



# Meccanismi protettivi e di ripristino del *Bacillus clausii* nel disequilibrio intestinale indotto da IPP, mediante tecnologia SHIME

Zefferino Righetto, Daniel Marquez e Marcos Perez III, MD

L'uso a lungo termine degli inibitori della pompa protonica (IPP) può portare a un disequilibrio della flora intestinale, che può essere ripristinata con i probiotici. Lo studio ha dimostrato gli effetti probiotici di *B. clausii* sulla salute del microbiota intestinale dopo una disbiosi indotta da IPP, utilizzando il modello Simulator of the Human Intestinal Microbial Ecosystem® (SHIME, simulatore dell'ecosistema microbico intestinale umano). Il probiotico ha migliorato in maniera specifica la diversità microbica e i livelli di butirrato, tra gli altri effetti osservati.

La recente evidenza ha mostrato che, oltre agli antibiotici, anche gli inibitori della pompa protonica (IPP) possono indurre disbiosi [1–3]. Un probiotico contenente i ceppi O/C, N/R, SIN e T di *Bacillus clausii* (EG) ha dimostrato per decenni la sua efficacia e sicurezza e si è rivelato un efficace complemento alla terapia tripla (due antibiotici e un IPP) nel trattamento delle infezioni da *Helicobacter pylori*, nella prevenzione dei sintomi digestivi, originariamente attribuiti agli antibiotici [4, 5]. Attualmente, è dimostrato il ruolo di *B. clausii* nel mantenimento e nel ripristino del microbiota intestinale con l'uso degli IPP [6].

## Triple-M-SHIME, simulatore mucosale triplo dell'ecosistema microbico intestinale umano

Duysburgh et al. (2023) hanno preparato un modello Triple-M-SHIME *in vitro* per 9 settimane, utilizzando campioni fecali di un donatore con livelli elevati di specie produttrici di butirrato (Fig. 1). L'obiettivo era quello di replicare differenti regioni del tratto gastrointestinale (ileo, colon prossimale e distale) di uno specifico donatore e il loro corrispondente microbiota [7]. Le variazioni dell'ecosistema microbico e le attività metaboliche sono state valutate nei tre bracci dello studio: di controllo (solo IPP), di prevenzione (IPP + Enterogermina® [EG] somministrati assieme) e di cura (IPP + EG somministrata successivamente). Inoltre, sono stati esaminati gli esiti relativi alla disbiosi indotta dagli IPP e le ipotesi post hoc sul meccanismo d'azione di *B. clausii*.

## Composizione delle comunità microbiche e variazioni associate

I livelli di *B. clausii* sono risultati significativamente elevati

sia nel lume che nella mucosa del braccio di controllo e di quello di prevenzione nella fase di trattamento, e viceversa nei bracci trattati con EG nella fase di washout ( $p < 0,001$  per tutti i confronti). Ciò indica la sopravvivenza e la replicazione di questi ceppi di *B. clausii* sia nell'ambiente luminale che in quello mucosale. In entrambi gli ambienti, è stata riportata una maggiore diversità microbica durante la fase di trattamento per il braccio di controllo ( $p < 0,001$  ciascuno) e di prevenzione ( $p < 0,05$  ciascuno) e durante la fase di washout per il braccio di cura ( $p < 0,001$  ciascuno; Fig. 2).

*B. clausii* è stato in grado di mantenere la conta batterica di batteri intrinseci quali *Gemmiger formicilis* e *Akkermansia muciniphila* del colon distale in entrambi i bracci, di cura e di prevenzione, e Prevotella denticola del colon prossimale nel braccio di prevenzione, che altrimenti sarebbero stati ridotti dagli IPP.

Un aumento significativo dei livelli di butirrato nelle varie fasi dei rispettivi bracci dello studio implica un ruolo dell'EG nell'aumentare i livelli di questo acido grasso a catena corta in:

- fasi di trattamento dei bracci di prevenzione e di cura ( $p < 0,004$  ciascuno)
- colon prossimale e distale nei bracci di prevenzione (fase di trattamento) e di cura (fase di washout) rispetto alla fase di trattamento dei rispettivi bracci di controllo con IPP ( $p < 0,001$  ciascuno)

Il butirrato, fonte primaria di energia delle cellule intestinali, influenza la motilità e le funzioni endocrine intestinali, la permeabilità e le risposte immunitarie [8]. Pertanto, l'aumento

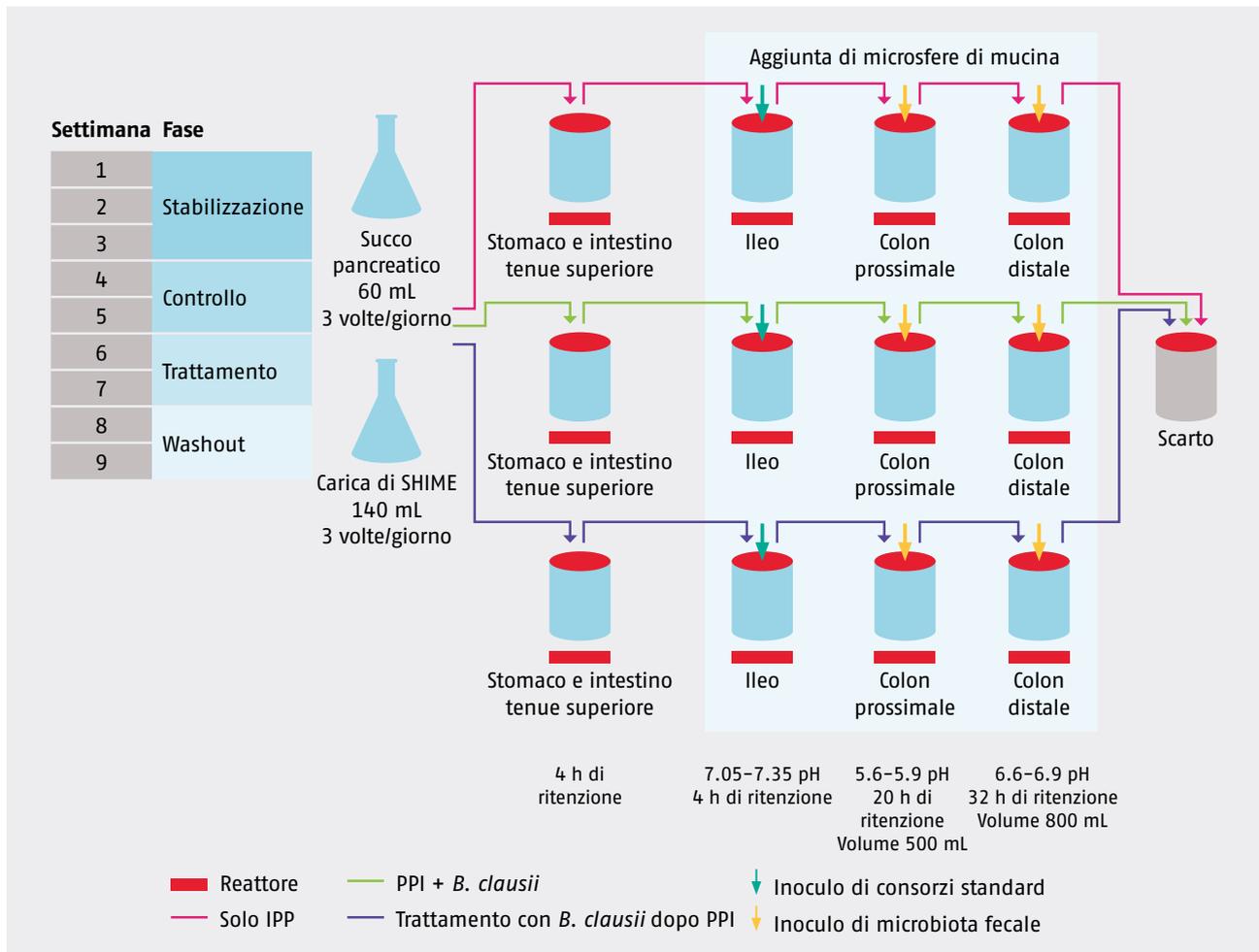


Fig. 1. Schema del modello Triple-M-SHIME (adattato da Duysburgh et al. 2023) [7]

Questo modello è stato ottimizzato per simulare l'intero tratto GI, compresi i tempi di ritenzione e il pH, e consisteva in un reattore combinato stomaco + intestino tenue. La regione ileale è stata inoculata con il consorzio ileale, le regioni prossimale e distale del colon con il consorzio fecale derivato dal donatore e sono state aggiunte microsferine di mucina, per replicare l'ambiente della mucosa ileale e colica. Durante ciascuna fase, sono stati raccolti campioni da ciascun reattore dell'ambiente luminale e mucosale.

h, ora; IPP, inibitore della pompa protonica; Triple-M-SHIME, Triple-Mucosal-Simulator of the Human Intestinal Microbial Ecosystem (simulatore dell'ecosistema microbico intestinale umano)

dei livelli di butirrato dopo l'uso di probiotici suggerisce un ruolo benefico nel mantenimento della salute generale dell'intestino [8].

Altri risultati degni di nota di questo studio includono il ruolo di *B. clausii* nel ridurre la disbiosi indotta da IPP, aumentando la diversità microbica intestinale; nell'opporsi agli effetti indotti da IPP sui livelli del microbiota intestinale (in particolare *Coriobacteriaceae*, *Selenomonadaceae*, *Akkermansiaceae*, *G. formicilis*, *A. muciniphila*, *S. bovis* e *P. denticola*); e nella conversione dell'acetato in butirrato, aumentando così i livelli di butirrato e dei suoi produttori.

I modelli *in vitro* offrono un approccio pratico e non invasivo per chiarire i meccanismi; tuttavia, gli autori dello studio sono consapevoli dei limiti metodologici, come il controllo dei fattori confondenti, il trasferimento dei risultati *in vivo* e nella pratica clinica e l'estrapolazione dei risultati alla popolazione umana. Lo studio offre comunque una fonte per la validazione dei risultati in future indagini che utilizzino disegni di studio

più robusti.

### Riepilogo

L'innovativo modello Triple-M-SHIME, che riproduce la disbiosi indotta da IPP, fornisce indicazioni sui potenziali meccanismi di promozione della salute dell'apparato digerente, migliorando la stabilità del microbiota intestinale e aumentando la produzione di butirrato.

### Letteratura

- Lo WK, Chan WW. Proton pump inhibitor use and the risk of small intestinal bacterial overgrowth: A meta-analysis. *Clin Gastroenterol Hepatol.* 2013;11:483-90. doi: 10.1016/j.cgh.2012.12.011.
- Naito Y, Kashiwagi K, et al. Intestinal dysbiosis secondary to proton-pump inhibitor use. *Digestion.* 2018;97:195-204. doi: 10.1159/000481813.
- Macke L, Schulz C, et al. Systematic review: The effects of proton pump inhibitors on the microbiome of the digestive tract-evidence from next-generation sequencing studies. *Aliment Pharmacol Ther.* 2020;51:505-26. doi: 10.1111/apt.15604.

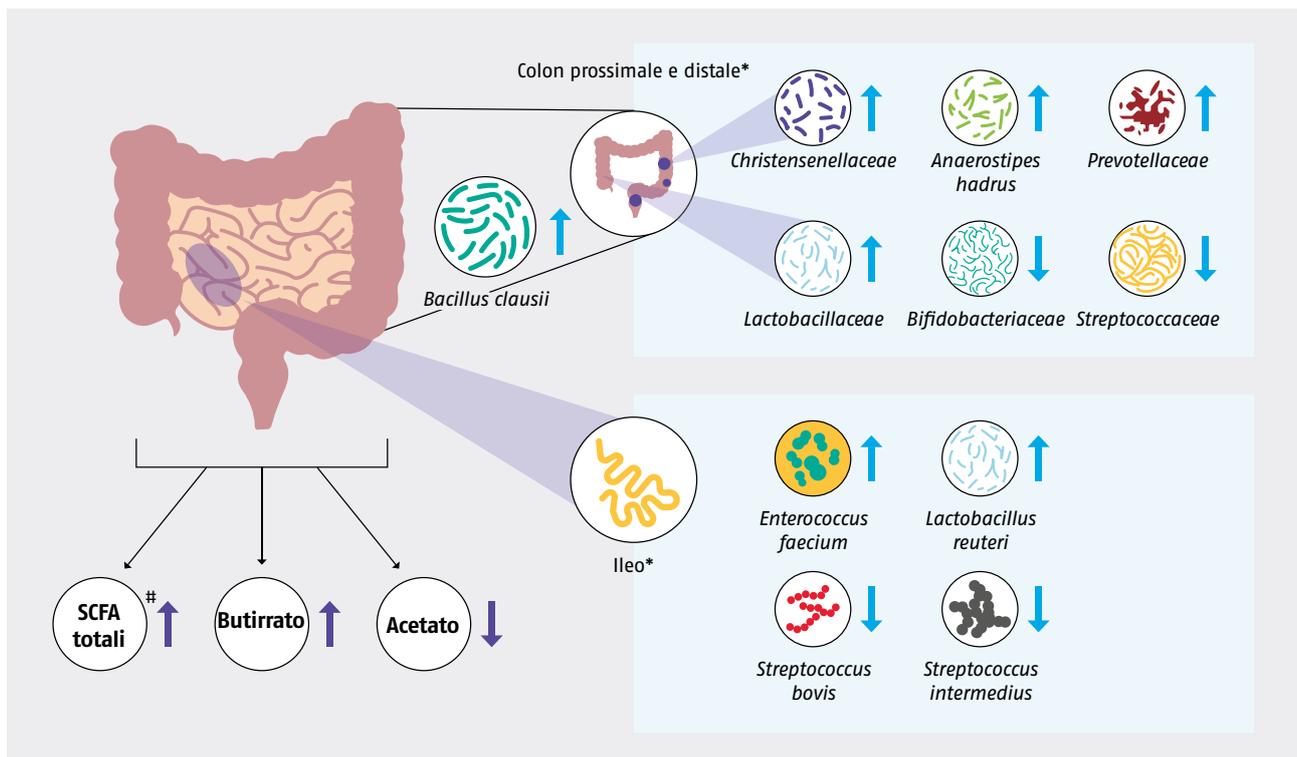


Fig. 2. Attività metabolica e composizione microbica nell'ileo, nel colon prossimale e distale dopo trattamento con omeprazolo ed Enterogermina®.

\* La variazione nella composizione microbica è stata statisticamente significativa ( $p < 0,05$ ) rispetto al controllo e anche tra i bracci di trattamento sperimentale durante il periodo di trattamento e di washout.

# I livelli di propionato non sono stati influenzati dall'integrazione con Enterogermina®.

4. Nista EC, Candelli M, et al. *Bacillus clausii* therapy to reduce side-effects of anti-*Helicobacter pylori* treatment: Randomized, double-blind, placebo controlled trial. *Aliment Pharmacol Ther.* 2004;20:1181–8. doi: 10.1111/j.1365-2036.2004.02274.x.
5. Plomer M, Perez III M, et al. Effect of *Bacillus clausii* capsules in reducing adverse effects associated with *Helicobacter pylori* eradication therapy: A randomized, double-blind, controlled trial. *Infect Dis Ther.* 2020;9(4):867–78. doi: 10.1007/s40121-020-00333-2.
6. Ghelardi E, Abreu y Abreu AT, et al. Current progress and future perspectives on the use of *Bacillus clausii*. *Microorganisms.* 2022;10(6):1246. doi: 10.3390/microorganisms10061246
7. Duysburgh C, Verstrepen L, et al. Investigation of Enterogermina's protective and restorative mechanisms on the gut microbiota with PPI, using SHIME Technology. *Nutrients* 2023;15(3):653. doi: 10.3390/nu15030653.
8. Martin-Gallausiaux C, Marinelli L, et al. SCFA: Mechanisms and functional importance in the gut. *Proc Nutr Soc.* 2021;80(1):37–49. doi: 10.1017/S0029665120006916

Ringraziamenti: gli autori ringraziano Paula Fontanilla, PhD, per la revisione critica del manoscritto riguardante i contenuti scientifici, e Ashwitha A, dipendente di Sanofi, per il supporto alla scrittura e alla redazione.

Conflitto d'interessi: Z Righetto, D Marquez, M Perez III sono dipendenti di Sanofi.

Dichiarazioni: pubblicazione finanziata da Sanofi.

#### Informazioni sul manoscritto

Inoltrato il: 23.06.2023  
 Accettato il: 21.08.2023  
 Pubblicato il: 08.10.2023