

Научная статья

УДК 616-093/-098

<https://elibrary.ru/RXECGY>

Пилотное исследование возможностей метода ПЦР в реальном времени для обнаружения оппортунистических микроорганизмов в образцах с поверхности кожи

Наталья Викторовна Савченко¹✉, Даниил Олегович Корнилов¹,
Вероника Михайловна Симарзина¹, Михаил Андреевич Тряпицын¹,
Диана Мирзозоновна Нечаева¹, Алексей Андреевич Бехтер¹,
Тарек Мохамедович Итани², Данила Леонидович Зорников¹,
Екатерина Сергеевна Ворошилина^{1,3}

¹ Уральский государственный медицинский университет, Екатеринбург, Россия

² Федеральный научно-исследовательский институт
вирусных инфекций «Виром», Екатеринбург, Россия

³ Медицинский центр «Гармония», Екатеринбург, Россия

✉ savchn@yandex.ru

Аннотация. Инфекционные дерматозы являются одной из самых частых патологий кожи у детей, что диктует необходимость изучения вклада микробиоты в развитие заболеваний кожи, а также поиска информативных подходов для рутинного обнаружения ассоциированных с инфекционными дерматозами микроорганизмов (МО). Полимеразная цепная реакция в режиме реального времени (ПЦР-РВ) является перспективным методом для рутинного выявления оппортунистических МО на поверхности кожи. ПЦР-РВ, в отличие от секвенирования следующего поколения (NGS), хорошо адаптирована для практического здравоохранения и позволяет определять количество целевого МО. Кроме того, ПЦР-РВ лишен недостатков культурального исследования. *Цель исследования* — оценить возможности метода ПЦР-РВ в выявлении условно-патогенных микроорганизмов с поверхности кожи. *Материалы и методы.* В исследование включены 13 детей с установленными заболеваниями кожи на амбулаторном приеме дерматовенеролога. Исследование микробиоты проводили методом ПЦР-РВ с помощью наборов реагентов

© Савченко Н. В., Корнилов Д. О., Симарзина В. М., Тряпицын М. А., Нечаева Д. М., Бехтер А. А., Итани Т. М., Зорников Д. Л., Ворошилина Е. С., 2024

© Savchenko N. V., Kornilov D. O., Simarzina V. M., Tryapitsyn M. A., Nechaeva D. M., Bekhter A. A., Itani T. M., Zornikov D. L., Voroshilina E. S., 2024

«БакСкрин УПМ» и «МикозоСкрин» (ООО «ДНК-Технология», Россия). Статистическую обработку данных проводили с помощью R-4.4.0 (сборка от 24 апреля 2024 г.). **Результаты.** Бактериальную ДНК обнаружили в 92,3 % образцах, грибковую ДНК — в 80,8 %. Для образцов с пораженных участков кожи отмечали тенденцию к большему количеству определяемых групп оппортунистических МО и большему суммарному уровню бактериальной ДНК, более частому обнаружению бактерий родов *Staphylococcus* и *Acinetobacter*, бактерий порядка *Enterobacterales* и грибов вида *Candida parapsilosis*. Наибольшее количество бактериальной ДНК отмечали в пробах с пораженных участков кожи у пациентов с атопическим дерматитом ($10^{7,5}$ – $10^{8,2}$ ГЭ/образец), что в среднем в 10 000 раз превышало количество бактериальной ДНК для других образцов. **Выводы.** ПЦР-РВ позволил выявить бактериальную и грибковую ДНК в большинстве образцов с поверхности кожи, как правило, в количествах 10^3 – 10^5 ГЭ/образец.

Ключевые слова: микробиота кожи, ПЦР-диагностика, дерматозы у детей

Для цитирования: Пилотное исследование возможностей метода ПЦР в реальном времени для обнаружения оппортунистических микроорганизмов в образцах с поверхности кожи / Н. В. Савченко, Д. О. Корнилов, В. М. Симарзина [и др.] // Вестник УГМУ. 2024. № 2. С. 61–74. EDN: <https://elibrary.ru/RXECGY>.

Original article

Pilot Study on Real-Time PCR Capabilities for the Detection of Opportunistic Microorganisms in Skin Microbiome Samples

Natalia V. Savchenko¹✉, Daniil O. Kornilov¹, Veronika M. Simarzina¹,
Mikhail A. Tryapitsyn¹, Diana M. Nechaeva¹, Alexey A. Bekhter¹,
Tarek M. Itani², Danila L. Zornikov¹, Ekaterina S. Voroshilina^{1,3}

¹ Ural State Medical University, Ekaterinburg, Russia

² Federal Scientific Research Institute of Viral Infections “Virome”, Ekaterinburg, Russia

³ Medical Center “Garmonia”, Ekaterinburg, Russia

✉ savchn@yandex.ru

Abstract. Infectious dermatoses are one of the most common pathologies of the skin and subcutaneous fat among the pediatric population. Therefore, there is a need to study the contribution of the skin microbiome to the development of skin diseases, as well as to search for informative approaches for the routine detection of microorganisms (MO) associated with infectious dermatoses. Real-time polymerase chain reaction (RT-PCR) is a promising method for routine detection of opportunistic MO in skin microbiome samples.

RT-PCR, unlike next-generation sequencing (NGS), is well adapted for practical health-care and allows quantitative microbial analysis of skin microbiome samples. In addition, RT-PCR is devoid of the disadvantages of bacterial culture-based methods. **Objective.** To assess the capabilities of the RT-PCR method in the detection of opportunistic microorganisms from the skin microbiome samples. **Materials and methods.** The study included 13 children consulting ambulatory dermatologists with diagnosed skin rashes. Microbiota analysis was performed with RT-PCR by using the reagent kits “BacScreen” and “MycoseScreen” (DNA-Technology, LLC, Russia). Statistical analysis of data was carried out using R-4.4.0 (release 2024-04-24). **Results.** Bacterial DNA was detected in 92.3 % of the samples, while fungal DNA — in 80.8 %. For samples from the affected skin areas, we found a higher number of opportunistic MO and a greater total level of bacterial DNA, with a more frequent detection rate of bacteria belonging to the genera *Staphylococcus* and *Acinetobacter*, bacteria of the order *Enterobacterales*, and *Candida parapsilosis*. The highest level of bacterial DNA was observed in samples from the affected skin areas of patients with atopic dermatitis ($10^{7.5}$ – $10^{8.2}$ GE/sample), which in average 10,000 times exceeded the amount of bacterial DNA for other samples. **Conclusion.** RT-PCR detected bacterial and fungal DNA in most samples from the surface of the skin, usually in levels ranging 10^3 to 10^5 GE/sample.

Keywords: skin microbiome, PCR, dermatoses in children

For citation: Savcheno NV, Kornilov DO, Simarzina VM, Tryapitsyn MA, Nechaeva DM, Bekhter AA, et al. Pilot study on real-time PCR capabilities for the detection of opportunistic microorganisms in skin microbiome samples. *USMU Medical Bulletin*. 2024;(2):61–74. (In Russ.). EDN: <https://elibrary.ru/RXECGY>.

Введение

Нормальная микробиота кожи защищает биотоп от колонизации патогенными микроорганизмами (МО) и способствует иммунному гомеостазу [1]. Изменения микробиоты кожи ассоциированы с развитием воспалительных и инфекционных дерматозов [2]. Например, было продемонстрировано более частое обнаружение грамположительных факультативно-анаэробных бактерий (преимущественно *Staphylococcus aureus* и *Staphylococcus epidermidis*) [3], а также грибов родов *Candida* и *Malassezia* у пациентов с заболеваниями кожи [4]. Следует отметить, что инфекционные дерматозы — одна из самых частых дерматологических патологий среди детского населения [5–8], что диктует необходимость изучения вклада кожной микробиоты в развитие этой патологии, а также поиска информативных подходов для рутинного обнаружения ассоциированных с инфекционными дерматозами МО.

Большинство исследований микробиоты кожи выполнено методом секвенирования следующего поколения (англ. Next-Generation Sequencing, NGS) участков гена 16S рибосомальной рибонуклеиновой кислоты (рРНК) — «золотым стандартом» в изучении микробиома последних 20 лет [9]. Однако при своей высокой информативности такой подход не позволяет определять сум-

марный уровень бактериальной дезоксирибонуклеиновой кислоты (ДНК) и количество отдельно взятого МО в образце, что ограничивает его применение в клинической практике. Кроме того, большинство лабораторий России в настоящий момент не обладает необходимой приборной базой и кадрами подходящей квалификации для осуществления подобных исследований.

В то же время хорошо адаптированное для практического здравоохранения культуральное исследование требует нескольких суток для получения результата и применения большого перечня питательных сред. В качестве альтернативы культуральному исследованию для рутинной диагностики оппортунистических МО на коже может быть использован метод мультиплексной полимеразной цепной реакции в режиме реального времени (ПЦР-РВ). Для ПЦР-РВ не требуются питательные среды, а результаты исследования готовы уже через несколько часов. В отличие от NGS, ПЦР-РВ уже используется для рутинной диагностики многих инфекционных патологий и позволяет оценивать количество целевого МО в образце. Эти факты позволяют предположить, что метод ПЦР-РВ является перспективным для рутинного обнаружения оппортунистических МО на поверхности кожи.

Цель исследования — оценить возможности метода полимеразной цепной реакции в режиме реального времени в выявлении условно-патогенных микроорганизмов с поверхности кожи.

Материалы и методы

Пациенты и методы. В исследование включено 13 детей в возрасте от 4,1 до 16,7 лет (Me [Q₂₅; Q₇₅]^{*} — 9,4 [6,5; 15,9] лет). Набор материала осуществлялся на базе Свердловского областного кожно-венерологического диспансера (Екатеринбург) во время амбулаторного приема дерматовенеролога при первичном обращении пациентов с жалобами на высыпания на коже.

Критерии включения в исследование: возраст от 0 до 17 лет 11 мес., наличие инфекционного процесса на гладкой коже или волосистой части головы (первичного или вторичного), информированное добровольное согласие на участие в исследовании. Критерии исключения: использование местных лекарственных средств и эмолентов за день до взятия биоматериала, местных антимикробных средств — в течение 7 дней до взятия биоматериала, системных антимикробных препаратов — в течение 1 месяца до взятия биоматериала. У каждого ребенка брали по 1 мазку с пораженного участка кожи и 1 мазку с интактной кожи (межлопаточная область).

Проведение исследования одобрено локальным этическим комитетом Уральского государственного медицинского университета (протокол № 10 от 20 декабря 2019 г.).

Диагноз атопического дерматита устанавливался относительно критериев Дж. М. Ханифина и Дж. Ражки (англ. J. M. Hanifin, G. Rajka) [10], оцен-

^{*} Me — медиана (англ. Median); Q₂₅; Q₇₅ — нижний и верхний квартили (англ. Lower and Upper Quartiles).

ка степени тяжести производилась на основании шкалы SCORAD* [11]. При постановке диагноза «хроническая экзема кистей» оценка степени тяжести проводилась с использованием индекса EASI** [12]. Степень тяжести себорейного дерматита устанавливалась с использованием индекса SDASI*** [13].

Исследование микробиоты. Материал для исследования собирали стерильным урогенитальным зондом, предварительно смоченным в физиологическом растворе, с участка кожи площадью 2 см². После чего зонд переносили в пробирки типа эппендорф со стерильным физиологическим раствором и транспортировали в лабораторию. Выделение микробной ДНК из образцов проводили с помощью набора реагентов «Проба-НК-Плюс» (ООО «ДНК-Технология», Россия) в соответствии с инструкцией производителя. Исследование микробиоты проводили методом ПЦР-РВ с помощью наборов реагентов «БакСкрин УПМ» и «МикозоСкрин» (ООО «ДНК-Технология», Россия) на амплификаторах «ДТпрайм» и с использованием программного обеспечения того же производителя.

Статистические методы исследования. Статистическую обработку данных проводили с помощью R-4.4.0 (сборка от 24 апреля 2024 г.). Нормальность распределения признаков проверяли тестом Шапиро — Уилка. В качестве средних величин при описании переменных указывали Me [Q₂₅; Q₇₅]. Достоверность различий между частотными показателями оценивали двусторонним точным тестом Фишера, между количественными показателями — U-тестом Манна — Уитни (тестом Уилкоксона для независимых выборок). Все различия считались статистически значимыми при $p < 0,05$.

Результаты исследования

При дерматологическом обследовании у 2 пациентов (15,4 %) выявлен атопический дерматит в стадии обострения (детский период, эритематозно-сквамозная форма, среднетяжелое течение), у 3 (23,1 %) — хроническая экзема кистей. Себорейный дерматит волосистой части головы выявлен у 3 детей (23,1 %), отрубевидный лишай — у 1 ребенка (7,7 %). Инфекционные дерматозы установлены у 4 детей: вульгарное импетиго — у 3 (21,4 %), контактный моллюск — у 1 пациента (7,7 %).

Бактериальную ДНК на пораженных и (или) здоровых участках кожи обнаруживали у всех обследованных пациентов: в 12 образцах (92,3 %) с пораженной кожей и 12 (92,3 %) с интактной. В образцах с пораженных участков кожи выявляли до 8 групп (Me [Q₂₅; Q₇₅] — 2 [1; 3]) оппортунистических бактерий, тогда как из образцов со здоровых участков — до 6 (Me [Q₂₅; Q₇₅] — 1 [0; 3]) ($p = 0,142$; табл. 1).

* SCORAD — индекс тяжести атопического дерматита (англ. Scoring Atopic Dermatitis).

** EASI — индекс тяжести экземы (англ. Eczema Area and Severity Index).

*** SDASI — индекс тяжести себорейного дерматита (англ. Seborrheic Dermatitis Area and Severity Index).

ДНК оппортунистических грибов также идентифицировали у всех пациентов: в 10 пробах (76,9 %) с пораженной кожи и 11 (84,6 %) с интактной. На пораженных участках кожи одновременно обнаруживали до 5 групп оппортунистических грибов (Ме [Q₂₅; Q₇₅] — 1 [1; 2]), на здоровых — до 3 (Ме [Q₂₅; Q₇₅] — 1 [1; 1]) ($p = 0,584$).

Количество бактериальной и грибковой ДНК достоверно не отличалось для образцов с пораженной и здоровой кожи. Бактериальную ДНК выявляли в количестве до 10^{8,20} ГЭ/образец (Ме [Q₂₅; Q₇₅] — 10^{3,70} [10^{3,54}; 10^{5,20}]) с пораженных участков, до 10^{6,5} ГЭ/образец (Ме [Q₂₅; Q₇₅] — 10^{3,3} [10^{3,2}; 10^{3,9}]) — с интактных ($p = 0,238$). Количество грибковой ДНК составляло до 10^{4,11} ГЭ/образец (Ме [Q₂₅; Q₇₅] — 10^{2,90} [10^{1,70}; 10^{3,65}]) для пораженной кожи, до 10^{4,2} ГЭ/образец (Ме [Q₂₅; Q₇₅] — 10^{2,8} [10^{2,6}; 10^{3,0}]) для здоровой ($p = 0,607$). Наибольшее количество бактериальной ДНК отмечали в пробах с пораженных участков кожи у пациентов с атопическим дерматитом (10^{7,5}–10^{8,2} ГЭ/образец), что в среднем в 10000 раз превышало количество бактериальной ДНК для других образцов.

Из условно-патогенных бактерий чаще остальных обнаруживали род *Staphylococcus*, из грибов — род *Malassezia* (табл. 2). Частота выявления отдельных групп бактерий и грибов достоверно не отличалась для образцов с пораженных и интактных участков кожи, однако отмечали тенденции к более частому выявлению на пораженных участках кожи бактерий родов *Staphylococcus* (69,0 % против 38,5 %, $p = 0,238$) и *Acinetobacter* (30,8 % против 7,7 %, $p = 0,322$), бактерий порядка *Enterobacterales* (46,2 % против 23,1 %, $p = 0,411$) и грибов вида *Candida parapsilosis* (30,8 % против 7,7 %, $p = 0,322$).

Таблица 1

Количество обнаруживаемых групп микроорганизмов, суммарный уровень бактериальной и грибковой ДНК в образцах с пораженных и интактных участков кожи детей ($n = 13$), абс. (Ме [Q₂₅; Q₇₅])

Показатель	Пораженная кожа	Интактная кожа	p
Оппортунистические бактерии, группы	0–8 (2 [1; 3])	0–6 (1 [0; 3])	0,142
Оппортунистические грибы, группы	0–5 (1 [1; 2])	0–3 (1 [1; 1])	0,584
Количество бактериальной ДНК, ГЭ/образец	До 10 ^{8,20} (10 ^{3,70} [10 ^{3,54} ; 10 ^{5,20}])	До 10 ^{6,5} (10 ^{3,3} [10 ^{3,2} ; 10 ^{3,9}])	0,238
Количество грибковой ДНК, ГЭ/образец*	До 10 ^{4,11} (10 ^{2,90} [10 ^{1,70} ; 10 ^{3,65}])	До 10 ^{4,2} (10 ^{2,8} [10 ^{2,6} ; 10 ^{3,0}])	0,607

Примечание: * показатель не определяется отдельно набором «МикозоСкрин» и был рассчитан как сумма всех выявленных грибов.

Таблица 2

Частота выявления отдельных групп условно-патогенных бактерий и грибов с пораженных и интактных участков кожи детей ($n = 13$), абс. (%)

Группа МО	Пораженная кожа	Интактная кожа	<i>p</i>
Бактерии			
Общая бактериальная масса	12 (92,3)	12 (92,3)	1,000
<i>Staphylococcus spp.</i>	9 (69,2)	5 (38,5)	0,238
<i>S. aureus</i>	4 (30,8)	4 (30,8)	1,000
<i>Streptococcus. spp.</i>	4 (30,8)	3 (23,1)	1,000
<i>Streptococcus pyogenes</i>	0 (0)	0 (0)	1,000
<i>Streptococcus agalactiae</i>	1 (7,7)	0 (0)	1,000
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	0 (0)	0 (0)	1,000
<i>Enterococcus. spp.</i>	0 (0)	0 (0)	1,000
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	0 (0)	0 (0)	1,000
<i>Acinetobacter spp</i>	4 (30,8)	1 (7,7)	0,322
<i>Enterobacterales</i>	6 (46,2)	3 (23,1)	0,411
<i>Proteus spp</i>	0 (0)	0 (0)	1,000
<i>Klebsiella pneumoniae/oxytoca</i>	0 (0)	0 (0)	1,000
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	0 (0)	0 (0)	1,000
<i>Escherichia coli</i>	1 (7,7)	0 (0)	1,000
<i>Escherichia cloacae</i>	1 (7,7)	0 (0)	1,000
<i>Clostridium freundii</i>	0 (0)	0 (0)	1,000
<i>Clostridium koseri</i>	0 (0)	0 (0)	1,000
<i>Morganella morganii</i>	0 (0)	0 (0)	1,000
<i>Serratia marcescens</i>	0 (0)	0 (0)	1,000
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	0 (0)	0 (0)	1,000
<i>Haemophilus spp.</i>	1 (7,7)	2 (15,4)	1,000
<i>Haemophilus influenzae</i>	0 (0)	0 (0)	1,000
<i>Burkholderia spp</i>	0 (0)	0 (0)	1,000
<i>Achromobacter ruhlandii</i>	0 (0)	0 (0)	1,000
<i>Achromobacter xylosoxidans</i>	0 (0)	0 (0)	1,000
Грибы			
Общая грибковая масса	10 (76,9)	11 (84,6)	1,000
<i>Candida albicans</i>	0 (0)	0 (0)	1,000
<i>Candida glabrata</i>	0 (0)	0 (0)	1,000
<i>Candida parapsilosis</i>	4 (30,8)	1 (7,7)	0,322

Окончание табл. 2

Группа МО	Пораженная кожа	Интактная кожа	p
<i>Candida auris</i>	0 (0)	0 (0)	1,000
<i>Candida tropicalis</i>	0 (0)	0 (0)	1,000
<i>Candida lusitan</i>	0 (0)	0 (0)	1,000
<i>Candida dubliensis</i>	0 (0)	0 (0)	1,000
<i>Meyerozyma guilliermondii</i>	0 (0)	0 (0)	1,000
<i>Pichia kudriavzevii</i>	0 (0)	1 (7,7)	1,000
<i>Kluyveromyces marxianus</i>	0 (0)	0 (0)	1,000
<i>Debaryomyces hansenii</i>	3 (23,1)	2 (15,4)	1,000
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	3 (23,1)	3 (23,1)	1,000
<i>Malassezia spp.</i>	8 (61,5)	7 (53,8)	1,000
<i>Malassezia furfur</i>	1 (7,7)	1 (7,7)	1,000

Обсуждение

На протяжении долгого периода времени считалось, что кожа является материалом с высокой бактериальной обсемененностью. Например, Дж. Дж. Лэйдн и др. (англ. J. J. Leyden et al.) культуральным методом обнаруживали в среднем 10^6 колониеобразующих единиц на 1 см^2 кожи подмышечной впадины [14]. Однако уже в 2005 г. И. Декио и др. (англ. I. Dekio et al.) продемонстрировали, что при культуральном исследовании образцов с большинства участков кожи микробная нагрузка составляла 10^5 [15], тогда как К. Огаи и др. (англ. K. Ogai et al.) методом ПЦР-РВ обнаруживали всего $10^3\text{--}10^4$ [16]. В нашем исследовании бактериальная ДНК в количестве более 10^6 ГЭ/образец обнаружена только в 2 пробах с пораженных участков кожи пациентов с атопическим дерматитом, остальные образцы характеризовались низкой микробной нагрузкой. Из этого следует, что критическим моментом при проведении исследования микробиоты кожи является способ взятия и пробоподготовка биоматериала, что было показано ранее [17].

В исследовании Э. Бёрд и др. (англ. A. Byrd et al.) обнаружена связь *S. aureus* и *S. epidermidis* с установленным диагнозом атопического дерматита у детей [18]. В настоящем исследовании бактерии рода *Staphylococcus* обнаруживали в 38,5 % проб с образцов интактной кожи и почти в 2 раза чаще в образцах с пораженной кожи. Однако *S. aureus* идентифицировали с одинаковой частотой в 30,8 % как с пораженных, так и интактных участков кожи. Стоит отметить, что количества *Staphylococcus spp.* на пораженных участках кожи почти никогда не превышали 10^4 ГЭ/образец, что заставляет задуматься о реальном клиническом значении этой группы МО в развитии инфекционных дерматозов.

Роль грамотрицательных бактерий в развитии инфекционных дерматозов у детей не столь очевидна как роль грамположительных бактерий и грибов. В одном из немногочисленных исследований по этой тематике отмечено, что у детей из Саудовской Аравии грамотрицательные бактерии *Pantoea agglomerans*, *Enterobacter cloacae*, *Chryseobacterium indologenes* и *Acinetobacter Iwoffii* удалось выделить только из 7 проб (8,8 %) с пораженных участков кожи, тогда как в образцах с интактной кожи грамотрицательных бактерий не обнаруживали [19]. В другом исследовании авторы выявляли представителей рода *Acinetobacter* в 30 % образцов у пациентов с экземой и псориазом [20]. В нашем исследовании отмечена тенденция к более частому определению в образцах с пораженной кожи бактерий рода *Acinetobacter* (30,8 % против 7,7 % на интактной коже) и порядка *Enterobacterales* (46,2 % против 23,1 % на интактной коже).

Из оппортунистических грибов чаще остальных ожидаемо выявляли представителей рода *Malassezia* с сопоставимой частотой для обоих типов образцов (53,8 % для интактной кожи, 61,5 % для пораженной), *M. furfur* обнаруживали только в 1 пробе (7,7 %) с пораженной кожи и 1 пробе (7,7 %) с интактной. Примечательно, что из грибов рода *Candida* обнаруживали только *C. parapsilosis*, причем в большинстве случаев на пораженных участках кожи (30,8 % образцов с пораженной кожи против 7,7 % образцов с интактной кожи). Это наблюдение согласуется с ранее полученными результатами, демонстрирующими, что такой представитель филума *Ascomycota* является вторым по частоте после *C. albicans* грибом, ассоциируемым с дерматомикозами [21, 22].

Основным ограничением настоящего исследования является малый объем и разнородность выборки, что не позволяет адекватно оценить ассоциацию целевых групп оппортунистических МО с развитием дерматозов. Для определения роли оппортунистических МО в развитии определенных дерматологических нозологий необходимо проводить более масштабные исследования по каждой из интересующих патологий. Кроме того, необходимо учесть, что использованные в работе ПЦР тест-системы разработаны для обнаружения и количественной оценки только наиболее частых групп оппортунистических МО и не могут быть использованы для изучения нормальной микробиоты кожи.

Заключение

При исследовании методом ПЦР-РВ бактериальную ДНК обнаруживали в 92,3 % тестируемых образцов с поверхности кожи, грибковую ДНК — в 80,8 %. В положительных образцах одновременно выявляли до 8 групп оппортунистических бактерий и 5 групп оппортунистических грибов. Суммарное количество бактериальной ДНК в пробах с пораженных участков кожи у пациентов с атопическим дерматитом составило $10^{7,5} - 10^{8,2}$ ГЭ/образец, тогда как в остальных пробах не превышало 10^6 . Суммарное количество

грибковой ДНК не превышало $10^{4,2}$ ГЭ/образец. Для образцов с пораженных участков кожи отмечали тенденцию к большему количеству определяемых групп оппортунистических МО и большему суммарному уровню бактериальной ДНК, более частому обнаружению бактерий родов *Staphylococcus* и *Acinetobacter*, бактерий порядка *Enterobacterales* и грибов вида *C. parapsilosis*.

Список источников

1. Research Techniques Made Simple: Profiling the Skin Microbiota / M. D. Grogan, C. Bartow-McKenney, L. Flowers [et al.] // Journal of Investigative Dermatology. 2019. Vol. 139, Iss. 4. P. 747–752.e1. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jid.2019.01.024>.
2. Therapeutic Responses to Roseomonas Mucosa in Atopic Dermatitis May Involve Lipid-Mediated TNF-Related Epithelial Repair / I. A. Myles, C. R. Castillo, K. D. Barbian [et al.] // Science Translational Medicine. 2020. Vol. 12, Iss. 560, Art. No. eaaz8631. DOI: <https://doi.org/10.1126/scitranslmed.aaz8631>.
3. Staphylococcus Aureus Colonisation in HIV–Infected Patients: Incidence, Risk Factors and subsequent skin-and soft-tissue infections / A. Panigrahy, S. Sinha, B. K. Das [et al.] // Indian Journal of Medical Microbiology. 2020. Vol. 38. Iss. 3–4. P. 444–447. DOI: https://doi.org/10.4103/ijmm.IJMM_20_5.
4. In Vitro Antifungal Activity of Ibrexafungerp (SCY-078) Against Contemporary Blood Isolates from Medically Relevant Species of Candida: A European Study / G. Quindos, K. Miranda-Cadena, R. San-Millan [et al.] // Frontiers in Cellular and Infection Microbiology. 2022. Vol. 12, Art. No. 906563. DOI: <https://doi.org/10.3389/fcimb.2022.906563>.
5. Анализ состояния заболеваемости болезнями кожи и подкожной клетчатки в Российской Федерации за период 2003–2016 гг. / А. А. Кубанова, А. А. Кубанов, Л. Е. Мелехина, Е. В. Богданова // Вестник дерматологии и венерологии. 2017. Т. 93, № 6. С. 22–33. DOI: <https://doi.org/10.25208/0042-4609-2017-93-6-22-33>.
6. A Study of Clinical Pattern and Seasonal Variation of Dermatoses in Children: Contemplating Findings for Family Physicians / R. Kandpal, M. Kumar, C. Patil [et al.] // Journal of Family Medicine and Primary Care. 2022. Vol. 11, Iss. 6. P. 2468–2473. DOI: https://doi.org/10.4103/jfmpc.jfmpc_1964_21.
7. Clinicoepidemiology of Skin Diseases in Children Seen at the University Hospital Center Morafeno, Toamasina, Madagascar / I. M. Ranaivo, F. A. Sendrasoa, M. Andrianarison [et al.] // Dermatology Research and Practice. 2021. Vol. 2021, Art. No. 6456448. DOI: <https://doi.org/10.1155/2021/6456448>.
8. Заболевания кожи у детей, оказавшихся в трудной жизненной ситуации: клиническая характеристика, социальная значимость дерматозов /

- К. И. Николаева, Н. В. Савченко, М. А. Уфимцева [и др.] // Уральский медицинский журнал. 2020. № 12. С. 127–134. EDN: <https://elibrary.ru/eqjnbe>.
9. Evaluation of 16S rRNA Gene Sequencing for Species and Strain-Level Microbiome Analysis / J. S. Johnson, D. J. Spakowicz, B. Y. Hong [et al.] // *Nature Communications*. 2019. Vol. 10, Iss. 1, Art. No. 5029. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41467-019-13036-1>.
10. Hanifin J. M., Rajka G. Diagnostic Features of Atopic Dermatitis // *Acta Dermato-Venereologica*. 1980. Vol. 92, Suppl. 92. P. 44–47. DOI: <https://doi.org/10.2340/00015555924447>.
11. Severity Scoring of Atopic Dermatitis: The SCORAD Index. Consensus Report of the European Task Force on Atopic Dermatitis // *Dermatology*. 1993. Vol. 186, Iss. 1. P. 23–31. DOI: <https://doi.org/10.1159/000247298>.
12. The Eczema Area and Severity Index (EASI): Assessment of Reliability in Atopic Dermatitis / J. M. Hanifin, M. Thurston, M. Omoto [et al.] // *Experimental Dermatology*. 2001. Vol. 10, Iss. 1. P. 11–18. DOI: <https://doi.org/10.1034/j.1600-0625.2001.100102.x>.
13. A New Proposed Severity Score for Seborrheic Dermatitis of the Face: Seborrheic Dermatitis Area and Severity Index (SEDASI) / G. Micali, F. Lacarubba, F. Dall'Oglio [et al.] // *Journal of the American Academy of Dermatology*. 2017. Vol. 76, Iss. 6, Suppl. 1. P. AB18. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jaad.2017.04.088>.
14. The Microbiology of the Human Axilla and Its Relationship to Axillary Odor / J. J. Leyden, K. J. McGinley, E. Holzle [et al.] // *Journal of Investigative Dermatology*. 1981. Vol. 77, Iss. 5. P. 413–416. DOI: <https://doi.org/10.1111/1523-1747.ep12494624>.
15. Detection of Potentially Novel Bacterial Components of the Human Skin Microbiota Using Culture-Independent Molecular Profiling / I. Dekio, H. Hayashi, M. Sakamoto [et al.] // *Journal of Medical Microbiology*. 2005. Vol. 54, Iss. 12. P. 1231–1238. DOI: <https://doi.org/10.1099/jmm.0.46075-0>.
16. A Comparison of Techniques for Collecting Skin Microbiome Samples: Swabbing Versus Tape-Stripping / K. Ogai, S. Nagase, K. Mukai [et al.] // *Frontiers in Microbiology*. 2018. Vol. 9, Art. No. 2362. DOI: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.02362>. Erratum in: *Frontiers in Microbiology*. 2018. Vol. 9, Art. No. 2812. DOI: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.02812>.
17. Сравнение различных способов взятия и пробоподготовки образцов для исследования микробиоты кожи / Д. М. Нечаева, В. В. Мещерякова, В. М. Симарзина [и др.] // Актуальные вопросы современной медицинской науки и здравоохранения : материалы IX Международ. науч.-практ. конф. молодых ученых и студентов, Екатеринбург, 17–18 апр. 2024 г. Екатеринбург : УГМУ, 2024. Т. 2. С. 65–71.

18. Staphylococcus Aureus and Staphylococcus Epidermidis Strain Diversity Underlying Pediatric Atopic Dermatitis / A. L. Byrd, C. Deming, S. K. B. Cassidy [et al.] // Science Translational Medicine. 2017. Vol. 9, Iss. 397, Art. No. eaal4651. DOI: <https://doi.org/10.1126/scitranslmed.aal4651>.
19. Pattern of Bacterial Colonization of Atopic Dermatitis in Saudi Children / J. A. Bilal, M. I. Ahmad, A. A. Robaee [et al.] // Journal of Clinical and Diagnostic Research. 2013. Vol. 7, Iss. 9. P. 1968–1970. DOI: <https://doi.org/10.7860/JCDR/2013/5506.3371>.
20. Distribution of Acinetobacter Species on Human Skin: Comparison of Phenotypic and Genotypic Identification Methods / H. Seifert, L. Dijkshoorn, P. Gerner-Smidt [et al.] // Journal of Clinical Microbiology. 1997. Vol. 35, Iss. 11. P. 2819–2825. DOI: <https://doi.org/10.1128/jcm.35.11.2819-2825.1997>.
21. Trofa D., Gacser A., Nosanchuk J. D. Candida Parapsilosis, an Emerging Fungal Pathogen // Clinical Microbiology Reviews. 2008. Vol. 21, Iss. 4. P. 606–625. DOI: <https://doi.org/10.1128/cmr.00013-08>.
22. Distribution and Antifungal Susceptibility Pattern of Candida Species from Mainland China: A Systematic Analysis / H. Bilal, M. Shafiq, B. Hou [et al.] // Virulence. 2022. Vol. 13, Iss. 1. P. 1573–1589. DOI: <https://doi.org/10.1080/21505594.2022.2123325>.

Информация об авторах

Наталья Викторовна Савченко — кандидат медицинских наук, ассистент кафедры дерматовенерологии и безопасности жизнедеятельности, младший научный сотрудник лаборатории генетических и эпигенетических основ прогнозирования нарушений онтогенеза и старения человека, Уральский государственный медицинский университет (Екатеринбург, Россия). E-mail: savchn@yandex.ru. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7034-9249>.

Даниил Олегович Корнилов — стажер-исследователь лаборатории генетических и эпигенетических основ прогнозирования нарушений онтогенеза и старения человека, Уральский государственный медицинский университет (Екатеринбург, Россия). E-mail: danilovkornil@gmail.com. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5311-1247>.

Вероника Михайловна Симарзина — стажер-исследователь лаборатории генетических и эпигенетических основ прогнозирования нарушений онтогенеза и старения человека, Уральский государственный медицинский университет (Екатеринбург, Россия). E-mail: simarzina.vm@gmail.com. ORCID: <https://orcid.org/0009-0001-0855-2163>.

Михаил Андреевич Тряпицын — стажер-исследователь лаборатории генетических и эпигенетических основ прогнозирования нарушений онтогенеза и старения человека, Уральский государственный медицинский университет

(Екатеринбург, Россия). E-mail: averson2016@yandex.ru. ORCID: <https://orcid.org/0009-0008-2647-8607>.

Диана Мирзозоновна Нечаева — лаборант кафедры медицинской микробиологии и клинической лабораторной диагностики, Уральский государственный медицинский университет (Екатеринбург, Россия). E-mail: dinechaeva13@yandex.ru. ORCID: <https://orcid.org/0009-0006-0184-7264>.

Алексей Андреевич Бехтер — лаборант-исследователь лаборатории генетических и эпигенетических основ прогнозирования нарушений онтогенеза и старения человека, Уральский государственный медицинский университет (Екатеринбург, Россия). E-mail: alekseybekhter010802@gmail.com. ORCID: <https://orcid.org/0009-0008-6036-2499>.

Тарек Мохамедович Итани — PhD, кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник, заведующий лабораторией энтеральных вирусных инфекций, Федеральный научно-исследовательский институт вирусных инфекций «Виром» (Екатеринбург, Россия). E-mail: itani_tm@niivirom.ru. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2113-6543>.

Данила Леонидович Зорников — кандидат медицинских наук, доцент, доцент кафедры медицинской микробиологии и клинической лабораторной диагностики, заведующий лабораторией генетических и эпигенетических основ прогнозирования нарушений онтогенеза и старения человека, Уральский государственный медицинский университет (Екатеринбург, Россия). E-mail: zornikov.rus@gmail.com. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9132-215X>.

Екатерина Сергеевна Ворошилина — доктор медицинских наук, доцент, заведующий кафедрой медицинской микробиологии и клинической лабораторной диагностики, Уральский государственный медицинский университет (Екатеринбург, Россия); заведующий лабораторным отделением, Медицинский центр «Гармония» (Екатеринбург, Россия). E-mail: voroshilina@gmail.com. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1630-1628>.

Information about the authors

Natalia V. Savchenko — Candidate of Sciences (Medicine), Assistant of the Department of Dermatology and Venereology, Life Safety, Junior Researcher of the Laboratory of Genetic and Epigenetic Bases of the Human Ontogenetic Abnormalities and Human Aging, Ural State Medical University (Ekaterinburg, Russia). E-mail: savchn@yandex.ru. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7034-9249>.

Daniil O. Kornilov — Intern Researcher of the Laboratory of Genetic and Epigenetic Bases of the Human Ontogenetic Abnormalities and Human Aging, Ural State Medical University (Ekaterinburg, Russia). E-mail: danilovkornil@gmail.com. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5311-1247>.

Veronika M. Simarzina — Intern Researcher of the Laboratory of Genetic and Epigenetic Bases of the Human Ontogenetic Abnormalities and Human Aging, Ural

State Medical University (Ekaterinburg, Russia). E-mail: simarzina.vm@gmail.com. ORCID: <https://orcid.org/0009-0001-0855-2163>.

Mikhail A. Tryapitsyn — Intern Researcher of the Laboratory of Genetic and Epigenetic Bases of the Human Ontogenetic Abnormalities and Human Aging, Ural State Medical University (Ekaterinburg, Russia). E-mail: averson2016@yandex.ru. ORCID: <https://orcid.org/0009-0008-2647-8607>.

Diana M. Nechaeva — Laboratory Technician of the Department of Medical Microbiology and Clinical Laboratory Diagnostics, Ural State Medical University (Ekaterinburg, Russia). E-mail: dinechaeva13@yandex.ru. ORCID: <https://orcid.org/0009-0006-0184-7264>.

Alexey A. Bekhter — Laboratory Technician and Researcher of the Laboratory of Genetic and Epigenetic Bases of the Human Ontogenetic Abnormalities and Human Aging, Ural State Medical University (Ekaterinburg, Russia). E-mail: alekseybekhter010802@gmail.com. ORCID: <https://orcid.org/0009-0008-6036-2499>.

Tarek M. Itani — PhD, Candidate of Sciences (Biology), Leading Researcher, Head of Laboratory of Enteral Viral Infections, Federal Scientific Research Institute of Viral Infections “Virome” (Ekaterinburg, Russia). E-mail: itani_tm@niivirom.ru. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2113-6543>.

Danila L. Zornikov — Candidate of Sciences (Medicine), Associate Professor, Associate Professor of the Department of Medical Microbiology and Clinical Laboratory Diagnostics, Head of the Laboratory of Genetic and Epigenetic Bases of the Human Ontogenetic Abnormalities and Human Aging, Ural State Medical University (Ekaterinburg, Russia). E-mail: zornikov.rus@gmail.com. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9132-215X>.

Ekaterina S. Voroshilina — Doctor of Sciences (Medicine), Associate Professor, Head of the Department of Medical Microbiology and Clinical Laboratory Diagnostics, Ural State Medical University (Ekaterinburg, Russia); Head of Laboratories, Medical Center “Garmonia” (Ekaterinburg, Russia). E-mail: voroshilina@gmail.com. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1630-1628>.