



*Azienda Ospedaliera Nazionale
SS. Antonio e Biagio e Cesare Arrigo
Alessandria*

Working Paper of Public Health

Nr. 16/2014



La serie di *Working Paper of Public Health* (WP) dell'Azienda Ospedaliera di Alessandria è una serie di pubblicazioni *online* ed *Open Access*, *progressiva* e *multi disciplinare* in *Public Health* (ISSN: 2279-9761). Vi rientrano pertanto sia contributi di medicina ed epidemiologia, sia contributi di economia sanitaria e management, etica e diritto. Rientra nella politica aziendale tutto quello che può proteggere e migliorare la salute della comunità attraverso l'educazione e la promozione di stili di vita, così come la prevenzione di malattie ed infezioni, nonché il miglioramento dell'assistenza (sia medica sia infermieristica) e della cura del paziente. Si prefigge quindi l'obiettivo scientifico di migliorare lo stato di salute degli individui e/o pazienti, sia attraverso la prevenzione di quanto potrebbe condizionarla sia mediante l'assistenza medica e/o infermieristica finalizzata al ripristino della stessa.

Gli articoli pubblicati impegnano esclusivamente gli autori, le opinioni espresse non implicano alcuna responsabilità da parte dell'Azienda Ospedaliera "SS. Antonio e Biagio e Cesare Arrigo" di Alessandria.

La pubblicazione è presente in: [Directory of Open Access Journals \(DOAJ\)](#); [Google Scholar](#); [Academic Journals Database](#);

Comitato Scientifico:

Dr. Nicola Giorgione (Presidente)

Dr. Luciano Bernini (Vice-Presidente)

Dr. Francesco Arena

Dr. Ivo Casagrande

Dr. Gabriele Ferretti

Dr.ssa Lorella Gambarini

Dr. Francesco Musante

Dr. Claudio Pesce

Dr. Fernando Pesce

Dr. Salvatore Petrozzino

Comitato di Direzione:

Dr. Antonio Maconi

Dr. Ennio Piantato

Responsabile:

Dr. Antonio Maconi

telefono: +39.0131.206818

email: amaconi@ospedale.al.it

Segreteria:

Roberto Ippoliti, Ph.D.

telefono: +39.0131.206819

email: rippoliti@ospedale.al.it

Norme editoriali:

Le pubblicazioni potranno essere sia in lingua italiana sia in lingua inglese, a discrezione dell'autore. Sarà garantita la sottomissione di manoscritti a tutti coloro che desiderano pubblicare un proprio lavoro scientifico nella serie di WP dell'Azienda Ospedaliera di Alessandria, purché rientrino nelle linee guida editoriali. Il Responsabile Scientifico di redazione verificherà che gli articoli sottomessi rispondano ai criteri editoriali richiesti. Nel caso in cui lo si ritenga necessario, lo stesso Responsabile valuterà l'opportunità o meno di una revisione a studiosi o ad altri esperti, che potrebbero o meno aver già espresso la loro disponibilità ad essere revisori per il WP (i.e. *peer review*). L'utilizzo del *peer review* costringerà gli autori ad adeguarsi ai

migliori *standard* di qualità della loro disciplina, così come ai requisiti specifici del WP. Con questo approccio, si sottopone il lavoro o le idee di un autore allo scrutinio di uno o più esperti del medesimo settore. Ognuno di questi esperti fornirà una propria valutazione, includendo anche suggerimenti per l'eventuale miglioramento, all'autore, così come una raccomandazione esplicita al Responsabile Scientifico su cosa fare del manoscritto (i.e. *accepted* o *rejected*).

Al fine di rispettare criteri di scientificità nel lavoro proposto, la revisione sarà anonima, così come l'articolo revisionato (i.e. *double blinded*).

Diritto di critica:

Eventuali osservazioni e suggerimenti a quanto pubblicato, dopo opportuna valutazione di attinenza, sarà trasmessa agli autori e pubblicata *on line* in apposita sezione ad essa dedicata.

Questa iniziativa assume importanza nel confronto scientifico poiché stimola la dialettica e arricchisce il dibattito su temi d'interesse. Ciascun professionista avrà il diritto di sostenere, con argomentazioni, la validità delle proprie osservazioni rispetto ai lavori pubblicati sui Working Paper of Public Health.

Nel dettaglio, le norme a cui gli autori devono attenersi sono le seguenti:

- I manoscritti devono essere inviati alla Segreteria esclusivamente in formato elettronico all'indirizzo e-mail dedicato (i.e. rippoliti@ospedale.al.it);
- A discrezione degli autori, gli articoli possono essere in lingua italiana o inglese. Nel caso in cui il manoscritto è in lingua italiana, è possibile accompagnare il testo con due riassunti: uno in inglese ed uno in italiano, così come il titolo;
- Ogni articolo deve indicare, se applicabile, i codici di classificazione JEL (scaricabili al sito: http://www.econlit.org/subject_descriptors.html) e le Keywords, nonché il tipo di articolo (i.e. Original Articles, Brief Reports oppure Research Reviews);
- L'abstract è il riassunto dell'articolo proposto, pertanto dovrà indicare chiaramente: Obiettivi; Metodologia; Risultati; Conclusioni;
- Gli articoli dovrebbero rispettare i seguenti formati: *Original Articles* (4000 parole max., abstract 180 parole max., 40 references max.); *Brief Reports* (2000 parole max., abstract 120 parole max., 20 references max., 2 tabelle o figure) oppure *Research Reviews* (3500-5000 parole, fino a 60 references e 6 tabelle e figure);
- I testi vanno inviati in formato Word (Times New Roman, 12, interlinea 1.5). Le note, che vanno battute in apice, non possono contenere esclusivamente riferimenti bibliografici. Inoltre, la numerazione deve essere progressiva;
- I riferimenti bibliografici vanno inseriti nel testo riportando il cognome dell'Autore e l'anno di pubblicazione (e.g. Calabresi, 1969). Nel caso di più Autori, indicare nel testo il cognome del primo aggiungendo *et al*; tutti gli altri Autori verranno citati nei riferimenti bibliografici alla fine del testo.
- I riferimenti bibliografici vanno elencati alla fine del testo in ordine alfabetico (e cronologico per più opere dello stesso Autore).

Nel sottomettere un manoscritto alla segreteria di redazione, l'autore accetta tutte le norme qui indicate.



Titolo: La traslocazione della flora batterica intestinale: suo ruolo nella sepsi e nell'infezione da HIV

Autore: Amendola G.¹

Tipo: Rapporto breve

Keywords: Traslocazione batterica; HIV; sepsi;

1. Traslocazione batterica e sepsi.

La traslocazione batterica è l'invasione di germi vitali e non, e di loro bioprodotto, attraverso la mucosa dell'intestino a linfonodi mesenterici, alla milza, al fegato, al peritoneo. Avviene frequentemente in pazienti con occlusione intestinale ed è causa di conseguente sepsi, ma, come dimostrato da molti studi sperimentali, ad ogni tipo di "injury" lo stesso intestino diventa "organo bersaglio" e la sua disfunzione porta all'alterazione della sua permeabilità, facilitando appunto i fenomeni di traslocazione batterica e di assorbimento di endotossine e altri detriti. I fattori che possono stimolare la traslocazione batterica sono le immunodeficienze e le immunosoppressioni dell'ospite, le alterazioni dell'equilibrio "ecologico" dell'intestino, la permeabilità della barriera mucosa, l'ittero ostruttivo, lo stress... Si verifica attraverso passaggi transcellulari e paracellulari e può essere misurata sia

¹ S.C. Malattie Infettive
Azienda Ospedaliera "SS. Antonio e Biagio e Cesare Arrigo" di Alessandria
E-mail: gamendola@ospedale.al.it



direttamente dalla coltura dei linfonodi mesenterici sia indirettamente da emocolture periferiche, rilevamento di DNA microbici o endotossine e escrezione urinaria di zuccheri non metabolizzati. La traslocazione batterica può essere un normale fenomeno che si verifica anche in individui sani senza conseguenze. Ma quando il sistema immunitario è sollecitato in modo esteso cede ed esita in complicazioni settiche che si localizzano in siti lontano dal "focus" principale. La relazione fra traslocazione batterica e "multi-organ failure" (MOF) sta perciò nel fatto che, superato il filtro epatico e successivamente quello polmonare, vi può essere diffusione nel torrente circolatorio con conseguenti batteriemie, fungemie ed endotossinemie che causano (e mantengono) le sepsi sistemiche e quindi alle MOF. La traslocazione è sempre in qualche modo conseguenza di un'interruzione della barriera gastrointestinale, a seguito di danno funzionale e/o anatomico, sostenendo così l'ipotesi di "gut failure". La barriera gastroenterica possiede componenti di difesa estrinseci ed intrinseci: la barriera estrinseca, situata all'interno del lume, stabilizza l'intero materiale intestinale sulla superficie epiteliale e consiste di muco, di IgA secretorie e della flora batterica intraluminale; i componenti intrinseci sono rappresentati da cellule epiteliali e dallo spazio intorno ad esse, ulteriormente protetti dalla presenza di "tight junctions" (giunzioni occludenti). Questi componenti della barriera gastrointestinale possono essere superati in caso di alterazione funzionale ed anatomica delle mucose. Nel paziente critico con grave alterazione dell'omeostasi molti fattori predispongono alla traslocazione batterica ed endotossinica, in condizioni sia di inalterata barriera anatomica sia di alterazione della mucosa intestinale. Per comprendere meglio, alcuni recenti lavori hanno indicato come la traslocazione di piccole quantità di endotossine sia un importante fenomeno fisiologico per potenziare il S.R.E., specialmente le cellule di Kupffer nel fegato. Una "rottura" sia della barriera mucosa sia della "capacità" del S.R.E. porta ad una endotossinemia sistemica, la quale esita in disfunzione d'organo, danneggia ulteriormente la barriera mucosa, il sistema della coagulazione, il sistema immune e deprime la funzione delle cellule di Kupffer. Se i meccanismi naturali di difesa quali le proteine leganti i lipopolisaccaridi, le lipoproteine ad alta densità, in combinazione con il S.R.E. non rispondono adeguatamente, la disfunzione della barriera intestinale porta alla traslocazione batterica. Una spiegazione più plausibile allora è che la traslocazione batterica sia il fenomeno tardivo di una MOF, non il suo "iniziatore". Sappiamo che situazioni cliniche gravi quali appunto le setticemie, i grandi traumi, lo shock, ed altre condizioni possono provocare una sindrome da "distress respiratorio" (ARDS) che può progredire a sua volta in una sindrome da disfunzione multi-



organo (MODS) di assai elevata mortalità. Recenti studi indicano che i vasi linfatici intestinali servono come prima via per i fattori non batterici derivati dal danno tissutale dell'intestino e che possono indurre un'ARDS e una MODS. L'ipotesi dei linfatici intestinali coinvolti nella genesi di entrambe queste sindromi aiuta così a chiarire un importante problema, il motivo cioè per cui il polmone sia il primo organo ad andare in sofferenza: la linfa dal mesenterio infatti entra nella vena succlavia attraverso il dotto toracico che sfocia direttamente nel cuore e nel polmone. Questa ipotesi fornisce nuove informazioni patofisiologiche, stabilendo al riguardo una base per nuove terapie; lo studio della composizione della linfa potrebbe consentire l'isolamento e l'identificazione dei "MODS-inducing factors". Modificazioni dell'intestino quindi, indotte da manovre chirurgiche come le laparotomie, attraverso le stesse procedure dell'anestesia, e come detto gli stessi stati di shock, attraverso il meccanismo ischemia/riperfusion e i riflessi neuro-endocrini, determinano ileo dinamico precoce. Inoltre, le cure nelle Unità di Terapia Intensiva ed il "non utilizzo" del tratto gastro-intestinale per nutrizioni parenterali, promuovono ulteriori disfunzioni nel tratto gastro-intestinale stesso, portando ad un quadro di ileo progressivo, di colonizzazione delle alte vie digestive ed alla riduzione della funzione dell'intero tessuto linfoide presente nel tratto gastro-intestinale. Il tratto superiore si comporta come un "reservoir" di patogeni, mentre i meccanismi di difesa locali e sistemici che prevengono la diffusione batterica subiscono profonde alterazioni. In pratica il tratto gastro-intestinale non può essere considerato un organo passivo, ma come organo dinamico, la cui funzione ricopre il ruolo tradizionale di assorbimento dei nutrienti insieme ad un'attività di difesa contro la potenziale nocività della flora intestinale. In condizioni normali il tratto gastro-intestinale prossimale è sterile o solo sporadicamente abitato da flora microbica avirulenta. Nel paziente critico si verifica un incremento significativo della flora batterica endogena presente nelle alte vie digestive e questa patologica colonizzazione contribuisce in modo importante all'insorgenza delle infezioni intra-ospedaliere. Infatti, oltre il 90% di soggetti con infezioni ospedaliere ha come causa un microrganismo contemporaneamente presente nel tratto gastro-intestinale "alto". Anche se non completamente dimostrato, la decontaminazione selettiva del tratto gastro-enterico e/o l'uso di farmaci citoprotettivi per la prevenzione dell'ulcera da stress sembrano ridurre l'incidenza di infezioni nosocomiali. La flora endogena svolge un importante ruolo nell'intestino resistente alla colonizzazione da parte di patogeni esogeni, la cosiddetta "resistenza alla colonizzazione". La riduzione o talvolta distruzione della flora endogena da parte degli antibiotici riduce tale resistenza alla colonizzazione, facilitando così



la colonizzazione di agenti patogeni esogeni. Alcune situazioni che portano alle "peritoniti terziarie" possono dipendere dal passaggio di batteri attraverso difetti della barriera intestinale, mentre in pochi pazienti sono presenti evidenti comunicazioni tra lume intestinale e cavità peritoneale (perforazioni). I microrganismi, in questi casi, sono per lo più stafilococchi coagulasi-negativi, Candida, Pseudomonas, enterococchi, E. coli, di riscontro abituale nelle peritoniti terziarie. Tutto quanto sin qui esposto supporta la possibilità di una forte e stretta correlazione tra colonizzazione patologica del tratto gastroenterico, infezioni acquisite nelle Terapie Intensive e M.O.F., giustificando l'ipotesi, in condizioni critiche, di un intestino che si comporta come un "ascesso non drenato", fonte di germi virulenti. Una volta verificatasi la traslocazione batterica, lo sviluppo di uno stato settico sistemico consolidato e dell'insorgenza della M.O.F. dipenderebbe da diversi fattori: a) carica e virulenza batterica, b) durata e frequenza dei fenomeni di traslocazione batterica, c) capacità di "clearance" batterica da parte del fegato e del polmone d) capacità complessiva sistemica della risposta immunitaria ed il rapporto tra mediatori pro-infiammatori rispetto ai mediatori infiammatori. Tali condizioni agiscono in sinergismo; perciò in definitiva il fenomeno della traslocazione batterica è da considerarsi il risultato di più eventi fisiopatologici.

2. Traslocazione batterica e infezione da HIV.

La replicazione virale dell'HIV, come confermato da diversi studi sperimentali, non è di per sé sufficiente per la comparsa dell'immunodeficienza, ma richiede l'interazione di altri cofattori, alcuni dei quali sono il danneggiamento della mucosa da parte del virus stesso e la conseguente traslocazione batterica intestinale. Questa, nell'infezione da HIV, è testimoniata dall'aumento dei livelli di lipopolisaccaride nel plasma dei pazienti "cronici" o con AIDS conclamata rispetto ai soggetti con infezione acuta o alle persone sieronegative, così come dalla presenza di livelli circolanti di peptoglicani e frammenti di DNA batterico. La replicazione virale da un lato e la traslocazione batterica dall'altro sono quindi causa di immunoattivazione, vale a dire l'attivazione di cellule del sistema immunitario che esprimono "marker" di attivazione, producono in maniera più attiva (le cellule B producono più immunoglobuline, le cellule T, le cellule NK e i monociti producono più citochine) ed entrano nel ciclo cellulare per dividersi. I linfociti T CD4 attivati che entrano nel ciclo cellulare invece non completano a divisione e vanno incontro ad apoptosi. Attraverso questo meccanismo l'immuno-attivazione evolve verso l'immunodeficienza. Tra i modelli patogenetici proposti per l'HIV, uno dei più suggestivi è certamente la traslocazione



microbica, iperattivazione immune, come detto, associata all'eccessivo passaggio in circolo di frammenti microbici intestinali fortemente immunogeni. Si è visto, da importanti studi al riguardo, che nel modello animale la somministrazione di probiotici può migliorare l'immunità mediante l'aumento di frequenza e funzionalità delle cellule presentanti l'antigene e quindi di citochine anti-infiammatorie; la combinazione di probiotici e HAART è così in grado di migliorare le funzioni immuni del tratto gastrointestinale (con incremento dei CD4 polifunzionali a fenotipo Th 17 e Th 1), suggerendo che questa nuova strategia terapeutica nei soggetti HIV+ possa contribuire a migliorare la prognosi, spegnendo l'immunoattivazione laddove è maggiormente attivata, come ad esempio nelle comorbidità cardiovascolari. In recenti pubblicazioni alcuni Autori hanno studiato la quantità di CD4 Th 17 (cellule T CD4 produttrici di IL-17 che salvaguardano l'integrità delle barriere mucose), la carica provirale del sigma ed i livelli di lipopolisaccaride del plasma in differenti popolazioni. L'ipotesi era che la diminuzione di Th 17 nelle mucose poteva persistere con una HAART di lunga durata nonostante la ricostituzione di cellule T CD4 e che ciò poteva consentire una continua traslocazione microbica. Sono state eseguite biopsie del sigma su alcuni pazienti, a loro volta suddivisi in "soggetti HIV+ entrati da poco in terapia da più di 6 mesi (naive)", "soggetti long-term suppressed" e "soggetti sieronegativi". I risultati hanno evidenziato che nei pazienti HIV+ non trattati non vi erano differenze in comparazione con i controlli dei "non infetti"; in coloro che avevano $CD4 < 350/mcl$ rilevate invece frequenze di ridotto Th 17 nel sangue in confronto ai controlli non infetti. Riduzione significativa della ratio Th 17/T reg nei pazienti cronici "naive" (con $CD4 < 350/mcl$), come pure si sono apprezzati livelli plasmatici elevati di lipopolisaccaridi rispetto ai controlli. Nei "long-term suppressed" le cellule Th 17 del sangue restavano ridotte in comparazione con i controlli e limitate ai pazienti con inizio della HAART con $CD4 < 350/mcl$. I livelli di lipopolisaccaridi restavano alti nonostante la terapia antiretrovirale. Non riscontrate differenze sia nelle frequenze Th 17, sia nella ratio Th 17/ T reg del colon sigmoide tra i "long-term suppressed" e controlli dei non infetti. Ma tale dato non è stato univoco come da sostanziale eterogeneità interindividuale, per cui in alcuni la quantità di Th 17 era più alta, in altri più ridotta rispetto ai controlli. Le cellule T reg (regolatori) sono una sottopopolazione di linfociti T specializzati nel sopprimere l'attivazione del sistema immunitario verso auto-antigeni e che quindi mantengono la tolleranza al "self". Prove sperimentali hanno dimostrato che alcuni agenti patogeni si siano evoluti per manipolare le T reg, immunosopprimendo l'ospite per potenziare la propria sopravvivenza. Infatti l'attività delle T reg aumenta considerevolmente in infezioni da HIV, da micobatteri,



in varie parassitosi come la Leishmaniosi e la Malaria da *Pl. Falciparum*. Per ciò che riguarda invece il carico provirale nel colon sigmoideo esso era direttamente in relazione con i livelli di lipopolisaccaridi nel plasma ed inversamente correlato con la frequenza di Th 17 del sigma. Questo studio dimostra perciò che l'infezione da HIV non trattata (o con $CD4 < 350/mcl$) è associata ad una disregolazione del Th 17 nelle mucose e con traslocazione microbica intestinale. Una complessiva traslocazione dei difetti associati all'HIV nel Th 17 del sigma e quantità di T reg sono stati riscontrati nei pazienti "long-term suppressed" in HAART. Tuttavia è stata riscontrata come detto una grande eterogeneità tra i vari casi. Il reservoir del sigma è rimasto alto nonostante la HAART di lungo periodo ed era associato ad un incompleto recupero delle popolazioni sigmoidee di Th 17 ed un'aumentata traslocazione microbica intestino-sistemica. Anche la replicazione virale residua può essere alla base di fenomeni immunitari e non (tra cui la stessa traslocazione batterica) che determinano fenomeni flogistici residui e quindi non AIDS correlate", quali il danno cardio-vascolare. Poiché in definitiva, come visto, l'HIV altera l'omeostasi intestinale, influenzando direttamente il sistema immune dell'ospite in quanto "uccide" le cellule CD4, il cui drammatico calo influenza la composizione microbica intestinale, la funzione epiteliale e la regolazione immune, portando all'aumento della permeabilità intestinale e quindi alla traslocazione batterica, una strategia che riduca l'attivazione immune (ad esempio, attraverso il miglioramento di supporto dell'integrità/regolazione immune della barriera intestinale) potrebbe influenzare la progressione della malattia. Uno studio su persone sieropositive in pre-trattamento hanno seguito una formula nutrizionale con oligosaccaridi prebiotici o un controllo isocalorico/isoazotato per un anno. Si è dimostrato alla fine un effetto positivo, con diminuzione del declino delle cellule CD4 a causa dello specifico intervento nutritivo.



Bibliografia

Hemsworth Jaime Caitlin, Hekmat Sharareh, Reid Gregor: " Micronutrient supplemented probiotic yogurt for HIV-infected adults taking HAART in London, Canada". *Gut Microbes* 3:5 September/October 2012; 414-419.

Lederman Michael: "4th IAS Conference on HIV Pathogenesis, Treatment and Pathogenesis", Sidney 2007.

Marchetti G., Bellistrì GM, Borghi E, Tincari C, Ferramosca S, La Francesca M et al. : "Microbial translocation is associated with sustained failure in CD4 + T cell reconstitution in HIV patients on long-term highly active antiretroviral therapy". *AIDS* 2008; 22: 2035.

Metniz PG, Lang T, ValentineA, Steltzer H, KrennCG, Le Gall JR: "Evaluation of the logistic organ dysfunction system for the assessment of organ dysfunction and mortalità n critically ill patients" *Intensive Care Med* 2001; 27: 992-998

Van Leeuwen PA, Boermeester MA, Houdijk AP, Ferwerda CC, CuestaMA, Meyer S, Westorp RI: "Clinical significance of traslocation". *Gut* 35:1 Suppl 1994 Jan.; 28-34

Sganga G, Brisinda G, Maria G: "Disfunzione gastrointestinale". Springer Italia, Milano 2004:9