



Fondazione per la Ricerca  
sulla Fibrosi Cistica - ETS  
fibrosicisticaricerca.it

AREA 3

Terapie dell'infezione broncopolmonare



Progetto FFC#13/2021

## Probiotici: una strategia emergente contro le infezioni polmonari in fibrosi cistica



**Chi ha condotto la ricerca:**

**Responsabile: Giovanna Batoni**  
(Dipartimento di Ricerca Traslationale e delle Nuove Tecnologie in Medicina e Chirurgia, Università di Pisa)



**Partner: Arianna Pompilio**

(Dip. di Scienze Mediche, Orali e Biotecnologiche, Università G. d'Annunzio di Chieti-Pescara)



**Ricercatori coinvolti: 11**



**Qual è la durata dello studio: 1 anno**



**Finanziamento: € 35.000**



**Adottato da:**

Un respiro in più - Onlus e  
La mano tesa - Onlus





## Perché è importante

L'uso dei soli antibiotici non sempre è sufficiente per combattere le infezioni batteriche croniche che si instaurano nelle persone con fibrosi cistica (FC). Una possibile alternativa è data dai probiotici, ovvero batteri innocui che, se somministrati in quantità adeguate, possono apportare benefici alla salute. L'obiettivo del progetto è selezionare, tra i probiotici commerciali, quelli più adatti per prevenire o curare le infezioni nelle persone con FC.



## Che cosa hanno usato i ricercatori

I ricercatori hanno usato alcuni probiotici del genere *Lactobacillus*, abilitati per l'uso umano, e li hanno somministrati *in vitro* a cellule del batterio patogeno *Pseudomonas aeruginosa* isolato dall'espettorato di persone con FC.



## Che cosa hanno fatto i ricercatori

I probiotici del genere *Lactobacillus* sono stati valutati per la loro capacità di:

- i) sopravvivere in condizioni sperimentali simili a quelle del polmone di persone con FC;
- ii) contrastare la crescita di batteri patogeni isolati dall'espettorato di persone con FC e limitare la loro virulenza;
- iii) inibire l'adesione di *P. aeruginosa* alle cellule epiteliali del polmone;
- iv) esercitare un effetto antinfiammatorio.



## Che cosa hanno ottenuto

*L. plantarum* è stato in grado di interferire con la spessa matrice che protegge *P. aeruginosa* all'interno della pellicola del biofilm batterico, favorendo l'azione dell'antibiotico tobramicina. Tra tutti i probiotici, *L. acidophilus* è quello che ha mostrato la maggiore capacità di aderire alle cellule epiteliali polmonari, una proprietà che gli ha consentito di contrastare l'adesione di *P. aeruginosa* alle stesse cellule. Inoltre, *L. acidophilus* sembra avere anche un'azione antinfiammatoria.

I probiotici *L. rhamnosus* e *L. plantarum* si sono perciò dimostrati candidati promettenti per sopravvivere nell'ambiente polmonare di persone con FC e per competere con *P. aeruginosa*.



## Che cosa succederà ora

I tre tipi di probiotici (*L. plantarum*, *L. rhamnosus* e *L. acidophilus*) sono stati selezionati per ulteriori studi sia *in vitro* sia in modelli animali. I risultati di queste analisi aiuteranno a indirizzare il loro eventuale uso futuro nella clinica.

## Per saperne di più



### Obiettivi

**Selezionare e valutare, tra i probiotici commerciali, quelli per un efficace impiego in fibrosi cistica come strategia alternativa o complementare all'uso degli antibiotici**

Le infezioni croniche e l'infiammazione polmonare giocano un peso rilevante sulla qualità di vita delle persone con fibrosi cistica (FC) e l'uso dei soli antibiotici può non essere sufficiente per combattere le infezioni batteriche nella FC. L'identificazione di nuove opzioni terapeutiche per sostituire o integrare l'uso di antibiotici è altamente auspicabile. Questo progetto è focalizzato sull'identificazione di probiotici, ovvero batteri innocui che se somministrati in adeguate quantità possono apportare benefici alla salute. Il progetto ha lo scopo di selezionare, tra i probiotici commerciali, quelli più adatti per un impiego in FC. I ricercatori useranno modelli sperimentali per valutare l'azione dei probiotici somministrandoli *in vitro* a colture di batteri patogeni isolati dall'espettorato di persone con FC. Sarà considerata la capacità inibitoria dei batteri probiotici sulla replicazione e sulla crescita dei batteri patogeni, e l'espressione da parte di questi di fattori di virulenza (es. enzimi digestivi) che svolgono un ruolo importante nel danno del tessuto polmonare. I probiotici più promettenti saranno indirizzati alla fase successiva e studiati per la loro capacità di proteggere le cellule umane dagli effetti citotossici e dall'eccessiva infiammazione mediata dai batteri patogeni.



### Risultati

**Individuati tre probiotici del genere *Lactobacillus* in grado di contrastare le infezioni da *Pseudomonas aeruginosa* e di esercitare un effetto antinfiammatorio *in vitro***

Diverse evidenze sperimentali suggeriscono l'utilità di somministrare probiotici per via orale nelle persone con fibrosi cistica (FC), sebbene questa misura richieda ancora una dimostrazione completa della sua efficacia clinica.

In questo progetto, i ricercatori sono partiti dall'ipotesi che la somministrazione di specifici tipi (o ceppi) di probiotici per via inalatoria possa avere un effetto benefico locale, direttamente nel sito dell'infezione polmonare. Ciò potrebbe aumentare l'efficacia dei probiotici nelle persone con FC, con l'obiettivo di sostituire o integrare le tradizionali terapie basate sugli antibiotici.

Sono stati presi in considerazione diversi tipi di probiotici appartenenti al genere *Lactobacillus* e già abilitati per l'uso negli esseri umani. Mediante modelli *in vitro*, è stata studiata la capacità di questi probiotici di:

- i) sopravvivere in condizioni sperimentali simili a quelle presenti nei polmoni di persone con FC;
- ii) contrastare la crescita di batteri patogeni isolati dall'espettorato di persone con FC e limitare la loro virulenza;
- iii) aderire e inibire l'adesione del batterio patogeno *P. aeruginosa* a cellule epiteliali polmonari umane;
- iv) esercitare un effetto antinfiammatorio sulle cellule di sangue periferico, che rappresentano i principali responsabili dell'infiammazione e del declino delle funzioni polmonari nelle persone con FC.

Da questa indagine è emerso che i probiotici *L. rhamnosus* e *L. plantarum* sono candidati promettenti per la loro capacità di sopravvivere in un ambiente simile a quello dei polmoni con FC.

## Per saperne di più



Inoltre, questi due tipi di probiotici sono in grado di competere con ceppi di *P. aeruginosa* sia quando il patogeno cresce libero in coltura (modalità di crescita planctonica) sia all'interno del biofilm batterico (una sorta pellicola con cui i batteri si proteggono dall'ambiente circostante). In particolare, è da sottolineare la capacità di *L. plantarum* di interferire con la presenza della spessa matrice che protegge *P. aeruginosa* nel biofilm, favorendo l'azione dell'antibiotico tobramicina.

Rispetto agli altri probiotici, *L. acidophilus* si è distinto per la maggiore capacità di aderire alle cellule epiteliali polmonari e ridurre l'adesione di *P. aeruginosa* alle stesse cellule. Inoltre, *L. acidophilus* ha anche ridotto il rilascio di citochine pro-infiammatorie, sostanze che vengono prodotte dalle cellule del sangue periferico quando sono stimolate con *P. aeruginosa*. Questo risultato suggerisce una possibile azione antinfiammatoria di *L. acidophilus*, che potrebbe rivelarsi utile nelle infezioni e infiammazioni polmonari croniche presenti in molte persone con FC.

In conclusione, il progetto ha identificato *L. plantarum*, *L. rhamnosus* e *L. acidophilus* come probiotici più interessanti da indirizzare verso studi futuri in modelli complessi *in vitro* e in modelli animali. Questi risultati gettano le basi razionali per il futuro impiego clinico di questi probiotici.

## Publicazioni



***Lung-Directed Bacteriotherapy in Cystic Fibrosis: Could It Be an Option?***  
Antibiotics 10.3390/antibiotics11030326, 2022



**antibiotics**



Review

## **Lung-Directed Bacteriotherapy in Cystic Fibrosis: Could It Be an Option?**

Giovanna Batoni \*<sup>1</sup>, Giuseppantonio Maisetta, Esingül Kaya and Semih Esin <sup>1</sup>

Department of Translational Research and New Technologies in Medicine and Surgery, University of Pisa, Via S. Zeno 37, 56123 Pisa, Italy; giuseppantonio.maisetta@unipi.it (G.M.); e.kaya@studenti.unipi.it (E.K.); semih.esin@unipi.it (S.E.)

\* Correspondence: giovanna.batoni@unipi.it

**Author Contributions:** Conceptualization, G.B., G.M., E.K. and S.E.; writing—original draft preparation, G.B.; writing—review and editing, G.B., G.M., E.K. and S.E.; funding acquisition, G.B. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

**Funding:** This research was funded by “The Italian Cystic Fibrosis Foundation, grant number FFC #13/2021”. Adopters: “Un respiro in più”—Onlus and “La mano tesa”—Onlus. The authors were granted an APC waiver by the journal.

**Conflicts of Interest:** The authors declare no conflict of interest.

## Publicazioni



### *Planktonic and Biofilm-Associated Pseudomonas aeruginosa and Staphylococcus epidermidis Elicit Differential Human Peripheral Blood Cell Responses*

Microorganism, 2021





microorganisms



Article

## **Planktonic and Biofilm-Associated *Pseudomonas aeruginosa* and *Staphylococcus epidermidis* Elicit Differential Human Peripheral Blood Cell Responses**

Esingül Kaya <sup>1,†</sup>, Giovanna Batoni <sup>1,†</sup> , Mariagrazia Di Luca <sup>2</sup>, Eleonora Apolloni <sup>1</sup>, Alessandro Mazzoni <sup>3</sup>,  
Giuseppantonio Maisetta <sup>1</sup> and Semih Esin <sup>1,\*</sup> 

<sup>1</sup> Department of Translational Research and New Technologies in Medicine and Surgery, University of Pisa, 56123 Pisa, Italy; e.kaya@studenti.unipi.it (E.K.); giovanna.batoni@unipi.it (G.B.); e.apolloni@studenti.unipi.it (E.A.); giuseppantonio.maisetta@unipi.it (G.M.)

<sup>2</sup> Department of Biology, University of Pisa, 56123 Pisa, Italy; mariagrazia.diluca@unipi.it

<sup>3</sup> Department of Transfusion Medicine and Transplant Biology, Pisa University Hospital, 56124 Pisa, Italy; a.mazzoni@ao-pisa.toscana.it

\* Correspondence: semih.esin@unipi.it; Tel.: +39-050-2213693

† E.K. and G.B. contributed equally to this work.

18 of 20

G.B., G.M., M.D.L., E.A. and A.M.; supervision, S.E. and G.B.; funding acquisition, S.E., G.B. and E.K. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

**Funding:** This research was funded by University of Pisa "Fondi di Ateneo" and by Italian Cystic Fibrosis research foundation, grant FFC#13/2021. E.K. was funded by "Ph.D. Programme Clinical and Translational Science", University of Pisa.

## Abstract presentati a congressi scientifici



- **Activity of cell-free supernatants from probiotic *Lactobacillus* strains against *Pseudomonas aeruginosa* from cystic fibrosis patients**  
50° Congresso Nazionale della Società Italiana di Microbiologia, Napoli 18-21 settembre 2022
- **Antibacterial and antibiofilm activity in artificial sputum medium of *Lactobacilli* against *Pseudomonas aeruginosa* strains isolated from cystic fibrosis patients**  
50° Congresso Nazionale della Società Italiana di Microbiologia, Napoli 18-21 settembre 2022
- **In vitro anti-bacterial, anti-biofilm, and anti-adhesive effects of *Lactobacillus* strains on *Pseudomonas aeruginosa* isolated from cystic fibrosis patients**  
EuroBiofilms 2022, Mallorca, Spain, 31st August to 3rd September 2022
- **Three-label host-cell adhesion assay to assess the exclusion effect exerted by *Lactobacillus acidophilus* on adhesion of *Pseudomonas aeruginosa* to A549 alveolar epithelial cells**  
50° Congresso Nazionale della Società Italiana di Microbiologia, Napoli 18-21 settembre 2022



## Rendiconto economico



### AREA 3

#### Terapie dell'infezione broncopolmonare

#### Progetto FFC#13/2021

### Probiotici: una strategia emergente contro le infezioni polmonari in fibrosi cistica



**Responsabile:**

**Giovanna Batoni**

(Università degli Studi di Pisa, Dipartimento di Ricerca Traslazionale e delle Nuove Tecnologie in Medicina e Chirurgia)



**Periodo:**

01/09/2021-31/08/2022



**Grant assegnato:**

€ 35.000



**Usato per:**

- Materiale di consumo

€ 26.654,91

- Borse di studio

€ 7.500,00

---

€ 34.154,91



**Saldo (usato per altri progetti):**

€ 845,09