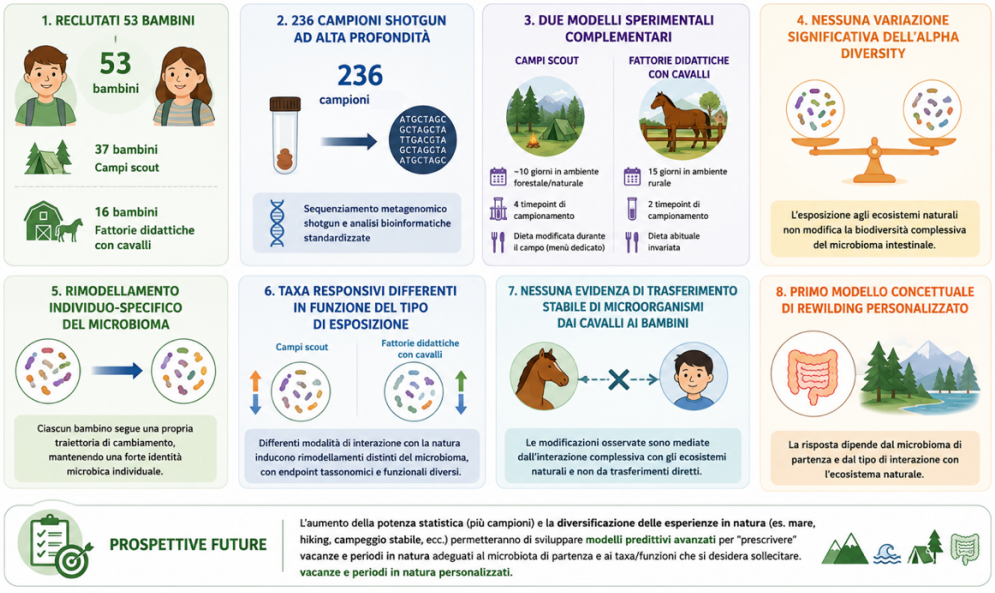
Relazione scientifica finale del progetto Re-Wild

Rewilding del microbioma intestinale in età pediatrica attraverso l'interazione con ecosistemi naturali

PI: Simone Rampelli – Dipartimento di Farmacia e Biotecnologie, Università di Bologna

Sintesi del progetto

La progressiva urbanizzazione e la riduzione delle interazioni con gli ecosistemi naturali sono considerate tra i principali fattori responsabili della perdita di biodiversità del microbioma intestinale nelle popolazioni occidentali. Il progetto Re-Wild ha avuto l'obiettivo di valutare se differenti modalità di esposizione alla natura possano modulare il microbioma intestinale di bambini residenti in ambiente urbano e di identificare i principi biologici alla base di un futuro approccio di rewilding personalizzato. Sono stati studiati 53 bambini coinvolti in due differenti interventi di immersione nella natura (campi scout e fattorie didattiche con cavalli), mediante un disegno longitudinale e sequenziamento metagenomico shotgun del microbioma intestinale. I risultati hanno mostrato che l'interazione con gli ecosistemi naturali non determina un incremento generalizzato della biodiversità del microbioma intestinale, ma induce un rimodellamento ecologico caratterizzato da traiettorie di cambiamento fortemente individuo-specifiche e dalla modulazione condivisa di specifici gruppi microbici. Inoltre, non sono emerse evidenze di un trasferimento stabile di microrganismi dal microbioma dei cavalli a quello dei bambini, né la dieta è risultata il principale determinante delle modificazioni osservate. L'integrazione dei risultati ottenuti nei due modelli sperimentali ha permesso di proporre un primo modello concettuale di rewilding del microbioma intestinale, secondo il quale la risposta dipende sia dalla configurazione iniziale del microbioma sia dalla tipologia di esposizione agli ecosistemi naturali. Questi risultati costituiscono la base scientifica per lo sviluppo di future strategie di rewilding personalizzato, finalizzate all'identificazione dell'interazione con la natura più idonea per promuovere specifici endpoint microbiologici.



Risultato principale 1

Caratterizzazione dei microbiomi intestinali dei bambini prima e dopo l'interazione con ecosistemi naturali

Attività svolte

Nell'ambito del progetto Re-Wild è stato realizzato uno studio longitudinale volto a caratterizzare il microbioma intestinale di bambini residenti in contesto urbano prima e dopo differenti esperienze di immersione in ecosistemi naturali, con l'obiettivo di valutare l'impatto dell'interazione con microbiomi ambientali sulla struttura dell'ecosistema intestinale (**Figura 1**).

Per aumentare la robustezza delle osservazioni e valutare differenti modalità di esposizione alla natura sono stati considerati due distinti interventi sperimentali.

Il primo ha coinvolto bambini partecipanti a campi scout estivi della durata di circa dieci giorni, svolti in differenti aree naturali dell'Emilia-Romagna e della Toscana. Per questa coorte sono stati raccolti campioni fecali in maniera longitudinale, comprendendo due campionamenti effettuati prima del campo, un campionamento al termine dell'esperienza e un ulteriore campionamento dopo il rientro, consentendo di distinguere le normali fluttuazioni temporali del microbioma dai cambiamenti associati all'esposizione agli ambienti naturali. Parallelamente sono stati raccolti questionari relativi alla dieta abituale e all'alimentazione durante il campo scout, al fine di tenere conto delle modificazioni alimentari conseguenti alla vita comunitaria e all'organizzazione dei pasti durante il soggiorno.

Il secondo intervento ha riguardato bambini coinvolti in un'esperienza continuativa di quindici giorni presso fattorie didattiche con intensa interazione quotidiana con cavalli ed ambiente rurale. Anche in questo caso sono stati raccolti campioni fecali prima e dopo l'intervento. Per questa coorte è stata inoltre registrata la dieta abituale dei partecipanti, che è rimasta sostanzialmente invariata durante il periodo di osservazione, permettendo di limitare il potenziale effetto confondente dell'alimentazione.

Complessivamente sono stati inclusi nello studio 53 bambini residenti in contesto urbano, di cui 37 partecipanti ai campi scout e 16 coinvolti nell'intervento presso fattorie didattiche con cavalli.

Tutti i campioni sono stati sottoposti ad estrazione del DNA microbico, preparazione delle librerie genomiche e sequenziamento metagenomico shotgun ad alta profondità, seguito da analisi bioinformatiche e biostatistiche per la caratterizzazione tassonomica del microbioma intestinale. Per entrambe le coorti sono stati inoltre raccolti metadati relativi alle caratteristiche dei partecipanti e dell'intervento, successivamente integrati nelle analisi statistiche.

L'insieme dei dati raccolti costituisce una delle più ampie collezioni longitudinali disponibili in Italia dedicate allo studio dell'effetto dell'esposizione ad ecosistemi naturali sul microbioma intestinale in età pediatrica e rappresenta la base sperimentale per le successive analisi ecologiche e statistiche sviluppate nell'ambito del progetto.

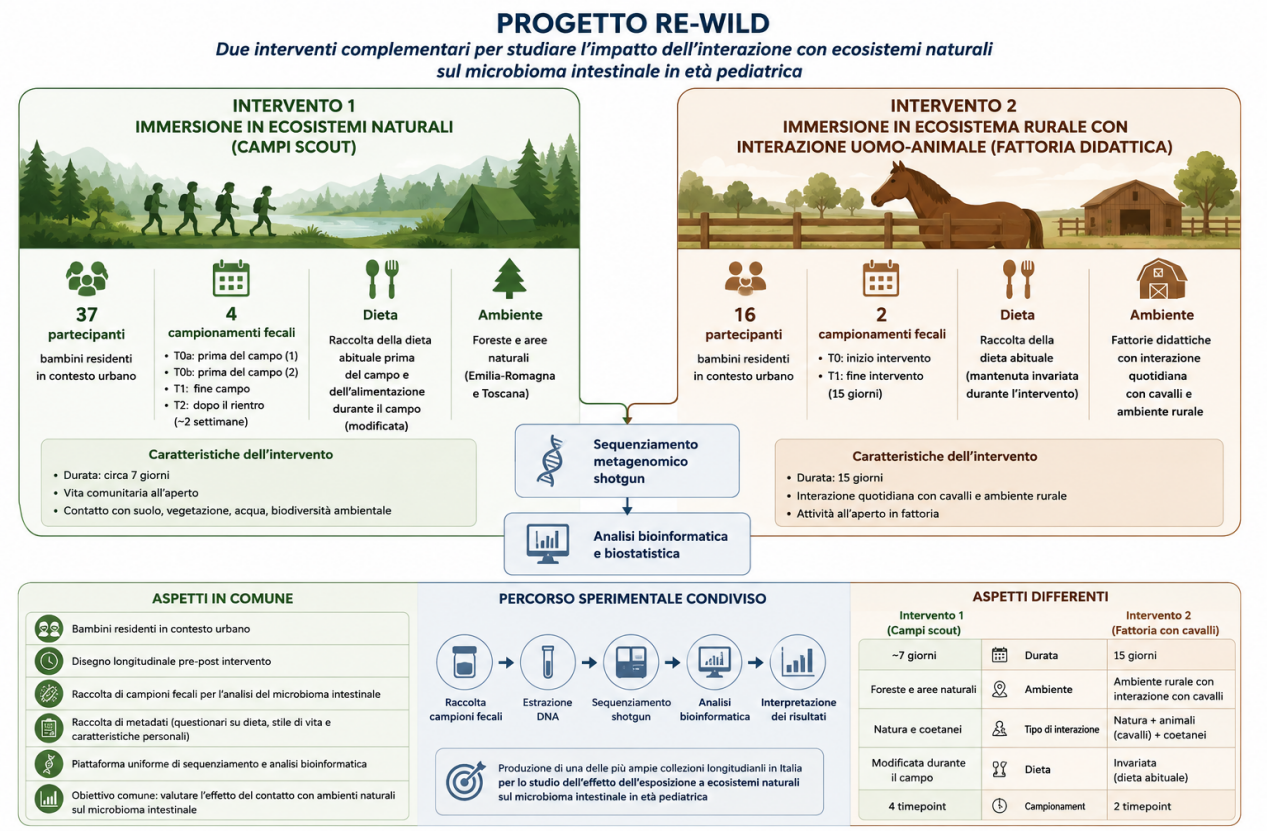


Figura 1. Disegno sperimentale del progetto Re-Wild e confronto tra i due interventi di esposizione agli ecosistemi naturali. I due interventi hanno coinvolto bambini residenti in contesto urbano sottoposti a differenti esperienze di immersione nella natura: (i) partecipazione a campi scout in ambienti forestali e naturali e (ii) permanenza presso fattorie didattiche con interazione quotidiana con cavalli. Pur differendo per durata dell'intervento, tipologia di ambiente, protocollo di campionamento e raccolta delle informazioni dietetiche, entrambi gli studi hanno adottato un disegno longitudinale pre-post intervento, con raccolta di campioni fecali e metadati, sequenziamento metagenomico shotgun e analisi bioinformatiche standardizzate. L'integrazione delle due coorti ha permesso di valutare l'effetto di differenti modalità di esposizione ai microbiomi naturali sul microbioma intestinale in età pediatrica.

Sebbene differenti per durata e modalità di esposizione, entrambi gli interventi condividono alcuni elementi fondamentali: coinvolgono bambini residenti in ambiente urbano, prevedono un'intensa permanenza in ecosistemi naturali, adottano un disegno longitudinale pre-post intervento e utilizzano la medesima piattaforma di sequenziamento metagenomico e di analisi bioinformatica. Questa impostazione ha consentito di confrontare due differenti strategie di esposizione naturale mantenendo elevata la comparabilità dei risultati ottenuti.

Caratterizzazione della dieta e controllo dei potenziali fattori confondenti

Considerato il ruolo della dieta come uno dei principali determinanti della composizione del microbioma intestinale, per entrambe le coorti sono state raccolte informazioni dettagliate sulle abitudini alimentari mediante questionari standardizzati, al fine di controllare il possibile effetto confondente delle differenze nutrizionali. Per i partecipanti ai campi scout è stata rilevata la dieta abituale relativa al periodo precedente all'inizio del campo e, separatamente, è stata caratterizzata l'alimentazione prevista durante il soggiorno in natura attraverso il menù ufficiale del campo. Per i bambini coinvolti nell'intervento presso le fattorie didattiche è stata invece registrata la dieta abituale mediante un questionario alimentare quantitativo. Poiché i partecipanti continuavano a vivere presso il proprio domicilio e a consumare i pasti nell'ambiente familiare per tutta la durata dello studio (prima, durante e dopo il periodo di frequentazione della fattoria didattica), tale valutazione è stata considerata rappresentativa dell'intero periodo di osservazione. Questa impostazione ha consentito di minimizzare il potenziale effetto confondente della dieta, attribuendo con maggiore confidenza le eventuali modificazioni osservate nel microbioma intestinale all'esposizione continuativa ai microbiomi ambientali e animali.

L'armonizzazione delle informazioni alimentari raccolte mediante i questionari ha consentito di confrontare le caratteristiche nutrizionali delle due popolazioni al basale utilizzando una scala comune di frequenza di consumo, rendendo possibile un confronto descrittivo tra le coorti, che sono molto paragonabili in termini di abitudini alimentari (**Figura 2**).

Per la coorte scout è stato inoltre possibile confrontare la dieta abituale con quella prevista durante il campo estivo, utilizzando il menù ufficiale come indicatore della disponibilità degli alimenti durante l'intervento. Tale confronto ha evidenziato una sostanziale continuità dell'impostazione alimentare, con alcune differenze attribuibili all'organizzazione dei pasti comunitari (**Figura 3**). Il menù prevedeva una dieta varia, caratterizzata dalla presenza quotidiana di cereali (pane, pasta, riso o polenta), fonti proteiche di diversa origine (carni bianche e rosse, salumi, tonno, uova, formaggi e, occasionalmente, legumi), accompagnate da verdure fresche, frutta di stagione e latticini. Erano inoltre presenti alimenti tipici della vita all'aperto e delle attività escursionistiche, quali panini, pasti al sacco e grigliate, oltre a snack e prodotti dolci utilizzati principalmente durante le escursioni o come merenda. Tale organizzazione alimentare differiva quindi, almeno in parte, dalla dieta abituale dei partecipanti, rappresentando un potenziale fattore di variabilità da considerare nell'interpretazione dei cambiamenti osservati nel microbioma intestinale.

La raccolta sistematica delle informazioni dietetiche ha quindi consentito di contestualizzare i risultati microbiologici e di valutare il possibile contributo della dieta nella modulazione della risposta individuale ai differenti interventi di rewilding.

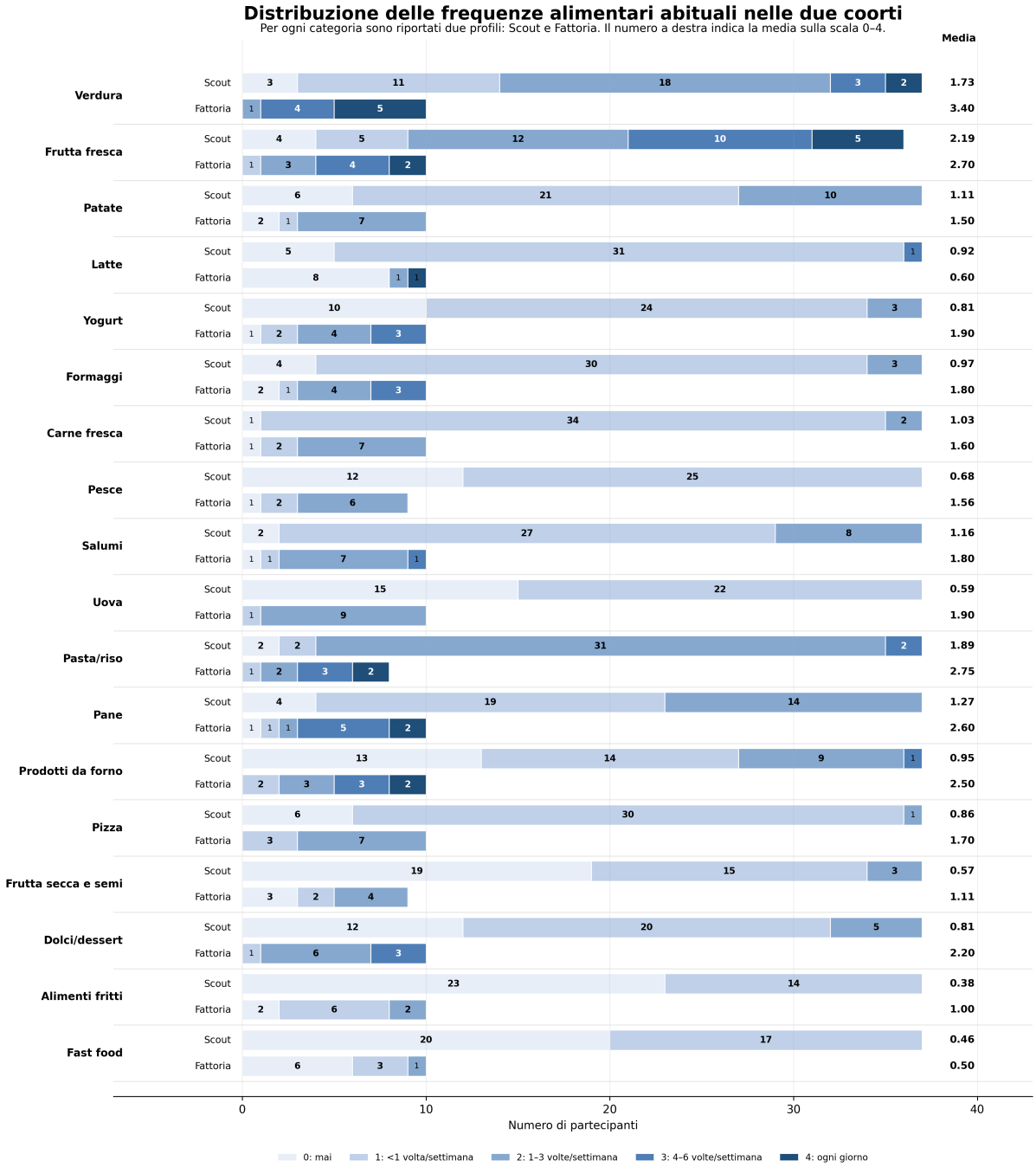


Figura 2. Confronto delle abitudini alimentari al basale nelle due coorti del progetto Re-Wild. Per ciascuna categoria alimentare è riportato il punteggio medio di frequenza di consumo, con relativo errore standard, nei partecipanti ai campi scout e nei bambini coinvolti nell'intervento presso le fattorie didattiche. Le frequenze rilevate dai due questionari sono state armonizzate utilizzando una scala comune: 0 = mai; 1 = meno di una volta alla settimana; 2 = 1–3 volte alla settimana; 3 = 4–6 volte alla settimana; 4 = ogni giorno. Per le categorie comprendenti più alimenti è stata calcolata, per ciascun soggetto, la media degli item disponibili. Il confronto ha finalità descrittiva, poiché i questionari utilizzati nelle due coorti non erano completamente sovrapponibili. Non tutti i partecipanti hanno compilato i questionari alimentari in maniera corretta, da qui la

discrepanza numerica tra il numero di partecipanti e il numero di questionari, che è leggermente inferiore al valore atteso

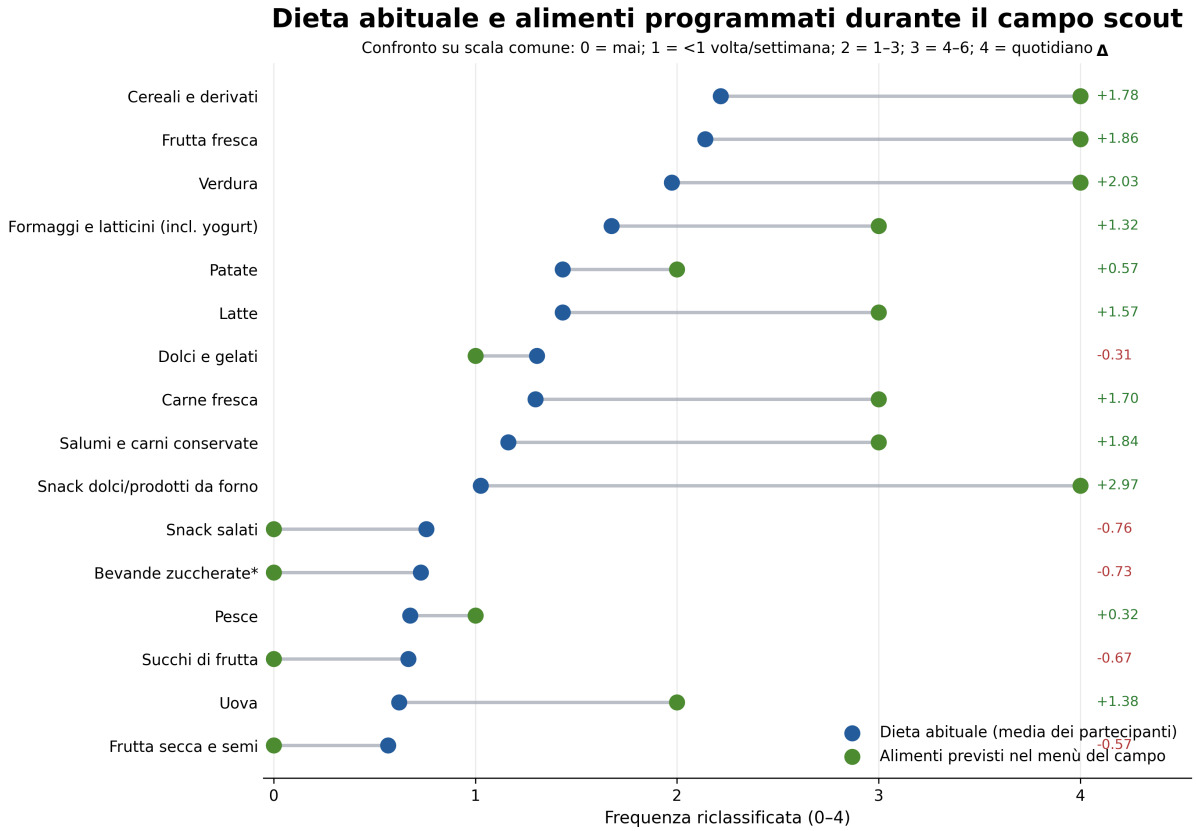


Figura 3. Confronto tra la dieta abituale dei partecipanti ai campi scout e la dieta prevista durante il campo estivo. Le frequenze di consumo della dieta abituale sono state ricavate dai questionari alimentari compilati dai partecipanti, mentre quelle relative al periodo di intervento sono state stimate sulla base del menù ufficiale del campo. I valori riportati rappresentano pertanto la disponibilità degli alimenti prevista durante il soggiorno e non il consumo effettivo individuale, che non è stato registrato.

Raccolta dei dati sullo stile di vita

Per la coorte dei campi scout sono stati inoltre raccolti dati relativi alle principali caratteristiche dello stile di vita dei partecipanti, comprendenti sesso, età, peso, altezza, luogo di residenza, livello di istruzione dei genitori, attività sportiva abituale, tempo medio trascorso utilizzando dispositivi elettronici, frequenza delle attività svolte all'aperto in ambienti naturali e presenza di animali domestici. Queste informazioni sono state utilizzate per caratterizzare la popolazione in studio ed esplorare l'eventuale presenza di fattori associati alla variabilità del microbioma intestinale.

Gli stessi dati erano disponibili per i partecipanti all'intervento presso le fattorie didattiche. In questo caso però tutti i bambini provenivano dall'area metropolitana di Bologna, garantendo una maggiore omogeneità del contesto urbano di provenienza e riducendo la variabilità legata alle caratteristiche ambientali.

Sintesi del risultato principale 1

Complessivamente, la raccolta integrata di campioni biologici, metadati relativi alla dieta e allo stile di vita e informazioni ambientali ha consentito di costruire un database longitudinale completo, che costituisce la base per le successive analisi ecologiche, bioinformatiche e statistiche finalizzate alla valutazione degli effetti dell'esposizione agli ecosistemi naturali sul microbioma intestinale.

Risultato principale 2

Valutazione dell'effetto dell'interazione con gli ecosistemi naturali sul microbioma intestinale

Controllo di qualità e caratterizzazione dei dati di sequenziamento

Tutti i campioni raccolti nell'ambito del progetto (campioni fecali dei bambini appartenenti alle due coorti e campioni biologici dei cavalli) sono stati sottoposti ad estrazione del DNA microbico e preparazione delle librerie genomiche mediante protocollo Illumina DNA Prep, seguita da sequenziamento metagenomico shotgun su piattaforma Illumina NextSeq (e.g. Rampelli et al., 2024). I dati grezzi sono stati sottoposti a controllo qualità mediante FastQC e MultiQC, verificando qualità delle letture, contenuto in GC, duplicazione, lunghezza media delle reads e profondità di sequenziamento. Le sequenze microbiche (filtrate per le sequenze umane) e ad alta qualità (q>20) sono state tenute per le analisi successive. Complessivamente sono stati analizzati 236 campioni (inclusi i campioni derivanti dai cavalli e dagli ambienti della fattoria didattica), ottenendo una media di ~9,5 milioni di sequenze paired-ends per campione.

Analisi ecologica dei microbiomi

I profili tassonomici sono stati ricostruiti mediante MetaPhlAn 4 (Blanco-Míguez et al., 2023), ottenendo la composizione relativa dei taxa presenti in ciascun campione. I profili ottenuti sono stati successivamente utilizzati per valutare la biodiversità e le traiettorie di cambiamento del microbioma intestinale in risposta all'esposizione agli ecosistemi naturali.

In entrambe le coorti non sono state osservate variazioni statisticamente significative degli indici di alpha diversity tra i campionamenti pre- e post-intervento, indicando che l'esposizione agli ecosistemi naturali non determina modificazioni generalizzate della ricchezza o dell'uniformità del microbioma intestinale (**Figure 4**).

Al contrario, le analisi di beta diversity hanno evidenziato traiettorie di cambiamento fortemente individuo-specifiche. In entrambe le coorti ciascun bambino manteneva una maggiore somiglianza con il proprio microbioma rispetto a quello degli altri partecipanti, sia prima sia dopo l'intervento (**Figure 5**). Tale osservazione è stata confermata confrontando le distanze intra- e inter-individuali nello spazio PCoA. Le distanze tra

campioni appartenenti allo stesso individuo risultavano sistematicamente inferiori rispetto alle distanze tra individui differenti, indicando che il principale determinante della struttura del microbioma rimane l'identità ecologica individuale. L'interazione con gli ecosistemi naturali induce pertanto un rimodellamento del microbioma che avviene lungo traiettorie personalizzate, piuttosto che una convergenza verso un unico stato comune.

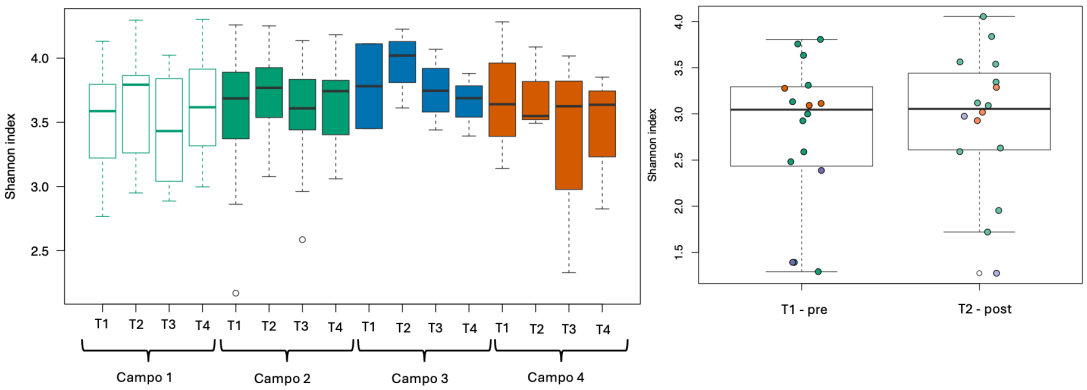


Figura 4. Andamento della biodiversità (alpha diversity) del microbioma intestinale nei due interventi di rewilding. A sinistra, distribuzione dell'indice di Shannon nei quattro campi scout ai quattro timepoint di campionamento (T1 e T2: campionamenti effettuati prima del campo; T3: termine del campo; T4: follow-up dopo il rientro), riportati separatamente per ciascun campo. A destra, distribuzione dell'indice di Shannon nei bambini partecipanti all'intervento presso le fattorie didattiche, confrontando il campionamento pre-intervento (T1) e post-intervento (T2).

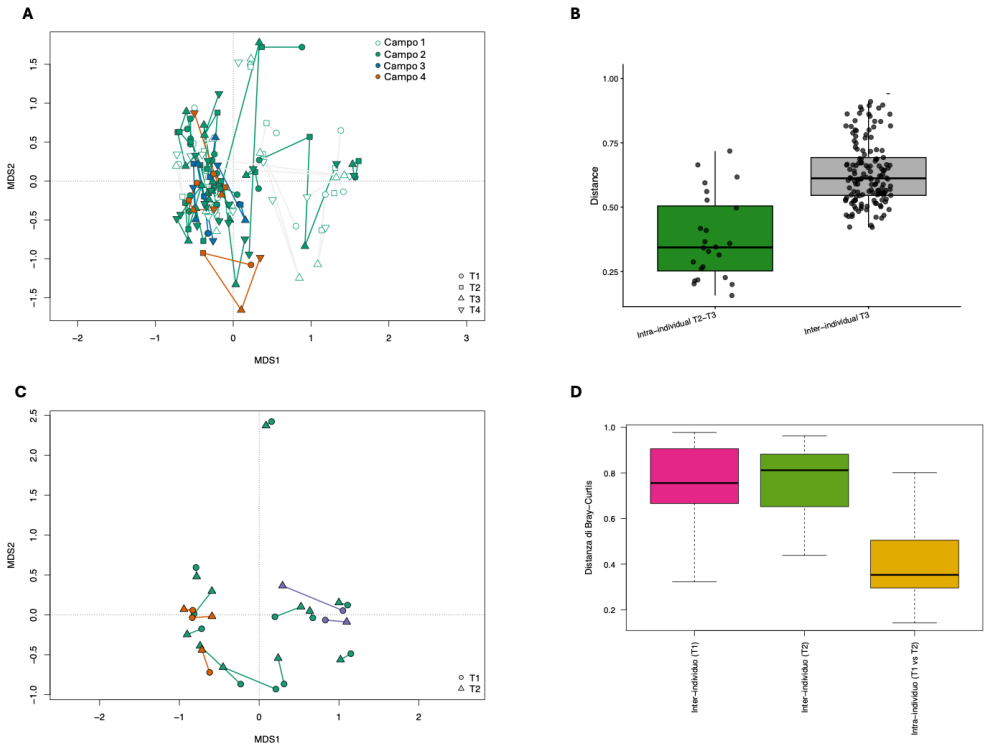


Figura 5. Traiettorie di cambiamento del microbioma intestinale evidenziate mediante analisi di beta diversity (Bray–Curtis). (A) PCoA dei campioni appartenenti ai quattro campi scout. I punti rappresentano i singoli campioni, mentre le linee collegano longitudinalmente i campioni appartenenti allo stesso individuo, evidenziando le traiettorie di cambiamento del microbioma durante il periodo di osservazione. Il colore differente evidenzia i campi scout diversi. **(B)** Confronto tra le distanze intra-individuali e inter-individuali nella coorte scout al termine dell'intervento. Le distanze tra campioni appartenenti allo stesso individuo risultano significativamente inferiori rispetto alle distanze tra individui differenti (Wilcoxon test, $P < 0,001$). **(C)** PCoA della coorte dei bambini partecipanti all'intervento presso le fattorie didattiche, con le traiettorie longitudinali dei singoli partecipanti. Anche in questo caso il microbioma segue traiettorie di cambiamento prevalentemente individuo-specifiche, senza una convergenza verso un unico profilo microbico condiviso. Pallini di colore diverso identificano bambini che hanno partecipato alle fattorie didattiche in periodi diversi **(D)** Confronto tra le distanze intra-individuali e inter-individuali nella coorte delle fattorie didattiche. Analogamente a quanto osservato nella coorte scout, le distanze intra-individuali risultano significativamente inferiori rispetto alle distanze inter-individuali (Wilcoxon test tra valori inter e intra, $P < 0,001$).

Rimodellamento tassonomico del microbioma intestinale in risposta agli ecosistemi naturali

Sebbene le analisi di beta diversity abbiano evidenziato che il microbioma intestinale di ciascun partecipante evolve lungo traiettorie prevalentemente individuo-specifiche, è stato successivamente valutato se l'interazione con gli ecosistemi naturali fosse comunque associata a modificazioni tassonomiche condivise tra i partecipanti.

A questo scopo è stata applicata un'analisi di associazione mediante MaAsLin2 (Mallick et al., 2021), confrontando, per ciascun taxon, il cambiamento osservato durante l'intervento con la normale variabilità individuale misurata nel periodo basale. Questo approccio ha consentito di identificare i microrganismi che mostrano una risposta sistematica all'esposizione agli ecosistemi naturali, indipendentemente dalla marcata componente individuo-specifica osservata nelle analisi ecologiche.

Nei campi scout (**Figura 6A**) sono risultati significativamente arricchiti durante il periodo di esposizione alla natura i generi *Bifidobacterium*, *Collinsella*, *Streptococcus* e *Anaerotignum*, mentre i generi *Blautia*, *Dorea*, *Dialister* e *Clostridium* hanno mostrato una riduzione relativa rispetto alla configurazione iniziale.

Nella coorte delle fattorie didattiche (**Figura 6B**) l'analisi differenziale è stata effettuata direttamente sulle abbondanze perché sono stati raccolti solo due campioni (uno pre e uno post), e non si è quindi valutata la variabilità basale del microbiota pre-intervento. L'analisi ha evidenziato un rimodellamento tassonomico selettivo. In particolare, sono aumentate le abbondanze relative di *Bacteroides uniformis*, *Brotolimicola acetigignens*, *Faecalibacterium prausnitzii* e dello *species-level genome bin GGB9715_SGB15265*,

mentre sono diminuite le specie *Bifidobacterium adolescentis*, *Rothia mucilaginosa* e *Intestinibacter bartlettii*.
Complessivamente, questi risultati indicano che, pur mantenendo una forte componente individuo-specifica nella risposta complessiva del microbioma, l'interazione con gli ecosistemi naturali determina anche modificazioni tassonomiche condivise tra i partecipanti, suggerendo l'esistenza di una risposta biologica comune all'esposizione ai microbiomi ambientali.

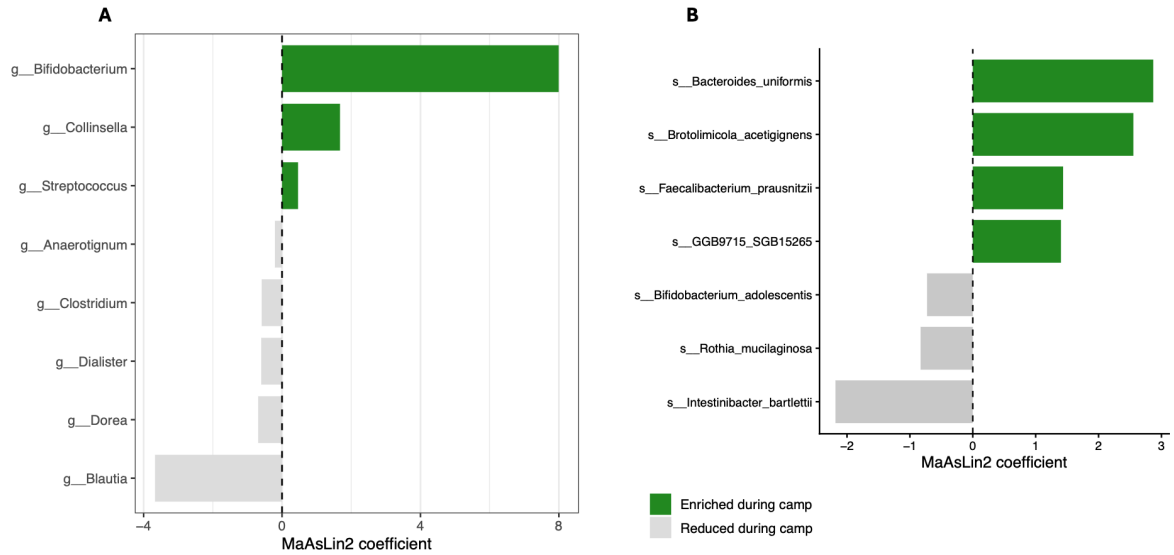


Figura 6. Taxa differenzialmente abbondanti in risposta all'esposizione agli ecosistemi naturali identificati mediante MaAsLin2. (A) Analisi differenziale condotta nella coorte dei campi scout confrontando il cambiamento osservato durante il campo (T3–T2) con la normale variabilità del periodo basale (T2–T1). I coefficienti positivi identificano i taxa arricchiti durante il campo, mentre i coefficienti negativi indicano i taxa ridotti rispetto alla configurazione iniziale. **(B)** Analisi differenziale nella coorte dei bambini partecipanti alle fattorie didattiche, confrontando i campionamenti pre- e post-intervento (T1 vs T2). I coefficienti di MaAsLin2 rappresentano la direzione e l'entità dell'associazione tra intervento e abbondanza relativa dei taxa significativamente associati all'esposizione agli ecosistemi naturali.

Sintesi del risultato principale 2
Nel complesso, i due interventi sperimentali, pur differendo per modalità di esposizione agli ecosistemi naturali, hanno evidenziato risultati ampiamente convergenti. In entrambe le coorti l'interazione con la natura non ha determinato un incremento generalizzato della biodiversità del microbioma intestinale, ma ha promosso un rimodellamento ecologico caratterizzato da traiettorie di cambiamento individuo-specifiche e dall'emergere di modificazioni tassonomiche condivise tra i partecipanti. Questi risultati indicano che il rewilding del microbioma non consiste in una semplice convergenza verso un nuovo stato microbico comune, bensì in una modulazione

personalizzata dell'ecosistema intestinale, accompagnata da una risposta biologica conservata verso specifici gruppi microbici.
L'analisi comparativa dei microbiomi dei cavalli e dei bambini non ha inoltre fornito evidenze di un trasferimento diretto e persistente di microrganismi dal cavallo all'uomo, suggerendo che gli effetti osservati siano più probabilmente riconducibili a una riorganizzazione ecologica del microbioma intestinale piuttosto che alla semplice acquisizione di taxa provenienti dall'animale.
Infine, il confronto tra i due modelli sperimentali suggerisce che le modificazioni alimentari introdotte durante i campi scout non rappresentino il principale fattore responsabile dei cambiamenti osservati nel microbioma intestinale. Infatti, risultati qualitativamente analoghi sono stati osservati anche nella coorte delle fattorie didattiche, nella quale la dieta dei partecipanti è rimasta sostanzialmente invariata per tutta la durata dello studio. Tale concordanza rafforza l'ipotesi che il principale determinante delle modificazioni osservate sia rappresentato dall'interazione con gli ecosistemi naturali e i relativi microbiomi.

Risultato principale 3
Definizione di un modello concettuale per il rewilding personalizzato del microbioma intestinale

Attività svolte
I risultati ottenuti nei due modelli sperimentali sono stati integrati per individuare i principali determinanti della risposta del microbioma intestinale all'esposizione agli ecosistemi naturali e per definire le basi di un futuro modello di rewilding personalizzato.
L'analisi congiunta delle due coorti ha evidenziato come il microbioma intestinale risponda all'interazione con gli ecosistemi naturali secondo un paradigma comune, indipendentemente dalla modalità di esposizione (campi scout o fattorie didattiche). In particolare, entrambe le esperienze determinano un rimodellamento ecologico del microbioma senza alterarne la biodiversità complessiva, mantenendo una forte componente individuo-specifica e accompagnandosi a modificazioni condivise di specifici taxa microbici.
Sebbene i taxa differenzialmente abbondanti non coincidano completamente nei due interventi, emerge un principio ecologico comune. In entrambe le coorti l'esposizione agli ecosistemi naturali è associata alla contrazione selettiva di alcuni componenti del microbioma di partenza (*Blautia, Dorea, Dialister* e *Clostridium* nei campi scout; *Bifidobacterium adolescentis, Rothia mucilaginosa* e *Intestinibacter bartlettii* nelle fattorie didattiche) e alla contestuale espansione di altri gruppi microbici (*Bifidobacterium, Collinsella, Streptococcus* e *Anaerotignum* nei campi scout; *Bacteroides uniformis, Brotolimicola acetigignens, Faecalibacterium prausnitzii* e *GGB9715_SGB15265* nelle fattorie didattiche), senza variazioni significative della biodiversità complessiva. Questo andamento è compatibile con una riorganizzazione

delle nicchie ecologiche e delle reti metaboliche intestinali, piuttosto che con una semplice acquisizione di nuovi microrganismi. In particolare, l'espansione di taxa coinvolti nella degradazione dei carboidrati complessi e nella produzione di acidi grassi a corta catena (*Bacteroides uniformis, Faecalibacterium prausnitzii, Bifidobacterium* e *Collinsella*) suggerisce un possibile rimodellamento funzionale dell'ecosistema.

Nel loro insieme, questi risultati indicano inoltre che differenti modalità di esposizione agli ecosistemi naturali sono associate a differenti endpoint microbiologici. Pur condividendo lo stesso principio ecologico generale, i due interventi determinano infatti la modulazione di gruppi tassonomici in parte distinti, suggerendo che la risposta del microbioma non dipenda esclusivamente dalla configurazione iniziale del singolo individuo, ma anche dalla tipologia di interazione con l'ambiente naturale. In altre parole, il microbioma di partenza definisce il potenziale di risposta dell'individuo, mentre il tipo di esposizione (ad esempio campeggio in ambiente forestale, interazione continuativa con animali, e in futuro potenzialmente esposizione ad ambienti marini, attività escursionistiche o altre tipologie di ecosistemi naturali) potrebbe orientare tale risposta verso specifici endpoint tassonomici e funzionali.

L'assenza di evidenze di un trasferimento stabile di microrganismi dal microbioma dei cavalli a quello dei bambini, unitamente all'osservazione che risultati qualitativamente analoghi sono stati ottenuti anche nei campi scout, nonostante la diversa organizzazione alimentare, suggerisce che la risposta osservata sia principalmente mediata dall'interazione complessiva con gli ecosistemi naturali piuttosto che da singoli fattori specifici, quali il trasferimento diretto di microrganismi o la variazione della dieta.

Queste osservazioni hanno consentito di definire un primo modello concettuale del processo di rewilding del microbioma intestinale (**Figura 7**), secondo il quale l'esposizione continuativa agli ecosistemi naturali agisce come stimolo ecologico capace di modulare il microbioma preservandone l'identità individuale e favorendo il rimodellamento di specifici gruppi microbici associati a uno stato di eubiosi.

I risultati ottenuti rappresentano pertanto la base scientifica per lo sviluppo di futuri modelli predittivi finalizzati alla prescrizione personalizzata di interventi di rewilding. In tale prospettiva, la caratterizzazione del microbioma intestinale di partenza, integrata con la conoscenza degli effetti esercitati da differenti modalità di esposizione agli ecosistemi naturali, potrà consentire di identificare gli interventi maggiormente idonei a promuovere specifici cambiamenti del microbioma. L'ampliamento della casistica e l'inclusione di ulteriori tipologie di esperienze in natura (quali ecosistemi marini, attività escursionistiche o altri contesti ambientali) permetteranno di aumentare la potenza statistica del modello e di sviluppare, in futuro, un approccio di "prescrizione ecologica personalizzata", nel quale il tipo di esperienza naturale potrà essere selezionato in funzione del microbioma iniziale e dei gruppi microbici o delle funzioni ecologiche che si desidera stimolare. La validazione di tale approccio richiederà studi prospettici su coorti indipendenti e di maggiore numerosità.



Figure 7. Il modello concettuale di rewilding del microbioma intestinale in età pediatrica. (1) Ogni bambino presenta una composizione microbica iniziale unica. **(2)** L'esposizione intensa e continuativa agli ecosistemi naturali è stata realizzata attraverso due interventi differenti: campi scout e fattorie didattiche con cavalli, che differiscono per ambiente, attività e dieta. **(3)** Il microbioma risponde secondo traiettorie di cambiamento fortemente individuo-specifiche, ma con segnali comuni, mantenendo stabile la biodiversità complessiva e rimodellando specifici gruppi microbici. Sono riportati esempi di taxa che aumentano o diminuiscono nei due interventi. **(4)** Le evidenze chiave indicano che gli effetti osservati non sono dovuti al trasferimento stabile di microrganismi dal cavallo né principalmente alla dieta, ma all'interazione complessiva con gli ecosistemi naturali e i relativi microbiomi. **(5)** Il modello costituisce la base per strategie di rewilding personalizzato, che utilizzano il microbioma di partenza per identificare l'approccio più efficace per ciascun individuo. **(6)** La validazione del modello richiederà studi prospettici su coorti indipendenti e numerose.

Bibliografia

Blanco-Míguez A, Beghini F, Cumbo F, McIver LJ, Thompson KN, Zolfo M, Manghi P, Dubois L, Huang KD, Thomas AM, Nickols WA, Piccinno G, Piperni E, Punčochář M, Valles-Colomer M, Tett A, Giordano F, Davies R, Wolf J, Berry SE, Spector TD, Franzosa EA, Pasolli E, Asnicar F, Huttenhower C, Segata N. Extending and improving metagenomic taxonomic profiling with uncharacterized species using MetaPhlAn 4. Nat Biotechnol. 2023 Nov;41(11):1633-1644. doi: 10.1038/s41587-023-01688-w.

Mallick H, Rahnavard A, McIver LJ, et al. Multivariable association discovery in population-scale meta-omics studies. PLoS Comput Biol. 2021;17(11):e1009442. Published 2021 Nov 16. doi:10.1371/journal.pcbi.1009442

Rampelli S, Gallois S, D'Amico F, Turroni S, Fabbrini M, Scicchitano D, Candela M, Henry A. The gut microbiome of Baka forager-horticulturalists from Cameroon is optimized for wild plant foods. iScience. 2024 Feb 10;27(3):109211. doi: 10.1016/j.isci.2024.109211.