

2024

6TH
**SKIN
MICROBIOME &
Cosmeceuticals
CONGRESS
EUROPE**

Presented by



 clorofilla



Dott. Marco Pignatti

Direttore Ambulatorio di Dermobiotica
Istituto Dermoclinico Vita Cutis – Milano

Contenuti

Key points del congresso	03
Quali novità sui test del microbiota cutaneo?	04
Studiare anche il viroma	06
Quali novità sui meccanismi patogenetici?	07
L'influenza reciproca tra batteri	08
Quali novità sull'Acne?	10
Quali novità sulla Dermatite Atopica?	14
Quali novità sulla Psoriasi?	18
Quali novità sul wound healing?	18
Quali novità sull'antiaging?	21
Quali novità sui cosmetici "microbiome friendly"?	21
Appendice – Batteri: cosa dicono di noi?	27

Key points del congresso

Il 23 e 24 aprile si è tenuto al Postillion Hotel di The Hague il 6th Congresso Europeo su Skin Microbiome & Cosmeceuticals, organizzato da Global Engage.

Ricercatori, biologi, medici di tutto il mondo interessati al microbiota, si sono incontrati e hanno mostrato e discusso le più importanti novità in materia.

Gli ambiti più discussi sono stati

- **Il testing del microbiota cutaneo**
- **Meccanismi patogenetici**
- **Acne**
- **Dermatite atopica**
- **Cosmesi Microbiome Friendly**
- **Antiaging**

Nella PANEL DISCUSSION alla conclusione dei lavori di martedì pomeriggio, hanno partecipato **GEOFF BRIGGS** (Technology Scout – Beauty Incubator, No7 Beauty Company, Member of Walgreens Boots Alliance), **PETER LERSCH**

(Vice President Growth Fields, Evonik), **DAN BROWNELL** (Senior Director of Research and Development, AOBiome Therapeutics) e **MARIE DRAGO** Chief Creative Officer, Gallinée.

Il tema era “Updates and future directions of Skin Microbiome research • Developing the next generation of microbiome skincare”.

Alla domanda chiave “perché dobbiamo considerare lo skin microbiota?” **DAN BROWNELL** ha risposto senza lasciare possibilità di replica “**Because it's the skin**”. Questo è lo spirito che ha permeato l'intero convegno: abbiamo scoperto una componente fondamentale della nostra pelle e non possiamo più far finta che non ci sia!

Il secondo messaggio importante è stato che ancora non sappiamo definire bene cosa sia sano (bilanciato), ma sappiamo abbastanza bene cosa sia malato (sbilanciato).

Quali novità sui test del microbiota cutaneo?

Durante il congresso si è parlato molto delle **metodiche di misurazione del microbioma** in generale e di quello cutaneo in particolare.

Le attuali metodiche di profilazione del microbioma cutaneo hanno alcuni importanti limiti. In particolare, il sequenziamento degli ampliconi (16S) ha il limite della risoluzione a livello di genere e non di specie o ceppo, mentre il sequenziamento metagenomico con tecnica **Shotgun**, che supera questo limite, ha quello di includere il DNA dell'ospite (fino al 90%) e di essere molto costoso. Entrambi poi richiedono tempi molto lunghi di elaborazione, nell'ordine delle settimane.

ANA FINZEL (Senior Scientific Manager di Bio-Me), ha presentato un nuovo sistema chiamato **Precision Microbiome Profiling (PMP™)**, che si propone di superare i limiti attuali delle analisi del microbiota cutaneo. La loro piattaforma si basa su una metodica

qPCR che permette di identificare, su di un pannello OpenArray, 50 e più taxa di interesse a livello di specie e di ceppo, selezionati tra quelli conosciuti più rappresentati e più importanti, compresi anche funghi e acari, senza essere influenzata dal DNA dell'ospite e fornendo risultati nel giro di 2-5 giorni. Tra gli altri vantaggi della metodica ci sarebbe la **semplicità dei dati di output** che non richiedono nessuna analisi bioinformatica, con una conseguente riduzione del costo del test.

Successivamente, **DAVID GANGITANO** (Chief Scientific Officer, First and Last Project SL, Eres Piel), ha poi presentato alcuni dati relativi alle differenze misurate con questo test tra il microbiota cutaneo di pazienti di diverse classi di età, di zone con diversa quantità di sebo, e ha dimostrato come il successivo sviluppo di algoritmi basati sul machine learning ha poi permesso di fare previsioni, basate sul test, con una notevole accuratezza.

Anche **OLIVER WORSLEY** (CEO & Co-Founder, Sequential), è tornato sul tema dei test nella sua presentazione dal titolo “The Future of Skin Microbiome Testing: Insights, Advancements, Approaches”. La sua company ha sviluppato una metodica per raccogliere campioni di microbiota cutaneo con uno skin patch che promette di essere molto superiore alla tecnica con tampone (swab). Hanno poi sviluppato uno **Smart Probe™**, un pannello di 20 microrganismi selezionati per il loro impatto sulla salute ed identificati a livello di specie, sub-specie e ceppo.

Ha poi mostrato che **il microbiota vulvare è molto diverso da quello vaginale**, e molto più simile a quello cutaneo, e che uno shift da CST IV a CST I favorisce un ecosistema più protettivo.

Anche **MICHELLE DARGATZ** (Scientist Research, Development & Innovation, Division Nutrition & Care, Evonik Operations GmbH) nella sua presentazione dal titolo “Towards skin microbiome friendliness: Improved testing method of cosmetic products with innovative microbiome community models” ha sottolineato i **limiti delle attuali metodiche** quando si vogliono studiare le complesse interazioni che avvengono nei sistemi microbici, è impossibile infatti studiarli in vitro e

gli studi in vivo sono troppo costosi.

Il loro gruppo propone, come soluzione a questo problema, un altro sistema basato sulla PCR partendo dalla selezione, attraverso studi di sequenziamento, dei generi più frequenti ed importanti nelle diverse nicchie del microbiota cutaneo (secca, umida, grassa e plantare).

Hanno così ottenuto una comunità diversificata, stabile e riproducibile con la quale hanno iniziato a testare diversi nuovi possibili componenti di cosmetici. Il suo gruppo ha elaborato un sistema basato su PCR, con il quale hanno iniziato a testare diversi nuovi possibili componenti di cosmetici.

Il loro test prevede di **misurare l'effetto dei composti sulla crescita totale della comunità batterica**, misurato attraverso il monitoraggio del consumo di ossigeno, del pH, della torbidità e della densità ottica della biomassa finale e sulla diversità microbica misurata attraverso l'estrazione del DNA e il sequenziamento con tecnica 16S rRNA.

La prospettiva futura delle loro ricerche prevede di incorporare il tessuto dell'ospite nei modelli microbici per esplorare ancora meglio l'interattoma cutaneo.

Studiare anche il viroma

Quella di **BJÖRN ANDERSSON** (Professor, Department of Cell and Molecular Biology Karolinska Institutet) dal titolo "The skin virus microbiome and disease; results from the MAARS cohort" è stata una delle poche relazioni in cui si è parlato anche di viroma. Nella parte introduttiva ha spiegato alcune **peculiarità dei virus rispetto ai batteri**, come la capacità di avere interazioni inter-regno, passando dagli animali all'uomo, e di riuscire a modificare la genetica dell'ospite. Ha spiegato che i virus non costituiscono una comunità: si comportano in modo molto diverso gli uni dagli altri, molti sono transienti, ma alcuni possono cronicizzare. Alcune di queste caratteristiche rendono più complicato studiare il viroma rispetto al microbioma.

Studiare il viroma prevede l'organizzazione e il filtro dei dati, al fine di:

- rimuovere la notevole quantità di contaminanti umani e ambientali,
- rimuovere i fagi e i virus con abbondanza molto bassa.

Occorre quindi focalizzarsi sui virus umani conosciuti, idealmente raccolti in tempi diversi, usare un RT-step per i virus a RNA e successivamente

validare i dati con la PCR. Alla fine di questo lavoro di filtraggio dei dati rimangono alcune classi di virus che comprendono:

- **Papillomavirus**
- **Herpesvirus**
- **Poxvirus (Molluscum contagiosum)**
- **Picornavirus (enterovirus)**
- **Polyomavirus**
- **Altri virus rari e/o sconosciuti**

Queste analisi sono state inserite nei lavori pubblicati negli anni nell'ambito del **progetto MAARS** (Microbes in Allergy and Autoimmune Related to the Skin) di cui sono state presentate alcune sintesi. In particolare, sembra che l'espressione di alcuni virus sia aumentata nella psoriasi mentre quella di altri sia ridotta nella DA.

Quali novità sui meccanismi patogenetici?

AHMAD KHODR (Head of the Microbiology Innovation Lab, L'Oréal R&I), nella sua relazione "physicochemical and molecular characterization of the adhesion mechanisms of cutaneous bacteria." si è focalizzato sui **meccanismi di adesione dei batteri alla superficie cutanea**. La modulazione di questi meccanismi potrebbe rappresentare una nuova strategia per inibire l'adesione e la patogenicità dei batteri. Episkin ha sviluppato un modello 3D chiamato **D-13 model**, che permette di studiare l'adesione dei batteri evitando gli esperimenti sugli animali. **L'affinità dipende in buona parte dalla idrofilia e idrofobia**: *S. aureus* è il più idrofobico e questo gli permetterebbe una maggior adesione alla cute.

Altri parametri importanti sono il **pH e la capacità di donare/ricevere elettroni**. Sono state testate poi diverse formulazioni topiche per la loro capacità di modulare queste proprietà fisico-chimiche di superficie dei batteri.

In particolare, ad esempio, i Ramnolipidi, glicopeptidi prodotti da *P. aeruginosa*, hanno dimostrato di possedere un effetto anti-adesione su *S. Aureus*. Sembra invece che sia minima la modulazione dei geni coinvolti. Questo approccio apre **nuove prospettive nel superamento delle terapie antibiotiche**.

Anche **BENJAMIN AL** Global Innovation Manager Life Sciences di Beiersdorf AG nella sua relazione "Skin Microbiome in Health and Disease" ha parlato delle **caratteristiche della pelle che influenzano la crescita di *S. epidermidis* e *C. acnes***, con particolare riferimento a idratazione e contenuto di sebo. Ad esempio, *C. acnes* si trova principalmente nelle zone di pelle grassa come il viso e il dorso, mentre gli stafilococchi sono più presenti nelle zone umide come le pieghe degli arti. Ha poi sottolineato che le influenze esercitate sono specifiche a seconda del filotipo (ceppo) e non comuni alla medesima specie.

L'influenza reciproca tra batteri

Nell'ambito dei meccanismi patogenetici, uno dei temi ricorrenti è stato l'importanza di studiare i batteri in sistemi complessi in quanto le loro reciproche influenze sono fondamentali in vivo.

Sempre **BENJAMIN AL**, per esempio, ha mostrato che esperimenti di co-coltura con centinaia di diversi ceppi di stafilococco hanno identificato **30 ceppi che presentavano una attività anti *C. acnes***. In particolare, ci sono ceppi stafilococcici che escludono selettivamente i ceppi di *C. acnes* associati all'acne (ad esempio IA1) mentre coesistono con i filotipi associati alla pelle sana (ad esempio i K, filotipo II). Questa regolazione avverrebbe attraverso la modulazione dell'attività antimicrobica. Ci sono poi ceppi di stafilococco, come *S. capitis* che sembrano inibire il ceppo K (filotipo II) di *C. acnes*, cosa che potrebbe favorire la prevalenza di ceppi favorevoli all'acne. Allo stesso modo, alcuni specifici ceppi di *C. acnes* sono in grado di inibire l'attività antibatterica di *S. epidermidis*.

S. epidermidis può ridurre la colonizzazione da parte di *S. aureus* attraverso la produzione di AIPs (auto-inducing peptides) che bloccano il quorum sensing e di 6-HAP (6-N-idrossiaminopurina) che inibisce la sintesi di purine. Un particolare ceppo di *S. epidermidis* HAF242 si è dimostrato in grado di inibire la crescita di un ceppo di *C. acnes* DSM1897 (di classe A) senza interferire con *C. acnes* 30.2.L1 (di classe D), ma nel contempo è stata anche dimostrata la diversa influenza della co-coltura con questi due ceppi sulla regolazione di geni di *S. epidermidis* (*epiA*, *psmβ1-3* e *agrD*) coinvolti nel quorum sensing di *S. aureus*.

MICHELLE DARGATZ (Scientist Research, Development & Innovation, Division Nutrition & Care, Evonik Operations GmbH) nella sua presentazione dal titolo "Towards skin microbiome friendliness: Improved testing method of cosmetic products with innovative microbiome community models" ha parlato delle complesse **relazioni tra microbi all'interno del microbiota cutaneo** delineando queste principali 4 modalità di interazioni:

1

Competizione... per spazio e nutrienti

2 Sinergismo, che consiste nel favorire la crescita di un altro membro, ad esempio attraverso meccanismi di cross-feeding

3 Antagonismo, attraverso la produzione di sostanze inibitorie come le batteriocine e gli acidi grassi a corta catena (SCFA)

4 Interruzione del cross-talk per interferenze nel quorum sensing

Lo scopo delle loro ricerche è trovare un sistema per studiare queste complesse interazioni in quanto non è possibile studiarle in vitro e come anticipato, gli studi in vivo sono troppo costosi.

KIM HARDIE (Professor in Bacterial Pathogenesis, University of Nottingham & Co-Investigator, National Biofilms Innovation Centre), nella sua relazione dal titolo "Commensal bacteria protect skin cells from the pathogens *Pseudomonas aeruginosa* and *Staphylococcus aureus*" ha introdotto il concetto della possibile azione cooperativa o competitiva di *S. aureus* nelle infezioni polimicrobiche, in particolare quelle caratterizzate da biofilm dove i batteri coesistono.

Quali novità sull'Acne?

Una delle patologie più studiate a livello del microbiota cutaneo è senza dubbio l'acne. Negli studi su questa patologia si è rivelato estremamente importante comprendere **l'influenza reciproca tra i batteri e l'influenza delle caratteristiche fisico-chimiche della pelle sulla loro proliferazione.**

BENJAMIN AL, Global Innovation Manager Life Sciences di Beiersdorf AG nella sua relazione Skin Microbiome in Health and Disease ha parlato della reciproca influenza tra batteri commensali nella patogenesi dell'acne (*vedi sezione "L'influenza reciproca tra batteri"*).

SIMONA BEFI, (Head of R&D, S-Biomedic), ha parlato di acne nella sua presentazione dal titolo "Cutibacterium acnes, pioneering probiotics potential for skin health" e ha mostrato come l'evoluzione del trattamento sia pian piano evoluta dall'uccidere indistintamente tutti i batteri compresi quelli benefici, al tentativo di applicare batteri, vivi o morti, senza considerare che non sono quelli necessari alla cute ad un approccio di precisione che utilizzi

dei ceppi vitali appartenenti al microbiota cutaneo con specifiche funzioni benefiche.

HOLGER BRÜGGEMANN (Associate Professor, Department of Biomedicine, Aarhus University, Denmark), ha parlato nella sua relazione dal titolo "Skin microbiome interferences and the potential exploitation for acne treatment" di disbiosi cutanea, dell'effetto dell'isotretinoina e del forte impatto degli Stafilococchi nella patogenesi della malattia.

In uno studio su 35 pazienti acneici, che non avessero fatto trattamenti antibiotici negli ultimi 6 mesi, sottoposti a tampone cutaneo, hanno misurato la quantità e l'abbondanza relativa delle popolazioni di *C. acnes* e Stafilococchi evidenziando una lieve riduzione dei primi ed un significativo aumento relativo dei secondi. Con la tecnica SLTS (single-locus sequence typing) è possibile distinguere 10 classi di *C. acnes* che corrispondono ai filotipi, le classi A-E al filotipo IA1, la F al filotipo IA2, la H al filotipo filotipo IB, la G al filotipo IC,

la K al filotipo II (*C. acnes* susp. defensans) e la L al filotipo III (*C. acnes* subsp. elongatum).

Andando quindi a ri-analizzare i dati a livello di filotipo, è emerso che a livello di *C. acnes* si ha una riduzione significativa delle classi H, K ed L (filotipi II e III) ed un incremento relativo ma non significativo delle classi A, C, E ed F (filotipo I).

La riduzione di *C. acnes* risulta più evidente a livello della guancia mentre la ridotta alpha-diversity di *C. acnes* risulta maggiore a livello della cute del dorso.

Analizzando invece le sette principali specie di Stafilococchi risulta una riduzione significativa di *S. hominis* e *S. warneri* a fronte di un aumento relativo, ma non significativo, di *S. epidermidis* e *S. aureus*. Gli Stafilococchi in generale non sono ridotti come numero mentre anche per loro la riduzione dell'alpha-diversity risulta maggiore a livello della cute del dorso.

Quello che cambia in modo significativo è il rapporto tra *C. acnes* e Stafilococchi che passa da 34:1 nei soggetti sani a 11:1 nei soggetti con acne.

L'isotretinoina modula questa disbiosi causando una leggera riduzione degli Stafilococchi, ma aumentandone drasticamente la diversità attraverso una riduzione relativa significativa di *S. epidermidis* e un aumento relativo significativo di *S. aureus*. Al contempo esaurisce drasticamente *C. acnes* riducendo ulteriormente il rapporto *C. acnes* / Stafilococchi da 11:1 a 1:1. Isotretinoina modula quindi il microbiota riducendo *C. acnes* danneggiando però anche *S. epidermidis* e favorendo la crescita di *S. aureus*, che potrebbe essere pericoloso. Bisogna quindi considerare delle strategie post-isotretinoina per ripristinare il microbioma cutaneo.

È stata quindi esaminata la possibilità di selezionare ed applicare sulla cute ceppi benefici di *S. epidermidis* in particolare che siano in grado di ridurre la colonizzazione da parte di *S. aureus*. Tramite analisi genomica sono stati distinti i ceppi di *S. epidermidis* associati da quelli non associati a patologia. Successivamente quelli isolati dalla cute sana sono stati testati per la loro attività antimicrobica nei confronti di *C. acnes* e *S. aureus* dimostrando che circa il 5% dei ceppi possiede una attività specifica. Alcuni di questi poi hanno una attività di inibizione selettiva su alcuni ceppi (patogeni)

di *C. acnes* senza interferire con gli altri (benefici). Infine, sono state studiate le batteriocine prodotte da questi ceppi scoprendo che solo tre di questi producono batteriocine già note, mentre tutti producono batteriocine ancora sconosciute. È stato quindi isolato un ceppo di *S. epidermidis* HAF242 in grado di inibire la crescita di un ceppo di *C. acnes* DSM1897 (di classe A) senza interferire con *C. acnes* 30.2.L1 (di classe D) ed è stata anche dimostrata la diversa influenza della co-coltura con questi due ceppi sulla regolazione di geni di *S. epidermidis* coinvolti nel quorum sensing. L'ipotesi è quindi che i *C. acnes* di classe D siano in grado di inibire il sistema AgrQs di *S. epidermidis* e la sua attività anti *C. acnes* arrivando ad una situazione di "tolleranza" che invece la classe A non raggiunge.

L'ultimo step dello studio ha dimostrato che dopo l'applicazione topica di specifici ceppi di *S. epidermidis* (SE1) con attività anti *S. aureus* e anti *C. acnes* di classe A, la persistenza (ma solo del DNA, che non dimostra la vitalità) dopo 7 e 30 giorni era ancora elevata e la carica di *S. aureus* diminuita. È stato invece dimostrato uno scarso impatto su *C. acnes* forse per la diversa nicchia cutanea in cui i due batteri proliferano maggiormente.

DAN BROWNELL (Senior Director of Research and Development, AOBiome Therapeutics), nella relazione dal titolo "B244 Utilizes Multiple Mechanisms of Action to Treat Atopic Dermatitis, a Multifactorial Disease" incentrata sulle caratteristiche di questo singolo ceppo di batteri ossidanti l'ammoniaca, ha parlato di DA e anche di acne. Sono stati illustrati **studi in vitro e in vivo che hanno dimostrato che gli AOB sono molto efficaci nel ridurre la proliferazione di *C. acnes***, probabilmente anche tramite una forte riduzione della produzione di sebo, e studi clinici di fase 2b che hanno dimostrato una **riduzione significativa dello score IGA e della conta di lesioni infiammatorie a 12 settimane**.

Tale significatività rimane elevata non solo nei confronti del pre-trattamento o del placebo, ma anche nei trials che la paragonano ad alcuni prodotti di riferimento (come adapalene) rispetto ai quali gli AOB mostrano sempre una migliore tollerabilità e l'assenza di effetti collaterali.

B244 potrebbe quindi rispondere ad alcuni bisogni ancora insoddisfatti dalle terapie attuali che causano spesso secchezza o bruciore, che non possono essere utilizzate per lunghi periodi o che hanno effetti collaterali anche sistemici.

Un poster di **SynBalance** ha mostrato i benefici di un probiotico orale contenente *Lactiplantibacillus plantarum* PBS067, *Limosilactobacillus reuteri* PBS072 e *Lacticaseibacillus rhamnosus* LRH020 somministrato per 8 settimane a pazienti tra i 18 e i 50 anni con acne lieve-moderata. Lo studio ha dimostrato miglioramento nell'idratazione cutanea, nella produzione del sebo e nei valori di pH coerenti con la riduzione delle lesioni non infiammatorie nel gruppo trattato rispetto al placebo. Miglioramento ancora maggiore a T70 cioè dopo 2 settimane dall'interruzione del trattamento.

Un poster di **SynFlora** ha mostrato i dati relativi alla ingegnerizzazione di *C. acnes* per produrre e secernere in vivo una molecola terapeutica, la Neutrophil Gelatinase-Associated Lipocalin (NGAL), in grado di modulare la produzione di sebo.

Quali novità sulla Dermatite Atopica?

Una delle patologie di cui si è più parlato durante il congresso è stata la dermatite atopica, della quale è stato sottolineato che, soprattutto durante le riacutizzazioni, si osserva una generale perdita di diversità microbica caratterizzata da un aumento di *S. aureus* e *S. epidermidis* e una riduzione di *S. hominis*. Particolare attenzione è stata posta sul ruolo di *S. aureus* che sempre più si rivela il “motore” dell’infiammazione nella DA attraverso numerosi meccanismi tra cui la produzione di tossine e proteasi.

BENJAMIN AL (Global Innovation Manager Life Sciences di Beiersdorf AG), nella sua relazione “Skin Microbiome in Health and Disease” ha parlato di relazione tra diversi batteri commensali nella DA. Anche nella DA, come già dimostrato nell’acne, sembra però sempre più evidente che sia necessario studiare l’attività dei batteri e le loro influenze reciproche a livello di ceppo e non solo di specie. La prevalenza di ceppi specifici di *S. aureus* sembra essere associata alle riacutizzazioni dell’eczema.

Questa specificità potrebbe essere legata alla presenza e al ruolo di particolari enterotossine (A e B) e proteasi stafilococciche come importanti fattori di virulenza.

CATHERINE O’NEIL, Professor of Translational Dermatology University of Manchester, nella sua relazione dal titolo “Mining the skin microbiome for new approaches to the management of Atopic dermatitis” ha sottolineato come l’eliminazione di *S. aureus* sia uno dei goal più importanti del trattamento della DA ma come la terapia antibiotica tradizionale inizi a mostrare molti limiti.

In particolare sono molto alti i tassi di re-infezione che arrivano al 40% dei pazienti dopo 3 mesi e al 50% dopo 6. **Una delle cause di resistenza agli antibiotici da parte di *S. aureus* è la sua capacità di penetrare all’interno dei cheratinociti umani (senza danneggiarli), dove solo la rifampicina è in grado di penetrare e svolgere la sua azione.** Siamo di fronte ad un bisogno insoddisfatto importante nella terapia di questa patologia!

Studiando i meccanismi con cui *S. aureus* attiva l'infiammazione è emerso che è l'unico tipo di Stafilococco in grado di indurre un rapido rilascio di IL-33 costitutiva dai cheratinociti umani, indipendentemente dalla via del recettore Toll-like, attivando quindi una risposta Th2 in assenza di infezione. Questa proprietà deriva soprattutto dalla produzione e rilascio della proteina Sbi (second immunoglobulin-binding protein) e dalla conseguente riduzione della produzione di corneodesmosina, un componente dei corneodesmosomi che formano le principali strutture adesive intercellulari dello strato corneo, con conseguente riduzione della funzione di barriera cutanea.

Studiando tamponi cutanei e il loro secretoma il gruppo di CATHERINE O'NEIL è riuscito ad isolare una proteina secreta da *Micrococcus Luteus* che è in grado di clivare, inattivandola, la proteina Sbi di *S. aureus*. La proteina, chiamata AE1 è una proteina altamente variabile in natura, oggetto di numerose mutazioni soprattutto nel ceppo di *Micrococcus luteus* NCTC 2665 (il cosiddetto "Fleming" strain). Hanno quindi studiato una proteina AE1 ricombinante e dimostrato che è in grado di inibire la secrezione di IL33.

Questi studi aprono nuove

interessanti prospettive riguardo al ruolo di *Micrococcus luteus* nella DA e al possibile utilizzo della proteina AE1 nel suo trattamento.

Nel suo intervento dal titolo "The Future of Skin Microbiome Testing: Insights, Advancements, Approaches" **OLIVER WORSLEY**, CEO & Co-Founder, Sequential, ha mostrato come l'eczema cronico delle mani (CHE, chronic hand eczema) abbia un microbiota intestinale caratterizzato dall'abbondanza relativa di 24 differenti specie batteriche rispetto ai soggetti sani, con una minor abbondanza di Bifidobatteri, ipotizzando quindi un ruolo della disbiosi intestinale nel CHE.

ROGER FRECHETTE, Chief Business Officer, Concerto Biosciences nella relazione "Developing therapeutic and cosmetic microbe-based products for eczema" ha presentato la loro tecnologia di analisi del microbiota basata sul **kChip**.

La tecnologia prevede di incrociare su una piastra 64 diversi batteri per ricreare in maniera casuale più di 2000 co-culture e scoprire le reciproche relazioni.

Grazie a questa tecnologia hanno creato la prima **mappa dell'interattoma cutaneo** in grado di controllare la virulenza di *S. aureus*

e hanno scoperto una **specifica combinazione di tre ceppi batterici destinata a correggere la carenza di diversità microbica e ridurre la virulenza di *S. aureus* che caratterizza la cute affetta da eczema.**

Le combinazioni batteriche vengono chiamate "Ensemble" seguito da un numero e questa specifica combinazione è l'Ensemble numero 2 (ENS-002), mentre la più recente ENS-003 è candidata a combattere le candidosi vaginali ricorrenti.

L'Ensemble-002 è stato poi testato aggiungendolo a un modello in vitro di tessuto cutaneo e confrontando la patogenicità di *S. aureus* da solo, con l'ENS-002 e con la mupirocina, un comune antibiotico per uso topico.

ENS-002 è stato in grado di sopprimere la patogenicità di *S. aureus* e, a differenza dell'antibiotico, non induce l'emergere di cellule iper-virulente o iper-patogene.

Per questo prodotto si sta finendo la fase di ottimizzazione ed avviando un primo studio di Fase 1 sull'uomo. Oltre alla scoperta dell'Ensemble-002, l'analisi del microbiota cutaneo ha permesso anche di isolare un bioprodotto (chiamato ii283-N), particolarmente **efficace nel limitare la crescita e il metabolismo di *S. aureus* e spegnerne la virulenza**, e

ha fatto ipotizzare di poter inserire il sovrinatante di ii238-N (in questo caso un post-biotico) in prodotti topici da utilizzare sulle riacutizzazioni e sovrainfezioni di eczema.

DAN BROWNELL (Senior Director of Research and Development, AOBiome Therapeutics), ha tenuto una relazione dal titolo "B244 Utilizes Multiple Mechanisms of Action to Treat Atopic Dermatitis, a Multifactorial Disease" incentrata sulle caratteristiche di questo singolo ceppo di batteri ossidanti l'ammoniaca. Gli AOBs (ammonia oxidizing bacteria) sono già utilizzati in spray per uso topico con una vasta area di applicazioni terapeutiche e un alto profilo di sicurezza, caratterizzato da oltre 1000 pazienti trattati con 0 effetti collaterali, e stanno iniziando studi di Fase 3 sulla DA e di fase 2 su acne e rosacea.

Attraverso l'ossidazione dell'ammoniaca, prodotta al 70% a livello del fegato e al 30% a livello cutaneo, **B244 produce diversi metaboliti, con azione immunomodulante e benefica per la cute, tra cui in particolare l'ossido nitrico, con attività vasodilatatoria e anti-infiammatoria, nitriti con attività anti-infettiva.** B244 è stato oggetto di un trial in Fase 2b su adulti con DA

lieve e moderata e prurito moderato e severo. Lo spray è stato ben tollerato e ha dimostrato una migliore efficacia rispetto al veicolo in tutti gli endpoint primari, secondari ed esplorativi e sarà ulteriormente sviluppato come nuovo trattamento spray topico, naturale e a rapida azione per la DA e il prurito associato. Interessante notare l'effetto sul prurito, che è rimasto significativo anche a 4 settimane dopo la fine del trattamento.

KIM HARDIE (Professor in Bacterial Pathogenesis, University of Nottingham & Co-Investigator, National Biofilms Innovation Centre), nella sua relazione dal titolo "Commensal bacteria protect skin cells from the pathogens *Pseudomonas aeruginosa* and *Staphylococcus aureus*" ha parlato soprattutto di wound healing, ma ha mostrato anche come le reciproche interferenze tra batteri possano essere importanti nella DA.

In studi in vivo su animali è stato dimostrato infatti che la presenza di Agr prodotta da *S. aureus* correla con una infiammazione simile alla DA e che gli stafilococchi coagulasi negativi (CoNS) producono un ampio range di AIPs (auto-inducing peptides) che bloccano il quorum sensing. In particolare, **le AIP-1 e AIP-2 prodotte da *S. omnis* hanno mostrato di inibire Agr di gruppo 1**

di *S. aureus*.

Nella relazione di **BJÖRN ANDERSSON** (Professor, Department of Cell and Molecular Biology Karolinska Institutet), dal titolo "The skin virus microbiome and disease; results from the MAARS cohort", una delle poche relazioni in cui si è parlato anche di viroma, è emerso un ruolo anche nella DA.

In particolare, sembra che l'espressione di alcuni virus sia ridotta nella DA.

Un poster di **Re-Connecting Nature** ha presentato i dati di uno studio su 140 pazienti con AD a cui è stato applicato uno spray contenente batteri estratti dal suolo in Finlandia.

Quali novità sulla Psoriasi?

Una delle poche relazioni in cui si è parlato di psoriasi è stata quella di **BJÖRN ANDERSSON**, Professor, Department of Cell and Molecular Biology Karolinska Institutet, dal titolo "The skin virus microbiome and disease; results from the MAARS cohort", dove sono stati presentati alcuni dati relativi al viroma in questa patologia. In particolare, sembra che l'espressione di alcuni virus sia aumentata nella psoriasi.

In uno studio effettuato su biopsie prese su cute lesionale e perilesionale, è emerso che tutti i virus sono diminuiti nelle aree lesionali di psoriasi.

Una ipotesi per spiegare questa osservazione è che l'infezione virale possa iniziare al centro delle lesioni ma venga poi rimossa dalla risposta immunitaria e finisca per spostarsi alla cute perilesionale.

Quali novità sul wound healing?

Non c'è stata nessuna presentazione centrata specificamente sul wound healing, ma in diversi interventi sono emersi dati riguardanti le lesioni cutanee, i meccanismi di riparazione, il biofilm e il controllo delle infezioni.

Nel suo intervento dal titolo "The Future of Skin Microbiome Testing:

Insights, Advancements, Approaches" **OLIVER WORSLEY**, CEO & Co-Founder, Sequential, ha mostrato come a seguito di un danno cutaneo si osservino alterazioni significative del microbiota intestinale.

DAN BROWNELL Senior Director of

Research and Development, AOBiome Therapeutics, nella relazione dal titolo "B244 Utilizes Multiple Mechanisms of Action to Treat Atopic Dermatitis, a Multifactorial Disease" incentrata sulle caratteristiche di questo singolo ceppo di batteri ossidanti l'ammoniaca, ha parlato non solo di DA ma anche di wound healing.

BROWNELL ha evidenziato come nei controlli senza AOB si è osservata una iniziale risposta immune inappropriata che non fa parte del processo di guarigione, ma lo ostacola; ha ipotizzato quindi un possibile utilizzo degli AOB anche nel trattamento delle ferite.

KIM HARDIE, Professor in Bacterial Pathogenesis, University of Nottingham & Co-Investigator, National Biofilms Innovation Centre, nella sua relazione dal titolo "Commensal bacteria protect skin cells from the pathogens *Pseudomonas aeruginosa* and *Staphylococcus aureus*", ha introdotto il concetto della possibile azione cooperativa o competitiva di *S. aureus* nelle infezioni polimicrobiche, in particolare quelle caratterizzate da biofilm dove i batteri coesistono.

Le infezioni dove i biofilm costituiscono un problema particolare sono soprattutto quelle delle ulcere croniche, responsabili di

una spesa sanitaria molto elevata. La cute danneggiata è infatti a rischio di attacchi da parte dei patogeni, mentre la sua disinfezione ostacola gli effetti positivi dei batteri benefici. In particolare, *S. aureus* è un patogeno molto versatile per via di alcune sue caratteristiche peculiari, tra cui la presenza di diversi fattori di colonizzazione delle barriere cellulari, agenti immunomodulanti e la secrezione di esoprodotti.

La crescita di *S. aureus* è controllata dal quorum sensing e il peptide Agr è una delle molecole che segnala il QS. **Quando Agr è presente, porta ad una infezione acuta mentre la sua assenza è collegata ad infezioni croniche caratterizzate da biofilm.** Inoltre Agr è una delle molecole chiave dell'interferenza competitiva tra diverse specie di Stafilococchi.

Le coinfezioni, come quella da *S. aureus* e *P. aeruginosa*, un noto produttore di biofilm, hanno solitamente un outcome clinico peggiore. Ma se aggiungiamo uno o più commensali al patogeno, anche queste infezioni riducono la loro aggressività. I batteri commensali possono proteggere le cellule della cute dagli attacchi dei patogeni attraverso un'interferenza competitiva sugli Agr di *S. aureus*. Gli stafilococchi coagulasi negativi (CoNS) producono un ampio range di AIPs (auto-inducing peptides) che bloccano il quorum sensing.

Studiando modelli sintetici di ferite croniche (Syntetic chronic wound, SCW) si è scoperto che:

- differenti ceppi di *P. aeruginosa* si distribuiscono diversamente
- i ceppi cronicità difettosa muoiono prevalentemente al centro delle microcolonie
- la loro morte è esacerbata dalla presenza di *S. aureus*.

Le co-culture dei due batteri possono quindi avere effetti diversi, di coesistenza, sinergia o competizione a seconda della cronicità difettosa.

Le coppie abbinata coesistono più facilmente di quelle unmatched.

Inoltre la presenza di più specie all'interno del biofilm altera l'attività battericida degli antimicrobici. Gli *S. aureus* all'interno di biofilm multispecie, contenenti ad esempio commensali come *Micrococcus luteus* o *S. epidermidis* ma anche

patogeni come *P. aeruginosa*, sono sensibili a concentrazioni molto inferiori di antibiotico.

Un altro dato molto interessante mostrato da **KIM HARDIE** nella sua relazione riguarda **l'effetto dei disinfettanti sulla tolleranza agli antibiotici all'interno del biofilm.**

Il triclosan, per esempio, un disinfettante largamente utilizzato in prodotti domestici e per la salute, riduce moltissimo la sensibilità di *S. aureus* alla ciprofloxacina e alla vancomicina.

Il triclosan è un inibitore della sintesi degli acidi grassi e si accumula nell'ambiente e nel corpo umano e ne sono state trovate tracce nelle urine, nel sangue e nelle secrezioni nasali.

Nessuno ancora ha verificato che effetto possa avere sui modelli di infezioni polimicrobiche.

Quali novità sull'antiaging?

OLIVER WORSLEY, CEO & Co-Founder, Sequential, nella sua presentazione dal titolo "The Future of Skin Microbiome Testing: Insights, Advancements, Approaches" ha parlato anche di specifici batteri, come il *Corynebacterium*, che sono legati all'invecchiamento della pelle.

WORSLEY ha mostrato una correlazione negativa tra il miglioramento delle "zampe di gallina" (crows feet) dopo un trattamento e la presenza di *Roseomonas mucosa*, un batterio considerato importante nella regolazione della funzione di barriera cutanea e nell'elasticità.

Quali novità sui cosmetici "microbiome friendly"?

Il tema cosmetici è stato uno dei più trattati di tutto il congresso. **Attualmente il 90% dei componenti dei cosmetici può potenzialmente danneggiare i batteri.** A questo possibile danno diretto si aggiunge il potenziale danno indiretto, legato all'influenza che i cosmetici possono avere sulle proprietà fisico-chimiche (idrofobia, pH) che modulano

l'adesione dei batteri alla cute. Molte talk quindi si sono interrogate su **quali siano le caratteristiche che un cosmetico debba avere per poter vantare il *claim microbiome-friendly* e su come debbano essere testate.**

MICHELLE DARGATZ (Scientist Research, Development & Innovation,

Division Nutrition & Care, Evonik Operations GmbH) nella sua presentazione dal titolo "Towards skin microbiome friendliness: Improved testing method of cosmetic products with innovative microbiome community models" ha parlato della crescente domanda da parte dei consumatori di cosmetici microbiome-friendly, che rappresentano ormai un'area chiave per i produttori di ingredienti cosmetici.

Innanzitutto ha sottolineato la difficoltà di una corretta definizione di microbioma cutaneo sano, in quanto le differenze interpersonali sono notevoli.

Mancano linee guida precise per definire la salute del microbiota e i protocolli di testing differiscono molto tra loro per complessità ed interpretazione.

La definizione che propone è che

“ i componenti chimici e biologici e le loro miscele (mixtures) che debbano essere applicati sulla pelle non dovrebbero avere un impatto significativo sulla composizione quantitativa né qualitativa del microbiota cutaneo ”

Il suo gruppo ha elaborato un sistema basato su PCR con il quale hanno iniziato a testare diversi nuovi possibili componenti di cosmetici.

Il loro test prevede di **misurare l'effetto dei composti sulla crescita totale della comunità batterica**, misurato attraverso il monitoraggio del consumo di ossigeno, del pH, della torbidità e della densità ottica della biomassa finale, **e sulla diversità microbica**, misurata attraverso l'estrazione del DNA e il sequenziamento con tecnica 16S rRNA. I dati sono poi espressi su una "Matrice" che consideri sulle ascisse l'aumento o la riduzione della crescita totale e sulle ordinate le modifiche alla composizione, arrivando ad identificare 4 tipologie di sostanze:

MICROBIOME PROMOTING:

se aumentano la crescita senza modificare la composizione

MICROBIOME FRIENDLY:

se lasciano inalterata sia la crescita che la composizione

MICROBIOME SHIFTING:

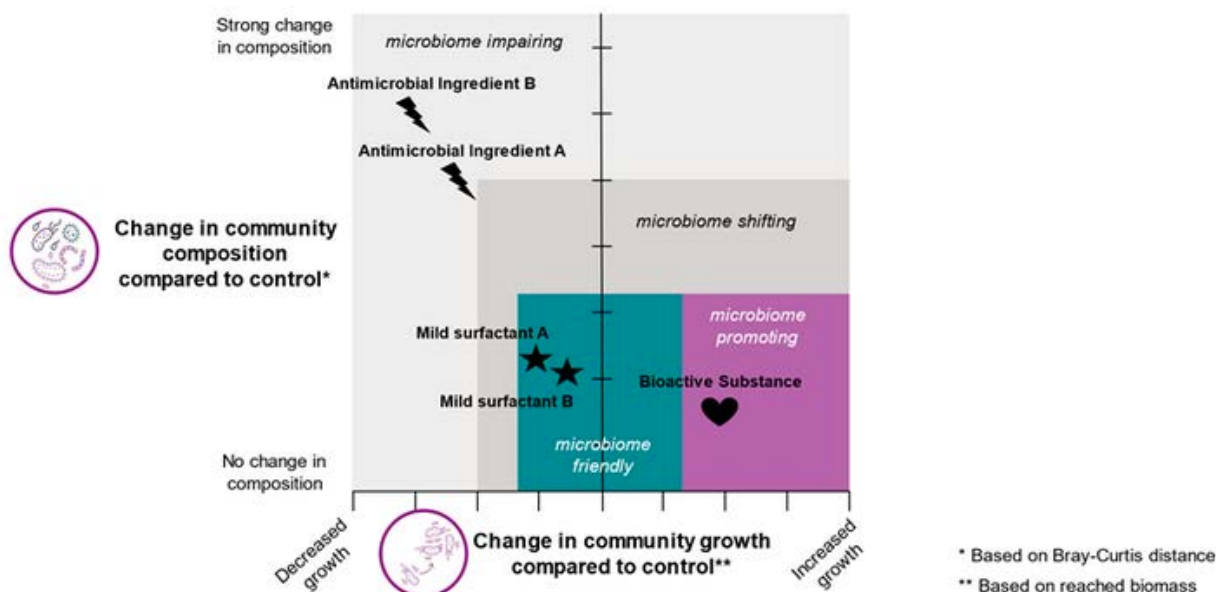
se modificano la composizione senza alterare eccessivamente la crescita

MICROBIOME IMPAIRING:

se riducono in maniera significativa sia la crescita che la composizione

Infine ha mostrato alcuni esempi di valutazione di sostanze con attività rispettivamente antimicrobica e

bioattiva e la relativa posizione dei risultati nella matrice (vedi figura).



La relazione di **SABRINA BEHNKE** (Business Director, Biopolymers & Modern Preservatives, TRI-K), si è concentrata proprio sulla carenza di test standardizzati per valutare il reale impatto dei cosmetici sul microbiota. Le tecniche in vitro hanno il vantaggio di essere più economiche e facilmente replicabili e di poter testare in maniera semplice anche microbioti di aree molto sensibili, come quella genitale. Di contro, non sono in grado di riprodurre fedelmente le comunità polimicrobiche, né di considerare la capacità dei batteri di "nascondersi" nei follicoli. Quelle in vivo sono più

rappresentative della reale comunità polimicrobica presente sulla cute, ma subiscono l'enorme variabilità interpersonale, sono difficilmente replicabili e molto costose.

Secondo BEHNKE i test dovrebbero prevedere 4 fasi:

- 1] **Qualità microbica:** non devono essere contaminati da batteri indesiderati
- 2] **Test di bilanciamento (co-culture):** non devono sovvertire gli equilibri tra

diverse specie che si tengono sotto controllo a vicenda

3 **Test di diversità** (co-culture): non devono ridurre la diversità microbica

4 **Test di vitalità diretti ed indiretti:** per simulare l'effetto sia sui microbi più superficiali che su quelli presenti negli strati più profondi della cute.

Parlando poi delle caratteristiche che dovrebbero avere i cosmetici per essere dichiarati microbiome-friendly, ha affrontato il tema di come conciliare l'esigenza di mantenere i cosmetici al sicuro dalle contaminazioni con quella di preservare la salute del microbiota cutaneo.

La letteratura è ambigua in quanto mentre per alcuni lavori (Pinto 2021) la maggior parte dei conservanti contenuti nei cosmetici ha un'azione sui batteri residenti sulla cute, altri (Murphy 2021) affermano l'esatto contrario: cioè che, nonostante l'efficacia antimicrobica dei

conservanti *in vitro*, il microbioma cutaneo non viene influenzato dai prodotti contenenti conservanti *in vivo*. I fattori per cui i conservanti non possono essere considerati intrinsecamente dannosi per il microbiota includono la diluizione, il tempo di contatto e l'eventuale risciacquo, la reale persistenza sulla cute nonché la capacità dei microorganismi di "rifugiarsi" nei follicoli e nelle ghiandole sebacee e di ripopolare la cute dopo l'insulto.

La sua relazione ha cercato di delineare le caratteristiche che differenziano i moderni conservanti rispetto a quelli tradizionali. Mentre i conservanti tradizionali erano a basso costo, con un ampio spettro di efficacia, un ampio range di pH e scarse incompatibilità, quelli moderni avranno maggiori limitazioni di pH e di incompatibilità e, anche in virtù della minor efficacia, richiederanno delle combinazioni "smart" che porteranno probabilmente a costi maggiori.

Ha infine presentato **due nuovi booster antimicrobici a base aminoacidica**, privi di solventi a base di Capryloyl Glycine e Undecylenoyl Glycine (TRIcare™ CG e LipoG) prodotti con processi di chimica green e un catalizzatore biodegradabile. Capryloyl Glycine è un ingrediente multifunzionale che,

contemporaneamente alla sua attività di booster antimicrobico, ha dimostrato di ridurre la produzione di sebo, il rossore e la dimensione dei pori, aiutando a contrastare i microrganismi responsabili dell'acne e della forfora. Il meccanismo d'azione riguarda l'inibizione del pathway della 5-alfa reduttasi.

Anche **SPYRIDON MARKOS** (Sales and Key Account Manager, QACS), nella sua relazione "Do Your Skin Microbes Like Your New Skincare Product? Towards a Simple Benchmark Test" ha parlato dell'importanza di valutare l'impatto dei cosmetici sul microbioma cutaneo e ha presentato un loro test per valutarlo. Ha sottolineato come **l'adulto medio utilizzi 12 cosmetici al giorno**, che costituiscono la principale fonte di sostanze (fino a 160 nelle donne e più di 100 negli uomini) a cui siamo esposti e che i **composti contenuti nei cosmetici possano permanere sulla pelle per settimane dal loro utilizzo a dispetto anche di lavaggi quotidiani**.

Molti cosmetici alterano la diversità batterica così come la dinamica e la struttura di molecole umane e batteriche.

Quello proposto è un test *in-vitro/ex-vivo* sulla vitalità di diversi ceppi di batteri, raggruppati in 19

diversi "pannelli" divisi per aree (faccia, cuoio capelluto, genitali, ecc) e comprendenti sia i normali commensali che i principali patogeni noti per quella specifica area. Attraverso tamponi è stato prelevato il microbiota di un pool di volontari (2500 persone) ed è stato utilizzato per valutare la friendliness di prodotti per la skincare. **Il test può servire per ottenere il claim di microbiome-friendly** e per guidare l'eventuale riformulazione di prodotti che non lo siano. Ha infine anche presentato una lista preliminare, derivata dai loro test, di ingredienti amici o nemici del microbioma (vedi figura).

Nel suo intervento **MARIE DRAGO** (Chief Creative Officer, Gallinée), ha parlato di una vera e propria rivoluzione nei prodotti per l'igiene che prevede un passaggio dal pulito al benessere (**from clean to wellness**) in una visione olistica, che sfrutti le conoscenze sul microbiota e sul Gut-Brain-Skin axis per riunire gli obiettivi di una pelle migliore e di una mente più serena.

Lo stress infatti, afferma DRAGO, è un problema di tutto l'organismo, che si manifesta poi come leaky gut a livello intestinale e ipersensibilità a livello cutaneo. Ha poi mostrato come gli utenti dei suoi prodotti riferiscano dopo il loro utilizzo non solo un miglioramento a livello

cutaneo, ma anche delle sensazioni positive e dei livelli di stress! E si è chiesta se questo effetto sia solo una

conseguenza del veder migliorata la propria pelle o non possa dipendere da un asse pelle-intestino-cervello.

Surfactants: Cationic, Sodium Laureth Sulfate (anionic), Lauryl Glucoside, and Coco-Betaine (milder).

Synthetic Fragrances: "Fragrance" or "Parfum".

Alcohol: Alcohol and its derivatives like Ethylhexylglycerin and Alcohol Denat.

Preservatives: Phenoxyethanol, o-Cymen-5-ol, (2-methyl-5-isopropylphenol), Potassium Sorbate, Sodium Benzoate.

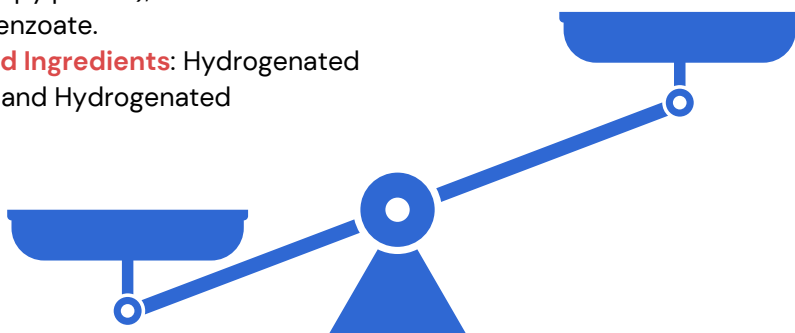
Petroleum-Derived Ingredients: Hydrogenated Poly(C6-14 Olefin) and Hydrogenated Polydecene.

Natural Plant Extracts and Oils: Houttuynia Cordata Extract, Centella Asiatica Extract, Rosehip Rosa Canina Fruit Oil, Argania Spinosa Kernel Oil (Argan Oil), Citrullus Lanatus Seed Oil (Kalahari Melon Seed Oil), and Avena Sativa Kernel Oil (Oat Kernel Oil).

Humectants and Hydrating Agents: Glycerin, Sodium Hyaluronate, Betaine, and Panthenol.

Skin Barrier Support: Ceramide NP and Hydrogenated Lecithin.

Natural Preservatives and Ferments: 1,2-Hexanediol, Ethylhexylglycerin, and Tocopherol (Vitamin E) – Lactobacillus Ferment Lysate, Saccharomyces/Rice Ferment Filtrate Extract, and Hydrolyzed Lactobacillus Ferment Filtrate



Appendice



S. aureus: cosa hanno detto di me?

S. aureus guida l'infiammazione nella DA e in molte altre patologie tra cui prurito, ascessi e foruncoli, alcune follicoliti, SSSS (staphylococcal scaled skin syndrome) e impetigine. I meccanismi attraverso i quali *S. aureus* crea o aggrava queste patologie riguardano principalmente il danno di barriera causato da alcune proteasi da esso prodotte e l'attivazione del sistema immunitario causata dalle sue tossine.

Numerosi relatori durante il congresso hanno parlato di *S. aureus*, dei suoi meccanismi patogenetici e delle possibili strategie per controllarlo.

AHMAD KHODR (Head of the Microbiology Innovation Lab, L'Oréal R&I), nella sua relazione "physicochemical and molecular characterization of the adhesion mechanisms of cutaneous bacteria." si è focalizzato sui meccanismi di adesione dei batteri alla superficie cutanea. La modulazione di questi meccanismi potrebbe rappresentare una nuova strategia per inibire l'adesione e la patogenicità dei batteri. Episkin ha sviluppato un modello 3D chiamato D-13 model che permette di studiare l'adesione dei batteri evitando gli esperimenti sugli animali. L'affinità dipende in buona parte dalla idrofilia e idrofobia: *S. aureus* è il più idrofobico e questo gli permetterebbe una maggior adesione alla cute. Un altro parametro importante è il pH e la capacità di donare/ricevere elettroni. Sono state testate poi diverse formulazioni topiche per la loro capacità di modulare queste proprietà fisico-chimiche di superficie dei batteri. In particolare, ad esempio, i Ramnolipidi, glicopeptidi prodotti da *P. aeruginosa*, hanno dimostrato di possedere un effetto anti-adesione su *S. aureus*. Sembra invece che sia minima la modulazione dei geni coinvolti. Questo approccio apre nuove prospettive nel superamento delle terapie antibiotiche.

BENJAMIN AL (Global Innovation Manager Life Sciences di Beiersdorf AG), nella sua relazione “Skin Microbiome in Health and Disease” ha parlato di relazione tra diversi batteri commensali nella DA. Anche nella DA, come già dimostrato nell’acne, sembra però sempre più evidente che sia necessario studiare l’attività dei batteri e le loro influenze reciproche a livello di ceppo e non solo di specie. La prevalenza di ceppi specifici di *S. aureus* sembra essere associata alle riacutizzazioni dell’eczema. Questa specificità potrebbe essere legata alla presenza e al ruolo di particolari enterotossine (A e B) e proteasi stafilococciche come importanti fattori di virulenza. Poi ha mostrato i dati sugli esperimenti di co-coltura con centinaia di diversi ceppi di stafilococco.

S. epidermidis può ridurre la colonizzazione da parte di *S. aureus* attraverso la produzione di AIPs (auto-inducing peptides), che bloccano il quorum sensing, e di 6-HAP (6-N-idrossiaminopurina), che inibisce la sintesi di purine. Un particolare ceppo di *S. epidermidis* HAF242 si è dimostrato in grado di inibire la crescita di un ceppo di *C. acnes* DSM1897 (di classe A) senza interferire con *C. acnes* 30.2.L1 (di classe D), ma nel contempo è stata anche dimostrata la diversa influenza della co-coltura con questi due ceppi sulla regolazione di geni di *S. epidermidis* (*epiA*, *psmβ1-3* e *agrD*) coinvolti nel quorum sensing di *S. aureus*.

KIM HARDIE (/Professor in Bacterial Pathogenesis, University of Nottingham & Co-Investigator, National Biofilms Innovation Centre), nella sua relazione dal titolo “Commensal bacteria protect skin cells from the pathogens *Pseudomonas aeruginosa* and *Staphylococcus aureus*” ha introdotto il concetto della possibile azione cooperativa o competitiva di *S. aureus* nelle infezioni polimicrobiche, in particolare quelle caratterizzate da biofilm dove i batteri coesistono.

In uno studio su 35 pazienti affetti da acne, che non erano stati sottoposti a trattamenti antibiotici negli ultimi 6 mesi, sottoposti a tampone cutaneo hanno misurato la quantità e l’abbondanza relativa delle popolazioni di *C. acnes* e Stafilococchi, evidenziando una leggera riduzione dei primi e un significativo aumento relativo dei secondi. Analizzando le sette specie principali di Stafilococchi, invece, si riscontra una significativa riduzione di *S. hominis* e *S. warneri* a fronte di un relativo ma non significativo aumento di *S. epidermidis* e *S. aureus*. Gli stafilococchi in genere non sono ridotti di numero, mentre anche per loro la riduzione della alfa-diversità è maggiore a livello della pelle del dorso.

L'isotretinoina modula questa disbiosi provocando una leggera riduzione degli stafilococchi, ma aumentando drasticamente la loro diversità attraverso una significativa riduzione relativa di *S. epidermidis* e un significativo aumento relativo di *S. aureus*. L'isotretinoina modula quindi il microbiota riducendo *C. acnes* ma danneggia anche *S. epidermidis* e favorisce la crescita di *S. aureus*, che potrebbe essere pericoloso. Devono quindi essere prese in considerazione strategie post-isotretinoina per ripristinare il microbioma cutaneo. È stata quindi esaminata la possibilità di selezionare e applicare sulla pelle ceppi benefici di *S. epidermidis*, in particolare quelli capaci di ridurre la colonizzazione da parte di *S. aureus*. Attraverso l'analisi genomica sono stati distinti i ceppi di *S. epidermidis* associati da quelli non associati a patologia. Successivamente, quelli isolati dalla pelle sana sono stati testati per la loro attività antimicrobica contro *C. acnes* e *S. aureus*, dimostrando che circa il 5% dei ceppi possiede un'attività specifica. L'ultimo step dello studio ha dimostrato che dopo l'applicazione topica di specifici ceppi di *S. epidermidis* (SE1) con attività anti *S. aureus* e anti *C. acnes* di classe A, la persistenza (ma solo del DNA, che non dimostra la vitalità) dopo 7 e 30 giorni era ancora elevata e la carica di *S. aureus* diminuita. È stato invece dimostrato uno scarso impatto su *C. acnes* forse per la diversa nicchia cutanea in cui i due batteri proliferano maggiormente.

CATHERINE O'NEIL, Professor of Translational Dermatology University of Manchester, nella sua relazione dal titolo "Mining the skin microbiome for new approaches to the management of Atopic dermatitis" ha sottolineato come l'eliminazione di *S. aureus* sia uno dei goal più importanti del trattamento della DA ma come la terapia antibiotica tradizionale inizi a mostrare molti limiti.

In particolare sono molto alti i tassi di re-infezione che arrivano al 40% dei pazienti dopo 3 mesi e al 50% dopo 6. Una delle cause di resistenza agli antibiotici da parte di *S. aureus* è la sua capacità di penetrare all'interno dei cheratinociti umani (senza danneggiarli), dove solo la rifampicina è in grado di penetrare e svolgere la sua azione. Siamo di fronte ad un bisogno insoddisfatto importante nella terapia di questa patologia!

Studiando i meccanismi con cui *S. aureus* attiva l'infiammazione è emerso che è l'unico tipo di Stafilococco in grado di indurre un rapido rilascio di IL-33 costitutiva dai cheratinociti umani, indipendentemente dalla via del recettore Toll-like, attivando quindi una risposta Th2 in assenza di infezione. Questa proprietà deriva soprattutto dalla produzione e rilascio della proteina Sbi (second immunoglobulin-binding protein) e dalla conseguente riduzione della

produzione di corneodesmosina, un componente dei corneodesmosomi che formano le principali strutture adesive intercellulari dello strato corneo, con conseguente riduzione della funzione di barriera cutanea.

Studiando tamponi cutanei e il loro secretoma il gruppo di CATHERINE O'NEIL è riuscito ad isolare una proteina secreta da *Micrococcus Luteus* che è in grado di clivare, inattivandola, la proteina Sbi di *S. aureus*. La proteina, chiamata AE1 è una proteina altamente variabile in natura, oggetto di numerose mutazioni soprattutto nel ceppo di *Micrococcus luteus* NCTC 2665 (il cosiddetto "Fleming" strain). Hanno quindi studiato una proteina AE1 ricombinante e dimostrato che è in grado di inibire la secrezione di IL33. Questi studi aprono nuove interessanti prospettive riguardo al ruolo di *Micrococcus luteus* nella DA e al possibile utilizzo della proteina AE1 nel suo trattamento.

Nel suo intervento dal titolo "The Future of Skin Microbiome Testing: Insights, Advancements, Approaches" **OLIVER WORSLEY**, CEO & Co-Founder, Sequential, ha mostrato come l'eczema cronico delle mani (CHE, chronic hand eczema) abbia un microbiota intestinale caratterizzato dall'abbondanza relativa di 24 differenti specie batteriche rispetto ai soggetti sani, con una minor abbondanza di Bifidobatteri, ipotizzando quindi un ruolo della disbiosi intestinale nel CHE.

ROGER FRECHETTE, Chief Business Officer, Concerto Biosciences nella relazione "Developing therapeutic and cosmetic microbe-based products for eczema" ha presentato la loro tecnologia di analisi del microbiota basata sul kChip. La tecnologia prevede di incrociare su una piastra 64 diversi batteri per ricreare in maniera casuale più di 2000 co-culture e scoprire le reciproche relazioni. Grazie a questa tecnologia hanno creato la prima mappa dell'interattoma cutaneo in grado di controllare la virulenza di *S. aureus* e hanno scoperto una specifica combinazione di tre ceppi batterici destinata a correggere la carenza di diversità microbica e ridurre la virulenza di *S. aureus* che caratterizza la cute affetta da eczema. Le combinazioni batteriche vengono chiamate "Ensemble" seguito da un numero e questa specifica combinazione è l'Ensemble numero 2 (ENS-002), mentre la più recente ENS-003 è candidata a combattere le candidosi vaginali ricorrenti. L'Ensemble-002 è stato poi testato aggiungendolo a un modello in vitro di tessuto cutaneo e confrontando la patogenicità di *S. aureus* da solo, con l'ENS-002 e con la mupirocina, un comune antibiotico per uso topico.

ENS-002 è stato in grado di sopprimere la patogenicità di *S. aureus* e, a differenza dell'antibiotico, non induce l'emergere di cellule iper-virulente o iper-patogene. Per questo prodotto si sta finendo la fase di ottimizzazione ed avviando un primo studio di Fase 1 sull'uomo. Oltre alla scoperta dell'Ensemble-002, l'analisi del microbiota cutaneo ha permesso anche di isolare un bioprodotto (chiamato ii283-N), particolarmente efficace nel limitare la crescita e il metabolismo di *S. aureus* e spegnerne la virulenza, e ha fatto ipotizzare di poter inserire il sovrinatante di ii238-N (in questo caso un post-biotico) in prodotti topici da utilizzare sulle riacutizzazioni e sovrainfezioni di eczema.

KIM HARDIE, Professor in Bacterial Pathogenesis, University of Nottingham & Co-Investigator, National Biofilms Innovation Centre, nella sua relazione dal titolo "Commensal bacteria protect skin cells from the pathogens *Pseudomonas aeruginosa* and *Staphylococcus aureus*", ha introdotto il concetto della possibile azione cooperativa o competitiva di *S. aureus* nelle infezioni polimicrobiche, in particolare quelle caratterizzate da biofilm dove i batteri coesistono.

Le infezioni dove i biofilm costituiscono un problema particolare sono soprattutto quelle delle ulcere croniche, responsabili di una spesa sanitaria molto elevata. La cute danneggiata è infatti a rischio di attacchi da parte dei patogeni, mentre la sua disinfezione ostacola gli effetti positivi dei batteri benefici. In particolare, *S. aureus* è un patogeno molto versatile per via di alcune sue caratteristiche peculiari, tra cui la presenza di diversi fattori di colonizzazione delle barriere cellulari, agenti immunomodulanti e la secrezione di esoprodotti.

La crescita di *S. aureus* è controllata dal quorum sensing e il peptide Agr è una delle molecole che segnala il QS. Quando Agr è presente, porta ad una infezione acuta mentre la sua assenza è collegata ad infezioni croniche caratterizzate da biofilm. Inoltre Agr è una delle molecole chiave dell'interferenza competitiva tra diverse specie di Stafilococchi.

Le coinfezioni, come quella da *S. aureus* e *P. aeruginosa*, un noto produttore di biofilm, hanno solitamente un outcome clinico peggiore. Ma se aggiungiamo uno o più commensali al patogeno, anche queste infezioni riducono la loro aggressività. I batteri commensali possono proteggere le cellule della cute dagli attacchi dei patogeni attraverso un'interferenza competitiva sugli Agr di *S. aureus*. Gli stafilococchi coagulasi negativi (CoNS) producono un ampio range di AIPs (auto-inducing peptides) che bloccano il quorum sensing.

Studiando modelli sintetici di ferite croniche (Syntetic chronic wound, SCW) si è scoperto che:

- differenti ceppi di *P. aeruginosa* si distribuiscono diversamente
- i ceppi cronicità difettosa muoiono prevalentemente al centro delle microcolonie
- la loro morte è esacerbata dalla presenza di *S. aureus*.

Le co-colture dei due batteri possono quindi avere effetti diversi, di coesistenza, sinergia o competizione a seconda della cronicità difettosa. Le coppie abbinate coesistono più facilmente di quelle unmatched. Inoltre la presenza di più specie all'interno del biofilm altera l'attività battericida degli antimicrobici. Gli *S. aureus* all'interno di biofilm multispecie, contenenti ad esempio commensali come *Micrococcus luteus* o *S. epidermidis* ma anche patogeni come *P. aeruginosa*, sono sensibili a concentrazioni molto inferiori di antibiotico. Un altro dato molto interessante mostrato da KIM HARDIE nella sua relazione riguarda l'effetto dei disinfettanti sulla tolleranza agli antibiotici all'interno del biofilm. Il tricosan, per esempio, un disinfettante largamente utilizzato in prodotti domestici e per la salute, riduce moltissimo la sensibilità di *S. aureus* alla ciprofloxacina e alla vancomicina. Il triclosan è un inibitore della sintesi degli acidi grassi e si accumula nell'ambiente e nel corpo umano e ne sono state trovate tracce nelle urine, nel sangue e nelle secrezioni nasali. Nessuno ancora ha verificato che effetto possa avere sui modelli di infezioni polimicrobiche. KIM HARDIE infine ha mostrato anche come le reciproche interferenze tra batteri possano essere importanti nella DA. In studi in vivo su animali è stato dimostrato infatti che la presenza di Agr prodotta da *S. aureus* correla con una infiammazione simile alla DA e che gli stafilococchi coagulasi negativi (CoNS) producono un ampio range di AIPs (auto-inducing peptides) che bloccano il quorum sensing. In particolare le AIP-1 e AIP-2 prodotte da *S. omnis* hanno mostrato di inibire Agr di gruppo 1 di *S. aureus*.

C. *Acnes*: cosa hanno detto di me?

Il ruolo dei diversi ceppi di *C. acnes* e la loro relazione con gli stafilococchi nel mantenimento della pelle sana o, se alterata, nella patogenesi dell'acne è sempre più intrigante.

BENJAMIN AL Global Innovation Manager Life Sciences di Beiersdorf AG nella sua relazione "Skin Microbiome in Health and Disease" ha parlato delle caratteristiche della pelle che influenzano la crescita di *S. epidermidis* e *C. acnes*, con particolare riferimento a idratazione e contenuto di sebo. Ad esempio, *C. acnes* si trova principalmente nelle zone di pelle grassa come il viso e il dorso, mentre gli stafilococchi sono più presenti nelle zone umide come le pieghe degli arti. Ha poi sottolineato che le influenze esercitate sono specifiche a seconda del filotipo (ceppo) e non comuni alla medesima specie. Sempre BENJAMIN AL, per esempio, ha mostrato che esperimenti di co-coltura con centinaia di diversi ceppi di stafilococco hanno identificato 30 ceppi che presentavano una attività anti *C. acnes*. In particolare, ci sono ceppi stafilococcici che escludono selettivamente i ceppi di *C. acnes* associati all'acne (ad esempio IA1) mentre coesistono con i filotipi associati alla pelle sana (ad esempio i K, filotipo II). Questa regolazione avverrebbe attraverso la modulazione dell'attività antimicrobica. Ci sono poi ceppi di stafilococco, come *S. capitis* che sembrano inibire il ceppo K (filotipo II) di *C. acnes*, cosa che potrebbe favorire la prevalenza di ceppi favorevoli l'acne. Allo stesso modo, alcuni specifici ceppi di *C. acnes* sono in grado di inibire l'attività antibatterica di *S. epidermidis*.

S. epidermidis può ridurre la colonizzazione da parte di *S. aureus* attraverso la produzione di AIPs (auto-inducing peptides) che bloccano il quorum sensing e di 6-HAP (6-N-idrossiaminopurina) che inibisce la sintesi di purine. Un particolare ceppo di *S. epidermidis* HAF242 si è dimostrato in grado di inibire la crescita di un ceppo di *C. acnes* DSM1897 (di classe A) senza interferire con *C. acnes* 30.2.L1 (di classe D), ma nel contempo è stata anche dimostrata la diversa influenza della co-coltura con questi due ceppi sulla regolazione di geni di *S. epidermidis* (*epiA*, *psmβ1-3* e *agrD*) coinvolti nel quorum sensing di *S. aureus*.

HOLGER BRÜGGEMANN (Associate Professor, Department of Biomedicine, Aarhus University, Denmark), ha parlato nella sua relazione dal titolo “Skin microbiome interferences and the potential exploitation for acne treatment” di disbiosi cutanea, dell’effetto dell’isotretinoina e del forte impatto degli Stafilococchi nella patogenesi della malattia.

In uno studio su 35 pazienti acneici, che non avessero fatto trattamenti antibiotici negli ultimi 6 mesi, sottoposti a tampone cutaneo, hanno misurato la quantità e l’abbondanza relativa delle popolazioni di *C. acnes* e Stafilococchi evidenziando una lieve riduzione dei primi ed un significativo aumento relativo dei secondi. Con la tecnica SLTS (single-locus sequence typing) è possibile distinguere 10 classi di *C. acnes* che corrispondono ai filotipi, le classi A-E al filotipo IA1, la F al filotipo IA2, la H al filotipo filotipo IB, la G al filotipo IC, la K al filotipo II (*C.acnes* susp. defendans) e la L al filotipo III (*C. acnes* subsp. elongatum).

Andando quindi a ri-analizzare i dati a livello di filotipo, è emerso che a livello di *C. acnes* si ha una riduzione significativa delle classi H, K ed L (filotipi II e III) ed un incremento relativo ma non significativo delle classi A, C, E ed F (filotipo I).

La riduzione di *C. acnes* risulta più evidente a livello della guancia mentre la ridotta alpha-diversity di *C. acnes* risulta maggiore a livello della cute del dorso. Analizzando invece le sette principali specie di Stafilococchi risulta una riduzione significativa di *S. hominis* e *S. warneri* a fronte di un aumento relativo, ma non significativo, di *S. epidermidis* e *S. aureus*. Gli Stafilococchi in generale non sono ridotti come numero mentre anche per loro la riduzione dell’alpha-diversity risulta maggiore a livello della cute del dorso.

Quello che cambia in modo significativo è il rapporto tra *C. acnes* e Stafilococchi che passa da 34:1 nei soggetti sani a 11:1 nei soggetti con acne.

L’isotretinoina modula questa disbiosi causando una leggera riduzione degli Stafilococchi, ma aumentandone drasticamente la diversità attraverso una riduzione relativa significativa di *S. epidermidis* e un aumento relativo significativo di *S. aureus*. Al contempo esaurisce drasticamente *C. acnes* riducendo ulteriormente il rapporto *C. acnes* / Stafilococchi da 11:1 a 1:1. Isotretinoina modula quindi il microbiota riducendo *C. acnes* danneggiando però anche *S. epidermidis* e favorendo la crescita di *S. aureus*, che potrebbe essere pericoloso. Bisogna quindi considerare delle strategie post-isotretinoina per ripristinare il microbioma cutaneo.

È stata quindi esaminata la possibilità di selezionare ed applicare sulla cute ceppi benefici di *S. epidermidis* in particolare che siano in grado di ridurre la colonizzazione da parte di *S. aureus*.

Tramite analisi genomica sono stati distinti i ceppi di *S. epidermidis* associati da quelli non associati a patologia. Successivamente quelli isolati dalla cute sana sono stati testati per la loro attività antimicrobica nei confronti di *C. acnes* e *S. aureus* dimostrando che circa il 5% dei ceppi possiede una attività specifica. Alcuni di questi poi hanno una attività di inibizione selettiva su alcuni ceppi (patogeni) di *C. acnes* senza interferire con gli altri (benefici). Infine, sono state studiate le batteriocine prodotte da questi ceppi scoprendo che solo tre di questi producono batteriocine già note, mentre tutti producono batteriocine ancora sconosciute. È stato quindi isolato un ceppo di *S. epidermidis* HAF242 in grado di inibire la crescita di un ceppo di *C. acnes* DSM1897 (di classe A) senza interferire con *C. acnes* 30.2.L1 (di classe D) ed è stata anche dimostrata la diversa influenza della co-coltura con questi due ceppi sulla regolazione di geni di *S. epidermidis* coinvolti nel quorum sensing. L'ipotesi è quindi che i *C. acnes* di classe D siano in grado di inibire il sistema AgrQs di *S. epidermidis* e la sua attività anti *C. acnes* arrivando ad una situazione di "tolleranza" che invece la classe A non raggiunge.

L'ultimo step dello studio ha dimostrato che dopo l'applicazione topica di specifici ceppi di *S. epidermidis* (SE1) con attività anti *S. aureus* e anti *C. acnes* di classe A, la persistenza (ma solo del DNA, che non dimostra la vitalità) dopo 7 e 30 giorni era ancora elevata e la carica di *S. aureus* diminuita. È stato invece dimostrato uno scarso impatto su *C. acnes* forse per la diversa nicchia cutanea in cui i due batteri proliferano maggiormente.

DAN BROWNELL (Senior Director of Research and Development, AOBiome Therapeutics), nella relazione dal titolo "B244 Utilizes Multiple Mechanisms of Action to Treat Atopic Dermatitis, a Multifactorial Disease" incentrata sulle caratteristiche di questo singolo ceppo di batteri ossidanti l'ammoniaca, ha parlato di DA e anche di acne. Sono stati illustrati studi in vitro e in vivo che hanno dimostrato che gli AOB sono molto efficaci nel ridurre la proliferazione di *C. acnes*, probabilmente anche tramite una forte riduzione della produzione di sebo, e studi clinici di fase 2b che hanno dimostrato una riduzione significativa dello score IGA e della conta di lesioni infiammatorie a 12 settimane. Tale significatività rimane elevata non solo nei confronti del pre-trattamento o del placebo, ma anche nei trials che la paragonano ad alcuni prodotti di riferimento (come adapalene) rispetto ai quali gli AOB mostrano sempre una migliore tollerabilità e l'assenza di effetti collaterali. B244 potrebbe quindi rispondere ad alcuni bisogni ancora insoddisfatti dalle terapie attuali che causano spesso secchezza o bruciore, che non possono essere utilizzate per

lunghi periodi o che hanno effetti collaterali anche sistemici.

Un poster di **SynFlora** ha mostrato i dati relativi alla ingegnerizzazione di *C. acnes* per produrre e secernere in vivo una molecola terapeutica, la Neutrophil Gelatinase-Associated Lipocalin (NGAL), in grado di modulare la produzione di sebo.



Malassezia: cosa hanno detto di me?

Purtroppo la componente fungina è stata la grande assente di questo congresso. Solo un poster Koreano ha presentato dati sull'importanza del rapporto tra *M. restricta* e *M. globosa*, riferendo che questo, più che non la quantità assoluta del fungo, sarebbe correlato all'intensità del prurito.



<https://www.sequential.bio/post/malassezia-commensal-pathogen-or-protector>



AOB: cosa hanno detto di noi?

DAN BROWNELL (Senior Director of Research and Development, AOBiome Therapeutics), ha tenuto una relazione dal titolo "B244 Utilizes Multiple Mechanisms of Action to Treat Atopic Dermatitis, a Multifactorial Disease" incentrata sulle caratteristiche di questo singolo ceppo di batteri ossidanti l'ammoniaca. Gli AOBs (ammonia oxidizing bacteria) sono già utilizzati in spray per uso topico con una vasta area di applicazioni terapeutiche, con un alto profilo di sicurezza caratterizzato da oltre 1000 pazienti trattati con 0 effetti

collaterali e stanno iniziando studi di Fase 3 sulla DA e di fase 2 su acne e rosacea. Attraverso l'ossidazione dell'ammoniaca, prodotta al 70% a livello del fegato e al 30% a livello cutaneo, B244 produce diversi metaboliti, con azione immunomodulante e benefica per la cute, tra cui in particolare l'ossido nitrico, con attività vasodilatatoria e anti-infiammatoria, nitriti con attività anti-infettiva.

Tra i metaboliti prodotti ce ne sono alcuni che possono essere utilizzati in maniera selettiva in diverse situazioni tra cui acne, rosacea, DA, infiammazione, rughe, danno della barriera cutanea, guarigione della ferita nonché per la loro azione antiossidante (vedi figura).

AOB Secrete Beneficial Skin Metabolites

	Acne	Antioxidant	Rosacea	Atopic Dermatitis	Inflammation	Wrinkles	Skin Barrier	Wound Healing
Met1	✓					✓		
Met2	✓	✓	✓	✓			✓	
Met3	✓		✓	✓	✓	✓	✓	
Met4		✓			✓			✓
Met5								✓
Met6							✓	✓
Met7		✓			✓			

B244 è stato oggetto di un trial in Fase 2b su adulti con DA lieve e moderata e prurito moderato e severo. Lo spray è stato ben tollerato e ha dimostrato una migliore efficacia rispetto al veicolo in tutti gli endpoint primari, secondari ed esplorativi e sarà ulteriormente sviluppato come nuovo trattamento spray topico, naturale e a rapida azione per la DA e il prurito associato. Interessante notare l'effetto sul prurito che è rimasto significativo anche a 4 settimane dopo la fine del trattamento.

A proposito di acne, ha illustrato studi in vitro e in vivo che hanno dimostrato che gli AOB sono molto efficaci nel ridurre la proliferazione di *C. acnes*, probabilmente anche tramite una forte riduzione della produzione di sebo. Studi clinici di fase 2b che hanno dimostrato una riduzione significativa dello score IGA e della conta di lesioni infiammatorie a 12 settimane. Tale significatività rimane elevata non solo nei confronti del pre-trattamento o del placebo, ma anche nei trials che la paragonano ad alcuni prodotti di riferimento (come adapalene) rispetto ai quali gli AOB mostrano sempre una migliore tollerabilità e l'assenza di effetti collaterali. B244 potrebbe quindi rispondere ad alcuni bisogni ancora insoddisfatti dalle terapie attuali che

- causano spesso secchezza o bruciore
- non possono essere utilizzate per lunghi periodi
- hanno effetti collaterali anche sistemici.

Ha infine presentato anche alcuni dati sulla guarigione delle ferite (wound healing), mostrando come nei controlli senza AOB si sia osservata una prima risposta immunitaria inappropriata che non fa parte del processo di guarigione ma lo ostacola e ipotizzando quindi un possibile utilizzo degli AOB anche nel trattamento delle ferite.

6TH

SKIN MICROBIOME & Cosmeceuticals CONGRESS EUROPE



Presented by



 clorofilla