

**lek. Leszek Blicharz**

**Wpływ kolonizacji skóry i błony śluzowej przedsionka nosa  
przez *Staphylococcus aureus*  
na przebieg kliniczny atopowego zapalenia skóry u dorosłych**

**Rozprawa na stopień doktora nauk medycznych i nauk o zdrowiu  
w dyscyplinie nauki medyczne**

Promotor: dr hab. n. med. Zbigniew Samochocki

Promotor pomocniczy: dr hab. n. med. i n. o zdr. Joanna Czuwara

Katedra i Klinika Dermatologiczna Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego

Kierownik Kliniki: prof. dr hab. n. med. Lidia Rudnicka



**Obrona rozprawy doktorskiej przed Radą Dyscypliny Nauk Medycznych  
Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego**

**Warszawa 2020**

Leszek Blicharz

3585250

Dr hab. n. med. Joanna Czuwara

SPECJALISTA DERMATOLOG

UEMS DERMATOPATOLOG

NPWE 5197943

4737679

Dr hab. med.  
Zbigniew SAMOCHOCKI  
Specjalista  
dermatolog-alerolog  
tel +48 604 325 665

## STRESZCZENIE W JĘZYKU POLSKIM

### Założenia i cel pracy

Zaburzenia mikrobiomu skóry stanowią istotny czynnik w patogenezie atopowego zapalenia skóry (AZS). Doniesienia literatury wskazują, że nadmierna ekspansja *Staphylococcus* spp., a w szczególności *S. aureus* (SA) wpływa na ciężkość przebiegu klinicznego wyprysku atopowego. Dotychczasowe badania opierały się w przeważającej mierze na analizie izolatów z aktywnych zmian skórnych. Wpływ kolonizacji skóry pozornie niezmienionej oraz przedsionka nosa przez SA na nasilenie objawów AZS nie został jednoznacznie określony. W literaturze brak jest także kompleksowych doniesień oceniających związek pomiędzy ciężkością przebiegu klinicznego AZS a kolonizacją omawianych mikronisz przez gronkowce koagulazoujemne (*ang. coagulase-negative staphylococci*, CoNS) oraz zdolnością do wytwarzania biofilmu przez obecne w ich obrębie szczepy SA.

Stąd też celem pracy było określenie wpływu kolonizacji skóry zmienionej chorobowo, pozornie niezmienionej oraz przedsionka nosa przez *Staphylococcus* spp. na przebieg kliniczny AZS poprzez:

1. Ocenę kolonizacji skóry zmienionej chorobowo, pozornie niezmienionej i przedsionka nosa przez *S. aureus* i gronkowce koagulazoujemne;
2. Ocenę zdolności do wytwarzania biofilmu przez szczepy *S. aureus* kolonizujące wymienione mikronisze;
3. Korelację uzyskanych wyników z wybranymi parametrami klinicznymi oraz immunologicznymi pacjentów z grupy badanej.

### Materiały i metody

Badaniami objęto łącznie 63 dorosłych chorych na AZS w okresie czynnych zmian skórnych podzielonych na 3 grupy, liczące odpowiednio 33, 56 oraz 63 osoby. Wszyscy spełniali kryteria Hanifina i Rajki. Pacjenci zostali poddani badaniu podmiotowemu i przedmiotowemu. Nasilenie choroby oceniono wg skali SCORAD, natomiast rozległość zmian skórnych w trakcie roku poprzedzającego udział w badaniu wg reguły dziewiątek Wallace'a. W celu określenia częstości i nasilenia kolonizacji skóry zmienionej chorobowo, skóry pozornie niezmienionej i przedsionka nosa przez SA oraz częstości nosicielstwa CoNS w wymienionych mikroniszach pobrano wymazy, które następnie posiano na podłoże Chapmana. Do identyfikacji odmiennych morfologicznie kolonii bakteryjnych wykorzystano spektrometrię mas. Następnie metodą półilościową oceniono nasilenie kolonizacji

analizowanych mikronisz przez *SA*, a zdolność do wytwarzania przez nie biofilmu - metodą płytek titracyjnych. Dodatkowo określono stężenie całkowitej IgE w surowicy metodą immunoenzymatyczną. Grupę kontrolną stanowiło 36 zdrowych osób dobranych stosownie do płci i wieku grupy badanej. Wyniki badań bakteriologicznych skorelowano z parametrami klinicznymi oraz stężeniem całkowitej IgE przy użyciu stosownych metod statystycznych.

## Wyniki

### Ad. 1. Ocena kolonizacji skóry zmienionej chorobowo, pozornie niezmienionej i przedsionka nosa przez *S. aureus* i gronkowce koagulazoujemne.

Częstość nosicielstwa *SA* na skórze zmienionej chorobowo i pozornie niezmienionej w grupie badanej wyniosła odpowiednio 79,4% (50/63) oraz 61,9% (39/63),  $p < 0,0314$ . Odsetek kolonizacji skóry w grupie kontrolnej wyniósł 5,6% (2/36;  $p < 0,0001$ ). Wykazano statystycznie istotne różnice pomiędzy średnim nasileniem kolonizacji skóry zmienionej chorobowo, skóry pozornie niezmienionej oraz skóry osób z grupy badanej (odpowiednio  $2,063 \pm 1,242$ ;  $1,222 \pm 1,183$ ; oraz  $0,111 \pm 0,464$ ,  $p < 0,0001$ ). Zaobserwowano korelację pomiędzy nasileniem kolonizacji skóry zmienionej chorobowo i pozornie niezmienionej ( $\rho = 0,533$ ;  $p < 0,0001$ ). Częstość i nasilenie kolonizacji skóry zmienionej chorobowo i pozornie niezmienionej była wyższa u mężczyzn niż u kobiet (częstość kolonizacji – odpowiednio 89,2% vs 65,4%,  $p < 0,0292$  oraz 83,7% vs 57,7%,  $p < 0,0316$ ; nasilenie kolonizacji – odpowiednio  $2,401 \pm 1,033$  vs  $1,598 \pm 1,212$  oraz  $1,486 \pm 1,216$  vs  $0,846 \pm 1,046$ ,  $p < 0,05$ ).

Kolonizację przedsionka nosa przez *SA* stwierdzono u 69,8% (44/63) pacjentów. Średnie nasilenie kolonizacji tej mikroniszy wynosiło  $1,4444 \pm 1,1883$ . Stwierdzono istotne różnice w częstości i nasileniu kolonizacji przedsionka nosa przez *SA* pomiędzy grupą badaną i grupą kontrolną (częstość i nasilenie kolonizacji w grupie kontrolnej – odpowiednio 13,9% (5/36) oraz  $0,3611 \pm 0,9607$ ,  $p < 0,0001$ ). Wykazano statystycznie istotnie wyższą częstość kolonizacji przedsionka nosa przez *SA* u mężczyzn (81,1% vs 53,8%,  $p < 0,027$ ). Stwierdzono korelację pomiędzy nasileniem kolonizacji przedsionka nosa oraz zarówno skóry zmienionej chorobowo ( $\rho = 0,332$ ,  $p < 0,008$ ) jak i pozornie niezmienionej ( $\rho = 0,357$ ,  $p < 0,004$ ) przez *SA*.

W grupie badanej CoNS izolowano odpowiednio w 50% (25/50), 59% (23/39) oraz 53,5% (23/43) posiewów ze skóry zmienionej chorobowo, pozornie niezmienionej i przedsionka nosa, w których wykazano obecność *SA* ( $p > 0,05$ ). Odsetek kolonizacji skóry i przedsionka nosa w grupie kontrolnej wynosił odpowiednio 100% (2/2) oraz 0% (0/5).

Do najczęściej izolowanych gatunków CoNS należały *S. epidermidis* (skóra zmieniona chorobowo – 28% posiewów; skóra pozornie niezmienniona – 46,2% posiewów, przedsionek nosa – 51,2% posiewów) oraz *S. haemolyticus* (skóra zmieniona chorobowo – 12% posiewów; skóra pozornie niezmienniona – 10,3% posiewów, przedsionek nosa – 0% posiewów). W grupie kontrolnej izolowano jedynie *S. epidermidis*.

#### **Ad. 2. Ocena zdolności do wytwarzania biofilmu przez szczepy *S. aureus* kolonizujące wymienione mikronisze.**

Zdolność do wytwarzania biofilmu przez szczepy *SA* wyizolowane z przedsionka nosa, skóry zmienionej chorobowo i pozornie niezmiennionej wykazano odpowiednio u 76,3% (29/38); 79,1% (34/43),  $p > 0,05$ ; oraz 48,5% (16/33),  $p < 0,03$ . Wśród wyżej wymienionych wysoką zdolność do produkcji biofilmu wykazano odpowiednio u 86,2% (25/29); 64,7% (22/34); oraz 68,8% (11/16) izolatów,  $p > 0,05$ ). Wykazano korelację pomiędzy zdolnością do produkcji biofilmu *in vitro* przez szczepy wyizolowane z przedsionka nosa i skóry pozornie niezmiennionej ( $\rho = 0,428$ ,  $p < 0,04$ ) oraz pomiędzy szczepami wyizolowanymi ze skóry zmienionej chorobowo i pozornie niezmiennionej ( $\rho = 0,521$ ,  $p < 0,003$ ).

#### **Ad. 3. Korelacja uzyskanych wyników z wybranymi parametrami klinicznymi oraz immunologicznymi pacjentów z grupy badanej.**

Wykazano dodatnią korelację pomiędzy nasileniem kolonizacji wszystkich analizowanych mikronisz przez *SA* a rozległością zmian skórnych i nasileniem wydrapań (przedsionek nosa –  $\rho = 0,312$ ,  $p < 0,02$ ;  $\rho = 0,285$ ,  $p < 0,0444$ ; skóra zmieniona chorobowo –  $\rho = 0,42$ ,  $p < 0,0007$ ;  $\rho = 0,693$ ,  $p < 0,00001$ ; skóra pozornie niezmienniona –  $\rho = 0,488$ ,  $p < 0,0001$ ;  $\rho = 0,441$ ,  $p < 0,02$ ). Ponadto stwierdzono pozytywną korelację pomiędzy nasileniem kolonizacji skóry zmienionej chorobowo i pozornie niezmiennionej przez *SA* oraz total SCORAD ( $\rho = 0,506$ ,  $p < 0,0001$ ;  $\rho = 0,412$ ,  $p < 0,0008$ ), objective SCORAD ( $\rho = 0,503$ ,  $p < 0,0001$ ;  $\rho = 0,476$ ,  $p < 0,0001$ ), nasileniem zmian skórnych ( $\rho = 0,442$ ,  $p < 0,0002$ ;  $\rho = 0,377$ ,  $p < 0,002$ ), rumieniem ( $\rho = 0,380$ ,  $p < 0,003$ ;  $\rho = 0,346$ ,  $p < 0,006$ ) i obrzękiem/grudkami ( $\rho = 0,382$ ,  $p < 0,003$ ;  $\rho = 0,263$ ,  $p < 0,04$ ). Dodatkowo nasilenie kolonizacji skóry zmienionej chorobowo przez *SA* pozytywnie korelowało z sączeniem/strupami ( $\rho = 0,267$ ,  $p < 0,04$ ), subiektywnymi odczuciami pacjenta ( $\rho = 0,217$ ,  $p < 0,05$ ) oraz nasileniem zaburzeń snu ( $\rho = 0,294$ ,  $p < 0,02$ ), natomiast skóry pozornie niezmiennionej – z nasileniem suchości skóry ( $\rho = 0,362$ ,  $p < 0,003$ ).

Surowicze stężenie całkowitej IgE pozytywnie korelowało z nasileniem kolonizacji skóry zmienionej chorobowo, skóry pozornie niezmienionej i przedsionka nosa przez *SA* (odpowiednio  $\rho = 0,402$ ,  $p < 0,002$ ;  $\rho = 0,403$ ,  $p < 0,002$ ; oraz  $\rho = 0,287$ ,  $p < 0,03$ ). Średnie wartości surowiczego stężenia całkowitej IgE były istotnie niższe u pacjentów, u których w obrębie skóry zmienionej chorobowo, skóry pozornie niezmienionej i przedsionka nosa wykazano współistnienie *SA* z CoNS niż u pacjentów skolonizowanych jedynie przez *SA* (odpowiednio:  $1164,66 \pm 1010,36$  vs  $1762,99 \pm 1059,15$ ,  $p < 0,0213$ ;  $1166,9 \pm 1006,4$  vs  $2152,7 \pm 759,2$ ,  $p < 0,0063$ ;  $1022 \pm 1100$  vs  $1925 \pm 880,8$ ,  $p < 0,0044$ ).

Kolonizacja przedsionka nosa przez szczepy *SA* wykazujące zdolność do produkcji biofilmu była związana z wyższymi średnimi wartościami total SCORAD ( $51,64 \pm 17,39$  vs  $39,86 \pm 10,70$ ,  $p < 0,03$ ), objective SCORAD ( $42,33 \pm 14,88$  vs  $28,19 \pm 7,57$ ,  $p < 0,0008$ ), rozległości zmian skórnych ( $42,69 \pm 32,50\%$  vs  $14,56 \pm 8,69\%$ ,  $p < 0,02$ ), suchości skóry ( $1,76 \pm 0,79$  vs  $0,67 \pm 0,87$ ,  $p < 0,004$ ) oraz największej rozległości zmian skórnych w trakcie zaostrzeń ( $63,93 \pm 33,87\%$  vs  $35,89 \pm 30,95\%$ ,  $p < 0,03$ ). Obecność szczepów *SA* produkujących biofilm na skórze zmienionej chorobowo była związana z wyższą średnią rozległością zmian skórnych w okresie stabilnym ( $1,6 \pm 2,13\%$  vs  $5,7 \pm 3,72\%$ ,  $p < 0,004$ ).

#### Wnioski:

1. Dominacja mikrobioty nie tylko skóry zmienionej chorobowo i pozornie niezmienionej, ale i przedsionka nosa przez szczepy *S. aureus* wykazujące wysoką zdolność do produkcji biofilmu jest cechą charakterystyczną dorosłych chorych na AZS;
2. Błona śluzowa przedsionka nosa stanowi prawdopodobnie istotny rezerwuar *S. aureus* kolonizującego skórę zmienioną chorobowo oraz pozornie niezmienioną;
3. Zdolność do produkcji biofilmu przez szczepy *S. aureus* kolonizujące przedsionek nosa wydaje się stanowić istotny czynnik warunkujący rozsiew tego patogenu na skórę;
4. Nasilona kolonizacja przedsionka nosa, skóry zmienionej chorobowo i pozornie niezmienionej przez *S. aureus* oraz produkcja biofilmu przez ten patogen należą do czynników prowokujących ciężki przebieg kliniczny AZS manifestujący się rozległymi zmianami skórnymi, silnym świądem i wysokimi wartościami stężenia całkowitej IgE;
5. Obecność gronkowców koagulazoujemnych w mikroniszach skolonizowanych przez *S. aureus* wydaje się korzystnie wpływać na status immunologiczny pacjentów z AZS poprzez hamowanie odpowiedzi Th2-zależnej nasilanej przez ten patogen;
6. Postępowanie profilaktyczne i terapeutyczne dotyczące eradykacji *S. aureus* w obrębie skóry u pacjentów z AZS powinno zostać rozszerzone na przedsionek nosa.