

Il microbioma del cavallo

Dott.ssa Susanna Mereghetti

Il puledro nasce con un sistema immunitario immaturo ed assume le prime immunoglobuline tramite il colostro materno. Il tratto gastroenterico quindi, in questa specie, assume una particolare importanza nel modulare l'immunocompetenza, sia permettendo l'assunzione di immunoglobuline che regolando la funzione immunitaria futura del soggetto.

L'insieme della flora batterica intestinale, rappresentata da batteri, virus e protozoi, che si sviluppa in queste fasi di crescita è detto **microbiota**, mentre il **microbioma** sta ad indicare il corredo genomico del microbiota stesso.

Tempistiche di sviluppo del microbiota

È stato dimostrato che il microbiota del neonato durante il parto ed il periparto risulta strettamente connesso al microbiota materno (1)(2), per colonizzazione diretta dal canale del parto e tramite l'assunzione del colostro. Quest'ultimo fa maturare la mucosa enterica e la prepara al contatto con i successivi allergeni alimentari provenienti dall'ambiente. Il microbiota del puledro appare molto instabile nei primi giorni dopo il parto. Una prima fase di consolidamento e differenziazione avviene entro le quattro settimane di età, con un ulteriore arricchimento dopo altre 4 settimane, oltre le quali il microbioma del soggetto può essere

considerato stabile (3). Questo lasso di tempo coincide con la principale finestra di condizionamento del sistema immunitario, che si attiva tramite la funzione delle **cellule dendritiche enteriche** che recuperano i batteri e gli allergeni e li presentano ai linfociti, i quali poi moduleranno la loro attività futura secondo questo primo "imprinting"(4).

Un'ulteriore piccola modificazione del microbiota avviene poi al momento dello svezzamento (generalmente attorno ai 6 mesi di vita) con il passaggio definitivo all'alimentazione solida: da questo trend deduciamo che la dieta può attivamente influenzare la composizione del pool batterico del microbiota per tutti gli anni a venire. Il nostro compito rimane quindi quello di agire per mantenere questi microrganismi "buoni" il più a lungo possibile. Il turnover del microbioma è di circa 21 giorni, che corrisponde al lasso di tempo consigliato dai nutrizionisti per attuare un corretto cambio alimentare nell'equino.

Durante il periodo in cui il puledro sta con la madre sono frequenti episodi di coprofagia, quindi è plausibile che la maggior parte della popolazione batterica enterica del redo sia attivamente influenzata dal microbiota ambientale e materno e che la cosiddetta "diarrea da calore" sia dovuta in realtà ad una prima fase di stabilizzazione, maturazione e colonizzazione intestinale del puledro, senza quindi alcun legame con l'insorgenza del calore nella

fattrice, in quanto si osserva anche nei soggetti orfani alimentati con latte artificiale.

In questo lasso di tempo si sviluppa anche la tolleranza immunologica, quindi la presenza di microrganismi “buoni” in questa occasione assicura minori problematiche future sia per quanto riguarda la funzione del tratto gastroenterico che per quanto concerne l'efficienza del sistema immunitario. Lo sviluppo di una corretta tolleranza verso gli antigeni alimentari ed un ricco microbiota commensale rappresenta quindi la base di partenza per la buona salute del soggetto adulto.

Studi recenti a questo proposito indicano che lo sviluppo di una microflora patogena (disbiosi) nei primi giorni di vita altera nettamente il microbiota predisponendo il soggetto colpito allo sviluppo nel tempo di infiammazione intestinale subclinica cronica, disordini del sistema immunitario e malattie metaboliche da eccesso di glucosio ed insulina (5).

Analisi del microbiota

I campioni fecali per l'analisi del microbiota vengono prelevati tramite tampone e non sussistono grosse problematiche di conservazione in quanto la ricerca delle popolazioni batteriche viene effettuata tramite PCR con estrazione del DNA dei microrganismi e non tramite esame colturale, trattandosi di flora commensale non patogena.

Abbiamo precedentemente affermato che il microbiota materno (del canale del parto,

del latte e tratto gastroenterico) viene trasmesso al puledro al momento della nascita, costituendo il primo pool batterico, secondo queste fasi temporali:

- 0/7 giorni di vita, si ritrovano soprattutto: *Firmicutes*, *Ruminococcacee*, *Lactobacilli*, *Acinetobacter* prevalentemente di origine materna
- 7/20 giorni di vita: in questa fase la composizione appare più uniforme (probabilmente modulata dall'assunzione del latte materno, dall'ambiente e dagli episodi di coprofagia), predominano i *Lactobacilli*, *Streptococci*, *Bacteroides* e compaiono anche *Escherichia*, *Shigella*, *Clostridium* e *Pseudomonas*, normalmente non patogeni
- dopo i 50 gg fino allo svezzamento: predominano i batteri *Firmicutes*
- dopo lo svezzamento: aumentano i batteri che fermentano la fibra (*Firmicutes*), vengono a mancare gli oligosaccaridi del latte che favorivano lo sviluppo di *Lactobacilli* ed aumentano le diversità dei ceppi; se la dieta prevede l'utilizzo di cereali questo porta ad un'ulteriore differenziazione con lo sviluppo di batteri che fermentano gli amidi (*Bacteroides*).

Le maggiori variabilità di composizione (benefiche per il microbioma) si riscontrano tra i puledri con accesso al paddock rispetto a quelli stabulati in box h 24 (6): ulteriore conferma che il regolare accesso all'esterno è un requisito indispensabile per la crescita di un soggetto sano.

L'utilizzo di antibiotici in questa fase della colonizzazione intestinale potrebbe influen-

zare negativamente lo sviluppo di un buon microbioma, esponendo i puledri a maggior incidenza di patologie di carattere intestinale, infiammatorie ed autoimmunitarie per carenza di linfociti T e citochine regolatori. Viceversa se stimolati dal contatto con i microrganismi di un microbiota sano: questo sembra purtroppo avvenire anche in età adulta, ma con meno fluttuazioni. Vedremo poi come agire per evitare quanto più possibile questa spiacevole evenienza nel prossimo approfondimento: alcune evidenze scientifiche dimostrano infatti come una corretta alimentazione, l'uso di integratori mirati ed un buon management possano attivamente contribuire allo sviluppo di un buon pool batterico intestinale.

Quali parametri indicano un buon microbiota

Un buon microbiota è caratterizzato da una notevole ricchezza e variabilità, misurato con un parametro chiamato *intestinal score* (o *alpha diversity*) che misura l'abbondanza delle diverse specie che compongono il pool preso in esame, confrontato matematicamente con una situazione di normalità. Questo parametro in pratica semplifica la valutazione di un'eventuale disbiosi, traducendo le anomalie in un valore numerico:

- tra 0/7: indica una severa disbiosi
- tra 7/8,5: indica un microbiota leggermente alterato
- tra 8,5/10: indica una situazione di normalità.

Un'ulteriore indicazione viene fornita dal *conteggio totale dei batteri*: come linea generale abbiamo visto che un microbioma vario, stabile e molto differenziato è preferibile .

Di seguito vengono valutate sei specie batteriche appartenenti a differenti phylum.

- *Streptococcus sp. (Firmicutes)*: fanno parte della normale flora intestinale e normalmente non sono patogeni, contribuiscono al buon funzionamento delle fermentazioni enteriche attraverso la produzione di acido lattico
- *E. Coli (Proteobacteria)*: svolgono un importante ruolo di immunostimolazione e modulazione del sistema immunitario intestinale, possono essere patogeni soprattutto se presenti in elevata quantità
- *Cianobatteri (Cyanobacteria)*: vengono introdotti dall'ambiente attraverso acqua ed alimenti
- *Enterococcus sp. (Firmicutes)*: sono specialmente coinvolti nella degradazione e fermentazione dei carboidrati in acidi grassi a catena corta, utili per il metabolismo energetico ed il benessere intestinale
- *Bacteroides sp. (Bacteroidetes)*: anche loro attivamente coinvolti nella metabolizzazione dei carboidrati, contribuiscono alla produzione di acidi grassi a catena corta come l'acetato
- *Clostridium sp. (Firmicutes)*: vi sono ceppi non patogeni, utili alla degradazione dei cereali poco digeribili.

Un ulteriore parametro per la misurazione del valore del microbiota analizzato è il rapporto tra *Firmicutes/Bacteroidetes* che deve essere minore di 1,7 ad indicare un pool batterico sano. Viceversa, valori maggiori di 1,9 indicano una situazione non ottimale.

Nell'esecuzione di questo esame vengono considerati i valori desiderabili per specie batterica in rapporto alla specie animale e la situazione viene evidenziata anche visivamente negli esiti con una scala cromatica di chiara lettura (verde-giallo-rosso).

Se è presente disbiosi, questa popolazione può essere modificata in senso positivo tramite:

- **alimentazione:** cibi ricchi di fibre molto fermentescibili (pre-biotici) e poveri di amidi (cereali) favoriscono la produzione di butirrato/acetato che svolgono un ruolo positivo per la crescita e la maturazione degli enterociti e del sistema immunitario presente a livello enterico (cellule dendritiche)
- utilizzo di **pro-biotici** (*Saccharomyces cerevisiae* e lieviti) favorisce l'assimilazione e produzione di vitamine del gruppo B e K
- una buona **gestione** con possibilità di soggiorno in paddock aumenta la differenziazione dei ceppi batterici.

Mentre un deciso effetto negativo è stato dimostrato per:

- lo stress cronico

- l'utilizzo di antibiotici (specialmente nel periodo neonatale) e l'utilizzo cronico di inibitori di pompa protonica
- la presenza di parassiti

Queste condizioni andrebbero pertanto modificate o quantomeno controllate.

Nel prossimo approfondimenti vedremo in dettaglio quali situazioni del microbioma possono favorire l'insorgenza di determinate patologie e come intervenire in maniera mirata per migliorare la salute dei nostri cavalli.

Bibliografia

- (1) Kuhl J., Winterhoff N., Wulf M. – Changes in fecal bacteria and metabolic parameters in foals during the first week of life - *Veterinary Microbiology* 2011
- (2) Husso A., Jalanka J., Alipour M. J., Huhti P., Kareskoski M., Pessa-Morikawa T., Iivanainen A. & Niku M. - The composition of the perinatal intestinal microbiota in horse - *Scientific Reports* 2020
- (3) Lindenberg F., Krych L., Kot W., Fielden J., Frøkiær H., VanGalen G., Nielsen D. S. & Hansen A. K. - Development of the equine gut microbiota - *Scientific Reports* 2019
- (4) Quercia, S. et al. - Early colonisation and temporal dynamics of the gut microbial ecosystem in Standardbred foals - *EquineVet.J* 2018
- (5) Al Jassim R.A. & Andrews F.M. - The bacterial community of the horse gastrointestinal tract and its relation to fermentative acidosis, laminitis, colic, and stomach ulcers - *Vet. Clin. North Am. Equine Pract.* 2009
- (6) Costa M.C., Stampfli H.R., Allen-Vercoe E. & Weese - Development of the faecal microbiota in foals - *Equine Vet. J.* 2016.