

Ulcere cutanee-microbiota-ulcere infette

Paola Pini

Ambulatorio Ulcere Cutanee Ospedale di Gazzaniga, ASST Bg EST, Gazzaniga (BG), Italia

RIASSUNTO

È ormai assodato che le modificazioni della barriera cutanea e/o del suo sistema immunitario siano l'inevitabile causa di un'alterazione dell'equilibrio ospite-microbiota con la conseguente proliferazione della flora opportunistica e/o patogena e una risposta immune incontrollata che, a loro volta, potranno amplificare il quadro patologico stesso. L'ulcera consente al microbiota cutaneo e a quello ambientale di penetrare nei tessuti e trovarne condizioni ottimali per la crescita; si ritiene che l'interazione tra flora residente e cute abbia un ruolo positivo nel modulare la risposta immune nel processo di *wound healing* o che, comunque, la sua composizione lo condizioni significativamente. La guarigione delle ferite è un processo complesso che coinvolge più meccanismi che si interconnettono e sovrappongono di migrazione e proliferazione cellulare, richiamo e rilascio di citochine pro e antiinfiammatorie, fattori di crescita, sintesi e degradazione della matrice extracellulare. Lo squilibrio di questi complessi meccanismi, regolati da una grande varietà di vie di segnalazione, ne condiziona pesantemente il risultato che, a sua volta, è correlato con lo stato infiammatorio e la risposta immunitaria. Il rapporto microbo-microbo, oltre che microbo-cute; il ruolo del biofilm, inteso come stato aggregato dei microorganismi e il meccanismo di comunicazione tra loro attraverso il *Quorum-Sensing*; i meccanismi di progressione di una ferita colonizzata verso uno stato infetto; il ruolo fondamentale dell'ospite; l'impatto del microambiente su ospite e microbiota e "Uno sguardo al futuro" saranno l'oggetto di questa sintetica review che si propone di affrontare ormai il *wound healing* come il perfetto, inscindibile equilibrio tra ospite-cute-microbiota.

Corrispondenza: Paola Pini, Ambulatorio Ulcere Cutanee Ospedale di Gazzaniga, ASST Bg EST, via Manzoni 130, 24025 Gazzaniga, Bergamo, Italia.
E-mail: paolapini.mmg@libero.it

Parole chiave: microbiota cutaneo; microbiota cutaneo e interazioni con l'ospite; microbiota e biofilm; modello di zona; microbiota e diabete.

Conflitto di interessi: l'autrice dichiara di non avere potenziale conflitto di interessi.

Approvazione etica e consenso alla partecipazione: non applicabile.

Disponibilità di dati e materiali: i dati analizzati in questo articolo sono disponibili su richiesta.

Ricevuto: 27 aprile 2023.

Accettato: 16 ottobre 2023.

Nota dell'editore: le affermazioni espresse in questo articolo sono esclusivamente quelle degli autori e non rappresentano necessariamente quelle delle loro organizzazioni affiliate, né quelle dell'editore, dei redattori e dei revisori. Tutti i prodotti valutati in questo articolo o le affermazioni fatte dal loro produttore non sono garantiti o approvati dall'editore.

This work is licensed under a Creative Commons Attribution Non-Commercial 4.0 License (CC BY-NC 4.0).

©Copyright: the Author(s), 2023

Licensee PAGEPress, Italy

Italian Journal of Wound Care 2023; 7(3):98

doi:10.4081/ijwc.2023.98

Introduzione

La cute è l'organo più esteso del corpo umano, circa 1.8 mq, dalle molteplici, insostituibili funzioni tra cui spicca quella di barriera fisica nei confronti di sostanze esogene e di protezione dall'invasione di germi patogeni.^{1,2} Ogni suo cm quadrato ospita circa un milione di microorganismi di almeno mille specie diverse e ogni individuo adulto mette a loro disposizione circa 30mq di habitat in relazione alla presenza di circa cinque milioni di invaginazioni, tra follicoli piliferi e dotti sudoripari che ne aumentano significativamente la superficie colonizzabile.³ Oltre alla cute ogni superficie dell'organismo umano che sia in contatto con l'ambiente esterno: intestino, cavo orale, vie aeree, genitali, vie urinarie, è colonizzato da batteri, funghi, virus, altri organismi eucarioti unicellulari che costituiscono il microbiota.⁴ Si tratta di almeno 100.000 miliardi di microorganismi, dieci volte più numerosi delle cellule dell'organismo umano e che appartengono a centinaia di specie diverse, con un corredo genetico dai 3 agli 8 milioni di geni (il DNA dei 10.000 miliardi di cellule che compongono l'organismo umano ha un corredo di 20.000 geni).⁴ Il 70% circa del microbiota umano è localizzato nell'intestino.

Ai fini della conoscenza del microbiota si è rivelata fondamentale la tecnica del sequenziamento dell'RNA ribosomiale: ne viene determinata la sequenza del gene per la subunità 16s condivisa da tutti i batteri, ma non dagli esseri umani, una sorta di "codice a barre" per identificare e quantificare i microorganismi presenti. Per i funghi

viene codificata la subunità 18s RNA. Questa tecnica ha consentito di superare i limiti evidentissimi dell'esame colturale tradizionale (si pensi, ad esempio, alla difficoltà di isolare e coltivare i germi anaerobi). Con la più recente tecnica della *shotgun metagenomic sequencing*, inoltre, è oggi possibile ricostruire il genoma di virus e microeucarioti e identificare così, nel tempo, altri nuovi microrganismi.⁵ L'insieme dei microbi comunemente presenti sulla cute è definito residente o commensale perché non viene riconosciuto come aggressivo; ciò significa, e riveste un'importanza fondamentale, che il sistema immunitario cutaneo è in grado di distinguere la flora residente da quella patogena.³ In una specifica finestra temporale in età neonatale il sistema immunitario cutaneo è in grado di stabilire una tolleranza nei confronti del microbiota presente attraverso il richiamo di Tcells specifiche, le cellule T regolatorie che mediano la soppressione della risposta infiammatoria solo nei confronti dei commensali e non dei patogeni. Prova ne sia che riconoscono come commensale lo *S. epidermidis*, ma non lo *S. aureus* produttore di un'alfa tossina che, attraverso l'attivazione di IL-1 è in grado di inibirne la funzione e di garantire la risposta immune contro il patogeno.⁶ La flora residente non è semplicemente ospite della cute bensì è in grado di opporsi ai continui tentativi di colonizzarla da parte di organismi diversi, innanzitutto occupandola in modo stabile e ponendosi in competizione con ogni altro microorganismo non commensale, ad esempio acidificandola attraverso alcuni prodotti del suo metabolismo e rendendola quindi inospitale per altri ceppi, oppure attraverso la sintesi di molecole antimicrobiche (AMPs). Un esempio su tutti: lo *S. epidermidis* coagulasi negativo (CoNS) produce uno specifico peptide antimicrobico (AMP) che contrasta il tentativo di colonizzazione da parte del patogeno *S. aureus*. Alcuni ceppi di *S. epidermidis* sono anche in grado di sintetizzare moduline capaci di distruggere la membrana di alcuni patogeni o produrre un lipopeptide di supporto alla difesa dell'ospite o, ancora, produrre acido lipoteicoico, un ligando *Toll like receptor 2* (TLR2) coinvolto nel meccanismo dell'infiammazione cutanea.⁶

Esiste quindi una rete di interazioni microbo-microbo che agisce in favore dell'ospite a conferma che il microbiota cutaneo è attivamente coinvolto e interagisce con il complesso sistema di controllo immunologico svolto dall'organo cute. Modula infatti l'espressione di vari fattori innati, ad es IL-1a, componenti del complemento e peptidi antimicrobici (AMP) prodotti da cheratinociti e sebociti; interagisce con il complesso di istocompatibilità maggiore non classico dell'antigene derivato dal commensale favorendo l'immunità protettiva di barriera, l'immunoregolazione e la riparazione dei tessuti; attiva le cellule *Mucosal associated invariant T cells* presenti anche nella cute che hanno azione protettiva nei confronti dei patogeni. Modificazioni della barriera cutanea e/o del

suo sistema immunitario determinano inevitabilmente un'alterazione dell'equilibrio ospite-microbiota con proliferazione della flora opportunistica e/o patogena e una conseguente risposta immune incontrollata che, a loro volta, potranno amplificare il quadro patologico stesso. Questa è la premessa per comprendere come un comune commensale possa trasformarsi, in situazioni favorevoli, in patogeno e determinare un'infezione.

Il microbiota cutaneo: le sue caratteristiche e la sua plasticità

È ormai condiviso che le specie microbiche esistano in un continuum tra mutualismo e patogenicità, strettamente correlato alla situazione immunologica e metabolica dell'ospite e alla presenza di alcuni partners microbici piuttosto che altri.^{3,7} A riprova di ciò, lo *S. aureus*, come già evidenziato orientato alla patogenicità, è tra le principali cause di infezione acquisite in comunità e nosocomiali, ma nel contempo colonizza in modo asintomatico il 20-40% della popolazione generale, a confermare la variabilità del suo range di patogenicità. Si ipotizza che tale variabilità possa essere correlata a interazioni microbo-microbo, ad esempio alla presenza di alcune specie di *Corinebatteri* in grado di interagire con un meccanismo di comunicazione tra cellule batteriche, il Quorum Sensing, utilizzando un segnale trascrizionale; in tal modo i *Corinebatteri* ne antagonizzerebbero la virulenza. Il *Cutibacterium Acnes* sarebbe però in grado di indurre l'aggregazione di *S. aureus* sotto forma di biofilm attraverso la produzione di coproporfirina III, ma anche di produrre acidi grassi a catena corta che sopprimono un particolare ceppo di *S. aureus*, resistente alla meticillina, denominato USA 300.⁷ In sintesi: il microbiota cutaneo è intimamente correlato con lo stato di benessere e/o di patologia cutanea; il dialogo costante e specifico tra i commensali e le cellule cutanee, entrambe dotati di competenza immunologica, ne regola l'omeostasi e contribuisce al ripristino della barriera danneggiata.⁸ La composizione del microbiota cutaneo è correlata a più fattori quali etnia, età, genere, geografia, stile di vita, igiene, professione, spessore cutaneo. Varia inoltre nei diversi distretti corporei: nelle aree umide è favorita la crescita di *Corinebatteri* e *Stafilococchi*, in aree secche ed esposte ad ampie fluttuazioni di temperatura sono favoriti i *Proteobatteri* (ad es: *E. coli*), in aree sebacee è favorita la crescita di anaerobi obbligati e facoltativi quali *Cutibatteri*, *Stafilococchi* e miceti del genere *Malassezia*. Indipendentemente da queste variazioni i commensali cutanei tipicamente presenti appartengono ai generi *Corinebacterium*, *Cutibacterium*, *Stafilococco* e *Prevotella*.⁶

In sintesi: il microbiota cutaneo è composto da una vasta gamma di microrganismi tra cui funghi, virus, ar-

tropodi, oltre che batteri, i più noti e studiati. Le specie fungine del microbiota, oltre che il citato genere *Malassezia* - il più rappresentato - circa l'80% dell'intero microbiota, includono *Cryptococcus* spp., *Rhodotorula* spp., *Aspergillus* spp., *Epicoccum* spp. e *Candida* spp.; rivestono un ruolo di primaria importanza sia nel mantenimento dell'omeostasi che nelle situazioni patologiche. In tempi recenti, con l'applicazione dei metodi metagenomici funzionali, è stato identificato anche il viroma cutaneo, una complessa flora residente rappresentata essenzialmente da varie specie di *betapapillomavirus* e *gammapapillomavirus*, *poliomavirus* e *circovirus*. Sono necessari ulteriori studi circa la dinamica, le variazioni nelle diverse sedi anatomiche e le potenziali variazioni in condizioni patologiche per comprenderne appieno il ruolo, ad esempio nelle patologie proliferative cutanee. Infine si ritiene che piccoli artropodi, localizzati solitamente sulla cute del volto, alla periferia delle ghiandole pilosebacee e dei follicoli piliferi, come gli acari *Demodex*, appartengano al microbiota cutaneo commensale perché presenti tra il 23 e il 100% degli individui sani; non va dimenticato, però che sono anche associati a patologie come la rosacea, la blefarite cronica, la demodicosi.⁹

Microbiota e cute: un legame a doppio filo

Il microbiota cutaneo è presente anche nel derma e questa localizzazione gioca un ruolo importante nella difesa immunitaria.^{6,10} I *Toll-like receptors*, espressi dai cheratinociti dell'epidermide, ad esempio, sono espressi anche dai fibroblasti e dagli adipociti presenti nel derma; partecipano attivamente al meccanismo dell'immunosorveglianza poiché riconoscono specifiche componenti microbiche e istruiscono le risposte dell'immunità innata e adattativa.⁶ Il sistema immunitario e il microbiota cutaneo interagiscono stabilmente al fine di garantire una funzione immunologica sana, in stretta correlazione con la situazione infiammatoria e metabolica dell'ospite; in seguito a modificazioni della barriera cutanea o del sistema immunitario, l'equilibrio ospite-microbiota viene meno con la conseguente proliferazione di una flora microbica non più commensale bensì opportunistica e/o patogena e una risposta immunitaria incontrollata.^{6,9} L'ulcera consente al microbiota cutaneo e a quello ambientale di penetrare nei tessuti e trovare condizioni ottimali per la crescita; si ritiene che l'interazione tra flora residente e cute abbia un ruolo positivo nel modulare la risposta immune nel processo di *wound healing* o che, comunque, la sua composizione lo condizioni significativamente.^{11,12} La guarigione delle ferite è un processo complesso che coinvolge più meccanismi che si interconnettono e sovrappongono di migrazione e proliferazione cellulare, richiamo e rilascio di citochine pro e antiinfiammatorie, fattori di crescita,

sintesi e degradazione della matrice extracellulare che, semplificando, si può suddividere in tre fasi: infiammatoria, proliferativa e di rimodellamento.¹² La fase infiammatoria inizia con l'attivazione delle piastrine per il raggiungimento dell'emostasi e la formazione di uno scaffold transitorio di fibrina e ha come obiettivo principale quello di eliminare gli agenti patogeni e il materiale estraneo presenti attraverso il richiamo di neutrofili e monociti nel sito di lesione. La degranolazione piastrinica rilascia pattern molecolari associati al danno, citochine, chemochine e fattori di crescita che, accumulandosi all'interno dello scaffold, generano un gradiente chemiotattico con richiamo delle cellule del sistema immunitario innato. In particolare i macrofagi, derivati dai monociti, risultano fondamentali nella transizione dalle fasi infiammatorie a quelle di proliferazione compreso il passaggio da macrofagi infiammatori M1 a cellule antiinfiammatorie di guarigione delle ferite M2. Nel contempo garantiscono lo sbrigliamento del tessuto necrotico, la fagocitosi di antigeni dannosi, la secrezione di fattori di crescita e citochine indispensabili per i successivi meccanismi di guarigione della ferita.¹³⁻¹⁵ La fase proliferativa è sostenuta dalla migrazione e proliferazione di macrofagi M2, cellule endoteliali e fibroblasti che secernono fattori di crescita, di proliferazione endoteliale, di angiogenesi, di proliferazione e differenziazione dei cheratinociti, essenziali per la ripitelizzazione della lesione. I fibroblasti depositano collagene per la costruzione del tessuto di granulazione o della matrice extracellulare (ECM) che andrà a sostituire lo scaffold transitorio di fibrina già presente. In questa fase il ruolo dei cheratinociti è essenziale per la ripitelizzazione.¹³⁻¹⁵ Nella fase conclusiva di rimodellamento si assiste alla diminuzione del tessuto di granulazione, alla degradazione delle proteine della matrice extracellulare provvisoria da parte delle metalloproteasi (MMP) e la loro sostituzione con quella definitiva, al fine di garantire maggiore resistenza e flessibilità alla cute rigenerata.^{13,14}

È evidente come lo squilibrio di questi complessi meccanismi, regolati da una grande varietà di vie di segnalazione, possa condizionare la guarigione delle ferite e come questa sia strettamente correlata con l'infiammazione e il sistema immunitario.¹² Il microbiota commensale cutaneo che sappiamo essere strettamente coinvolto negli innumerevoli, complessi *pathways* che regolano le risposte infiammatorie, è anche in grado di influenzare ogni fase della riparazione tissutale, sia in termini vantaggiosi che svantaggiosi, il che significa che esiste la possibilità che da ruolo di commensale possa assumere quello di patogeno e viceversa.¹² Alcuni esempi: lo *S. epidermidis* stimola la produzione di AMP da parte dei cheratinociti dell'ospite, induce le cellule TCD8+ e IL-17, migliora l'immunità innata di barriera e limita l'invasione di patogeni in assenza di infiammazione; occasionalmente però è implicato, come microrganismo patogeno, nella produzione di biofilm.¹² Lo

Streptococco di gruppo A, quando presente come commensale, stimola la produzione di AMPs, promuove la differenziazione epiteliale, attiva il plasminogeno che promuove la chemiotassi dei cheratinociti al fine di ottenere la riepitelizzazione delle lesioni. Quando presente come patogeno esprime delle proteasi che impediscono il reclutamento dei neutrofili, produce una ialuronidasi che consente la migrazione dei batteri attraverso la matrice extracellulare dell'ospite, è causa di comuni infezioni cutanee sia superficiali che profonde quali impetigine, erisipela, cellulite.¹² Lo *S. aureus*, solitamente patogeno, implicato nella produzione di biofilm e nella cronicizzazione delle lesioni, è però in grado di produrre dei superantigeni (**Sag**) che diminuiscono IL-17 favorendo la guarigione delle lesioni; può inoltre amplificare la risposta immunitaria cutanea innata attraverso la produzione di AMPs specifici.¹² E ancora: lo *P. aeruginosa*, solitamente patogeno e produttore di biofilm, è anche in grado di sopprimere stafilococchi patogeni nelle ulcere a colonizzazione polimicrobica e di accelerare la riepitelizzazione e la neovascolarizzazione attraverso la segnalazione della chinasi 1 attivata dal fattore di crescita trasformante TAK1.¹²

Il biofilm

Tutte le ferite ospitano microorganismi provenienti dal microbiota commensale o dall'ambiente; è noto che i batteri possano essere presenti come singole cellule planctoniche, in grado di muoversi liberamente nel loro ambiente o, invece, in stato sessile e cioè adesi a superfici (cateteri urinari, vascolari, impianti, protesi, lenti a contatto, ecc.) o, in particolare, gli uni agli altri a costituire aggregati multicellulari che conducono alla formazione di biofilm. Si tratta di un processo a più fasi in cui comunità eterogenee di microrganismi (batteri e/o funghi) sono incorporate in una matrice autoprodotta di sostanza polimerica extracellulare (EPS). L'EPS contiene proteine, glicoproteine e polisaccaridi e conferisce al biofilm la capacità di aderire a qualsiasi superficie, biologica e non. All'interno dello stato aggregato, i microrganismi hanno la capacità di creare un ambiente favorevole alla loro protezione e longevità.^{15,16} Le cellule incluse nel biofilm possono sviluppare un meccanismo di comunicazione intracellulare: il già citato *Quorum-Sensing* (QS) che controlla la patogenicità batterica e la formazione stessa di biofilm. La densità batterica influenza la produzione di biofilm. Le cellule microbiche all'interno di un biofilm sono però in grado di abbandonarlo e diffondersi nell'ambiente della ferita. Il comportamento dei batteri rilasciati può differire da quello dei batteri colonizzatori a causa dell'adattamento e della trasformazione avvenuti all'interno del biofilm stesso. Dowd *et al.*, dopo aver osservato che diverse specie batteriche possono collaborare e interagire tra loro all'interno del biofilm, hanno proposto il

concetto di Patogruppi funzionalmente equivalenti (FEP) responsabili della cronicità dell'infezione e del mantenimento del biofilm patogeno.¹⁶ Nelle lesioni che non risolvono la maggior parte dei batteri è presente come biofilm che viene correlato con lo stato infiammatorio cronico della lesione e quindi della ritardata riparazione,^{13,15-17} ma poiché tutti i microrganismi sono in grado di aderire a qualsiasi superficie, si ritiene che i biofilm, di per sé presenti in tutte le ferite croniche, non siano sempre responsabili della ritardata guarigione, ma lo siano solo quelli patogeni.¹⁸ Un biofilm possiede le caratteristiche di un organismo multicellulare; sebbene ognuno sia unico, ha alcune caratteristiche comuni con ogni altro. Ad esempio ha canali di fluido che lo attraversano, simili a un sistema circolatorio; risponde a stimoli esterni e interni, come un sistema nervoso e mostra risposte che possono essere definite "altruistiche". Effettivamente possiamo considerare il microbiota cutaneo come un "biofilm benigno" in quanto protettivo, (lo stesso vale per il microbiota del tratto gastrointestinale) comunque in grado, in situazioni favorevoli, di trasformarsi in patogeno o virulento. Rispetto ai biofilm commensali, i patogeni hanno un numero significativamente più elevato di geni up-regolati, responsabili di un eccessivo sviluppo di enzimi di degradazione, quali le metalloproteinasi della matrice, un maggiore sviluppo di EPS che costituisce la barriera fisica contro agenti antimicrobici e il sistema immune stesso, una maggiore generazione di molecole QS, una maggiore proliferazione e capacità di disseminazione microbica. Gli effetti genetici e biochimici potenziati all'interno di un biofilm patogeno conducono a risposte immunitarie up-regolate a loro volta responsabili dell'infiammazione cronica.¹⁸ Se è ormai assodato che il microbiota della ferita e la formazione di biofilm siano coinvolti nel ritardarne la guarigione, la relazione causale tra composizione del microbiota, formazione di biofilm, attivazione immunitaria innata sregolata e infiammazione persistente nelle lesioni croniche è ancora da approfondire. Non è chiaro se siano i batteri e la formazione di biofilm a guidare la disfunzione immunitaria innata o sia la stessa disfunzione immunitaria innata a rendere il microambiente della ferita più suscettibile alla formazione di biofilm. Comprendere *in vivo*, oltre che verificare *in vitro*, i meccanismi alla base delle azioni e delle reazioni di un singolo batterio quando interagisce con altre cellule batteriche vicine, altri microrganismi e l'ospite sarà di grande aiuto nel ripristino dei processi di guarigione e, quindi, in ambito terapeutico.¹⁵ Tutte le ferite aperte contengono microrganismi provenienti da fonti endogene (la flora del paziente) o esogene (l'ambiente circostante). Il sistema immune interviene per garantire una risposta adeguata alla situazione di alterata barriera, ma l'adesione dei microbi alla superficie della ferita e la loro proliferazione potrà dare il via alla costituzione di un biofilm che, consolidandosi, diventerà maturo e più difficile da eradicare, con aumento del rischio che la ferita

cronicizzi e diventi clinicamente infetta. (Di conseguenza, prevenire un biofilm è fondamentale per un trattamento più rapido ed efficace delle ferite croniche).¹⁸ Il meccanismo del QS che regola vari processi fisiologici batterici, tra cui virulenza, motilità, luminescenza, formazione di biofilm, sporulazione, sviluppo della competenza genetica, sintesi di peptidi antimicrobici, produzione e secrezione di enzimi proteolitici e le sue importanti implicazioni sulle caratteristiche del biofilm, di cui già si è fatto cenno, riveste un ruolo fondamentale nella comprensione che la capacità di controllo della crescita dei microorganismi in una ferita, da parte dell'ospite, diminuisce man mano che la comunità del biofilm matura.^{18,19} All'interno di un biofilm stabile, avvengono interazioni tra batteri aerobici, anaerobici e funghi che verosimilmente aumentano l'effetto patogeno di questi microorganismi e ritardano la guarigione promuovendo uno stato infiammatorio cronico. Ciò si traduce, ad esempio, nel rilascio di radicali liberi ed enzimi litici che danneggiano i processi cellulari responsabili della guarigione delle ferite. È comprovato che le proteasi rilasciate da alcuni microbi condizionano negativamente i fattori di crescita e le altre proteine tissutali necessarie per il processo di riparazione. L'aumento della produzione di essudato che spesso accompagna l'aumento della carica microbica è stato associato alla degradazione dei fattori di crescita e delle MMP che a loro volta influenzano la proliferazione cellulare e la guarigione delle ferite.¹⁸ Le ferite espongono all'ambiente tessuti che in circostanze normali sarebbero privi di contaminazione microbica. Tuttavia, come avviene per la cute sana, la ferita sarà naturalmente colonizzata da una microflora e il tessuto compromesso, in particolare necrotico, ne incoraggerà la proliferazione. In presenza di ipossia tissutale, frequente nelle ulcere cutanee, la flora aerobica e anaerobica commensale (proveniente dalla cute, dalla cavità orale, dall'intestino e dal tratto genito-urinario) si stabilirà in questo ambiente inusuale, ma favorevole, dove le sue strategie di sopravvivenza potranno trasformarla in patogena. Le interazioni microbiche uniche di questo particolare ambiente potranno influenzare significativamente la patogenesi e la guarigione delle ferite.²⁰

La colonizzazione delle ulcere

I batteri che per primi entrano in una ferita, la colonizzano e predominano, sono i Gram-positivi, in particolare del genere *Stafilococchi coagulasi negativi* (CoNS), commensali della cute sana.²¹ Nel periodo successivo, giorni o settimane in base alla competenza immunologica del paziente, saranno i gram-negativi, provenienti dal tratto urogenitale o dall'ambiente vicino al paziente a invadere il campo e a competere con le specie residenti. Enterobatteriacee, quali ad esempio: *E. coli*, *Klebsiella pneumoniae* spp., *Enterobacter* spp. dal distretto uroge-

nitale, frequentemente *Pseudomonas*, *Acinetobacter* o lieviti dall'ambiente. Questa colonizzazione provoca solo una reazione immunitaria localizzata. In questa fase la carica batterica aumenta e condiziona negativamente il processo di guarigione;²¹ la colonizzazione acuta è tipicamente legata all'inizio di una reazione infiammatoria e, dal punto di vista clinico, all'aumento del dolore locale.²² L'invasione microbica dei tessuti profondi determinerà un'intensa risposta immunitaria dell'ospite caratterizzata clinicamente da reazioni locali e sistemiche quali eritema diffuso e marcato, raccolta purulenta o cellulite sintomatica. La maggior parte delle ferite, quindi, ospita una flora polimicrobica. I batteri anaerobici, già presenti in un terzo circa delle lesioni colonizzate, aumentano di numero sino ad almeno il 50% della microflora presente nelle lesioni clinicamente infette e/o non cicatrizzanti, anche in relazione al rapido consumo di ossigeno da parte dei batteri aerobici presenti: effetto sinergico con cui microorganismi aerobici e anaerobici sostengono la persistenza e la moltiplicazione gli uni degli altri. Le specie anaerobiche possono ostacolare la fagocitosi di altri microorganismi producendo acidi grassi a catena corta e il flusso di nutrienti da un batterio può sostenere l'evoluzione e la proliferazione di un altro. Ciò implica che il trattamento antimicrobico di queste ferite dovrebbe coprire una varietà di microorganismi aerobici obbligati o facoltativi e anaerobici potenzialmente sinergici e non dovrebbe semplicemente colpire agenti patogeni specifici che sono spesso considerati come unici agenti causali (ad esempio, *S. aureus* e *P. aeruginosa*) solo perché comunemente isolati nel letto di ferita. Poiché nessuna ferita cronica è colonizzata da una singola specie bensì da una moltitudine di aerobi e anaerobi che aumentano con l'età della ferita, gli effetti biologici esercitati dai microbi devono essere considerati come il risultato del "Network microbico" e non possono essere previsti dagli effetti descritti di un'unica specie specifica.²⁰⁻²² Ciò significa che la progressione di una ferita colonizzata verso uno stato infetto non può essere prevista dalla presenza di un tipo specifico di batterio o di una specifica condizione fisiopatologica, perché è verosimile che una moltitudine di fattori ne influenzi simultaneamente la patogenesi. Fattori microbiologici come la densità della popolazione, il tipo di microorganismi presenti, le interazioni microbiche e i fattori dell'ospite, come l'efficacia della risposta immunitaria e la condizione del tessuto, sono tutti elementi critici e devono essere considerati collettivamente come fattori che predispongono all'infezione.²⁰ Per quanto riguarda il tipo di microorganismi presenti, le biopsie prelevate in diversi punti delle ferite croniche evidenziano non solo numeri e tipi di batteri altamente variabili, ma anche che la loro distribuzione è eterogenea: ad esempio lo *S. aureus* preferisce depositarsi più vicino alla superficie della lesione rispetto a *P. aeruginosa*. Ciò si verifica molto

probabilmente a causa delle differenze ambientali locali quali la possibilità di nutrizione, la concentrazione di ossigeno e per il tipo di risposta dell'ospite. I gradienti di questi fattori sono osservati anche all'interno dei biofilm batterici che, secondo alcuni autori, molto probabilmente saranno di una singola specie a causa della loro natura competitiva. In presenza di un abbondante apporto locale di sostanze nutritive, come nelle aree di ferite con tessuto necrotico, i batteri potrebbero evolvere fianco a fianco o anche all'interno dello stesso biofilm. Questi risultati suggeriscono che batteri diversi preferiscono ambienti diversi e / o che sono in competizione con altri batteri e trovano nicchie di colonizzazione nelle ferite croniche in cui hanno le migliori opportunità di sopravvivenza. La coltura convenzionale non riesce a identificare tutti i batteri poiché alcuni sono difficili da isolare e altri esigenti da coltivare o presenti solo in alcune zone della ferita; ciò potrebbe determinarne la sottostima, come ad esempio riscontrato nel caso di *Pseudomonas*.²³ Per quanto riguarda l'importanza di ulteriori aspetti nel processo di infezione delle ferite, si prenda ad esempio in considerazione la condizione del tessuto. Si pensi all'ossigeno, componente critico dell'attività respiratoria nei leucociti polimorfonucleati (PMN) deputati alla produzione di metaboliti antimicrobici altamente potenti. Con una $pO_2 < 30$ mmHg l'azione antimicrobica dei PMN è significativamente ridotta, ragione per cui il tessuto della ferita scarsamente perfuso è considerato molto più suscettibile alle infezioni rispetto alle ferite che interessano un tessuto ben perfuso.²⁰ Nei tessuti infetti o nelle ferite croniche sono di frequente riscontrati valori di tensione di ossigeno inferiori ai 30 mmHg che costituisce il requisito fondamentale per la divisione cellulare attiva. Pertanto, la morte cellulare e la necrosi tissutale causate da ipossia o anossia tissutale possono creare condizioni di crescita ideali per i membri della microflora della ferita, compresi gli anaerobi che proliferano man mano che l'ossigeno residuo viene consumato dai batteri facoltativi.²⁰ È noto che le interazioni polimicrobiche aerobico-anaerobiche contribuiscono in modo significativo alla progressione e alla gravità della malattia nelle infezioni acute dei tessuti molli.²⁰ Nel 2008, due articoli su Wound Repair e Regeneration cambiarono la prospettiva clinica sulle ferite croniche affermando che il biofilm batterico in esse contenute ne fosse il possibile responsabile; tuttavia, a tutt'oggi, non vi è completa chiarezza sul ruolo esatto del biofilm nell'ostacolare il processo di guarigione, ma soprattutto non vi è la disponibilità di un trattamento di sicura efficacia. Una ragione potrebbe essere che i biofilm *in vivo* differiscono in modo significativo da quelli *in vitro* da cui deriva, invece, la maggior parte delle attuali conoscenze e che l'approssimazione dei modelli *in vitro* è al momento elevata. Pochissimo, inoltre, si conosce del microambiente che circonda i batteri nelle infezioni croniche.²³

Il modello di zona

Per meglio comprendere il comportamento batterico e l'impatto del microambiente su ospite e microbiota alcuni autori hanno proposto il "Modello di Zona" (Figura 1).²³ Sino ad ora, l'identificazione dei batteri, l'espressione genica e la regolazione post-script hanno esaminato i batteri nel loro insieme e calcolato la media del loro comportamento. Il Modello di Zona, invece, parte dal presupposto che ogni singolo batterio reagisca in modo specifico al proprio microambiente e si prefigge di comprenderne il comportamento sia come singolo, sia nelle interazioni con altri batteri e aggregati microbici di specie diverse, sia nel coinvolgimento dei meccanismi della risposta locale dell'ospite, del tessuto circostante e del contesto sistemico dell'ospite stesso.²³ È noto che molte ferite croniche con biofilm guariscono con un adeguato trattamento tradizionale: ad esempio le ulcere venose delle gambe necessitano di terapia compressiva, le ulcere da pressione e le DFU necessitano di scarico. Molte ferite si cronicizzano principalmente a causa di un trattamento tradizionale insufficiente e non per la presenza di biofilm. Poiché anche le ferite croniche con biofilm possono risolvere, è necessario considerare quale sia il suo ruolo. Il Modello di Zona ritiene più probabile che la matrice extracellulare non influisca sulla guarigione, ma che sia invece il fenotipo dei batteri l'ostacolo alla guarigione in quanto produttore di fattori di virulenza che modificano il microambiente circostante. Il microambiente è importante per il fenotipo dei batteri ed è quello cui si fa maggiore riferimento in questo modello che individua cinque zone e le caratterizza.

La zona 1 è specifica per il singolo batterio in quanto adiacente ad esso: è esocapsulare. Ne determina lo stato

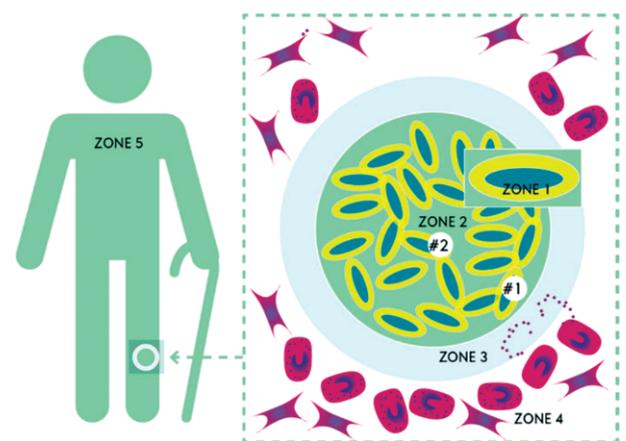


Figura 1. Il modello di zona: un modello concettuale per comprendere il microambiente delle ulcere croniche infette. Tratto da Wound Repair Regen 2020;28:593-9 (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).²³

fisiologico e il comportamento in base al livello di ossigeno, alle fonti di carbonio, ai fattori antimicrobici e alla presenza di ogni altro elemento che la caratterizza. L'intero genoma e trascrittoma del singolo batterio, insieme al microambiente, ne determina il fenotipo. La zona 1 è piccola e difficile da studiare. Se i batteri sono situati al centro del biofilm, è probabile che sostanze come ossigeno, ferro e altri nutrienti siano carenti e che, in tali condizioni, il batterio possa essere dormiente, in attesa di mutazioni ambientali a lui favorevoli. La zona 2 è costituita dall'aggregato di più batteri incorporati in una matrice autoprodotta (EPS) e frammisti a polimeri, DNA, proteine e polisaccaridi provenienti dall'ospite. La concentrazione di ossigeno diminuisce verso l'area centrale del biofilm così come, verosimilmente anche alcune sostanze antimicrobiche, fattori nutrizionali ecc. La zona 3, zona dell'esobiofilm, è l'ambiente che incapsula l'aggregato. Qui avvengono le interazioni ospite/batteri e batteri/ospite che si potranno riflettere sull'evoluzione della lesione e che potranno raggiungere, tra le altre, anche una situazione di stallo in cui l'ospite contiene fisicamente il patogeno senza determinarne la completa eliminazione e il patogeno persiste in uno stato di diminuita attività e invasività, ma sopravvive all'interno dell'ospite per lungo periodo di tempo (possibilità questa più favorevole ai batteri). La zona 4 comprende il tessuto immediatamente circostante la zona 3 e riflette i risultati delle interazioni ospite/batteri e batteri/ospite. Non ha le medesime caratteristiche per tutti i biofilm presenti in quanto nello strato superficiale della ferita la densità dei batteri è elevata, ma nelle parti più profonde la distanza tra gli aggregati del biofilm è maggiore. Inoltre, se, come verificato in molti studi, ogni aggregato microbico -all'interno del biofilm- ne contiene una singola specie, ci potranno essere più aggregati separati e distinti di specie diverse in grado di interagire tra loro e di caratterizzare diverse aree della zona 4 ad esempio con meccanismi di collaborazione, mutualismo e commensalismo. Nella zona 4 le cellule immunitarie dell'ospite sono orientate a stabilire la guarigione della ferita stessa: PMN, macrofagi, linfociti e cheratocinociti liberano il tessuto da detriti, cellule ospiti necrotiche e batteri e producono collagene come impalcatura per la fase di riparazione. La zona 5 è rappresentata dall'ospite stesso: è estremamente improbabile che una persona sana sviluppi ferite croniche. Patologie concomitanti quali diabete, vasculopatie, disturbi immunologici interferiscono con i fisiologici meccanismi della riparazione; l'aumento del danno tissutale correlato alle patologie sistemiche potrà favorire l'infezione microbica, ulteriori danni tissutali e la cronicizzazione del quadro. In sintesi: all'interno di un biofilm specifico, ogni batterio ha un'unica zona 1 che ne determina l'attività; quindi, due batteri all'interno dello stesso biofilm potrebbero avere stati fisiologici marcatamente diversi. L'ossigeno, elemento critico per la crescita di molti

microorganismi, è indicato come esempio per illustrare l'interazione tra le zone. In condizioni normali l'afflusso di ossigeno può essere regolato dalla vasodilatazione al fine di mantenere il tessuto ossigenato nella zona 4. Nella zona 3, la risposta immunitaria è guidata principalmente dai PMN che consumano ossigeno per la produzione di metaboliti antimicrobici diminuendo quello disponibile per la zona 2. A causa della disuniforme distribuzione dei PMN nella ferita i diversi aggregati microbici possono avere diversi livelli di accesso all'ossigeno. Se l'ospite presenta ischemia, la zona 3 avrà meno ossigeno disponibile, la funzionalità dei PMN ne sarà condizionata e la zona 2 avrà ancora meno ossigeno. Se l'afflusso di sangue viene ripristinato influenzerà tutti i compartimenti; l'ossigenoterapia iperbarica può aumentare la disponibilità di ossigeno diffuso nella zona 4 e, di conseguenza in ogni altra zona che, a sua volta, influenzerà quelle adiacenti.²³ Il Modello di Zona può aiutare la comprensione della "finestra di opportunità" proposta da Wolcott *et al.*,²⁴ per la quale lo sbrigliamento chirurgico delle ferite croniche può aprire una finestra temporale di opportunità terapeutica durante la quale i batteri sono più suscettibili all'azione degli antibiotici e del sistema di difesa immunitaria dell'ospite conseguentemente all'interruzione fisica del biofilm. Attraverso il *debridement* vengono rimossi *slough*, detriti e tessuto di granulazione e, almeno in parte, anche i batteri dello strato superficiale. Nel contesto del modello di zona ciò induce modificazioni nell'ambiente della zona 4 con effetto a catena su tutte le altre e sui batteri stessi che modificheranno fenotipo o espressione. Durante questa fase di adattamento al nuovo ambiente, i batteri- anche nel biofilm- possono essere sensibili agli antibiotici e accessibili al sistema di difesa immunitaria. Il trattamento delle ferite croniche, basato sulla diagnostica molecolare del biofilm e con trattamento personalizzato delle terapie topiche e antibiotiche sistemiche, ha evidenziato risultati nettamente migliori di quelli ottenuti con gruppi standard di cura a cui sono stati prescritti antibiotici sistemici sulla base di metodologie empiriche e tradizionali basate sulla coltura.²³

Diabete e microbiota

Tra le comorbidità dell'ospite che modulano il microbiota della ferita, il controllo glicemico e la durata del diabete mellito rivestono un ruolo di spicco. Il diabete provoca infiammazione persistente di basso grado, condizioni ipossiche locali e risposte cellulari compromesse all'ipossia e all'infezione che condizionano significativamente la guarigione delle ferite. La zona 5 di un paziente diabetico, quindi, condizionerà la risposta di tutte le altre determinando risultati diversi, sul *wound healing*, rispetto a quelli di un paziente non diabetico.²³ I pazienti diabetici hanno un'incidenza del 15-25% di ulcerazione del piede

(DFU); l'infezione ne è la complicanza più comune e grave, ne condiziona i tempi di guarigione e, insieme con l'ischemia, è causa di amputazione. L'80% delle amputazioni degli arti inferiori in pazienti diabetici è preceduta da ulcere del piede infette che comportano un aumento del rischio di morte entro diciotto mesi.¹⁶ L'interfaccia ospite-microorganismo esercita un ruolo critico sia nello sviluppo che nella guarigione della DFU. Il numero osservato di specie microbiche patogene in questa interfaccia è inferiore rispetto alla presenza di molti batteri commensali. Molte delle specie presenti nelle ferite croniche, inoltre, sono commensali nella pelle sana ed esistono chiare differenze nella composizione e nella diversità del microbiota nelle ulcere del piede diabetico (DFU) e nel microbiota cutaneo sano. E ancora: un diabete di recente insorgenza e livelli di AbA1c non troppo elevati si associano a una maggiore diversità del microbiota; un diabete di antica data e un elevato livello di AbA1c sono associati alla predominanza di alcuni generi con maggiore abbondanza di *Actinobacteria* o *Streptococco*.^{17,25} Questo studio di confronto metagenomico del microbiota batterico del piede in uomini diabetici e non diabetici e di quantificazione delle specie clinicamente rilevanti ha evidenziato che nei pazienti diabetici le specie stafilococciche erano ridotte con aumento, però, della specie *S. aureus* e una maggiore diversificazione della popolazione batterica.²⁶ Rispetto alla cute sana controlaterale, il microbiota della lesione era caratterizzato da una diminuita diversità batterica con maggiori livelli di patogeni opportunisti. Si ritiene che questi cambiamenti possano essere precursori dell'infezione del piede diabetico e dello sviluppo dell'ulcera.²⁶ Nonostante gli studi sul microbiota in altri siti corporei abbiano dimostrato che gli stati patologici sono associati a una sua minore stabilità, questo studio ha evidenziato sorprendentemente che le DFU a guarigione ritardata o responsabili di amputazione sono state associate a una maggiore stabilità del microbiota stesso mentre è l'opposto per DFU a guarigione più rapida. Una modalità di interpretazione di questi risultati suggerisce che non esista una comunità DFU "normale". Una ferita è per definizione uno stato anormale e transitorio; i batteri colonizzatori dovrebbero essere considerati opportunistici, in uno stato di instabilità con l'ospite. L'instabilità nel microbiota è espressione di un efficace controllo immunitario che impedisce a qualsiasi struttura comunitaria di stabilizzarsi. Al contrario, una DFU con una crescita stabile di alcuni batteri riflette uno stato di guarigione in stallo in cui i batteri colonizzatori hanno superato le difese dell'ospite. Il microbiota nelle DFU può essere suddiviso in 4 community types (CT): CT1-CT2, in cui è rappresentata una flora altamente eterogenea e nessuna specie dominante; CT3, in cui sono altamente rappresentate specie streptococciche, strettamente associate ai livelli di HbA1C e alla presenza di anaerobi; CT4,

in cui è altamente rappresentato lo *S. Aureus*. Nelle DFU con tendenza alla guarigione le CT1 e CT2 manifestano la tendenza a mantenere inalterata la loro composizione mentre le CT3/CT4 manifestano la tendenza alla transizione in CT2; nelle DFU croniche le CT3/CT4 sono molto stabili. È evidente come la possibilità di transizione favorisca la guarigione e quanto la stabilità del microbiota patogeno la ostacoli; le informazioni sulle specifiche caratteristiche del microbiota di una DFU potrebbero avere una ricaduta significativa sulla capacità prognostica proprio in base alla correlazione con il fenomeno della transizione.²⁷ L'iperglicemia persistente, l'infiammazione cronica, l'ipossia, la neuropatia periferica, l'angiogenesi modificata e la risposta immunitaria alterata nel diabete sono fattori che compromettono la guarigione delle ferite e ne predispongono la cronicizzazione e l'infezione: almeno il 60% delle DFU si infetta.²⁸ La formazione di biofilm svolge un ruolo sostanziale nella cronicizzazione delle DFU, nello sviluppo della resistenza agli antibiotici e nel ritardo di guarigione; è il biofilm che modula la virulenza batterica e la comunicazione tra i microorganismi stessi.¹⁸ I microrganismi che risiedono all'interno di un biofilm sono fenotipicamente diversi dalle loro controparti fluttuanti o planctoniche; ad esempio *P. aeruginosa* esprime circa 73 geni aggiuntivi quando coltivato come biofilm rispetto alla situazione planctonica. La modulazione dell'espressione genica è considerata importante per la sopravvivenza e il mantenimento batterico una volta che un microrganismo è adeso a una superficie. Si ritiene che questo controllo critico dell'espressione genica consenta ai microrganismi del biofilm un rapido adattamento durante condizioni avverse esterne, un concetto denominato "Assicurazione Biologica".²⁹ Man mano che un biofilm matura la sintesi della EPS – che ha il ruolo di impalcatura – viene up-regolata e sequestra e trattiene nutrienti, enzimi e ioni metallici, ad esempio il ferro, necessari al mantenimento e alla stabilità del biofilm stesso e, quindi, alla sopravvivenza microbica.²⁹ A differenza dei biofilm che si trovano fisiologicamente nel corpo umano, come la cute, i denti, la mucosa gastrointestinale e vaginale, la presenza di biofilm in una ferita cronica non è considerata "naturale" e, quindi, non è mai stata presa in considerazione l'esistenza di un "microbiota indigeno" per le ferite che, però, potrebbe essere ipotizzabile in uno stato di commensalismo o mutualismo con l'ospite: ad esempio in pazienti immunocompromessi.²⁹ Una popolazione microbica in situazione omeostatica si può definire come una "Comunità Climax" in cui il biofilm ha raggiunto uno stato di equilibrio come risultante di interazioni sinergiche, antagoniste e mutualistiche tra i diversi microorganismi presenti nella ferita. La relazione tra specie facoltative e strettamente anaerobiche all'interno del biofilm potrebbe esserne una esemplificazione. È probabile che mentre un biofilm si sviluppa verso la sua "Co-

munità Climax”, l’attività degli anaerobi facoltativi possa creare regioni anaerobiche all’interno del biofilm che supportano la crescita di organismi strettamente anaerobici. Chiaramente questa relazione sinergica tra le specie influenza la composizione della “Comunità Climax” che è ulteriormente supportata dai sistemi di comunicazione tra i batteri – il Quorum Sensing – che coordina l’espressione genica e la funzione e le attività degli organismi biofilm, favorendo la stabilità microbica e la sopravvivenza a lungo termine.²⁹ I microrganismi all’interno del biofilm sono distribuiti casualmente, ma funzionalmente organizzati in nicchie; ogni nicchia con la sua funzione e il suo ruolo specifico. L’eterogeneità all’interno del biofilm è considerata fondamentale per la sua stabilità. Fattori esogeni ed endogeni, quali pH, temperatura, risposta immunitaria dell’ospite sono in grado di agire sulla competizione microbica all’interno del biofilm favorendo la crescita, ad esempio, di specie meno predominanti, ma più patogene o la diminuzione della crescita di batteri soppressivi non patogeni (concorrenti). Di conseguenza, sono necessarie migliori misure di controllo che impediscano questo passaggio verso un "biofilm prevalentemente patogeno" che potrebbe ritardare la guarigione delle ferite.²⁹ L’interazione batterica più studiata nelle DFU è la cooperazione tra *S. aureus* e *P. aeruginosa*. Molte sostanze prodotte da *P. aeruginosa* possono svolgere un ruolo protettivo per *S. aureus* – cooperazione sinergica – che ne aumenta la tolleranza agli antibiotici, la capacità di costituire biofilm e di secernere fattori di virulenza specie specifici. Queste interazioni possono anche essere competitive nei confronti di alcuni nutrienti, ad esempio il ferro o inibire la crescita unidirezionale di *S. aureus*. Allo stesso tempo *P. aeruginosa* può sopprimere la crescita di *S. aureus* e migliorarne la resistenza agli aminoglicosidi. È evidente la coesistenza di meccanismi sinergici e antagonisti tra le due specie in pieno accordo con quanto già illustrato. Tra i batteri più frequentemente identificati nelle DFU: i Gram-positivi, come *S. aureus* (MSSA-meticillino-sensibile e MRSA-meticillino-resistente), *Streptococcus β-emolitico* e *C. striatum*, ma anche Gram-negativi, come *P. aeruginosa*, *E. coli*, *A. baumannii*, *Proteus* spp., *Enterobacter* spp., e *Citrobacter* spp., oltre ad alcuni anaerobi più profondi nel letto della ferita, come *Bacteroides* spp., *Prevotella* spp., *Clostridium* spp. e *Peptostreptococcus* spp.²⁸ I pazienti diabetici hanno maggior rischio di infezioni fungine; più di un quarto delle DFU che non risolve, presenta necrosi ed evidenzia scarsi risultati terapeutici è associato a infezione micotica. Il microbioma, inoltre, costituisce un’impalcatura per l’adesione batterica e fornisce una protezione aggiuntiva ai patogeni nei confronti sistema immunitario dell’ospite, promuovendo la formazione di biofilm multi-regno: batterico/fungino. I funghi più comunemente isolati sono *Candida* spp., *Trichophyton* spp., *Aspergillus* spp., *Tri-*

chosporon spp. e *Cladosporium herbarum*.²⁸ Le ipotesi interpretative principali circa il tipo di organizzazione batterica nei pazienti con DFU, sono due: i) l’ipotesi batterica specifica secondo la quale, nonostante una complessa diversità microbica presente in una ferita, solo poche specie batteriche siano effettivamente coinvolte nella guarigione ritardata e quindi contribuiscano al processo di infezione (V teoria a zona); ii) L’ipotesi non specifica considera invece che l’intera, complessa microflora eterogenea presente sulla ferita svolga un ruolo nell’infezione e non ritiene i batteri patogeni responsabili come singoli della cronicizzazione della ferita. Questo concetto ha portato all’uso del termine, già citato, di FEP per il quale alcune specie batteriche – patogene o commensali – possono co-aggregarsi simbioticamente in un biofilm patogeno e agire sinergicamente per sostenere le infezioni croniche.^{25,29}

Uno sguardo al futuro

Al fine di identificare nuove e migliori strategie terapeutiche la ricerca deve tenere conto dell’organizzazione batterica nel biofilm delle DFU croniche.³⁰ Alcuni studi sono mirati al trattamento dei singoli batteri, i più patogeni, altri al biofilm nel suo complesso partendo comunque dal presupposto che le colonie microbiche che formano biofilm sono da 10 a 1000 volte più resistenti agli agenti antimicrobici rispetto a quelle planctoniche.^{29,30} Sono numerosissime le nuove, possibili, incoraggianti strategie terapeutiche; se ne elencano alcune: i) peptidi antimicrobici – AMP – associati a nuovi sistemi di rilascio al fine di aumentarne la stabilità, ridurre la tossicità, potenziarne l’attività antimicrobica e migliorarne il targeting e la somministrazione prolungata nel sito della ferita; ii) veicoli biodegradabili di trasporto e cessione di ABT in alta concentrazione nel biofilm al fine di aumentarne l’efficacia e ridurre al minimo gli effetti collaterali; iii) agenti antimicrobici di nuova concezione, ad esempio i polimetacrilati guanilati, efficaci sia sulla formazione di biofilm di singole specie che di films polimicrobici, anche inter-regno; iv) nutraceutici (ad es. estratti di mirtillo, composti polifenolici, olio essenziale di cannella, propoli) con finalità sovrapponibili a quelle sopra menzionate e con possibilità di aumentare, talora, la sensibilità del biofilm all’ABT; v) probiotici con attività su specifici biofilm; vi) batteriofagi; vii) sostanze efficaci nell’inibizione dell’adesione batterica iniziale al fine di prevenire la costituzione di biofilm da parte di alcune specie. Partendo dal presupposto che la crescita batterica richiede la presenza di metalli, in particolare, calcio, ferro e magnesio, i chelanti ionici potrebbero essere utilizzati per limitare l’adesione iniziale e la crescita batterica stessa; viii) modulazione del quorum sensing di alcune specie microbiche: l’inibizione del segnale QS inibisce la formazione di biofilm; ix) en-

zimi che aumentano la dispersione batterica attraverso la rottura del biofilm; x) medicazioni e innesti di nuova generazione con azione su alcune specie di *S. aureus* e *P. aeruginosa* resistenti agli ABT, in grado di prevenire la formazione di biofilm o di favorirne la rimozione.³⁰

Conclusioni

Il microbiota quale Organo/Organismo, parte attiva nel *Wound*, ma anche nell'*Healing*; al momento ancora poco conosciuto dalla maggioranza degli addetti ai lavori, ma con prospettive realistiche di imporsi all'attenzione del mondo vulnologico così come di molti altri ambiti della medicina. Possibilità e prospettive future di sinergia con le strategie terapeutiche attualmente a disposizione nella piena consapevolezza che il microbiota – regolatore dell'omeostasi cutanea e promotore del ripristino della barriera danneggiata – sia intimamente correlato con la salute e la malattia cutanea attraverso il dialogo costante e specifico tra i commensali e le cellule cutanee perché mediato dalla competenza immunologica di entrambe. Il Microbiota interviene attraverso una serie di complessi meccanismi/interazioni/*patways* regolatori tra tessuto sano e tessuto lesa; flora commensale/flora opportunistica/flora patogena; tessuto lesa/meccanismi di riparazione/caratteristiche della colonizzazione; interazione microbo/microbo e microbo/ospite in qualsiasi momento della storia di un'ulcera cutanea.³

Bibliografia

- Grice EA, Segre JA. The skin microbiome. *Nat Rev Microbiol* 2011;9:244-53. doi: 10.1038/nrmicro2537. Erratum in: *Nat Rev Microbiol* 2011;9:626.
- Marsh PD. The commensal microbiota and the development of human disease - an introduction. *J Oral Microbiol* 2015;7:29128.
- Pini P. Il microbiota cutaneo e le sue interazioni con l'ospite. *IJWC* 2022;6:85.
- Pignatti M. Dermobiotica. Alimentazione, microbiota, pelle. *Minerva Medica*, 2018.
- Ferretti P, Farina S, Cristofolini M, et al. Experimental metagenomics and ribosomal profiling of the human skin microbiome. *Exp Dermatol* 2017;26:211-9.
- Swaney MH, Kalan LR. Living in Your Skin: Microbes, Molecules, and Mechanisms. *Infect Immun* 2021;89:e00695-20.
- Chen YE, Fischbach MA, Belkaid Y. Skin microbiota-host interactions. *Nature* 2018;553:427-36. doi: 10.1038/nature25177. Erratum in: *Nature* 2018;555:543.
- Nguyen AV, Soulika AM. The Dynamics of the Skin's Immune System. *Int J Mol Sci* 2019;20:1811.
- Patra V, Byrne SN, Wolf P. The Skin Microbiome: Is It Affected by UV-induced Immune Suppression? *Front Microbiol* 2016;7:1235.
- Skowron K, Bauza-Kaszewska J, Kraszewska Z, et al. Human Skin Microbiome: Impact of Intrinsic and Extrinsic Factors on Skin Microbiota. *Microorganisms* 2021;9:543.
- Tomic-Canic M, Burgess JL, O'Neill KE, et al. Skin Microbiota and its Interplay with Wound Healing. *Am J Clin Dermatol* 2020;21:36-43.
- Johnson TR, Gómez BI, McIntyre MK, et al. The Cutaneous Microbiome and Wounds: New Molecular Targets to Promote Wound Healing. *Int J Mol Sci* 2018;19:2699.
- Gushiken LFS, Beserra FP, Bastos JK, et al. Cutaneous Wound Healing: An Update from Physiopathology to Current Therapies. *Life (Basel)* 2021;11:665.
- Han G, Ceilley R. Chronic Wound Healing: A Review of Current Management and Treatments. *Adv Ther* 2017;34:599-610.
- Versey Z, da Cruz Nizer WS, Russell E, et al. Biofilm-Innate Immune Interface: Contribution to Chronic Wound Formation. *Front Immunol* 2021;12:648554.
- Pouget C, Dunyach-Remy C, Pantel A, et al. Biofilms in Diabetic Foot Ulcers: Significance and Clinical Relevance. *Microorganisms* 2020;8:1580.
- Durand BARN, Pouget C, Magnan C, et al. Bacterial Interactions in the Context of Chronic Wound Biofilm: A Review. *Microorganisms* 2022;10:1500.
- Percival SL, McCarty SM, Lipsky B. Biofilms and Wounds: An Overview of the Evidence. *Advances in Wound Care* 2015;4:373-81.
- Asfour HZ. Anti-Quorum Sensing Natural Compounds. *J Microsc Ultrastruct* 2018;6:1-10.
- Bowler PG, Duerden BI, Armstrong DG. Wound microbiology and associated approaches to wound management. *Clin Microbiol Rev* 2001;14:244-69.
- Daeschlein G. Antimicrobial and antiseptic strategies in wound management. *Int Wound J* 2013;10:9-14.
- Negut I, Grumezescu V, Grumezescu AM. Treatment Strategies for Infected Wounds. *Molecules* 2018;23:2392.
- Kirketerp-Møller K, Stewart PS, Bjarnsholt T. The zone model: A conceptual model for understanding the microenvironment of chronic wound infection. *Wound Repair Regen* 2020;28:593-9.
- Wolcott RD, Kennedy JP, Dowd SE. Regular debridement is the main tool for maintaining a healthy wound bed in most chronic wounds. *J of Wound Care* 2009;18:54-6.
- Patel BK, Patel KH, Huang RY, et al. The Gut-Skin Microbiota Axis and Its Role in Diabetic Wound Healing-A Review Based on Current Literature. *Int J Mol Sci* 2022;23:2375.
- Redel H, Gao Z, Li H, et al. Quantitation and composition of cutaneous microbiota in diabetic and nondiabetic men. *J Infect Dis* 2013;207:1105-14.
- Loesche M, Gardner SE, Kalan L, et al. Temporal Stability in Chronic Wound Microbiota Is Associated With Poor Healing. *J Invest Dermatol* 2017;137:237-44.
- Da Silva J, Leal EC, Carvalho E. Bioactive Antimicrobial Peptides as Therapeutic Agents for Infected Diabetic Foot Ulcers. *Biomolecules* 2021;11:1894.
- Percival SL, Thomas JG, Williams DW. Biofilms and bacterial imbalances in chronic wounds: anti-Koch. *Int Wound J* 2010;7:169-75.
- Pouget C, Dunyach-Remy C, Pantel A, et al. Alternative Approaches for the Management of Diabetic Foot Ulcers. *Front Microbiol* 2021;12:747618.