

Antibioticele și sistemul imunitar: o relație complexă

Irina Codita

Universitatea de Medicină și Farmacie "Carol Davila" București, Romania

Planul prezentării

- Tipuri de interacțiune antibiotice – sistem imunitar
- Efectele directe ale antibioticelor asupra sistemului imunitar
- Efectele indirecte ale antibioticelor asupra sistemului imunitar
- Rolul imunității în emergența bacteriilor rezistente la antibiotice
- Interacțiunea antibiotic/bacterii/sistem imunitar în infecții acute

Tipuri de acțiune a antibioticelor asupra sistemului imunitar

I. Acțiune directă asupra unor componente ale sistemului imunitar

II. Acțiune indirectă – prin impact asupra microbiotei locale, cu precădere asupra microbiotei intestinale

Acțiunea directă a antibioticelor asupra sistemului imunitar

Efecte stimulatorii și/sau inhibitorii asupra:

- fagocitozei și distrugerii intracelulare a bacteriilor,
- producției de anticorpi, inclusiv IgE
- diferiților parametri ai imunității celulare:
 - producția de MIF,
 - proliferarea limfocitelor induse de mitogen/antigen
 - reacția cutanată de hipersensibilitate de tip întârziat,
- producției de mediatori: interleukine, prostaglandine
- expresiei receptorilor la nivelul celulelor imunocompetente

Gillissen G. Side effects of antibiotics on immune response parameters and their possible implications in antimicrobial chemotherapy. Zentralbl Bakteriolog Mikrobiolog Hyg A. 1988 Nov;270(1-2):171-99

Index imunitar al antibioticelor: număr de constatări pozitive – număr de constatări negative

număr constatări totale

- Index calculat pentru toate clasele de antibiotice
- Pentru parametrii:
 - Funcție fagocitară: fagocitoză, chemotactism
 - Funcție limfocitară: proliferare, citokine, producere Ac, sensibilitate întârziată, NK
- La pacienți sănătoși și imunodeficienți, cu sau fără infecție
- *In vivo, ex vivo, in vitro*
- Evaluare efect negativ, neutru, pozitiv

B. Van Vlem et al.: Immunomodulating Effects of Antibiotics

Table 1: Overview of all statements classified according to immune effect. Approach: study approach (*in vivo* / *ex vivo* / *in vitro*).

PHAGOCYTOSIS					
NEGATIVE EFFECT	APPROACH	INF	ID	ANTIBIOTIC	REF
<i>In vivo</i>	NO	NO		Azithromycin	8
	NO	NO		Cefmox	9
	YES	NO		Clindamycin	10
	NO	NO		Erythromycin	8
<i>Ex vivo</i>	YES	NO		Netilmicin	10
	NO	NO		Gentamicin	11
<i>In vitro</i>	NO	NO		Tetracycline	11
				Actinomycin D	12
				Amikacin	13
				Amphotericin B	14
				Ampicillin	15, 16, 17
				Azithromycin	8
				Benzathine	18
				Cephapirin	18
				Benzathine	18
				Cloxacillin	14, 19
				Bifonazole	13
				Carfecillin	13
				Cefoperazone	16
				Cefotaxime	16, 20
YES	NO		Cefotaxime	21	
NO	YES		Cefotaxime	21	
			Cefazidime	16	
			Cefuroxime	22	
			Carbapenems	13	

PHAGOCYTOSIS						
NEUTRAL EFFECT	APPROACH	INF	ID	ANTIBIOTIC	REF	
<i>In vivo</i>	NO	NO		Benzathine	40	
				Cepharm	41	
	NO	NO		Cefoperazone	41	
	NO	YES		Ceftriaxone	42	
	NO	NO		Coumermycin	43	
	NO	NO		Daptomycin	43	
	NO	NO		Novobiosin	40	
	NO	NO		Teicoplanin	43	
	NO	NO		Tetracycline	44	
	NO	NO		Vancomycin	43	
	<i>Ex vivo</i>				Azithromycin	45
		NO	NO		Cefodizime	46
		NO	NO		Chloramphenicol	11
		NO	YES		Co-trimoxazole	47
YES		NO		Erythromycin	48	
<i>In vitro</i>	YES	YES		Rifampicin	49	
				S-Furocytosine	14	
				Amikacin	33, 26	
				Amoxicillin	13, 50	
				Amphotericin B	51, 52, 53	
				Ampicillin	13, 20	
				Ansamycin	26	
				Apramycin	13	
				Azithromycin	54	
				Roxithromycin	13	

În general s-au găsit:

3 antibiotice cu activitate predominant imunostimulatoare:

- Imipenem
- Cefozidimă
- Clindamicină

8 antibiotice cu activitate predominant imunosupresoare:

- erythromicină,
- roxithromicină,
- cefotaximă,
- tetraciclină,
- rifampicină,
- gentamicină,
- teicoplanină
- ampicilină

Acțiunea indirectă a antibioticelor asupra sistemului imunitar: impact asupra microbiotei

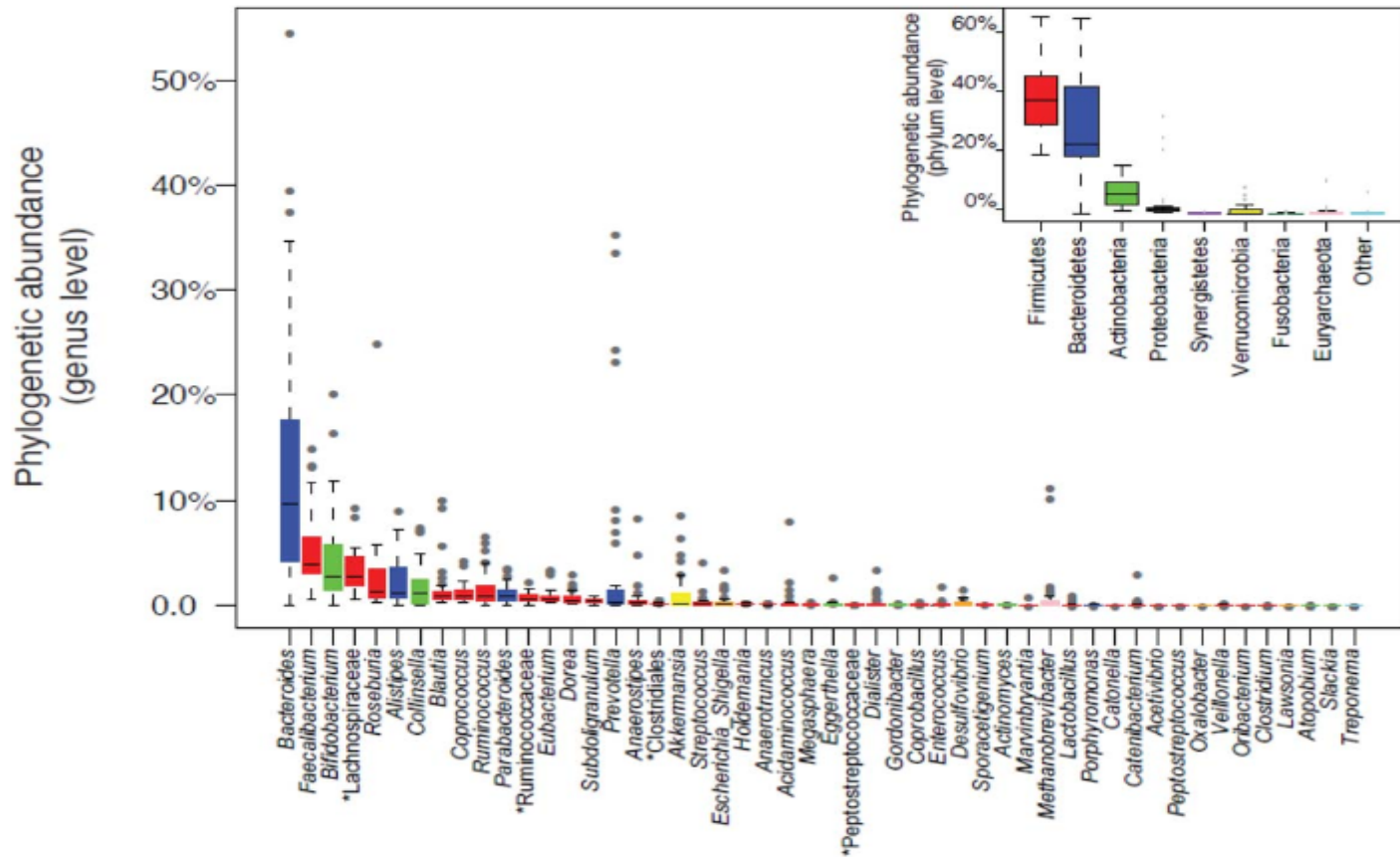
- Organismul uman ca sistem complex alcătuit din celule eucariote și microorganisme
- Microbiota intestinală și rolul său în imunitate, sănătate și boală
- Acțiunea antibioticelor asupra microbiotei umane
- Axe bidirecționale multiple intestin – organe în disbioză

Organismul uman este un sistem alcătuit din celule umane și celule microbiene

- Organismul uman - aproximativ 100×10^{12} celule eucariote
- De 10 ori mai multe microorganisme (= microbiota)
- De 100 de ori mai multe gene aparținând microorganismelor (= microbiom) decât celulelor umane

Turnbaugh PJ, Ley RE, Hamady M, Fraser-Liggett CM, Knight R & Gordon JI – The Human microbiome project - NATURE|Vol 449|18 October 2007

Compoziția microbiotei intestinale

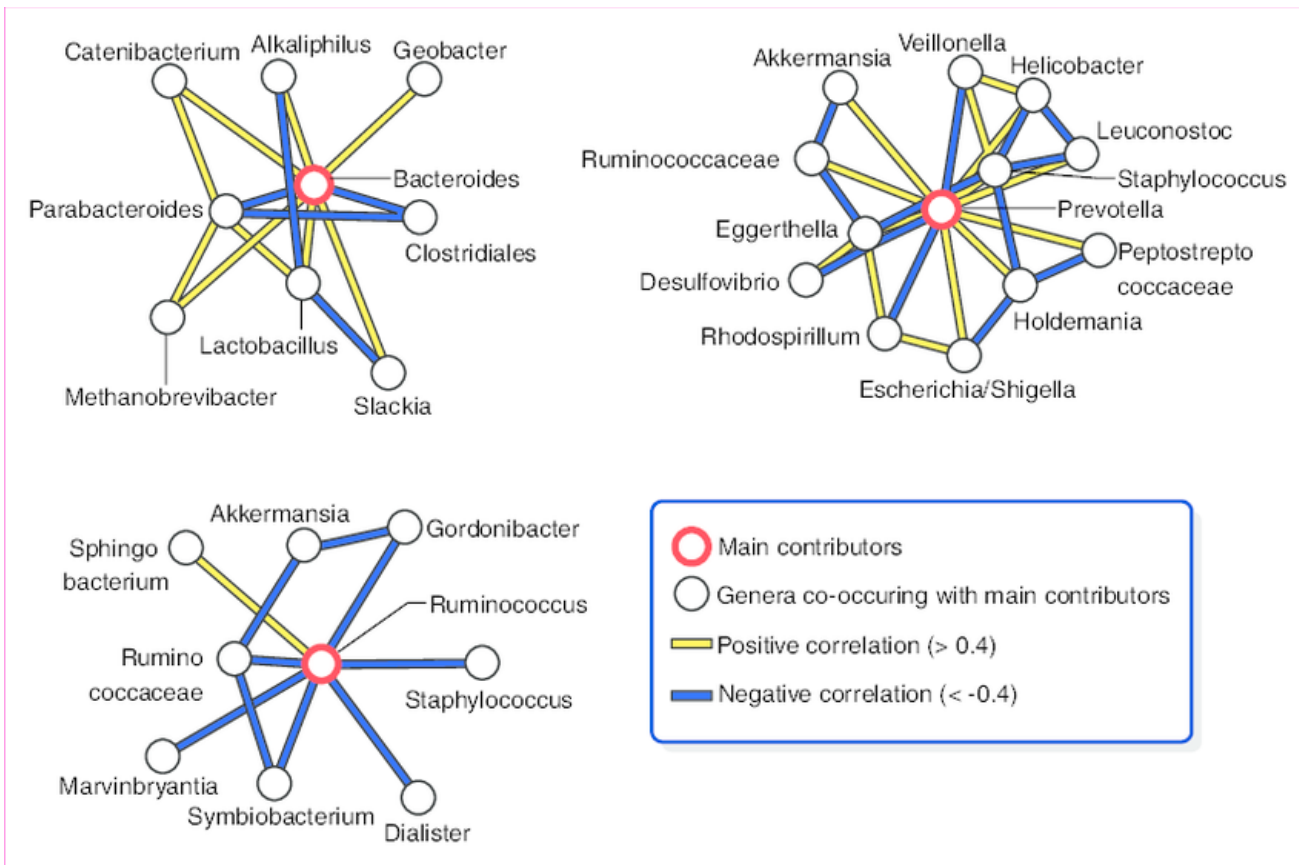


- Numai 7 - 9 din cele 55 diviziuni ale domeniului *Bacteria* au fost detectate în probele de fecale sau mucoasă intestinală umană
- **Aprox. 90% din toate bacteriile aparțin la 2 diviziuni: *Bacteroidetes* și *Firmicutes***
- Alte diviziuni care au fost găsite constant în intestinul gros sunt: *Proteobacteria*, *Actinobacteria*, *Fusobacteria* și *Verrucomicrobia*
- Sunt reprezentate doar câteva specii din domeniul *Archea* (în special *Methanobrevibacter smithii*)

Genuri identificate în microbiota intestinală umană prin tehnici de metagenomică

Arumugam M, et al. Enterotypes of the human gut microbiome. Nature 2011;473:174--180

Enterotipuri



Guarner F. The Gut Microbiome: What Do We Know?.
Clinical Liver Disease, 2015, 5, (4), 86-90

Analiza comunităților fecale provenite de la diferiți indivizi americani, europeni și japonezi la nivel de gen bacterian a sugerat că **ecosistemele microbiene intestinale se conformează unor stări simbiotice microbiene bine echilibrate, formate din grupuri de genuri co-existente**

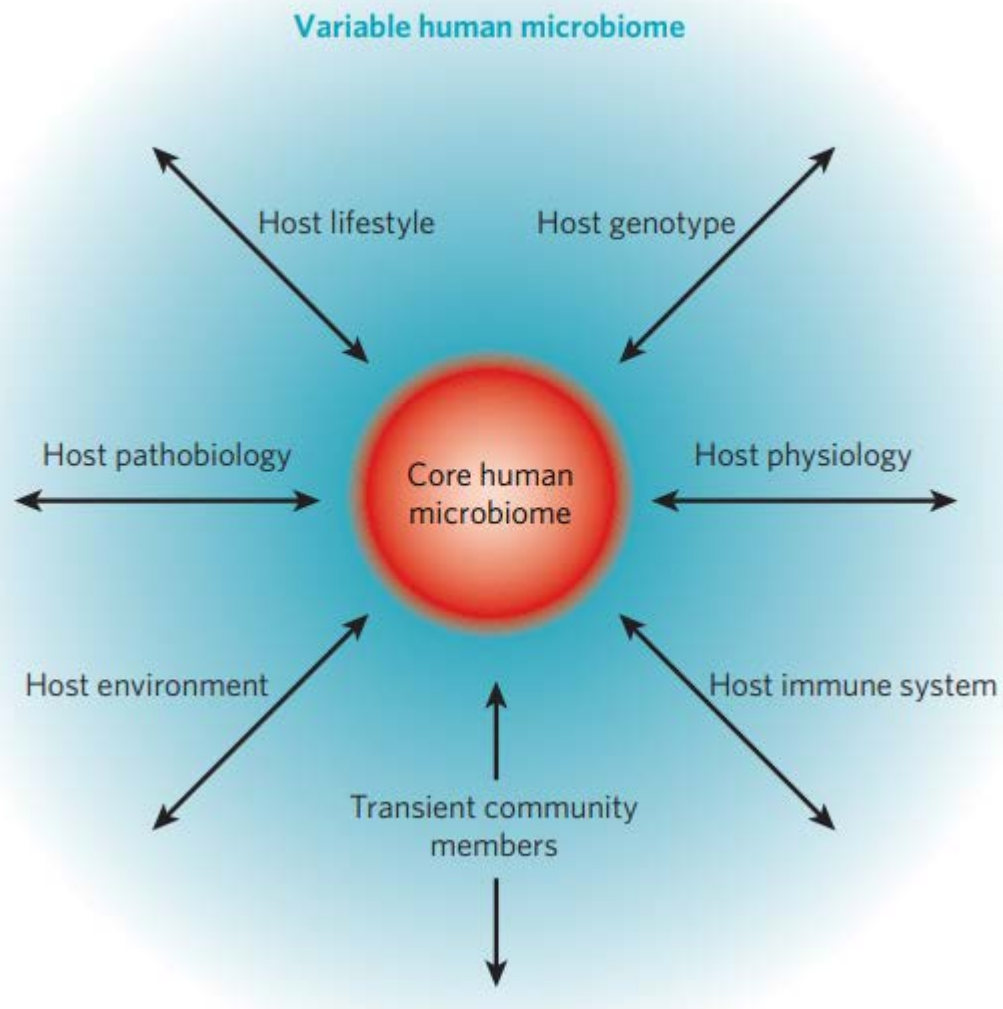
Toate eșantioanele individuale s-au încadrat în trei grupuri robuste (enterotipuri), în funcție de asemănarea lor în compoziție, după predominanța:

- *Bacteroides* (enterotip 1),
- *Prevotella* (enterotip 2)
- *Ruminococcus* (enterotip 3)

Gruparea a fost **influențată de dietă** și **independentă de:**

- vârstă,
- sex
- naționalitate
- indicele de masă corporală

Indivizii cu număr redus de gene microbiene (sub 480.000) prezintă adipozitate, rezistență la insulină, rezistență la leptine, dislipidemie și un **fenotip inflamator mai pronunțat în comparație cu indivizii cu număr ridicat de gene microbiene**



Factori care influențează microbiota umană individuală:

- Mediul local:
 - pH, O₂, H₂O, nutrienți, potential Redox, temperatură etc.
- Vârstă
- Sex
- Dietă
- Statusul imun
- **Alți factori: antibiotice etc**

Turnbaugh PJ, Ley RE, Hamady M, Fraser-Liggett CM, Knight R & Gordon JI – The Human microbiome project - NATURE | Vol 449 | 18 October 2007

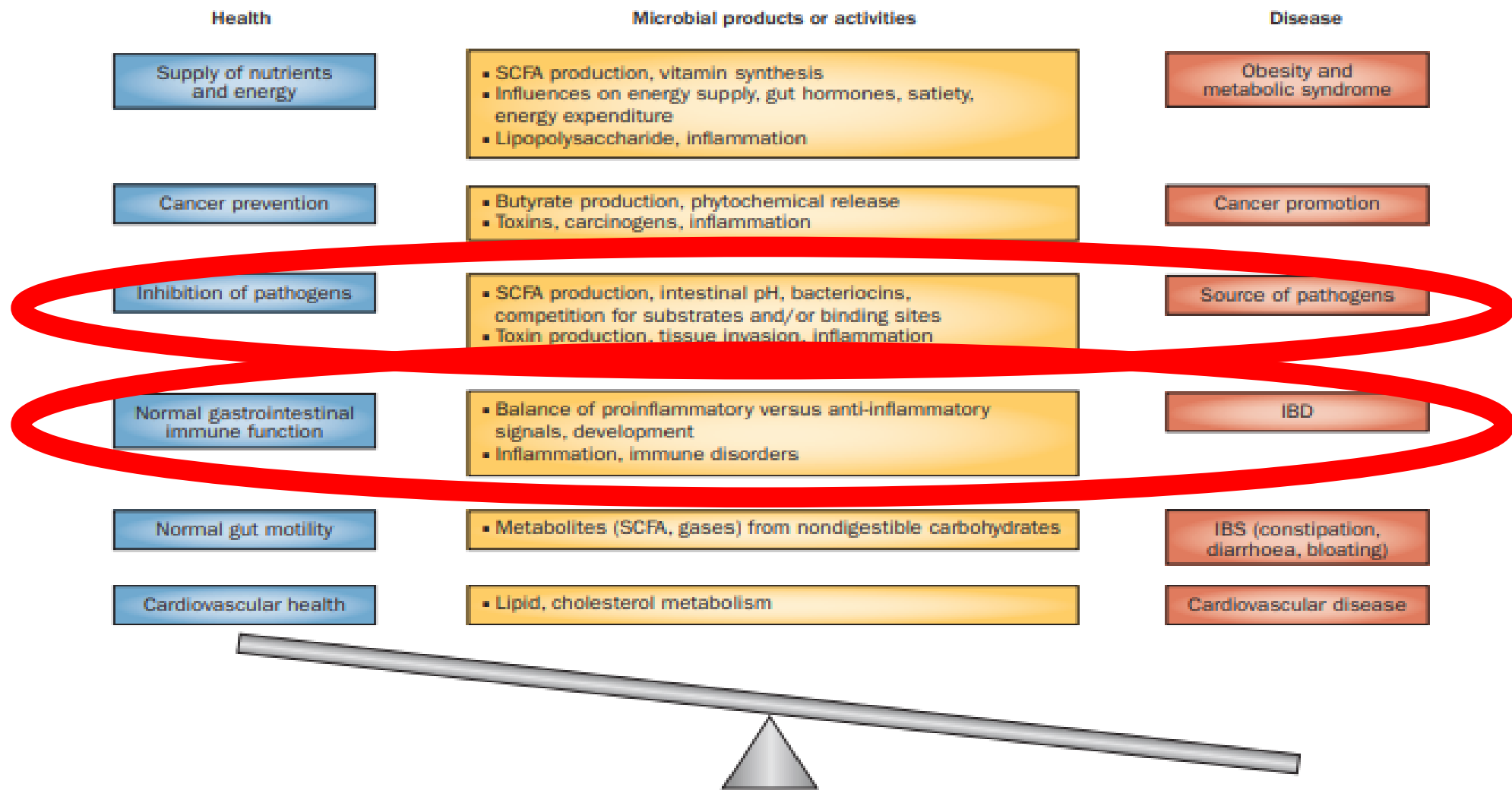


Figure 1 | Influence of gut microbial communities on health. Most of the microbial activities indicated in the centre column are functions of the whole community of gut microbiota rather than being attributable to a single species. The balance of the community and its output determines the net contribution to health or disease. Abbreviation: SCFA, short-chain fatty acid.

Flint HJ, Scott KP, Louis P, Duncan SH – The role of gut microbiota in nutrition and health - NATURE REVIEWS | GASTROENTEROLOGY & HEPATOLOGY VOLUME 9 | OCTOBER 2012 | 577

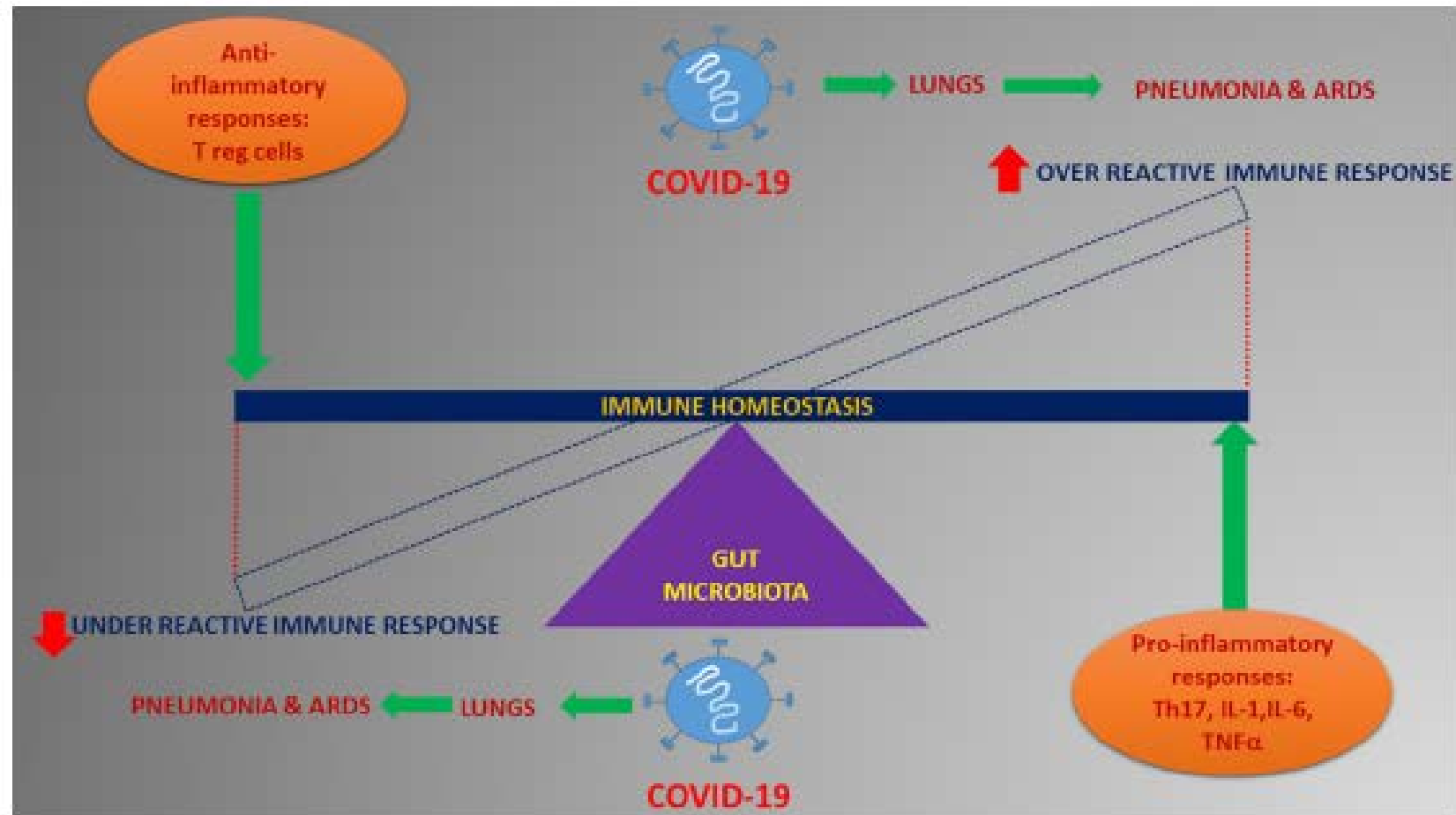
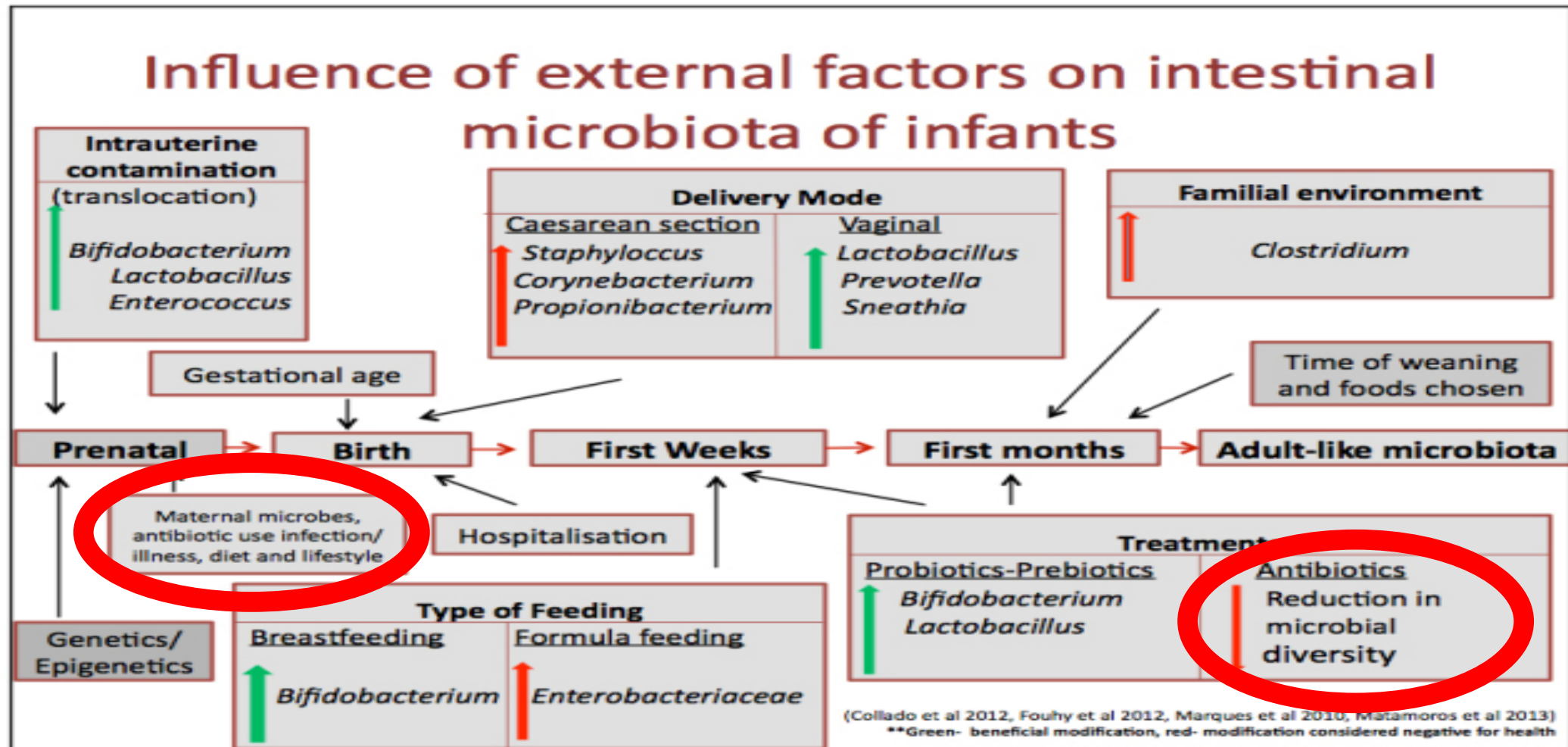
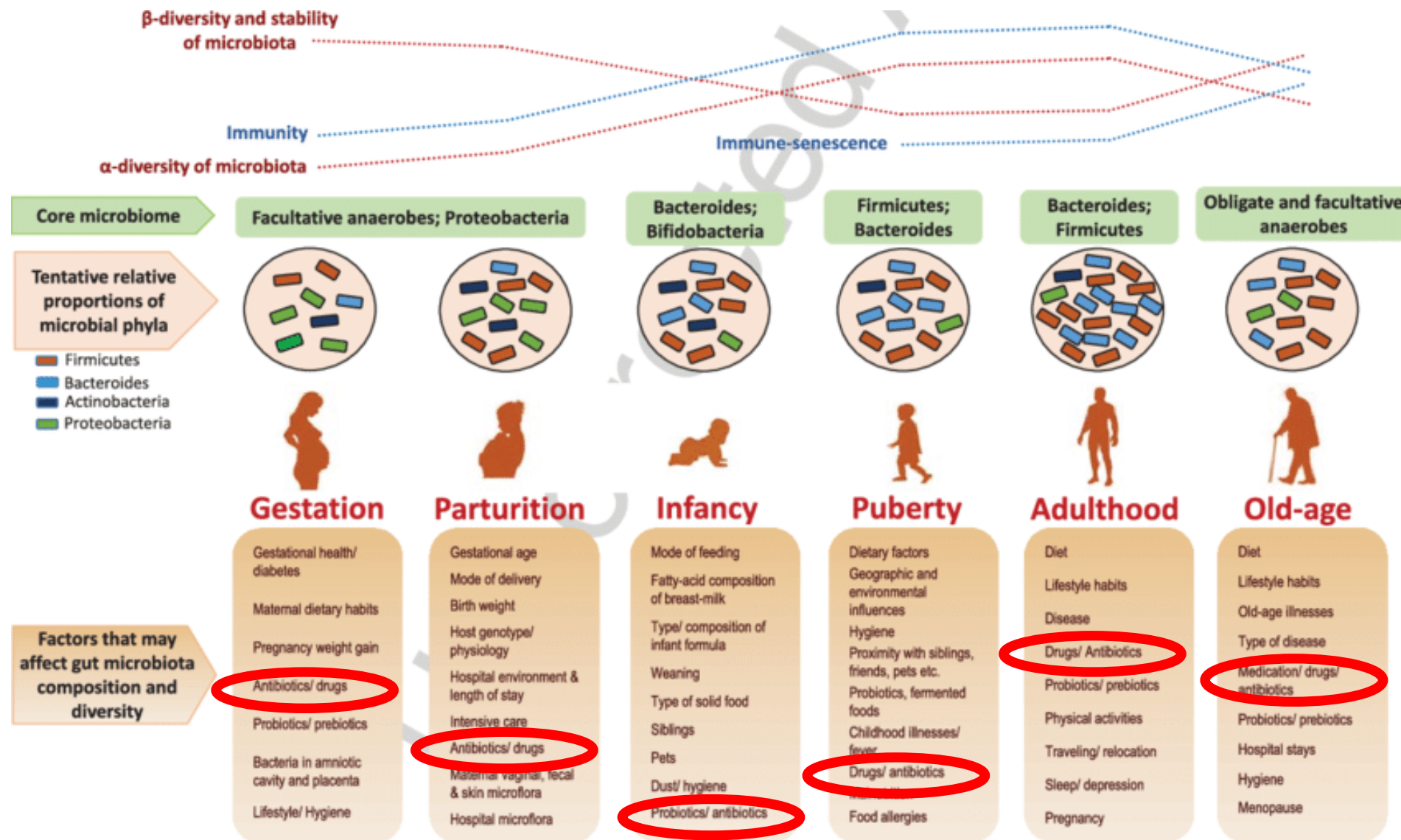


Fig. 1. Possible role of the gut microbiota in modulating immune response in Covid-19.

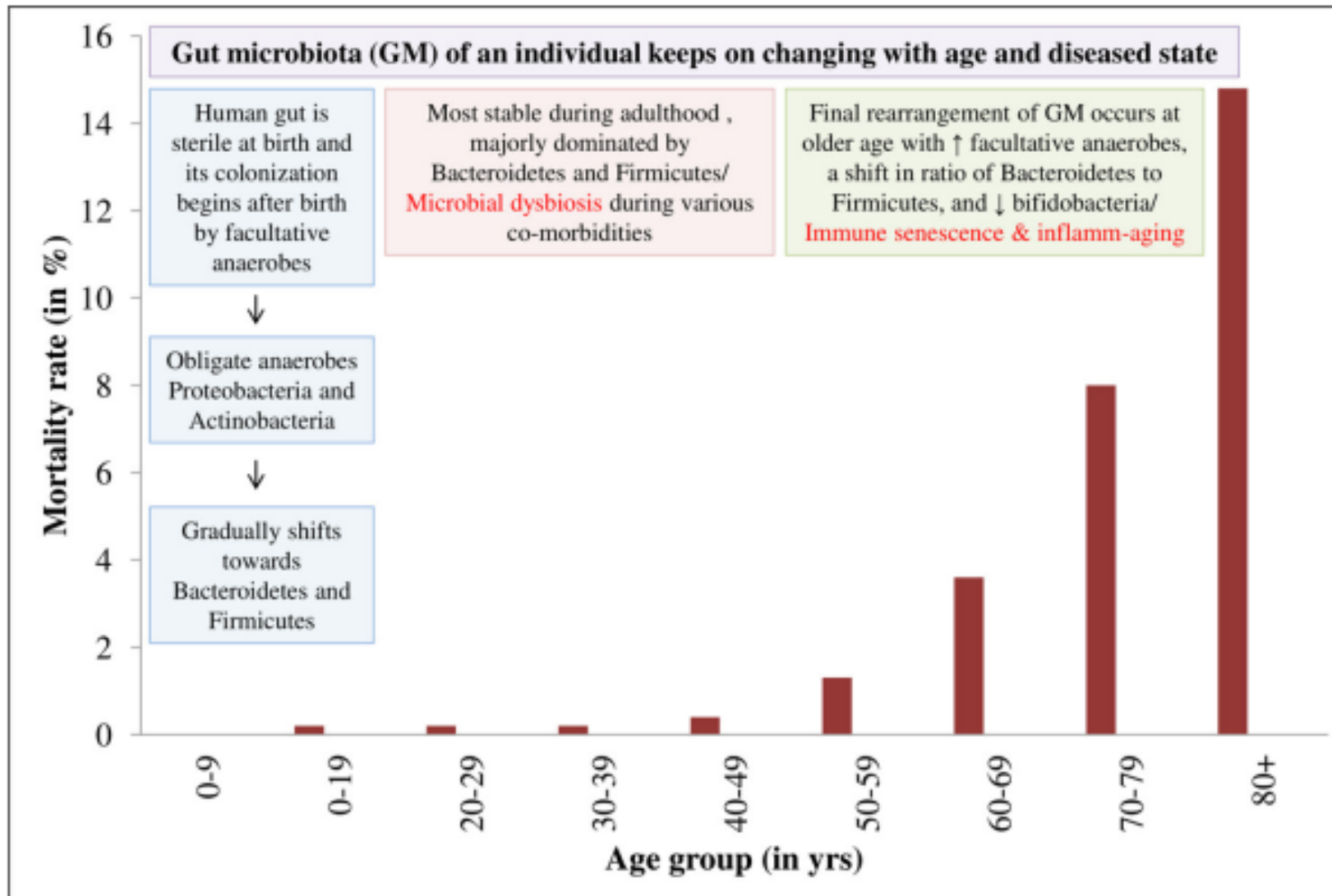
Gut microbiota can influence immune response thereby affecting the disease progression. Both over-active and under active immune response possibly mediated by the gut microbiota can lead to serious clinical adverse events

Microbiota umană – startul verde sau roșu





Nagpal R and al. – Gut microbiome and aging: Physiological and mechanistic insights - Nutrition and Healthy Aging 018 Jun 15;4(4):267-285. doi: 10.3233/NHA-170030. α -diversitate: bogăția speciilor (taxoni) într-un singur mediu gazdă/microbial; β -diversitate: diversitatea în comunitatea microbială (profiluri de abundență taxonomică) între diferite medii/probe



Reprezentare grafică a modificărilor microbiotei intestinale și a ratei de mortalitate asociată cu COVID-19 la diferite grupe de vârstă. Sursă : Ahlawat et al., 2020; Novel, 2020.

Rolul microorganismelor comensale în configurarea timpurie a arhitecturii țesutului limfoid intestinal și dezvoltarea funcțiilor imune

Receptorul Toll-like 5 (TLR5) servește ca senzor pentru flagelina bacteriană. Deși la șoareci, **contraselecția mediată de TLR5 a bacteriilor flagelate colonizatoare este caracteristică perioadei neonatale**, acest proces critic modelează compoziția microbiotei intestinale și astfel are un **impact asupra homeostaziei imune și a sănătății în viața adultă.**

Colonizarea maternă gestațională crește celulele limfoide din grupul 3 intestinal (ILC3s) implicate în imunitatea înăscută și celulele mononucleare F4/80+CD11c+ la descendenți.

O polizaharidă bacteriană derivată din Bacteroides fragilis direcționează maturarea sistemului imunitar, inclusiv corectarea deficiențelor sistemice ale celulelor T și a dezechilibrelor Th1/Th2 în țesuturile limfoide.

Limfocitele intra-epiteliale $\alpha\beta$ și $\gamma\delta$ (IEL) sunt reduse semnificativ la șoarecii GF în comparație cu animalele colonizate convenționale

Celulele Th17 cu funcții imunomodulatoare puternice sunt absente la șoarecii GF

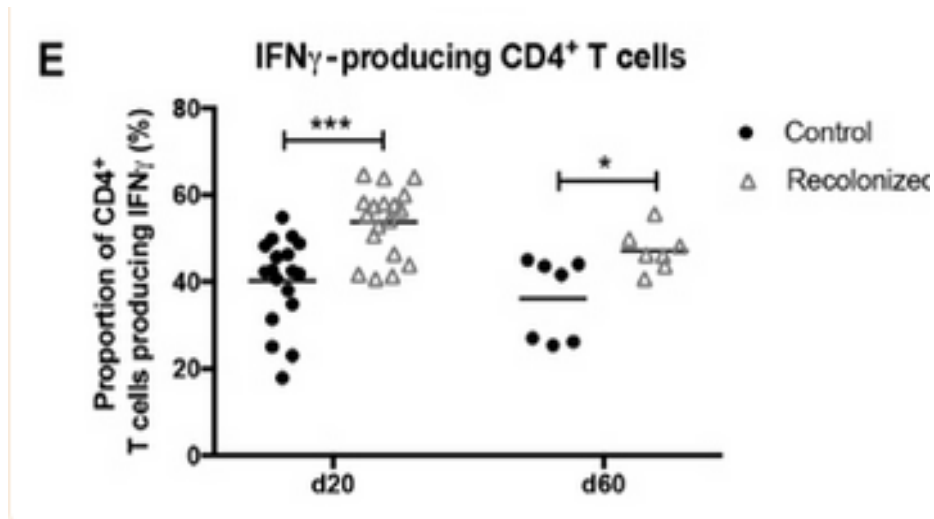
Semnalele extracelulare de la **microorganismelor comensale influențează repertoriile imunoglobulinelor intestinale**: anticorpii IgA protectori ai mucoasei prezintă **o reducere substanțială la nou-născuți și la animalele GF**; **diversitatea microbială intestinală** în timpul colonizării timpurii este esențială pentru a stabili o rețea de imunoreglare care **protejează de inducerea IgE la nivelul mucoasei**, care este implicată în susceptibilitatea la alergii.

Între microbiota și sistemul imunitar al gazdei se stabilesc interacțiuni critice care funcționează **într-o fereastră de timp critică la începutul vieții**

Aceste interacțiuni timpurii pot avea un impact de lungă durată asupra mai multor componente ale imunității, contribuind la homeostazia imună și susceptibilitatea la boli infecțioase și inflamatorii mai târziu în viață.

Zheng D et al. Interaction between microbiota and immunity in health and disease. Cell Research (2020) 30:492 – 506

Normobioza versus disbioză intestinală postantibiotice – rol în menținerea/dereglarea echilibrului imunitar



Procent de celule T CD₄ producătoare de IFN γ la șoareci recolonizați după 20 și 60 de zile de la întreruperea tratamentului cu antibiotice comparativ cu lotul martor

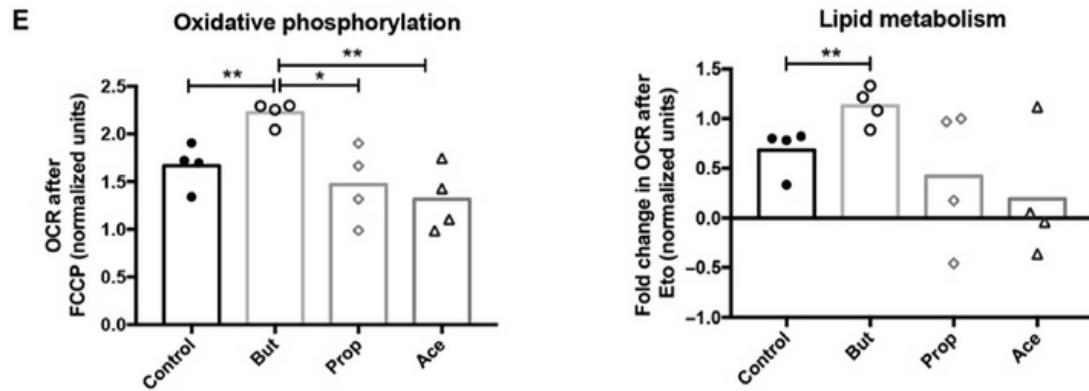
Scott NA et al. Antibiotics induce sustained dysregulation of intestinal T cell immunity by perturbing macrophage homeostasis
Sci Transl Med. 2018 October 24; 10(464)

A. Modularea funcției L T prin intermediul macrofagelor

1. În intestinul sănătos macrofagele sunt înalt specializate și răspund față de microbiota normală fără a provoca un răspuns inflamator
2. **Ruperea echilibrului normal al microbiotei conduce la pierderea toleranței macrofagelor** și apariția **hiperresponsivității la stimulii microbieni**, cu producere de citokine în exces
3. Reexpunerea șoarecilor tratați cu antibiotice la microbiota convențională a indus o **creștere pe termen lung, dependentă de macrofage, a răspunsurilor inflamatorii T helper 1 (TH1)** în colon și perpetuarea disbiozei

B. Inflamația intestinală facilitează instalarea infecției și accentuarea disbiozei

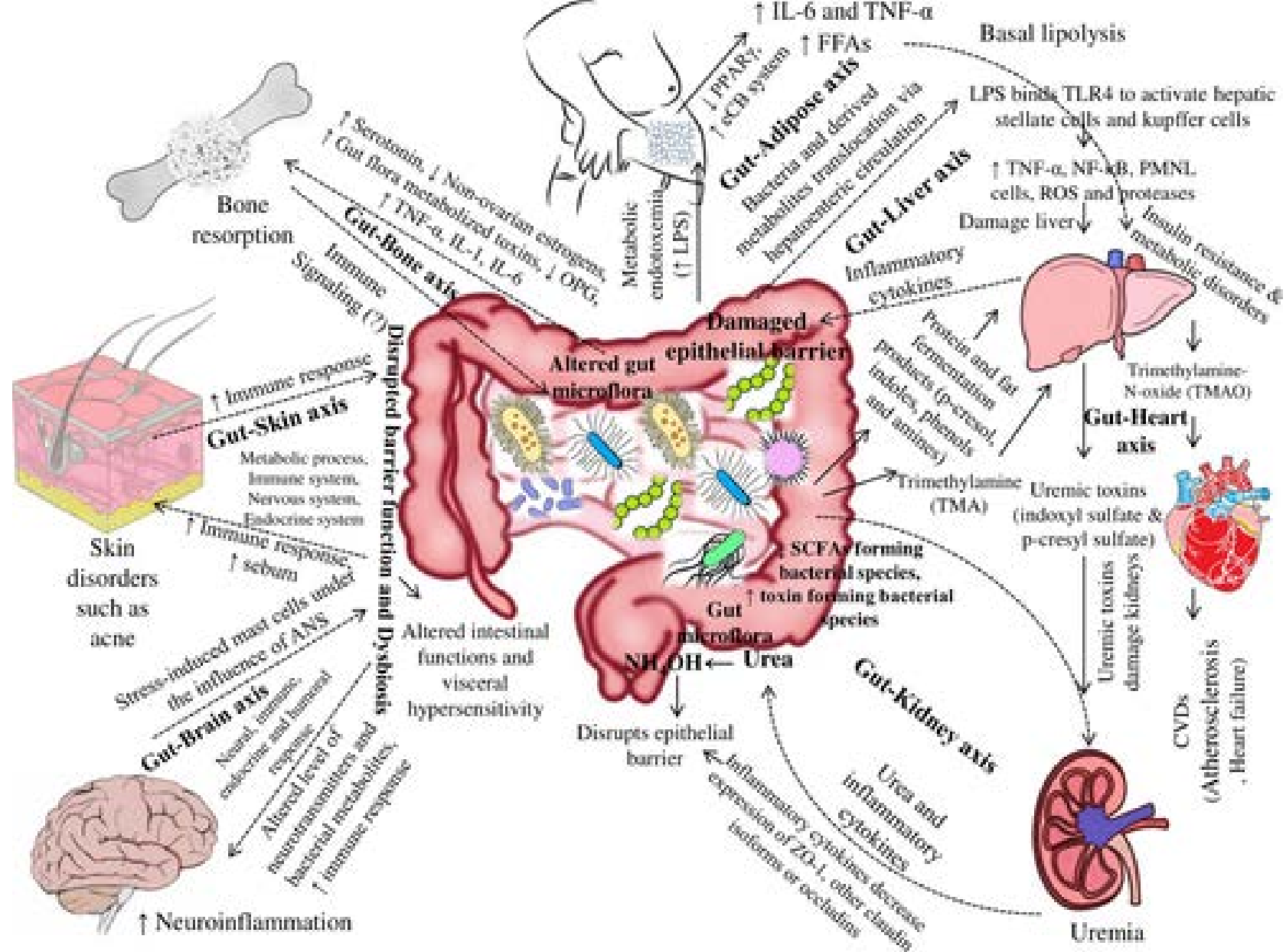
Mentținerea toleranței normale a macrofagelor este mediată de acizii grași cu lanț scurt (SCFAs) produși de microbiota normală



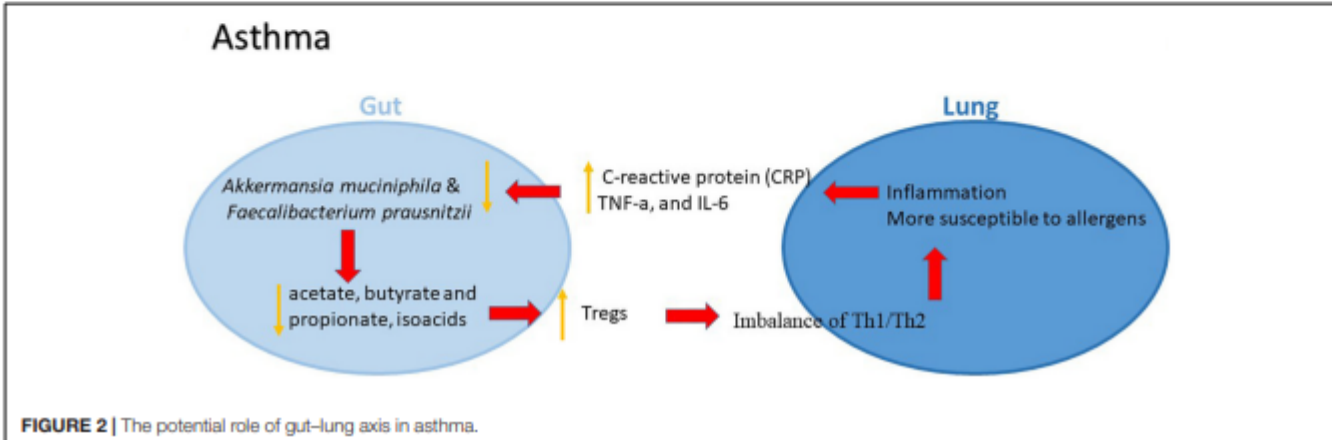
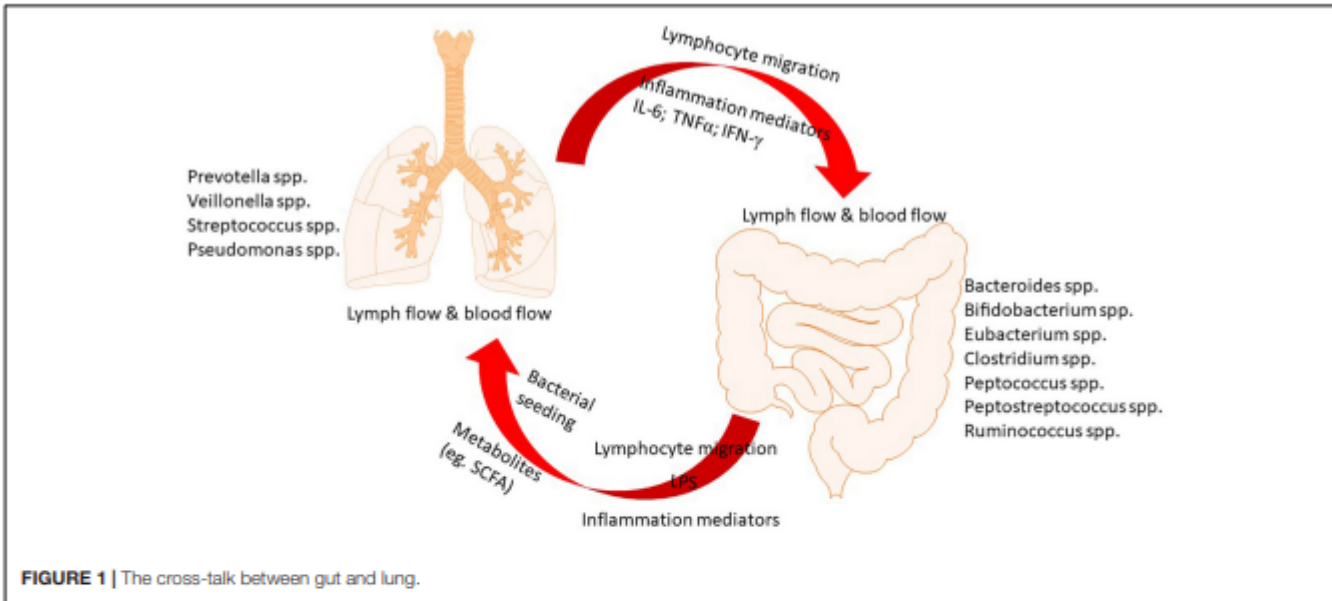
Creșterea căilor metabolice alternative de activare (fosforilare oxidativă, metabolism lipidic) în prezența butiratului. Dovezi ale efectului antiinflamator asupra macrofagelor intestinale

Scott NA et al. Antibiotics induce sustained dysregulation of intestinal T cell immunity by perturbing macrophage homeostasis
Sci Transl Med. 2018 October 24; 10(464)

- SCFAs (ex. butiratul) produși de microbiota normală induc căi metabolice alternative (fosforilare oxidativă, metabolism lipidic) asociate profilului antiinflamator al macrofagelor, spre deosebire de calea clasică, glicolică asociată răspunsului inflamator rapid în cazul macrofagelor hiperreactive
- Aceste date sugerează că potențialele efecte antiinflamatorii ale butiratului asupra macrofagelor se pot extinde până la inducerea reprogramării metabolice pentru a permite activarea alternativă a macrofagelor (potențial terapeutic)



Representation of a bi- or multidirectional communication link or 'axis' between gut, associated microbiota and various organs- source : Ahlawat, S., Asha, and Sharma, K. (2021), Gut-organ axis: a microbial outreach and networking. *Lett Appl Microbiol*, 72: 636-668. <https://doi.org/10.1111/lam.13333>



În bolile pulmonare cronice și infecțiile respiratorii, modificările în compoziția microbiotei intestinale și ale căilor respiratorii se prezintă în mod obișnuit ca o consecință a multiplicării Proteobacterii-ilor și Firmicute-ilor.

S-a observat o interacțiune vitală între aceste două compartimente în cazul bolilor pulmonare.

Axa intestin-pulmon permite trecerea în sânge a:

- endotoxinelor,
- metabolitilor microbieni,
- cytokinelor și hormonilor

realizându-se conectarea nișei intestinale cu cea pulmonară.

Modificările speciilor microbiene intestinale și metabolitilor au fost legate de modificări ale răspunsurilor imune

Zhang D et al – The cross-talk between gut microbiota and lungs in common lung diseases. Front. Microbiol., 25 February 2020 | <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.00301>

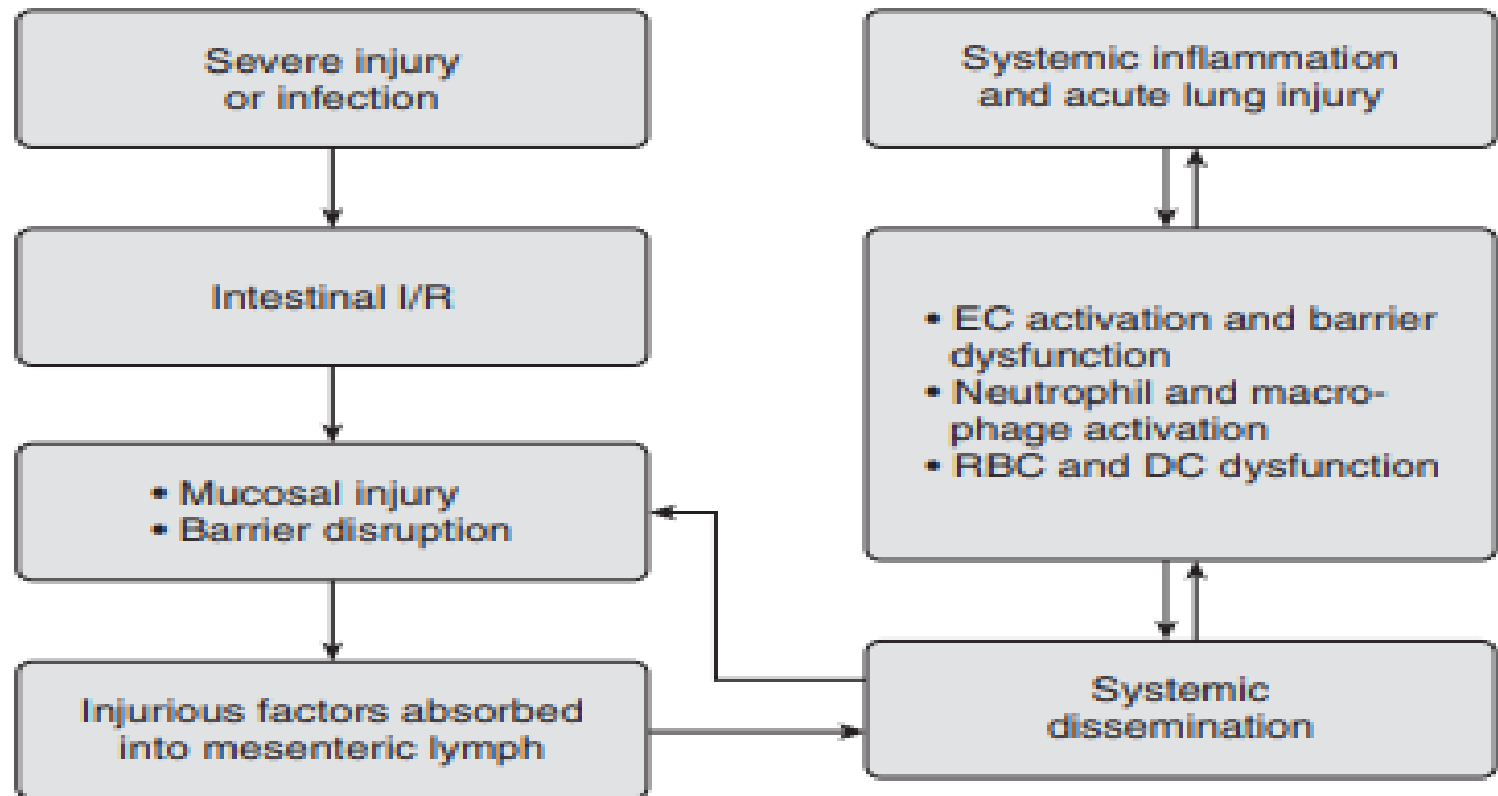


Figure 1. Mesenteric lymph as a conduit in the gut–lung axis. Severe injury or infection induces intestinal ischemia/reperfusion injury, resulting in mucosal injury, gut barrier disruption, and the production of injurious factors. These factors are transported through the mesenteric lymph into blood circulation, where they trigger endothelial cell activation and barrier dysfunction, activate neutrophils and macrophages, and induce red blood cell and dendritic cell dysfunction, ultimately causing systemic inflammation and acute lung injury. Vice versa, lung disease can also cause gut mucosal injury and barrier impairment through systemic dissemination. DC = dendritic cell; EC = endothelial cell; I/R = ischemia/reperfusion; RBC = red blood cell.

Ma Y, Yang X, Chatterjee V, Wu MH, Yuan SY.

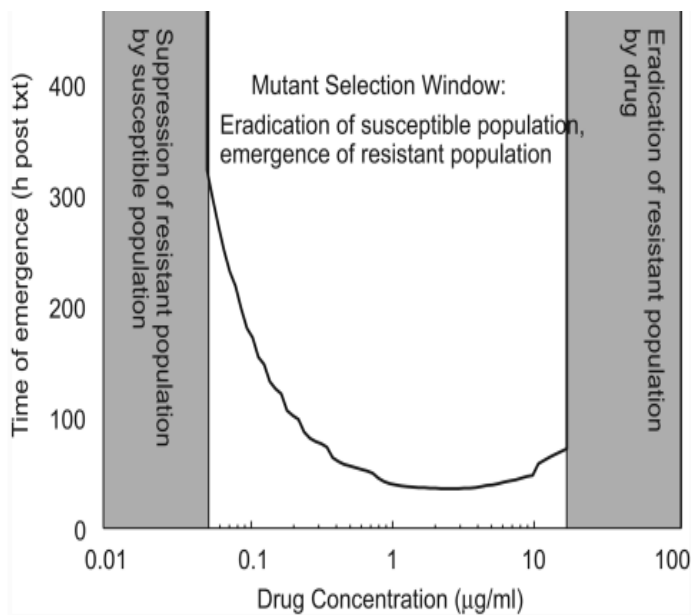
The Gut-Lung Axis in Systemic Inflammation. Role of Mesenteric Lymph as a Conduit. *Am J Respir Cell Mol Biol*.

2021;64(1):19-28. doi:10.1165/rcmb.2020-0196TR

Conferința Imunodepresie și antibioterapie, 04-05.11.2022

Dinamica populațiilor bacteriene și emergența bacteriilor rezistente sub acțiunea antibioticului este diferită în absența sau în prezența răspunsului imun

Handel A et al. Exploring the role of the immune response in preventing antibiotic resistance. J Theor Biol. 2009 February 21; 256(4): 655–662



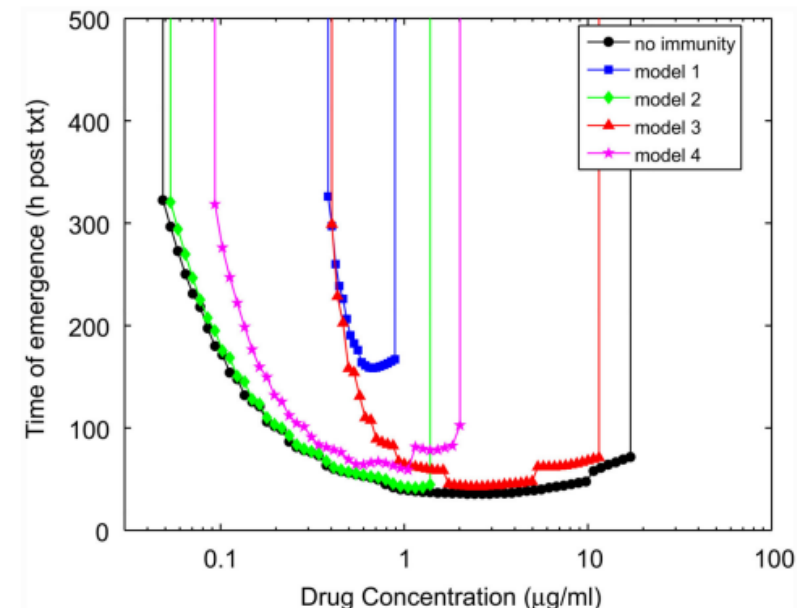
Fereastra de selecție a mutantelor în absența unui răspuns imun.

- La concentrații scăzute de antibiotic, populația sensibilă la medicamente nu este îndepărtată și populația rezistentă nu poate emerge.
- Dozele foarte mari de medicamenteucid atât populațiile sensibile, cât și cele rezistente.
- **Dozele intermediare de antibiotic curăță numai populația sensibilă și, prin urmare, permit populației rezistente să atingă niveluri ridicate**

Emergența rezistenței = multiplicarea populației bacteriene rezistente până la 10% din capacitatea de portanță. Simularea se rulează până la 14 zile după începerea tratamentului (txt). Dacă populația rezistentă nu a atins 10% până în ziua 14, timpul de emergență este setat la infinit.

bacteria independent IR dynamics	model 1	model 2
bacteria dependent IR dynamics	model 3	model 4
	bacteria independent IR killing	bacteria dependent IR killing

Fig. 1. Graphical representation of the differences between the four models. IR: immune response.



Prezența unui răspuns imun îngustează fereastra de selecție și influențează strategia optimă de dozare.

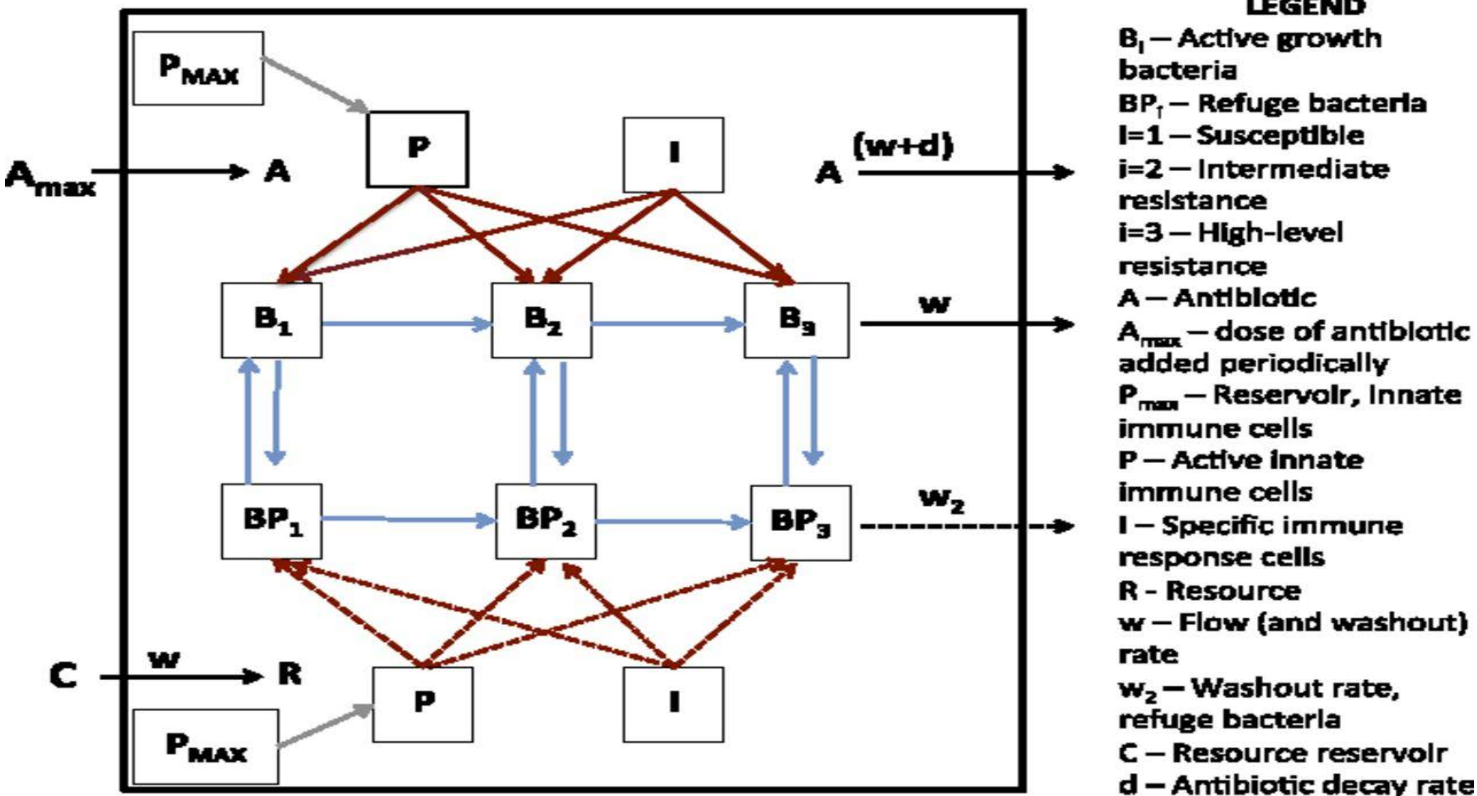
La concentrații ridicate de AB sinergia dintre răspunsul imun și AB este cea mai bună pentru componentele răspunsului imun care sunt în mare măsură independente de dinamica agentului patogen. (modelele 1 și 2) (f. probabil r. adaptativă)

Pentru un răspuns imunitar care este strâns legat de încărcătura patogenului (citokine, părți ale răspunsului imun înăscut, celule T CD8 activate), este de preferat varianta efectului bactericid crescut la o populație bacteriană redusă pentru prevenirea emergenței rezistenței (model 4).

Pentru antibiotice toxice la conc. înalte acționează mai bine sistemele din imunitatea adaptativă independent de concentrația bacteriană (modelele 1 și 3).

În general, un număr mai mare de jucători imuni (de exemplu, un anumit tip de celulă imunitară) și un proces de ucidere mai rapid vor reduce potențialul de a distruge saturația la încărcătură bacteriană mare.

Interacțiunea antibiotic/bacterii/sistem imunitar în infecții acute



Relația dintre intensitatea răspunsului imun și densitatea patogenului poate afecta efectul bactericid net generat de diferite doze de antibiotice:

- a. **R. antagonică**: răspuns imun **PDD** (Pathogen Dose Dependent) - prin reducerea densității bacteriilor, antibioticele pot scădea stimularea răspunsului imunitar, în special la doze mai mici de antibiotice
- b. **R. neantagonică**: răspuns imun **PDI** (Pathogen Dose Independent) - avantajele creșterii dozei de medicament mult mai puțin pronunțate.

Diagrama unui model matematic complex – interacțiunea bacterii/celule sistem imunitar/antibiotic

Ankomah P, Levin BR. Exploring the collaboration between antibiotics and the immune response in the treatment of acute, self-limiting infections. PNAS, 2014, 111 (23) 8331-8338

Concluzii

1. Descoperirile științifice recente susțin ipoteza că microbiomul bacterian uman influențează răspunsul imun și starea de sănătate a gazdei
2. Antibioticele influențează răspunsul imun al gazdei direct și indirect, prin acțiunea asupra microbiomului uman
3. În terapia infecțiilor, efectele antibioticelor pot fi influențate de tipul de răspuns al componentelor sistemului imun, respectiv dependent sau independent de încărcătura bacteriană.
4. În cazul răspunsului imun independent de încărcătura bacteriană creșterea dozei de antibiotic nu este utilă.
5. Capacitatea SCFAs (ex. acid butiric) de a restaura căile metabolice alternative și proprietățile anti-inflamatoare ale fagocitelor intestinale ar putea fi luată în considerare din punct de vedere al potențialului terapeutic.

