



Informativa Test Microbiota

Cos'è il Microbiota: il microbiota è l'insieme dei microrganismi che vivono nei diversi distretti del nostro organismo. In simbiosi con le nostre funzioni vitali, svolge ruoli essenziali; favorisce la corretta digestione, genera nutrienti per le nostre cellule, sintetizza vitamine e metaboliti essenziali, supporta il sistema immunitario, protegge l'apparato cardiocircolatorio. Essendo la sua composizione determinata in modo individuo specifico sin dalla nascita (il parto cesareo altera il processo di formazione del microbiota nel neonato), dalle prime fasi della vita (allattamento) e poi dallo stile di vita assunto, il microbiota costituisce una vera e propria carta di identità. Conoscerlo consente di intervenire sulla sua composizione, favorendo popolazioni batteriche ad effetto positivo sull'organismo e sfavorendo quelle dannose. Questo è particolarmente vero nei casi in cui un particolare stato di sofferenza sia associabile alla presenza di una disbiosi, la disproporzione nella composizione batterica del microbiota.

Alcune condizioni come disturbi digestivi/intestinali, obesità, disturbi della pelle, infiammazioni vaginali ricorrenti, possono essere correlate a disbiosi e per questo migliorate mediante opportuni interventi che possono riguardare il cambio di stile di vita (alimentazione) o l'assunzione di probiotici, prebiotici o postbiotici.

Descrizione del test: il test consente la classificazione delle specie batteriche e fungine presenti nei diversi distretti (intestino, vagina, cavo orale).

Metodo di analisi: l'analisi viene eseguita mediante Next Generation Sequencing su piattaforma MiSeq Illumina. Il sequenziamento includerà le regioni variabili del gene dell'RNA ribosomiale 16S (rRNA) per l'identificazione e la classificazione delle specie batteriche ed il sequenziamento delle regioni ITS (Internal Transcribed Spacer) per l'identificazione e la classificazione dei funghi.

Analisi del dato: per l'interpretazione dei dati si utilizza il software BaseSpace 16S di Illumina.

Classificazione: L'analisi consentirà di classificare la composizione del microbiota, determinando la percentuale di ciascuna popolazione e l'indice di biodiversità, correlata ad uno stato di buona salute.

Verrà considerato il livello dei batteri benefici e di quelli potenzialmente patogeni. L'eventuale associazione fra stato di sofferenza e specifica disbiosi consentirà di mettere in atto azioni correttive.



Phyla batterici presenti nel microbiota intestinale

- Firmicutes
- Bacteroidetes
- Proteobacteria
- Actinobacteria
- Cyanobacteria

I **Firmicutes** costituiscono uno dei phyla più abbondanti assieme ai Bacteroidetes e svolgono un ruolo significativo nella relazione fra i batteri intestinali e la salute dell'uomo. Molti membri di questo phylum **scompongono i carboidrati** che non possono essere digeriti nell'intestino dagli enzimi del corpo, come fibre dietetiche e gli amidi resistenti. I membri del phylum Firmicutes sono Lactobacilli, Faecalibacterium che svolgono un'attività probiotica producendo **acidi grassi a catena corta (SCFA)** utili per la salute e **butirati**. Ma all'interno di questo phylum ci sono alcune specie patogene, come Clostridium perfringens e Clostridium difficile (tipi di batteri che causano infezioni gastrointestinali), Staphylococcus aureus che è causa comune di alcune infezioni gravi e altri batteri opportunistici gram-positivi.

I Firmicutes e il phylum dei Proteobacteriae producono anche batteri **solforiduttori**. Metabolizzando composti contenenti zolfo come mucine e amminoacidi, questo gruppo produce l'acido solfidrico (H₂S), considerato altamente tossico al di fuori di una gamma fisiologica strettamente regolata. Il phylum è coinvolto in molti processi metabolici, enzimatici e ormonali e nell'assorbimento di minerali, e il suo equilibrio è considerato cruciale per il benessere dell'intestino e degli altri organi.

I **Bacteroidetes** includono batteri aerobi o anaerobi gram-negativi che non formano spore e bastoncellari. Molti Bacteroidetes sono alleati del nostro corpo poiché partecipano ad alcune conversioni metaboliche essenziali come la **degradazione delle proteine o dei polimeri zuccherini complessi**. Il phylum dei Bacteroidetes contiene anche patogeni opportunisti come Bacteroides fragilis e Porphyromonas. L'equilibrio o lo squilibrio dei Bacteroidetes può avere rispettivamente effetti positivi o negativi per l'ospite. In quanto membri del consorzio della degradazione dei polisaccaridi, contribuiscono a rilasciare energia dalle fibre dietetiche e degli amidi e sono probabilmente una fonte primaria di propionato; tuttavia, sono anche coinvolti nel rilascio di prodotti tossici derivanti dalla scomposizione delle proteine. I membri di questo gruppo hanno alcune attività che possono aiutare a reprimere l'infiammazione, ma potrebbero potenzialmente anche promuoverla. Lo squilibrio dei Bacteroidetes è attribuito principalmente all'obesità e alle malattie infiammatorie intestinali come il morbo di Chron e la colite ulcerosa, e porta alla sovraespressione di proteasi microbica e all'idrolasi. L'eccessiva presenza di endotossine LPS da parte di questo gruppo gram-negativo può svolgere un ruolo fondamentale anche nell'infiammazione e nei processi ossidativi così come in quelli metabolici.

I **Proteobacteria** includono la maggior parte dei batteri gram-negativi, con una varietà di diversi patogeni quali Escherichia, Salmonella, Vibrio, Helicobacter, Yersinia, Legionellales e altri batteri non patogeni responsabili dell'**azotofissazione**. La famiglia delle Enterobacteriaceae è il rappresentante principale di questo phylum, ed è solitamente presente nell'intestino in quantità bilanciata. Questo gruppo di batteri è coinvolto in molti processi di riduzione dei nitrati e denitrificazione. Lo squilibrio di questo phylum viene considerato particolarmente importante in molte malattie.

Gli **Actinobacteria** includono per la maggior parte batteri gram-positivi con tre importanti famiglie principali: Bifidobacteriaceae, Coriobacteraceae, e Corynebacteriaceae. La stragrande maggioranza di Actinobacteria sono importanti saprofiti capaci di scomporre un'ampia gamma di rifiuti vegetali e animali nel processo di scomposizione. Questo phylum include i gruppi Streptomyces e Micromonospora, riconosciuti come produttori di molti **metaboliti bioattivi** utili all'uomo in qualità di antimicrobici, inibitori di enzimi e sostanze di controllo dell'equilibrio intestinale (molecole di segnalazione e immunomodulatori).



Uno dei generi più importanti appartenente agli Actinobacteria è il genere Bifidobacterium. La lista degli effetti positivi dei Bifidobacteria (che includono almeno 100 specie diverse) è molto lunga: regolazione dell'omeostasi microbica intestinale, inibizione di batteri opportunistici e dannosi, modulazione di risposte immunitarie, repressione di composti cancerogeni, produzione di vitamine, bioconversione di composti dietetici in molecole bioattive, riduzione di endotossine LPS nell'intestino. Sono inoltre coinvolti nel miglioramento della riduzione della colite ulcerosa e nella gestione dietetica dei FODMAP nella Sindrome del colon irritabile (IBS).

I **Cyanobacteria** sono batteri gram-negativi che includono cinque tipi di produttori di tossine e altri batteri utili ben noti per le loro importanti caratteristiche fototropiche a livello ecologico. Si distinguono per la loro abilità di eseguire la fotosintesi ossigenica (fotosintesi vegetale, evolvente in ossigeno e con ossidazione dell'acqua). Prima che le tecniche moderne di sequenziamento degli acidi nucleici fossero disponibili, molti di questi microrganismi erano sconosciuti. I Cyanobacteria oggi sono stati individuati nel microbioma intestinale, e i progressi nella tecnologia di sequenziamento hanno reso possibile lo studio dell'evoluzione e delle proprietà di questi microbi nonché il loro impatto sulla salute dell'uomo. Assieme al gruppo dei Melainobacteria, provvedono alla sintesi di diverse **vitamine B e K** nell'intestino umano; ciò suggerisce che questi batteri siano benefici per l'ospite poiché oltre ad agevolare la digestione delle fibre vegetali, sono anche una fonte di vitamine.

Batteri proinfiammatori

I batteri noti come proinfiammatori causano l'infiammazione, si associano a stati di sofferenza e patologici, includono:

Acinetobacter	Escherichia
Clostridium	Prevotella
Turicibacter	Salmonella
Haemophilus	Streptococcus
Helicobacter	Sutterella
Klebsiella	Alistipes

Batteri antinfiammatori

I batteri noti come antinfiammatori (che riducono l'infiammazione) includono:

Akkermansia	Lactobacillus
Bifidobacterium	Oxalobacter
Enterococcus	Parabacteroides
Eubacterium	Ruminococcus
Faecalibacterium	Coprococcus

In particolare:

- la relativa abbondanza di Akkermansia muciniphila sembra inversamente correlata all'obesità negli esseri umani



00186 ROMA – ISOLA TIBERINA Via di Ponte Quattro Capi n°39 – tel 06 68371
Dipartimento di Medicina di Laboratorio: Direttore Dott. Mauro Ciro Antonio Rongioletti
U.O.S.D. di Genetica Medica: Responsabile Dott. ssa Gioia Mastromoro
Tel. 06/6837898 06/68135401

Gm.genetica_medica@fbf-isola.it

- i Bifidobacterium sono responsabili del miglioramento della digestione del lattosio, prevenzione o cura della diarrea acuta causata da infezioni di origine alimentare, prevenzione o cura della diarrea da rotavirus, prevenzione della diarrea indotta da antibiotici, prevenzione o cura della sindrome dell'intestino irritabile (IBS) e di malattie infiammatorie intestinali (IBD). Hanno un ruolo nella difesa da *Helicobacter pylori*, nella stimolazione dell'immunità intestinale, nella stabilizzazione della peristalsi intestinale, nel miglioramento dell'immunità a varie malattie, nella difesa da alcuni tumori, nella riduzione dei livelli sierici di colesterolo e nella riduzione dell'ipertensione.

- la presenza di Enterococchi, presenti in una varietà di alimenti fermentati, in particolare *E. faecalis* e *E. faecium*, è considerata altamente auspicabile e può svolgere un ruolo importante nel metabolizzare le sostanze nel cibo e nel latte attraverso la proteolisi, la lipolisi e la scomposizione del citrato.

- gli Eubacterium, grazie alla loro capacità di utilizzare il glucosio e gli intermedi di fermentazione del glicano acetato e lattato per formare butirrato o propionato, svolgono un ruolo cruciale sull'equilibrio metabolico con un impatto finale sul microbiota intestinale/omeostasi dell'ospite e sulla salute di quest'ultimo. Sono coinvolti nella motilità del colon, nell'immunomodulazione e nella soppressione dell'infiammazione nell'intestino. L'Eubacterium spp. esegue anche le trasformazioni degli acidi biliari e del colesterolo nell'intestino, contribuendo così alla loro omeostasi.

- il *Faecalibacterium prausnitzii*, uno dei principali produttori di butirrato presenti nell'intestino, cruciale per la fisiologia intestinale e il benessere dell'ospite, ha proprietà protettive contro il cancro del colon-retto e le malattie infiammatorie intestinali. Un'abbondanza alterata di questo microbo è stata segnalata nelle malattie infiammatorie, come il morbo di Crohn, nonché nei disturbi depressivi, dimostrando il suo ruolo cruciale nella salute umana. Il cambiamento della composizione e della funzione del microbioma intestinale è riportato anche nelle malattie cardiovascolari, come l'insufficienza cardiaca cronica, in cui è stata recentemente dimostrata una diminuzione dell'abbondanza di *Faecalibacterium prausnitzii*.

- i *Lactobacillus* possono ripristinare l'omeostasi nei disturbi intestinali e, pertanto, svolgere un ruolo protettivo contro le malattie infiammatorie. I probiotici che contengono *Lactobacilli* sono stati usati terapeuticamente per modulare l'immunità, abbassare il colesterolo, trattare l'artrite reumatoide, prevenire il cancro, migliorare l'intolleranza al lattosio e prevenire o ridurre gli effetti della dermatite atopica, del morbo di Crohn, della diarrea e della stitichezza, nonché della candidosi e delle infezioni del tratto urinario (UTI).

- L' *Oxalobacter formigenes* svolge un ruolo essenziale nella regolazione del trasporto intestinale di ossalato. La mancanza di *O. formigenes* nel colon aumenta l'assorbimento intestinale di ossalato, portando ad un aumento dell'escrezione di ossalato urinario, quindi aumentando la probabile incidenza della formazione di calcoli renali. La presenza di *O. formigenes* è suscettibile a molti antibiotici comunemente usati. Di conseguenza, lo stato di colonizzazione potrebbe riflettere lo stato di salute, le abitudini alimentari o l'esposizione agli antibiotici.

- i *Ruminococcus* degradano e convertono i polisaccaridi vegetali (amido, glicogeno e cellulosa) in una varietà di nutrienti per i loro ospiti. La loro abbondanza è ridotta nei pazienti con malattie infiammatorie intestinali.

- *Ruminococcus*, *Faecalibacterium*, *Eubacteria*, *Akkermansia*, coinvolti nella produzione di butirrato e propionato, possono favorire il controllo dell'obesità (gli individui obesi hanno un aumento di batteri non produttori di butirrato come l'*E. coli*). I taxa produttori di butirrato sono anche ridotti nei soggetti con diabete mellito di tipo 2.



Phyla batterici presenti nel microbiota vaginale

Il microbiota vaginale è rappresentato da un microecosistema complesso e fluttuante durante la vita della donna; sensibile a cambi ormonali, età riproduttiva, ciclo mestruale, gestazione, stile di vita, condizioni di stress.

Nonostante le variazioni intra- e inter - individuali, il core del microbioma vaginale in condizioni fisiologiche è rappresentato in particolare da *Lactobacillus* spp., *Crispatus*, *Lactobacillus Iners*, *Lactobacillus Jensenii*, e *Lactobacillus Gasseri*. A seconda della predominanza di un ceppo rispetto ad un altro si distinguono cinque classi, CST (community state type):

- CST-I: *Lactobacillus Crispatus*
- CST-II: *L. Gasseri*
- CST-III: *L. Iners*
- CST-V: *L. Jensenii*
- CST-IV: manca un ceppo predominante ed è caratterizzato da *Anaerococcus*, *Peptoniphilus*, *Prevotella* e *Streptococcus* (CST-IVa), o di *Atopobium* e *Megasphaera* (CST-IVb)

La presenza di *Lactobacillus* favorisce la salute del microbiota vaginale e la difesa contro agenti patogeni grazie al mantenimento di un pH acido (mediante produzione di H₂O₂), alla produzione di acido lattico e batteriocine (peptidi con attività antimicrobica) ed alla costituzione di una barriera fisica contro il legame di altri batteri alle cellule epiteliali della vagina.

La variazione dei livelli di *Lactobacillus* è generalmente correlata ad uno stato di alterazione del microbiota (disbiosi); comunemente la salute e la stabilità sono favorite dalla predominanza di *Lactobacillus crispatus*, mentre condizioni di disbiosi si associano alla presenza predominante di *Lactobacillus iners* (che non è in grado di produrre acido lattico).

Disbiosi vaginale e vaginosi batterica

La vaginosi batterica è caratterizzata da una drastica diminuzione della popolazione di *Lactobacillus* a favore di batteri anaerobici fra i quali soprattutto *Gardnerella* (in grado di produrre un biofilm sull'epitelio vaginale, cruciale nella patogenesi della vaginosi batterica) ma anche *Prevotella*, *Atopobium*, *Mobiluncus*, *Bifidobacterium*, *Sneathia*, *Leptotrichia* e *Clostridiales*.

La vaginosi batterica è correlata con la risposta immunitaria dell'ospite.

Patologie associate a vaginosi batterica

- Aumentato rischio di contrarre patologie sessualmente trasmissibili come virus dell'herpes simplex di tipo 2 (HSV-2), HPV, HIV, infezione da clamidia, gonococco e tricomonale;
- Aumentato rischio di malattia infiammatoria pelvica, infezione polimicrobica del tratto genitale femminile superiore causata da microrganismi che risalgono dalla vagina e dalla cervice nell'endometrio e nelle tube di Falloppio. La sintomatologia più frequente comprende dolore addominale nei quadranti inferiori, secrezione cervicale e sanguinamento vaginale irregolare. Le complicanze a lungo termine comprendono sterilità, dolore pelvico cronico, e gravidanza ectopica.
- Aumentato rischio di parto pretermine ed aborto spontaneo tardivo. Alti livelli di batteri associati a vaginosi, come *Atopobium vaginae*, *Gardnerella vaginalis*, *Atopobium* e *Mobiluncus curtisii/mulieris*, e la riduzione dei livelli di *Lactobacillus crispatus* risultano correlati ad eventi avversi durante la gravidanza.



- Aumentato rischio di infertilità. La vaginosi batterica può essere correlata ad un aumentato rischio di infertilità ed interferire nell’impianto e mantenimento dell’embrione in utero sia nelle gravidanze spontanee che in quelle ottenute mediante procreazione assistita. La disbiosi vaginale è una delle cause dell’inflammazione del tessuto endometriale (endometrite cronica) associata ad infertilità. Mantenere la concentrazione di Lactobacilli superiore al 90% promuove significativamente il tasso di gravidanza.

Terapia

Conoscere lo stato del microbiota consentirà al medico curante di adottare le migliori strategie, quali terapia antibiotica, agenti che alterano il biofilm, probiotici Lactobacillus e trapianto di microbioma vaginale, separatamente o in combinazione, finalizzate al ripristino della corretta popolazione microbica (favorendo Lactobacillus) ed alla soluzione degli stati di sofferenza legati alla disbiosi.