

4. novembre

## Un ciclo di antibiotici può modificare il microbioma intestinale per diversi anni

*Descrivere il passato,  
comprendere il presente,  
prevedere il futuro: questo è il compito della medicina.*  
Ippocrate

Il tratto gastrointestinale umano è un ecosistema complesso, con circa 10<sup>11</sup> batteri per grammo di feci. Questi batteri svolgono un ruolo importante nella salute e nella malattia attraverso il loro coinvolgimento nella nutrizione, nella patogenesi e nell'immunologia. Tradizionalmente, sono state utilizzate tecniche basate sulla coltivazione per determinare la composizione batterica nelle feci. Tuttavia, tecniche molecolari basate sull'analisi dei geni 16S rRNA amplificati direttamente dal DNA estratto dalle feci hanno stimato che meno del 25% delle popolazioni batteriche fecali sono state coltivate fino ad oggi. Pertanto, non possiamo comprendere appieno il loro ruolo nell'ambiente intestinale o come l'equilibrio ecologico della comunità batterica possa essere alterato.

È noto che gli agenti antimicrobici non solo influenzano i patogeni a cui sono diretti, ma possono anche avere un impatto su altri membri del microbiota intestinale. Pertanto, inibiscono gli organismi sensibili e selezionano quelli resistenti. In precedenza sono state utilizzate diverse tecniche di fingerprinting molecolare per analizzare l'impatto degli antibiotici sul microbiota fecale, come l'elettroforesi su gel denaturante o a gradiente di temperatura (DGGE o TGGE) la TGGE temporale (TTGE) il polimorfismo di lunghezza dei frammenti di restrizione terminale (T-RFLP) e la cromatografia liquida ad alte prestazioni denaturante (DHPLC)

Tutte queste tecniche aggirano la necessità della coltivazione, consentendo analisi comparative delle impronte digitali della comunità e la capacità di monitorare i relativi spostamenti in popolazioni specifiche.

Di recente la *clonazione metagenomica* per accrescere ulteriormente la nostra comprensione della composizione e della funzione del microbioma gastrointestinale, ovvero il genoma collettivo del nostro microbiota. Inoltre, la PCR in tempo reale può essere utilizzata per la quantificazione assoluta o relativa di specifici geni di interesse nel DNA isolato da materiale fecale

[\*Bartosch S et al. Characterization of bacterial communities in feces from healthy elderly volunteers and hospitalized elderly patients by using real-time PCR and effects of antibiotic treatment on the fecal microbiota. Appl Environ Microbiol. 2004 Jun;70\(6\):3575-81.\*](#)

Ora che sono disponibili diversi strumenti molecolari, è possibile selezionare strumenti appropriati per affrontare questioni specifiche e utilizzare un approccio polifasico per valutare la composizione e la funzione del microbiota intestinale.

L'impatto degli antibiotici sulle specie di *Bacteroides* è di particolare interesse perché queste rappresentano uno dei gruppi batterici intestinali più dominanti e hanno importanti funzioni nell'intestino. Nel colon le specie di *Bacteroides* fermentano una varietà di carboidrati e alcune, come *B. thetaiotaomicron*, possono fermentare polisaccaridi vegetali

[BACTEROIDES OF THE HUMAN LOWER INTESTINAL TRACT](#)  
AA Salyers - Annual review of microbiology, 1984 - annualreviews.org

Alcune delle specie di questo genere sono patogeni opportunisti, come *B. fragilis*, e possono causare una varietà di infezioni, ad esempio nel flusso sanguigno e nell'area intra-addominale. *B. fragilis* è la specie più frequentemente isolata da campioni clinici, seguita da *B. thetaiotaomicron*.

I *Bacteroides* sono resistenti a un'ampia gamma di antibiotici, tra cui aminoglicosidi, antibiotici  $\beta$ -lattamici e tetraciclina. La clindamicina è stata il farmaco di scelta nel trattamento delle infezioni da *Bacteroides* poiché lo spettro antibatterico di questo antibiotico copre quasi tutti i batteri anaerobi. Sebbene alcuni *Bacteroides* spp. siano soppressi dalla clindamicina ( Sullivan et al., 2003 ),

Sullivan A et al. *Effect of antimicrobial agents on the ecological balance of human microflora. Lancet Infect Dis. 2001 Sep;1(2):101-14.*

altri hanno dimostrato di essere resistenti alla clindamicina e a diversi altri antibiotici e la resistenza a questo antibiotico è in aumento

Clindamycin-induced enrichment and long-term persistence of resistant *Bacteroides* spp. and resistance genes S Löfmark, C Jernberg, JK Jansson, C Edlund *Journal of Antimicrobial Chemotherapy, 2006* •academic.oup.com

Il team di **Cecilia Jenberg** del *Dipartimento di Medicina di Laboratorio, Istituto Karolinska, Stoccolma, Svezia.*



Ha scoperto che la somministrazione di **clindamicina per 7 giorni** ha determinato un aumento drammatico di ***Bacteroides* spp.** resistenti agli antibiotici isolati da campioni fecali e ceppi resistenti potevano ancora essere isolati fino a 2 anni dopo il trattamento.



I livelli di resistenza alla **clindamicina** tra gli isolati analizzati erano circa il 50% nei campioni post-esposizione, rispetto allo 0-1% nei campioni di soggetti non trattati. La persistenza a lungo termine della resistenza agli antibiotici nel microbiota intestinale umano e suggerendo che i ceppi resistenti di *Bacteroides* potrebbero fungere da riserva di resistenza agli antibiotici.

Recentemente nel report

Jernberg C et al  
**Long-term ecological impacts of antibiotic administration on the human intestinal microbiota.**  
*ISME J. 2007 May;1(1):56-66.*

Hanno analizzato l'impatto a lungo termine di un trattamento di **7 giorni con clindamicina** sul microbiota fecale e monitorato simultaneamente la stabilità ecologica del microbiota in un gruppo di controllo come base di riferimento.

Campioni fecali di quattro soggetti esposti a **clindamicina** e quattro soggetti di controllo sono stati raccolti in nove diversi punti temporali nell'arco di 2 anni.

Utilizzando un approccio polifasico, abbiamo osservato disturbi altamente significativi nella comunità batterica che sono persistiti per tutto il periodo di campionamento. In particolare, un forte calo nella diversità clonale degli isolati di **Bacteroides**, come valutato dalla PCR basata su sequenze ripetitive (rep-PCR) e la persistenza a lungo termine di cloni altamente resistenti sono stati riscontrati come risposta diretta all'esposizione agli antibiotici.

La **comunità di Bacteroides** non è mai tornata alla sua composizione originale durante il periodo di studio, come valutato utilizzando la tecnica di impronta molecolare, **il polimorfismo della lunghezza dei frammenti di restrizione terminale (T-RFLP)**.

Inoltre, utilizzando la PCR in tempo reale, abbiamo riscontrato un aumento drammatico e persistente nei livelli di geni di resistenza specifici nel DNA estratto dalle feci dopo la somministrazione di **clindamicina**.

Le variazioni temporali nel microbiota del gruppo di controllo erano minori rispetto al grande e persistente spostamento osservato nel gruppo esposto.

Questi risultati dimostrano che molto tempo dopo che la pressione di selezione da una breve esposizione agli antibiotici è stata rimossa, ci sono ancora **impatti persistenti a lungo termine sul microbiota intestinale umano che permangono fino a 2 anni dopo il trattamento**.

Vi sono inoltre alti rischi che ciò possa portare a una maggiore prevalenza della resistenza agli antibiotici, ridurre la possibilità di futuri trattamenti antibiotici di successo e di conseguenza portare a costi di trattamento più elevati.

# HALLOWEEN 2024

