

Iniziamo a comprendere il Microbioma

Napoli, 03 Febbraio 2025

Prof. Luigi Greco, M.D., DCH, M.Sc., Ph.D.

Pasquale De Biase

nature communications



Article

<https://doi.org/10.1038/s41467-025-56072-w>

Early life microbial succession in the gut follows common patterns in humans across the globe

Fahur Bottino, G., Bonham, K.S., Patel, F. *et al.*

Published on January 14th 2025

Cos'è il microbioma?

- Il microbioma è l'insieme del patrimonio genetico e delle interazioni ambientali della totalità dei microrganismi di un ambiente definito.
- Microbioma = Microbiota + **Teatro delle attività**.
- Il microbioma intestinale e i **metaboliti** associati al microbioma si spostano dal lume intestinale a vari organi (ad esempio fegato, cervello o polmoni) attraverso il sistema circolatorio e successivamente inducono risposte immunitarie locali tessuto-specifiche.
- Digestione, metabolismo e immunità.



Il microbioma nei primi mesi di vita

- I neonati sono sterili alla nascita e la loro prima esposizione ai microbi avviene tramite la madre.
- I neonati nati per via vaginale sono esposti a una gamma di microbi materni che aiuta ad avviare la colonizzazione di batteri benefici come *Lactobacillus* e *Bifidobacterium*.
- I neonati nati da parto cesareo hanno un profilo microbico diverso, con una predominanza di batteri associati alla pelle.
- Il latte materno è ricco di oligosaccaridi, che fungono da prebiotici per aiutare i microbi benefici a prosperare nell'intestino del neonato.
- I neonati con latte artificiale hanno un microbiota che assomiglia a quello degli adulti, con maggiore abbondanza di *Firmicutes* e *Proteobacteria*.

La colonizzazione microbica

Window of opportunity for microbiota modulation

Prenatal factors:

- Placenta

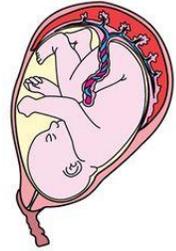
Neonatal factors:

- Mode of delivery
- Gestational age

Postnatal factors:

- Feeding: breast-milk vs. formula
- Geographical location
- Family members
- Host interactions
- Maternal diet
- Weaning

Gestation



Birth



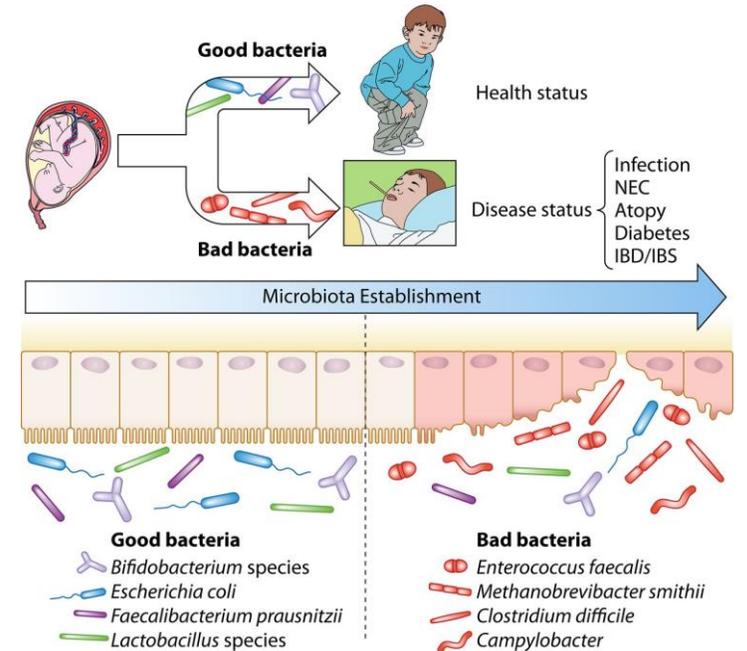
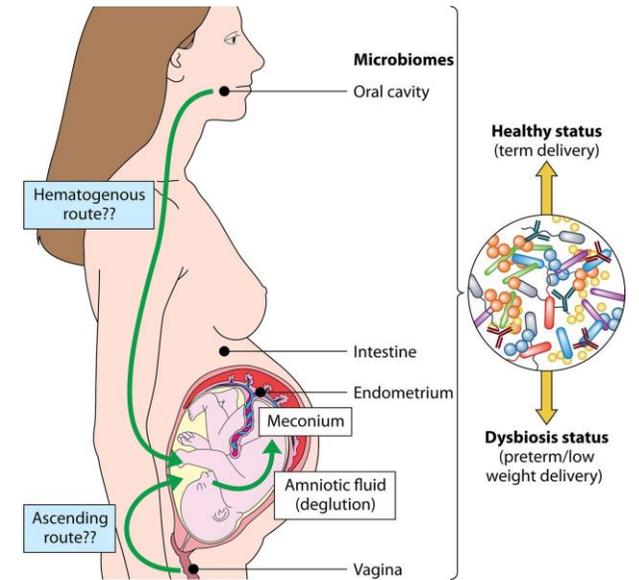
Infancy



Toddler & childhood



È un processo **dinamico, modulato** da numerosi fattori

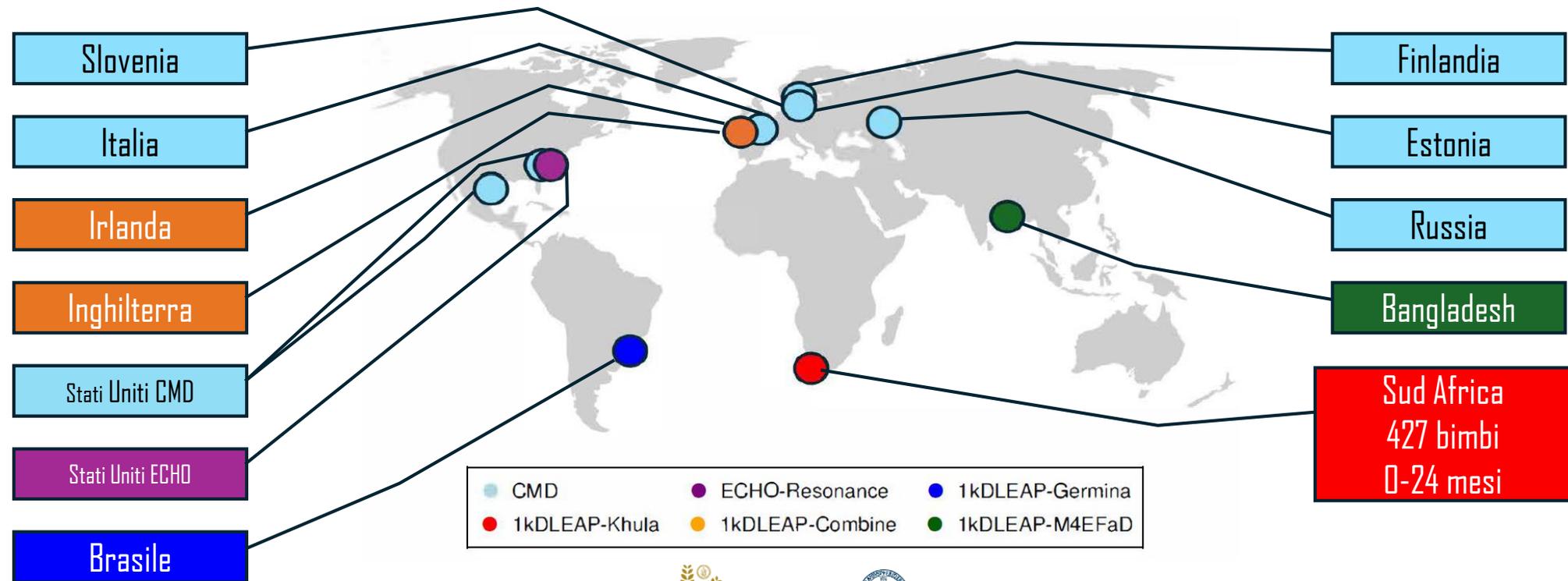


Perché un benchmark?

- Perché nonostante nell'infante il microbioma sia prima orientato a digerire gli oligosaccaridi (non digeribili) de latte materno e poi si modifichi per adattarsi all'introduzione dei cibi solidi in modalità costante e stabile nel tempo, al momento non esiste alcun modello normativo!
- Perché i modelli di successione microbica sono conservati nei neonati, indipendentemente dal luogo in cui questo fenomeno si osservi. Esistono delle vere e proprie **Traiettorie di sviluppo universali**.
- Perché un modello fornisce un **parametro di riferimento** complementare agli altri attualmente in uso nella **valutazione dello sviluppo infantile**.
- Perché quando il microbioma non rispecchia la fase di crescita (età specifica) possono insorgere problemi di salute e di crescita (**Mismatch**).
- Perché i numerosi studi finora pubblicati sulla tematica non lo hanno mai fatto prima, generando talvolta confusione nei risultati ottenuti.

Lo studio

- 1.827 neonati (0-18m), 3.154 campioni, 12 paesi da Data Bank – **427 Prospettici in Sud Africa**
- Abbondanze tassonomiche relative (taxa) dei microbi intestinali dai metagenomi, con la tecnica dello **shotgun-sequencing**.
- Risultato: modello predittivo di età con buona risoluzione temporale (± 3 m) nei primi 18m di vita.



Dal Microbioma si può predire l'età

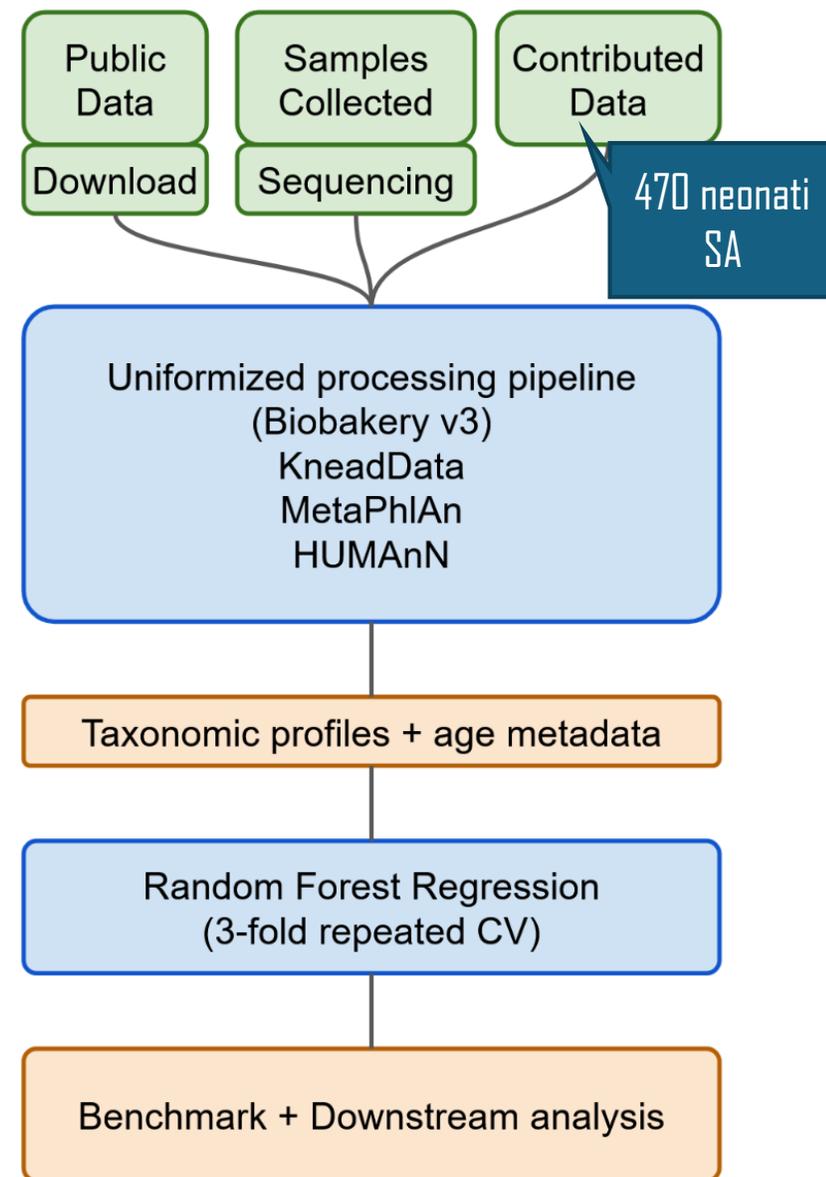
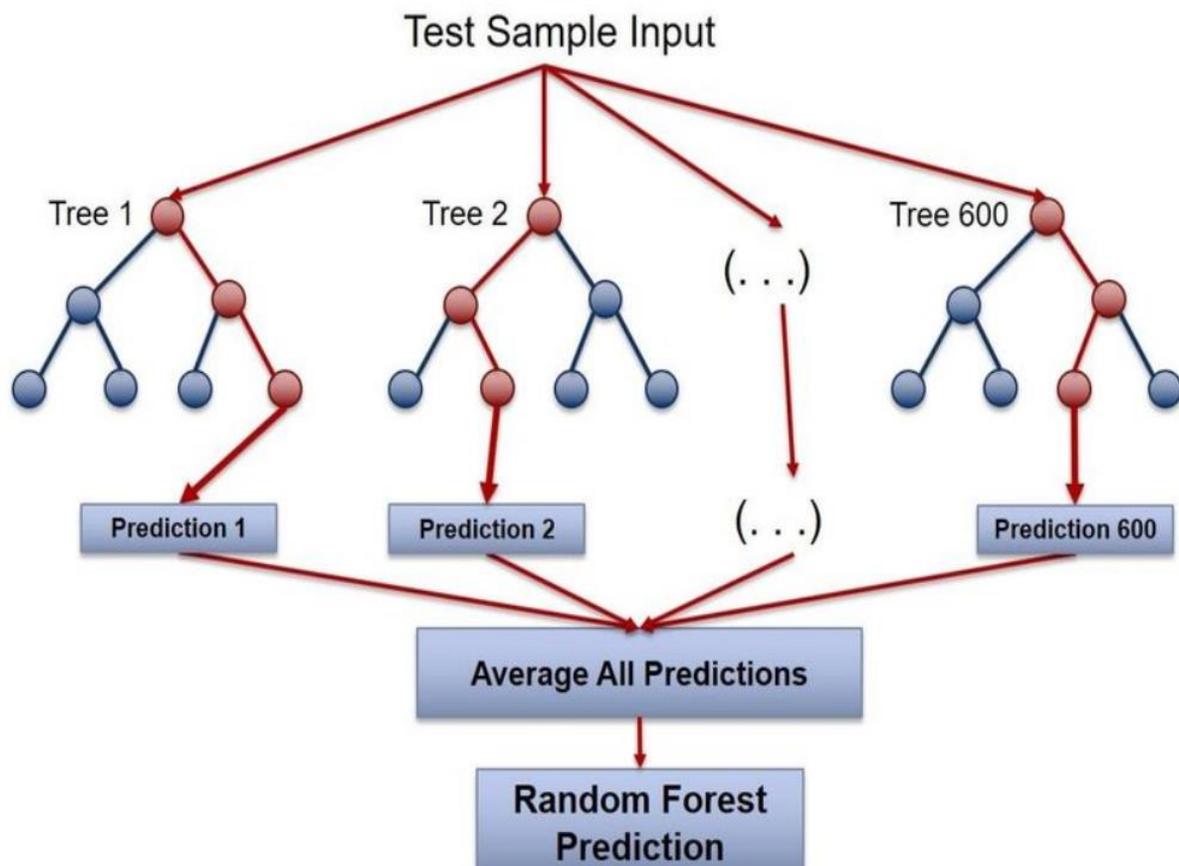


Questo lavoro è stato sviluppato con tale rigore e trasparenza da rendere disponibile il codice su **GitHub**, una piattaforma utilizzata per condividere e documentare progetti digitali. Questo permette una revisione aperta e la possibilità di futuri sviluppi.

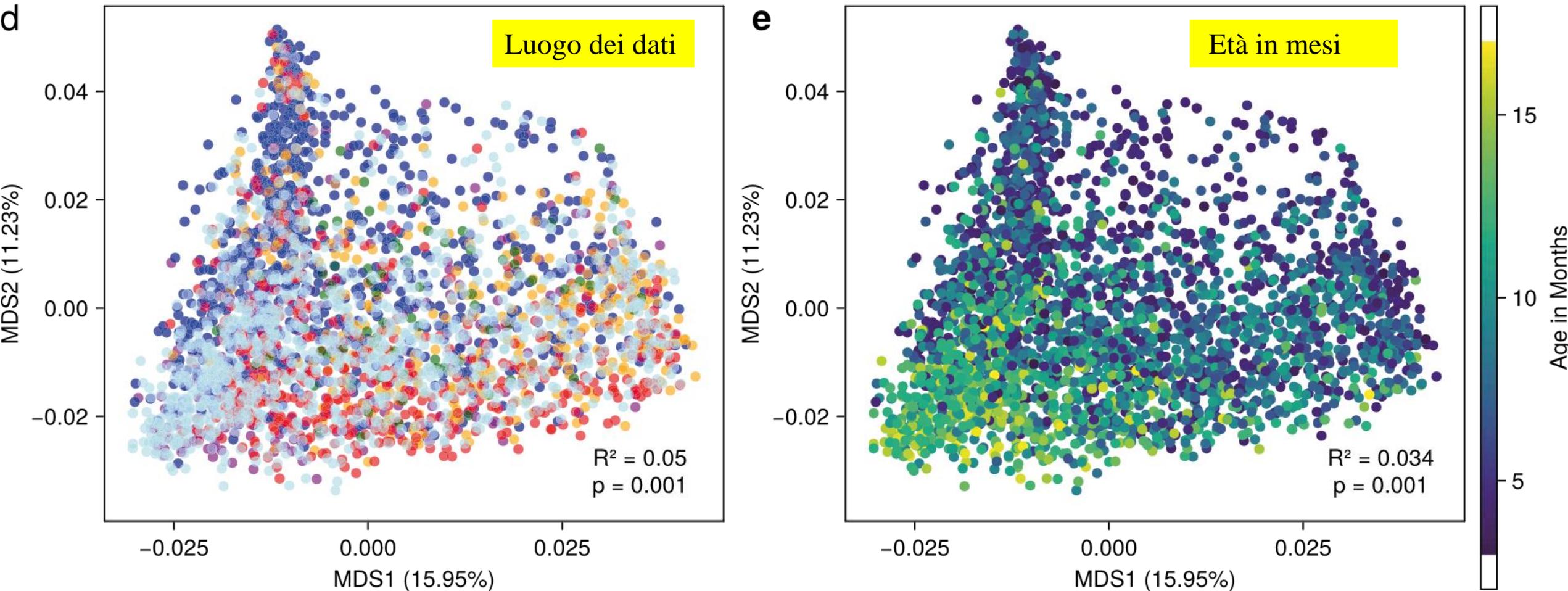
<https://github.com/Klepac-Ceraj-Lab/MicrobiomeAgeModel2024>

GitHub è Usato da migliaia di realtà opensource e non, tra cui Google, Apple, Microsoft, NASA, Facebook, Twitter, Node.js, Ruby on Rails, JetBrains, JQuery.

Metodi: Regressione con Random Forest

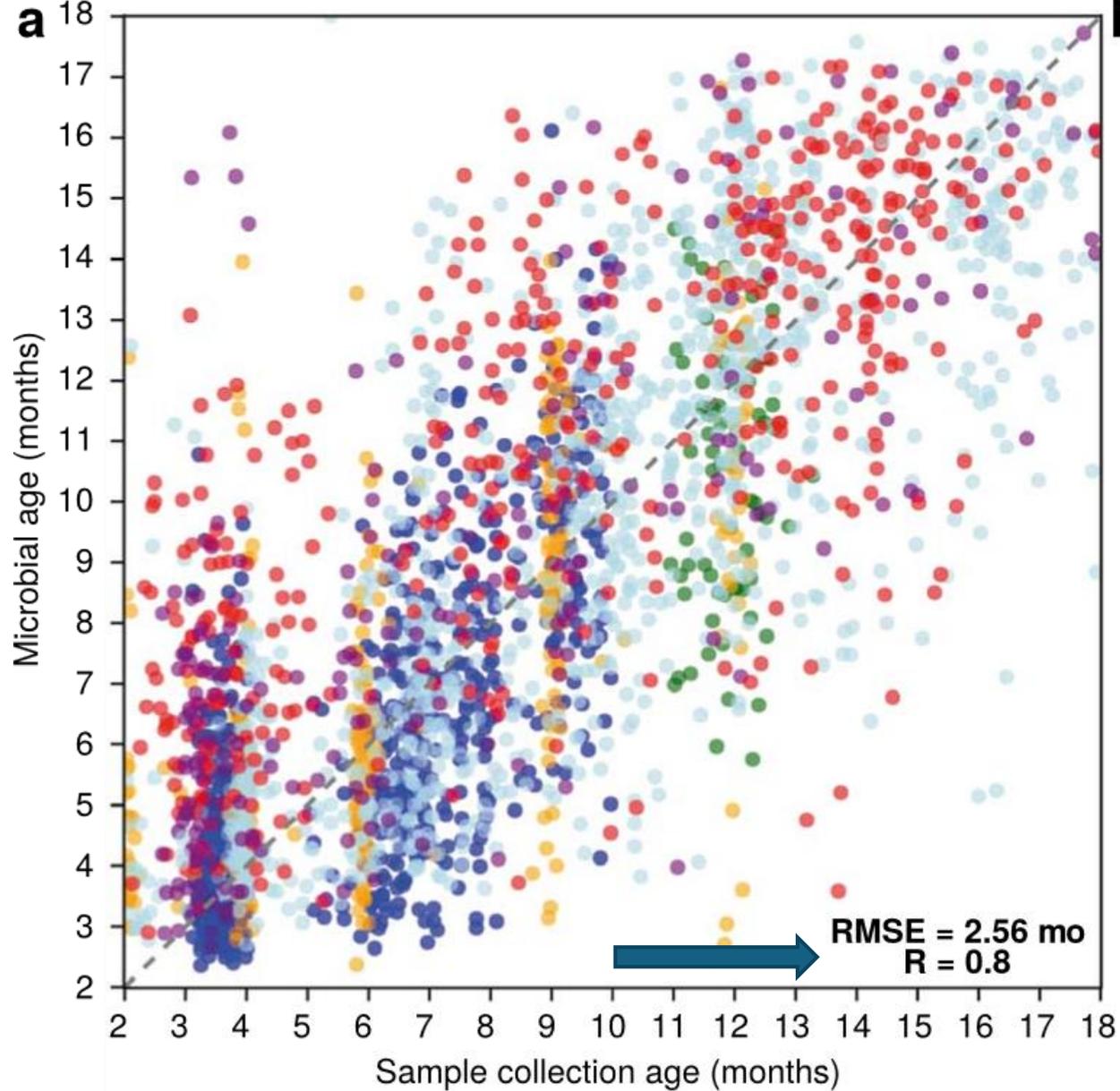


La stima della diversità genera una matrice di dissimilarità che contiene per ciascun campione (righe) la diversità rispetto a qualsiasi altro campione (colonne).



d, e Grafico di scaling multidimensionale (NMDS) con dissimilarità di Bray-Curtis colorato in base alla fonte di dati (d) e all'età continua in mesi (e).

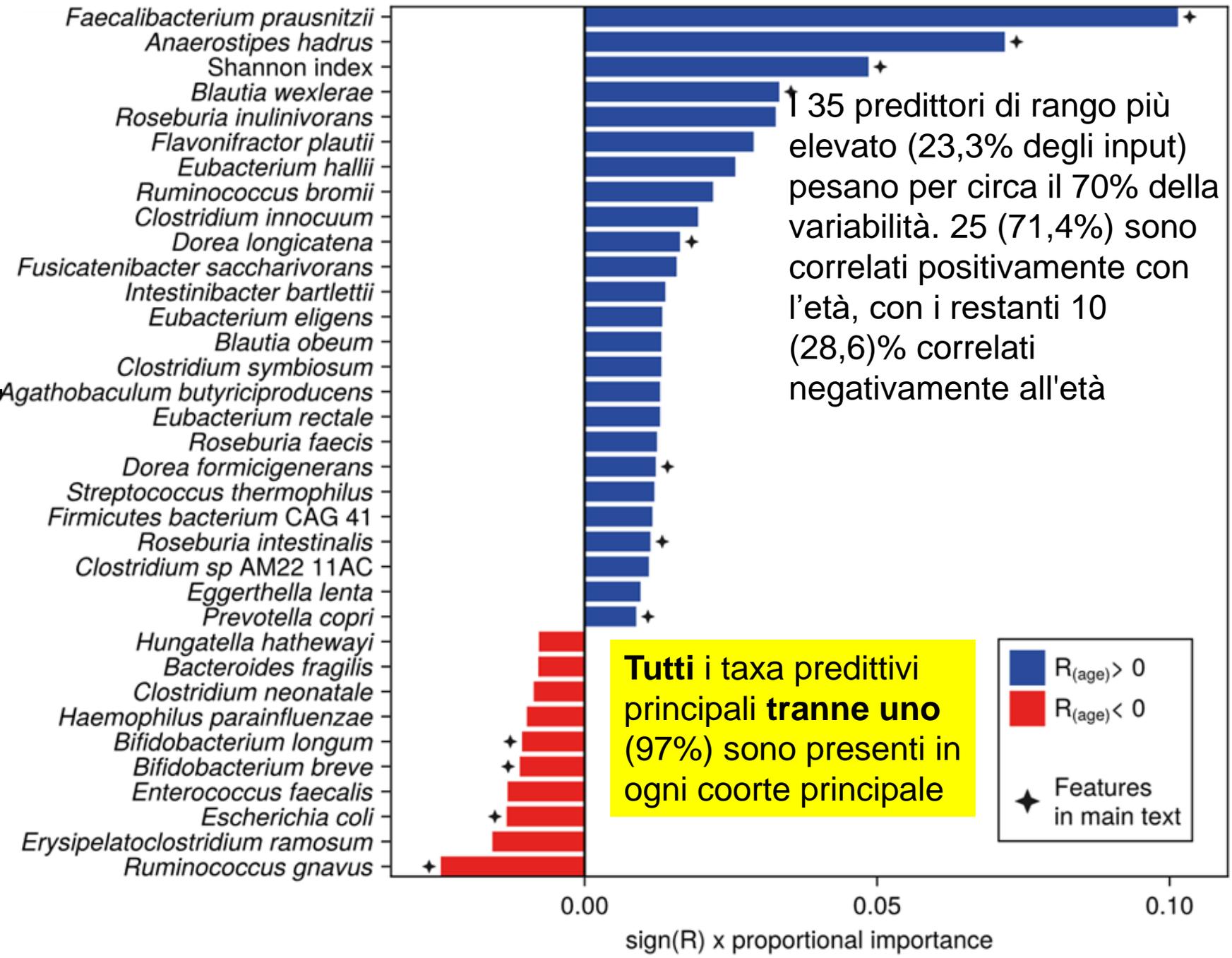
Le percentuali sugli assi indicano la varianza spiegata dalle coordinate principali



Il modello Random Forest predice l'età come output di regressione ed ha generato previsioni che raggiungono un errore quadratico medio (RMSECV) di 2,56 mesi (16,0% dell'intervallo)

ed una correlazione di Pearson di 0,803 tra predetto ed osservato

Il 97% dei principali taxa predittivi sono prevalenti in tutte le coorti, i predittori rilevanti sono indicatori robusti di età in diverse popolazioni, superando gli effetti specifici della popolazione

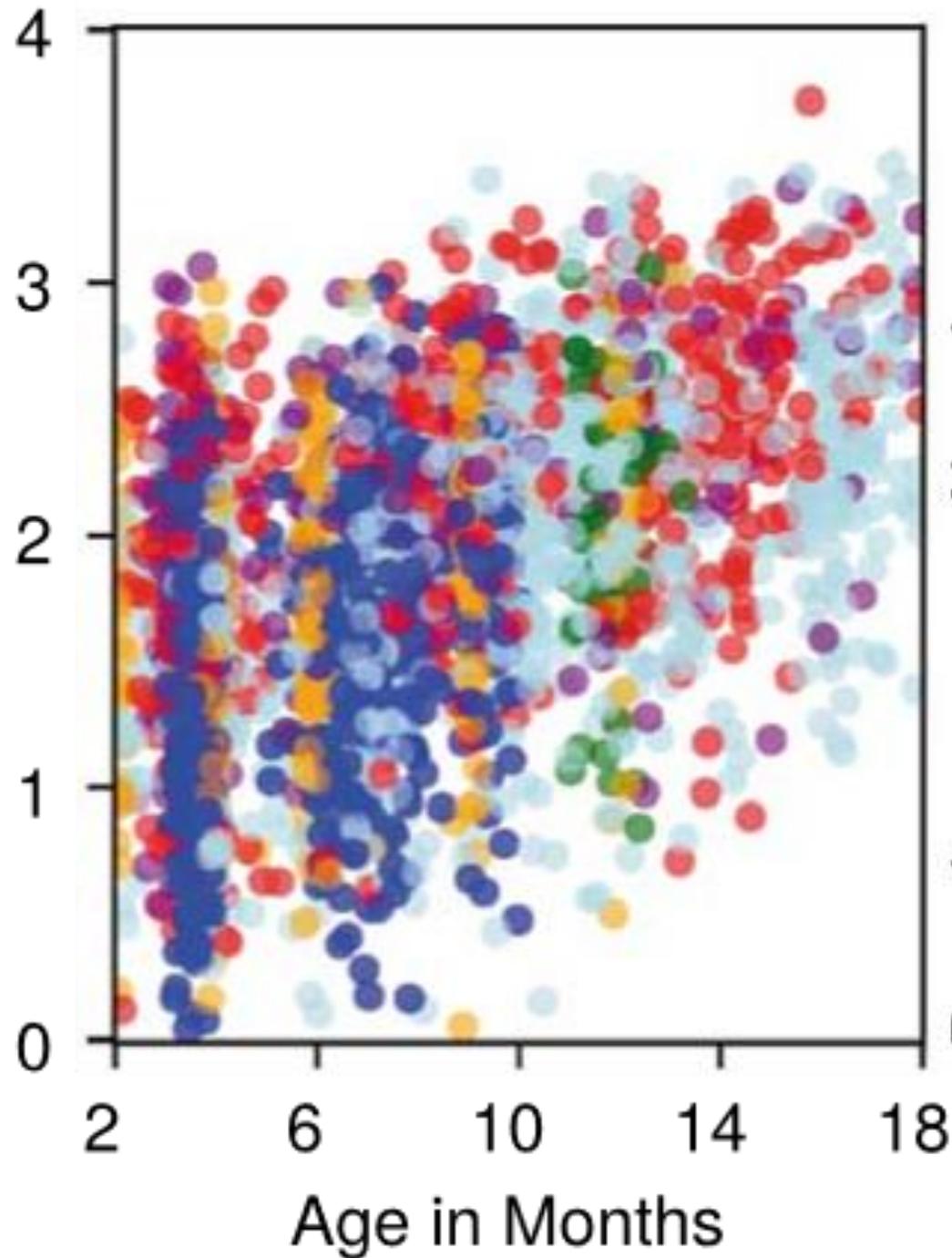


c

L'indice di Shannon-Wiener H' è un [indice di diversità](#) in popolazioni con un numero infinito di elementi. Ove H è associato alla diversità microbica

Questa coerenza suggerisce che molti dei modelli di successione identificati dal modello sono universali, trascendendo le influenze ambientali locali

Shannon index

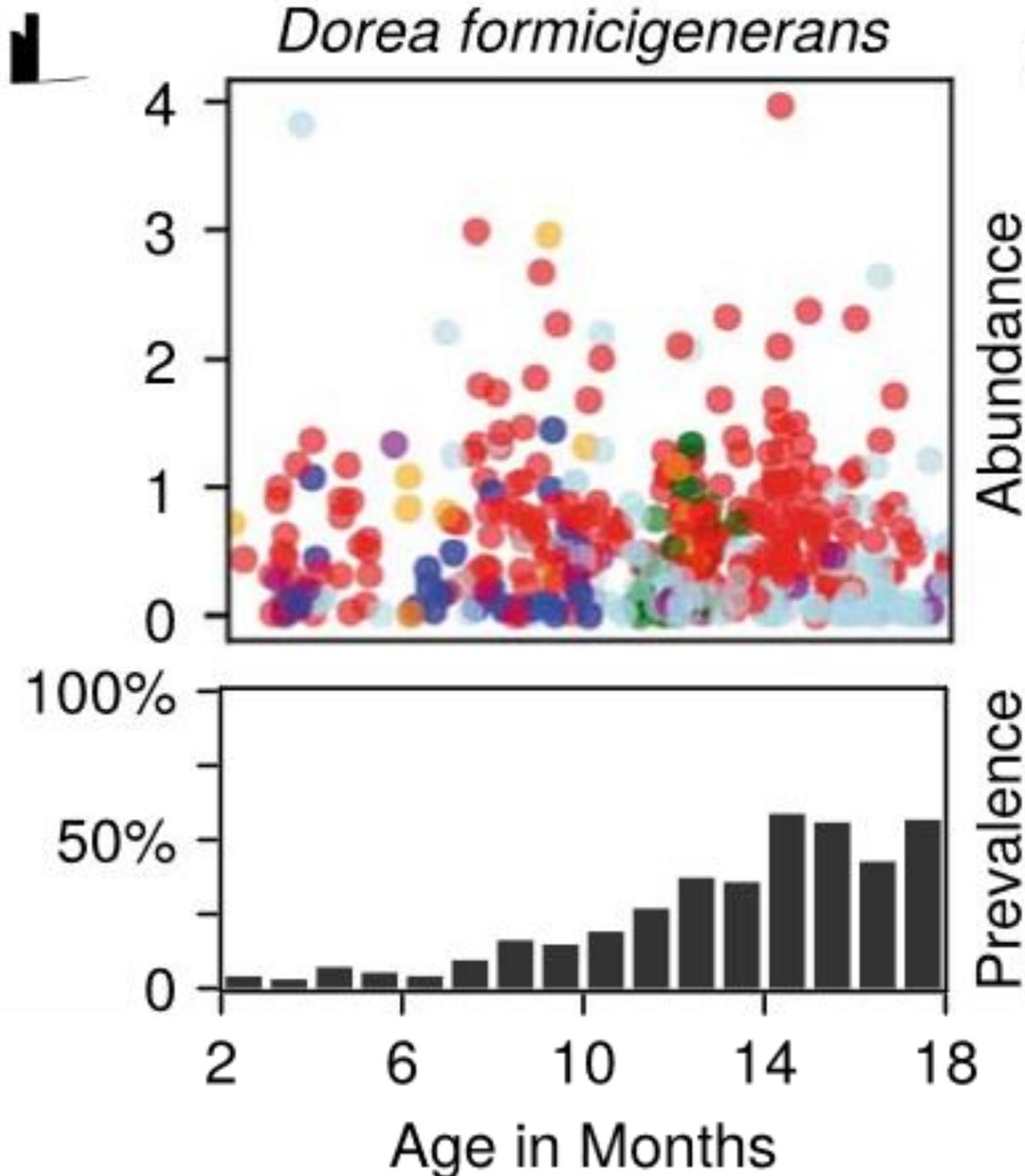


Abundance

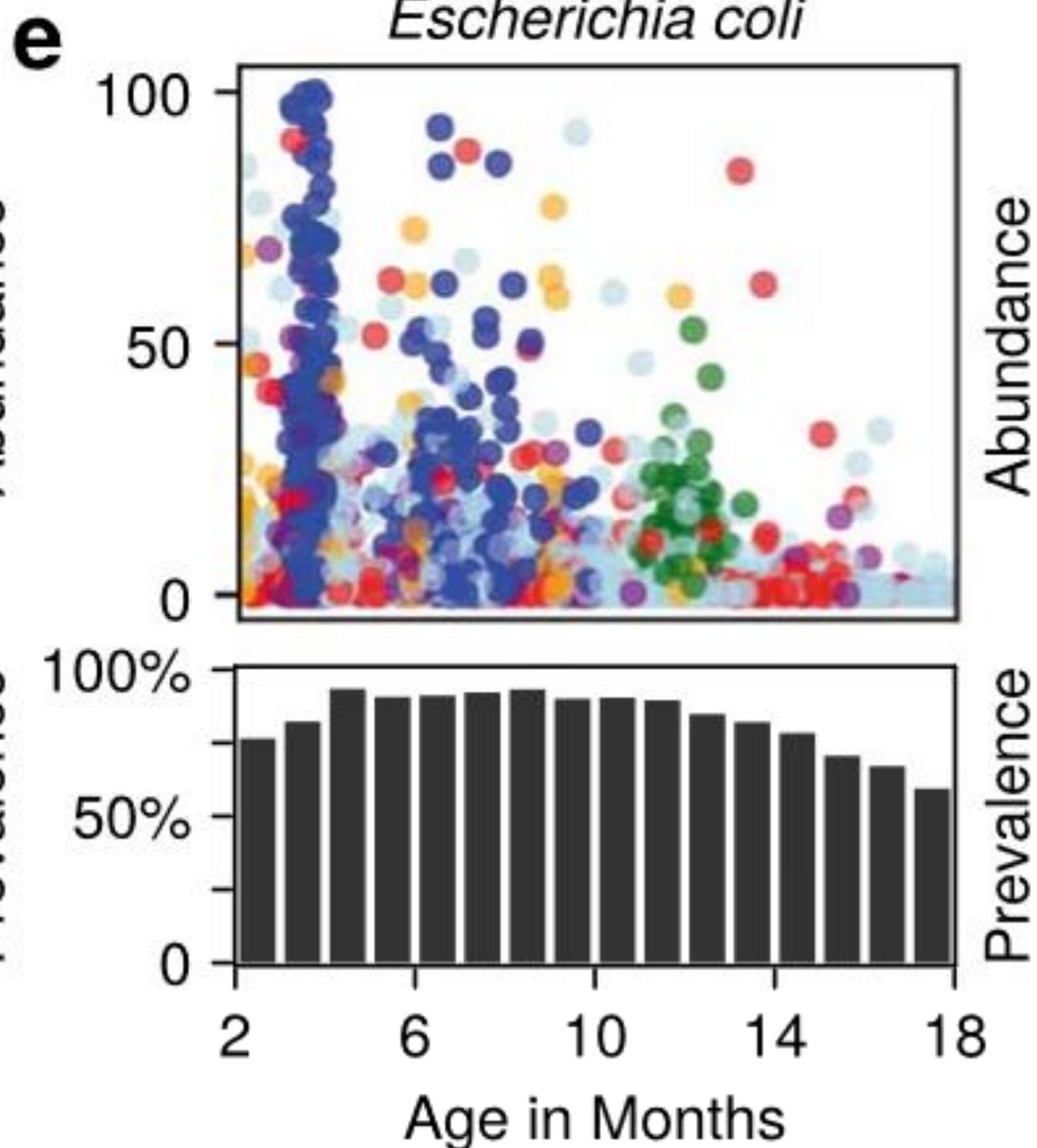
Prevalence

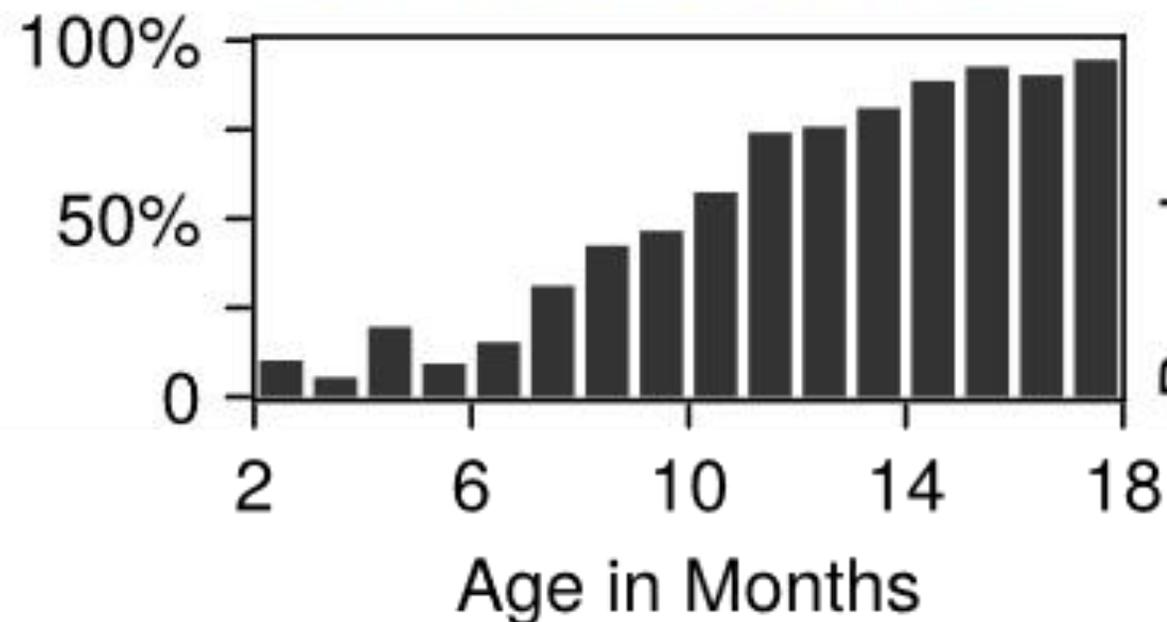
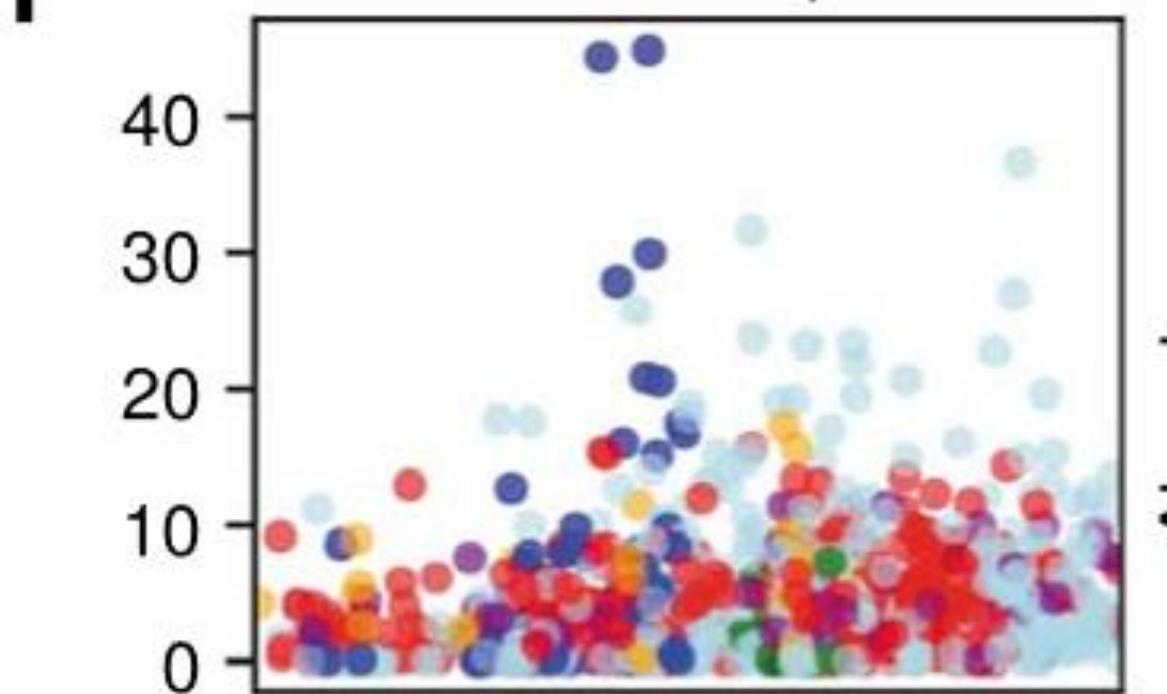
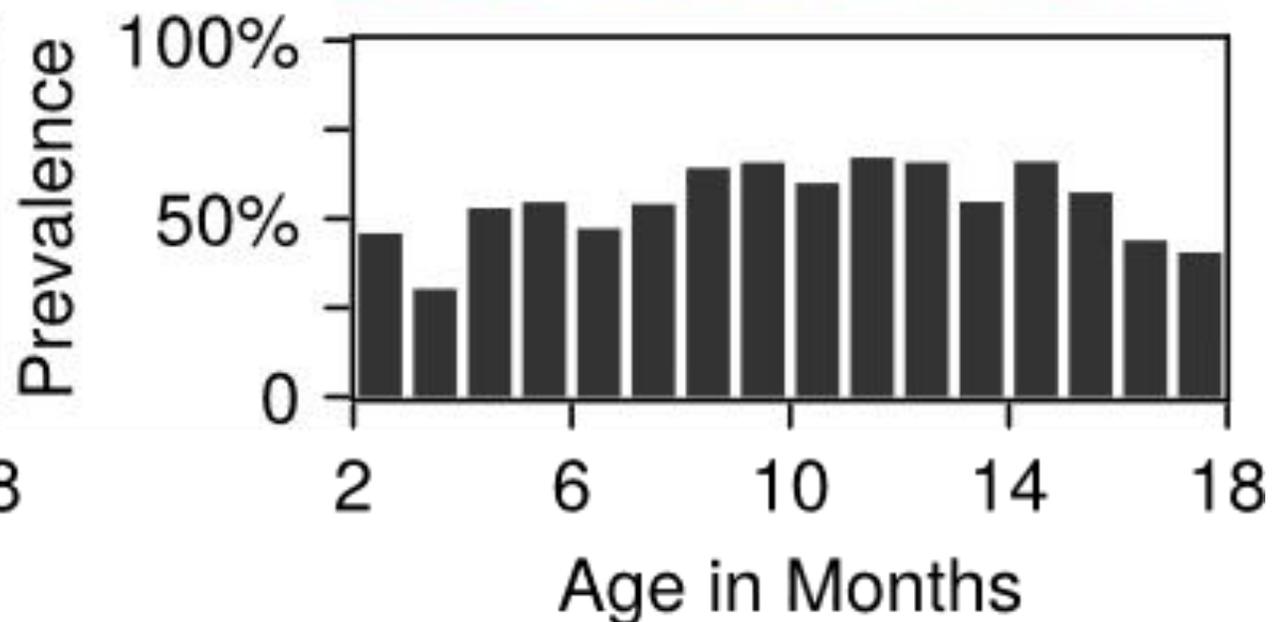
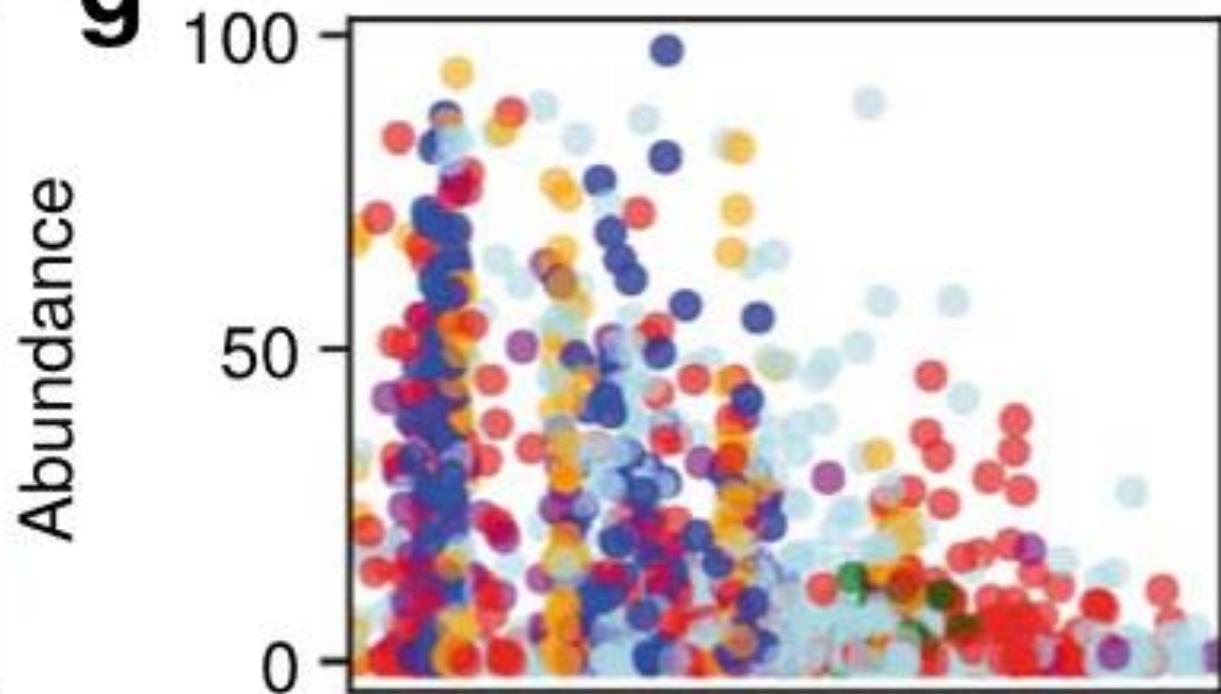
I rappresentanti del nucleo comune più ampio sono *F. prausnitzii*, correlato positivamente con età, insieme ai colonizzatori precoci come *E. coli* (1,3% di importanza totale, $R = -0,25$ con l'età), che seguono costantemente lo schema opposto

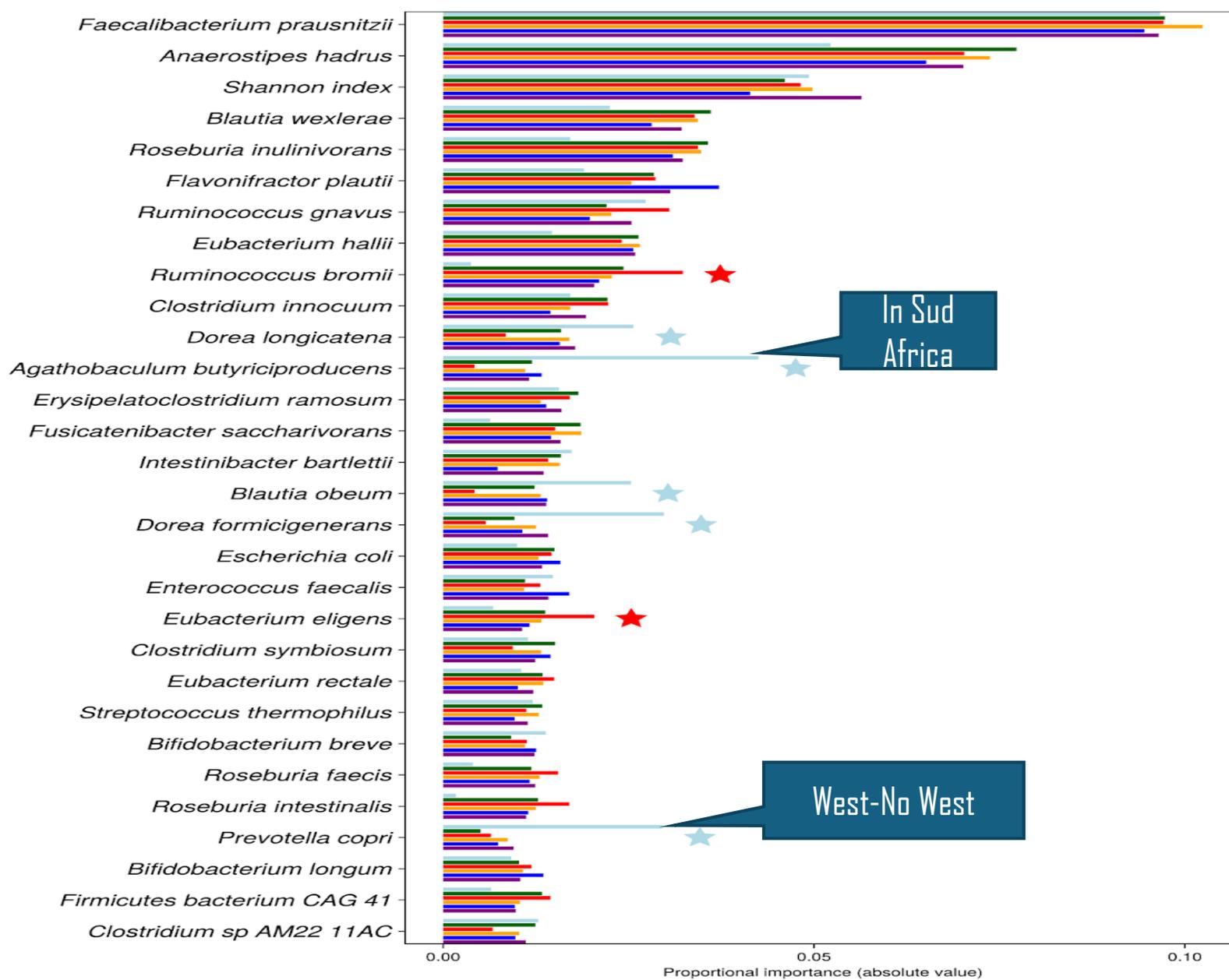
Dorea formicigenerans



Escherichia coli



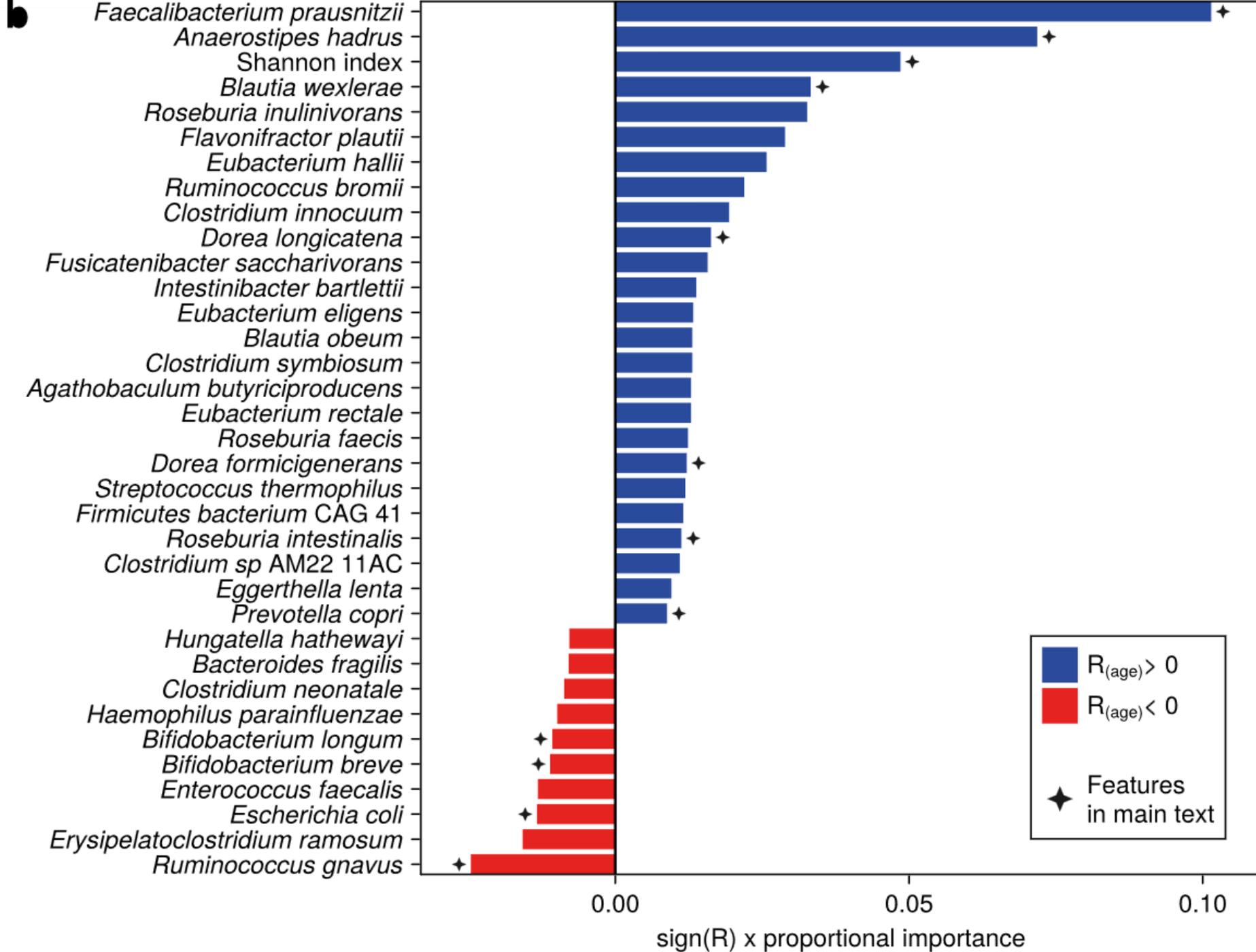
f *Faecalibacterium prausnitzii***g** *Bifidobacterium breve*

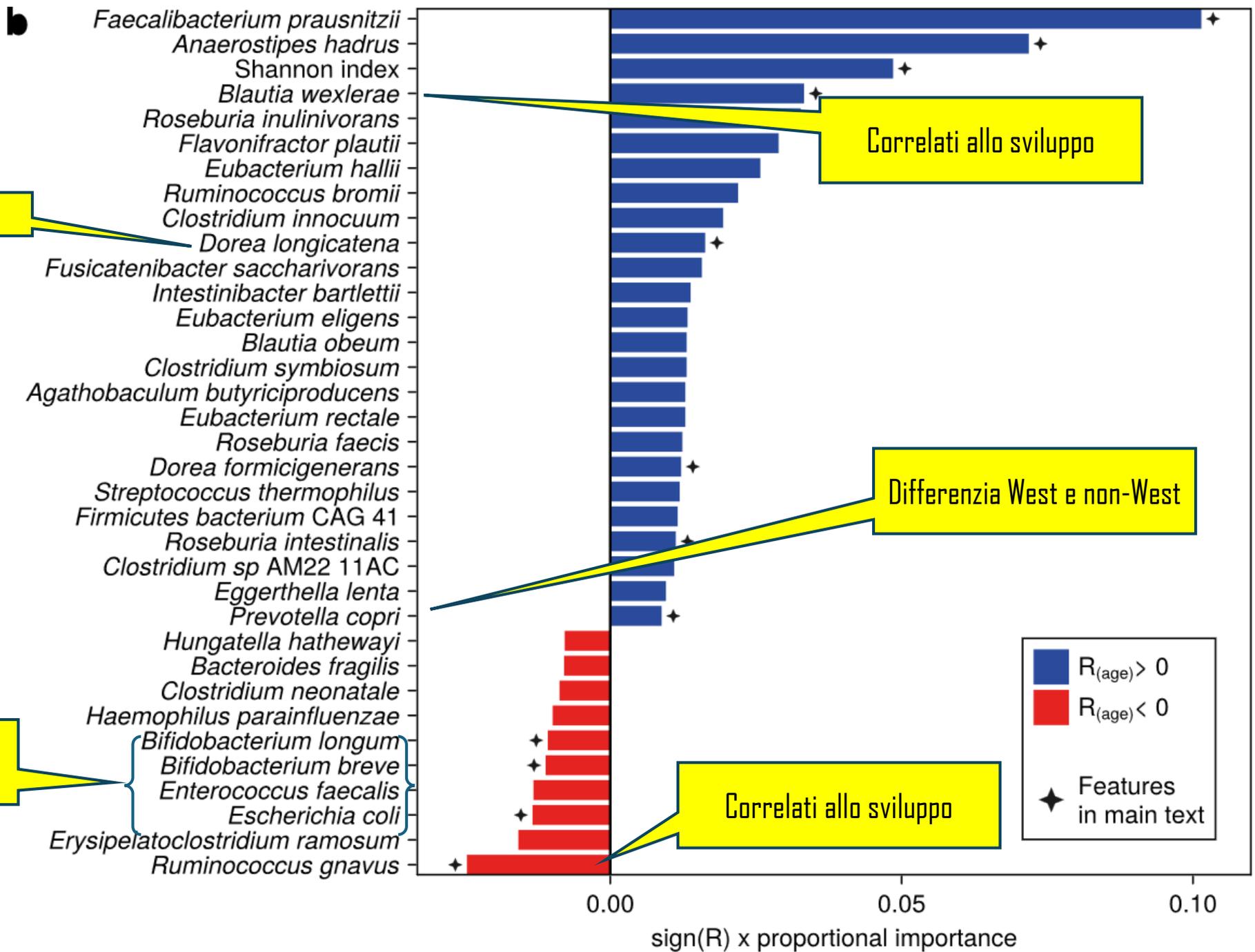


Coerenza dei Taxa microbici importanti nel modello Random Forest.

Per ciascun Taxa sull'asse Y, le barre colorate (asse X) rappresentano, per ogni regione, l'importanza relativa dei principali taxa microbici valutati per la loro capacità di migliorare il modello (MDI).

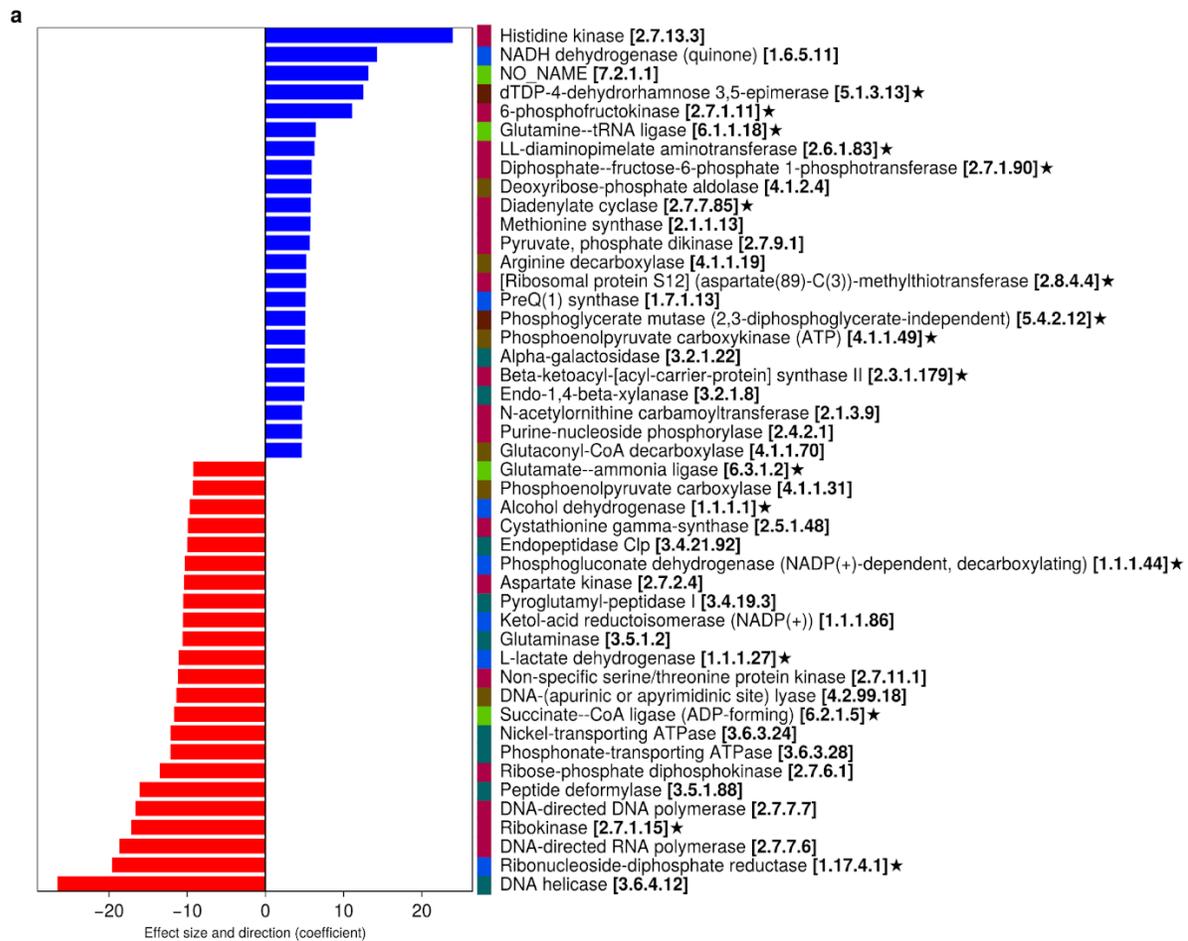
Le stelle colorate indicano specie contrastanti tra coorti occidentalizzate e non occidentalizzate.





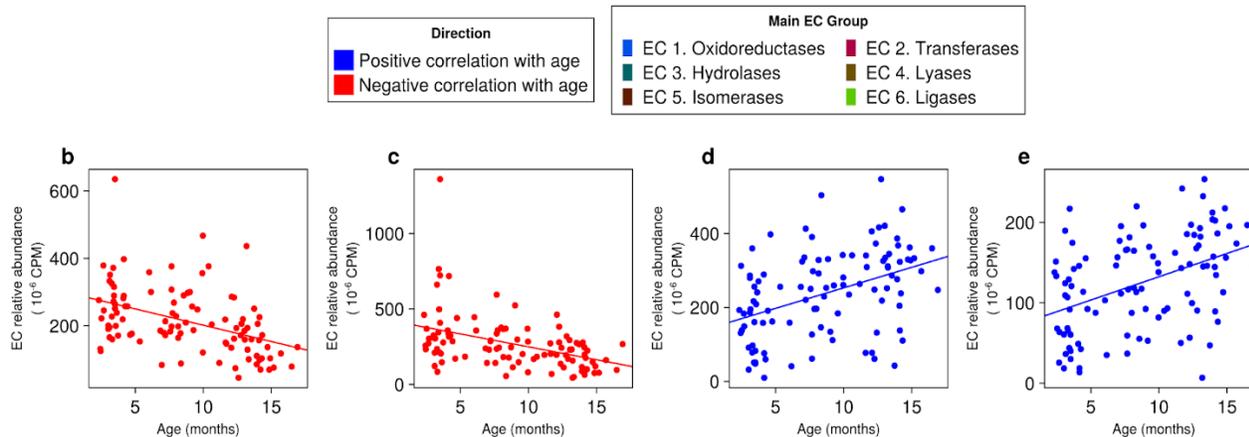
La **Classificazione EC** è un sistema di classificazione degli enzimi attraverso un **numero EC** (*Enzyme Commission*). Ogni enzima viene associato a un numero che corrisponde alla reazione catalizzata.

73 bambini sudafricani a 3, 6 e 12 mesi



Analisi funzionale.: Profili Enzimatici EC

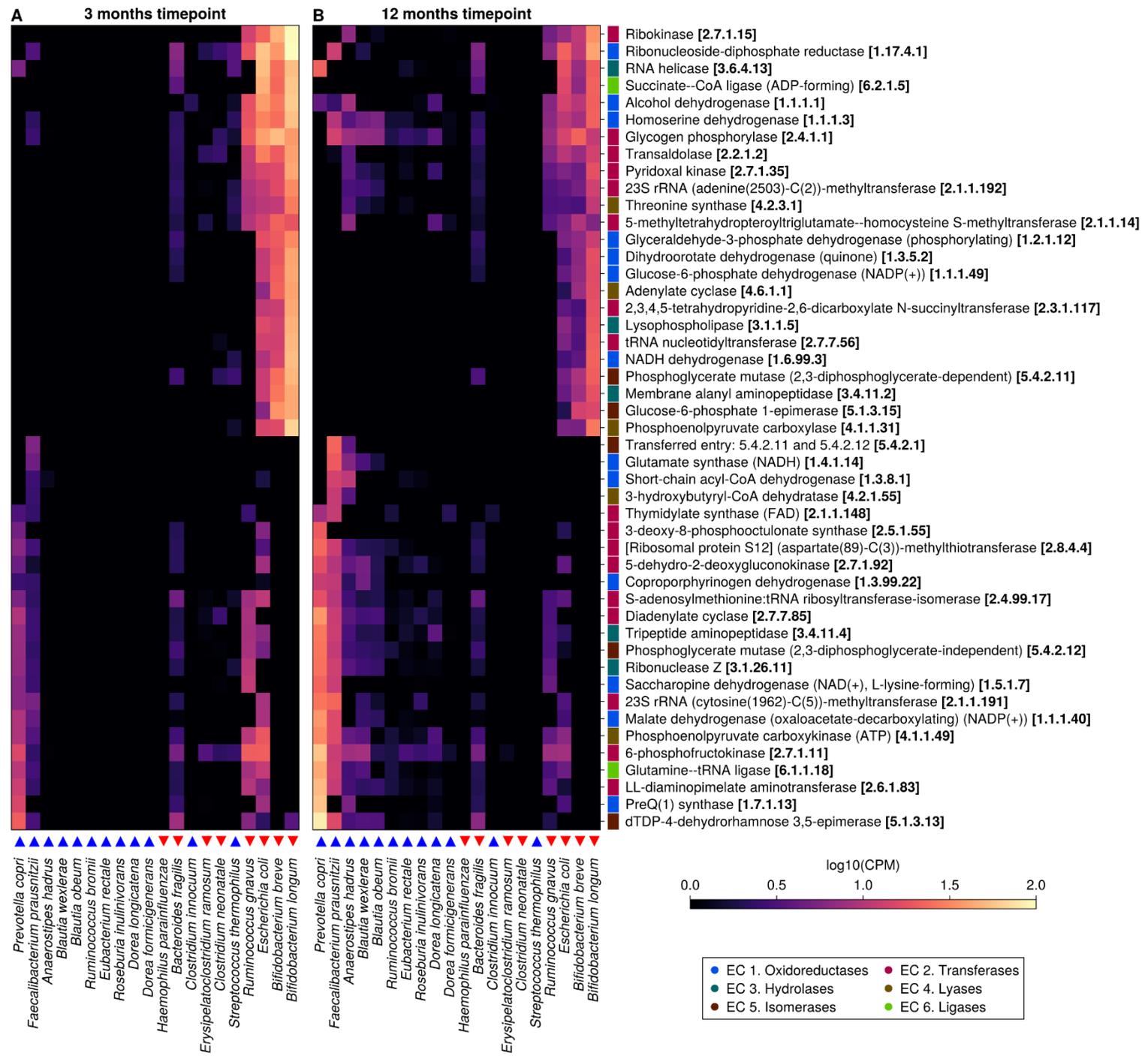
(A) Dimensioni e direzioni dell'effetto per età quando l'abbondanza di Enzimi viene regredita per età. I colori delle barre indicano la direzione ed i quadrati colorati sulle etichette dell'asse Y rappresentano il gruppo funzionale degli Enzimi EC.



(B-E) L'abbondanza di Profili Enzimatici EC varia linearmente in funzione dell'età

Inattesa forte correlazione ($R= 0,8$) tra Taxa Microbici e Profili Enzimatici.

C'è anche una sorprendente ottima correlazione tra USA e Nord Europa (Baltic) ma anche tra Nord Europa e Sud Africa



Il profilo Enzimatico rispecchia le funzioni dei batteri

- Parallelamente alla riduzione con l'età di Bifidobatteri ed E.Coli, si riducono la Transaldolasi, la Piridossal-chinasi e la Succinico ligasi, che sono loro funzioni principali.
- L'incremento con l'età di Metiltrasferasi, e coproporfir-deidrogenasi è associato all'incremento di *F. Prausnitzii*, *A.Hadrus*, *B. Wexlerae* e *Blautia*
- Il profilo enzimatico, come quello microbico, cambia linearmente con l'età

Il Microbioma evolve stabilmente con l'età in tutto il mondo

- La successione di un piccolo numero di taxa chiave del microbioma intestinale precoce segue modelli comuni,
- ed è correlata all'età del bambino anche in vari contesti geografici e socioeconomici.
- Gli autori hanno potuto esplorare anche i percorsi funzionali enzimatici associati ai geni microbici, offrendo una visione più approfondita di come il repertorio funzionale delle comunità microbiche si è evoluto con l'età.

La evoluzione del Microbioma segue le esigenze dello sviluppo

- *F. prausnitzii* e *A. hadrus* sono importanti predittori dell'età nei primi due anni di vita. Essi sono produttori di acido butirrico e compaiono con la cessazione dell'allattamento al seno, che segna la transizione verso un intestino dominato da *Firmicutes* caratterizzato da una maggiore produzione di acidi grassi a catena corta (SCFA).
- Lo stesso fenomeno spiega l'importanza di noti metabolizzatori degli oligosaccaridi del latte umano, vale a dire *Bifidobacterium spp.*, caratteristici delle prime fasi dell'infanzia.
- Ciò suggerisce che esiste **un'età 'microbica'** forte e coerente basata sulla successione microbica, indipendentemente dalle variazioni dei metadati, tra i siti geografici

L'Analisi degli Enzimi concorda con il Microbioma specifico del tempo

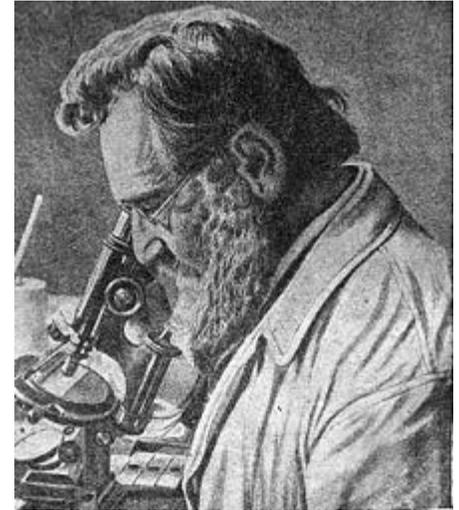
- La presenza di enzimi del *ciclo glicolitico* e *pentoso-fosfato* conferma le transizioni legate alla dieta e quelle legate all'assunzione di carboidrati complessi, che sono i principali motori dei modelli che determinano l'età.
- Di particolare interesse è la *piridossal chinasi* che svolge un ruolo nel percorso di sintesi del *G-Amino Butirrico* tipico dei bifidobatteri.
- In particolare, le concentrazioni di GABA nelle feci dei neonati sono state associate a tratti comportamentali nella prima infanzia.
- Questi risultati suggeriscono uno specifico collegamento funzionale tra GABA e *Bifidobacterium spp.* che è anche correlato all'età, evidenziando un percorso che può essere un forte candidato per studiare i risultati comportamentali nel primo anno di vita.

Cosa somministriamo ai bambini

- ENTEROGERMINA Bacillus Clausii
- CODEX Saccharomices Boulardii
- VSL3 bifidobatteri ed i lattobacilli
- DICOFLOR : Lactobacillus Reuterii, L. Rhamnosus,
- LACTOFLUORENE : Lactobacillus paracasei LC11
- Enterolactis Baby L,Casei DG, ,
- Fermenti Lattici Probiotici BAMBINI Vegavero® | Bifidobacterium infantis e Lactobacillus acidophilus, e polvere di inulina.
- YOVIS Streptococcus salivarius subsp. thermophilus,; Bifidobacteria (Bifidobacterium brevis, Bifidobacterium animalis lactis),; Lactobacillus acidophilus; Lactobacillus plantarum; Lactobacillus paracasei,; Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus, Enterococcus faecium,

Ilya Mechnikov

- In 1908, Nobel Prize for Physiology and Medicine.
- la senilità è dovuta all'avvelenamento del corpo da parte dei prodotti di alcuni di batteri. Per impedire la moltiplicazione di questi organismi propose una dieta contenente latte fermentato da bacilli che producono grandi quantità di acido lattico. KEFIR
- Osservando il latte acido al microscopio, Il'ja scoprì che l'acidità che impediva la putrefazione della flora intestinale poteva ricercarsi in un bacillo che chiamò Lactobacillus bulgaricus, in onore degli abitanti della Bulgaria conosciuti per la loro longevità, dovuta probabilmente al grande uso che facevano di latte acido.



yogurt greco

- ricco di batteri probiotici, che sono responsabili della fermentazione del lattosio (lo zucchero del latte) e della produzione di acido lattico. includono:
 - **Lactobacillus bulgaricus**: uno dei batteri fondamentali nella produzione dello yogurt, che aiuta nella fermentazione.
 - **Streptococcus thermophilus**: un altro batterio essenziale per la fermentazione, che lavora insieme al *Lactobacillus bulgaricus*.
 - **Lactobacillus acidophilus**: un altro tipo di batterio probiotico che può essere presente in alcuni yogurt greci.
 - **Bifidobacterium**: questo batterio è spesso aggiunto in alcune varietà di yogurt greco, noto per i suoi benefici alla salute intestinale.

KEFIR

- **Lactic Acid Bacteria (LAB):**

- *Lactobacillus* species: Such as *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus casei*, and *Lactobacillus kefiranofaciens*,
- *Leuconostoc* species:
- *Streptococcus* species: Including *Streptococcus thermophilus*,
- *Bifidobacterium* species:

- **Acetic Acid Bacteria:**

- *Acetobacter* species:

- **Other Bacteria:**

- *Enterococcus* species and *Lactococcus* species.

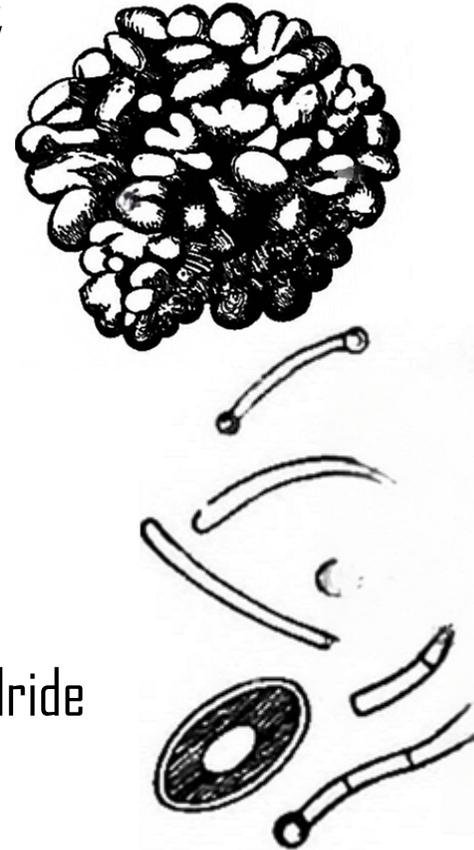
- **Yeasts**

- Il kefir contiene anche vari lieviti che lavorano in sinergia con i batteri durante la fermentazione:

- **Saccharomyces** species: note per la fermentazione degli zuccheri e la produzione di alcol e anidride carbonica.

- **Kluyveromyces** species: partecipa alla fermentazione e può aiutare a scomporre il lattosio.

- **Candida** species: e.g. *Candida kefir*, che è un ceppo di lievito specific per la fermentazione del kefir.



Probiotics for management of functional abdominal pain disorders in children (Review)

Gordon M, Wallace C, Sinopoulou V, Akobeng AK.
Probiotics for management of functional abdominal pain disorders in children.
Cochrane Database of Systematic Reviews 2023, Issue 2. Art. No.: CD012849.
DOI: [10.1002/14651858.CD012849.pub2](https://doi.org/10.1002/14651858.CD012849.pub2).

- I risultati di questa review dimostrano che i probiotici e i simbiotici possono essere più efficaci del placebo nel raggiungere il successo del trattamento, ma le prove sono di scarsa certezza.
Le prove dimostrano *poca o nessuna differenza* tra probiotici o simbiotici e placebo nella risoluzione completa del dolore.

Prove di Efficacia



Efficacy of probiotics for treatment of acute or persistent diarrhoea in children from birth till 10 years: Systematic review and meta-analysis

www.jogh.org • doi: 10.7189/jogh.14.04236

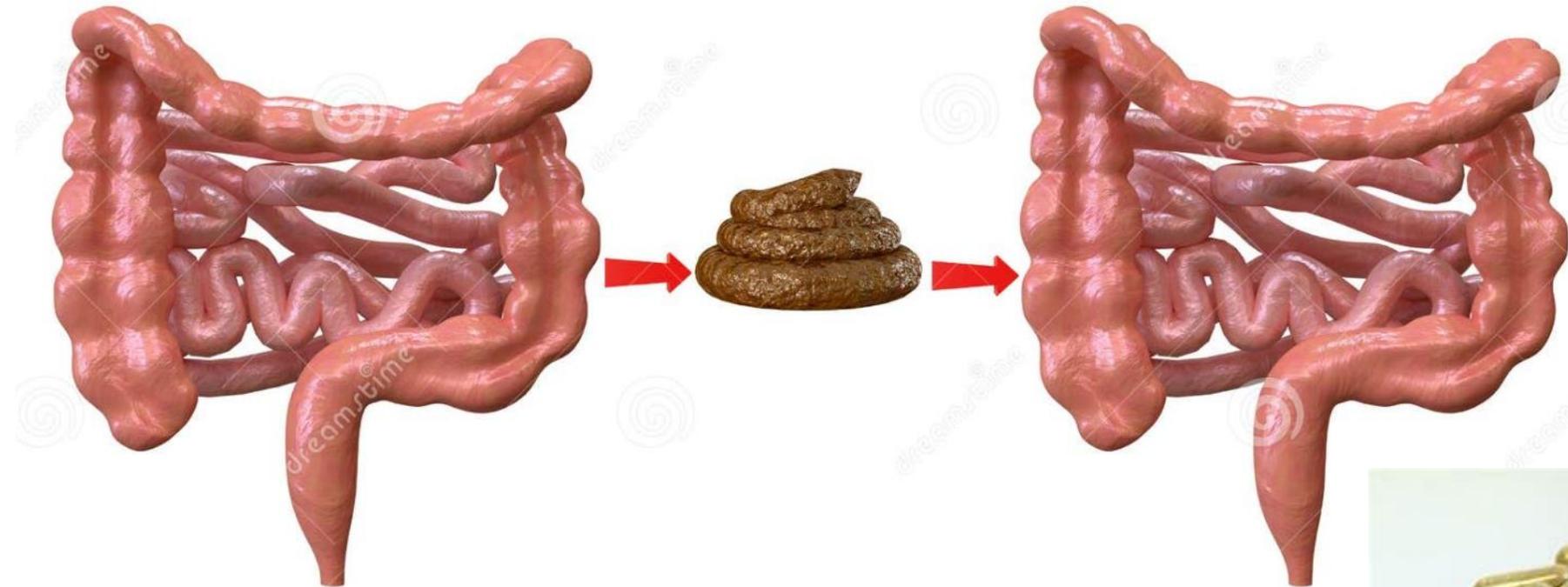
- **Conclusions:** I risultati di questa revisione sistematica suggeriscono una bassa certezza delle prove circa l'effetto dei probiotici sulla cura clinica e sulla durata della diarrea nei bambini

Microbiota alterato dagli antibiotici e il ruolo dei probiotici

- Alcuni dati clinici suggeriscono che i probiotici possono ridurre gli effetti collaterali correlati agli antibiotici, tra cui la diarrea associata al *Clostridioides difficile*,
- ma non ci sono dati **che dimostrino un nesso di causalità** tra questi effetti clinici e la protezione o il recupero del microbiota.

Il trasferimento del Microbioma

Fecal Transplant



Microorganisms . 2023 Mar 22;11(3):806. doi:

Efficacy of Fecal Microbiota Transplant on Behavioral and Gastrointestinal Symptoms in Pediatric Autism: A Systematic Review

- **Results:** We found a statistically significant improvement ($p < 0.05$) in ABC and CARS scores following FMT, with a statistically significant decrease in scores observed across all studies. In addition, substantial improvements in gastrointestinal symptoms were observed across all studies.
- **Conclusion:** Our findings suggest that FMT may offer a promising intervention for treating both behavioral and gastrointestinal symptoms in pediatric patients with autism.

Trapianto del Microbioma Fecale

- L'efficacia del trapianto fecale è ben documentata per il trattamento delle infezioni da *Clostridium difficile*, con una percentuale di successo che supera l'80-90% nei casi più gravi.
- potenziale beneficio in patologie come:
- **Malattie infiammatorie intestinali** (Morbo di Crohn, colite ulcerosa)
- **Sindrome dell'intestino irritabile (IBS)**
- **Obesità e diabete di tipo 2**
- **Autismo** (in alcuni studi preliminari)

Microbioma ed allattamento

227 samples from 7 sites in 5 states (California, Georgia, Oregon, Pennsylvania, South Carolina),

