anziani e nei bambini. L'infezione del tratto urinario viene definita come la presenza di un certo numero di batteri nelle urine (normalmente superiore a 100.000 per ml). Una donna su quattro che sviluppano una UTI avrà una ricaduta. I fattori di rischio che predispongono le donne ad una ricaduta includono rapporti sessuali, l'utilizzo di contraccettivi, antimicrobici, estrogeni, genetica e la vicinanza anatomica dell'uretra all'ano. Le UTIs sono causate da microrganismi, principalmente batteri Gram-negativi, noti come *Escherichia coli*. Vengono normalmente trattate con antibiotici, ma le ricadute sono frustranti per la paziente e possono contribuire alla resistenza batterica agli antibiotici. In riferimento a quanto detto, la ricerca ha iniziato a focalizzare la propria attività sulla prevenzione (Avon et al., 1994; Pelton, 2000; Lowe and Fragolman, 2001; Franco; 2005; Liu et al., 2006).

I mirtilli sono piccoli frutti di colore rosso intenso, ampiamente consumati come succo e salsa. Provengono da un arbusto, *Vaccinium macrocarpon* Aiton [Ericaceae], nativo del Nord America orientale (Winston et al., 2002). L'uso di preparati a base di mirtillo rosso per prevenire le UTIs è divenuto popolare negli anni 20 quando scienziati americani dimostrarono che le urine divenivano molto più acide dopo aver mangiato grandi quantità di mirtilli. Studi successivi hanno dimostrato che l'efficacia del mirtillo non è dovuta alla sua capacità di acidificare le urine (Liu et al., 2006).

Come primo passo nello sviluppo delle infezioni, i batteri devono legarsi alla cellula ospite ed ai tessuti. I ceppi di *E. coli* che causano le UTIs possiedono macromolecole proteiche (fimbrie) che facilitano l'adesione dei batteri alle cellule uroepiteliali nelle vie urinarie. Studi *in vitro* ed *in vivo* indicano che i prodotti a base di mirtillo rosso prevenono l'adesione dei batteri alle pareti cellulari del tratto urinario, prevenendo pertanto le UTIs (Di Martino et al., 2006; Liu et al., 2006).

Sono stati individuati due tipi di componenti del mirtillo aventi attività anti-adesione: il fruttosio (uno zucchero) e le proantocianidine (tannini condensati). È stato dimostrato che il fruttosio, un comune componente della frutta, inibisce l'aderenza di *E. coli* con fimbrie di tipo I (mannosio-sensibile) a cellule di tessuto in coltura (Zaffiri et al., 1989). È stato dimostrato che le proantocianidine del mirtillo rosso inibiscono l'aderenza di *E. coli* con fimbrie di tipo P (Howell et al., 1998).

Le proantocianidine sono composte da oligomeri (piccole catene) di unità flavaniche. Le proantocianidine nel mirtillo rosso sono diverse da quelle presenti in altri frutti, dal momento che le unità di flavonoli sono legate (tipo A) in modo che differiscano da quelle individuate in altri frutti (tipo B).

Studi recenti hanno determinato che le proantocianidine con questo legame di tipo A sono più efficaci di quelle con legami di tipo B nell'inibizione dell'aderenza dei batteri alla superficie cellulare (Howell et al., 2005). Inoltre, studi biochimici hanno rivelato che oltre a far comprimere la fimbrie sulla superficie dei batteri, riducendo la loro adesione, le proantocianidine del mirtillo rosso possono modificare la forma dei batteri da bastoncini a sfere, provocando modifiche chimiche alle loro membrane superficiali (Camesano, 2006). Sono stati condotti diversi studi clinici sull'uso di preparati a base di mirtillo nella prevenzione delle UTIs. Una revisione pubblicata nel 2004 ha individuato diversi lavori che hanno rispettato i criteri degli studi controllati randomizzati. L'efficacia del succo di mirtillo confrontato con placebo è stato valutato in sei studi e l'efficacia di compresse a base di estratto di mirtillo rosso, confrontata con placebo, è stata valutata in due studi (uno studio comprendeva sia succo che compresse). Solo due studi sono stati considerati di buona qualità. Questi lavori hanno dimostrato che il mirtillo rosso riduceva in maniera significativa l'incidenza delle UTIs dopo 12 mesi di trattamento (RR 0,61:95% CI: 0,40-0,91) in donne a confronto con placebo.

Uno studio ha utilizzato 7,5 g di concentrato di mirtillo in 50 ml. L'altro ha utilizzato un concentrato 1:30 in 250 ml di succo o in forma di compressa. Non vi è stata alcuna differenza significativa tra gli effetti dovuti al succo e gli effetti dovuti alle compresse (Jepson et al., 2004). Gli autori di questa revisione hanno commentato che il dosaggio di mirtillo e la forma di somministrazione ottimali (ad es. succo o compressa) non sono ancora chiari.

I preparati tipici a base di mirtillo rosso sono mirtilli interi essiccati e macinati, o succhi di mirtillo essiccati. I mirtilli macinati essiccati contengono comunemente lo 0,5% di composti fenolici totali, tra cui le proantocianidine. I succhi concentrati essiccati contengono normalmente il 3-5% di fenoli totali (private communication, R. Dietz, Eurofins Scientific data, 2006). Attraverso l'estrazione selettiva delle bacche, Phenolics, LLC ha prodotto un estratto contenente il 30% di composti fenolici (brevetto US N. 6.780.442 e 6.960.360, e brevetto europeo N. 1.328.282). Questo processo di estrazione concentra i composti fenolici ed elimina altri componenti del frutto quali l'acido ossalico ed altri acidi organici, così come gli zuccheri. Dal momento che questo preparato concentra le proantocianidine attive, potrebbe essere più efficace nel prevenire le UTIs. Scopo di questo studio è verificare gli effetti di questo estratto concentrato in donne con UTIs ricorrenti.

Materiali e Metodi

Uno studio pilota della durata di 4 mesi è stato condotto presso Helios Integrated Medicine, PN in Boulder, CO. Lo studio è stato condotto con donne di età compresa tra 25 e 70 anni con una storia di minimo 6 UTIs nel corso dell'anno precedente. Donne in gravidanza, o che utilizzavano al momento antibiotici, con una malattia o patologie maggiori diverse dalle UTIs sono state escluse.

Il prodotto a base di mirtillo rosso utilizzato in questo studio è stato prodotto in US secondo processi brevettati. E' attualmente utilizzato da GNC come ingrediente attivo in

Cranberry Supreme™. Le pazienti hanno assunto 1 capsula 2 volte al giorno per 12 settimane. Ogni capsula conteneva 200 mg di estratto di mirtillo rosso americano standardizzato al 30% in fenoli totali (25% minimo proantocianidine). L'assunzione totale di proantocianidine durante lo studio è stata di circa 100 mg al giorno.

I fenoli totali sono stati determinati in base all'uso del metodo Folin-Ciocalteu (Singleton and Rossi, 1965) e modificato da Slinkard e Singleton (1977) e Cliff et al. (1994) e riportati in milligrammi di acido gallico equivalenti per grammo di estratto.

Inizialmente è stato utilizzato un questionario per determinare la storia medica delle pazienti alle quali è stato chiesto, ad intervalli mensili, se qualsiasi informazione riportata avesse subito modificazioni. Tutte le donne nello studio hanno eseguito un'analisi delle urine 24 ore prima dell'inizio dello studio ed una volta al mese per i 4 mesi successivi. Le analisi delle urine hanno incluso un dipstick ed esame microscopico su un campione di prime urine del mattino senza flusso centrale. Il test dipstick ha esaminato globuli rossi, nitrati, linfociti, proteine, glucosio e misurato peso specifico. L'esame microscopico ha ricercato globuli rossi e globuli bianchi così come batteri e mute. Qualsiasi campione con risultati positivi è stato messo in coltura e determinata la sensibilità verso antibiotico.

Risultati dell'esame

12 donne di età compresa tra 25 e 70 anni sono state incluse nello studio. Le donne avevano tutte una storia di minimo 6 UTIs nell'anno precedente e molte di loro hanno avuto molte infezioni o molte all'anno negli anni precedenti. Diverse donne avevano tentato di bere regolarmente succo di mirtillo o avevano assunto prodotti in capsule a base di mirtillo acquistati in negozi di alimenti naturali con diversi risultati. Fu comunicato loro di non assumere nessun altro prodotto a base di mirtillo durante lo studio. Ogni donna è stata analizzata prima della somministrazione del prodotto in esame e diagnosticata senza UTI.

Tutte le pazienti sono state seguite per un periodo di 12 settimane. Lo studio è cominciato nel Maggio 2004 e concluso a Settembre 2004. Non vi è stato alcun allontanamento o ritiro dallo studio. Nessuna delle donne ha sviluppato una UTI durante lo studio, sulla base di sintomi o risultati di laboratorio. Sulla base della storia passata di questo gruppo di pazienti, ci si sarebbero aspettate 24 ricadute di UTIs durante il corso dello studio. Nessun soggetto ha riportato reazioni avverse dovute all'integratore.

Risultati di follow-up

Il follow-up delle pazienti per i due anni successivi ha rivelato che otto delle pazienti non hanno subito alcuna variazione dello stato di salute da quando lo studio era iniziato. Hanno continuato ad assumere diversi integratori a base di mirtillo di diversi produttori

in dosaggi compresi tra 150 e 300 mg al giorno ad eccezione di giorni occasionali in cui hanno saltato la somministrazione.

La mancata assunzione per 1-3 giorni non ha portato ad alcun sintomo. Diverse hanno commentato di aver assunto quantità extra di capsule per 1-2 giorni dopo un'attività sessuale superiore al normale, e che se non lo avessero fatto, avrebbero potuto mostrare sintomi da UTI.

Questi sintomi, comunque, non si sono mai trasformati in una vera UTI e si sono risolti con l'utilizzo di capsule di mirtillo extra e un aumento di assunzione d'acqua.

Quattro pazienti hanno interrotto l'assunzione di mirtillo per diversi motivi medici non correlati. Una paziente non ha più avuto UTI e due hanno invece sviluppati i sintomi, che si sono risolti assumendo nuovamente l'integratore a base di mirtillo. Una paziente ha sviluppato un episodio di UTI confermato dalle analisi delle urine ed è stata trattata con antibiotici. La paziente ha poi ricominciato il trattamento con mirtillo e non ha più avuto sintomi.

Discussione

Questo studio indica che donne con una storia di UTIs ricorrenti possono prevenire queste infezioni con l'uso giornaliero di un estratto di mirtillo rosso. Il prodotto a base di mirtillo utilizzato in questo studio è unico, essendo standardizzato al 30% fenoli, principalmente proantocianidine. Il contenuto fenolico è maggiore sia rispetto ai mirtilli essiccati che ne contengono lo 0,5%, sia rispetto ai succhi essiccati che ne contengono il 3-7%.

Come precedentemente affermato, studi *in vitro* indicano che le proantocianidine sono i componenti attivi del mirtillo. Studi di biodisponibilità indicano che questi composti vengono assorbiti. Uno studio su ratti ha dimostrato che le urine degli animali mostravano un'attività anti-aderenza. Uno studio sull'uomo ha individuato che il 5% della quantità totale di proantocianidine è secreto nelle 24 ore successive all'assunzione di 200 ml di succo di mirtillo. Un altro studio sull'uomo ha riportato che le urine di coloro che avevano assunto 250 o 750 ml di succo di mirtillo dimostravano proprietà anti-aderenza. Ceppi uropatogeni di *E. coli* sono cresciuti nelle urine di coloro che assumevano sia placebo che succo di mirtillo. Una volta testate per aderenza alle cellule della vescica in uno studio *in vitro*, le urine di coloro che avevano assunto succo di mirtillo hanno prevenuto, in maniera dose-dipendente, l'adesione dei batteri.

Tre precedenti studi clinici condotti su donne con una storia di ricorrenti UTIs hanno riportato risultati positivi. Non è stato però descritto né il contenuto fenolico né il contenuto di proantocianidine dei prodotti a base di mirtillo utilizzati in questi studi. L'unicità di questo studio è che nessuna donna ha sviluppato una UTI durante le 12 settimane di trattamento. Questo è in contrasto con la loro storia di un'infezione ogni 2 mesi. Inoltre, le donne che hanno continuato ad assumere un prodotto a base di mirtillo non hanno avuto altre infezioni per i 2 anni successivi. Sebbene questo sia solo uno studio pilota ed i risultati siano preliminari, l'esito è straordinario.

Un piccolo studio incrociato ha studiato 10 donne sessualmente attive con una storia di UTIs (quattro UTI nel corso dell'anno precedente o almeno una UTI nei tre mesi precedenti). Ai soggetti furono dati 400mg di estratto di mirtillo o placebo, ogni giorno per tre mesi prima di modificare i trattamenti. Ne è risultato che il concentrato di mirtillo si è dimostrato più efficace del placebo nel ridurre le ricadute di UTIs ($p < 0,005$). 19 donne sono state incluse nello studio; mentre 10 hanno concluso lo studio ed inserite nelle analisi. Durante l'assunzione di mirtillo, 7 dei 10 soggetti hanno mostrato un numero inferiore di UTIs, 2 soggetti lo stesso numero e 1 soggetto un numero superiore. Dei totali 21 casi di UTIs registrati dalle partecipanti per 6 mesi, 6 casi di UTIs si erano verificati durante il periodo in cui assumevano mirtillo (2,6 per soggetto l'anno). Al contrario, un totale di 15 casi di UTIs si sono verificati con il placebo (6,0 per soggetto l'anno). Abbiamo calcolato che ad una concentrazione massima prevista di 5% di fenoli totali, i soggetti potrebbero aver ricevuto 20 mg al giorno di fenoli totali. Il contenuto di proantocianidine previsto potrebbe essere 15 mg al giorno. Questa quantità è approssimativamente un sesto dei 100 mg forniti dal preparato utilizzato nello studio attuale. Il fatto che non tutte le infezioni siano state prevenute nello studio di Walzer indica che potrebbe esservi un effetto dose-dipendente.

Due studi paralleli di gruppo sono stati inoltre condotti su donne con una storia di UTIs ricorrenti. Il primo studio era in parallelo, placebo controllato, e ha utilizzato un concentrato di succo di mirtillo+mirtillo rosso, descritto come 7,5 g di concentrato di mirtillo e 1,7 g di concentrato di mirtillo rosso in 50 ml d'acqua. Il preparato è stato messo a confronto con una bevanda contenente lactobacillus e nessun trattamento. Lo studio comprendeva 150 donne (età media 30 anni circa) dai servizi sanitari studenteschi che presentavano normalmente una UTI (105 cfu *E. coli* per ml). Criterio di valutazione è stata la prima ricaduta di UTI sintomatica come sopra descritta.

Dopo 6 mesi il 16% (8) delle donne nel gruppo trattato con mirtillo, il 39% (19) del gruppo con lactobacillus ed il 36% (18) del gruppo di controllo hanno avuto almeno una infezione. Il mirtillo ha pertanto ridotto il rischio di infezione del 20% (95% CI, $p = 0,023$). Calcoliamo che la quantità di proantocianidine fornite possa essere 35-40 mg al giorno. Se così fosse, questa quantità sarebbe esattamente un terzo della quantità fornita dal preparato impiegato nello studio attuale.

Il secondo studio comprendeva 150 donne sessualmente attive in un ambito di età di 21-72 anni che nell'anno precedente avevano avuto almeno due casi sintomatici di UTIs coltura-positivi nel singolo organismo, ma al momento non presentavano alcuna infezione. I soggetti hanno assunto succo di mirtillo (250 ml tre volte al giorno), compresse di mirtillo (succo concentrato 1:30 di mirtillo due volte al giorno) o placebo in doppio cieco.

Nell'anno di trattamento, il 32% (16) del gruppo con placebo, il 20% (10) del gruppo con succo ed il 18% (9) nel gruppo con compresse hanno avuto un'infezione. Il numero medio di UTIs è stato di 0,72 nel gruppo con placebo, 0,30 nel gruppo con succo e 0,39 nel gruppo con compresse. Questo documento non aveva sufficienti informazioni per poter calcolare la quantità di fenoli o proantocianidine assunte nello studio.

Conclusioni

Questo studio pilota aggiunge risalto ai tre precedenti studi che indicano come i prodotti a base di mirtillo rosso siano efficaci nella prevenzione delle UTIs ricorrenti nelle donne. Risultati *in vitro* ed *in vivo* indicano che i componenti attivi nei prodotti a base di mirtillo sono le proantocianidine, uniche nel mirtillo. Lo studio attuale è stato condotto con un estratto di mirtillo unico standardizzato a 30% in composti fenolici. I risultati di questo studio preliminare sono unici in quanto nessuna delle donne sottoposte allo studio ha sviluppato un'infezione urinaria. Si richiedono ulteriori studi che comprendano un gruppo di controllo. Il confronto tra questo studio, comunque, con precedenti resoconti, suggerisce che esiste una correlazione tra la quantità di composti fenolici assunti e la prevenzione delle infezioni. Sono necessari poi ulteriori studi per determinare il dosaggio ottimale e confrontare questo prodotto con succo di mirtillo e altri prodotti a base di mirtillo contenenti concentrazioni inferiori di proantocianidine.