

О.Н. Зайнуллина¹, З.Р. Хисматуллина¹, Д.В. Печкуров²

ИССЛЕДОВАНИЕ МИКРОБИОМА КОЖИ И КИШЕЧНИКА МЕТОДОМ MALDI-ToF МАСС-СПЕКТРОМЕТРИИ У РЕБЕНКА 6 ЛЕТ С АТОПИЧЕСКИМ ДЕРМАТИТОМ

¹ФГБОУ ВО Башкирский государственный медицинский университет МЗ РФ, г. Уфа,
²ФГБОУ ВО Самарский государственный медицинский университет МЗ РФ, г. Самара, РФ



Приведено клиническое наблюдение пациента с атопическим дерматитом (АтД) – ребенка 6 лет с сопутствующим нарушением микрофлоры биотопов кожи и кишечника, усугубляющим тяжесть течения заболевания. Методом MALDI-ToF масс-спектрометрии проведено исследование видового состава микрофлоры кожи и кишечника, которое выявило избыток условно-патогенной микрофлоры. Комплексное лечение, включающее прием нифуроксазида и пробиотического препарата внутрь, применение наружно комбинированного средства (топический глюкокортикостероид+антибиотик-аминогликозид) привели к положительной динамике течения АтД. Таким образом, торпидность к стандартной терапии АтД может быть обусловлена нарушением микробиоценоза кожи и кишечника, обоснованное назначение комплексной противомикробной терапии улучшает прогноз течения заболевания.

Ключевые слова: дети, атопический дерматит, кишечник, кожа, лечение, масс-спектрометрия, микрофлора.

Цит.: О.Н. Зайнуллина, З.Р. Хисматуллина, Д.В. Печкуров. Исследование микробиома кожи и кишечника методом MALDI-ToF масс-спектрометрии у ребенка 6 лет с атопическим дерматитом. *Педиатрия им. Г.Н. Сперанского*. 2020; 99 (2): 279–281.

O.N. Zainullina¹, Z.R. Khismatullina¹, D.V. Pechkurov²

THE STUDY OF THE SKIN AND INTESTINES MICROBIOME BY MALDI-TOF MASS SPECTROMETRY IN A 6-YEAR-OLD CHILD WITH ATOPIC DERMATITIS

¹Bashkir State Medical University, Ufa; ²Samara State Medical University, Samara, Russia

A case of atopic dermatitis (AtD) in a 6-year-old child with a concomitant violation of the microflora of the biotopes of the skin and intestines, aggravating the severity of the disease, is presented. The MALDI-ToF mass spectrometry method was used to study the species composition of the skin and intestines, which revealed an excess of conditionally pathogenic microflora. Comprehensive treatment, including taking nifuroxazide and a probiotic drug inside, the use of an externally combined agent (topical glucocorticosteroid+antibiotic-aminoglycoside) led to a positive trend. Thus, the torpidity to the standard therapy of AtD may be caused by a disorder of skin and intestines microbiocenosis, the reasonable use of complex antimicrobial therapy improves the prognosis of the disease course.

Keywords: children, atopic dermatitis, intestines, skin, treatment, mass spectrometry, microflora.

Quote: O.N. Zainullina, Z.R. Khismatullina, D.V. Pechkurov. The study of the skin and intestines microbiome by MALDI-ToF mass spectrometry in a 6-year-old child with atopic dermatitis. *Pediatrics n.a. G.N. Speransky*. 2020; 99 (2): 279–281.

Контактная информация:

Зайнуллина Олеся Николаевна – к.м.н., асс. каф. дерматовенерологии с курсами дерматовенерологии и косметологии Института дополнительного профессионального образования ФГБОУ ВО Башкирский государственный медицинский университет МЗ РФ
Адрес: Россия, 450010, г. Уфа, ул. Союзная, 37
Тел.: (347) 278-24-35, E-mail: olisenok@mail.ru
Статья поступила 27.08.19,
принята к печати 25.03.20.

Contact Information:

Zaynullina Olesya Nikolaevna – candidate of Med. Sci., associate prof. of Dermatovenerology Department with courses of dermatovenerology and cosmetology of the Institute of Continuing Professional Education of Bashkir State Medical University
Address: Russia, 450010, Ufa, ul. Soyuznaya, 37
Tel.: (347) 278-24-35, E-mail: olisenok@mail.ru
Received on Aug. 27, 2019,
submitted for publication on Mar. 25, 2020.

Значительную роль в развитии и течении атопического дерматита (АтД) у детей играет видовой состав основных биотопов организма человека, главными из которых являются кожа и кишечник. Кожный дисбиоз может играть ключевую роль в этом заболевании, а уровень колонизации кожи условно-патогенными микроорганизмами прямо коррелирует с тяжестью АтД [1–3]. Также известно, что дисбиоз кишечника может усугублять течение кожного процесса у детей с аллергодерматозами [4, 5].

Традиционным диагностическим тестом для диагностики дисбиоза кожи и кишечника является культуральный посев. Однако этот широко распространенный метод обладает рядом недостатков (длительность получения результатов, он не отражает весь спектр нарушений микрофлоры и в значительной степени зависит от квалификации специалиста).

В этой связи представляет интерес метод MALDI-ToF масс-спектрометрии, который имеет ряд преимуществ перед традиционной культуральной диагностикой: позволяет регистрировать белковый спектр бактерий, что при сравнении с базой данных дает возможность провести идентификацию с точностью до вида и анализировать большое число бактериальных штаммов; метод имеет короткие сроки проведения [6, 7].

Приводим наше клиническое наблюдение, при котором этот современный метод диагностики позволил своевременно выявить нарушение микрофлоры кожи и кишечника у ребенка с АтД.

Пациент К., 6 лет, обратился в поликлинику Республиканского кожно-венерологического диспансера с диагнозом АтД средней степени тяжести. В анамнезе – диспансерный учет по поводу АтД с 3 лет, частые ОРВИ, рецидивирующий бронхит, дисбиоз кишечника II степени. За последние 6 месяцев дважды применялся курс антибиотикотерапии по поводу рецидивов бронхита.

Объективно: общее состояние удовлетворительное. Со стороны сердечно-сосудистой и дыхательной систем на момент осмотра патологии не выявлено. При пальпации живота отмечаются урчание и болезненность по ходу кишечника. Со слов матери, отмечаются запоры, чередующиеся с эпизодами диареи, снижение аппетита.

Status localis: поражение кожи имеет распространенный характер – поражена кожа лица, шеи, локтевых сгибов и подколенных ямок. В очагах поражения указанных локализаций имеются гиперемия, папулы, экскориации, инфильтрации и лихенификации. Признаки вторичного инфицирования отсутствовали. Кожа на ощупь сухая, ребенка беспокоит зуд, особенно по ночам.

При дополнительных лабораторных методах исследования в общем анализе крови выявлены незначительная эозинофилия, повышение IgE.

Было принято решение провести исследование видового состава микробиома кожи и кишечника методом MALDI-ToF масс-спектрометрии.

При исследовании микробиома кожи выявлено наличие следующих условно-патогенных микроорганизмов: *Aerobacteraerogenes* 10³ КОЕ/г, *Escherichia coli* 10³ КОЕ/г, *Klebsiella pneumoniae* 10³ КОЕ/г, *Proteus vulgaris* 10³ КОЕ/г, *Pseudomonas aeruginosa* 10³ КОЕ/г,

Staphylococcus spp. 10³ КОЕ/г, *Streptococcus spp.* 10³ КОЕ/г. Известно, что бактериальная и микотическая нагрузка способствует воздействию суперантигенов, что приводит к ухудшению течения АтД. Кроме того, стафилококковые суперантигены подавляют функцию Т-регуляторных клеток и поэтому могут усиливать воспаление кожи [8].

В ходе исследования видового состава кишечной микрофлоры обнаружено наличие *Klebsiella oxytoca* 10⁵ КОЕ/г, *Enterobacter cloacae* 10⁵ КОЕ/г, *Citrobacter freundii* 10³ КОЕ/г, *Raoultella ornithinolytica* 10⁵ КОЕ/г, *Klebsiella pneumoniae* 10⁴ КОЕ/г. В литературе имеются данные о статистически достоверном увеличении многокомпонентных сообществ условно-патогенных микроорганизмов в кишечном содержимом у детей со среднетяжелыми и тяжелыми формами АтД [9]. Патологическая микроэкологическая концепция патогенеза АтД у детей основана на доказательствах участия условно-патогенной флоры в процессах сенсибилизации желудочно-кишечного тракта и макроорганизма в целом [5].

Выставлен диагноз: АтД средней степени тяжести, сопутствующий диагноз – дисбиоз кишечника II степени тяжести.

Назначена следующая терапия: антигистаминные препараты (цитолизина дигидрохлорид), десенсибилизирующая терапия (хлоропирамина гидрохлорид), противомикробное средство нифуроксазид в течение 7 дней, пробиотический препарат, содержащий *Lactobacillus acidophilus*, *Bifidobacterium infantis*, *Enterococcus faecium* в течение 14 дней.

Наружно назначено лечение комбинированным препаратом, включающим топический глюкокортикостероид (бетаметазона дипропионат)+антибиотик-аминогликозид (гентамицина сульфат) 2 раза в день в течение 10 дней. Далее был назначен топический ингибитор кальциневрина – мазь такролимус 0,03% 2 раза в день в течение 14 дней с последующим переходом на проактивную терапию такролимусом 2 раза в неделю на участки кожи, поражаемые при обострении.

Через 2 недели назначенной терапии отмечалась положительная динамика в виде нормализации стула, отсутствия метеоризма, урчания при пальпации живота. На коже значительно уменьшилась гиперемия, папулы уплостились, зуд стал незначительным. Было проведено контрольное исследование микрофлоры кожи и кишечника методом MALDI-ToF масс-спектрометрии, при котором выявленные виды микрофлоры определялись в референтных значениях.

Таким образом, нарушение микробиома кожи и кишечника, на наш взгляд, усугубляло тяжесть течения АтД у ребенка. Современный метод исследования микрофлоры основных биотопов позволяет своевременно определить количественные и качественные характеристики микробиоты и провести адекватную конкретизированную терапию.

Вклад авторов: все авторы в равной степени внесли свой вклад в рукопись, рассмотрели её окончательный вариант и дали согласие на публикацию.

Финансирование: все авторы заявили об отсутствии финансовой поддержки при подготовке данной рукописи.

Конфликт интересов: все авторы заявили об отсутствии конкурирующих интересов.

Примечание издателя: ООО «Педиатрия» остается нейтральным в отношении юрисдикционных претензий на опубликованные материалы и институциональных принадлежностей.

Authors contribution: all authors contributed equally to this manuscript, revised its final version and agreed for the publication.

Funding: all authors received no financial support for this manuscript.

Competing interests: the authors declare that they have no competing interests.

Publisher's Note: *Pediatrics* LLC remains neutral with regard to jurisdictional claims in published materials and institutional affiliations.

Zainullina O.N.  0000-0002-6366-3595

Khismatullina Z.R.  0000-0001-8674-2803

Pechkurov D.V.  0000-0002-5869-2893

Литература

1. Левина Ю.Г., Алексеева А.А., Эфендиева К.Е., Вишнева Е.А., Намазова-Баранова Л.С. Коррекция дисбиоза кожи как неотъемлемая составная часть патогенетической терапии atopического дерматита. *Педиатрическая фармакология*. 2019; 16 (2): 97–100.

2. Allen HB, Vaze ND, Choi C, Hailu T, Tulbert BH, Cusack SA. The presence and impact of biofilm-producing staphylococci in atopical dermatitis. *JAMA Dermatol*. 2014; 150 (3): 260–265.

3. Williams MR, Gallo RL. The role of the skin microbiome in atopical dermatitis. *Curr. Allergy Asthma Rep*. 2015; 15 (11): 65.

4. Зайнуллина О.Н., Печкуров Д.В., Хисматуллина З.Р. Роль и особенности микробиоценоза кишечника у детей с atopическим дерматитом. *Медицинский вестник Башкортостана*. 2017; 12.4 (70): 109–115.

5. Мазанкова Л.Н., Матюнина Н.В., Новосад Н.В. Патогенетическое значение изменений микробиоценоза кишечника при atopическом дерматите у детей. *Пластическая хирургия и косметология*. 2012; 2: 241–244.

6. Чаплин А.В., Бржозовский А.Г., Парфенова Т.В., Кафарская Л.И., Володин Н.Н., Шкопоров А.Н., Ильина Е.Н., Ефимов Б.А. Изучение видового разнообразия бактерий рода *Bifidobacterium* кишечной микрофлоры с использованием метода MALDI-ToF масс-спектрометрии. *Вестник РАМН*. 2015; 70 (4): 435–440.

7. Припутневич Т.В., Мелкумян А.Р. Масс-спектрометрия – новое слово в клинической микробиологии. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2016; 61 (12): 842–848.

8. Cardona ID, Goleva E, Ou LS, Leung DJ. Staphylococcal enterotoxin B inhibits regulatory T cells by inducing glucocorticoid-induced TNF receptor-related protein ligand on monocytes. *J. Allergy Clin. Immunol*. 2006; 117 (3): 688–695.

9. Носырева С.Ю., Литяева Л.А. Роль кишечной микробиоты в формировании пула свободного гистамина у детей с atopическим дерматитом. *Детские инфекции*. 2016; 15 (3): 46–49.

РЕФЕРАТЫ

ОЦЕНКА СТЕПЕНИ ТЯЖЕСТИ РЕСПИРАТОРНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ В ПЕРВЫЕ 2 ГОДА ЖИЗНИ У НЕДОНОШЕННЫХ И ДОНОШЕННЫХ ДЕТЕЙ

Задача исследования: разработать достоверный исследовательский инструмент для оценки степени тяжести респираторных заболеваний у детей с использованием симптомов, о которых сообщили родители. **Материалы и методы исследования:** мазки из носа и зева собирали ежемесячно в течение 1 года и при респираторных заболеваниях в течение 2 лет. В проспективное исследование были включены доношенные и недоношенные дети. Вирусные патогены определяли с помощью карт Taqman Array. Родители регистрировали симптомы во время респираторных заболеваний, используя систему показателей Childhood Origins of Asthma (COAST). Оценка COAST была подтверждена с использованием линейного регрессионного моделирования смешанных эффектов для оценки связи с госпитализацией и специфическими инфекциями. Метод, основанный на данных, также использовался для вычисления значимости симптомов и получения нового показателя – показателя тяжести респираторных инфекций у детей (Infant Research Respiratory Infection Severity Score (IRRISS)). Линейное регрессионное моделирование смешанных эффектов было повторно проведено для

данных IRRISS. **Результаты:** с апреля 2013 г. по апрель 2017 г. у 50 доношенных, 40 недоношенных и 28 детей крайне низкого гестационного возраста (<29 недель беременности) было 303 обращения в лечебное учреждение в связи с респираторными заболеваниями. Диапазон тяжести заболевания получил 39% баллов, свидетельствующих о тяжелой болезни. Баллы COAST и IRRISS были связаны с респираторно-синцитиальной вирусной инфекцией и госпитализацией. Гестационный возраст и риновирусная инфекция были обратно связаны с обеими системами оценки. Показатели IRRISS и COAST имели высокую степень корреляции ($r=0,93$; $p<0,0001$). **Выводы:** используя сообщенные родителями симптомы, мы проверили балл COAST как степень тяжести респираторных заболеваний у детей. Новая оценка IRRISS показала себя так же хорошо, как оценка COAST.

Mary T. Caserta, Hongmei Yang, Sanjukta Bandyopadhyay, Xing Qiu, Steven R. Gill, James Java, Andrew McDavid, Ann R. Falsey, David J. Topham, Jeanne Holden-Wiltse, Kristin Scheible, Gloria Pryhuber. *The Journal of Pediatrics*. 2019; 214: 12–19.