

Innowacyjne szczepy *Lactobacillus* dedykowane w chorobach skóry związanych z *Staphylococcus aureus*

Mikrobiom skóry

Skóra człowieka jest domem dla miliardów bakterii, grzybów i wirusów, które tworzą mikrobiom skóry. Podobnie jak te w jelitach, mikroorganizmy skóry odgrywają zasadniczą rolę w ochronie przed inwazyjnymi patogenami, kształtowaniu naszego układu odpornościowego i rozkładzie produktów naturalnych.

Jako największy organ ludzkiego ciała, skóra jest zasiedlona przez pożyteczne mikroorganizmy i służy jako fizyczna bariera zapobiegająca inwazji patogenów. W sytuacji, gdy bariera ta zostaje naruszona lub gdy równowaga pomiędzy bakteriami komensalnymi a patogennymi zostaje zaburzona, może dojść do choroby skóry, a nawet choroby ogólnoustrojowej.

- Mikroorganizmy skóry przystosowały się do wykorzystania nielicznych składników odżywczych dostępnych na skórze.
- Wiele mikroorganizmów skórnych może wytwarzać cząsteczki, które hamują kolonizację innych mikroorganizmów lub zmieniają ich zachowanie.
- Mikroorganizmy skóry pełnią ważne role w kształceniu wrodzonych i adaptacyjnych mechanizmów skórniego układu odpornościowego.
- Niektóre choroby skóry są związane ze zmienionym stanem mikrobiologicznym; odwrócenie tej dysbiozy może pomóc w zapobieganiu i/lub leczeniu choroby.
- Bakterie probiotyczne znane są ze swojego prozdrowotnego działania, m.in. modulują układ odpornościowy, przywracają równowagę ilościową i jakościową mikrobiomu, wzmacniają integralność połączeń ścisłych naskórka i chronią przed infekcjami.

Właściwości probiotyczne pożytecznych mikroorganizmów są tradycyjnie kojarzone z żywymi szczepami probiotycznymi. Zastosowanie właściwych bakterii probiotycznych w pielęgnacji skóry odbywa obecnie drogę od badań do praktyki klinicznej.

„Mikroorganizmy skóry pełnią istotne role w ochronie przed inwazyjnymi patogenami”

Mikrobiom skóry w chorobach

Wiele powszechnych chorób skóry wiąże się ze zmianami w mikrobiomie, określanymi jako dysbioza. Dysbioza ta jest często powodowana przez powszechnie występujące gatunki komensalne, np. w przypadku trądziku, egzemy i przewlekłych ran. Uważa się, że zarówno rzadkie, jak i powszechne choroby skóry mają podłoże zarówno w występowaniu pojedynczych gatunków, jak i zmian w środowisku mikrobiologicznym.

Kolonizacja skóry przez *S. aureus* jest w większości przypadków bezobjawowa, ale patogen ten może wywoływać zakażenia, gdy zostanie naruszona funkcja bariery ochronnej skóry.

Zakażenia gronkowcem są często związane z takimi chorobami skóry jak atopowe zapalenie skóry (egzema), karbunkuł, cellulitis, trądzik różowaty, łuszczyca, pieluszkowe zapalenie skóry, liszajec i rany. Zakażenia skóry wywołane przez gronkowce u ludzi są szczególnie problematyczne w odniesieniu do atopowego zapalenia skóry.

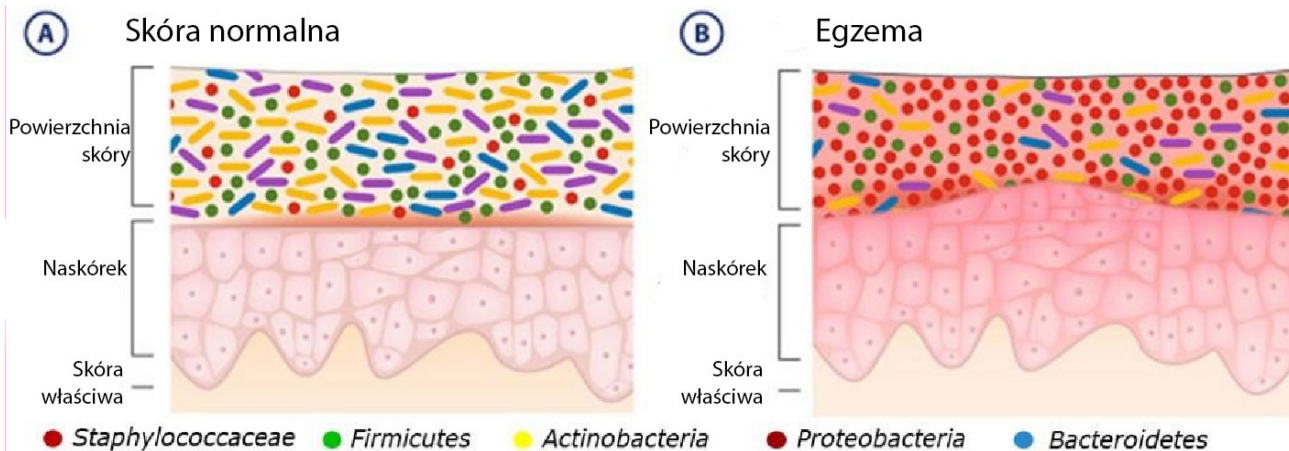
Atopowe zapalenie skóry (egzema)

Atopowe zapalenie skóry (AZS) jest przewlekłą, zapalną chorobą skóry, charakteryzującą się upośledzeniem barier skórnych, zaburzeniami odpowiedzi immunologicznej i częstymi infekcjami skórnymi. Dotyczy do 20% dzieci i 2-10% dorosłych na całym świecie i może wpływać na jakość życia w takim samym stopniu jak padaczka czy cukrzyca typu 1 [1].

Oprócz *Staphylococcus aureus*, który jest powszechnie hodowany ze skóry osób z atopowym zapaleniem skóry, istnieją dodatkowe czynniki, które wspierają hipotezę, że mikrobiota ma wpływ na patogenezę choroby. Wiadomo, że *S. aureus* kolonizuje skórę 70-80% pacjentów z atopowym zapaleniem skóry, występuje zarówno na skórze zmienionej, jak i niezmienionej chorobowo, przyczyniając się do powstania stanu zapalnego i zaostrzenia choroby. Zakażenie skóry *S. aureus* jest często leczone antybiotykami, takimi jak kwas fusydowy lub metycylina, jednak leczenie antybiotykami powoduje oporność bakterii.

„*S. aureus* kolonizują skórę 70-80% pacjentów z Atopowym Zapaleniem Skóry”

Wiele badań ma na celu opracowanie nowych terapii specyficznych dla anty-*S. aureus*, które zastąpią obecnie stosowane środki przeciwbakteryjne o szerszym spektrum działania. *S. aureus* oporny na metycylinę stanowi poważny problem, a częstość występowania gronkowca złocistego opornego na metycylinę (Meticiclin - Resistant Staphylococcus Aureus, MRSA) - wzrasta. Kolonizację *S. aureus* stwierdza się na skórze chorych na AZS, a jej obecność jest bezpośrednio skorelowana z ciężkością choroby. Systematyczny przegląd 95 badań obserwacyjnych przeprowadzony przez Totte i wsp. wykazał, że pacjenci z AZS są istotnie bardziej narażeni na kolonizację *S. aureus* na skórze zmienionej i niezmienionej chorobowo w porównaniu ze zdrowymi pacjentami kontrolnymi [2]. Jednak ogólnie przyjmuje się, że kolonizacja *S. aureus* jest związana z ciężkim wypryskiem i przyczynia się do powstania stanu zapalnego [3].



Ryc. 1. Adaptacja z Brandwein, M., D. Steinberg i S. Meshner (2016) *Microbial biofilms and the skin microbiome*. doi.org/10.1038%2Fs41522-016-0004-z. Wypryski charakteryzują się przesunięciami we względnych obfitościach kilku gatunków bakterii.

(A) Liczebność dominujących w skórze typów bakterii (*Firmicutes*, *Actinobacteria*, *Proteobacteria* i *Bacteroidetes*) oraz rodziny *Staphylococcaceae* (*Firmicute*) związanych ze zdrową skórą.

(B) Egzema wywołuje dysbiozę charakteryzującą się spadkiem różnorodności bakteryjnej i dramatycznym wzrostem udziału *Staphylococcaceae*.

Kolonizacja *S. aureus* na skórze wiąże się z kilkoma czynnikami patogennymi, takimi jak wydzielanie toksyn, wydzielanie proteaz, przyleganie do powierzchni komórkowej korneocytów w warstwie rogowej naskórka [4]. Badania wykazują, że *S. aureus* może aktywować i kontrolować układ odpornościowy poprzez zmniejszenie produkcji peptydu przeciwdrobnoustrojowego i inicjowanie stanu zapalnego [4]. Oporny na metycylinę *S. aureus* (MRSA) jest nadal istotnym problemem opieki zdrowotnej. Według Hassoun i wsp. połączenie wczesnej identyfikacji i zastosowanie zoptymalizowanych, nowych metod leczenia przeciwdrobnoustrojowego to ważne kroki w leczeniu MRSA i wieloopornych szczepów patogennych [5].

„Kolonizacja *S. aureus* u pacjentów z atopowym zapaleniem skóry jest bezpośrednio skorelowana z ciężkością choroby.”

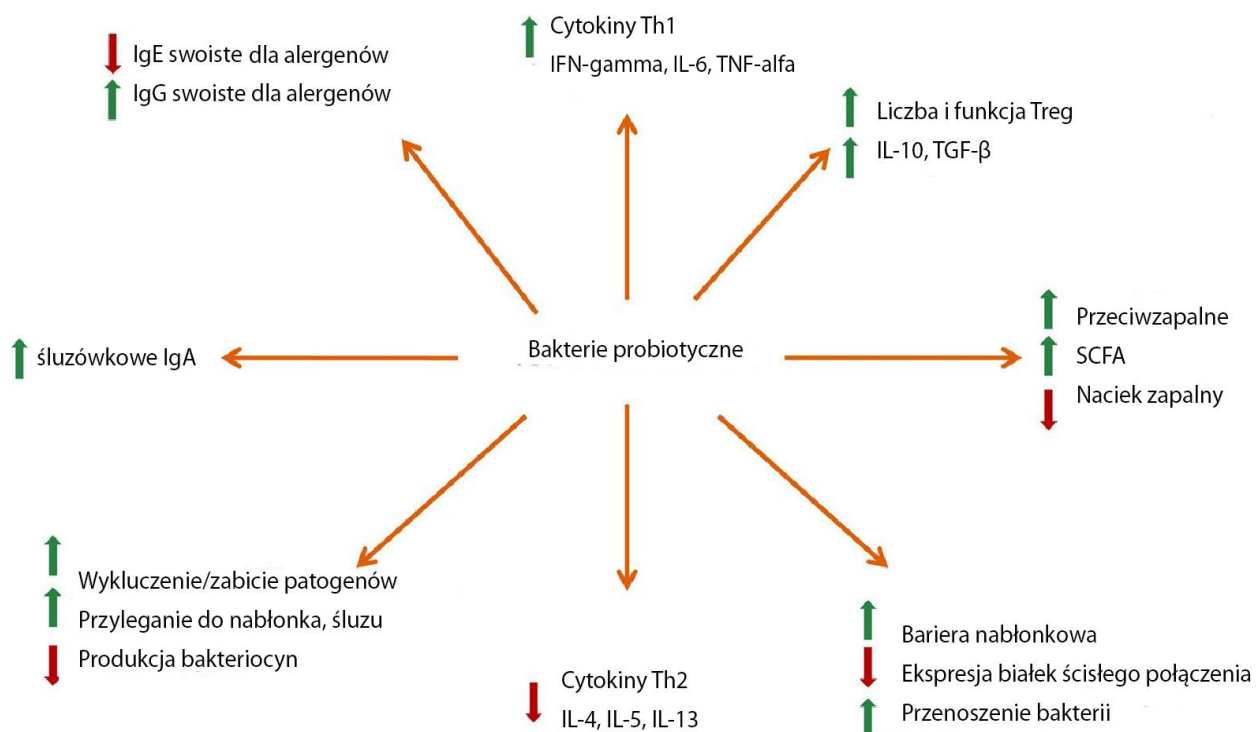
Probiotyczne bakterie kwasu mlekowego (Lactic Acid Bacteria, LAB)

Właściwości hamujące wzrost wobec *S. aureus*

Badania in vitro wykazały, że poprzez dodanie do monowarstw keratynocytów bakterii z rodzaju *Lactobacillus*, bakterie probiotyczne są zdolne do hamowania wzrostu *S. aureus* oraz zapobiegają kolonizacji i wiązaniu się *S. aureus* z keratynocytami warstw skóry [6]. Z tego wynika, że probiotyk LAB działa przeciwzapalnie na skórę AZS oraz hamuje wzrost *S. aureus* kolonizującego skórę.

Badania przeprowadzone przez Blanchet-Rethore i wsp. wykazały, że *Lactobacillus* przylega do monowarstw keratynocytów i niniejszym upośledza przyłączanie się *S. aureus* poprzez konkurencyjne wykluczenie. Badania kliniczne przeprowadzone przez Blanchet- Rethore i wsp. wykazały, że leczenie zmienionej chorobowo skóry pacjentów z AZS olejkami zawierającym poddany obróbce termicznej *Lactobacillus johnsonii* spowodowało miejscową poprawę kliniczną z istotną redukcją kolonizacji *S. aureus* [7]. Prince i wsp. sugerują, że bakterie z rodzaju *Lactobacillus* wpływają na ekspresję struktur adhezyjnych na powierzchni korneocytów, co zapobiega wiązaniu *S. aureus*. Peral i wsp. sugerują, że LAB może być w stanie hamować wzrost i tworzenie biofilmu *S. aureus* poprzez systemy sygnalizacji chemicznej (quorum sensing) kontrolujące tworzenie biofilmu [6].

Ryc. 2. Mechanizmy działania znane dla bakterii probiotycznych.



Według Clausena i wsp. kompleks klonalny 1 (Clonal Complex 1,CC1) *S. aureus* jest specyficzny dla kolonizacji pacjentów z AZS z mutacjami genu filagryny (FLG) [8]. Stąd badanie LAB o specyficznym działaniu przeciwdrobnoustrojowym wobec *S. aureus* CC1 byłoby innowacyjnym rozwiązaniem w profilaktyce i leczeniu infekcji bakteryjnych oraz stanów zapalnych.

„Probiotyki LAB działają przeciwzapalnie na skórę AZS i hamuje wzrost *S. aureus* kolonizującego skórę”

Lactobacillus plantarum LB244R®

Szczep o najwyższej sile działania wobec *Staphylococcus aureus*

Lactobio stworzyło i zbudowało zastrzeżoną platformę odkrywczą i przesiewową składającą się z +1000 nowych wyizolowanych bakterii kwasu mlekowego (LAB), a kolekcja ta stale się powiększa o nowe izolaty. Kolekcja bakterii kwasu mlekowego jest badana w celu zidentyfikowania najlepszych szczepów probiotycznych ukierunkowanych na konkretne potrzeby lub dysfunkcje mikrobiomu związane z konkretnymi chorobami. *Lactiplantibacillus plantarum* zapobiega przenoszeniu MRSA między dwoma osobami poprzez kontakt fizyczny i zmniejsza możliwości kolonizacji. *Lactiplantibacillus plantarum* LB244R®, wybrany do probiotycznych produktów do pielęgnacji skóry, jest Gram-dodatnią bakterią wytwarzającą kwas mlekowy. Został wyselekcjonowany ze względu na jego zdolność do hamowania wzrostu patogenego *Staphylococcus aureus*, w tym MRSA oraz patogenu CC1. CC1 jest komensalnym typem klonalnym opornego *S. aureus* związanym z atopowym zapaleniem skóry.

„*Lactiplantibacillus plantarum* LB244R® został wyselekcjonowany poprzez ukierunkowane badania przesiewowe” Publikacja: Christensen et al. 2021[9].

Tabela 1. Aktywność przeciwbakteryjna *L. plantarum* LB244R® wobec trzech różnych szczepów patogenego *S. aureus*.

Bakteria patogenna	Strefa zahamowania (mm)	Średnica (mm)
<i>Staphylococcus aureus</i> COL (MRSA)	0.9	2.5
<i>Staphylococcus aureus</i> US300 (MRSA)	0.9	2.3
<i>Staphylococcus aureus</i> CC1**	0.8	2.5

***S. aureus* CC1 jest izolowany od pacjenta z ludzkim atopowym zapaleniem skóry [8].

Działanie przeciwbakteryjne *L. plantarum* LB244R® wobec trzech patogenych szczepów *Staphylococcus aureus* przedstawionych w tabeli 1 określono jako strefy zahamowania w testach rozcieńczeniowym i dyfuzyjnym płytkowym.



Egzema

Cellulitis

Wypryski

Liszajec

Trądzik różowaty

Ryc. 5. Choroby skóry bezpośrednio lub pośrednio związane z *Staphylococcus aureus*.

Lactiplantibacillus plantarum LB244R[®] został przetestowany przez konsumentów z niezdiagnozowanymi problemami skórными związanymi z infekcją lub stanem zapalnym np. krostami, egzemą i ranami, a także pacjentów z AZS i trądzikiem różowatym. Znaczące rezultaty uzyskuje się w ciągu kilku tygodni. Niektórzy pacjenci są w stanie ograniczyć lub zakończyć przyjmowanie kremów hormonalnych lub innych przepisanych leków.

L. plantarum LB244R[®] posiada pełny genom zsekwencjonowany przez Lactobio i zawiera sekwencję genomu dla bakteriocyn: plantarycyny E, plantarycyny F, plantarycyny A i plantarycyny J. Ponadto szczep LB244R[®] został przetestowany na modelu „sztucznej” skóry składającym się z 7 warstw komórek 3D ludzkiej skóry Episkin Reconstructed Human Epidermis (RHE). W tych testach LB244R[®] zwiększał IL-8, TNF-alfa i β -defensyny w modelu skóry i był skuteczny w zwiększaniu wrodzonego systemu obrony immunologicznej gospodarza.

TNF-alfa jest cytokiną prozapalną, która wzrasta w miejscu zmian skórnych w atopowym zapaleniu skóry i łuszczycy, wywołując ostrą odpowiedź immunologiczną poprzez indukcję ludzkich β -defensyn i IL13. IL-8 przyciąga neutrofile do miejsca zakażenia skóry w celu fagocytozy i zabicia bakterii chorobotwórczych, a ludzkie β -defensyny oddziałują na błony bakteryjne z następową depolaryzacją i lizą komórek.



Dzień 1

Dzień 9

Ryc. 6. *Lactiplantibacillus plantarum* LB244R[®] zastosowano na skórę 8-letniego chłopca z atopowym zapaleniem skóry (1-2 aplikacje dziennie). Efektem działania produktu probiotycznego jest widoczne zmniejszenie podrażnienia skóry, zaczerwienienia i nasilenia wyprysków.

Mechanizmy

Żywa *Lactiplantibacillus plantarum* LB244R®, żywa, innowacyjna, probiotyczna bakteria kwasu mlekowego wyizolowana z białej kapusty o specjalnej właściwości hamowania wzrostu *Staphylococcus aureus*. Bakterie probiotyczne przyczyniają się do wzmocnienia kompetencji immunologicznej, wspomagają procesy odnowy skóry i barierę skórną poprzez stabilizację połączeń ścisłych.

- Wykazuje aktywność przeciwbakteryjną wobec bakterii patogennych (*S. aureus*).
- Wspiera kompetencje immunologiczne.
- Poprawia funkcję barierową skóry.
- Aktywuje odnowę skóry.
- Zmniejsza podrażnienia, swędzenia i zaczerwienienia.

Protokół nr:	19E4149 - Badanie dermokliniczne
Plan:	Badanie otwarte, porównanie przed/po
Planowana wielkość próby:	35 wstępnie włączonych osób w celu włączenia 25 osób i uzyskania wyników na 20 osobach.
Nazwa: / kod:	Preparat lipidowy z <i>L. plantarum</i> LB244R
Dawkowanie:	2 razy dziennie (rano i po południu)
Czas trwania:	14 dni
Droga podania	Miejscowo

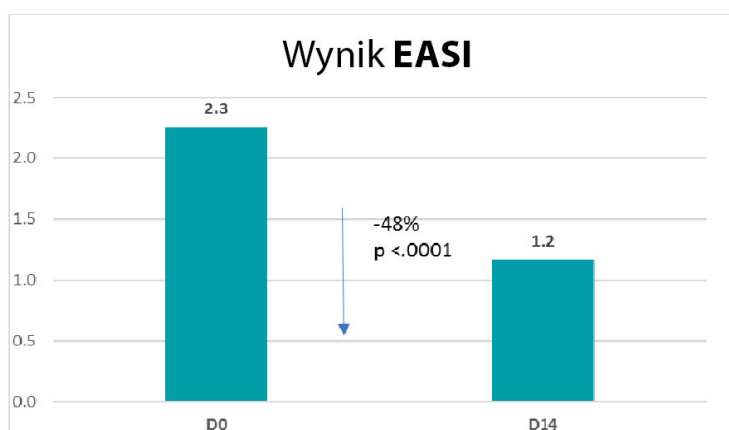
Wnioski:

- Bardzo dobra tolerancja na poziomie skórnym.
- Działanie przeciwzapalne, charakteryzujące się znaczącym zmniejszeniem wyniku Eczema Area Severity Index (EASI).
- Znaczące działanie łagodzące ze zmniejszeniem świądu średnio o 82% w wizualnej skali analogowej (VAS) D14.
- Poprawę komfortu zaobserwowano u 96% badanych.

Efekt przeciwzapalny

znaczne obniżenie wyniku EASI o 48% średnio w 14 dni (D14)

Poprawę zaobserwowano u 67% badanych.



Bezpieczeństwo i toksyczność

Lactiplantibacillus plantarum

Lactiplantibacillus plantarum ma długą tradycję stosowania w produkcji żywności fermentowanej oraz jako probiotyk w suplementach diety. *Lactiplantibacillus plantarum* znajduje się na liście GRAS i na liście Qualified Presumption of Safety (QPS) Europejskiego Urzędu ds. Bezpieczeństwa Żywności, dzięki czemu jest bezpieczny do spożycia doustnego.

Tolerancja

Skóra: Nie odnotowano negatywnego wpływu na stan skóry, a w odniesieniu do podrażnień skóry, produkty są klasyfikowane jako nieszkodliwe.

Oczy: Produkty są bezpieczne do stosowania w okolicach oczu. Sklasyfikowane jako niedrażniące.

Alergeny

Produkty nie mają potencjału alergizującego. W razie wątpliwości, przed użyciem należy nanieść niewielką ilość na wewnętrzną stronę skóry przedramienia. Jeśli w ciągu 24 godzin nie wystąpi podrażnienie lub stan zapalny, produkt powinien być bezpieczny do stosowania.

Status GMO

Nie-GMO

Pochodzenie

Lactiplantibacillus plantarum jest wyizolowany przez Lactobio A/S i pochodzi z duńskich warzyw (kapusta). Masło shea, olej migdałowy, olej jojoba i olej słonecznikowy pochodzą z bezpiecznych źródeł, które można określić. Szczep LB244R® jest zdeponowany na mocy Traktatu Budapeszteńskiego.

Analiza

Zgodnie z przepisami UE, produkty podlegają szczegółowej analizie i kontroli na poziomie surowców. Skuteczność *Lactiplantibacillus plantarum* jest określana przed dopuszczeniem produktu do obrotu, a aktywność wobec *Staphylococcus aureus* jest śledzona za pomocą testu spot-on lawn.

Własność intelektualna

Szczep *Lactiplantibacillus plantarum* LB244R® oraz receptury produktów są chronione w oczekujących na rozpatrzenie wnioskach o pierwszeństwo patentowe. Patent zgłoszony.

Bibliografia

- [1] Brown, Sara J. 2016. "Atopic Eczema." *Clinical Medicine* 16 (1): 66–69.
- [2] Totté, J. E.E., W. T. van der Feltz, M. Hennekam, A. van Belkum, E. J. van Zuuren, and S. G.M.A. Pasmans. 2016. "Prevalence and Odds of *Staphylococcus Aureus* Carriage in Atopic Dermatitis: A Systematic Review and Meta-Analysis." *British Journal of Dermatology* 175 (4): 687–95.
- [3] Byrd, Allyson L., Yasmine Belkaid, and Julia A. Segre. 2018. "The Human Skin Microbiome." *Nature Reviews Microbiology* 16(3). Nature Publishing Group: 143–55.
- [4] Nakatsuji, Teruaki, Tiffany H. Chen, Aimee M. Two, Kimberly A. Chun, Saisindhu Narala, Raif S. Geha, Tissa R. Hata, and Richard L. Gallo. 2016. "Staphylococcus Aureus Exploits Epidermal Barrier Defects in Atopic Dermatitis to Trigger Cytokine Expression." *Journal of Investigative Dermatology* 136 (11): 2192–2200.
- [5] Hassoun, Ali, Peter K. Linden, and Bruce Friedman. 2017. "Incidence, Prevalence, and Management of MRSA Bacteremia across Patient Populations—A Review of Recent Developments in MRSA Management and Treatment." *Critical Care* 21 (1).
- [6] Prince, Tessa, Andrew J. McBain, and Catherine A. O'Neill. 2012. "Lactobacillus Reuteri Protects Epidermal Keratinocytes from *Staphylococcus Aureus*-Induced Cell Death by Competitive Exclusion." *Applied and Environmental Microbiology* 78 (15): 5119–26. doi: 10.1128/AEM.00595-12.
- [7] Mohammadsaeed W., McBain A.J., Cruickshank S.M. and Catherine A. O'Neill (2014). Lactobacillus rhamnosus GG inhibits the toxic effects of *Staphylococcus aureus* on epidermal keratinocytes. *Appl Environ Microbiol*, 80 (18), pp. 5773-5781.
- [8] Clausen, M. L., S. M. Edslev, P. S. Andersen, K. Clemmensen, K. A. Kroghfelt, and T. Agner. 2017. "Staphylococcus Aureus Colonization in Atopic Eczema and Its Association with Filaggrin Gene Mutations." *British Journal of Dermatology* 177 (5): 1394–1400.
- [9] Christensen, I.B., Vedel, C., Clausen, M.L., Kjærulff, S., Agner, T. and D.S. Nielsen. 2021. Targeted screening of lactic acid bacteria with antibacterial activity toward *Staphylococcus aureus* clonal complex type 1 associated with atopic dermatitis. *Frontiers in Microbiology*, Vol 12, article 733847. doi: 10.3389/fmicb.2021.733847

Dystrybucja w Polsce:

Nature Science sp. z o.o.

ul. Jarzębinowa 24, 11-034 Stawiguda

Kontakt:

tel. 518 721 255

biuro@naturescience.eu



NATURE
SCIENCE

Lactobio A/S

Lersø Parkallé 42

DK-2100 Kopenhaga

Dania

Publikacja Lactobio,

wersja 3, 1 kwiecień 2022

Prawa autorskie Lactobio A/S