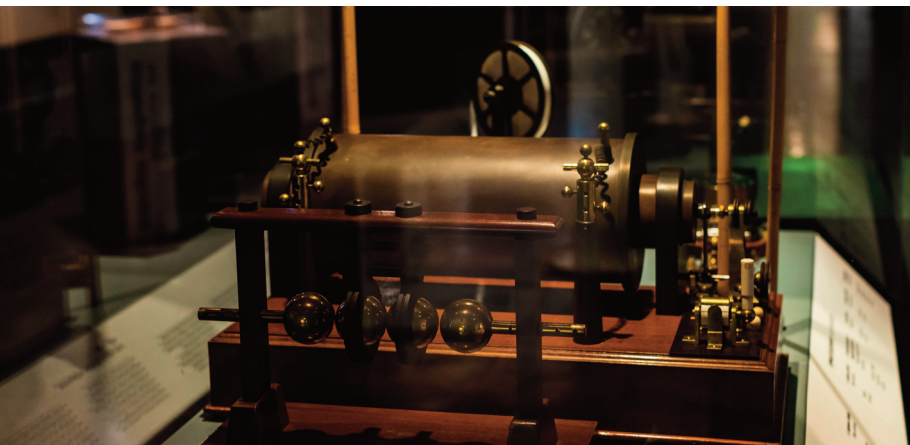


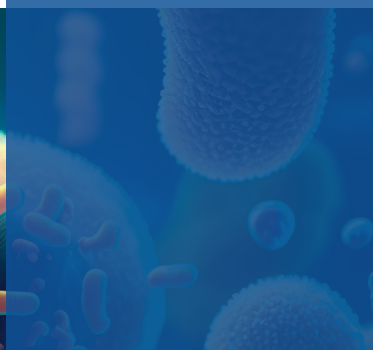


REPORT

International **Yakult** Symposium 2022

13-14
Ottobre

*Museo Nazionale della Scienza e della Tecnologia
"Leonardo Da Vinci", Milano*



In collaborazione con  MICRO BIOMA

Editore **Clorofilla srl** - editoria scientifica

Direttore responsabile
Massimo Barberi

Art Director
Stefania Maffoni

Redazione
Lisa Trisciunglio

Direzione e redazione
Clorofilla srl - editoria scientifica
Via Podgora 12A, 20122 Milano
Tel 02 39523784 - www.clorofillaweb.it
Iscrizione al ROC n. 25358

Copyright © 2023 - Questa pubblicazione è protetta da copyright. Tutti i diritti sono riservati. Sono vietate la riproduzione e l'archiviazione in qualsiasi forma e qualsiasi mezzo elettronico, compresa la fotocopiatrice, senza autorizzazione scritta dell'Editore.

Immagini di copertina di Adobe Stock:
Lindasky76, Лилия Захарчук, GVS, lester120

Nota dell'Editore

La realizzazione di questa pubblicazione è stata effettuata con la massima accuratezza. Ciò nonostante, l'Editore non è responsabile per errori, omissioni e/o inesattezze e per qualunque conseguenza derivata dalle informazioni ivi contenute.

Per qualsiasi immagine riprodotta e per cui non si sia ottenuta autorizzazione alla riproduzione, l'Editore è disponibile al riconoscimento dei diritti di copyright in capo agli aventi diritto.

Le informazioni riportate nella pubblicazione non sostituiscono le indicazioni contenute nel Riassunto delle Caratteristiche di Prodotto dei prodotti menzionati.

Pubblicazione fuori commercio riservata agli operatori sanitari.

Questa pubblicazione è stata realizzata grazie al contributo non condizionato di **Yakult**

Indice

- 1** I viaggi spaziali e le loro implicazioni per il microbiota umano pag. 2
Prof.ssa Christine Moissl-Eichinger, *Medical University di Graz (Austria)*
- 2** IBS: nasce tutto tra le orecchie? pag. 6
Prof. Francisco Guarner, *Teknon Medical Centre di Barcellona (Spagna)*
- 3** Come i batteri influenzano la depressione: meccanismi dell'asse intestino-cervello e ruolo modulante dei probiotici pag. 11
Dott. Kazunori Matsuda, *Yakult Central Institute di Tokyo (Giappone)*
- 4** Microbiota del bambino: dalla bifido-dominanza a un ecosistema diversificato e resiliente pag. 16
Prof. Christoph Lacroix, *ETH - Politecnico federale di Zurigo (Svizzera)*
- 5** La formazione del microbiota intestinale nei bambini di 1 anno: dalla nascita allo svezzamento pag. 20
Dott.ssa Rachele De Giuseppe, *Università di Pavia*
- 6** Composizione del microbiota da 1 a 100 anni pag. 22
Prof. Gaspar Pérez Martínez, *Istituto di Agrochimica e Tecnologia degli alimenti (CSIC), Barcellona (Spagna)*
- 7** Cambiamenti del microbiota intestinale nelle decadi estreme di vita: un focus sui centenari pag. 30
Prof. Patrizia Brigidi, *Università di Bologna*
- 8** Sicurezza dei microrganismi usati come probiotici: quali strategie per il risk assessment? pag. 34
Prof. Pier Sandro Cocconcelli, *Università Cattolica del Sacro Cuore di Piacenza*

I viaggi spaziali e le loro implicazioni per il microbiota umano

Prof.ssa Christine Moissl-Eichinger,
Medical University di Graz (Austria)

La prima missione esplorativa su Marte è prevista entro la fine del decennio; tuttavia, prima di pensare a colonizzare un luogo così diverso da quello in cui si è evoluta la vita nell'arco di milioni di anni, è indispensabile chiedersi a quali cambiamenti andrà incontro l'organismo umano durante i lunghi viaggi per raggiungere la destinazione e la permanenza nel nuovo ambiente.

Tra gli aspetti da considerare, c'è anche il microbiota intestinale, come ha sottolineato la prof.ssa Christine Moissl-Eichinger della Medical University di Graz (Austria).

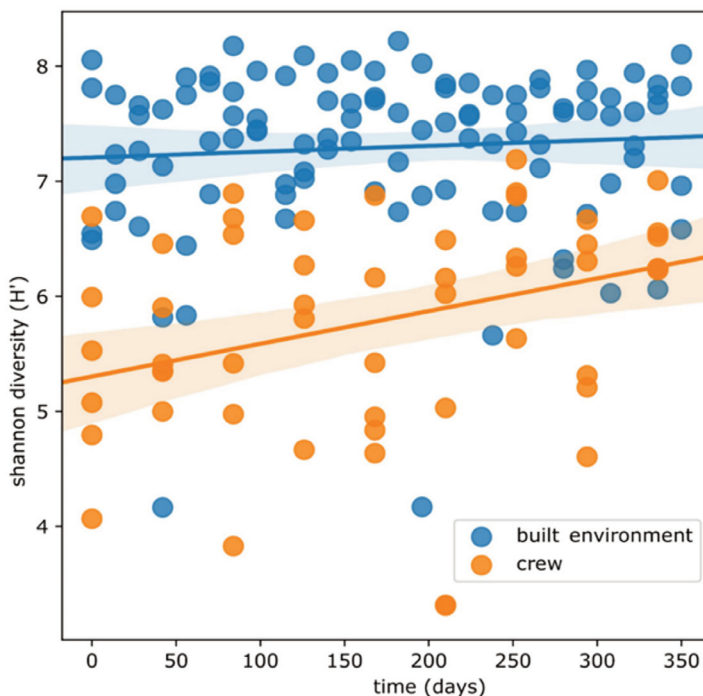
MICROBIOTA E MISSIONI SU MARTE

«È noto che circa l'8% degli astronauti riporta disturbi gastrointestinali in occasione di voli in orbita di durata variabile», ha spiegato la prof.ssa Moissl-Eichinger. «È, quindi, inevitabile chiedersi che cosa potrebbe accadere al microbiota umano durante un viaggio su Marte, dove fattori come la dieta, l'ambiente di vita e il sonno sarebbero profondamente modificati per un periodo di tempo prolungato. Oltre a tener conto del fatto che il successo della missione è strettamente legato alla salute dell'equipaggio e alle prestazioni che sarà in grado di garantire durante il volo e una volta giunto a destinazione, si deve anche considerare come il microbiota presente nell'intestino e sulla cute degli astronauti può colonizzare e modificare le superfici della navicella spaziale e, di conseguenza, quali accorgimenti può essere necessario prevedere per preservare un ambiente integro e salubre».

MICROBIOTA E MISSIONI SIMULATE SULLA TERRA

La simulazione Mars 500 è stata la prima ad avere riprodotto integralmente l'esperienza del viaggio su Marte di 6 astronauti, per una durata di 520 giorni. Nell'ambiente isolato della finta navicella spaziale è stato rilevato che le superfici erano dominate da *Staphylococcus aureus* e *Bacillus* spp. in quantità compatibile con la salute dell'equipaggio e l'integrità dei materiali e che le concentrazioni microbiche erano localizzate nelle zone a più alta attività e contatto umano.

«Durante il periodo sperimentale», ha precisato la prof.ssa Moissl-Eichinger, «è stato rilevato che la composizione e l'abbondanza delle comunità microbiche presenti sulle superfici variavano molto nel tempo, ma che la principale fonte di batteri era sempre l'equipaggio. I microrganismi patogeni erano selezionati positivamente (in relazione alle funzioni svolte dagli astronauti nelle varie sedi di prelievo), mentre la diversità microbica complessiva è andata via via riducendosi, come conseguenza dell'isolamento».



Modificato da: Mahnert A, et al. *Microbiome* 2021;9(1):1-21

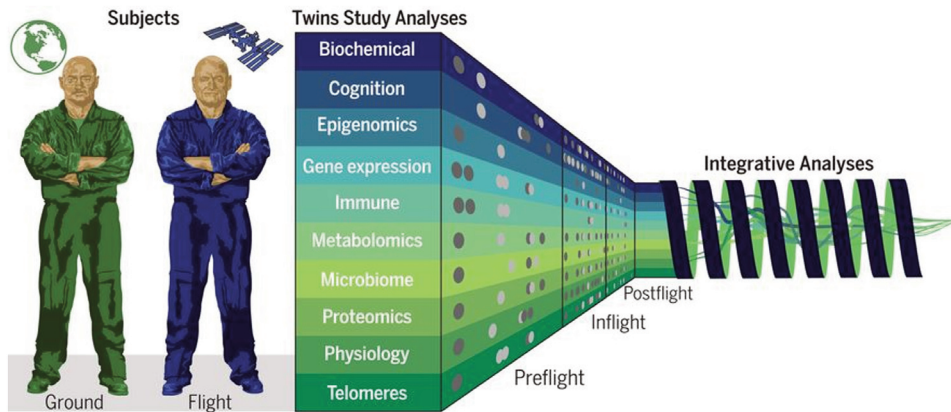
Il secondo studio è stato condotto durante la missione simulata HI-SEAS IV, alla quale hanno partecipato 6 astronauti per una durata di 12 mesi (da Settembre 2015 ad Agosto 2016). «In questo caso», ha sottolineato la prof.ssa Moissl-Eichinger, «sono state evidenziate ampie differenze in termini di diversità, abbondanza e composizione tra i microbioti presenti sulle superfici abiotiche ambientali (cucina, servizi igienici, desk operativi ecc.) e quelli presenti sulla cute dell'equipaggio. I primi sono risultati più stabili nel tempo, mentre i secondi hanno mostrato una notevole dinamicità, che ha portato a una maggiore diversità batterica al termine del periodo di isolamento (ma con modificazioni più o meno rilevanti in soggetti diversi).

Entrambi gli studi, dunque, hanno dimostrato l'esistenza di un continuo interscambio di microrganismi tra uomo e ambiente che non dà luogo a particolari criticità anche in condizioni di isolamento prolungato, ma con aspetti di variazione della composizione e della diversità microbica che vanno monitorati nell'ottica di prevenire evoluzioni sfavorevoli, potenzialmente dannose per la salute degli astronauti.

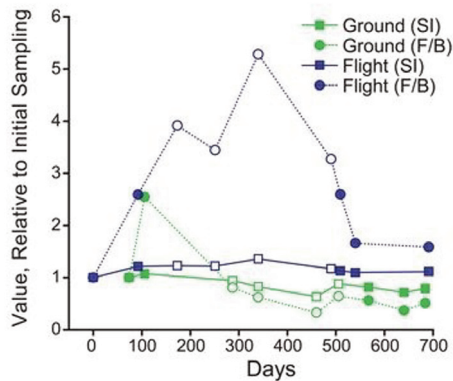
GLI STUDI SUL MICROBIOTA NELLE MISSIONI SPAZIALI REALI

Le analisi condotte sui microbioti dell'equipaggio della ISS hanno portato a risultati sovrapponibili a quanto osservato nelle missioni simulate Mars 500 e HI-SEAS IV. «Anche in questo caso», ha rassicurato la prof.ssa Moissl-Eichinger, «le caratteristiche fisiologiche e genomiche dei microrganismi isolati sulla ISS non sembrano avere un impatto rilevante per la salute umana (in termini di maggiore virulenza, adattamento agli stress ambientali o sviluppo di resistenze agli antibiotici) né costituire oggetto di preoccupazione. Tuttavia, è stata osservata una maggiore tendenza dei batteri a produrre biofilm, a resistere ai metalli e a interagire con le superfici: tutti fenomeni che devono essere approfonditi per tutelare da rischi sanitari l'equipaggio e da danni le superfici dell'astronave o della postazione spaziale».

Benché basato su studi limitati e da confermare, un ulteriore dato incoraggiante riguarda le variazioni del microbiota intestinale dell'equipaggio dopo il ritorno a terra. «È rassicurante l'osservazione che le modificazioni del microbiota intestinale che avvengono durante un viaggio spaziale della durata di un anno sono limitate e regrediscono rapidamente dopo il ritorno a terra, in un ambiente non confinato, con recupero delle caratteristiche del microbiota presente prima della missione nell'arco di 6 mesi circa».



Modificato da: Garrett-Bakelman FE, et al.
Science 2019;364(6436):eaau8650



CHE COSA ACCADE AI PROBIOTICI NELLO SPAZIO

«Anche i probiotici», ha sottolineato l'esperta, «sono organismi vivi che possono essere modificati in vario modo dall'assenza di gravità e dall'ambiente isolato della navicella spaziale, ma gli studi in questo ambito sono quasi inesistenti. A oggi, l'unico dato certo riguarda *Lactobacillus casei Shirota* in polvere che, portato in missione sulla ISS, ha dimostrato di mantenersi stabile per un periodo di un mese.»

IBS: nasce tutto tra le orecchie?

Prof. Francisco Guarner,
Teknon Medical Centre di Barcellona (Spagna)

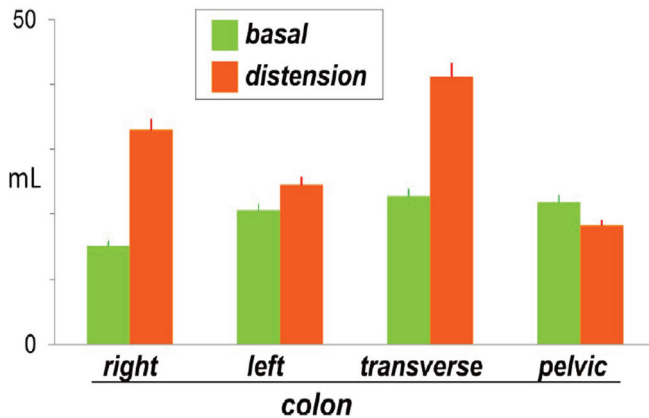
La sindrome dell'intestino irritabile (IBS, *Irritable Bowel Syndrome*) è una condizione molto diffusa nei Paesi occidentali, che in passato veniva essenzialmente riferita a problemi funzionali legati all'ansia e allo stress e che, oggi, i Criteri di Roma IV fanno rientrare nei disturbi dell'interazione intestino-cervello (DGBI, *Disorders of Gut-Brain Interaction*), riconoscendo il ruolo chiave del microbiota intestinale e delle alterazioni neuroormonali e immunitarie correlate a particolari assetti della flora batterica.

Dei meccanismi alla base dell'interazione intestino-cervello potenzialmente coinvolti nell'eziopatogenesi dell'IBS ha discusso il prof. Francisco Guarner del Teknon Medical Centre di Barcellona (Spagna).

LE MANIFESTAZIONI DELL'IBS

Per comprendere l'origine della risposta abnorme all'introduzione di cibo tipica dei soggetti affetti da IBS, è stato condotto uno studio che ha valutato il gas prodotto dalla fermentazione microbica di diversi alimenti e gli effetti di un pasto a base di lattuga.

«Molti pazienti affetti da IBS», ha spiegato l'esperto, «lamentano distensione addominale dopo aver mangiato alimenti ricchi di fibre vegetali. Tuttavia, analizzando *in vitro* il volume di gas prodotto dal microbiota intestinale durante la fermentazione della lattuga, è stato osservato che quest'ultimo era di poco superiore a quello liberato dalla fermentazione della carne e inferiore a quello della fermentazione dei legumi. Per cercare di capire da che cosa derivasse il gonfiore riscontrabile oggettivamente nei pazienti, sono state effettuate TAC addominali, prima e dopo un pasto a base di lattuga. L'esito, abbastanza sorprendente, è stato che dopo l'ingestione dell'ortaggio il volume di gas nel colon aumentava di poco (39 ± 4 ml), ma si verificavano una contrazione e un abbassamento del diaframma (7 ± 3 mm), con spo-



Modificato da: Barba E,
et al. *Neurogastroenterol
Motil* 2019;31(12):e13703

stamento degli organi addominali verso l'intestino e conseguente significativo aumento del volume addominale (di ben 835 ± 187 ml) e del giro vita».

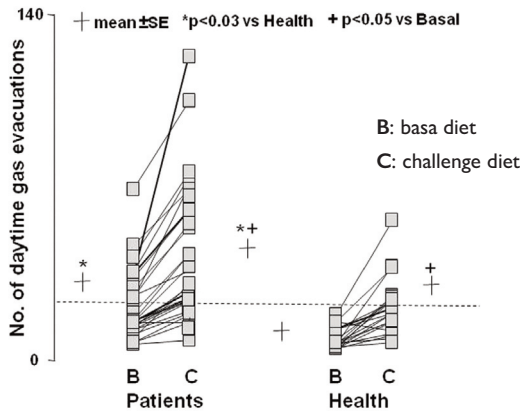
APPROCCI DIETETICI CONTRO L'IBS

Per cercare di prevenire e contrastare l'IBS, nel corso degli anni sono stati testati diversi approcci dietetici e psicologici.

«Tra i molti regimi alimentari sperimentati per alleviare i sintomi dell'IBS» ha spiegato il prof. Guarner, «c'è la dieta a basso contenuto di FODMAPs, zuccheri a corta catena (monosaccaridi, disaccaridi, oligosaccaridi e polioli) poco assorbibili dall'intestino e altamente fermentati dalla flora batterica, con conseguente effetto osmotico ed elevata produzione di gas nel colon. Una strategia completamente diversa per ridurre i fastidi dell'IBS è, invece, basata sulla terapia cognitivo-comportamentale (CBT, *Cognitive Behavioural Therapy*), finalizzata ad "abituare psicologicamente" il paziente all'assunzione di cibi ritenuti in grado di causare fastidi, attraverso l'esposizione ripetuta agli alimenti temuti e/o ad altri potenziali trigger. Gli studi hanno indicato che entrambe le strategie sono efficaci nel migliorare le manifestazioni dell'IBS».

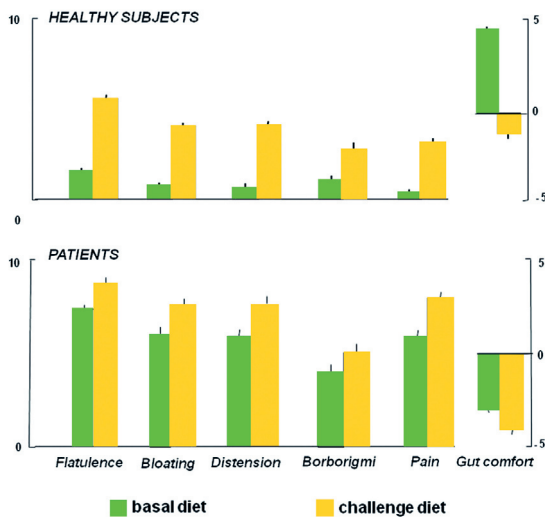
Per approfondire l'impatto dei diversi cibi assunti sulla produzione di gas intestinale e l'induzione dei sintomi dell'IBS potenzialmente correlati alle caratteristiche del microbiota intestinale, alcuni anni fa era stato condotto uno studio che aveva confrontato gli effetti di una dieta "flatulogena" (ricca di alimenti vegetali ricchi di fibre, simile alla dieta mediterranea) rispetto a una "convenzionale" in 30 pazienti con problemi di flatulenza e in 20 soggetti sani di controllo.

NUMBER OF GAS PASSAGES PER DAY



Modificato da: Manichanh C,
et al. Gut 2014;63(3):
401-408

DAILY ABDOMINAL SENSATIONS



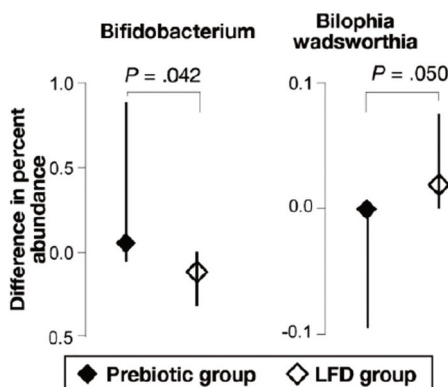
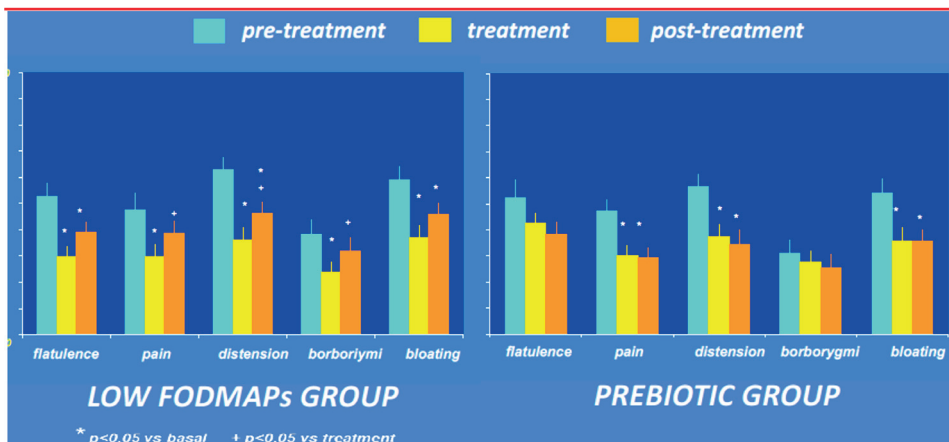
Modificato da:
Manichanh C, et al.
Gut 2014;63(3):
401-408

«Dal confronto», ha spiegato l'esperto, «è emerso che i vari tipi di disagio erano sperimentati non soltanto dai pazienti, ma anche dai soggetti sani e che, anzi, questi ultimi reagivano maggiormente al challenge dietetico, pur ricavandone minori fastidi in termini assoluti poiché partivano da una situazione intestinale più favorevole». «L'analisi della composizione del microbiota intestinale di pazienti e soggetti sani di controllo prima e dopo il challenge dietetico», ha aggiunto il prof. Guarner, «ha indicato che tra i primi, dopo soli 3 giorni, si verificavano significativi cambiamenti dell'abbondanza di *Bacteroidetes* e *Firmicutes*, che non si riscontravano nel gruppo di controllo: un esito indicativo dell'instabilità del microbiota dei soggetti con flatulenza.

Ulteriori valutazioni hanno evidenziato che l'aumento dell'evacuazione di gas intestinale durante la dieta challenge era correlato alla maggiore abbondanza di *Bilophila Wadsworthia* (ceppo tollerante agli acidi biliari e produttore di SH₂ nei pazienti, ma non nei soggetti sani di controllo). Questo riscontro induce a ritenere che chi soffre di gonfiore addominale e flatulenza possa avere un microbiota intestinale meno "adatto" a fermentare le fibre vegetali contenute in cereali, frutta, verdura e legumi e più adatto a fermentare le proteine».

IL RUOLO DELLE DISBIOSI NELL'IBS

Gli effetti intestinali favorevoli della dieta a basso contenuto di FODMAPs nei pazienti affetti da diverse forme di IBS dipendono dal fatto di fornire pochi substrati altamente fermentabili da determinati gruppi di microrganismi, portando a una selezione dei ceppi contenuti nel colon. Tuttavia, questo regime dietetico è troppo restrittivo per poter essere mantenuto per periodi prolungati.



Modificato da: Huaman JW, et al.
Gastroenterology 2018;
155(4):1004-1007

«Per facilitare i pazienti con IBS», ha sottolineato il prof. Guarner, «sono stati valutati gli effetti sul gonfiore addominale di interventi alimentari più semplici da seguire, come la supplementazione con prodotti probiotici e/o prebiotici. Per esempio, in un trial, gli effetti della dieta a basso contenuto di FODMAPs sono stati confrontati con quelli di una dieta bilanciata non restrittiva che prevedeva l'assunzione di un preparato prebiotico contenente galatto-oligosaccaridi (GOS). I pazienti con IBS arruolati nei due bracci presentavano sintomi gastrointestinali pre-trattamento analoghi e sono andati incontro a miglioramenti sovrapponibili durante i due interventi dietetici, risultati significativi per tutte le manifestazioni considerate (flatulenza, dolore addominale, borborigmi, gonfiore). Tuttavia, analizzando l'andamento degli stessi marker di discomfort intestinale nelle due settimane successive alla conclusione degli interventi, è stato osservato che i benefici permanevano soltanto in chi aveva assunto il prebiotico, mentre regredivano rapidamente in chi interrompeva dieta a basso contenuto di FODMAPs. Nello stesso studio è stato osservato, inoltre, che i due regimi alimentari proposti inducevano cambiamenti opposti dell'abbondanza di *Bifidobacterium* e *Bilophila wadsworthia*».

Alla luce delle evidenze disponibili, dal momento che l'obiettivo del trattamento non è eliminare dalla dieta le fibre vegetali e gli zuccheri che causano sintomi, ma indurre un adattamento del microbiota a un'efficiente e calibrata fermentazione di questi substrati, appare preferibile optare per l'assunzione di preparati prebiotici (o probiotici) nel contesto di una dieta varia e bilanciata.

Meccanismi dell'asse intestino-cervello nella depressione e ruolo modulante dei probiotici

Dott. Kazunori Matsuda,
Yakult Central Institute di Tokyo (Giappone)

Nel corso dei decenni, sono state formulate varie ipotesi sui possibili meccanismi patogenetici alla base della depressione, ma l'effettiva eziologia, complessa e multifattoriale, rimane ancora poco chiara. Ricerche recenti hanno segnalato che tra i fattori implicati nel suo sviluppo potrebbe avere un ruolo anche il microbiota intestinale, risultato in grado di modulare diverse funzioni cerebrali, il tono dell'umore e la risposta allo stress attraverso l'intricato sistema di comunicazione indicato come asse "microbiota-intestino-cervello".

La possibile correlazione tra caratteristiche dell'ecosistema batterico intestinale e MDD (Major Depressive Disorder) è stata esaminata dal dott. Kazunori Matsuda del Yakult Central Institute di Tokyo (Giappone).

DEPRESSIONE E ASSE "MICROBIOTA-INTESTINO-CERVELLO"

Tra le dimostrazioni più solide dell'esistenza dell'asse "microbiota-intestino-cervello", ci sono quelle fornite dagli studi di trapianto di microbiota fecale (FMT, *Fecal Microbiota Transplant*) da pazienti depressi o soggetti sani di controllo a topi germ-free.

«Questi lavori», ha spiegato il dott. Matsuda, «hanno evidenziato che i topi che ricevevano il FMT da pazienti con MDD avevano una composizione del microbiota fecale differente da quelli in cui veniva trasferito il microbiota dei soggetti di controllo e, soprattutto, che i topi del primo gruppo, dopo il FMT, iniziavano a presentare un comportamento depresso quando sottoposti a vari stress».

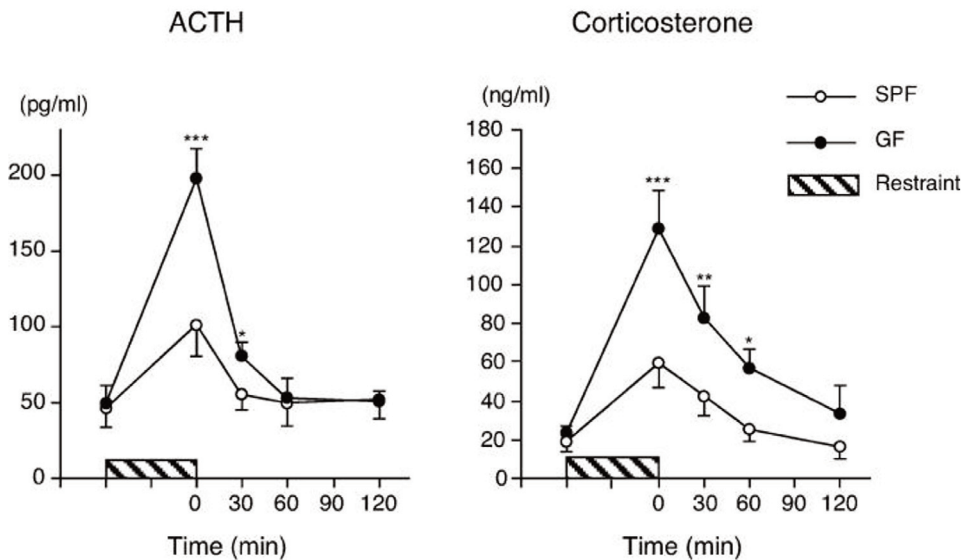
Una revisione sistematica di 17 studi che hanno analizzato la composizione del microbiota intestinale di soggetti depressi ha permesso di individuare un tratto comune: la riduzione dell'abbondanza di *Faecalibacterium*, uno dei principali generi batterici produttori di butirrato, acido grasso a catena corta (SCFA, *Short Chain Fatty Acid*) noto per la sua capacità di influenzare la neurogenesi e modulare l'infiammazione della mucosa intestinale.

«Anche il nostro gruppo di ricerca», ha sottolineato l'esperto, «ha analizzato il microbiota intestinale di pazienti depressi, riscontrando una diminuzione dell'abbondanza di *Bifidobacterium* e lattobacilli rispetto a soggetti sani di controllo. Relativamente ai *Bifidobacterium*, altri studi sono arrivati a conclusioni opposte, rilevando un aumento della loro abbondanza nei pazienti con MDD. Questa discrepanza potrebbe dipendere da variabili interferenti, come il diverso background genetico o ambientale dei pazienti, ma non inficia l'evidenza di un coinvolgimento del microbiota nella modulazione del tono dell'umore».

DISBIOSI INTESTINALI E DEPRESSIONE

«Una delle possibili vie attraverso le quali le disbiosi possono favorire l'insorgenza di MDD», ha spiegato il dott. Matsuda, «riguarda la capacità del microbiota intestinale di alterare la risposta allo stress. Come noto, l'esposizione a stress cronico aumenta il rischio di sviluppare depressione a causa di un'iperattivazione dell'asse ipotalamo-ipofisi-surrene (HPA, *Hypothalamic-Pituitary-Adrenal*), caratterizzata da un maggior rilascio da parte dell'ipotalamo di corticotropina (CRH, *Corticotropin-Releasing Hormone*), che stimola l'ipofisi a liberare nel sangue l'ormone adrenocorticotropo (ACTH, *AdrenoCorticoTropic Hormone*) e altri ormoni coinvolti nella risposta allo stress. L'ACTH arriva alle ghiandole surrenali che vengono indotte a produrre ormoni glucocorticoidi (in particolare, il cortisolo) e neurotrasmettitori come adrenalina e noradrenalina che inducono e sostengono lo stato di stress».

«Questo sistema», ha proseguito l'esperto, «è regolato da un feedback negativo che, dopo ogni aumento di cortisolo nel sangue, induce l'ipotalamo a ridurre il rilascio di CRH, frenando i meccanismi dello stress. Nei pazienti depressi sembra che tale feedback negativo sia compromesso, con l'effetto di mantenere elevati a lungo i livelli plasmatici di cortisolo e di promuovere l'infiammazione sistemica e la riduzione del BDNF (*Brain Derived Neurotrophic Factor*), due fattori ritenuti coinvolti nell'eziopatogenesi della MDD. Il ruolo del microbiota intestinale in questi fenomeni è stato verificato in uno studio giapponese, dal quale è emerso che nei topi SPF (*Spe-*



Modificato da: Sudo N, et al. *J Physiol* 2004;558(Pt 1):263-275

cific Pathogen Free) la risposta allo stress aveva un picco che si esauriva abbastanza rapidamente, mentre nei topi germ-free la risposta era esagerata e associata a un'aumentata secrezione dei marker di stress considerati».

Un'altra via di interazione tra microbiota intestinale e cervello è rappresentata dal nervo vago. «Si ritiene», ha spiegato il dott. Matsuda, «che i batteri intestinali possano stimolare le cellule enterocromaffini (ECC) presenti nella mucosa a liberare ormoni gastrointestinali che sollecitano le terminazioni del nervo vago, inviando messaggi al cervello attraverso le sue fibre sensitive. È stato dimostrato che alcuni ceppi probiotici, tra cui *Lactobacillus paracasei* Shirota (LcS), sono in grado di stimolare le fibre vagali afferenti, modulando la risposta allo stress. In particolare, è stato osservato che LcS attiva la branca gastrica del nervo vago e sopprime l'incremento di cortisolo plasmatico indotto dallo stress».

In una quota di casi, la depressione sembra essere indotta primariamente da uno stato di infiammazione sistemica cronica. «Il microbiota intestinale», ha spiegato l'esperto, «è risultato in grado di modulare lo stato infiammatorio e la risposta immunitaria dell'organismo e numerosi studi hanno evidenziato la capacità delle disbiosi intestinali di indurre l'aumento della permeabilità della barriera intestinale (leaky gut), risultata coinvolta nello sviluppo di MDD.

PROBIOTICI: QUALE RUOLO NELLA MMD?

«I probiotici caratterizzati da una potenziale azione favorevole sul tono dell'umore e la funzionalità cerebrale», ha sottolineato il dott. Matsuda, «vengono indicati con il termine di “psicobiotici”».

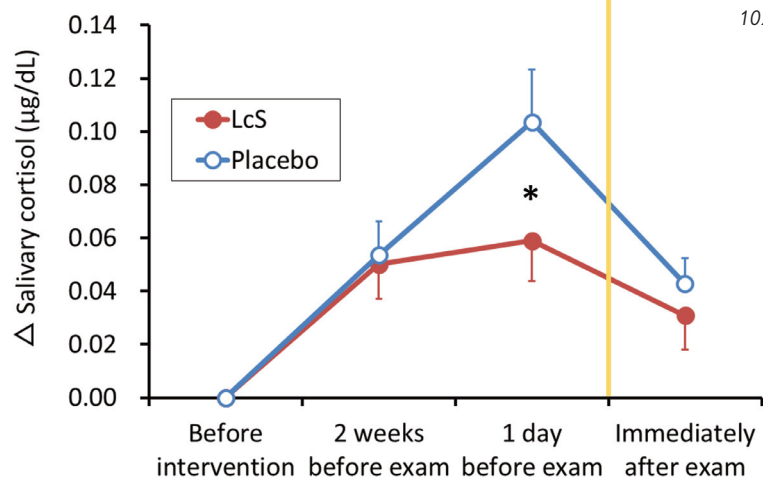
Tra quelli che hanno dimostrato i maggiori effetti favorevoli c'è LcS. «In uno studio che ha coinvolto 40 pazienti con MMD», ha precisato l'esperto, «la somministrazione di una capsula di probiotico contenente LcS per 8 settimane ha determinato il miglioramento dei sintomi depressivi, dei marker di insulinoresistenza e dei livelli di proteina C reattiva (PCR) rispetto al placebo. In un secondo studio, che ha previsto la somministrazione di probiotici, prebiotici o placebo in tre diversi gruppi di pazienti depressi, è stato riscontrato il miglioramento dei sintomi depressivi e una diminuzione del rapporto kynurenina/triptofano nel gruppo che aveva assunto il probiotico con LcS».

Anche il gruppo del dott. Matsuda ha testato un probiotico contenente LcS. «Nella valutazione», ha spiegato l'esperto, «sono stati arruolati 18 pazienti depressi (15 con MDD e 3 con disturbo bipolare), ai quali è stato chiesto di assumere una bevanda a base di latte fermentato con LcS, una volta al giorno per 12 settimane.

Al termine dei tre mesi di assunzione regolare, i sintomi depressivi e la qualità del sonno erano significativamente migliorati. Nello stesso studio, è stata evidenziata una correlazione tra una conta significativamente inferiore di *Bifidobacterium* e la mancata risposta all'intervento probiotico, laddove le risposte migliori si associavano a conte più elevate di *Bifidobacterium* durante tutto il periodo d'assunzione di LcS. Risultati analoghi sono stati osservati per il cluster *Atopobium*, anch'esso appartenente al phylum *Actinobacteria*, suggerendo l'esistenza di un effetto sinergico tra LcS e batteri commensali presenti nel microbiota».

L'effetto psicobiotico di LcS è stato esaminato anche in relazione all'impatto sulla risposta allo stress di 140 studenti universitari che stavano per affrontare un esame impegnativo. Dalla valutazione è emerso che la concentrazione di cortisolo salivare aumentava in tutti gli studenti mentre si avvicinava il giorno dell'esame, ma in chi assumeva regolarmente la bevanda probiotica nel corso delle 2 settimane pre-esame il valore di picco era significativamente minore rispetto a chi aveva assunto il placebo.

Change in salivary cortisol



Modificato da: Takada M,
et al. *Neurogastroenterol
Motil* 2016;28(7):
1027-1036

Microbiota del bambino: dalla bifido-dominanza a un ecosistema diversificato e resiliente

Prof. Christoph Lacroix,
ETH - Politecnico federale di Zurigo (Svizzera)

Il prof. Christoph Lacroix dell'Istituto di Scienze dell'Alimentazione e della Nutrizione dell'ETH, Politecnico federale di Zurigo (Svizzera), ha illustrato i principali fattori e i meccanismi che regolano la formazione del microbiota enterico nella prima infanzia.

ORIGINE E FUNZIONI DEL MICROBIOTA

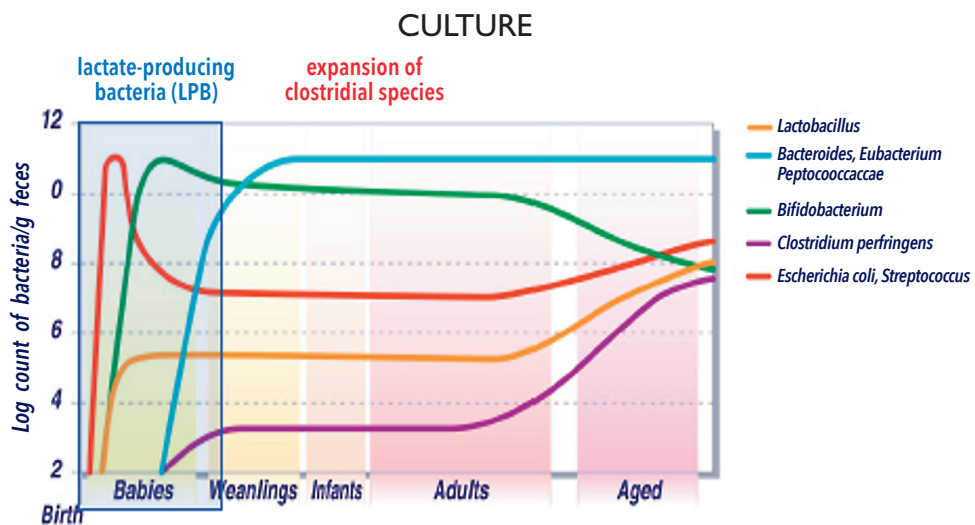
Nonostante la considerevole variabilità interindividuale dei microbioti, gli studi condotti su bambini nei primi anni di vita hanno permesso di individuare fasi comuni di colonizzazione dell'intestino, caratterizzate dalla predominanza di diversi gruppi di batteri, in successione.

«Le prime valutazioni su colture fecali», ha spiegato l'esperto, «avevano indicato che, poco dopo la nascita, oltre a *Escherichia coli* e *Streptococcus* prevalgono generi produttori di lattato, come bifidobatteri e lattobacilli, ai quali successivamente si aggiungono *Bacteroides*, *Eubacterium* e *Peptococcaceae*, mentre i clostridi si espandono in un terzo momento, aumentando in età adulta e, soprattutto, nell'anziano. Le successive analisi metagenomiche condotte nei primi 3 anni di vita del bambino hanno precisato che:

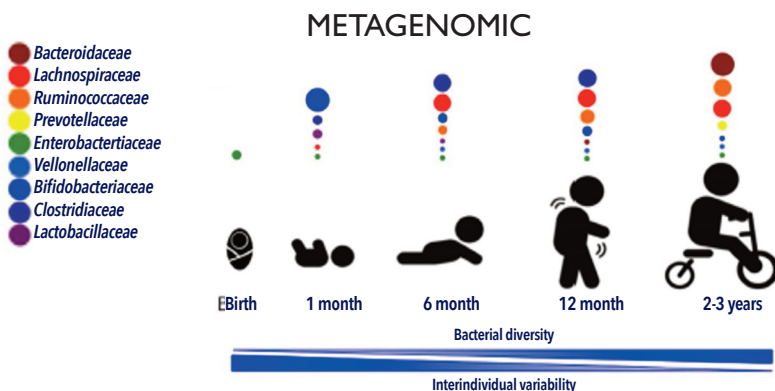
- alla nascita, sono presenti essenzialmente *Enterobacteriaceae*;
- al 1° mese di vita, predominano bifidobatteri, lattobacilli e clostridi;
- tra 6 e 12 mesi, diventano prevalenti i clostridi e le *Lachnospiraceae*, seguiti da *Ruminococcaceae* e bifidobatteri;

- verso il 2°-3° anno sono presenti soprattutto *Bacteroidaceae*, *Ruminococcaceae*, *Lachnospiraceae* e iniziano a essere abbondanti le *Prevotellaceae*, mentre persistono piccole quote di bifidobatteri».

Uno studio svedese che ha analizzato l'evoluzione del microbiota di 471 bambini di età compresa tra 0 e 5 anni ha indicato che, benché i maggiori cambiamenti avvengano entro il 3° anno di vita, la modulazione della composizione microbica prosegue anche nel periodo successivo, con un continuo incremento della diversità, per poi stabilizzarsi sull'assetto tipico dell'età adulta intorno ai 5 anni.



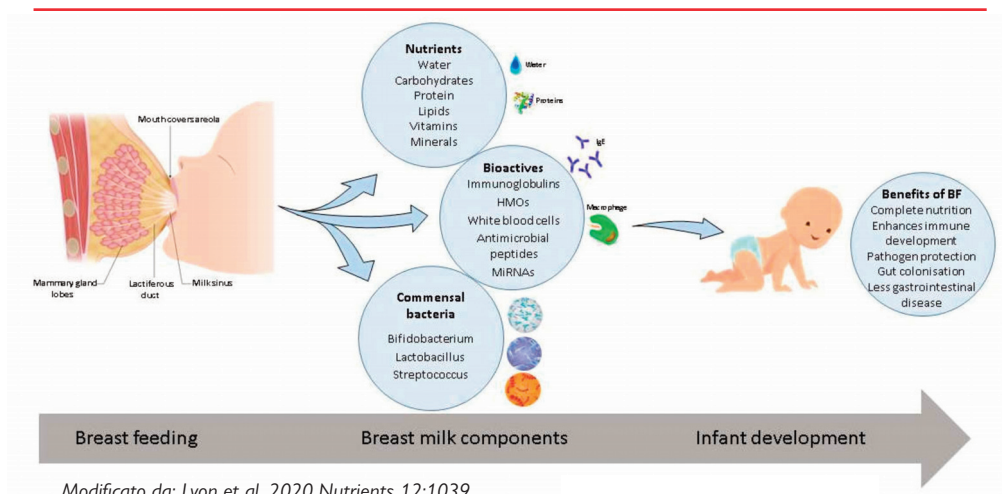
Modificato da: Mitsuoka T, 1984 Nahrung 28:619



Modificato da: Baked et al. 2015 Cell Host & Microbes 17:690

LATTE MATERNO E MICROBIOTA DEL NEONATO

Per comprendere l'impatto dell'allattamento al seno sullo sviluppo della flora batterica intestinale del neonato, il gruppo del prof. Lacroix ha analizzato il microbiota fecale e le comunità batteriche presenti nel latte di 7 coppie mamma-bambino nel primo mese di allattamento al seno esclusivo, dopo parto per via vaginale.



«I test hanno evidenziato due distinti profili microbici fecali nei neonati sani: uno caratterizzato dalla prevalenza dei bifidobatteri e l'altro dominato dai *Bacteroides*. Inoltre, è stato osservato che, fin dai primi giorni di vita, la quantità di batteri anaerobi stretti supera di oltre 60 volte quella degli anaerobi facoltativi, mentre sono assenti microrganismi produttori di butirrato, tipici del microbiota dell'adulto, come *Roseburia* e *Faecalibacterium*. La presenza di *Bacteroidetes* nella prima comunità microbica della maggioranza dei neonati indica che batteri anaerobi stretti caratteristici del microbiota adulto possono colonizzare l'intestino fin dalla prima settimana di vita, contrariamente a quanto ritenuto in precedenza per i neonati allattati al seno».

«Anche il microbiota intestinale materno può avere un ruolo nell'impostazione di quello del neonato», ha commentato il prof. Lacroix, «se i ceppi batterici in esso contenuti sono trasferiti al neonato durante l'allattamento al seno. Il nostro gruppo ha infatti osservato che alcuni generi di anaerobi obbligati, come *Bifidobacterium* (in particolare, *B. breve*), *Bacteroides*, *Parabacteroides* e vari *Clostridia* (*Blautia*, *Clostridium*, *Collinsella* e *Veillonella*) sono presenti sia nelle feci materne sia nel latte e nelle feci del neonato, evidenziando la possibilità di una colonizzazione verticale dell'intestino del bambino allattato al seno da parte del microbiota enterico della mamma».

VIE METABOLICHE DEL MICROBIOTA INTESTINALE NEONATALE

«Il principale zucchero fornito dal latte materno», ha ricordato il prof. Lacroix, «è il lattosio, che viene utilizzato e trasformato in lattato dai lattobacilli (*Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, *Propionibacterium*, *Staphylococcus*, *Streptococcus* ecc.). Un'altra fonte diretta di lattato è il metabolismo degli oligosaccaridi contenuti nel latte materno (HMO, *Human Milk Oligosaccharides*) utilizzati da *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, *Bacteroides* ecc. Fonti indirette sono, invece, gli stessi HMO e la mucina.

Sia la presenza di lattato sia i sottoprodotti del suo metabolismo possono indurre disturbi intestinali nel bambino e la diversa composizione della flora batterica può fare la differenza tra benessere e malessere.

Per esaminare la correlazione tra composizione del microbiota del neonato e metabolismo intestinale del lattato, il gruppo dell'ETH ha analizzato i campioni fecali di 40 neonati sani, nati a termine con parto vaginale o con taglio cesareo, 32 dei quali privi di disturbi intestinali e 8 con coliche, con metodiche basate su colture e indagini molecolari.

«La modalità di parto è risultata essere il principale fattore in grado di influenzare il metabolismo intestinale del lattato e l'abbondanza dei principali batteri produttori e utilizzatori di lattato è apparsa variabile dalla 2° settimana al 6° mese di vita, con riduzione dei generi *Staphylococcus* e *Streptococcus* tra i primi e aumento di *Veillonella* tra i secondi. Gli studi tassonomici hanno confermato questi riscontri e ulteriori valutazioni hanno evidenziato una correlazione tra il metabolismo del lattato e la produzione di H_2 , nonché un aumento dei batteri produttori di butirrato durante il periodo di svezzamento (6-24 mesi)».

MICROBIOTA, H_2 E COLICHE INTESTINALI DEL NEONATO

In considerazione degli effetti intestinali negativi dell' H_2 liberato dai batteri utilizzatori di lattato come *Veillonella*, il gruppo del prof. Lacroix si è chiesto se nell'intestino dei neonati privi di coliche potessero esserci batteri utilizzatori di lattato, ma non produttori di H_2 , in grado di garantire il benessere dei bambini.

«I dati ottenuti hanno permesso di verificare la capacità di *Cutibacterium avidum* P279 di colonizzare il sistema di fermentazione e di competere con i batteri utilizzatori di lattato/produttori di H_2 ».

La capacità di colonizzazione intestinale e di competizione con i batteri utilizzatori di lattato/produttori di H_2 di *C. avidum* P279 è stata confermata *in vivo*.

La formazione del microbiota intestinale nei bambini di 1 anno: dalla nascita allo svezzamento

Dott.ssa Rachele De Giuseppe,
Università di Pavia

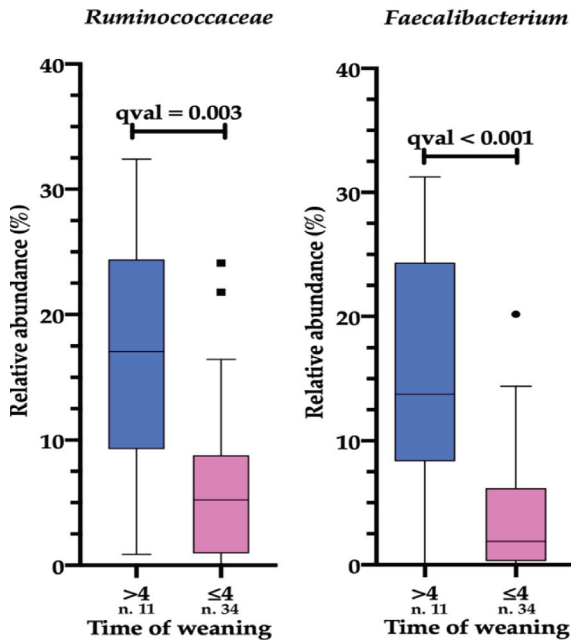
I primi mille giorni di vita di un essere umano, dal concepimento ai due anni circa, sono cruciali per impostare la composizione “core” del microbiota intestinale, che costituisce il punto di partenza per la definizione di quello che accompagnerà l'organismo per tutto il resto dell'esistenza, influenzandone lo stato di salute fisica e psicologica, la risposta agli alimenti, ai microrganismi patogeni e agli agenti esterni in genere. Tra le ricerche degli ultimi anni che hanno iniziato a far luce sul meccanismo che porta alla composizione “core” del microbiota intestinale c'è il progetto A.MA.MI (*Alimentazione Mamma bambino nei primi Mille giorni*; [www.clinicaltrials.gov: NCT04122612](http://www.clinicaltrials.gov/NCT04122612)). I risultati raccolti al terzo follow-up dello studio sono stati presentati dalla dott.ssa Rachele De Giuseppe dell'Università di Pavia.

LO STUDIO A.MA.MI

«Lo studio A.MA.MI», ha sottolineato la dott.ssa De Giuseppe, «ha esaminato l'impatto dei principali fattori perinatali potenzialmente in grado di influenzare il microbiota intestinale in 60 coppie mamma-bambino. I campioni fecali sono stati analizzati in quattro diversi momenti del follow-up: al T0, fissato prima del parto; a T1, T2 e T3, corrispondenti rispettivamente a 1, 6 e 12 mesi dopo la nascita.

I RISULTATI A 12 MESI DI VITA

I risultati del terzo follow-up sono stati ottenuti dall'esame dei campioni fecali di 45 coppie mamma-bambino prelevati 12 mesi dopo il parto.



Modificato da: Vacca M, et al. IYS 2022, 12-13 Ottobre, Milano; Poster 3

«Dalla valutazione del DNA e dell'RNA ribosomiale 16S presente nei campioni fecali», ha segnalato la dott.ssa De Giuseppe, «è emerso che l'unica variabile in grado di determinare significative differenze in termini di abbondanza e composizione del microbiota intestinale del neonato sono le tempistiche dello svezzamento, considerando la soglia del 4° mese di vita come discriminante tra uno svezzamento “precoce” e “non precoce”. Tutti gli altri fattori prenatali e post-natali considerati hanno, invece, mostrato di avere un'influenza marginale. In particolare, è stato osservato che lo svezzamento

dopo il 4° mese di vita si associa a una maggiore presenza intestinale di *Ruminococcaceae* e *Faecalibacterium*, rispetto ai neonati che iniziavano ad assumere cibi solidi più precocemente. A riguardo, va ricordato che il *Faecalibacterium* è ritenuto un indicatore di salute intestinale, poiché produce sostanze antinfiammatorie, e che la sua riduzione è stata riscontrata in condizioni come le malattie infiammatorie croniche intestinali (IBD, *Inflammatory Bowel Disease*) e il cancro del colon-retto. Inoltre, i neonati svezzati dopo il 4° mese, pur essendo stati esposti per un tempo più breve a uno spettro ampio di sostanze, presentavano un maggior numero di vie metaboliche attive rispetto a chi veniva svezzato in anticipo».

Nel loro complesso, questi risultati indicano che il tipo di alimentazione offerta al bambino nei primi mesi di vita è il principale fattore in grado di modulare lo sviluppo del microbiota intestinale “core” dell'individuo dal concepimento al 12° mese dopo la nascita e che posticipare l'introduzione di alimenti diversi dal latte dopo il 4° mese può contribuire alla formazione di un microbiota meno diversificato (minore α -diversità) e più stabile, ponendo migliori basi per la salute e il benessere negli anni successivi e riducendo il rischio di malattie non trasmissibili di tipo metabolico, immunologico e neurologico.

Composizione del microbiota da 1 a 100 anni

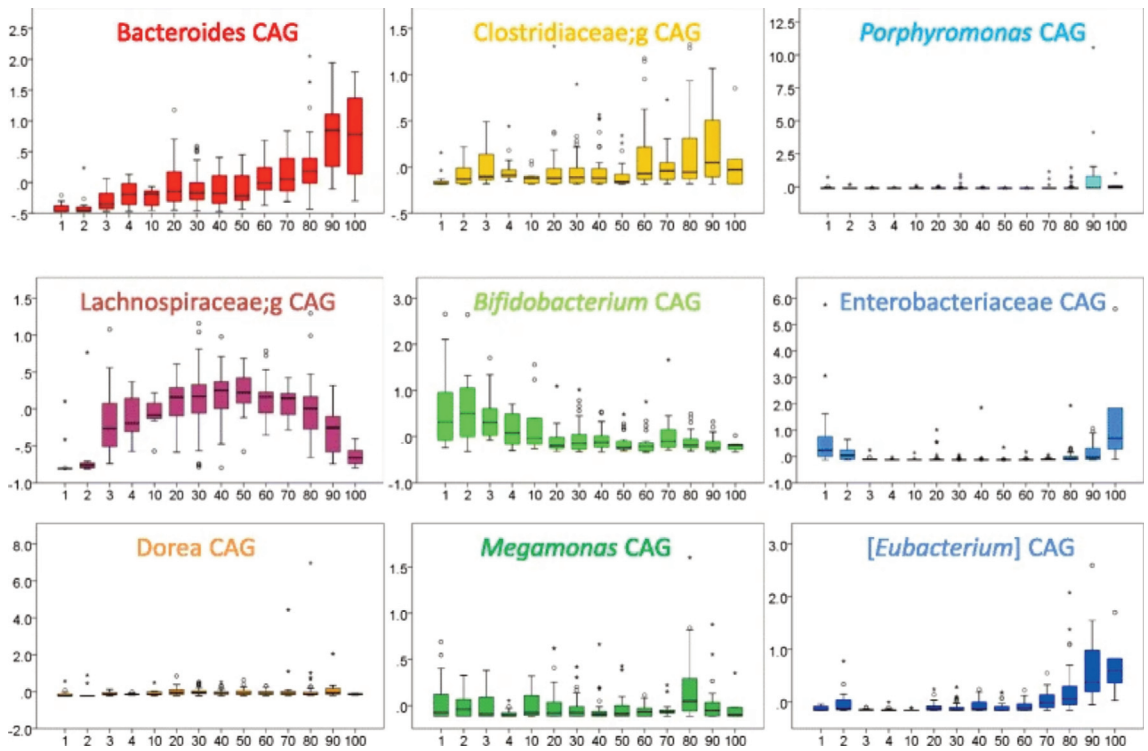
Prof. Gaspar Pérez Martínez,
*Istituto di Agrochimica e Tecnologia degli alimenti (CSIC),
Barcellona (Spagna)*

Esiste un orologio biologico correlato al microbiota? E la composizione del microbiota può essere utilizzata come marker dell'età dell'individuo? Quali fattori sono maggiormente in grado di influenzare l'ecosistema intestinale da 0 a 100 anni? In che modo? E con quali ripercussioni sulla funzionalità e la salute dell'organismo che lo ospita? Ha cercato di rispondere a queste domande il prof. Gaspar Pérez Martínez dell'Istituto di Agrochimica e Tecnologia degli alimenti (CSIC) di Barcellona (Spagna).

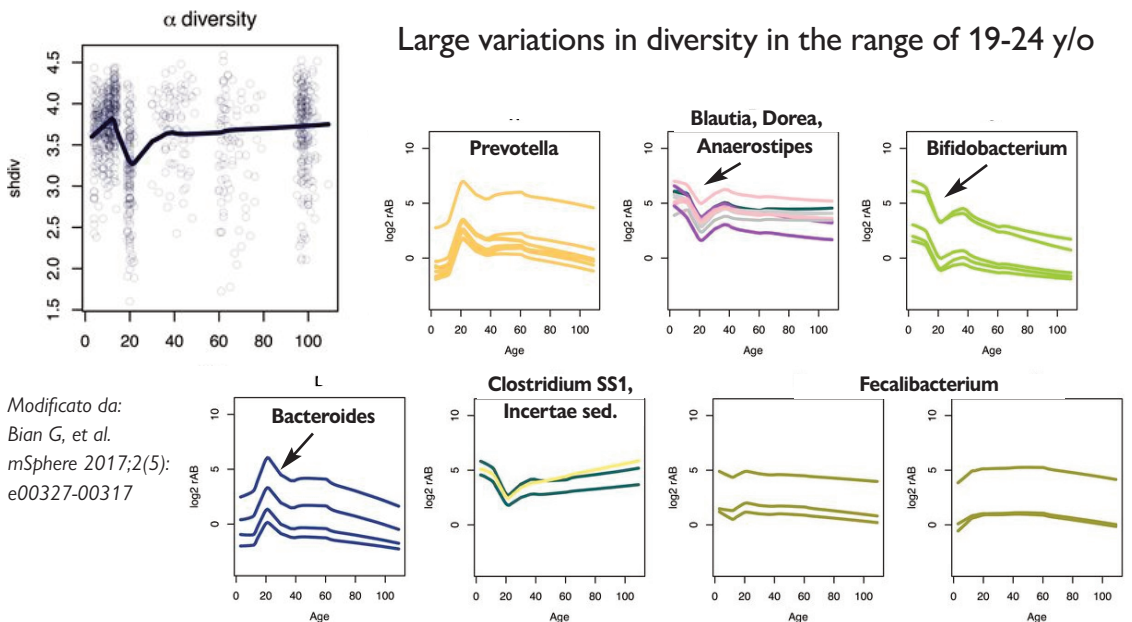
COME CAMBIA IL MICROBIOTA NEL CORSO DELLA VITA

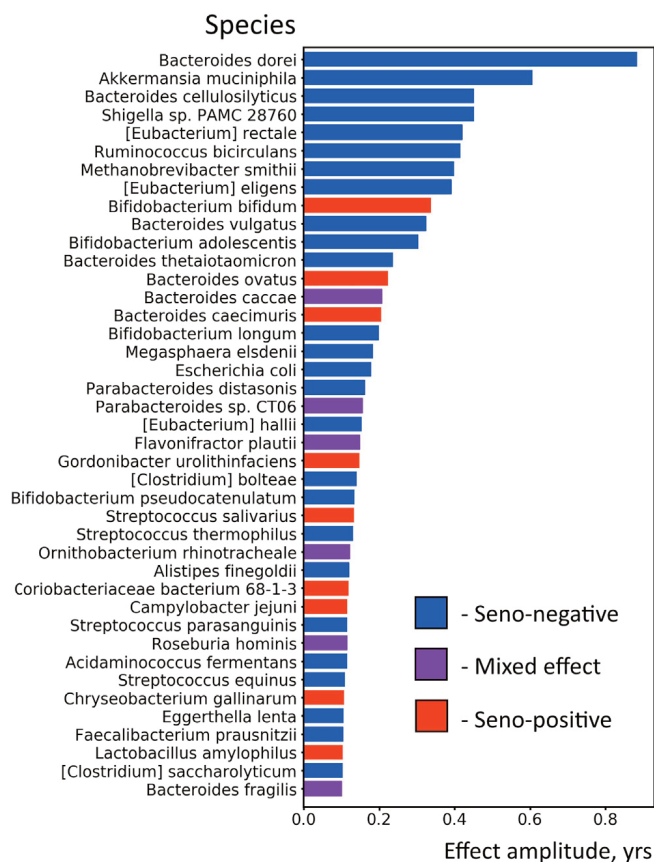
« I generi batterici maggiormente rappresentati e utilizzati come marker d'età sono *Bacteroides*, *Lachnospiraceae*, *Bifidobacterium*, *Enterobacteriaceae*, *Eubacterium* e *Clostridiaceae*. A ogni età, *Bacteroides*, *Clostridiaceae* e *Lachnospiraceae* sono quelli più abbondanti; i primi due aumentano soprattutto dopo i 60 anni, mentre le *Lachnospiraceae* tendono a diminuire dopo i 70-80 anni; i *Bifidobacterium* sono prevalenti nell'infanzia e diminuiscono entro i 20 anni, mantenendosi pressoché costanti nelle decadi successive; *Eubacterium* ed *Enterobacteriaceae* sono presenti in piccole quote nei primi anni di vita, molto scarsi nell'infanzia-adolescenza e nell'età adulta, mentre aumentano sensibilmente, rispettivamente, dopo i 60 e gli 80 anni».

Un ulteriore dato interessante è il fatto che la maggiore diversità di composizione a livello individuale (α -diversità) in funzione dell'età si osserva nel giovane adulto e riguarda interi generi batterici, non singole specie.



Modificato da: Odamaki T, et al. BMC Microbiology 2016;16:90





Modificato da: Galkin F, et al. iScience 2020;23(6):101199

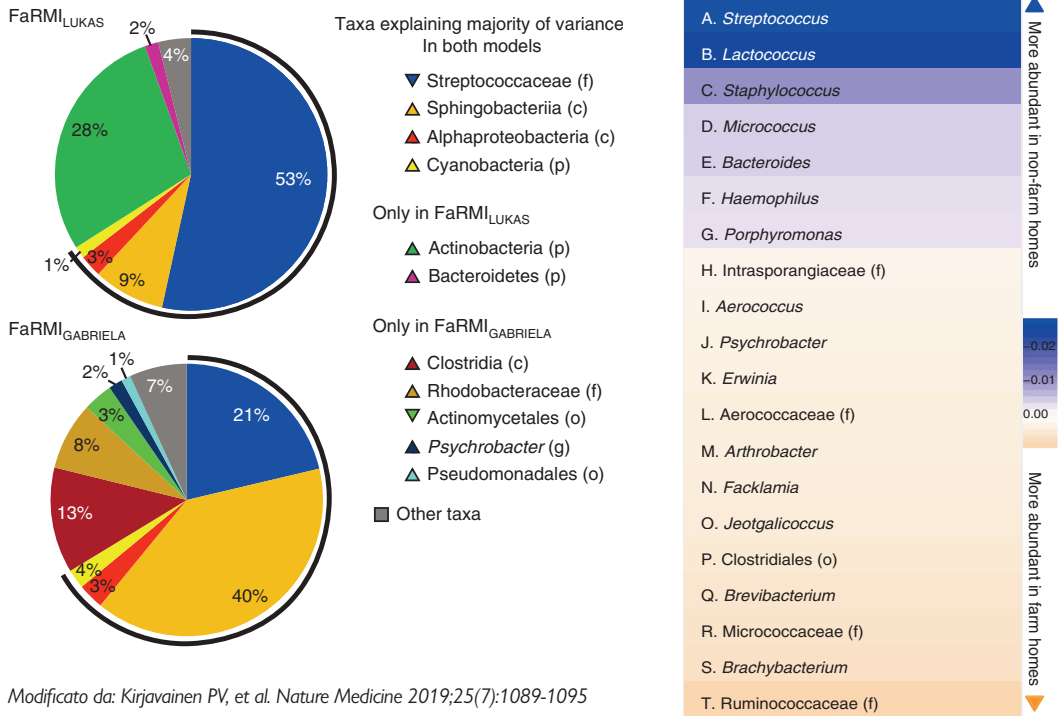
Uno studio metagenomico è però arrivato a conclusioni differenti. «In particolare», ha precisato l'esperto, «è stato osservato che l'abbondanza di *Bacteroides*, *Eubacterium* e *Bifidobacterium* è in grado di predire l'età del soggetto e che alcuni microrganismi opportunisti o presenti nell'ambiente possono avere un ruolo in questo senso. È, inoltre, emerso che alcune specie batteriche sono "seno-positive", aumentando durante l'invecchiamento, mentre altre sono "seno-negative" e altre ancora mostrano un comportamento "misto", con variazioni di abbondanza negli anni probabilmente correlate a una maggiore suscettibilità ad altri fattori interferenti».

I FATTORI CHE MODULANO IL MICROBIOTA

I fattori che possono influenzare la composizione del microbiota intestinale nel corso della vita sono innumerevoli, ma alcuni hanno dimostrato di avere un effetto più marcato rispetto ad altri. I principali sono l'ambiente e lo stile di vita, le caratteristiche genetiche, la dieta, l'esposizione agli antibiotici e lo stato di salute.

Ambiente

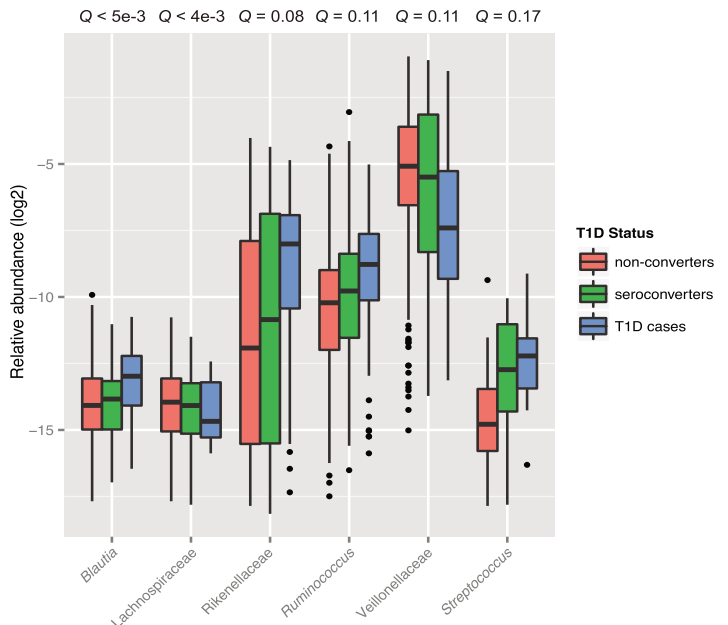
«Numerosi studi hanno verificato che risiedere in un contesto urbano riduce l' α -diversità batterica intestinale, mentre il contatto con l'ambiente naturale tipico delle zone rurali, con presenza di animali di vario tipo, tende a proteggere dallo sviluppo di malattie con base atopica (rinosinusite e asma allergici, dermatite atopica ecc.) grazie a una migliore modulazione del sistema immunitario, risultata correlata anche al tipo di microrganismi presenti nell'ambiente».



Modificato da: Kirjavainen PV, et al. *Nature Medicine* 2019;25(7):1089-1095

Genetica

«L'analisi dei profili di evoluzione del microbiota intestinale durante l'infanzia», ha spiegato il prof. Pérez Martínez, «ha permesso di identificare sottogruppi di bambini caratterizzati da particolari assetti batterici che si mantenevano stabili negli anni nel singolo soggetto, pur in un contesto di ampia variabilità interindividuale. In chi ha, poi, sviluppato DM1 è stata riscontrata una minore α -diversità rispetto ai bambini che non hanno sviluppato la malattia, risultata



Modificato da: Kostic AD, et al. *Cell Host Microbe* 2015;17(2):260-273

associata a una maggiore prevalenza di microrganismi con attività pro-infiammatoria (come *Ruminococcus gnavus* e *Streptococcus infantarius*) e a specifici pathway metabolici e metaboliti (come la β -defensina 2 umana, HBD2). Questi dati hanno posto le basi per definire un possibile ruolo prognostico degli assetti microbici intestinali in bambini geneticamente predisposti al DM1».

Antibiotici

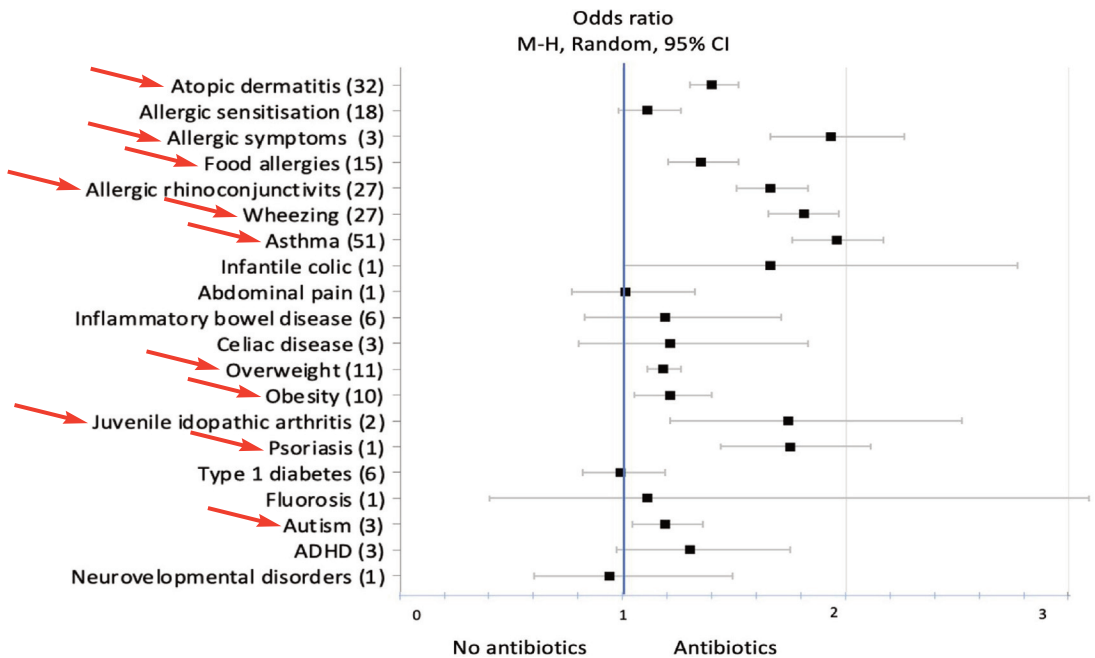
«Studi condotti in bambini di età variabile da 6 mesi a 12 anni, sottoposti a vari tipi di terapia antibiotica per periodi da 2 a 10 giorni», ha sottolineato il prof. Pérez Martínez, «hanno evidenziato una riduzione di α -diversità praticamente in tutti i gruppi trattati, con diminuzioni percentuali variabili da circa il 7% a oltre il 30%, già dopo 3-5 giorni di assunzione. Una recente metanalisi ha, inoltre, indicato che l'esposizione agli antibiotici nell'infanzia, specie se ad alto dosaggio, prolungata o ripetuta nel tempo, può avere ripercussioni negative a lungo termine sulla salute, aumentando il rischio di sviluppare un ampio ventaglio di patologie, la cui incidenza è risultata correlata a particolari assetti del microbiota intestinale. Le principali sono malattie con base autoimmune, come la rinosinusite e l'asma allergici, la dermatite atopica, la psoriasi e l'artrite idiopatica giovanile, ma è stato riscontrato anche un aumento della probabilità di sviluppare sovrappeso, obesità e autismo».

ANTIBIOTICS AND GUT MICROBOTA



Study authors, year, type and setting	Age group	Antibiotic	Days of therapy	Time between exposure and analysis	Indices of alpha-diversity used	Placebo/Control Group mean (95% CI)	Intervention group mean (95% CI or SD)	Percentage difference	Significance
Doan et al. RCT Niger	1–5 years	Azithromycin	Single dose	5 days	Shannon Inverse Simpson	15.42 (13.24–17.80) 6.91 (5.82–8.21)	10.60 (8.82–12.36) 5.03 (4.08–6.14)	–31.25% –27.21%	$p = .004$ $p = .03$
Oldenburg et al. RCT Burkino Faso	6–59 months	Azithromycin	5 days	5 days	Shannon Inverse Simpson	14.6 (13.0–16.2) 8.80 (7.5–10.1)	11.0 (9.3–12.7) 6.6 (5.5–7.8)	–24.65% –25.0%	$p < .001$ $p < .001$
Wei et al. RCT Denmark	1–3 years	Azithromycin	3 days	14 days	Shannon	3.41 (3.23–3.59)	2.96 (2.69–3.23)	–13.19%	$P = .009$
Parker et al. RCT India	6–11 months	Azithromycin	3 days	12 days	Shannon	2.8 (2.67–2.93)	2.6 (2.47–2.73)	–7.14%	$P = .087$
Bai et al. Cross-sectional China	1–12 years	Cephalosporin, Penicillin	10 days	1–4 weeks	Shannon Simpson	3.25*	2.75*	–15.38%	$P < .05$
Fouhy et al. Cohort Ireland	New-born	Ampicillin; gentamicin	2–9 days	4 weeks	Shannon	3.8†	3.6†	–5.26%	$P = .575$

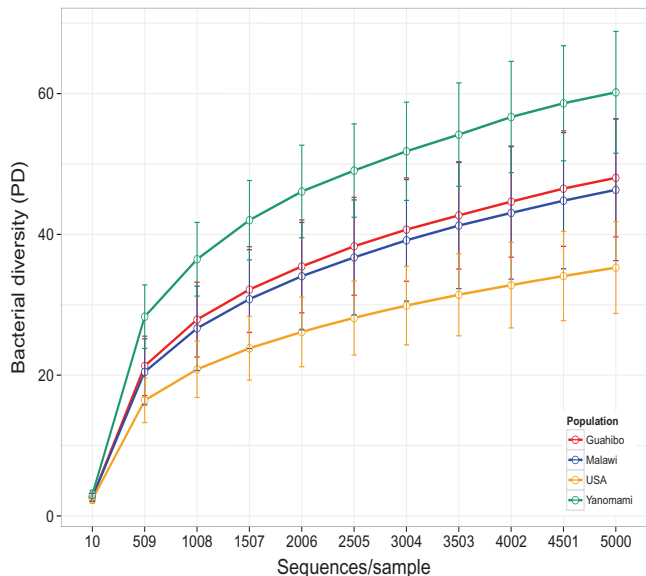
Modificato da: McDonnell, L., et al. 2021 *Gut Microbes* 13(1):1-18



Modificato da: Doung, et al. *Journal of Infections* 2022;85(3):213-300

Stile di vita

«Studi che hanno confrontato la composizione della flora batterica di popolazioni che vivono stabilmente in aree naturali selvagge di diverse parti del mondo (gruppi indigeni amerindi, colombiani e africani) con quella di persone residenti negli Stati Uniti», ha spiegato il prof. Pérez Martínez, «hanno rilevato valori molto differenti di diversità batterica nei vari gruppi etnici esaminati, con una diversità microbica e di funzioni genetiche massima nella popolazione Yanomami e minima nei cittadini statunitensi con stile di vita occidentale».



Modificato da: Clemente JC, et al. *Sci Adv* 2015;1(3):e1500183

Nell'impossibilità di vivere in ambienti naturali ricchi di stimoli batterici positivi e privi di sollecitazioni xenobiotiche, per promuovere il mantenimento di un ecosistema microbico intestinale favorevole è necessario puntare su altri aspetti dello stile di vita più facilmente modificabili.

«Uno di questi», ha sottolineato l'esperto, «è l'attività fisica, risultata in grado di modulare modestamente la composizione del microbiota (aumentandone l' α -diversità) e di influenzare in modo più marcato le sue funzioni metaboliche, orientandole in senso protettivo per il benessere intestinale, il metabolismo energetico e le difese immunitarie».

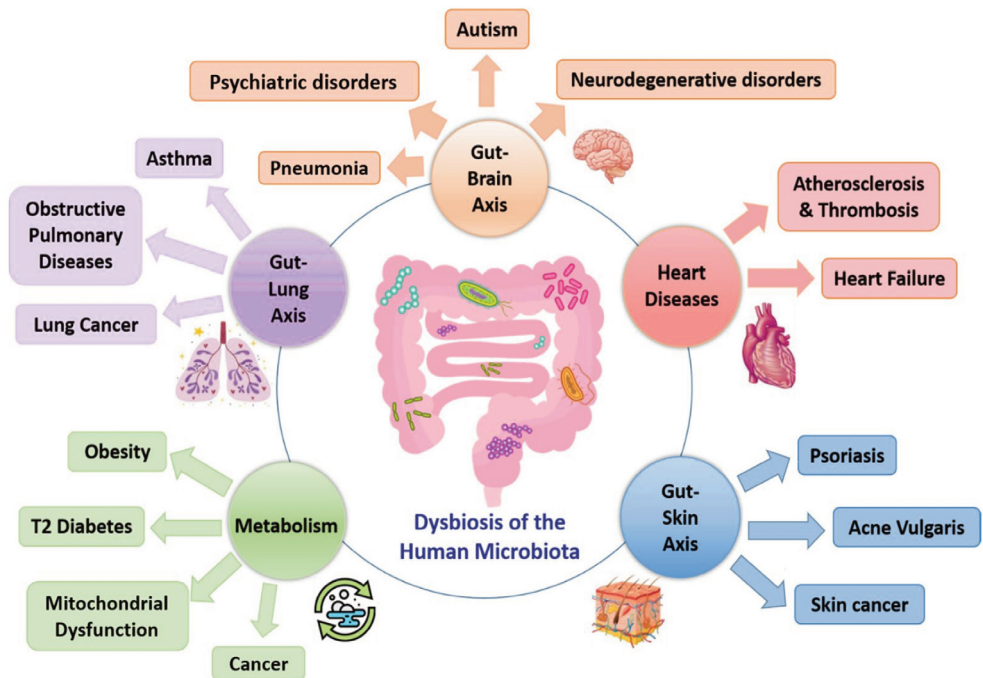
Dieta

«Uno studio che ha confrontato la composizione del microbiota intestinale di soggetti onnivori, vegetariani e vegani ha rilevato che i maggiori scostamenti tra i generi batterici riguardano l'ecosistema microbico di chi assume esclusivamente alimenti di origine vegetale, mentre i microbioti di vegetariani e onnivori appaiono ampiamente sovrapposti, seppur nell'ambito di una notevole variabilità interindividuale e con maggiori deviazioni in alcuni casi. Questo stesso lavoro ha indicato che chi aderisce maggiormente alla dieta mediterranea presenta un profilo metabolomico microbico più favorevole per il benessere intestinale rispetto a chi segue uno stile alimentare occidentale».

Stato di salute

Se è vero che caratteristiche e funzioni del microbiota intestinale possono influenzare notevolmente lo stato di salute dell'organismo nelle diverse fasi della vita, sul piano fisico e psichico, altrettanto vero è che la presenza di malattie acute o croniche di vario tipo può modificare sensibilmente l'ecosistema microbico intestinale. Ciò dipende non soltanto dalle terapie farmacologiche che può essere necessario assumere (come i già citati antibiotici, ma anche gli antiacidi, gli antinfiammatori, gli immunomodulanti, gli ormoni, gli antidepressivi, gli agenti chemioterapici ecc.), ma anche dallo stato infiammatorio dell'organismo e dal coinvolgimento dei diversi "assi" funzionali che coinvolgono il microbiota, in modo bidirezionale (asse intestino-fegato, intestino-cervello, intestino-pelle, intestino-polmoni ecc.).

È noto da tempo che durante l'invecchiamento si verifica un aumento dello stato infiammatorio dell'organismo, accompagnato da una generale riduzione delle difese immunitarie. «A livello del microbiota intestinale, queste variazioni associate all'età si traducono in un aumento di *Enterobacteriaceae* ed *Eubacterium* e in una diminuzione di *Lachnospiraceae* e *Bifidobacteriaceae*, mentre per i *Bacteroides* si registrano cambiamenti variabili in un senso o nell'altro, probabilmente legati anche alle caratteristiche del microbiota presente nel soggetto più giovane».



Modificato da: Gebrayel P, et al. *J Transl Med* 2022;20(1):111

Cambiamenti del microbiota intestinale nelle decadi estreme di vita: un focus sui centenari

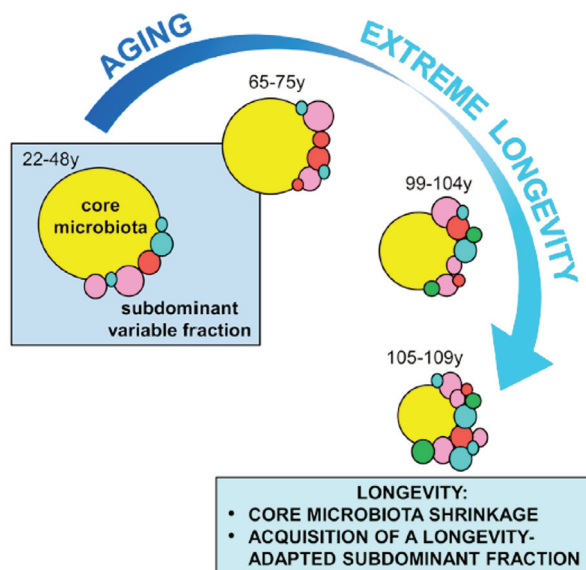
Prof.ssa Patrizia Brigidi,
Università di Bologna

La correlazione tra ecosistema microbico intestinale e invecchiamento è stata analizzata dalla prof.ssa Patrizia Brigidi, docente di Biotecnologie delle fermentazioni presso l'Università di Bologna.

IL MICROBIOTA DISTINTIVO DEGLI ULTRACENTENARI

«Quando si confrontano i microbioti di soggetti centenari (età 99-104 anni) e ultracentenari (105-109 anni)», spiega l'esperta, «si osserva una differenza fondamentale: mentre l'ecosistema enterico dei primi presenta ancora una composizione parzialmente sovrapposta a quella degli anziani nella fascia d'età 65-75 anni, quello degli ultracentenari si differenzia per caratteristiche peculiari, non presenti in nessun'altra fase della vita, che potrebbero almeno in parte giustificare la sopravvivenza eccezionalmente prolungata di questi soggetti. Studiare il microbiota di persone che raggiungono queste età "estreme" può aiutare a comprendere i meccanismi alla base di un invecchiamento "sano"».

Per delineare la traiettoria dei cambiamenti dell'ecosistema intestinale che avvengono con l'avanzare dell'età e le loro implicazioni, il gruppo della prof.ssa Brigidi ha analizzato soggetti di quattro coorti d'età - giovani adulti (22-48 anni), anziani (65-75 anni), centenari (99-104 anni) e ultracentenari (105-109 anni) - residenti nella stessa area geografica (Emilia Romagna), per ridurre l'influenza di variabili legate all'ambiente, alla dieta e allo stile di vita. Lo studio ha permesso di comprendere che esistono quattro assetti microbici distinti (uno per ogni fascia d'età) che con-



Modificato da: Biagi E, et al. *Curr Biol* 2016;26:1480-1485

dividono un microbiota “core”, composto principalmente da *Ruminococcaceae*, *Lachnospiraceae* e *Bacteroidaceae*. Questo microbiota “core” viene mantenuto durante tutta la vita adulta (da 24 a 109 anni), ma la sua diversità e la sua abbondanza tendono a ridursi durante l’invecchiamento, mentre diventano più rilevanti specie sub-dominanti, che assumono un assetto peculiare nel gruppo più longevo.

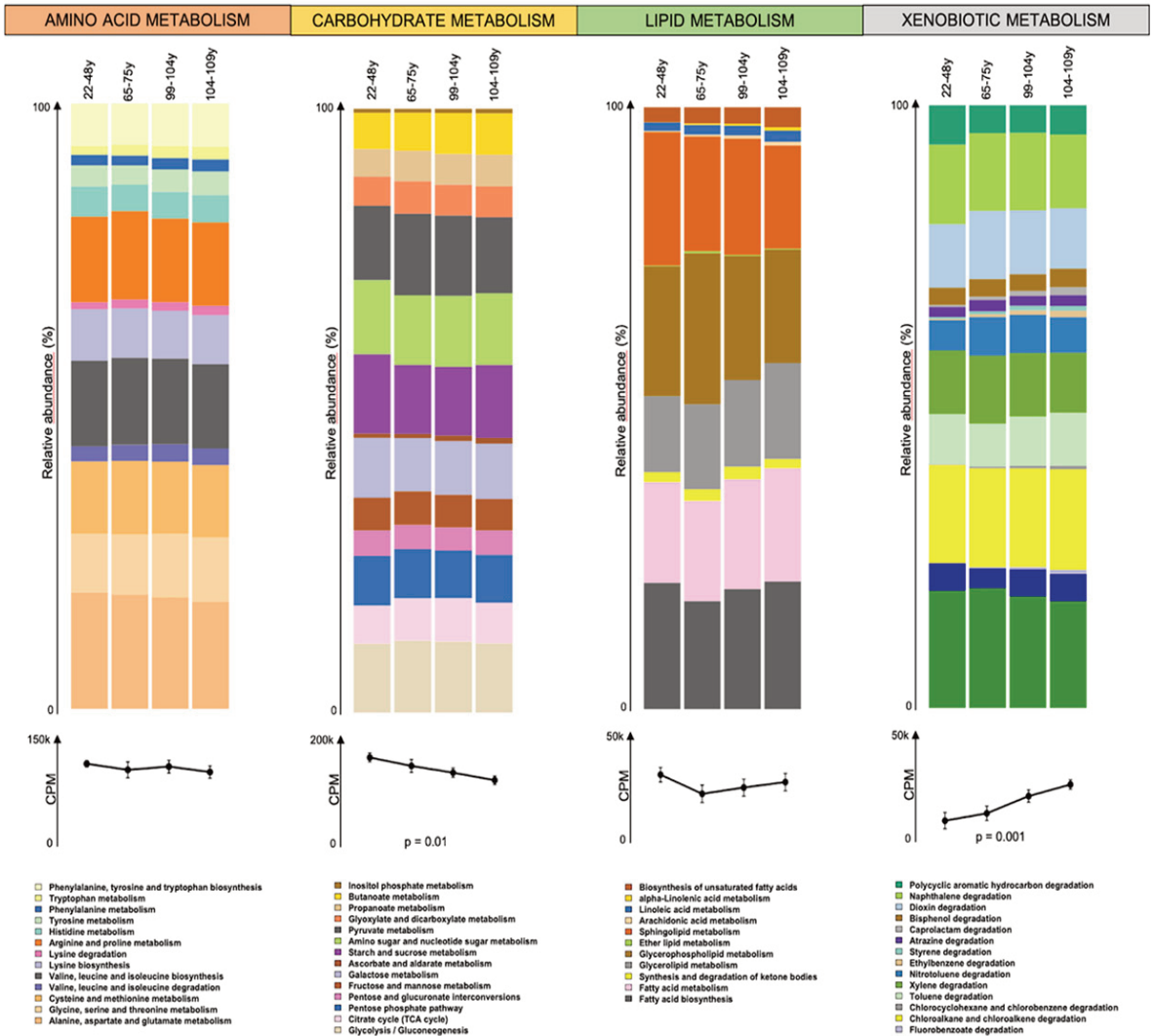
«L’analisi metagenomica dei microbioti delle 4 coorti », ha aggiunto la prof.ssa Bri-

gidi, «ha permesso di individuare 13 specie batteriche presenti nell’intestino umano durante tutto il corso della vita adulta. Le principali differenze del microbiota batterico legate all’invecchiamento riscontrate negli ultracentenari riguardavano, invece, una drastica diminuzione di *F. prausnitzii* e *Alistipes putredinis*, ma anche un arricchimento di alcune specie protettive della salute».

FUNZIONALITÀ DEL MICROBIOTA E INVECCHIAMENTO

A livello funzionale, sia nei centenari sia negli ultracentenari, sono stati evidenziati riarrangiamenti genetici correlati al metabolismo dei carboidrati, delle proteine e dei lipidi, così come alla degradazione di composti xenobiotici, probabilmente derivanti dall’adattamento ai progressivi cambiamenti della dieta e dello stile di vita avvenuti decade dopo decade.

Nei soggetti più longevi è stata osservata anche un’attività progressivamente crescente delle vie di degradazione del toluene, dell’etil-benzene, del cloro-ciclo-esano e del clorobenzene (tutti composti liberati dalle attività industriali) e del caprolattame (composto-base per la produzione del nylon, presente in molti oggetti d’uso comune, come tessuti e pelli sintetici, resine ecc.), che potrebbe dipendere da un adattamento del microbiota al diverso stile di vita mantenuto in età anziana, con



Modificato da: Rampelli S, et al. *mSystems* 2020;5(2):e00124-20

maggiore permanenza in ambienti chiusi rispetto agli spazi aperti, e al fatto di risiedere in aree urbane/industriali.

«Un ulteriore aspetto distintivo del microbiota dei centenari», ha proseguito l'esperta, «riguarda l'arricchimento di batteri in grado di produrre acidi biliari secondari peculiari. La capacità del microbiota di metabolizzare specifici acidi biliari riscontrata negli individui più longevi potrebbe contribuire a proteggerli dal rischio di infezioni da patobionti, mantenendo una migliore omeostasi intestinale».

CHRISTENSENELLA COME MARKER DI HEALTHY AGING

Studi che hanno confrontato i microbioti intestinali di centenari italiani e cinesi hanno evidenziato che tra i microrganismi con un impatto favorevole sulla salute, oltre ad *Akkermansia*, sembra essere particolarmente rappresentata *Christensenella*, al punto da poter essere considerata un marker di adattamento associato alla longevità, a prescindere dallo stile di vita e dalle abitudini dietetiche.

«I dati raccolti finora», ha precisato la prof.ssa Brigidi, «indicano che le *Christensenellaceae*, in particolare il ceppo *C. minuta* DSM 22607, sono in grado di esercitare attività antinfiammatoria sia *in vitro* sia *in vivo* e che la loro abbondanza nei campioni fecali di adulti sani si associa a una più elevata frequenza delle evacuazioni. Inoltre, una maggiore ricchezza di *Christensenellaceae* è stata riscontrata nell'intestino di soggetti magri rispetto a quelli in sovrappeso/obesi. In aggiunta, una maggiore abbondanza di *Christensenellaceae* è risultata correlata con un migliore profilo lipidico (minori livelli di colesterolo totale, trigliceridi, Apo B ecc.)».

LO STUDIO NU-AGE E GLI EFFETTI DELLA DIETA MEDITERRANEA

«Dallo studio europeo NU-AGE, è emerso che la dieta mediterranea è in grado di modulare la composizione dell'ecosistema intestinale, riducendo la perdita di diversità nel tempo e influenzando l'abbondanza di specifici componenti, con un tipo di risposta che resta costante tra individui di diversi Paesi».

«I generi batterici che hanno risposto meglio allo stile dietetico mediterraneo in NU-AGE», ha aggiunto l'esperta, «sono risultati associati negativamente a diversi marker di fragilità dell'anziano (comprese la proteina C reattiva, PCR, e IL-17) e positivamente alle funzioni cognitive. In particolare, la maggiore aderenza alla dieta mediterranea si associava a una maggiore diversità del microbiota e a una maggiore abbondanza di *Christensenellaceae*, *Porphyromonadaceae* e *Rikenellaceae*».

Sicurezza dei microrganismi usati come probiotici: quali strategie per il risk assessment?

Prof. Pier Sandro Cocconcelli,
Università Cattolica del Sacro Cuore di Piacenza

Man mano che gli studi sul microbiota avanzano vengono introdotti sul mercato sempre nuovi prodotti probiotici, prebiotici, post-biotici ecc. usati da un numero crescente di persone di ogni età.

Come viene stabilita la sicurezza di questi prodotti a tutela dei consumatori? Lo ha spiegato il prof. Pier Sandro Cocconcelli del Dipartimento di Scienze e Tecnologie Alimentari per una filiera agro-alimentare Sostenibile (DiSTAS) dell'Università Cattolica del Sacro Cuore di Piacenza.

LE FASI DELLA VALUTAZIONE DEL RISCHIO

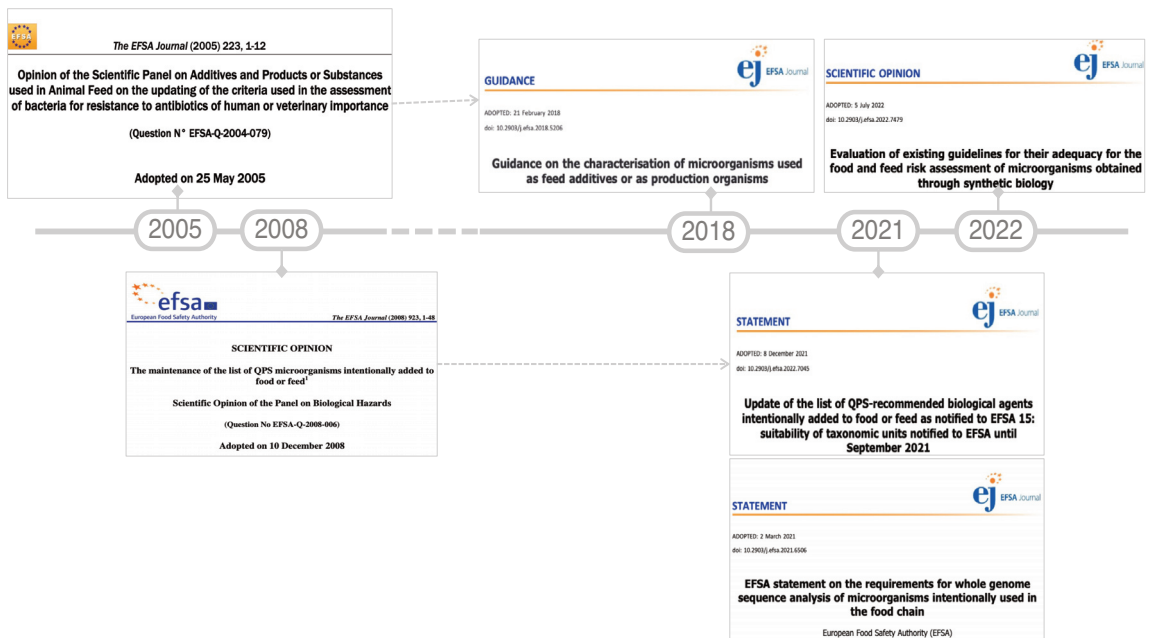
«Il processo di determinazione della sicurezza microbiologica degli alimenti», ha spiegato il prof. Cocconcelli, «prevede un percorso di risk assessment composto, generalmente, da quattro passaggi fondamentali:

- 1) l'identificazione del pericolo;
- 2) la caratterizzazione del pericolo;
- 3) la valutazione dell'esposizione;
- 4) la caratterizzazione del rischio. Questo approccio è stato sviluppato per tutelare i consumatori da possibili contaminazioni dei prodotti destinati all'alimentazione umana da parte di microrganismi notoriamente patogeni, in grado di determinare intossicazioni alimentari. In situazioni simili, l'identificazione del pericolo si basa principalmente sui dati epidemiologici relativi a infezioni o intossicazioni alimentari, mentre la caratterizzazione del pericolo prevede lo studio del ceppo che ha determinato il focolaio».

I DOCUMENTI DI RIFERIMENTO EFSA PER I PROBIOTICI

«Dalla sua costituzione nel 2002», ha segnalato il prof. Cocconcelli, «l'*European Food Safety Authority* (EFSA) ha sviluppato strategie e pubblicato documenti per supportare un corretto percorso di valutazione del rischio dei prodotti microbiologici destinati all'alimentazione umana o animale da sottoporre all'autorizzazione, secondo la regolamentazione prevista dall'Unione europea».

EVOLUZIONE DELLA REGOLAMENTAZIONE EFSA SUL RISK ASSESSMENT DEI PROBIOTICI



«La regolamentazione EFSA sul risk assessment dei probiotici», ha proseguito l'esperto, «si basa su quattro pilastri, precisamente definiti in documenti dedicati:

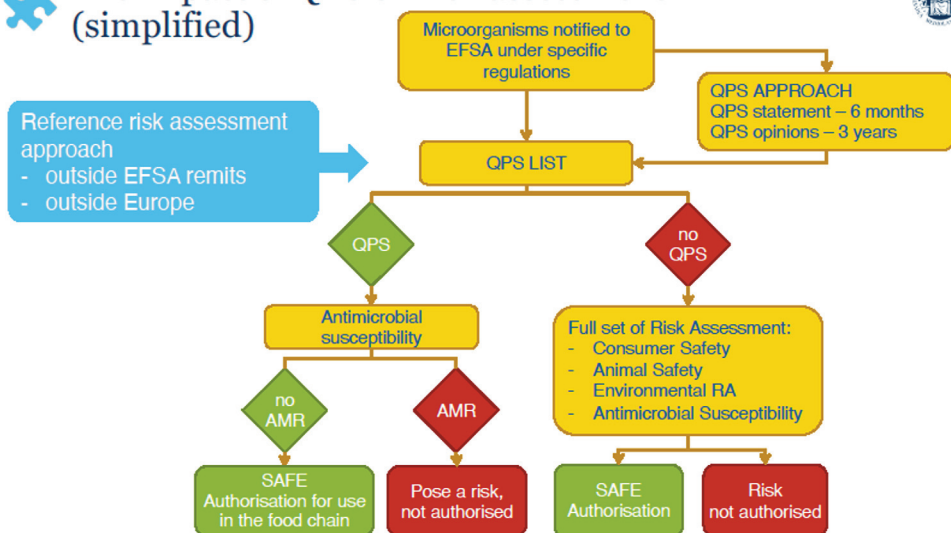
- la presunzione di sicurezza qualificata (QPS, *Qualified Presumption of Safety*);
- la verifica dell'assenza di resistenze acquisite nei confronti di antimicrobici critici o molto importanti per la salute umana o animale, perlopiù limitate a pochi ceppi batterici;
- l'analisi WGS (Whole Genome Sequencing) per ottenere informazioni tassonomiche dettagliate, caratterizzare i fattori di virulenza e rilevare geni di resistenza agli antimicrobici;

• la valutazione della sicurezza dei microrganismi geneticamente modificati.

«I probiotici che soddisfano i criteri della QPS», ha precisato il prof. Cocconcelli, «possono accedere a un processo di valutazione “fast track”, saltando i passaggi richiesti per l'autorizzazione di una specie mai utilizzata in precedenza, a meno che non siano emerse nuove informazioni scientifiche o problematiche sanitarie rispetto a quanto già noto».



The impact of QPS on risk assessment (simplified)



LIMITI DELLE METODICHE DI CARATTERIZZAZIONE DEI CEPPI

L'introduzione dell'analisi WGS ha sostanzialmente modificato l'approccio allo studio dei microrganismi rispetto alle tecniche precedentemente in uso, permettendo di identificare in modo molto più preciso il ceppo, le modificazioni genetiche presenti e i geni potenzialmente fonte di preoccupazione per la salute umana o animale.

«Le evoluzioni tecnologiche e l'aggiornamento delle richieste di caratterizzazione dei ceppi incluse nel documento EFSA», ha sottolineato il prof. Cocconcelli, «hanno permesso di ampliare molto le conoscenze sui microrganismi di interesse, ma hanno anche complicato il risk assessment, in considerazione della notevole mole di dati da considerare e della difficoltà di integrare le nuove informazioni con quelle della letteratura scientifica e dei dati epidemiologici già noti. Per esempio, come si comporta nei diversi contesti una specie mai isolata in coltura e identificata sol-

tanto sulla base dell'analisi genetica? Che fenotipo esprime? Di quali resistenze agli antibiotici è dotata?»

Per supportare la valutazione del rischio in questi casi, il documento EFSA del 2018, ancora in uso, fornisce alcune indicazioni utili, ma che appaiono già inadeguate nonostante siano passati pochi anni dalla sua pubblicazione.

ANALISI GENOMICA E FATTORI DI VIRULENZA

Attualmente, si dispone di informazioni abbastanza buone sulla classificazione tassonomica dei microrganismi e sulle resistenze agli antibiotici, mentre restano insoddisfacenti e frammentarie quelle relative ai fattori di virulenza e patogenicità.

«Fanno eccezione alcuni studi molto approfonditi che hanno esaminato questo aspetto in specifici microrganismi», ha precisato il prof. Cocconcelli. «Per esempio, il gruppo della prof.ssa Luisa Peixe dell'Università di Porto (Portogallo) ha identificato i fattori di virulenza di *E. faecium*. Relativamente alla determinazione della suscettibilità agli antimicrobici, il documento EFSA del 2018 indica che:

- i probiotici intenzionalmente introdotti nell'alimentazione non devono aumentare il pool di resistenze acquisite rispetto a quelle dei batteri già presenti nel microbiota intestinale, né favorirne la diffusione in nessun modo;
- gli antimicrobici da considerare in questo contesto sono quelli individuati dall'Organizzazione Mondiale della Sanità (OMS) nel 2016;
- le resistenze caratteristiche di una specie, presenti in tutti i microrganismi di quella specie, sono considerate "intrinseche" e non costituiscono motivo di preoccupazione, mentre lo sono tutte le resistenze acquisite da un singolo ceppo di una specie generalmente sensibile;
- per verificare la sensibilità agli antimicrobici devono essere forniti dati relativi alla concentrazione minima inibitoria (MIC) e ai geni di potenziale resistenza, evidenziati con WGS».

I dati indicano che la determinazione della MIC è un metodo di valutazione efficiente per valutare le resistenze agli antimicrobici di molti batteri comuni (come i lattobacilli, i bifidobatteri e gli streptococchi), ma può rivelarsi problematica per microrganismi con caratteristiche particolari.

«Un ulteriore problema di valutazione», ha aggiunto l'esperto, «è legato al concetto di “resistenza intrinseca”, definita come una resistenza all'azione di un antimicrobico condivisa da tutti i batteri della stessa specie. Questa definizione è pressoché impossibile da soddisfare perché le popolazioni batteriche presentano caratteristiche estremamente variabili e un determinato gene di resistenza può essere condiviso dall'ampia maggioranza dei membri di una specie, ma non da tutti».

Per cercare di precisare il concetto di “resistenza intrinseca”, l'EFSa ha esaminato le definizioni elaborate da altri enti internazionali focalizzati sull'argomento come l'EUCAST (*European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing*) dell'*European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*. Secondo l'EUCAST, “la resistenza a uno o più antimicrobici è “intrinseca” quando la maggioranza degli isolati wild-type è resistente a MIC così elevate che quell'agente antimicrobico non può essere preso in considerazione per nessuna terapia o test; inoltre, la definizione di “resistenza intrinseca” non è assoluta né permanente, ma può cambiare in relazione all'acquisizione di nuovi dati”.

«Una volta determinata», ha sottolineato lo specialista «la “resistenza intrinseca” ha due risvolti positivi: da un lato, il riscontro o meno di specifici geni di resistenza offre la possibilità di identificare meglio ceppi molto simili tra loro, come per esempio *E. faecium* ed *E. lactis*, difficilmente distinguibili su altre basi; dall'altro, secondo



Antimicrobial susceptibility



UNIVERSITÀ
CATTOLICA
del Sacro Cuore

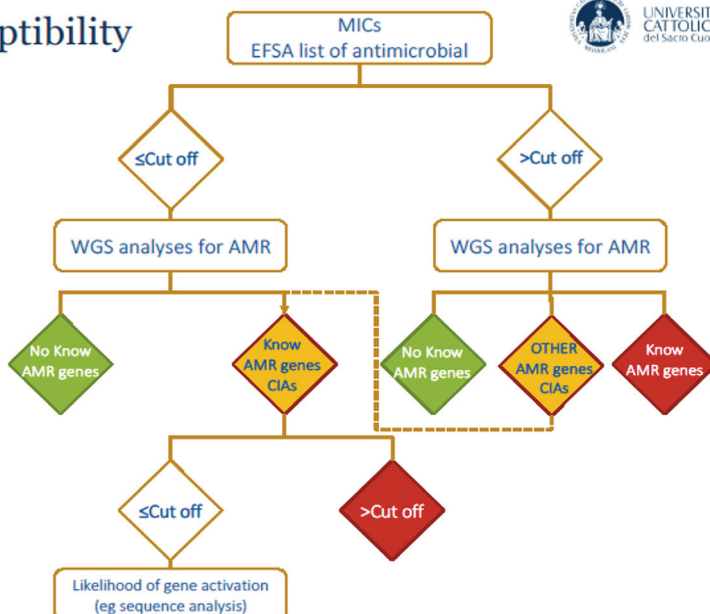
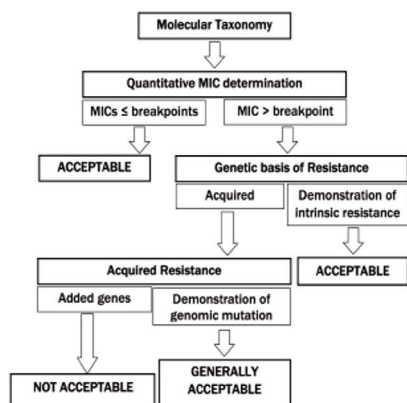


Table 2: Microbiological cut-off values (mg/L)

	Ampicillin	Vancomycin	Gentamicin	Kanamycin	Streptomycin	Erythromycin	Clindamycin	Tetracycline	Chloramphenicol	Tylosin	Ciprofloxacin	Colistin	Fosfomycin
<i>Lactobacillus</i> obligate homofermentative ^(a)	2	2	16	16	16	1	4	4	4	n.r.	n.r.	n.r.	n.r.
<i>Lactobacillus acidophilus</i> group	1	2	16	64	16	1	4	4	4	n.r.	n.r.	n.r.	n.r.
<i>Lactobacillus</i> obligate heterofermentative ^(b)	2	n.r.	16	64	64	1	4	8 ^(c)	4	n.r.	n.r.	n.r.	n.r.
<i>Lactobacillus reuteri</i>	2	n.r.	8	64	64	1	4	32	4	n.r.	n.r.	n.r.	n.r.
<i>Lactobacillus</i> facultative heterofermentative ^(d)	4	n.r.	16	64	64	1	4	8	4	n.r.	n.r.	n.r.	n.r.
<i>Lactobacillus plantarum/pentosus</i>	2	n.r.	16	64	n.r.	1	4	32	8	n.r.	n.r.	n.r.	n.r.
<i>Lactobacillus rhamnosus</i>	4	n.r.	16	64	32	1	4	8	4	n.r.	n.r.	n.r.	n.r.
<i>Lactobacillus casei/paracasei</i>	4	n.r.	32	64	64	1	4	4	4	n.r.	n.r.	n.r.	n.r.
<i>Bifidobacterium</i>	2	2	64	n.r.	128	1	1	8	4	n.r.	n.r.	n.r.	n.r.
<i>Pediococcus</i>	4	n.r.	16	64	64	1	1	8	4	n.r.	n.r.	n.r.	n.r.
<i>Leuconostoc</i>	2	n.r.	16	16	64	1	1	8	4	n.r.	n.r.	n.r.	n.r.
<i>Lactococcus lactis</i>	2	4	32	64	32	1	1	4	8	n.r.	n.r.	n.r.	n.r.
<i>Streptococcus thermophilus</i>	2	4	32	n.r.	64	2	2	4	4	n.r.	n.r.	n.r.	n.r.
<i>Bacillus</i>	n.r.	4	4	8	8	4	4	8	8	n.r.	n.r.	n.r.	n.r.
<i>Propionibacterium</i>	2	4	64	64	64	0.5	0.25	2	2	n.r.	n.r.	n.r.	n.r.
<i>Enterococcus faecium</i>	2	4	32	1,024	128	4	4	4	16	4	n.r.	n.r.	n.r.
<i>Corynebacterium</i> and other Gram-positive	1	4	4	16	8	1	4	2	4	n.r.	n.r.	n.r.	n.r.
Enterobacteriaceae	8	n.r.	2	8	16	n.r.	n.r.	8	n.r.	n.r.	0.06	2	8

n.r.: not required.

(a): Including *L. delbrueckii*, *L. helveticus*.

(b): Including *L. fermentum*.

(c): For *L. buchneri* the cut-off for tetracycline is 128.

(d): Including the homofermentative species *L. salivarius*.

Modificato da: EFSA Journal 2018;16(3):5206

il CLSI (*Clinical and Laboratory Standards Institute*), non è più necessario verificare la presenza di una “resistenza intrinseca” quando si utilizza un ceppo che notoriamente la possiede, adottando un approccio di valutazione più “flessibile” rispetto a quello attualmente previsto dall’EFSA».

Un problema aperto riguarda, invece, la valutazione della possibilità che i geni responsabili di resistenze acquisite siano trasferiti da una specie batterica all'altra. «Secondo il documento EFSA del 2005», precisa l'esperto, «i batteri portatori di resistenze acquisite non devono mai essere impiegati per l'alimentazione umana o animale».

NUOVI PRODOTTI, NUOVE APPLICAZIONI E RISK ASSESSMENT

Negli ultimi anni, l'intensa ricerca su probiotici e alimenti funzionali ha portato a sviluppare nuovi microrganismi e nuovi composti da essi derivati nel contesto di quella che è stata definita la “biologia sintetica”, consistente nell'applicazione di scienza, tecnologia e ingegneria per accelerare la progettazione, la produzione e la modificazione del materiale genetico contenuto in organismi viventi (*Scientific Com-*

mittee on Emerging and Newly Identified Health Risks, SCENIHR 2014).

Il problema è: come valutare il rischio associato a questi prodotti di nuova concezione per i quali non esistono controparti in natura né dati epidemiologici o di letteratura diversi da quelli che hanno portato al loro sviluppo?

«A riguardo», ha rassicurato il prof. Cocconcelli, «l'EFSA ha recentemente pubblicato due scientific opinion nelle quali viene sottolineato il fatto che il nuovo microrganismo da valutare deve essere testato sulla base delle caratteristiche finali che possiede e non del percorso, "convenzionale" o "sintetico", utilizzato per svilupparlo».

Al momento, invece, resta completamente da definire la procedura di valutazione dei preparati post-biotici, basati non su microrganismi viventi, ma su prodotti del loro metabolismo. In questo caso, probabilmente saranno definiti percorsi di risk assessment più simili a quelli previsti per le biomasse, i novel food o gli integratori/supplementi alimentari, considerando anche il concetto di QPS per i composti derivati dal metabolismo dei microrganismi che rientrano nella relativa lista EFSA.

Fonti

- Aizawa E, et al. *J Affect Disord* 2016;202:254–257
- Akkasheh G, et al. *Nutrition* 2016;32(3):315-320
- Backhed et al. *Cell Host Microbes* 2015;17:690-703
- Barba E, et al. *Neurogastroenterol Motil* 2019;31(12):e13703
- Biagi E, et al. *Curr Biol* 2016;26:1480-1485
- Black CJ, et al. *Gut* 2022; 71(6):1117-1126
- Brereton NJB, et al. *Comput Struct Biotechnol J* 2021;19:2223-2235
- Candore G, et al. *Rejuvenation Res* 2008;11(2):425-432
- Clemente JC, et al. *Sci Adv* 2015;1(3):e1500183
- De Filippis F, et al. *Gut* 2016 Nov;65(11):1812-1821
- Doung, et al. *Journal of Infections* 2022;85(3):213-300
- EFSA Journal 2005;223:1-12
- EFSA Journal 2008;923:1-48
- EFSA Journal 2018;16(3):5206
- EFSA Journal 2020;18(10):6263
- EFSA Journal 2021;19(7):6506
- EFSA Journal 2021;19(7):6506
- EFSA Journal 2022;20(1):7045
- EFSA Journal 2022;20(8):7479
- Ford AC, et al. *Am J Gastroenterol* 2019;114(1):21-39
- Freitas AR, et al. *J Antimicrob Chemother* 2018;73:306-319
- Galkin F, et al. *iScience* 2020;23(6):101199
- Garrett-Bakelman FE, et al. *Science* 2019;364(6436):eaau8650
- Gebrayel P, et al. *J Transl Med* 2022;20(1):111
- Ghosh TS, et al. *Gut* 2020; 69(7):1218-1228
- Goodrich JK, et al. *Cell* 2014;159(4):789-799
- Halmos EP, et al. *Gastroenterology* 2014;146(1):67-75.e5
- Halmos EP, et al. *Gut* 2015;64(1):93-100
- Henrich JF et al. *J Psychosom Res* 2015;78(3):205-222
- Huaman JW, et al. *Gastroenterology* 2018;155(4):1004-1007
- Jost T, et al. *Envir Microbiol* 2014;9:2891-2904
- Kazemi A, et al. *Clin Nutr* 2019;38:522-528

Kim H, et al. *J Med Internet Res* 2022;24(6):e35260

Kong F, et al. *Current Biology* 2016;26(18):R832-R833

Kostic AD, et al. *Cell Host Microbe* 2015;17(2):260-273

Kropp C et al. *Sci Rep* 2021;11(1):11494)

Kundsén JK, et al. *Brain Behav* 2021;11:e02177

Lim MY et al. *Gut* 2017;66:1031-1038

Lopez-Contreras BE, et al. *Pediatr Obes* 2018;13(6):381-388

Mahnert A, et al. *Microbiome* 2021;9(1):1-21

Manichanh C, et al. *Gut* 2014;63(3):401-408

Mitsuoka T. *Nahrung* 1984;28:619-625

Mora M, et al. *Nature communications* 2019;10(1):1-18

Odamaki T, et al. *BMC Microbiology* 2016;16:90

Oki K, et al. *BMC Microbiology* 2016;16:284

Otake M, et al. *Microorganisms* 2021;9:1026

Pham VT, et al. *Environ Microbiol* 2016;18:2246-2258

Pham VT, et al. *Sci Rep* 2017;7:11176

Pham VT, et al. *Front Nutr* 2022;9:948131

Pham VT, et al. *mSystems* 2019;4:e00264-18

Rampelli S, et al. *mSystems* 2020;5(2):e00124-20

Ren M, et al. *Microorganisms* 2021;9(12):2524

Rocha-Martin VN, et al. *FEMS Microbiol Ecol* 2019;95:fly215

Rocha-Martin VN, et al. *Front Nutr* 2022;9:902159

Roswall et al. *Cell Host Microbes* 2021;29:765-776.e3

Sansonì P, et al. *Exp Gerontol* 2008;43(2):61-65

Sato Y, et al. *Nature* 2021;599(7885):458-464

Schmulson MJ, Drossman DA. *J Neurogastroenterol Motil* 2017;23(2):151-163

Schwendner P, et al. *Microbiome* 20175(1):1-23

Selma-Royo M, et al. *Nutrients* 2022;14:1709

Sudo N, et al. *J Physiol* 2004;558(Pt 1):263-275

Takada M, et al. *Neurogastroenterol Motil* 2016;28:1027-1036;

Tanida M, et al. *Neurosci Lett* 2005;389:109-114

Tavella T, et al. *mSphere* 2021;6(5):e0069121

Tavella T, et al. *Gut Microbes* 2021;13(1):1-19

Vacca M, et al. *IYS* 2022, 12-13 Ottobre, Milano; Poster 3

von HerEnstein OS, et al. *Clin Exp Allergy* 2000;30:187-193

Zheng P, et al. *Mol Psychiatry* 2016;21(6):786-796



Science for Health

«La nostra filosofia: contribuire al benessere delle persone in tutto il mondo, attraverso l'eccellenza nella ricerca scientifica e la specializzazione nel campo dei probiotici».

La visione lungimirante del fondatore di Yakult, il Dott. Minoru Shirota, microbiologo e ricercatore della facoltà di medicina di Kyoto in Giappone, lo portò ad isolare e coltivare in latte l'esclusivo ceppo probiotico *L. paracasei* Shirota (LcS). 85 anni dopo, molta strada è stata fatta nel rispetto dei valori fondanti: la promozione di un corretto stile di vita attraverso una sana alimentazione per la salute dell'intestino.



L. paracasei Shirota (LcS)cv

Oggi come allora, il cuore di Yakult è rappresentato dai suoi due Centri di Ricerca in costante collaborazione con la Comunità Scientifica internazionale: l'Istituto centrale per la Ricerca Microbiologica di Kunitachi in Giappone e il Centro di Ricerca Europeo a Gent in Belgio.

Oltre 300 sono gli studi clinici condotti con LcS e pubblicati sulle principali riviste scientifiche.

Ti invitiamo a visitare i nostri canali di informazione riservati ai professionisti della salute:

Science for Health:
www.scienceforhealth.it

LinkedIn Yakult Italia:
www.linkedin.com/company/yakult-italia/