



# *drn* Bulletin

RICERCA SCIENTIFICA E INFORMAZIONE VETERINARIA

## **Disbiosi cutanea, batteri benefici e dermatite atopica del cane**

Domenico Santoro,  
DVM, DrSc, MS, PhD, DECVD, DACVD, DACVM

 nextmune Italy



# Linkskin

## Il prurito è finito!

Un supporto innovativo  
per cani e gatti sensibili.

PROVALI  
DA SOLI O IN  
COMBINAZIONE



# Disbiosi cutanea, batteri benefici e dermatite atopica del cane

Domenico Santoro, DVM, DrSc, MS, PhD, DECVD, DACVD, DACVM

La cute può essere paragonata ad un ecosistema complesso in cui convivono molteplici comunità di organismi. Queste comunità sono composte da batteri, funghi, archaea e parassiti e la loro interazione con l'ospite può avere sia effetti positivi che negativi sulla risposta immunitaria locale e sistemica. Quando questo equilibrio tra le specie viene interrotto (disbiosi), specie patogene possono prendere il sopravvento e questo vale sia per i batteri, che per i funghi ed i parassiti. Negli ultimi anni la crescente popolarità di metodologie come il New Generation Sequencing (NSG) ha permesso ai ricercatori di immergersi in profondità nelle comunità batteriche e fungine che vivono sulla cute e nel tratto gastrointestinale portando alla luce uno scenario microbiologico impensabile fino a pochi decenni fa. Questa nuova tecnica ha consentito agli scienziati di definire e caratterizzare meglio la ricchezza e la varietà delle popolazioni batteriche e fungine che ospitano la cute ed il tratto gastrointestinale negli esseri umani e negli animali.

## Microbioma e cute sana

Come accennato in precedenza, il concetto di microbioma e microbiota ha acquisito maggiore rilevanza negli ultimi decenni grazie all'utilizzo della tecnica NSG. Tuttavia, prima di approfondire il concetto di microbioma e la sua interazione con l'ospite è importante chiarire la nomenclatura corretta. Sebbene comunemente usati in modo intercambiabile, microbioma e microbiota indicano concetti diversi. Infatti, con il termine "microbiota" (precedentemente indicato come microflora) si fa riferimento alla descrizione di microrganismi viventi presenti in un ambiente definito (ad esempio cute o tratto gastrointestinale).<sup>1</sup> Al contrario, il termine "microbioma" si riferisce all'insieme dei genomi di tutti i microrganismi in un ambiente specifico. Questo include non solo le comunità microbiologiche, ma anche elementi strutturali microbici, metaboliti e condizioni ambientali.<sup>1</sup> Inoltre, termini come alfa diversità (una misura della diversità del microbioma applicabile a un singolo campione) e beta diversità (una misura della somiglianza o dissomiglianza di due comunità) sono anche molto comunemente usati negli studi sul microbioma.

Negli ultimi decenni il numero di articoli sia in medicina umana che veterinaria sull'importanza del microbioma cutaneo e gastrointestinale sono aumentati in modo esponenziale. Nell'uomo, molti

studi osservazionali hanno evidenziato l'importanza di un microbioma diversificato, e come diverse comunità batteriche (*Corynebacteriaceae*, *Propionibacteriaceae*, *Micrococcaceae*, *Bacteroidetes*, Cianobatterici) siano tipiche di differenti parti del corpo a seconda delle caratteristiche, ad esempio, riferito alla cute, se si parla di aree sebacee, umide o secche.<sup>2,3</sup> Inoltre, è chiaro che il microbioma cutaneo non è un ecosistema statico, ma piuttosto un sistema fluido e dinamico in cui organismi benefici e patogeni convivono ed evolvono in accordo con l'età dell'ospite. Infatti, nell'uomo è stato dimostrato come il microbioma cutaneo dei neonati sia diverso dal microbioma cutaneo di un adulto (molto meno diversificato e ricco di *Firmicutes*), che, a sua volta, è diverso dal microbioma cutaneo di un anziano.<sup>2,3</sup> Allo stesso modo, anche il microbioma (noto anche come microbioma fungino) è molto vario e comprende diverse specie fungine a seconda dell'area corporea indagata (e.g., cute, polmoni, tratto gastrointestinale, tratto urogenitale).<sup>4</sup>

Analogamente a quanto avviene nell'uomo, studi recenti condotti sui cani hanno identificato anche qui un ecosistema microbico cutaneo estremamente diversificato, caratterizzato principalmente da *Proteobatteri*, *Actinobatteri*, *Firmicutes*, *Bacteroides* e *Fusobacteria* da un lato,<sup>5</sup> ed *Ascomycota*, *Leotiomycetes*, *Saccharomycetes*, *Sordariomycetes*, *Basidiomycota* e *Ustilaginomycetes* dall'altro.<sup>6</sup> Inoltre, analogamente agli studi sull'uomo, anche nel cane sono stati identificati microbiomi unici della cute, del tratto gastrointestinale, di quello urogenitale, delle cavità nasali e orali.<sup>7</sup> Sebbene nei cani non siano state riconosciute aree maggiormente umide, secche o sebacee, sono stati identificati microbiomi unici in diverse aree del corpo come ascelle, padiglioni auricolari, congiuntiva, narice, regione perianale o commessure labiali.<sup>5</sup> Inoltre, per ciò che concerne la cute, si osserva un microbioma significativamente più diversificato sulla cute con peli rispetto alle giunzioni mucocutanee.<sup>5</sup>

Come accennato in precedenza, il microbioma non è un ecosistema statico, ma piuttosto un sistema fluido e dinamico in cui giocano un ruolo fondamentale numerosi fattori esterni, tra cui le proprietà fisiche intrinseche dell'ambiente (ad esempio pH, idratazione cutanea, regione corporea, salinità), le caratteristiche biologiche (ad esempio età, sesso, fattori genetici), le caratteristiche geografiche (ad esempio ambiente

rurale o urbano, inquinamento, clima), lo stato di salute (ad esempio infezioni, uso di antimicrobici, integrità della barriera) e lo stile di vita (ad esempio dieta, igiene, dinamiche sociali). Tutti questi fattori hanno un ruolo significativo nel determinare un microbioma specifico.<sup>8</sup> Inoltre, il microbioma può essere condiviso tra le persone (e gli animali da compagnia) che vivono in stretto contatto o nello stesso nucleo familiare<sup>9</sup> o anche tra individui che praticano sport caratterizzati da continui contatti.<sup>10</sup>

### **Dermatite atopica e disbiosi cutanea del cane**

Secondo la nuova definizione di dermatite atopica canina proposta dall'ICADA, "la dermatite atopica canina è una malattia infiammatoria cutanea ereditaria, generalmente pruriginosa e caratterizzata prevalentemente dalle cellule T, che coinvolge l'interazione tra anomalie della barriera cutanea, sensibilizzazione agli allergeni e disbiosi microbica".<sup>11</sup> La nuova definizione incorpora l'alterazione del microbioma cutaneo (disbiosi) come componente integrante della malattia, evidenziando l'importanza che i batteri cutanei rivestono nella risposta immunitaria locale e sistemica.

In particolare, è noto che, come nell'uomo, anche nei cani affetti da dermatite atopica il microbioma cutaneo risulta alterato ed associato ad una diminuzione della diversità microbica unitamente ad un'abbondanza (relativa), significativamente più elevata di *Firmicutes*, in particolare di organismi appartenenti al genere *Staphylococcus*.<sup>5,12</sup> Inoltre, sembra che esista una forte correlazione tra diversità microbica, proporzione del numero di Stafilococchi e gravità della malattia atopica (questo fenomeno è noto anche come ipotesi di progressione). In particolare, nell'uomo è stato dimostrato che un aumento della gravità della malattia atopica è generalmente preceduto da un aumento della proporzione di Stafilococchi e da una diminuzione indotta della diversità microbica.<sup>13</sup>

Come per la cute, anche il microbioma auricolare è stato oggetto di recenti pubblicazioni in Europa e negli Stati Uniti. Tali studi dimostrano come una diminuzione della ricchezza di popolazioni batteriche,<sup>14</sup> associata ad un aumento della proporzione di *Staphylococcaceae* (*Staphylococcus spp.*) e ad una riduzione delle *Enterobacteriaceae* (*Escherichia coli*) sia presente nei canali auricolari dei cani atopici rispetto ai canali auricolari sani.<sup>15</sup>

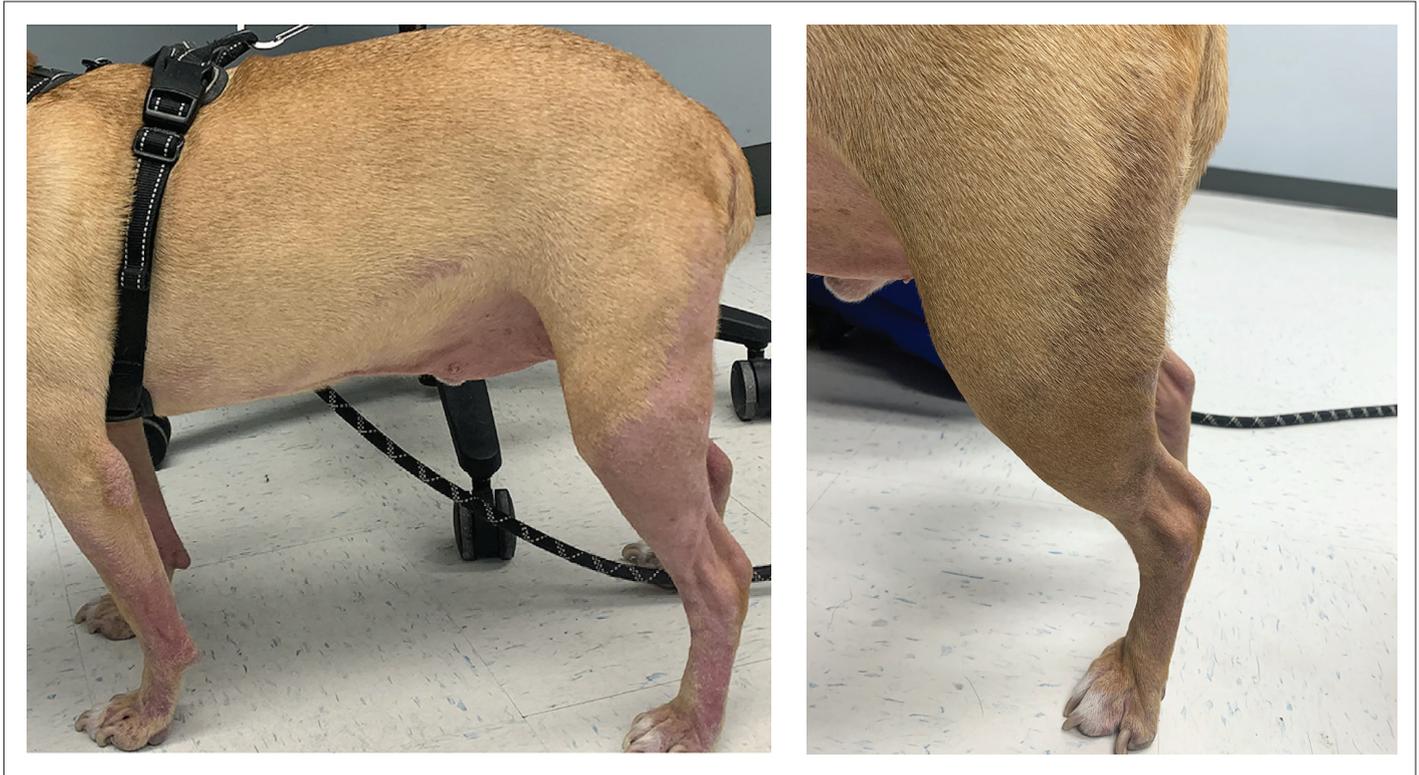
Detto questo, è importante notare che non è stato ancora individuato un rapporto causa-effetto tra l'aumento della proporzione degli Stafilococchi e lo sviluppo della malattia atopica. In altre parole, non è ancora chiaro se la disbiosi cutanea sia una causa o una conseguenza dello stato atopico.

### **Influenza dei batteri benefici nella dermatite atopica del cane**

Dalla breve sintesi sopra riportata, risulta chiaro quanto sia importante avere un microbioma cutaneo sano e come una disbiosi cutanea possa associarsi ad un'esacerbazione dei segni clinici della dermatite atopica; questo è vero nell'uomo come nei cani. Per questi motivi sono stati fatti molti tentativi per cercare di riequilibrare la disbiosi cutanea come possibile trattamento della dermatite atopica. In particolare, nei cani atopici è stato studiato l'uso di probiotici applicati localmente o somministrati per via orale. Ancora una volta, è importante conoscere le diverse nomenclature per comprendere meglio i risultati ed i meccanismi dei trattamenti specifici. Pertanto, l'Organizzazione Mondiale della Sanità (OMS) ha definito e limitato il termine "probiotico" a **microrganismi vivi** che, quando somministrati in quantità adeguate, conferiscono un beneficio per la salute a un ospite specifico (uomo o cane).<sup>16</sup> Tali microrganismi non devono essere tossici, patogeni o portare resistenza agli antibiotici.<sup>16</sup> Nell'uomo, i generi principalmente associati a questa definizione includono *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, *Streptococcus (thermophilus)*, e *Saccharomyces (boulardii)*. Al contrario, i probiotici inattivati, morti, i batteri di altri generi o altri microrganismi al di fuori di quelli sopradescritti non possono essere classificati come "probiotici" ma piuttosto sono più appropriatamente definiti come "batteri benefici".<sup>17</sup>

In particolare, l'uso di batteri benefici sotto forma di probiotici inattivati è stato recentemente visto con favore come trattamento alternativo ed efficace per la dermatite atopica canina (e umana). I probiotici uccisi dal calore, appartenenti principalmente al genere *Lactobacillus* o *Vitreoscella*, sono stati studiati con successo rispettivamente nei cani<sup>18</sup> e negli esseri umani.<sup>19</sup> Negli esseri umani, l'uso di un lisato di *V. filiformis* applicato localmente sulla cute quotidianamente per 30 giorni è stato associato ad una significativa diminuzione della gravità dei segni clinici e del prurito nelle persone con dermatite atopica rispetto al placebo o all'inizio dello studio (nessun cambiamento nel gruppo placebo).<sup>19</sup> Inoltre, è stata osservata una diminuzione di *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus spp.* ed *E. coli*, ma non di *S. epidermidis* (batteri benefici) rispetto al placebo o durante la terapia.<sup>19</sup>

Per quanto riguarda la dermatite atopica canina, le informazioni sugli effetti benefici dei probiotici somministrati per via orale sono molto controverse con diversi studi che mostrano una mancanza di benefici apprezzabili rispetto al placebo quando somministrati a cani adulti.<sup>20-22</sup> Al contrario, uno studio recentemente pubblicato sugli effetti benefici di una formulazione spray contenente una miscela di



lattobacilli tinalizzati (quindi non vitali) (*L. reuteri* e *L. rhamnosus GG*), i loro terreni di coltura, vitamina D, e polifenoli (Linkskin® spray, DRN - Nextmune) è stata utilizzata con successo come monoterapia nei cani naturalmente affetti da dermatite atopica da lieve a moderata.<sup>18</sup>

In tale studio, gli autori hanno utilizzato Linkskin® spray ogni 24 ore sulle aree glabre (ascelle, torace, addome, e regioni inguinali) per 28 giorni. Ciascun cane è stato valutato clinicamente per la gravità dei segni clinici e del prurito, nonché per l'integrità della barriera cutanea nei giorni 0, 14, 28 e 42, mentre l'analisi del microbioma è stata effettuata nei giorni 0 e 28.

Alla fine dello studio, una diminuzione significativa della gravità clinica (riduzione del 50% dopo 14 e 28 giorni e riduzione del 90% dopo 42 giorni) è stata osservata non solo sulle aree trattate, ma anche su altre regioni del corpo (riduzione del 50% dopo 14 e 28 giorni e riduzione del 70% dopo 42 giorni).

Allo stesso modo, è stata osservata anche una diminuzione del prurito (riduzione del 30% dopo 28 giorni e riduzione del 60% dopo 42 giorni). Al contrario, non sono stati osservati cambiamenti significativi nel microbioma cutaneo e nell'integrità della cute, sebbene sia stata osservata una diminuzione dell'idratazione cutanea nelle aree non direttamente trattate con lo spray (padiglioni auricolari) come valutazione indiretta dei potenziali benefici di idratazione associati al prodotto.

È interessante notare che i benefici clinici dello spray non erano limitati solo alle aree trattate, ma piuttosto estesi a tutto il corpo evidenziando il beneficio sistemico della formulazione utilizzata. Inoltre, gli effetti benefici sono durati per oltre 14 giorni dopo l'interruzione del trattamento con un effetto significativo sui segni clinici e sul prurito, suggerendo che, sebbene i probiotici inattivati non siano in grado di stabilirsi sulla cute e modificare direttamente il microbioma cutaneo, hanno un effetto significativo e duraturo sul sistema immunitario cutaneo al punto da essere in grado, da soli, di controllare i segni clinici della dermatite atopica lieve anche giorni/settimane dopo la sospensione del trattamento.



## Conclusioni

In conclusione, l'importanza di un microbioma cutaneo alterato nello sviluppo/esacerbazione della dermatite atopica è chiara e consolidata. Tuttavia, se questa alterazione sia una causa o una conseguenza della dermatite atopica è ancora incerto proprio a causa della natura osservazionale degli studi sul microbioma pubblicati finora. Un'attenzione particolare è stata dedicata al trattamento delle infezioni cutanee derivanti da una disbiosi cutanea, tuttavia, solo di recente, l'importanza delle applicazioni topiche di batteri benefici ha guadagnato abbastanza interesse da indurre le aziende farmaceutiche a esaminare questa opzione terapeutica alternativa.

Come ci insegna l'esperienza clinica di Linkskin® spray, l'uso di probiotici inattivati dal calore (batteri benefici) non solo è efficace nel gestire i segni clinici della dermatite atopica nel cane, in particolare il prurito, ma ha un effetto duraturo in tempo-breve sull'immunità locale al punto che i sintomi clinici continuano a migliorare in risposta all'interazione iniziale tra ospite e batteri tinalizzati.<sup>18</sup> Infatti, anche se non vitali, i batteri benefici sono in grado di stimolare una risposta marcatamente antinfiammatoria e possono inibire, per competizione, l'adesione e l'attività degli organismi patogeni.<sup>23,24</sup>

Allo stesso tempo, l'interazione tra ospite e batteri benefici può indurre l'attivazione delle difese dell'ospite (tra gli altri peptidi di difesa dell'ospite) in grado di combattere i batteri patogeni rinforzando al tempo stesso la barriera cutanea.<sup>23,24</sup>

Complessivamente questi dati evidenziano quanto sia importante per i medici clinici iniziare a cercare trattamenti alternativi in grado non necessariamente di uccidere direttamente i batteri e

diminuire l'infiammazione, ma piuttosto organismi benefici in grado di raggiungere la stessa efficacia attraverso l'interazione con l'ospite evitando effetti collaterali e pressione batterica.

Sulla base di questi risultati, sebbene non fosse lo scopo di questo studio, è possibile ipotizzare che l'uso regolare di Linkskin® spray potrebbe essere utile nel ridurre il numero e la gravità delle ricadute; fenomeno ampiamente riportato aneddoticamente nella pratica clinica. Inoltre, è degno di nota evidenziare la completa assenza di effetti collaterali del prodotto associati ad un rapido miglioramento della sintomatologia clinica.

Tali risultati sono estremamente rilevanti considerando che la maggior parte dei farmaci sistemici necessari per controllare la malattia atopica sono caratterizzati da effetti collaterali (ad esempio, glucocorticoidi) o da una lunga fase di latenza (ad esempio, ciclosporina e immunoterapia).

Infine, come accennato in precedenza, il trattamento della dermatite atopica canina è multifattoriale e richiede l'uso di farmaci sistemici e topici. In quest'ottica, l'uso regolare di prodotti come Linkskin® spray può rivelarsi uno strumento estremamente utile, sia da associare alla terapia sistemica, come si evidenzia dalle immagini prima e dopo 30 giorni di applicazioni giornaliere di Linkskin® nella gestione della malattia atopica, sia da utilizzare ai fini preventivi in soggetti predisposti. L'obiettivo finale, laddove associati ad una terapia farmacologica, è la riduzione della dose e della frequenza dei farmaci, migliorando al tempo stesso la qualità della vita dei cani e dei loro proprietari ed evitando gli effetti collaterali e i costi di farmaci necessari per la gestione della patologia atopica.

## References

1. Berg G, Rybakova D, Fischer D, Cernava T, Vergès MC, Charles T, Chen X, Cocolin L, Eversole K, Corral GH, Kazou M, Kinkel L, Lange L, Lima N, Loy A, Macklin JA, Maguin E, Mauchline T, McClure R, Mitter B, Ryan M, Sarand I, Smidt H, Schelkle B, Roume H, Kiran GS, Selvin J, Souza RSC, van Overbeek L, Singh BK, Wagner M, Walsh A, Sessitsch A, Schlöter M. Microbiome definition re-visited: old concepts and new challenges. *Microbiome*. 2020 Jun 30;8(1):103.
2. Grice EA, Segre JA. The skin microbiome. *Nat Rev Microbiol*. 2011 Apr;9(4):244-53. doi: 10.1038/nrmicro2537. Erratum in: *Nat Rev Microbiol*. 2011 Aug;9(8):626.
3. Ottman N, Smidt H, de Vos WM, Belzer C. The function of our microbiota: who is out there and what do they do? *Front Cell Infect Microbiol*. 2012 Aug 9;2:104.
4. Underhill DM, Iliev ID. The mycobiota: interactions between commensal fungi and the host immune system. *Nat Rev Immunol*. 2014 Jun;14(6):405-16.
5. Rodrigues Hoffmann A, Patterson AP, Diesel A, Lawhon SD, Ly HJ, Elkins Stephenson C, Mansell J, Steiner JM, Dowd SE, Olivry T, Suchodolski JS. The skin microbiome in healthy and allergic dogs. *PLoS One*. 2014 Jan 8;9(1):e83197. doi: 10.1371/journal.pone.0083197.
6. Meason-Smith C, Diesel A, Patterson AP, Older CE, Mansell JM, Suchodolski JS, Rodrigues Hoffmann A. What is living on your dog's skin? Characterization of the canine cutaneous mycobiota and fungal dysbiosis in canine allergic dermatitis. *FEMS Microbiol Ecol*. 2015 Dec;91(12):fiv139.
7. Human Microbiome Project Consortium. Structure, function and diversity of the healthy human microbiome. *Nature*. 2012 Jun 13;486(7402):207-14.
8. Rodrigues Hoffmann, A., Older, C.E., Faccin, M. (2022). The Nature and Functions of Vertebrate Skin Microbiota. In: Rook, G.A.W., Lowry, C.A. (eds) *Evolution, Biodiversity and a Reassessment of the Hygiene Hypothesis*. Progress in Inflammation Research, vol 89. Springer, Cham. [https://doi.org/10.1007/978-3-030-91051-8\\_9](https://doi.org/10.1007/978-3-030-91051-8_9)
9. Song SJ, Lauber C, Costello EK, Lozupone CA, Humphrey G, Berg-Lyons D, Caporaso JG, Knights D, Clemente JC, Nakiely S, Gordon JI, Fierer N, Knight R. Cohabiting family members share microbiota with one another and with their dogs. *Elife*. 2013 Apr 16;2:e00458.
10. Meadow JF, Bateman AC, Herkert KM, O'Connor TK, Green JL. Significant changes in the skin microbiome mediated by the sport of roller derby. *PeerJ*. 2013 Mar 12;1:e53
11. Eisenschenk MC, Hensel P, Saridomichelakis MN, Tamamoto-Mochizuki C, Pucheu-Haston CM, Santoro D. Introduction to the ICADA 2023 canine atopic dermatitis pathogenesis review articles and updated definition. *Vet Dermatol*. 2024 Feb;35(1):3-4.
12. Baldwin HE, Bhatia ND, Friedman A, Eng RM, Seite S. The Role of Cutaneous Microbiota Harmony in Maintaining a Functional Skin Barrier. *J Drugs Dermatol*. 2017 Jan 1;16(1):12-18.
13. Kong HH, Oh J, Deming C, Conlan S, Grice EA, Beatson MA, Nomicos E, Polley EC, Komarow HD; NISC Comparative Sequence Program; Murray PR, Turner ML, Segre JA. Temporal shifts in the skin microbiome associated with disease flares and treatment in children with atopic dermatitis. *Genome Res*. 2012 May;22(5):850-9.
14. Tang S, Prem A, Tjokrosurjo J, Sary M, Van Bel MA, Rodrigues-Hoffmann A, et al. The canine skin and ear microbiome: a comprehensive survey of pathogens implicated in canine skin and ear infections using a novel next-generation-sequencing-based assay. *Vet Microbiol*. 2020; 247: 108764.
15. Ngo J, Taminiau B, Fall PA, Daube G, Fontaine J. Ear canal microbiota - a comparison between healthy dogs and atopic dogs without clinical signs of otitis externa. *Vet Dermatol*. 2018; 29: 425-e140
16. Linares DM, Ross P, Stanton C. Beneficial Microbes: The pharmacy in the gut. *Bioengineered*. 2016;7(1):11-20
17. Thomas AM, Segata N. Multiple levels of the unknown in microbiome research. *BMC Biol*. 2019 Jun 12;17(1):48
18. Santoro D, Fagman L, Zhang Y, Fahong Y. Clinical efficacy of spray-based heat-treated lactobacilli in canine atopic dermatitis: a preliminary, open-label, uncontrolled study. *Vet Dermatol*. 2021 Apr;32(2):114-e23.
19. Gueniche A, Knaut B, Schuck E, Volz T, Bastien P, Martin R, Röcken M, Breton L, Biedermann T. Effects of nonpathogenic gram-negative bacterium *Vitreoscilla filiformis* lysate on atopic dermatitis: a prospective, randomized, double-blind, placebo-controlled clinical study. *Br J Dermatol*. 2008 Dec;159(6):1357-63
20. Ohshima-Terada Y, Higuchi Y, Kumagai T, Hagihara A, Nagata M. Complementary effect of oral administration of *Lactobacillus paracasei* K71 on canine atopic dermatitis. *Vet Dermatol*. 2015 Oct;26(5):350-3, e74-5.
21. Kim H, Rather IA, Kim H, Kim S, Kim T, Jang J, Seo J, Lim J, Park YH. A Double-Blind, Placebo Controlled-Trial of a Probiotic Strain *Lactobacillus sakei* Probio-65 for the Prevention of Canine Atopic Dermatitis. *J Microbiol Biotechnol*. 2015 Nov;25(11):1966-9.
22. Yamazaki C, Rosenkrantz W, Griffin C. Pilot evaluation of *Enterococcus faecium* SF68 as adjunctive therapy for oclacitinib-responsive adult atopic dermatitis in dogs. *J Small Anim Pract*. 2019 Aug;60(8):499-506.
23. Bermudez-Brito M, Plaza-Díaz J, Muñoz-Quezada S, Gómez-Llorente C, Gil A. Probiotic mechanisms of action. *Ann Nutr Metab*. 2012;61(2):160-74.
24. Taverniti V, Guglielmetti S. The immunomodulatory properties of probiotic microorganisms beyond their viability (ghost probiotics: proposal of paraprobiotic concept). *Genes Nutr*. 2011 Aug;6(3):261-74.