

IOSUD – UNIVERSITATEA „DUNĂREA DE JOS” DIN GALAȚI

Școala doctorală de Științe Biomedicale



TEZĂ DE DOCTORAT
REZUMAT

ROLUL MICROBIOMULUI CUTANAT ÎN
PSORIAZIS

Doctorand,

DIANA SABINA URSU (RADASCHIN)

Conducător științific,

PROF. UNIV. DR. ALIN LAURENȚIU TATU

Seria M Nr. 17

GALAȚI

2024

IOSUD – UNIVERSITATEA „DUNĂREA DE JOS” DIN GALAȚI

Școala doctorală de Științe Biomedicale



TEZĂ DE DOCTORAT

REZUMAT

ROLUL MICROBIOMULUI CUTANAT ÎN PSORIAZIS

Doctorand

DIANA SABINA URSU (RADASCHIN)

Președinte

PROF. UNIV. DR. DANA TUTUNARU

Conducător științific,

PROF. UNIV. DR. ALIN LAURENȚIU TATU

Referenți științifici

PROF. UNIV. DR. CĂLIN GIURCĂNEANU

PROF. UNIV. DR. LILIANA BAROIU

CONF. UNIV. DR. TONY HANGAN

Seria M Nr. 17

GALAȚI

2024

Cuprins

Listă abrevieri	5
Introducere.....	6
I. PARTEA GENERALĂ	7
CAPITOLUL 1. Scurt istoric al psoriazisului.....	7
CAPITOLUL 2. Aspecte etiopatogenice ale psoriazisului.....	7
CAPITOLUL 3. Caracteristici clinice ale psoriazisului.....	8
CAPITOLUL 4. Metode de diagnostic paraclinic in psoriazis	9
4.1 Examenul histopatologic	9
4.2. Diagnosticul imagistic al psoriazisului vulgar : Microscopia confocală de reflectanță	9
4.3. Diagnosticul imagistic al psoriazisului vulgar: Tomografia în coerență optică	10
CAPITOLUL 5. Management terapeutic în psoriazis	10
5.1. Scoruri de severitate.....	10
5.2. Tratamentul topic în psoriazis.....	11
5.3. Măsurile fizice de tratament: Fototerapia în psoriazis	11
5.4 Terapii sistemice în psoriazis	12
5.5. Terapia biologică în psoriazis.....	12
CAPITOLUL 6. Noțiuni generale despre microbiomul cutanat	12
6.1 Generalități referitoare la microbiomul cutanat. Stadiul actual al literaturii de specialitate	12
6.2 Dezvoltarea microbiomului cutanat de la naștere	14
6.4 Microbiomul cutanat în raport cu mediul extern	14
6.5 Microbiomul cutanat în raport cu mediul intern	15
6.6 Modificări ale microbiomului cutanat în funcție de gen	15
CAPITOLUL 7. Microbiomul cutanat în psoriazis – stadiul actual al cunoașterii	16
II. PARTEA SPECIALĂ	17
CAPITOLUL 8. Ipoteza de lucru- Obiectivele studiului	17
CAPITOLUL 9. Metodologia generală a lucrării- Materiale și metode.....	18
9.1 Materiale și metode.....	18
9.2. Metode de recoltare, izolare și identificare a tulpinilor bacteriene	19
9.4 Identificarea tulpinilor izolate.....	19
9.5 Medii de cultură utilizate:	20
9.6. Examinarea microscopică a probelor recoltate	20
9.7 Identificarea <i>microorganismelor</i> utilizând sistemul MALDI-TOF.....	20
CAPITOLUL 10. Rezultate obținute.....	21
10.1 Caracterizarea generală a loturilor de studiu.....	21

10.2 Rezultate obținute în urma efectuării probelor clinice.....	22
10.3 Studiul comparativ pe sexe al speciilor observate în cele 12 probe	25
10.4 Studiul comparativ pe domiciliu de proveniență al speciilor observate în cele 12 probe .	26
10.5 Studiul comparativ pe grupe de vârstă al speciilor observate în cele 12 probe	27
10.6 Studiul comparativ al microbiomului în funcție de localizarea probei.....	27
10.7 Evaluarea scorurilor de severitate în raport cu microbiomul cutanat la pacienții diagnosticați cu psoriazis vulgar	28
CAPITOLUL 11. Discuții	29
CAPITOLUL 12. Concluzii generale.....	36
CAPITOLUL 13. Contribuții originale și perspective	37
BIBLIOGRAFIE SELECTIVĂ	41

Listă abrevieri

APC	Celula prezentatoare de antigen
CD	Cluster of differentiation
DLQI	Dermatology Life Quality Index
ESIF	Erythema, Scaling, Induration, Fissuring Scale
IFN	Interferon
IL	Interleukină
LT	Limfocit T
LTh	Limfocit T helper
MHC	Complexului major de histocompatibilitate
NAPSI	Nail Psoriasis Severity Index
PASI	Psoriasis Area and Severity Index
PSSI	Psoriasis Scalp Severity Index
TNF	Tumour necrosis factor
UVA	Ultraviolete de tip A
UVB	Ultraviolete de tip B

Introducere

Psoriazisul reprezintă maladia inflamatorie cronică cutanată, frecvent întâlnită în practica dermatologică, cu răsunet important în calitatea vieții pacienților. Departe de a fi o afecțiune care implică exclusiv aspectul estetic al pacientului, psoriazisul este o boală multisistemică, ce poate determina afectări articulare majore și care se poate asocia cu diverse comorbidități cum ar fi bolile inflamatorii gastrointestinale, diabetul zaharat, hipertensiunea, la pacienții cu predispoziție genetică. De asemenea, impactul psoriazisului asupra calității vieții pacienților este major din cauza stigmatizării acestor pacienți de către populația generală determinând creșterea nivelului de stres și anxietate în rândul acestor pacienți.

Studiul microbiomului cutanat a devenit extrem de important în ultimii ani, cercetările actuale demonstrând rolul acestuia în patogenia bolilor inflamatorii cronice cutanate. Disbioza microbiomului cutanat determină dezechilibre la nivel celular, ale sistemului imun, alterări ale barierei cutanate cu consecințe în evoluția bolii cutanate. Așadar, la momentul actual, cercetări recente internaționale, se concentrează pe relația dintre microorganismele arborate la nivel cutanat și consecințele acestora în patologia dermatologică.

Studiul de față a pornit de la premisa că orice modificare în structura microbiomului cutanat generează un răspuns de tip inflamator cu consecințe în evoluția psoriazisului. Astfel, am inițiat studiul referitor la implicațiile microbiomului cutanat în psoriazis, cercetând o populație naivă din acest punct de vedere, întrucât în sud-estul României, această temă nu a mai fost abordată până în prezent.

În teza de față, abordăm caracteristicile microbiomului cutanat în funcție de statusul de boală al pacienților, severitatea psoriazisului, comparativ cu individul sănătos, fără afectare inflamatorie cutanată. Rezultatele obținute în această lucrare, certifică modificări clare ale microbiomului cutanat între pacienții diagnosticați cu psoriazis din lotul activ și indivizii sănătoși din grupul martor. Dezechilibrele regăsite în compoziția microbiomului cutanat pot determina declanșarea perioadei de activitate a psoriazisului și persistența acesteia în timp.

Cercetarea actuală reprezintă o noutate în România, studiul referitor la microbiomul cutanat în psoriazis nemaifiind abordat până în prezent. De asemenea, populația studiată prezintă caracteristici demografice inedite, nemaifiind studiat până în prezent microbiomul cutanat al acestor pacienți.

I. PARTEA GENERALĂ

CAPITOLUL 1. Scurt istoric al psoriazisului

Primul capitol al tezei de față, realizează un scurt istoric al psoriazisului în care se evidențiază momentele cheie în diagnosticul și abordarea terapeutică a acestei maladii cutanate. În Evul Mediu, o eroare survenită în traducerea textelor arabe în limba latină a dus la confuzia că orice afecțiune cutanată scuamoasă desemnează lepra. Astfel, pacienții cu psoriazis au fost stigmatizați, excluși din societate, fiind nevoiți să poarte veșminte specifice pentru a fi recunoscuți. Din cauza presupusei contagiozități, acestora nu li se permitea să se adreseze persoanelor sănătoase sau să le atingă. De asemenea, erau nevoiți să își anunțe prezența prin purtarea în permanență a unui clopot care să le anunțe apariția. Această confuzie a termenilor, cu consecințe tragice pentru pacienții cu psoriazis care erau supuși acelorași tratamente ca bolnavii de lepră, a durat timp de aproape nouăsprezece secole.

Începând cu anii 1970 descoperirile majore cu privire la etiopatogenia psoriazisului au deschis noi căi în elucidarea fenomenelor inflamatorii ce stau la baza inițierii și menținerii răspunsului inflamator exagerat din psoriazis.

În ceea ce privește descoperirile importante de-a lungul timpului referitoare la tratamentul psoriazisului, în Egiptul Antic se practica fotoexpunerea după tratarea zonelor lezate cu diferite produse de origine vegetală, fotosensibilizante. [1]

Apariția corticoterapiei topice la începutul anilor 1950 a revoluționat conduita terapeutică dermatologică, realizându-se primele unguente cu dermatocorticoizi cu eficiență înaltă pentru leziunile de psoriazis. În 1972 methotrexatul a primit aprobare pentru a putea fi folosit ca tratament sistemic în psoriazis, urmând o nouă eră în managementul acestei boli. Din 2003 până în prezent, prin progresele cercetărilor în domeniul etiopatogeniei psoriazice, au fost introduse și utilizate cu succes terapiile biologice prin care s-a obținut controlul bolii și al recidivelor ameliorând astfel calitatea vieții pacienților cu psoriazis.[2,3]

CAPITOLUL 2. Aspecte etiopatogenice ale psoriazisului

Astfel că în al doilea capitol regăsim aspectele etiopatogenice principale care duc la declanșarea și menținerii bolii active cu accente pe celulele inflamatorii principale din psoriazis, interleukinele cu rol proinflamator și cascada acestora ce menține un răspuns inflamator cronic. În răspunsul inflamator susținut prezent în psoriazis, atât sistemul imun înăscut cât și sistemul imun dobândit contribuie la menținerea inflamației cronice. Astfel,

celulele de tipul celulelor dendritice, neutrofilelor, macrofagelor, limfocitelor T (LT) activate predominant LT helper 1 (LTh1), LTh 17, LTh22, sunt prezente în număr crescut la nivelul plăcilor de psoriazis. Acestea contribuie la alterarea diferențierii și maturării keratinocitelor prin eliberarea de citokine proinflamatorii. De asemenea, vascularizația dermică este influențată de producții proinflamatorii secretați de celulele sistemului imun. Eritemul caracteristic leziunilor din psoriazis este dovada clinică a modificării vasculare a bolii. Factorii de creștere endoteliali, citokinele secretate în urma activării sistemului imun duc nu numai la creșterea numărului de capilare din psoriazis dar și la modificări de structură a acestora, vasele devenind tortuoase și dilatate.[4, 5]

Având în vedere evoluția bolii, patogenia psoriazisului poate fi subdivizată în două faze: inițial declanșarea răspunsului imun prin factorii externi și secundar, o fază de întreținere a inflamației cronice determinată de procesul inflamator susținut. Factorii declanșatori ai psoriazisului au reprezentat un subiect de interes major în studiile privind dezvoltarea de noi teorii etiopatogenice în psoriazis. Așadar, concluziile ultimilor ani referitor la stimulii de la care procesul inflamator din psoriazis se declanșează sugerează existența a două categorii de factori: interni și externi. [6]

Fie că superantigenele bacteriene determină eliberarea de interleukină 12 cu rol în stimularea activării LTh CD4, care generează secreție de IFN γ , sau determină eliberare de interleukină 17 cu efecte prostimulatorii pe LTh CD8+ sau LTh CD4+, fie că disbioza microbiomului cutanat, subiect dezbătut pe larg în cele ce urmează, determină stimulări ale LTh 17, sau creșteri ale IL-22, sau că stresul neuropsihic determină dereglări imune ale sistemului hipotalamic-hipofizar cu rol în creșterea permeabilității vasculare și astfel facilitarea aderării celulelor sistemului imun la nivelul plăcilor de psoriazis, fie că administrarea de tratamente sistice precum beta blocantele, antimalaricele, statinele, antiinflamatoarele nonsteroidiene, celulele sistemului imun reacționează la acești stimuli și determină apariția de molecule proinflamatorii cu rol în întreținerea răspunsului imun exagerat din psoriazis. [6-12]

CAPITOLUL 3. Caracteristici clinice ale psoriazisului

Capitolul trei face referire la diagnosticul clinic al psoriazisului, caracterizarea bolii din perspectivă clinică și descrierea diferitelor forme de psoriazis întâlnite în clinică. Diagnosticul psoriazisului se face în principal clinic. Aspectul leziunilor fiind ușor recognoscibil și caracteristic bolii. Psoriazisul vulgar sau psoriazisul cronic în plăci, reprezintă cea mai frecventă formă de psoriazis. [13] Este caracterizat de apariția de plăci eritemato-scuamoase,

bine delimitate, supradenivelate. [14] Distribuția este simetrică la nivelul zonelor de extensie ale membrilor, îndeosebi coate și genunchi, scalp, lombo-sacral, palmo-plantar. [13, 14] Scumele sunt alb-sidefii, ușor detașabile, groase, ceroase, lamelare care se detașează ușor. [15] În momentul detașării scuamei se observă apariția unei sângerări punctiforme (semnul Auspitz). Acest fenomen reprezintă expresia clinică a subțierii epidermului supraiacent papilelor dermice. [16] De obicei leziunile sunt asimptomatice dar pot fi însoțite de prurit moderat. Prezintă o evoluție cronică, cu perioade de remisiune și acutizări.

CAPITOLUL 4. Metode de diagnostic paraclinic in psoriazis

4.1 Examenul histopatologic

În principal, în psoriazis se evidențiază trei procese caracteristice: hiperplazia epidermică indusă prin hiperfuncționalitatea keratinocitară determinată de acțiunile citokinelor și interleukinelor prezente în cantități crescute; modificările de vascularizație de la nivel dermal și un bogat infiltrat inflamator. Plăcile complet constituie sunt caracterizate de parakeratoză confluentă expresie a keratinizării aberante. Neutrofilele au tendința de a migra de la nivelul dermului spre epiderm, unde se pot forma agregate la nivelul stratului cornos, cunoscute ca microabcse Munro. Dispunerea neutrofilelor la nivelul stratului spinos poartă denumirea de micropustule spongiforme Kogoj. Acestea din urmă sunt caracteristice psoriazisului pustulos în care se regăsesc din abundență. [17]

4.2. Diagnosticul imagistic al psoriazisului vulgar : Microscopia confocală de reflectanță

Evoluția mijloacelor imagistice de diagnostic din ultimii ani, a permis evaluarea psoriazisului din perspective revoluționare. În prezent, este posibilă studierea și observarea modificărilor specifice micromoleculare din psoriazis, în timp real, fără a fi necesare proceduri invazive. Astfel prin microscopia confocală de reflectanță și tomografia în coerență optică, sunt accesibile date și imagini in vivo, având șansa de a observa celulele, procesele inflamatorii și modificările structurale specifice psoriazisului în timp real, inclusiv mobilitatea limfocitară în vasele dilatate, tortuoase, specifice pentru psoriazis. Față de examenul histopatologic clasic, microscopia confocală de reflectanță generează imagini în timp real, fiind posibilă evidențierea structurilor microscopice sugestive pentru psoriazis fără a fi necesară efectuarea biopsiei cutanate. Datorită acestei tehnici noninvazive se pot vizualiza în timp real toate structurile histopatologice cunoscute și având în vedere că examinarea se face in vivo, pot fi analizate mai multe leziuni cutanate în diverse stadii de evoluție. Cu ajutorul acestei metode de diagnostic, se pot vizualiza pe plan orizontal atât epidermul și joncțiunea dermo-epidermică, cât și dermul

papilar. Astfel, pasajului limfocitar la nivel capilar, infiltratul inflamator local, keratinocitele, fibrele de colagen se remarcă ușor prin această tehnică diagnostică. [18]

4.3. Diagnosticul imagistic al psoriazisului vulgar: Tomografia în coerență optică

Tomografia în coerență optică este de asemenea o metodă de diagnostic imagistic in vivo, de mare rezoluție, care se bazează pe principiul interferometriei Michelson. [19] În urma efectuării procedurii neinvazive se obțin imagini transversale, în timp real, a structurilor microcelulare de la nivel lezional sau perilezional prin măsurarea lungimilor de undă și a densității întâlnite, precum și a indicilor de refracție. [19] Caracteristicile descrise până în prezent referitor la bolile inflamatorii cronice cutanate includ descrierea modificărilor de vascularizație atât cantitativ cât și calitativ, grosimea crescută a epidermului, elongarea rete ridges și a papilelor dermice. [20,21] Față de microscopia confocală de reflectanță, secțiunile create de tomografia în coerență optică sunt mai profunde la nivelul dermului. Cele două metode imagistice prezentate, se completează reciproc și s-au dovedit extrem de utile în practica curentă, având în vedere noninvazivitatea procedurilor, ele constituind un real ajutor pentru medicul clinician în stabilirea diagnosticului diferențial, al răspunsului terapeutic și al urmării îndeaproape a evoluției maladiilor cutanate cronice. De asemenea, aplicabilitățile practice ale celor două instrumente de analiză diagnostică sunt necesare inclusiv în patologia tumorală cutanată unde pot genera imagini în timp real a marginilor de excizie a leziunilor maligne.

CAPITOLUL 5. Management terapeutic în psoriazis

5.1. Scoruri de severitate

Actualmente, alegerea opțiunii terapeutice se realizează în funcție de diferite metode de a cuantifica severitatea bolii. Impactul leziunilor cutanate este perceput diferit. Așadar, au fost instituite diverse scoruri pentru a putea clasifica severitatea bolii: Psoriasis Area and Severity Index (PASI), Nail Psoriasis Severity Index (NAPSI), Erythema, Scaling, Induration, Fissuring Scale (ESIF), Psoriasis Scalp Severity Index (PSSI), Dermatology Life Quality Index (DLQI). În urma efectuării scorurilor de severitate și a evaluării calității vieții pacienților cu psoriazis, se impune stabilirea conduitei terapeutice ce vizează ameliorarea simptomatologiei și a obținerii perioadei de remisiune, având în vedere faptul că până la acest moment, nu există tratament curativ pentru această maladie inflamatorie cronică cutanată.

5.2. Tratamentul topic în psoriazis

Tratamentul topic în psoriazis se instituie în cazurile ușoare de boală. Măsurile locale de tratament sunt adaptate în funcție de forma clinică a bolii. Posibilitățile terapeutice locale includ substanțe keratolitice, dermatocorticoizi, gudroane, analogi ai vitaminei D3, retinoizi. Din cauza riscului de koebnerizare tratamentul cu iritanți locali trebuie evitat la pacienții cu tendință la eritrodermizare.

Corticoterapia locală are ca principal efect scăderea inflamației locale prin efectele imunosupresoare. Totodată, tratamentul local corticoid influențează recrutarea celulelor inflamatorii cum ar fi monocitele sau neutrofilele, modulează activitatea celulelor prezentatoare de antigen ducând la o scădere a activării limfocitare cu efecte antiproliferative celulare. Eficiența glucocorticoizilor este influențată de zona tratată, complianța pacientului și grosimea leziunilor cutanate. Efectele adverse cutanate cele mai frecvente constau în apariția atrofiei, telangiectaziilor, vergeturilor sau a erupțiilor acneiforme. [22,23] Substanțele keratolitice sunt folosite în managementul psoriazisului pentru a decapa leziunile cutanate și a facilita penetranța substanțelor cu efect antiproliferativ și antiinflamator. Cel mai frecvent utilizate substanțe keratolitice sunt acidul salicilic și ureea în concentrații de 2-5%, respectiv 20-30%. [22] Efectele analogilor de vitamină D se bazează pe interacțiunea cu receptorii de vitamină D rezultând scăderea proliferării keratinocitare și a citokinelor proinflamatorii modulând astfel diferențierea epidermică. [24] Noutatea ultimilor ani o reprezintă preparatul topic ce conține un inhibitor de fosfodiesterază 4- roflumilast folosit în psoriazisul cronic în plăci. Acesta reprezintă o alternativă la tratamentul cu corticoizi inclusiv la nivelul pliurilor cutanate. [24]

5.3. Măsuri fizice de tratament: Fototerapia în psoriazis

Fototerapia cu radiații ultraviolete are ca rezultat atât efecte antiproliferative keratinocitare cât și efecte antiinflamatorii prin depleționarea epidermului de limfocite T și modificarea răspunsului inflamator cu creșterea LTh2 față de LTh1. [25] În prezent, fototerapia eficientă în psoriazis este compusă din ultraviolete de tip B (UVB) cu bandă îngustă (UVB narrowband) cu lungimi de undă de 311 nm, fototerapie cu spectru larg UVB (broadband UVB) cu lungimi de undă cuprinse între 290 nm și 320 nm și asocierea fotochimioterapiei cu ultraviolete de tip A (UVA) cu lungimi de undă cuprinse între 320 și 400 nm cu o substanță fotosensibilizantă de tipul psoralen. [25] Pentru plăcile localizate, stabile de psoriazis se folosește laserul Excimer cu lungimi de undă de 308 nm care poate avea rezultate mai rapide decât fototerapia convențională. [26, 27]

5.4 Terapii sistemice în psoriazis

În psoriazisul sever, opțiunile de tratament topic sau fototerapia nu sunt suficiente. Tratamentul sistemic este necesar pentru a se putea obține remisiune clinică. La momentul actual nu există un tratament curativ în psoriazis. Ameliorarea și remisia leziunilor cutanate sunt obținute datorită multiplelor opțiuni terapeutice sistemice ca methotrexatul, retinoizii, ciclosporina, apremilastul și terapia biologică. Methotrexatul este un agent citotoxic antimetabolit, derivat de acid folic, cu proprietăți în inhibarea sintezei de ADN. Acumularea sa la nivel intracelular face posibilă administrarea săptămânală cu eficiență sporită în tratamentul psoriazisului cronic în plăci. [28, 29] Mecanismul de acțiune al acestei molecule nu este pe deplin înțeles, dar în doze relativ mici acesta acționează prin scăderea proliferării limfocitare și acumulare extracelulară de adenzină cu efect intens antiinflamator. [28, 29] Efectele adverse sunt reprezentate de greață, vărsături, anemie megaloblastică, toxicitate hepatică. [28, 29]

5.5. Terapia biologică în psoriazis

Avansul tehnologiilor moleculare a permis descoperirea de noi molecule implicate în procesul patologic al bolii, astfel a fost dezvoltată generația a doua de agenți biologici, începând cu anul 2009. Țintele terapeutice sunt reprezentate de subunitatea p40 comună pentru IL 12-IL23, subunitatea p19 a IL 23, și IL 17. Molecule noi ca ustekinumab, secukinumab, ixekinumab, guselkinumab au fost introduse în schema de tratament pentru psoriazisul moderat sever, ce necesită abordare sistemică. Noile modalități terapeutice în abordarea psoriazisului sever au revoluționat tratamentul psoriazisului. Biologia moleculară a facilitat înțelegerea diferitelor căi patogenice și legăturile între sistemul imun înnăscut și sistemul imun dobândit, obținându-se noi ținte în tratamentul psoriazisului. Țintele terapeutice vizate de terapia biologică sunt molecule cu rol crucial în patogenia psoriazisului.

CAPITOLUL 6. Noțiuni generale despre microbiomul cutanat

6.1 Generalități referitoare la microbiomul cutanat. Stadiul actual al literaturii de specialitate

Joshua Lederberg, laureat al premiului Nobel în Medicină în 1958, a folosit pentru prima dată termenul de *microbiom* pentru a defini genomul microorganismelor existente ce colonizează organismul uman. În 2001 Lederberg definea termenul de microbiom uman „pentru a da semnificație comunității ecologice de microorganisme comensale, simbiotice și patogene alături de care împărțim spațiul corpului nostru și care au fost trecute cu vederea ca factori determinanți ai stării de sănătate sau de boală”. [30]

Termenul de microbiom derivă din cuvintele grecești „micro” ce înseamnă de dimensiuni mici și „bios”, care se traduce viață. Astfel, microbiomul definește comuniunea de microorganisme împreună cu toate moleculele produse de acestea, inclusiv elementele ce țin de structura lor precum acizii nucleici, lipide, polizaharide, proteine, metaboliți, toxine și moleculele produse ca urmare a interacțiunii cu gazda sau în urma expunerii la mediu.[31-33]

Microbiomul uman este alcătuit din bacterii, virusuri, eucariote și arhee. Aceste microorganisme se regăsesc atât în mediul intern cât și la suprafața corpului. Au capacitatea de a influența fiziologia corpului uman și pot contribui în patogenia anumitor boli.

Recent, rezultatele studiilor din ultimii ani au concluzionat că microbiomul este deosebit de important atât în fiziologia umană cât și în patologii frecvent întâlnite, cum ar fi acneea, rozaceea, psoriazisul, dermatita atopică. În urma cercetărilor efectuate, microbiomul este considerat „ultimul organ” descoperit și studiul acestuia poate genera răspunsuri la întrebări arzătoare ale lumii științifice de pretutindeni.

Microorganismele de la nivel tegumentar care alcătuiesc microbiomul cutanat sunt reprezentate de bacterii, virusuri, eucariote cum sunt fungii și artropodele. De asemenea, pe suprafața pielii se pot observa și paraziți precum acarienii sau demodex.[34] Alterările compoziționale și structurale ale microbiomului cutanat pot genera modificări patologice cu răsunset cutanat și intern.

În funcție de aria cutanată studiată, media numărului de microorganisme regăsită este de 10^4 - 10^6 CFU/cm² identificate prin cultură.[35] Numeroase studii din ultimii ani au concluzionat că bacteriile reprezintă proporția dominantă de la nivelul pielii. Flora microbiană de la nivel cutanat este diversă și constantă. Cele patru filumuri principale de la nivel cutanat sunt: *Actinobacteria* cu proporții între 36-51% *Firmicutes* 24-34% *Proteobacteria* 11-16% și *Bacteroidetes* 6-9%. [34, 35,36]

Speciile de stafilococi coagulazo-negativi sunt reprezentate în principal de *Staphylococcus epidermidis*. Speciile anaerobe sunt reprezentate de *Cutibacterium acnes*, *Corynebacterium*, *Micrococcus*, *Streptococcus* spp., și *Acinetobacter*. [34,35.]

Organismul uman, îndeosebi țesutul cutanat, oferă mediul propice pentru supraviețuirea și multiplicarea bacteriană la acest nivel. În funcție de zonele cutanate studiate, diversitatea microbiană diferă. Astfel, zonele cutanate uscate prezintă o încărcătură microbiană mai mică decât zonele cutanate umede sau cele bogate în sebum. [37] La nivelul zonelor sebacee se observă predominanța *Cutibacterium acnes* pentru care mediul bogat în lipide sporește supraviețuirea; Zonele umede cutanate prezintă colonizare în majoritatea cazurilor cu bacterii din genurile *Staphylococcus* și *Corynebacterium*. [36, 38]

Fungii de la nivel cutanat aparțin filurilor *Ascomycota* și *Basidiomycota*. Genul dominant este *Malasezia* spp în proporție de 80%, cu predominanța acestora la nivel membrilor superiare și trunchiului, însă sunt regăsite și *Aspergillus* spp, *Epicoccum* spp, *Cryptococcus* spp, și *Rhodotoula* spp regăsite mai ales la nivel plantar. [34, 39]

Virusurile prezente la suprafața corpului aparțin familiilor Papillomaviridae, Circoviridae, și Polyomaviridae. [34, 40]

Coloniile bacteriene regăsite majoritar la nivel cutanat sunt comensale și îndeplinesc împreună cu celulele sistemului imun și cu keratinocitele rolul funcției de barieră. Microbiomul cutanat este în general stabil în timp chiar dacă factorii externi pot duce la modificări compoziționale ale acestuia, acestea nu sunt permanente.

6.2 Dezvoltarea microbiomului cutanat de la naștere

Colonizarea bacteriană începe încă din viața intrauterină. Rezultatele studiilor din ultimii ani au demonstrat că uterul nu reprezintă un mediu steril și microorganismele colonizează suprafața tegumentară înainte de naștere. Bacteriile vaginale au capacitatea de a pătrunde la nivelul uterului prin dopul de mucus. [41, 42] Probele obținute din lichidul amniotic și placentă relevă o diversitate și o abundență a florei microbiene scăzute. Cel mai frecvent filum regăsit la nivel placentar și al lichidului amniotic este *Proteobacteria* iar genurile cele mai reprezentate sunt *Escherichia* și *Enterobacter*. *Cutibacterium* sunt regăsiți în cantități mai mici decât genurile *Escherichia*, *Enterobacter* sau *Shigella* dar față de *Streptococcus* și *Staphylococcus* sunt mai frecvenți. [41]

Vârsta individului și zona cutanată pot influența diversitatea și încărcătura microbiană. Pe măsura avansării în vârstă, formarea ridurilor determină modificarea condițiilor de supraviețuire ale microorganismelor astfel, microbiomul în acele zone modificându-se o dată cu vârsta. [43] Totodată, prin procesul de îmbătrânire, scade secreția de sebum, scade activitatea glandelor sudoripare cu modificări esențiale asupra pH-ului și a fiziologiei cutanate.[44] Așadar, se constată o scădere a colonizării cu *Cutibacterium acnes* pe fondul scăderii secreției de sebum dar în anumite zone cutanate mai ales la nivel facial, distingem creșteri ale colonizării cu *Corynebacterium* și *Acinetobacter*. [45-47]

6.4 Microbiomul cutanat în raport cu mediul extern

Microorganismele au o susceptibilitate diferită la radiațiile ultraviolete. *Malassezia* furfur este capabilă să sintetizeze o substanță cu rol de filtru împotriva radiațiilor UV dar împotriva acestui mecanism de apărare are o sensibilitate crescută la UV. [48] Expunerea la radiația UV determină creșteri ale populației de *Cyanobacteria* și scăderi ale *Pseudomonas* și *Lactobacili*.

Radiația solară inhibă dezvoltarea stafilocoului auriu și *Cutibacterium acnes*. Reducerea acestora este asociată cu scăderea producerii de porfirine. [48, 49]

În cercetări recente, V Patra și colaboratorii au evidențiat că microbiomul cutanat poate modula efectele radiațiilor ultraviolete la nivel cutanat, prin modificarea funcției imune și a răspunsului celular. [50] De asemenea, numeroase studii referitoare la studiul microbiomului cutanat în raport cu radiațiile ultraviolete au relevat că agenții microbieni de la nivel cutanat au rol în apărarea împotriva neoplaziilor cutanate fotoinduse [51] și pot induce diferențiere și dezvoltare epidermică [52] precum și creșterea producției de peptide antimicrobiene cu efecte prinflamatorii. [53, 54]

6.5 Microbiomul cutanat în raport cu mediul intern

Condițiile de la nivelul țesutului cutanat, îndeosebi printr-un pH cutanat ușor acid, deshidratarea și temperatura ușor scăzută față de mediul intern pot duce la alterări ale microbiomului cutanat. [55]

Țesutul cutanat, prin caracteristicile sale structurale, oferă condiții diferite de dezvoltare a florei bacteriene. Variabilitatea pH-ului, a temperaturii și a umidității favorizează înmulțiri bacteriene în proporții diferite în funcție de regiunea corpului studiată. Supraviețuirea microbiană este condiționată de mediul de dezvoltare regăsit la nivel cutanat astfel că zonele cu număr crescut de glande sebacee, sudoripare, foliculi piloși, glande ecrine sau apocrine sunt considerate zone nișă în care diversitatea și abundența microbiană sunt mai mari față de restul corpului. Studiile demonstrează că la același individ, flora microbiană variază în funcție de mediul de dezvoltare. [55, 56]

La nivelul zonelor umede ale corpului uman diversitatea microbiană este mai mare decât în zonele uscate astfel că la nivel axilar regăsim populații importante de *Corynebacterium* și *Staphylococcus* în timp ce în regiunile uscate există o preponderență de *Proteobacterii* și *Flavobacterii*. Grosimea pielii, adâncimea și localizarea pliurilor cutanate, densitatea foliculilor piloși și a glandelor contribuie la echilibrul microbiomului cutanat. [55] În zonele uscate ale pielii, zonele de extensie ale membrelor care sunt frecvent expuse la variații de temperatură și deshidratare, diversitatea microbiomului este limitată. Astfel, majoritar, sunt descrise colonii ce țin de ordinul *Proetobacteria*, *Bacteroidetes* și *Actinobacteria*. [57]

6.6 Modificări ale microbiomului cutanat în funcție de gen

Microbiomul cutanat al persoanelor de sex feminin este caracterizat printr-o mai mare diversitate microbiană decât cel al persoanelor de sex masculin. [58, 59] O varietate mai mare este explicată printr-un pH mai mic, țesut cutanat mai subțire și sudorație mai puțin abundentă

la femei față de bărbați precum și influența factorilor hormonal determină modificări din punct de vedere al încărcăturii și diversității microbiene. [60, 61] Igiena personală reprezintă un factor determinant în structura microbiomului individual. De exemplu, mâinile pot reprezenta un important rezervor de agenți patogeni. Probe recoltate de la nivel dorso-palmar la femei, au arătat o creștere a numărului de *Lactobacillus* și *Enterobacillus* față de probele recoltate de la bărbați, în timp ce la sexul masculin, s-a evidențiat o creștere de *Cutibacterium* și *Corynebacterium*. [62]

Utilizarea de produse cosmetice poate influența compoziția microbiomului cutanat. Unele ingrediente din produsele cosmetice pot favoriza dezvoltarea de bacterii lipofile precum *Staphylococcus* sau *Cutibacterium*. [63]

CAPITOLUL 7. Microbiomul cutanat în psoriazis – stadiul actual al cunoașterii

Capitolul șapte se referă la caracteristicile microbiomului cutanat în psoriazis. Studiile ultimilor ani s-au concentrat pe caracterizarea microorganismelor de la nivel cutanat în raport cu patogenia psoriazisului. Rezultatele studiilor efectuate până în prezent stabilesc că *Streptococcus* este cel mai frecvent agent microbial regăsit la nivelul pielii pacienților cu psoriazis. Pacienții pot dezvolta leziuni cutanate psoriaziforme după infecții acute streptococice. [64] Rolul infecției de tract respirator superior cu *Streptococcus pyogenes* în declanșarea sau exacerbarea leziunilor de psoriazis reprezintă cea mai puternică dovadă a implicării microbiomului în patogenia bolii. Forma clinică de psoriazis gutat se asociază cu istoric de faringită streptococică, mai ales în rândul populației infantile. Infecția streptococică stimulează direct proliferarea LT prin superantigenele streptococice fără acțiunea CPA. Colonizarea cu streptococ beta hemolitic de tip *pyogenes* la nivel cutanat, sau la nivelul tractului respirator superior, determină la anumiți indivizi predispuși genetic, apariția de leziuni cutanate specifice pentru psoriazis. [65] Proteina M streptococică reprezintă principalul factor virulent și determinant antigenic al streptococilor de grup A fiind o moleculă fibrilară de suprafață. [66] Superantigenele streptococice, în special proteina M6 streptococică prezintă mimetism molecular cu citokeratina umană 1 prezentă la nivelul kartinocitelor bazale. [66] Legarea proteinei M streptococică sau a exotoxinelor streptococice la moleculele HLA-DR de pe macrofage, celule dendritice sau keratinocite favorizează activarea și expansiunea clonală a LT cu eliberarea de IFN γ cu rol în inițierea și menținerea procesului inflamator din psoriazis. Datele disponibile la acest moment arată că la nivel cutanat, pacienții diagnosticați cu psoriazis, prezintă colonizare cu *Staphylococcus aureus* mai mare decât subiecții sănătoși. [67] La

pacienții cu portaj de *Staphylococcus aureus* s-a observat prezența de LTh17 reactive față de pacienții purtători de *Staphylococcus epidermidis* la care nu au fost observate LTh17. De asemenea, pacienții cu culturi pozitive pentru *Staphylococcus aureus* prezintă valori mult crescute ale PASI. [68] *Staphylococcus aureus* poate induce răspuns inflamator de tip LTh1, psoriazisul fiind mediat imun prin LTh1 iar exacerbarea leziunilor de psoriazis a fost asociată cu colonizarea cu *Staphylococcus aureus*. De asemenea, peptidoglicanii de la suprafața stafilococului auriu induc proliferarea keratinocitară. [68] *Staphylococcus epidermidis*, prin biofilmul său poate inhiba aderarea agenților patogeni, prin competitivitate directă. În acest sens, studii recente demonstrează inhibiția directă de către *Staphylococcus epidermidis* a *Staphylococcus aureus*. [69]

Pacienții colonizați la nivelul scalpului cu *Malassezia* spp. pot dezvolta apariția de noi leziuni de psoriazis la nivelul umerilor ca urmare a depunerii scuamelor la acest nivel. [70, 71] Specia fungică *Malassezia* produce lipaze și fosfolipaze cu rol chemoattractant pentru polimorfonucleare. De asemenea, poate induce activarea keratinocitară cu rol în producerea suplimentară de peptide antimicrobiene. Exacerbarea leziunilor de psoriazis este posibilă prin creșterea expresiei integrinelor și a factorului de creștere B1 crescând turnoverul celular. [72] La momentul actual nu este clar dacă disbioza cutanată reprezintă punctul cheie în declanșarea răspunsului inflamator sau reprezintă o consecință a acesuia. Actualmente se consideră că modificarea microbiomului reprezintă un factor declanșator sau exacerbant în patologia psoriazică.

II. PARTEA SPECIALĂ

CAPITOLUL 8. Ipoteza de lucru- Obiectivele studiului

Teza de doctorat „Microbiomul cutanat în psoriazis” are ca obiectiv principal explorarea caracteristicilor clinico-biologice ale microbiomului cutanat în psoriazis comparativ cu individul sănătos și evaluarea implicării agenților microbieni în evoluția bolii.

În contextul actual în care implicarea microbiomului în patologii cutanate este intens explorată, studiul referitor la rolul microbiomului cutanat în psoriazis reprezintă un important subiect de interes cu posibile consecințe în evaluarea conduitei terapeutice și ameliorarea calității vieții pacienților diagnosticați cu psoriazis.

Obiectivele studiului de față sunt :

1. Caracterizarea microbiomului cutanat regăsit la nivel tegumentar atât la pacienții diagnosticați cu psoriazis cât și la indivizii sănătoși.

2. Prezentarea și caracterizarea florei microbiene de la nivelul țesutului cutanat lezional și perilezional.
3. Determinarea de posibile roluri ale agenților microbieni în inducerea bolii și în generarea răspunsului imun.
4. Determinarea impactului florei microbiene cutanate asupra patogeniei, tratamentului și evoluției psoriazisului.
5. Verificarea ipotezei conform căreia disbioza microbiomului cutanat induce agravarea psoriazisului.
6. Evaluarea comparativă a prezenței anumitor agenți patogeni în raport cu diferitele stadii de boală și caracteristicile personale ale pacienților.

CAPITOLUL 9. Metodologia generală a lucrării- Materiale și metode

9.1 Materiale și metode

Tipul studiului: Studiu clinic retrospectiv și actual caz-control. Locație și perioadă: Studiul s-a desfășurat în cadrul Secției de Dermatovenerologie a Spitalului Clinic de Boli Infecțioase „Sfânta Parascheva” din Galați, în perioada mai 2023-iulie 2023.

Selecția pacienților: În urma consultului clinic, au fost identificați pacienții diagnosticați cu psoriazis vulgar cu vârsta de peste 18 ani, care s-au prezentat în secția Dermatovenerologie a Spitalului Clinic de Boli Infecțioase „Sfânta Parascheva” din Galați, în perioada mai-iulie 2023.

Clasificarea pacienților: Pacienții diagnosticați cu psoriazis vulgar au fost clasificați în funcție de: vârstă; sex; mediul de viață; gradul de afectare al leziunilor cutanate utilizând scorurile de severitate: Psoriasis Area Severity Index (PASI), Dermatology Life Quality Index (DLQI), Nail Psoriasis Severity Index (NAPSI), Psoriasis Scalp Severity Index (PSSI), Erythema, Scaling, Induration, Fissuring Scale (ESIF);

Constituire lot martor: Lotul martor a fost constituit din indivizi fără istoric personal de psoriazis vulgar sau alte maladii inflamatorii cronice cutanate, cu vârste apropiate de pacienții cu psoriazis din grupul studiat, fără istoric heredocolateral de psoriazis vulgar, artrită psoriazică sau alte patologii inflamatorii cronice cutanate.

Criterii de includere: Indivizii selectați pentru a participa la studiu au fost nevoiți să respecte reguli stricte de igienă având în vedere sensibilitatea subiectului studiului. Așadar, timp de 14 zile anterior recoltării probelor, pacienții au fost instruiți să folosească numai săpunuri blânde

și creme emoliente, fără substanțe active keratolitice, fără ingrediente active precum ureea, acidul salicilic. De asemenea, nu au fost incluși în studiu pacienții aflați în timpul fototerapiei sau a tratamentului sistemic pentru psoriazis. Pacienții ce foloseau tratament topic au oprit administrarea acestuia cu minim 28 de zile anterior recoltării probelor cutanate. Cu 24 de ore anterior recoltării probelor, tuturor indivizilor din studiu li s-a interzis toaleta igienică zilnică și aplicarea de diverse formule topice cutanate.

Criterii de excludere: Pacienții excluși din studiu au fost pacienții diagnosticați cu neoplazii, artrită psoriazică sau boli autoimune, împreună cu cei cu stări imunosupresive și cei care se aflau în tratament oral cu antibiotice, imunomodulatoare, agenți antiinflamatori sistemici, probiotice. De asemenea, au fost excluși cei care au urmat o dietă restrictivă anterior începerii studiului.

9.2. Metode de recoltare, izolare și identificare a tulpinilor bacteriene

Prelevarea probelor s-a efectuat la Spitalul Clinic de Boli Infecțioase „Sfânta Parascheva” din Galați, prin manipulare aseptică și antiseptică, respectând Protocoalele Interne [73], cuprinse în Manualul de Recoltare de Probe al Laboratorului.

Au fost introduși în studiu 20 de pacienți diagnosticați cu psoriazis vulgar și 13 indivizi sănătoși alcătuind lotul martor.

Recoltarea și izolarea tulpinilor bacteriene s-a realizat prin:

- Aplicarea procedurilor preanalitice: metodele specifice de recoltare și transport a probelor
- Aplicarea procedurilor analitice: efectuare de culturi bacteriene, examinare macroscopică și microscopică, identificare.

Personalul care a recoltat probele a respectat regulile de asepsie și antisepsie. Recolta s-a efectuat cu mănuși sterile și instrumentar steril pentru a evita contaminarea probelor.

Au fost recoltate probe pentru identificarea microbiomului cutanat din diferite regiuni ale pielii de la toți participanții folosindu-se trei metode de recoltare: tampon steril, bandă adezivă și biopsie cutanată. Probele de la indivizii din lotul martor au constat în recoltare cu bandă adezivă și tampon steril. Probele au fost recoltate în dublu pentru a putea identifica flora aerobă și anaerobă.

9.4 Identificarea tulpinilor izolate

Identificarea tulpinilor izolate s-a realizat pe baza:

- caracterelor de cultură pe mediu Columbia sânge: diverse tipuri de colonii, hemolitice/nonhemolitice, pigmentate/nepigmentate, tip R/S, umbonate, turtite, mucoide, în funcție de gen/specie
- morfotinctoriale: Gram +/- ; bacili de diferite dimensiuni, sporulați/nesporulați, coci izolați, in diplo, lanțuri, grămezi
- și prin identificarea cu ajutorul spectrometriei de masă.

Identificarea tulpinilor bacteriene s-a realizat în Laboratorul Clinic al Spitalului de Copii „Sfântul Ioan” Galați, cu MALDI-TOF /Autof MS 1000 (Autobio Diagnostics Co., Ltd, China).

9.5 Medii de cultură utilizate: Mediu Bulion Nutritiv+Glucosa (pH final = 7.4-7.6); Mediu thioglicolat lichid; Mediul Columbia sânge: (pH final = 7.3±0.2)

9.6. Examinarea microscopică a probelor recoltate

Examinarea microscopică a probelor recoltate s-a realizat prin examinarea la microscopul optic a frotiurilor colorate Gram realizate din culturile microbiene dezvoltate pe mediu solid reprezentative. Etalarea coloniilor a constat în dispersarea cât mai omogenă pe o suprafață care să cuprindă centrul lamei microscopice și să nu atingă marginile acesteia. S-au etalat prin mișcări circulare cu ajutorul ansei bacteriologice într-o picătură de apă fiziologică sterilă (A.F.S.) sau apă distilată sterilă (A.D.S.), depusă anterior pe lamă cu ajutorul ansei sau a unei pipete Pasteur, după care s-a etalat suspensia obținută, astfel încât să se obțină un strat subțire și uniform [74]

9.7 Identificarea *microorganismelor* utilizând sistemul MALDI-TOF

Sistem de spectrometrie de masă care utilizează timpul de zbor cu ionizare prin desorbție laser asistată de o matrice MALDI-TOF (Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization Time Of Flight) pentru identificarea bacteriilor aerobe, bacteriilor anaerobe, fungi și micobacterii non-tuberculoză, din colonii obținute pe medii de cultură din diverse produse biologice. Sistemul automat de identificare microbiană folosește plăci „matriță” cu 96 de poziții confecționate din oțel inoxidabil, atât de tipul celor reutilizabile cât și de tipul celor de unică folosință. Probele microbiene sunt preparate prin amestecarea cu o soluție matrice (acid α -ciano-4-hidroxicinamic [CHCA]), un compus organic capabil să absoarbă lumina ultravioletă (lumină laser N2, $\lambda = 337$ nm) și să transforme lumina UV în căldură, apoi introdus într-un mediu cu vid înalt. [75, 76] Când matricea și proba sunt adăugate împreună și lăsate să se usuce, amestecul se cristalizează, prinzând proba în același cristal lamelar. Iradierea cu laser a

amestecului determină încălzirea rapidă a matricei, care trece în stare gazoasă împreună cu proteinele microbiene. Peptidele în stare gazoasă sunt transformate în ioni, particule încărcate electric, prin transferul de protoni cu matricea. [76] Ionii protonați sunt accelerați printr-un câmp electric și separați printr-o diferență de potențial de tensiune pe baza raportului masa/sarcină al fiecărui ion. Accelerația ionilor prin tubul de zbor are loc într-un mediu cu vid înalt pentru a se asigura că ionii obțin zborul liber către analizorul de masă (detector). Ionii pot fi apoi detectați de către MALDI-TOF pentru a determina greutatea moleculară respective (Da). Identificările microorganismelor obținute în urma utilizării spectrometriei de masă MALDI-TOF au fost centralizate utilizând Microsoft Excel generând astfel rezultatele folosite în efectuarea statisticii studiului.

Analiza statistică a fost efectuată în SPSS 29.0. Datele calitative au fost raportate ca frecvențe absolute și procente, iar datele cantitative au fost raportate ca medii și abateri standard. Asocierile dintre datele calitative au fost investigate folosind testele Chi-pătrat și Fisher. Valorile lui $p < 0,05$ au fost evaluate ca semnificative statistic, iar valorile $p < 0,01$ au fost evaluate ca fiind, de asemenea, semnificative statistic.

În urma procesării datelor statistice, caracterizarea microbiomului cutanat în psoriazis și la individul sănătos, a determinat obținerea de rezultate cu aplicabilitate clinică, majoritatea fiind în concordanță cu rezultatele studiilor actuale. Rezultatele semnificative statistic au fost evidențiate generând informații clare cu rol în caracterizarea microbiomului cutanat atât al pacienților cu psoriazis cât și la indivizii sănătoși, într-o populație din sud-estul României, ce nu a mai fost studiată din acest punct de vedere anterior. Aceste observații reprezintă elemente originale și concluzii definitorii pentru cercetarea medicală din România.

CAPITOLUL 10. Rezultate obținute

10.1 Caracterizarea generală a loturilor de studiu

Studiul a fost alcătuit din două loturi de pacienți însumând 33 de indivizi de la care au fost prelevate în total 180 de probe cutanate. Au fost investigați 20 de pacienți cu psoriazis și 13 subiecți sănătoși, de la care s-au prelevat probe pentru analiza microbiomului cutanat. În lotul activ predomină bărbații, în proporție de 75,0%, în timp ce în lotul de control predomină sexul feminin, în proporție de 76,9%; de asemenea în lotul activ se observă o ușoară prevalență a pacienților cu domiciliul urban (55,0%), care se accentuează în lotul de control, unde ajunge la 76,9%. Vârsta pacienților în cele 2 loturi este relativ asemănătoare, la nivel global înregistrându-se o medie de vârstă de $51,03 \pm 12,994$ ani, cu o plajă de variație între 21 și 73

de ani. Au fost recoltate douăsprezece probe de la subiecții studiului, prin trei metode, tampon, bandă adezivă și biopsie cutanată, lezional și perilezional, aerob și anaerob, pentru studiul microbiomului cutanat. Cele mai multe specii de bacterii au fost identificate la recoltarea cu bandă adezivă la nivelul leziunii, în mediu aerob (20 specii) și respectiv anaerob (12 specii); tot în cazul recoltării cu bandă adezivă, dar perilezional, în mediu aerob au fost observate 12 specii de bacterii și în mediu anaerob au fost observate 18 specii. Pe poziția următoare se situează recoltarea cu tampon – cele mai multe specii de bacterii au fost identificate perilezional, în mediu aerob (17), în timp ce prin biopsie au fost observate cele mai puține specii de bacterii (ușor mai frecvente perilezional decât la nivelul leziunii).

10.2 Rezultate obținute în urma efectuării probelor clinice

Au fost identificate simultan per probă de la una la patru specii de bacterii, existând și câteva probe pentru care speciile de bacterii nu au putut fi identificate. La 13.4% dintre probele de control au fost identificate 3 sau 4 specii de bacterii, comparativ cu numai 8.4% dintre probele recoltate de la pacienți bolnavi, perilezional și 3.1% dintre cele recoltate lezional.

Studiul comparativ al speciilor de bacterii identificate la cele 3 categorii de probe evidențiază diferențe semnificative statistic doar în cazul *Bacillus cereus*, care a fost observată mai frecvent în lotul de control (15.4% din probe) comparativ cu probele recoltate de la pacienți, lezional (4.2%) sau perilezional (3.1%). În cazul probelor recoltate perilezional, de la pacienți bolnavi, au fost observate în procentaje mai ridicate comparativ cu celelalte două categorii de probe *Bacillus pumilus* și *Corynebacterium spp* (5.2% dintre probe), *Klebsiella pneumoniae* (a fost identificată în 3 probe, dar în nici una dintre cele de control sau recoltate lezional), *Staphylococcus haemolyticus* (9.4% dintre probe), *Staphylococcus hominis* (24.0% dintre probe) și *Staphylococcus spp* (alte specii – 6.3% dintre probe). În cazul probelor recoltate lezional, de la pacienți bolnavi, au fost observate în procentaje mai ridicate comparativ cu celelalte două categorii de probe *Bacillus subtilis* (identificată în 3 probe, dar în nici una dintre cele de control sau recoltate perilezional), *Staphylococcus aureus* (13.5% dintre probe, dar și 12.5% dintre probele recoltate perilezional – diferență între categorii care se încadrează în pragul de 0.10 de semnificație statistică) și *Staphylococcus epidermidis* (36.5% dintre probe).

În ceea ce privește probele preluate în mediu aerob, în circa jumătate din probe, indiferent de localizare, a fost identificată o singură specie de bacterii; în 23.1% dintre probele din lotul de control au fost identificate 3 sau 4 specii de bacterii, comparativ cu numai 2.1% din probele preluate de la pacienți cu psoriazis lezional și 10.4% din probele preluate

perilezional

În cazul probelor recoltate lezional, de la pacienți bolnavi, au fost observate în procentaje mai ridicate comparativ cu celelalte două categorii de probe *Bacillus subtilis* (identificată în 3 probe, dar în nici una dintre cele de control sau recoltate perilezional), *Escherichia spp* și *Proteus mirabilis* (câte 2 probe – 4.2%), *Staphylococcus epidermidis* (37.5% dintre probe) și *Staphylococcus warneri* (4.2% dintre probe), alături de *Staphylococcus spp* (alte specii, în 4.2% dintre probe, dar și 4.2% dintre probele recoltate perilezional)

În cazul probelor preluate în mediu anaerob situația este ușor diferită.. În marea majoritate a probelor din lotul de control (65.4%) a fost identificată o singură specie de bacterii, existând o singură probă în care au fost identificate 3 specii de bacterii. În cazul probelor preluate de la pacienți bolnavi au fost identificate de asemenea 3 specii de bacterii pe 2 probe preluate lezional (4.2%) și o singură probă preluată perilezional (2.1%), în alte 2 probe preluate perilezional fiind identificate 4 specii de bacterii

Studiul comparativ al speciilor de bacterii identificate la cele 3 categorii de probe evidențiază diferențe semnificative statistic doar în cazul *Staphylococcus spp* (alte specii), care a fost observată doar la probele recoltate perilezional de la pacienți bolnavi, în 8.3% dintre cazuri. Alte diferențe semnificative statistic nu au mai fost raportate.

În cazul probelor recoltate lezional, de la pacienți bolnavi, au fost observate în procentaje relativ mai ridicate comparativ cu celelalte două categorii de probe *Enterococcus spp* (o probă și încă una recoltată perilezional, dar în nici una dintre cele de control), *Proteus mirabilis* și *Pseudomonas spp* (câte o probă, dar nici una dintre cele de control sau recoltate perilezional), *Staphylococcus aureus* (16.7% probe - diferență între categorii care se încadrează în pragul de 0.10 de semnificație statistică), *Staphylococcus epidermidis* (35.4% dintre probe) și *Staphylococcus haemolyticus* (6.3% dintre probe, alături de 4.2% dintre cele recoltate perilezional, dar în nici una dintre cele de control), alături de *Staphylococcus spp* (alte specii, o probă și încă una recoltată perilezional, dar în nici una dintre cele de control). Există și câteva specii de bacterii care nu au fost detectate deloc în cele 3 categorii de probe: *Bacillus anthracis*, *Bacillus subtilis*, *Escherichia spp* și *Micrococcus luteus*

În cazul probelor preluate din zone cutanate uscate, în lotul de control în 15.8% dintre probe au fost identificate 3 sau 4 specii de bacterii (predominante fiind probele cu 3 specii de bacterii identificate), comparativ cu numai 3.7% din probele preluate de la pacienți cu psoriazis lezional și 7.7% din probele preluate perilezional. Diferențele astfel observate sunt importante, dar nu ating totuși pragul 0.05 de semnificație statistică (se încadrează însă în pragul de semnificație statistică 0.10)

Studiul comparativ al speciilor de bacterii identificate la cele 3 categorii de probe evidențiază diferențe semnificative statistic tot în cazul *Bacillus cereus*, observată în 18.4% dintre probele de control și numai 3.7% dintre probele recoltate lezional, respectiv 3.8% dintre cele recoltate perilezional, la pacienții bolnavi.

În lotul de control au fost de asemenea observate în procentaje mai crescute *Bacillus siamensis* – în 5.3% dintre probe, respectiv *Bacillus spp* (alte specii – 13.2% cazuri, diferență între categorii care se încadrează în pragul de 0.10 de semnificație statistică), *Candida spp*, *Enterococcus spp* și *Staphylococcus warneri* (câte 5.3% cazuri).

În cazul probelor recoltate perilezional, de la pacienți bolnavi, au fost observate în procentaje mai ridicate comparativ cu celelalte două categorii de probe *Bacillus pumilus* (7.7% dintre probe), *Klebsiella pneumoniae* (o probă, comparativ cu nici una dintre celelalte două categorii), *Staphylococcus aureus* (11.5% dintre cazuri, alături de 11.0% probe recoltate lezional și doar 2.65 dintre cele de control), *Staphylococcus hominis* (17.3% dintre probe) și *Streptococcus spp* (3.8% dintre probe).

În cazul probelor recoltate lezional, de la pacienți bolnavi, au fost observate în procentaje relativ mai ridicate comparativ cu celelalte două categorii de probe *Bacillus subtilis* și *Proteus mirabilis* (câte 3 probe, dar nici una recoltată perilezional sau din lotul de control), *Staphylococcus epidermidis* (39.0% dintre probe, diferență față de celelalte două categorii încadrată în pragul de semnificație 0.10) și *Staphylococcus lugdunensis* (4.9% dintre probe)

În cazul probelor preluate din zone cutanate umede, în lotul de control în 21.4% dintre probe au fost identificate 3 sau 4 specii de bacterii (predominând în schimb probele cu 4 specii de bacterii identificate); același procentaj de probe cu 4 specii de bacterii au fost înregistrate și la pacienții cu psoriazis, lezional, în timp ce dintre probele preluate perilezional 13.6% prezintă 3 sau 4 specii de bacterii. Diferențele observate nu sunt însă semnificative statistic în acest caz

În cazul probelor preluate din zone cutanate umede se constată un procentaj semnificativ statistic crescut doar pentru *Staphylococcus lugdunensis*, care a fost observat în 2 probe de control și nici una dintre cele preluate de la pacienții bolnavi.

În lotul de control au fost de asemenea observate în procentaje mai crescute *Micrococcus luteus* – o singură probă, dar nici una din lotul de pacienți bolnavi și *Staphylococcus warneri* (tot o probă – 7.1% din total).

În cazul probelor recoltate perilezional, de la pacienți bolnavi, au fost observate în procentaje mai ridicate comparativ cu celelalte două categorii de probe *Bacillus pumilus*, *Bacillus siamensis*, *Bacillus spp* (alte specii), *Candida spp*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus mirabilis*, *Pseudomonas spp*, *Staphylococcus capitis* și *Staphylococcus spp* (alte) (câte una

sau două probă, comparativ cu nici una dintre celelalte două categorii), dar și *Corynebacterium spp* și *Staphylococcus haemolyticus* (câte 11.4% dintre probe) și *Staphylococcus hominis* (31.8% dintre probe).

În cazul probelor recoltate lezional, de la pacienți bolnavi, au fost observate în procentaje relativ mai ridicate comparativ cu celelalte două categorii de probe *Bacillus cereus* și *Enterococcus spp* (câte o probă) și *Staphylococcus aureus* (28.6% dintre probe, diferență față de celelalte două categorii încadrată de asemenea în pragul de semnificație 0.10).

10.3 Studiul comparativ pe sexe al speciilor observate în cele 12 probe

La pacienții de sex masculin procentajele de probe cu 3 sau 4 specii de bacterii sunt apropiate între ele în cele 3 loturi investigate. Astfel, 8.3% probe din lotul de control se regăsesc în această situație, alături de 3.9% probe recoltate lezional și 9.2% probe recoltate perilezional de la pacienții bolnavi. La pacienții de sex masculin se constată diferențe semnificative statistic între cele 3 categorii de probe investigate doar pentru *Bacillus siamensis*, semnificativ mai frecventă în probele de control (16.7%) și respectiv *Bacillus cereus* (mai frecventă tot în probele de control, 16.7%) și *Staphylococcus epidermidis* (mai frecvent în probele recoltate lezional, 38.2%) – ultimile două exemple încadrându-se însă în pragul de semnificație 0.10.

În lotul de control au fost înregistrate în plus în 2 probe *Staphylococcus haemolyticus* – ceea ce corespunde unui procentaj de 16.7%, superior față de procentajele similare observate la pacienții bolnavi.

În cazul probelor recoltate perilezional, de la pacienți bolnavi, au fost observate în procentaje mai ridicate comparativ cu celelalte două categorii de probe *Corynebacterium spp* (6.6%) și *Klebsiella pneumoniae* (3.9%) – care însă sunt absente la celelalte categorii de probe, alături de *Staphylococcus capitis* (6.6%), *Staphylococcus hominis* (23.7%) și *Staphylococcus spp* (altele) (7.9%).

În cazul probelor recoltate lezional, de la pacienți bolnavi, au fost observate în procentaje relativ mai ridicate comparativ cu celelalte două categorii de probe *Bacillus subtilis* (observat în 2 probe, dar absent la celelalte categorii de probe investigate), *Candida spp* și *Micrococcus luteus* (observate tot în 2 probe, comparativ cu numai una dintre cele recoltate perilezional și nici una din lotul de control), *Proteus mirabilis* (observat în 3 probe, comparativ cu numai una dintre cele recoltate perilezional și nici una din lotul de control) și *Staphylococcus lugdunensis* (4 probe, dar absent la celelalte categorii).

La pacienții de sex feminin analiza cantitativă a speciilor de bacterii detectate este diferită față de cea observată la bărbați. Astfel, 15.0% probe din lotul de control prezintă 3-4

specii de bacterii, comparativ cu 5.0% dintre probele recoltate perilezional și nici una dintre probele recoltate lezional de la paciențele bolnave.

La pacienții de sex feminin se constată diferențe semnificative statistic între cele 3 categorii de probe investigate doar pentru *Staphylococcus aureus* (mai frecvent în probele recoltate lezional, 35.0% și perilezional, 30.0%).

În lotul de control au fost înregistrate procentaje crescute comparativ cu probele recoltate de la pacienții bolnavi pentru *Bacillus cereus* (15.0%) și *Bacillus spp* (alte specii, 10.0%); există în plus o gamă de organisme care au fost identificate doar în acest lot, fiind absente în celelalte două: *Bacillus anthracis*, *Candida spp*, *Corynebacterium spp*, *Micrococcus luteus*, *Pseudomonas spp*, *Staphylococcus lugdunensis* și *Staphylococcus warneri*.

În cazul probelor recoltate perilezional, de la pacienți bolnavi, au fost observate în procentaje mai ridicate comparativ cu celelalte două categorii de probe *Staphylococcus capitis* (5.2%), *Staphylococcus epidermidis* (35.0%), *Staphylococcus hominis* (25.0%), iar *Staphylococcus haemolyticus* și *Streptococcus spp* au fost observate în câte o probă, numai din această categorie.

10.4 Studiul comparativ pe domiciliu de proveniență al speciilor observate în cele 12 probe

La pacienții din mediul urban procentajele de probe cu 3 sau 4 specii de bacterii sunt mai ridicate în lotul de control comparativ cu loturile recoltate de la pacienți bolnavi. Astfel, 15.0% probe din lotul de control prezintă 3-4 specii de bacterii, comparativ cu numai 3.8% probe recoltate lezional și 5.7% probe recoltate perilezional de la pacienții bolnavi. La pacienții din mediul urban se constată diferențe semnificative statistic între cele 3 categorii de probe investigate pentru *Bacillus cereus*, semnificativ mai frecventă în probele de control (17.5%) și respectiv *Staphylococcus haemolyticus* (mai frecventă în probele recoltate perilezional, 11.5%) și *Staphylococcus lugdunensis* (mai frecvent tot în probele de control, 7.5%) – ultimele două exemple încadrându-se însă în pragul de semnificație 0.10.

La pacienții din mediul rural 8.3% probe din lotul de control prezintă 3 specii de bacterii, comparativ cu numai 2.3% probe recoltate lezional și 9.1% probe recoltate perilezional de la pacienții bolnavi; nici una dintre probele de control sau cele recoltate lezional nu au fost identificate cu 4 specii de bacterii, dar între cele recoltate perilezional există o singură probă cu această caracteristică (2.3%)

La pacienții din mediul rural se constată diferențe semnificative statistic între cele 3 categorii de probe investigate doar pentru *Bacillus siamensis*, semnificativ mai frecventă în

probele de control (16.7%) – dar și în acest unic caz semnificația statistică se încadrează în pragul de semnificație 0.10.

10.5 Studiul comparativ pe grupe de vârstă al speciilor observate în cele 12 probe

La pacienții cu vârsta sub 65 de ani procentajele de probe cu 3 sau 4 specii de bacterii sunt de asemenea mai ridicate în lotul de control comparativ cu loturile recoltate de la pacienți bolnavi, fără ca diferența înregistrată să fie totuși semnificativă statistic. Astfel, 13.7% probe din lotul de control prezintă 3-4 specii de bacterii, comparativ cu numai 2.9% probe recoltate lezional și 5.7% probe recoltate perilezional de la pacienții bolnavi, care, în plus, prezintă doar 3 specii de bacterii.

La pacienții cu vârstă sub 65 de ani se constată diferențe semnificative statistic între cele 3 categorii de probe investigate pentru *Bacillus cereus*, semnificativ mai frecventă în probele de control (13.6%) și *Staphylococcus warneri*, de asemenea semnificativ mai frecvent în probele de control (6.8%), dar și pentru *Staphylococcus aureus*, semnificativ mai frecvent în probele recoltate de la pacienți bolnavi, lezional (15.7%) – deși în acest caz semnificația statistică se încadrează în pragul de semnificație 0.10.

La pacienții cu vârsta peste 65 de ani se menține asemănător procentajul de probe cu 3 sau 4 specii de bacterii identificate în lotul de control (12.5% dintre cazuri, unde au fost observate de fapt doar 4 specii de bacterii), dar crește procentajul similar observat la pacienții bolnavi în cazul probelor recoltate perilezional. Astfel, 15.4% dintre acestea prezintă 3 sau 4 specii de bacterii, în proporții egale. Dintre probele recoltate lezional în această categorie se încadrează o singură probă, la nivelul căreia au fost observate 3 specii de bacterii (3.8%)

La pacienții cu vârstă peste 65 de ani se constată diferențe semnificative statistic între cele 3 categorii de probe investigate doar pentru *Bacillus siamensis*, identificată doar în probele de control (12.5%) și absentă în celelalte categorii de probe.

10.6 Studiul comparativ al microbiomului în funcție de localizarea probei

În cazul probelor recoltate perilezional, de la pacienți bolnavi, au fost observate în procentaje relativ mai ridicate comparativ cu celelalte două categorii de probe *Bacillus pumilus* (2 probe – 7.7%, comparativ cu una singură din lotul de control și nici una recoltată lezional), *Corynebacterium spp* (tot 2 probe – 7.7%, absentă în schimb în celelalte categorii), *Klebsiella pneumoniae* (o singură probă, absentă în schimb în celelalte categorii), *Staphylococcus aureus* (15.4%), *Staphylococcus hominis* (19.2%) și *Staphylococcus spp* (altele - 3 probe – 11.5%, absentă în celelalte categorii).

În cazul probelor recoltate lezional, de la pacienți bolnavi, au fost observate

Micrococcus luteus și *Staphylococcus lugdunensis* (câte o singură probă – 3.8%, absente însă în celelalte categorii), alături de *Proteus mirabilis* (11.5%) și *Staphylococcus epidermidis* (38.5% dintre probe)

10.7 Evaluarea scorurilor de severitate în raport cu microbiomul cutanat la pacienții diagnosticați cu psoriazis vulgar

Scorul PASI variază între 2 și 43,9, cu o medie raportată la nivelul lotului de pacienți de $18,940 \pm 12,9729$; valorile acestui scor sunt mai ridicate cu circa 6 unități la bărbați decât la femei (cu o medie de $20,407 \pm 12,7331$ față de $14,540 \pm 14,1307$) și de asemenea la pacienții din mediul rural, cu o medie de $23,011 \pm 13,9839$ față de cei din mediul urban ($15,609 \pm 11,6706$).

În mod similar, valoarea medie a scorului NAPSİ înregistrată la nivelul întregului lot este de $9,45 \pm 12,412$, cu o plajă de variație între 0 și 40; și de această dată valorile scorului sunt ușor mai ridicate la bărbați, cu o medie de $9,80 \pm 13,702$, dar discrepanța față de valoarea medie înregistrată la sexul feminin este de această dată mai mică, și respectiv în mediul rural, cu valori mult mai ridicate față de mediul urban, cu o medie de $12,11 \pm 16,707$ față de $7,27 \pm 7,604$;

Valoarea medie a scorului ESİF la nivelul întregului lot este de $7,40 \pm 9,093$, cu o plajă de variație între 0 și 28. De această dată valorile scorului sunt ușor mai ridicate la femei decât la bărbați, dar discrepanța între sexe este redusă, cu o medie de $8,00 \pm 12,329$ la femei față de $7,20 \pm 8,283$ la bărbați. De asemenea valoarea scorului ESİF este ușor mai ridicată în mediul urban, cu o medie de $8,09 \pm 10,064$ față de mediul rural ($6,56 \pm 8,263$).

Scorul mediu DLQI la nivelul întregului lot este de $15,50 \pm 7,661$, cu o plajă de variație între 2 și 28. Și în acest caz valorile medii ale sale sunt mai ridicate la femei ($19,40 \pm 6,914$) față de bărbați, discrepanța între sexe fiind mai accentuată. De asemenea valorile scorului DLQI sunt ridicate sunt mai ridicate în mediul rural față de mediul urban, cu o medie de $17,22 \pm 7,242$ față de $14,09 \pm 8,043$, și în acest caz discrepanța fiind destul de importantă.

Valoarea medie a scorului PSSI la nivelul lotului este de $10,90 \pm 13,341$, cu o plajă de variație largă, între 0 și 54. Valoarea medie a acestui scor la femei este de $17,00 \pm 20,952$, dublă față de valoarea similară a scorului observată la bărbați, cu o medie de $8,87 \pm 9,920$. De asemenea valoarea medie a acestui scor în mediul urban este de $14,36 \pm 15,977$, din nou dublă față de valoarea similară înregistrată în mediul rural ($6,67 \pm 8,185$).

CAPITOLUL 11. Discuții

În studiul de față, rezultatele obținute fac referire la o populație care din punct de vedere geografic nu a fost studiată din perspectiva microbiomului cutanat. Factorii de mediu din sud-estul României, caracteristicile demografice, mediului de viață urban puternic influențat de industrializarea orașului Galați, generează importante modificări la nivelul florei cutanate, ce nu au fost până în prezent cercetate. Deși o mare parte din rezultatele obținute sunt în concordanță cu rezultatele studiilor de la nivel global, există și rezultate aflate în opoziție cu cercetările actuale.

În concordanță cu numeroase studii efectuate recent microbiomul cutanat denotă importante diferențe între compoziția acestuia la individul sănătos față de pacienții diagnosticați cu psoriazis. [77-81] Așa cum reiese și din rezultatele tezei de față, diversitatea microbiană și modificările cantitative ale microbiomului cutanat de la nivelul plăcilor de psoriazis prezintă variații față de indivizii sănătoși. [87, 105]

Rezultatele obținute în urma recoltării probelor de la nivel cutanat în populația studiată, demonstrează că în cazul pacienților, la nivelul plăcilor de psoriazis, se dezvoltă un număr mai mic de microorganisme față de individul sănătos. Acest fenomen este demonstrat în studiul de față prin dovezile statistice prezentate și este susținut de rezultate prezente în studii recente [77-80] Recoltările efectuate la pacienții diagnosticați cu psoriazis au relevat o diversitate microbiană și o încărcătură microbiană mai mică atât la nivel lezional cât și perilezional față de indivizii sănătoși din grupul martor. La nivelul leziunii de psoriazis au fost identificate un număr mai mic de specii bacteriene față de regiunile perilezionale și lotul control. Așadar, procentele dezvoltării de 3 sau 4 specii bacteriene, la nivel sunt de 8,4% perilezional și 3,1% la nivelul plăcilor de psoriazis. În 13,4% din cazurile din lotul control s-au dezvoltat 3 până la 4 specii bacteriene.

Analizând din punct de vedere calitativ, din numărul de specii identificat, semnificativ statistic a fost evidențiată prezența de *Bacillus cereus*. În lotul control, în care s-a demonstrat cea mai mare încărcătură microbiană din totalul studiului, *Bacillus cereus* a fost observat în 15,4% din probe față de 7,3% observat în grupul pacienților cu psoriazis (lezional și perilezional). În grupul activ, analiza calitativă a probelor prelevate de la nivel perilezional demonstrează prezența mai mare a *Bacillus pumillus*, *Corynebacterium* spp., *Klebsiella pneumoniae*, *Staphylococcus haemolyticus*, *Staphylococcus* spp., decât în cazul probelor

lezionale sau cele din lotul martor. Probele de la nivel lezional, din plăcile de psoriazis, au obiectivat prezența în procentaje mai ridicate decât în probele perilezionale sau din grupul martor a *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus* și *Staphylococcus epidermidis*. Prezența mai ridicată a *Staphylococcus aureus* din probele recoltate lezional este semnificativă statistic și este în concordanță cu rezultatele studiilor actuale. [68, 82 -85]

În cazul probelor inoculate în mediul aerob, în peste 23% din probele recoltate la indivizii sănătoși au fost identificate 3 sau 4 specii bacteriene, pe când procentele scad drastic la nivel perilezional (10,4%) și lezional (2,1%) susținând astfel ipoteza regăsită în studiile recente conform căreia la nivel lezional există un număr mai mic de specii bacteriene față de tegumentul indemn, sănătos.

Datele studiului de față arată că la nivel lezional, *Staphylococcus aureus*, un recunoscut agent patogen uman, a fost observat în procentaje mai ridicate decât perilezional sau în probele din grupul control, diferențe care se încadrează în pragul statistic. În urma investigațiilor efectuate, rezultatele indică o prezență crescută a *Staphylococcus aureus* într-un procent de 13,5% în leziunea de psoriazis față de alte microorganisme dezvoltate, sugerând astfel o colonizare mai mare a *Staphylococcus aureus* la acest nivel. Rezultatele sunt în concordanță cu studiile efectuate recent în care se observă creșterea colonizării cu Stafilococ auriu la pacienții cu psoriazis față de individul sănătos. [68, 82 -85]

Microbiomul cutanat reprezintă ansamblul microorganismelor prezente la nivelul pielii. Acesta este format în principal din microorganisme comensale, tranzitorii și agenți patogeni care împreună, în simbioză cu organismul uman, mențin homeostazia acestuia. [86, 87, 107]

Colonizarea cu *Staphylococcus aureus* a șoarecilor din studiul lui Chang et al [82] arată un răspuns inflamator crescut prin acțiunea LTh17, un tip de polarizare ce nu este prezentă la șoarecii colonizați cu *Staphylococcus epidermidis*. În același studiu, autorii demonstrează că la nivelul plăcilor de psoriazis, nivelurile de *Staphylococcus epidermidis* sunt mai scăzute comparativ cu indivizii sănătoși. [82] De asemenea, biofilmul produs de *Staphylococcus epidermidis* la nivel cutanat, ar împiedica atașarea agenților patogeni de tip *Staphylococcus aureus* așa cum s-a demonstrat în multiple studii referitoare la rolul microbiomului cutanat în dermatita atopică. [88-90] Importanța acestui tip de răspuns, prin polarizarea Lth17 cu secreția de IL-17, în etiopatogenia psoriazisului este majoră fiind una din principalele axe responsabile de cascada de fenomene inflamatorii cronice specifice psoriazisului și reprezintă o importantă țintă terapeutică.

De asemenea, la pacienții cu psoriazis, pe tegumentul neafectat, au fost identificați mai frecvent ca în cazul plăcilor sau a probelor obținute la persoane sănătoase de *Bacillus pumilus*, *Corynebacterium* spp., *Klebsiella pneumoniae* și *Staphylococcus* spp în aceste zone fiind mai scăzută apărarea generată de peptidele antimicrobiene, agenții patogeni ancorându-se cu ușurință la acest nivel.

O altă diferență observată în studiul de față între lotul activ și lotul control este reprezentată de prezența fungilor semnalată în procentaj mai crescut în lotul control față de lotul activ. *Candida albicans* a fost prezentă în 5,3% din totalul probelor efectuate în lotul control față de 2,4% din probele recoltate de la nivel lezional. Perilezional, nu au fost raportată prezența de *Candida albicans*. În ceea ce privește colonizarea cu *Candida albicans* în populația pacienților cu psoriazis, studiile efectuate până la acest moment, relatează rezultate contradictorii. Unele studii raportează prezența fungilor în procentaj mai mare la pacienții cu psoriazis față de individul sănătos [70, 91, 92], altele susțin că nu există diferențe la acest nivel [93, 94] Majoritatea studiilor însă, se axează pe evaluarea fungilor la nivelul mucoasei orale sau la nivel intestinal. [91, 95]

Rezultatele studiilor recente cu privire la analiza compozițională a microbiomului cutanat, la indivizii sănătoși, arată diferențe semnificative în funcție de zonele corporale examinate. La nivelul zonelor umede, cum ar fi pliurile axilar, inghinal, submamar, au fost identificate în procentaj mai mare specii de *Staphylococcus* spp. și *Corynebacterium* spp. [82] Analizând zonele cutanate uscate, a fost observată o mai mare diversitate bacteriană decât în zonele umede dar o încărcătură microbiană mai mică. Filumurile majoritare în acest caz sunt Proteobacteria și Bacteroides. [82] Analizând acest aspect topografic, rezultatele studiului nostru relevă că în zonele cutanate umede, la indivizii din lotul control, peste 21% din probe au identificat 3 sau 4 specii bacteriene (predominant 4 specii bacteriene) pe când probele recoltate din zonele uscate, la indivizii sănătoși au evidențiat peste 15% probe care identifică 3 sau 4 specii bacteriene (predominant 3 specii bacteriene) Așadar, în lotul control, zonele umede au dezvoltat o încărcătură bacteriană mai mare. În ceea ce privește lotul activ, al pacienților cu psoriazis, procentele sunt mai mari în zonele topografice umede decât în zonele uscate, atât lezional cât și perilezional. 35% din probele efectuate în zonele umede au dezvoltat specii bacteriene față de 11% în mediul uscat. Surprinzător, regăsim același procent de 21% atât în cazul probelor recoltate la indivizii sănătoși din zonele umede cât și la nivel lezional din zone umede.

Analizând din perspectiva genului, studiile referitoare la microbiomul cutanat din ultimii ani, sugerează diferențe semnificative între persoanele de sex masculin și cele de sex feminin. Având în vedere diferențele legate de pH-ul cutanat, grosimea tegumentului, diferențele hormonale, gradul diferit de secreție al sebumului, măsurile de igienă și cosmetică, structura microbiomului cutanat este diferită la sexul masculin față de cel feminin. Orice modificare în condițiile menționate mai sus duce la alterări ale florei cutanate rezidente. Studiile s-au axat în principal pe caracterizarea microbiomului cutanat din perspectiva genului, la individul sănătos, fără afecțiuni dermatologice prezente. Astfel, în studiul realizat de Robert et al, rezultatele subliniază o încărcătură microbiană mai mare la indivizii de sex masculin față de sexul feminin. Însă, în ceea ce privește diversitatea microbiană, la persoanele de sex feminin s-a constatat o mai mare diversitate a florei cutanate față de sexul masculin. [58] Alte studii ce fac referire la compoziția florei cutanate, susțin că populația masculină dezvoltă majoritar specii de tipul *Stafilococ* spp. și *Corynebacterium* spp. prin secreția mai mare de sebum cu rol nutritiv pentru aceste bacterii. [96, 97]

Rezultatele studiului de față, referitor la indivizii sănătoși, relevă că la persoanele de sex feminin, în 15% din probele recoltate s-au dezvoltat 3 sau 4 specii microbiene în timp ce acest procent scade la persoanele de sex masculin fiind de 8,3 %. Astfel, rezultatele din studiul nostru sunt în opoziție cu rezultatele studiilor mai sus menționate unde încărcătura microbiană a fost mai mare în cazul la persoanele de sex masculin. Însă, rezultatele obținute în studiul actual referitor la diversitatea microbiană sunt în concordanță cu studiile prezentate. La populația sănătoasă de sex feminin, diversitatea florei cutanate a fost mai mare față de populația de sex masculin fiind reprezentată de specii precum: *Corynebacterium* spp, *Micrococcus* spp., *Staphylococcus* spp., *Streptococcus* spp.

Global, în lotul activ, încărcătura microbiană a fost mai mare pacienții de sex masculin decât la cei de sex feminin; În lotul activ, 13,1% din probele examinate au dezvoltat 3 sau 4 specii bacteriene la sexul masculin, față de 5% la sexul feminin. În plus, în lotul activ, la pacientele de sex feminin, la nivel lezional, nu s-au dezvoltat mai mult de 3 specii bacteriene.

Analizând din punct de vedere al modificărilor cantitative cele 3 categorii de probe (control, lezional, perilezional), sexul masculin prezintă creșteri de 3 sau mai multe specii bacteriene în cazul probelor recoltate perilezional. Așadar, încărcătura bacteriană a fost mai mare la nivel perilezional, în lotul activ, față de lotul martor pentru indivizii de sex masculin. Probele recoltate de la nivelul plăcilor de psoriazis au avut cea mai mică încărcătură

microbiană. În cazul persoanelor de sex feminin, lotul control a prezentat cea mai mare încărcătură bacteriană, urmat de probele recoltate perilezional, la pacientele cu psoriazis. Probele recoltate de la nivelul plăcilor de psoriazis, la femei, nu au dezvoltat 3 sau mai multe specii de bacterii.

Cercetând probele individuale în funcție de metoda de recoltare și mediul de cultură, diferențele sunt semnificative respectând rezultatul global.

În urma recoltării cu tampon de la nivelul leziunii de psoriazis, la pacienții de sex masculin, au fost identificate 17 specii bacteriene: 9 dezvoltate în mediul aerob, 8 în mediul anaerob. La pacienții de sex feminin s-au dezvoltat 8 specii bacteriene în urma recoltării cu tampon: 6 specii dezvoltate în mediul aerob și 2 specii dezvoltate în mediul anaerob. Așadar, în privința recoltării cu tampon de la nivel lezional, concluzionăm că au fost identificate mai multe specii bacteriene la pacienții de sex masculin față de pacienții de sex feminin. Diversitatea bacteriană însă a fost mai ridicată la pacienții de sex feminin.

Recoltarea folosind bandă adezivă de la nivel lezional a determinat identificarea a 28 de specii bacteriene la pacienții de sex masculin: 16 în mediu aerob și 12 în mediu anaerob pe când la pacienții de sex feminin, s-au identificat 9 specii bacteriene: 6 dezvoltate în mediu aerob și 3 în mediul anaerob. De asemenea, similar recoltării cu tampon la pacienții de sex masculin s-a constatat o mai mare încărcătură microbiană decât la pacienții de sex feminin.

Probele recoltate prin biopsie cutanată au fost efectuate numai la pacienți de sex masculin, având în vedere consimțământul acordat. Astfel, au fost identificate 7 specii bacteriene, din biopsiile cutanate recoltate de la nivelul leziunii de psoriazis, cele mai multe dezvoltându-se în mediul anaerob. Recoltarea perilezională a identificat 11 specii bacteriene, 6 dintre acestea cu dezvoltare în mediul aerob.

Corborând datele studiilor actuale în privința florei cutanate analizate în funcție de vârstă putem concluziona că microbiomul indivizilor tineri este diferit de microbiomul persoanelor mai în vârstă și că microbiomul de la nivel cutanat este mult mai specific pentru vârsta pacientului decât microbiomul intestinal sau cel oral. [98, 106]

În cazul pacienților cu psoriazis, modificările florei cutanate sunt sintetizate în rezultatele studiului actual. Global, au fost observate mai multe specii de bacterii la indivizii sub 65 de ani comparativ cu cei peste 65 de ani. Așadar rezultatele globale se încadrează în concluziile studiilor actuale conform cărora încărcătura microbiană scade pe măsura înaintării

în vârstă posibil din cauza creșterilor transepidermice de apă, scăderii producției de sebum și apariția fiziologică a atrofiei cutanate.

În cazul grupei de vârstă sub 65 de ani, procentajul probelor care au dezvoltat mai mult de 3 specii bacteriene a fost mai mare în cadrul lotului control, peste 13% în lotul control față de 2,9% recoltat din leziune. Probele recoltate la pacienții sub 65 de ani, din punct de vedere calitativ, au prezentat semnificație clinică pentru Stafilococul auriu, care s-a dezvoltat mai frecvent din probele recoltate de la nivel lezional.

La pacienții de peste 65 de ani, tot în lotul de control, au fost evidențiate mai multe probe cu creșteri bacteriene de 3 sau 4 specii însă se poate observa o creștere importantă în rândul probelor recoltate perilezional, de la pacienții cu psoriazis. De asemenea, diversitatea microbiană este mai crescută comparativ cu indivizii sub 65 de ani. La pacienții cu psoriazis, din grupul de peste 65 de ani, au fost observate: *Bacillus pumilus*, *Corynebacterium* spp, *Klebsiella pneumoniae*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus* spp. La nivel lezional au fost întâlnite: *Micrococcus* spp, *Staphylococcus* spp, și *Proteus* spp.

În funcție de mediul de viață al indivizilor și anume urban sau rural, microbiomul cutanat poate fi influențat. În cazul traiului în mediul urban, s-a constatat că flora microbiană este compusă în principal din agenți microbieni specifici umani, generați de contactul în principal uman. Agenții microbieni descriși la persoanele cu domiciliul în mediul rural, provin din interacțiunile om-animal, sau cu contactul cu solul, studiile efectuate demonstrând un puternic impact al contactului cu animale, munca în agricultură sau în aer liber prin expunerea cronică la ultraviolete al indivizilor ce locuiesc în mediul rural. [34, 99-101] Astfel, microbiomul cutanat al indivizilor cu domiciliul de rezidență în mediul urban denotă o diversitate mai mică decât indivizii ce locuiesc în mediul rural, însă în mediul urban există colonizare mai accentuată cu agenți patogeni de tipul *Staphylococcus* spp, *Streptococcus* spp, *Corynebacterium* spp. [102]

Contrar rezultatelor multiplelor studii prezentate în ultimii ani, populația rurală studiată în această teză, prezintă caractere ușor diferite. Populația rurală din apropierea orașului Galați, un oraș puternic industrializat prin prezența combinatului siderurgic, deține ca activități cotidiene mai puțin lucrul în agricultură sau în ferme; Populația aflată în zonele adiacente orașului, este în principal angrenată în lucrul în mediul urban, mulți dintre indivizii din studiul nostru muncind în orașul Galați.

Rezultatele studiului nostru relevă că în cazul dezvoltării a mai mult de 3 specii bacteriene din probele recoltate, la indivizii din mediul urban s-au constatat procentaje mai mari față de cei din mediul rural în cazul lotului control și probelor recoltate de la nivelul plăcilor de psoriazis. Probele recoltate perilezional, demonstrează o încărcătură microbiană mai elevată la pacienții din mediul rural față de urban.

Speciile bacteriene predominante în mediul urban, la indivizii din lotul control au fost *Bacillus* spp., *Enterococcus* spp, *Micrococcus* spp. De asemenea, *Candida* spp s-a dezvoltat majoritar în probele din lotul control, zona urbană. Din plăcile de psoriazis, cele mai frecvente specii bacteriene întâlnite în mediul urban au fost: *Bacillus* spp., *Escherichia* spp., și Stafilococul auriu. Diversitatea cea mai mare a fost întâlnită în zonele perilezionale, la pacienții din mediul urban, *Klebsiella pneumoniae*, *Staphylococcus* spp și *Streptococcus* spp fiind cele mai frecvente.

În mediul rural, diversitatea bacteriană cea mai importantă a fost observată tot în cazul probelor recoltate perilezional, aici întâlnindu-se cel mai frecvent, *Bacillus* spp., *Corynebacterium* spp, *Klebsiella* spp., *Streptococcus* spp, *Staphylococcus* spp și *Enterococcus* spp. La nivelul plăcii de psoriazis au fost observate majoritar *Micrococcus* spp., *Staphylococcus* spp și *Proteus* spp.

Speciile micoorganismelor întâlnite în studiul nostru, corespund bacteriilor și fungilor regăsite în cadrul interacțiunilor umane din zone industrializate caracterizate în general de prezența de microorganisme ce alcătuiesc flora cutanată, gastro-intestinală sau genitală, conform cu rezultatele studiilor actuale. [103]

La momentul actual există în literatura de specialitate, o serie de articole ce caracterizează microbiomul cutanat în funcție de severitatea psoriazisului. În aceste studii, gradul de afectare al psoriazisului a fost evaluat utilizând în special scorul PASI și DLQI. Rezultatele nu au arătat o tendință de creștere a valorilor scorurilor de severitate în raport cu încărcătura microbiană prezentă. [77, 104, 107] În teza de față am corelat rezultatele obținute în urma efectuării a cinci scoruri de severitate pentru psoriazis- PASI, NAPSİ, ESİF, DLQI, PSSI, caracterizând astfel microbiomul cutanat în funcție de gravitatea bolii. [87, 105] Analiza comparativă a lotului compus din pacienți referitor la scorurile de severitate a relevat că valorile scorului PASI și NAPSİ sunt mai crescute la pacienții de sex masculin decât la cei de sex feminin. Valorile scorurilor PASI și NAPSİ au fost mai mari și în cazul pacienților din mediul rural față de mediul urban. Valorile scorurilor ESİF și PSSI sunt mai ridicate la pacienții de sex

feminin față de cei de sex masculin, cu creșterea valorilor la pacienții din mediul urban față de rural. Valorile scorului DLQI au demonstrat valori mai ridicate la pacienții de sex feminin față de sexul masculin, cu valori crescute mai ridicate în mediul rural față de urban. Din analiza noastră reiese faptul că valorile PASI au fost mai mari în cazul prezenței unei singure specii bacteriene față de prezența de mai multe bacterii. Acest aspect este semnificativ statistic în cazul probelor efectuate de la nivel lezional și perilezional prin bandă adezivă. Media scorului PASI în studiul nostru a fost de 18,940, cu 6 unități mai ridicat la sexul masculin decât la sexul feminin. În mediul rural s-au evidențiat valori mai mari ale scorului PASI decât în mediul urban. Analiza pe grupe de vârstă indică un scor PASI mai mare la pacienții de peste 65 de ani, decât în cazul pacienților sub 65 de ani. Valorile scorului NAPSI în studiul de față au fost cuprinse între 0 și 40. Valoarea medie a fost de 9,45. Valori mai crescute ale scorului NAPSI au fost observate la pacienții de sex masculin, la cei din mediul rural față de urban și la pacienții de peste 65 de ani. Valorile scorului ESIF au variat între 0 și 28. Valori mai crescute au fost înregistrate în rândul pacienților de sex feminin, mediul urban față de mediul rural și la pacienții sub 65 de ani. Valorile scorului PSSI au fost între 0 și 54. Diferențe majore au fost raportate la pacienții de sex feminin față de cei de sex masculin, unde valorile înregistrate la femei au fost duble față de bărbați iar în mediul urban a fost decelate valori de două ori mai mari față de rural. De asemenea, au fost înregistrate valori mai mari la pacienții sub 65 de ani față de cei peste 65 de ani. În cazul scorului DLQI, media a fost de 15 unități, cu o plajă de variație cuprinsă între 2 și 28. Valorile DLQI au fost mai mari în rândul pacienților de sex feminin, mai mari în mediul rural față de urban și mai mare la pacienții de sub 65 de ani.

Limitele studiului de față sunt reprezentate de faptul că studiul a fost efectuat la nivelul unui singur centru de cercetare iar numărul subiecților evaluați este un număr relativ mic de pacienți.[87, 105]

CAPITOLUL 12. Concluzii generale

Concluzii generale:

1. Microbiomul cutanat este diferit compozițional la pacienții cu psoriazis față de indivizii sănătoși.
2. La pacienții diagnosticați cu psoriazis există o diversitate și o încărcătură microbiană redusă a microbiomului cutanat atât lezional cât și perilezional comparativ cu indivizii sănătoși.

3. La pacienții cu psoriazis, zonele cutanate umede denotă o încărcătură microbiană mai mare lezional și perilezional față de zonele cutanate uscate, cu evidențierea speciilor *Bacillus cereus*, *Enterococcus* spp. și *Staphylococcus aureus*.
4. La nivel lezional, din zonele cutanate uscate ale pacienților cu psoriazis s-au evidențiat majoritar speciile *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus lugdunensis*, *Bacillus subtilis* și *Proteus mirabilis*.
5. Dezvoltarea de specii bacteriene a fost mai elevată în cazul persoanelor sub 65 de ani decât la indivizii peste 65 de ani.
6. Diversitatea bacteriană este mai mare la pacienții de peste 65 de ani decât la cei sub 65 de ani.
7. Încărcătura microbiană a relevat procentaje mai mari în cazul indivizilor din mediul urban față de mediul rural atât la indivizii sănătoși cât și la nivelul probelor recoltate din plăcile de psoriazis.
8. Scorurile PASI au prezentat valori mai ridicate în cazul pacienților de sex masculin față de pacienții de sex feminin, în cazul mediului rural față de mediul urban și la pacienții de peste 65 de ani.
9. Valorile scorului NAPSİ au fost mai mari la pacienții de sex masculin față de cei de sex feminin, la cei din mediul urban și la pacienții de peste 65 de ani.
10. Scorul ESİF a fost mai ridicat la pacienții de sex feminin, în mediul urban și la pacienții de sub 65 de ani.
11. Valorile PSSI au fost mai mari la pacienții de sex feminin, la cei din mediul urban și la pacienții de sub 65 de ani.
12. Valorile DLQI au fost mai mari în rândul pacienților de sex feminin, mai mari în mediul rural față de urban și mai mare la pacienții de sub 65 de ani.

CAPITOLUL 13. Contribuții originale și perspective

1. La nivelul plăcilor de psoriazis, colonizarea cu *Staphylococcus aureus* este mai mare față de zonele perilezionale ale pacienților sau față de tegumentul indivizilor sănătoși, posibil prin fenomenul de selecție indus de prezența peptidelor antimicrobiene la acest nivel.
2. În zonele perilezionale ale pacienților cu psoriazis predomină prezența de agenți microbieni patogeni cum sunt *Bacillus pumilus*, *Corynebacterium* spp., *Klebsiella pneumoniae*.

3. La indivizii sănătoși a fost semnalată o colonizare mai mare cu fungi de tipul *Candida* spp., decât în cazul pacienților cu psoriazis. De asemenea, a fost constată colonizarea cu *Bacillus cereus* în procentaj mai mare la indivizii sănătoși decât în cazul pacienților, diferență cu semnificație statistică raportată.
4. Analiza lotului control arată că la persoanele sănătoase de sex feminin s-a constatat o încărcătură microbiană și o diversitate a florei microbiene mai mare față de indivizii sănătoși de sex masculin.
5. La pacienții cu psoriazis s-a constatat că sexul feminin prezintă o încărcătură microbiană mai mică decât pacienții de sex masculin.
6. Modificările cantitative ale microbiomului cutanat, reprezentate de obiectivarea dezvoltării de multiple colonii (peste trei colonii), demonstrează că cele mai multe colonii dezvoltate au fost, în cazul sexului masculin, la nivel perilezional din lotul activ, al pacienților cu psoriazis.
7. Modificările cantitative ale microbiomului cutanat au arătat că în cazul sexului feminin, cea mai mare încărcătură microbiană a fost constată în lotul martor. De asemenea, la sexul feminin, din probele recoltate de la nivelul plăcilor de psoriazis, nu au existat mai mult de trei colonii dezvoltate.
8. S-a observat o variabilitate a dezvoltării speciilor bacteriene în funcție de metoda de investigație utilizată-tampon, bandă adezivă sau biopsie.
9. Cele mai multe specii bacteriene dezvoltate din probele efectuate de la nivel lezional au fost obținute folosind metoda de recoltare prin bandă adezivă.
10. Prin efectuarea biopsiei cutanate, cele mai multe specii bacteriene dezvoltate au fost observate în cazul inoculării pe mediul anaerob.
11. În mediul urban au predominat specii bacteriene specifice interacțiunii umane de tipul *Enterococcus* spp., *Escherichia* spp., *Staphylococcus* spp. De asemenea, fungii de tip *Candida* au relevat valori mai mari la indivizii din mediul urban față de rural.
12. În mediul rural au predominat speciile *Bacillus* spp., *Corynebacterium* spp., *Klebsiella* spp., *Micrococcus* spp., *Staphylococcus* spp., *Streptococcus* spp.
13. Diversitatea microbiană a fost mai mare în cazul recoltărilor de la nivel perilezional atât în mediul urban cât și în mediul rural.
14. S-au înregistrat valori mai mari ale scorurilor NAPSI și DLQI prin recoltare cu bandă adezivă, la nivel lezional, pe mediul aerob, în cazul identificării unei singure specii bacteriene, la sexul feminin *Staphylococcus aureus* iar la sexul masculin *Staphylococcus epidermidis*.

15. Scorul ESIF a prezentat valori mai mari în cazul probelor recoltate prin tampon, de la nivel lezional, în mediu aerob, la sexul feminin, unde s-a observat diversitate microbiană mai accentuată, fiecare probă relevând șase specii bacteriene diferite.
16. Valorile scorului PSSI au fost mai mari în cazul recoltării probelor cu ajutorul tamponului, de la nivel perilezional, aerob unde s-a observat prezența de *Staphylococcus hominis* atât în cazul sexului feminin cât și în cazul sexului masculin.
17. Studiul actual concluzionează că în cazul prezenței unei încărcături microbiene reduse, sau în cazurile în care a fost identificată o singură specie bacteriană majoritară, valorile indexului de severitate a psoriazisului PASI, au fost mult crescute, lucru demonstrat mai ales în cazul probelor efectuate lezional și perilezional prin bandă adezivă.

Acest studiu reprezintă o premieră în cercetarea medicală românească. În ciuda mării diversități a tratamentelor topice și sistemice imunomodulatoare și imunosupresoare aprobate pentru tratamentul psoriazisului vulgar, în multe cazuri răspunsul clinic este incomplet sau recidivele frecvente. Aceasta a justificat îndreptarea atenției noastre asupra unui aspect puțin studiat până în prezent, și anume modificările microbiomului cutanat.

Rezultatele studiului personal confirmă existența unor dezechilibre marcate ale florei bacteriene cutanate la nivelul leziunilor de psoriazis. Amploarea acestor dezechilibre este direct proporțională cu severitatea bolii. Alterarea florei bacteriene comensale, scăderea diversității acesteia favorizează pierderea toleranței imune. Pe de altă parte, proliferarea bacteriilor patogene la nivelul leziunilor de psoriazis promovează procesele inflamatorii atât direct, cât și indirect, prin multiplele mecanisme discutate în această lucrare.

Aplicabilitatea practică a concluziilor studiului este imediată. În acest sens, propunem măsuri de evitare a disbiozelor cutanate la pacienții cu psoriazis, adăugate în protocolul de diagnostic și tratament din cadrul Spitalului Clinic de Boli Infecțioase „Sfânta Parascheva” din Galați, regăsit în Anexa 4. Astfel, la pacienții diagnosticați cu psoriazis sever, cu risc de acutizare sau recidivă extinsă, eritrodermizare sau eczematizarea leziunilor cutanate, propunem atât recoltare de probe bacteriologice de la nivel cutanat cât și regim igienic adaptat pentru a menține microbiomul cutanat integru, având în vedere rezultatele cercetărilor din această teză, la nivelul populației care se adresează Spitalului Clinic de Boli Infecțioase „Sfânta Parascheva”, din Galați, România.

Reglarea microbiomului cutanat prin măsuri simple și puțin costisitoare contribuie în mod semnificativ la obținerea și menținerea controlului bolii. Având în vedere impactul major psiho-

social al psoriazisului vulgar asupra calității vieții pacienților și familiilor acestora, precum și povara economică pe care o presupune pentru sistemul național de sănătate, suntem datori să ne aplecăm asupra acestor măsuri adjuvante.

Perspective

Cercetarea privind rolul microbiomului cutanat în maladiile inflamatorii dermatologice reprezintă un subiect de interes major contemporan. Pornind de la observațiile studiului de față, putem revela oportunități de a descoperi noi căi patogenice cheie în procesele inflamatorii cutanate, prin implicarea directă a microorganismelor rezidente, tranzitorii sau patogene. Agenții microbieni ancorați la nivel tegumentar sunt capabili să genereze răspunsuri ale sistemului imun dobândit și înnăscut cu răsunet în evoluția și severitatea bolilor cutanate.

Perspectivile generate de studierea microbiomului pot ameliora simptomatologia și severitatea psoriazisului prin evitarea apariției disbiozelor având drept consecință dezechilibrarea microbiomului cutanat și imposibilitatea menținerii controlului bolii. Diferențele observate în cadrul studiului de față referitor la dezechilibrele microbiomului apărute ca urmare a unor fenomene fiziologice precum îmbătrânirea, rutina igienică zilnică, mediul de viață, pretează la continuarea cercetării în acest domeniu, având ca obiectiv îmbunătățirea conduitelor terapeutice topice și sistemice.

Rezultatele obținute în cadrul tezei de doctorat au fost publicate în următoarele articole:

1. **Radaschin DS**, Iancu AV, Ionescu AM, Gurau G, Niculet E, Bujoreanu FC, Nastase F, Radaschin T, Popa LG, Axente RE, Tatu AL. An Eastern County from an European Eastern Country-The Characteristics of Cutaneous Microbiome in Psoriasis Patients-Preliminary Results. *Life (Basel)*. 2024 May 24;14(6):678. doi:10.3390/life14060678. PMID: 38929663; PMCID: PMC11205136.
2. **Radaschin DS**, Iancu AV, Ionescu AM, Gurau G, Niculet E, Bujoreanu FC, Beiu C, Tatu AL, Popa LG. Comparative Analysis of the Cutaneous Microbiome in Psoriasis Patients and Healthy Individuals—Insights into Microbial Dysbiosis: Final Results. *International Journal of Molecular Sciences*. 2024; 25(19):10583. <https://doi.org/10.3390/ijms251910583>
3. **Radaschin DS**, Tatu A, Iancu AV, Beiu C, Popa LG. The Contribution of the Skin Microbiome to Psoriasis Pathogenesis and Its Implications for Therapeutic Strategies. *Medicina*. 2024; 60(10):1619. <https://doi.org/10.3390/medicina60101619>.
4. **Radaschin, D.S**, Tatu A (2018) “A short review about cutaneous microbiome”, *Analele Universității ”Dunărea de Jos” din Galați. Fascicula II, Matematică, fizică, mecanică teoretică / Annals of the ”Dunarea de Jos” University of Galati. Fascicle II, Mathematics, Physics, Theoretical Mechanics*, 41(2), pp. 237-241. doi: <https://doi.org/10.35219/ann-ugal-math-phys-mec.2018.2.17>.

- Niculescu, E., **Radaschin, D.S.**, Nastase, F., Draganescu, M., Baroiu, L., Miulescu, M., Tatu, A.L. (2020). Influence of phytochemicals in induced psoriasis. *Experimental and Therapeutic Medicine*, 20, 3421-3424. <https://doi.org/10.3892/etm.2020.9013>

BIBLIOGRAFIE SELECTIVĂ

- Olejnik M, Adamski Z, Dorocka-Bobkowska B. Psoriasis: From antiquity to the present. *Indian J Dermatol Venereol Leprol.* 2023 Jan-Feb;89(1):149-153. doi: 10.25259/IJDVL_1200_2021. PMID: 36331862.
- Cowden, A., Van Voorhees, A.S. (2008). Introduction: History of psoriasis and psoriasis therapy. In: Weinberg, J.M. (eds) *Treatment of Psoriasis. Milestones in Drug Therapy.* Birkhäuser Basel. https://doi.org/10.1007/978-3-7643-7724-3_1;
- Reid C, Griffiths CEM. Psoriasis and Treatment: Past, Present and Future Aspects. *Acta Derm Venereol.* 2020 Jan 30;100(3):adv00032. doi: 10.2340/00015555-3386. PMID: 31971601; PMCID: PMC9128930.
- MacDonald A, Burden AD. Psoriasis: advances in pathophysiology and management. *Postgrad Med J.* 2007 Nov;83(985):690-7. doi: 10.1136/pgmj.2007.061473. PMID: 17989268; PMCID: PMC2659962.
- Kimmel GW, Lebwohl M. Psoriasis: Overview and Diagnosis. *Evidence-Based Psoriasis.* 2018 Jul 1:1–16. doi: 10.1007/978-3-319-90107-7_1. PMCID: PMC7122924.
- Liu S, He M, Jiang J, Duan X, Chai B, Zhang J, Tao Q, Chen H. Triggers for the onset and recurrence of psoriasis: a review and update. *Cell Commun Signal.* 2024 Feb 12;22(1):108. doi: 10.1186/s12964-023-01381-0. PMID: 38347543; PMCID: PMC10860266.
- Ajib R, Janbazian L, Rahal E, Matar GM, Zaynoun S, Kibbi AG, et al. HLA allele associations and V-beta T-lymphocyte expansions in patients with psoriasis, harboring toxin-producing *Staphylococcus aureus*. *J Biomed Biotechnol.* 2005;2005(4):310–315. doi: 10.1155/JBB.2005.310
- Ruiz-Romeu E, Ferran M, Sagristà M, Gómez J, Giménez-Arnau A, Herszenyi K, et al. *Streptococcus pyogenes*-induced cutaneous lymphocyte antigen-positive T cell-dependent epidermal cell activation triggers TH17 responses in patients with guttate psoriasis. *J Allergy Clin Immunol.* 2016;138(2):491–9.e6. doi: 10.1016/j.jaci.2016.02.008.
- Langan EA, Kunstner A, Miodovnik M, Zillikens D, Thaçi D, Baines JF, et al. Combined culture and metagenomic analyses reveal significant shifts in the composition of the cutaneous microbiome in psoriasis. *Br J Dermatol.* 2019;181(6):1254–1264. doi: 10.1111/bjd.17989.
- Zanvit P, Konkell JE, Jiao X, Kasagi S, Zhang D, Wu R, et al. Antibiotics in neonatal life increase murine susceptibility to experimental psoriasis. *Nat Commun.* 2015;6:8424. doi: 10.1038/ncomms9424.
- Rousset L, Halioua B. Stress and psoriasis. *Int J Dermatol.* 2018;57(10):1165–1172. doi: 10.1111/ijd.14032
- Fry L, Baker BS. Triggering psoriasis: the role of infections and medications. *Clin Dermatol.* 2007;25(6):606–615. doi: 10.1016/j.clindermatol.2007.08.015
- Gudjonsson JE, Elder JT. Psoriasis. In: Wolff K, Goldsmith LA, Katz SI, Gilchrist BA, Paller AS, Leffell DJ, editors. *Fitzpatrick's Dermatology in General Medicine.* New York: McGraw Hill; 2008. pp. 169–94.
- Braun-Falco O, Plewig G, Wolff HH, Burgdorf WHC. *Dermatology.* 2nd ed. Berlin: Springer-Verlag; 2000. pp. 585–607.
- Nestle F.O., Kaplan D.H., Barker J. Psoriasis. *N. Engl. J. Med.* 2009;361:496–509. doi: 10.1056/NEJMr0804595.
- Ortonne J., Chimenti S., Luger T., Puig L., Reid F., Trueb R.M. Scalp psoriasis: European consensus on grading and treatment algorithm. *J. Eur. Acad. Dermatol. Venereol.* 2009;23:1435–1444. doi: 10.1111/j.1468-3083.2009.03372.x
- Ferrel C, Pinna AL, Piloni L, Tomasini CF, Rongioletti F. Histopathological aspects of psoriasis and its uncommon variants. *G Ital Dermatol Venereol.* 2018;153(2):173-184. doi:10.23736/S0392-0488.17.05839-4

18. Hofmann-Wellenhof, Rainer & Pellacani, Giovanni & Malvehy, Josep & Soyer, Peter. (2012). Reflectance Confocal Microscopy for Skin Diseases. 10.1007/978-3-642-21997-9
19. Huang D, Swanson EA, Lin CP, Schuman JS, Stinson WG, Chang W, et al. Optical coherence tomography. *Science*. (1991) 254:1178–81. 10.1126/science.1957169
20. Verzi AE, Lacarrubba F, Caltabiano R, Broggi G, Musumeci ML, Micali G. Reflectance Confocal Microscopy Features of Plaque Psoriasis Overlap With Horizontal Histopathological Sections: A Case Series. *Am J Dermatopathol*. 2019 May;41(5):355-357. doi: 10.1097/DAD.0000000000001297. PMID: 30640760.
21. Ha-Wissel L, Yasak H, Huber R, Zillikens D, Ludwig RJ, Thaçi D, Hundt JE. Case report: Optical coherence tomography for monitoring biologic therapy in psoriasis and atopic dermatitis. *Front Med (Lausanne)*. 2022 Sep 27;9:995883. doi: 10.3389/fmed.2022.995883. PMID: 36237538; PMCID: PMC9551172.
22. Ahmed SS, Manchanda Y, De A, Das S, Kumar R. Topical Therapy in Psoriasis. *Indian J Dermatol*. 2023 Jul-Aug;68(4):437-445. doi: 10.4103/ijd.ijd_422_23. PMID: 37822388; PMCID: PMC10564191.
23. Del Rosso J. Q. (2020). Topical Corticosteroid Therapy for Psoriasis-A Review of Clobetasol Propionate 0.025% Cream and the Clinical Relevance of Penetration Modification. *The Journal of clinical and aesthetic dermatology*, 13(2), 22–29.]
24. Torsekar R, Gautam MM. Topical Therapies in Psoriasis. *Indian Dermatol Online J*. 2017 Jul-Aug;8(4):235-245. doi: 10.4103/2229-5178.209622. PMID: 28761838; PMCID: PMC5518573.
25. Zhang P, Wu MX. A clinical review of phototherapy for psoriasis. *Lasers Med Sci*. 2018 Jan;33(1):173-180. doi: 10.1007/s10103-017-2360-1. Epub 2017 Oct 24. PMID: 29067616; PMCID: PMC5756569.
26. Ardeleanu V, Sabina Radaschin D, Tatu AL. Excimer laser for psoriasis treatment: A case report and short review. *Exp Ther Med*. 2020;20(1):52-55. doi:10.3892/etm.2020.8529;
27. Feldman SR, Mellen BG, Housman TS, et al. Efficacy of the 308-nm excimer laser for treatment of psoriasis: results of a multicenter study. *J Am Acad Dermatol*. 2002;46(6):900-906. doi:10.1067/mjd.2002.120454
28. da Silva CAP, Von Kossel K, Leszczynski M, Melnik T, Riera R. Methotrexate for psoriasis. *Cochrane Database Syst Rev*. 2019 Apr 9;2019(4):CD010498. doi: 10.1002/14651858.CD010498.pub2. PMCID: PMC6454986.
29. Czarnecka-Operacz M, Sadowska-Przytocka A. The possibilities and principles of methotrexate treatment of psoriasis - the updated knowledge. *Postepy Dermatol Alergol*. 2014 Dec;31(6):392-400. doi: 10.5114/pdia.2014.47121. Epub 2014 Dec 3. PMID: 25610355; PMCID: PMC4293394.
30. Lederberg, J. and McCray, A.T. (2001) 'Ome Sweet 'Omics—A Genealogical Treasury of Words. *Scientist*, 15, 8.
31. Manos J. The human microbiome in disease and pathology. *APMIS*. 2022 Dec;130(12):690-705. doi: 10.1111/apm.13225. Epub 2022 May 6. PMID: 35393656; PMCID: PMC9790345
32. Chen T, Yu WH, Izard J, Baranova OV, Lakshmanan A, Dewhirst FE. The Human Oral Microbiome Database: a web accessible resource for investigating oral microbe taxonomic and genomic information. *Database (Oxford)*. 2010;2010:baq013
33. Aggarwal N, Kitano S, Puaah GRY, Kittelmann S, Hwang IY, Chang MW. Microbiome and Human Health: Current Understanding, Engineering, and Enabling Technologies. *Chem Rev*. 2023 Jan 11;123(1):31-72. doi: 10.1021/acs.chemrev.2c00431. Epub 2022 Nov 1. PMID: 36317983; PMCID: PMC9837825
34. Skowron, K., Bauza-Kaszewska, J., Kraszewska, Z., Wiktorczyk-Kapischke, N., Grudlewska-Buda, K., Kwiecińska-Piróg, J., Wałęcka-Zacharska, E., Radtke, L., & Gospodarek-Komkowska, E. (2021). Human Skin Microbiome: Impact of Intrinsic and Extrinsic Factors on Skin Microbiota. *Microorganisms*, 9(3), 543.
35. Cundell A.M. Microbial Ecology of the Human Skin. *Microb. Ecol*. 2018;76:113–120. doi: 10.1007/s00248-016-0789-6.
36. Grice E.A., Kong H.H., Conlan S., Deming C.B., Davis J., Young A.C., Bouffard G.G., Blakesley R.W., Murray P.R., Nisc Comparative Sequencing Program et al. Topographical and

- Temporal Diversity of the Human Skin Microbiome. *Science*. 2009;324:1190–1192. doi: 10.1126/science.1171700.
37. Fluhr J.W., Kao J., Jain M., Ahn S.K., Feingold K.R., Elias P.M. Generation of free fatty acids from phospholipids regulates stratum corneum acidification and integrity. *J. Investig. Dermatol.* 2001;117:44–51. doi: 10.1046/j.0022-202x.2001.01399.x.
 38. Lee HJ, Kim M. Skin Barrier Function and the Microbiome. *Int J Mol Sci.* 2022 Oct 28;23(21):13071. doi: 10.3390/ijms232113071. PMID: 36361857; PMCID: PMC9654002
 39. Findley K., Oh J., Yang J., Conlan S., Deming C., Meyer J.A., Schoenfeld D., Nomicos E., Park M., Kong H.H., et al. Topographic diversity of fungal and bacterial communities in human skin. *Nature*. 2013;498:367–370. doi: 10.1038/nature12171
 40. Oh J., Byrd A.L., Park M., Kong H.H., Segre J.A. Temporal Stability of the Human Skin Microbiome. *Cell*. 2016;165:854–866. doi: 10.1016/j.cell.2016.04.008
 41. Collado, M. C., Rautava, S., Aakko, J., Isolauri, E., & Salminen, S. (2016). Human gut colonisation may be initiated in utero by distinct microbial communities in the placenta and amniotic fluid. *Scientific reports*, 6, 23129. <https://doi.org/10.1038/srep23129>
 42. Stinson L.F., Boyce M.C., Payne M.S., Keelan J.A. The Not-so-Sterile Womb: Evidence That the Human Fetus Is Exposed to Bacteria Prior to Birth. *Front. Microbiol.* 2019;10:1124. doi: 10.3389/fmicb.2019.01124.
 43. Ratanapokasatit Y, Laisuan W, Rattananukrom T, Petchlorlian A, Thapisuttikul I, Sompornrattanaphan M. How Microbiomes Affect Skin Aging: The Updated Evidence and Current Perspectives. *Life (Basel)*. 2022 Jun 22;12(7):936. doi: 10.3390/life12070936. PMID: 35888025; PMCID: PMC9320090.
 44. Chambers E.S., Vukmanovic-Stejic M. Skin barrier immunity and ageing. *Immunology*. 2019;160:116–125. doi: 10.1111/imm.13152
 45. Shibagaki N., Suda W., Clavaud C., Bastien P., Takayasu L., Iioka E., Kurokawa R., Yamashita N., Hattori Y., Shindo C., et al. Aging-related changes in the diversity of women's skin microbiomes associated with oral bacteria. *Sci. Rep.* 2017;7:10567. doi: 10.1038/s41598-017-10834-9.
 46. Jugé R., Rouaud-Tinguely P., Breugnot J., Servaes K., Grimaldi C., Roth M.-P., Coppin H., Closs B. Shift in skin microbiota of Western European women across aging. *J. Appl. Microbiol.* 2018;125:907–916. doi: 10.1111/jam.13929
 47. Howard B., Bascom C.C., Hu P., Binder R.L., Fadayel G., Huggins T.G., Jarrold B.B., Osborne R., Rocchetta H.L., Swift D., et al. Aging-Associated Changes in the Adult Human Skin Microbiome and the Host Factors that Affect Skin Microbiome Composition. *J. Investig. Dermatol.* 2021;142:1934–1946. doi: 10.1016/j.jid.2021.11.029.
 48. Burns EM, Ahmed H, Isedeh PN, Kohli I, Van Der Pol W, Shaheen A, Muzaffar AF, Al-Sadek C, Foy TM, Abdelgawwad MS, Huda S, Lim HW, Hamzavi I, Bae S, Morrow CD, Elmets CA, Yusuf N. Ultraviolet radiation, both UVA and UVB, influences the composition of the skin microbiome. *Exp Dermatol.* 2019 Feb;28(2):136-141. doi: 10.1111/exd.13854. Epub 2019 Jan 14. PMID: 30506967; PMCID: PMC7394481
 49. Wang Y., Zhu W., Shu M., Jiang Y., Gallo R.L., Liu Y.T., Huang C.M. The response of human skin commensal bacteria as a reflection of UV radiation: UV-B decreases porphyrin production. *PLoS ONE*. 2012;7:e47798. doi: 10.1371/journal.pone.0047798.
 50. Patra V, Wagner K, Arulampalam V, Wolf P. Skin Microbiome Modulates the Effect of Ultraviolet Radiation on Cellular Response and Immune Function. *iScience*. 2019 May 31;15:211-222. doi: 10.1016/j.isci.2019.04.026. Epub 2019 Apr 26. PMID: 31079025; PMCID: PMC6515114
 51. Nakatsuji T., Chen T.H., Butcher A.M., Trzoss L.L., Nam S.J., Shirakawa K.T., Zhou W., Oh J., Otto M., Fenical W. A commensal strain of *Staphylococcus epidermidis* protects against skin neoplasia. *Sci. Adv.* 2018;4:eaa04502
 52. Meisel J.S., Sfyroera G., Bartow-McKenney C., Gimblet C., Bugayev J., Horwinski J., Kim B., Brestoff J.R., Tyldsley A.S., Zheng Q. Commensal microbiota modulate gene expression in the skin. *Microbiome*. 2018;6:20

53. Glaser R., Navid F., Schuller W., Jantschitsch C., Harder J., Schroder J.M., Schwarz A., Schwarz T. UV-B radiation induces the expression of antimicrobial peptides in human keratinocytes in vitro and in vivo. *J. Allergy Clin. Immunol.* 2009;123:1117–1123
54. Santos AL, Oliveira V, Baptista I, Henriques I, Gomes NCM, Almeida A, et al. Wavelength dependence of biological damage induced by UV radiation on bacteria. *Archives of Microbiology* 2013;195(1):63–74.
55. Byrd AL, Belkaid Y, Segre JA. 2018. The human skin microbiome. *Nat Rev Microbiol* 16:143–155. doi: 10.1038/nrmicro.2017.157
56. Whiteside JA, Voss JG. 1973. Incidence and lipolytic activity of *Propionibacterium acnes* (*Corynebacterium acnes* group I) and *P. granulosum* (*C. acnes* group II) in acne and in normal skin. *J Invest Dermatol* 60:94–97. doi: 10.1111/1523-1747.ep12724177
57. Chen Y.E., Tsao H. The skin microbiome: Current perspectives and future challenges. *J. Am. Acad. Dermatol.* 2013;69:143–155. doi: 10.1016/j.jaad.2013.01.016.
58. Robert C, Cascella F, Mellai M, Barizzone N, Mignone F, Massa N, Nobile V, Bona E. Influence of Sex on the Microbiota of the Human Face. *Microorganisms.* 2022 Dec 14;10(12):2470. doi: 10.3390/microorganisms10122470. PMID: 36557723; PMCID: PMC9786802
59. Ying S., Zeng D.-N., Chi L., Tan Y., Galzote C., Cardona C., Lax S., Gilbert J., Quan Z.-X. The Influence of Age and Gender on Skin-Associated Microbial Communities in Urban and Rural Human Populations. *PLoS ONE.* 2015;10:e0141842. doi: 10.1371/journal.pone.0141842
60. Flak M.B., Neves J.F., Blumberg R.S. Immunology. Welcome to the microgenderome. *Science.* 2013;339:1044–1045. doi: 10.1126/science.1236226
61. Ehlers C, Ivens UI, Møller ML, Senderovitz T, Serup J. Females have lower skin surface pH than men. A study on the surface of gender, forearm site variation, right/left difference and time of the day on the skin surface pH. *Skin Res Technol.* 2001 May;7(2):90-4. doi: 10.1034/j.1600-0846.2001.70206.x. PMID: 11393210.
62. Edmonds-Wilson S.L., Nurinova N.I., Zapka C.A., Fierer N., Wilson M. Review of human hand microbiome research. *J. Dermatol. Sci.* 2015;80:3–12. doi: 10.1016/j.jdermsci.2015.07.006.
63. Vindenes HK, Drengenes C, Amin H, Irgens-Hansen K, Svanes C, Bertelsen RJ. Longitudinal analysis of the skin microbiome in association with hand eczema, hand hygiene practices and moisturizer use. *J Eur Acad Dermatol Venereol.* 2024 Feb 28. doi: 10.1111/jdv.19906. Epub ahead of print. PMID: 38419413
64. Groot J, Blegvad C, Nybo Andersen AM, Zachariae C, Skov L. Tonsillitis and Pediatric Psoriasis: Cohort and Cross-Sectional Analyses of Offspring From the Danish National Birth Cohort. *J Am Acad Dermatol* (2020) 82(3):666–74. doi: 10.1016/j.jaad.2019.08.010
65. Telfer NR, Chalmers RJ, Whale K, Colman G. The role of streptococcal infection in the initiation of guttate psoriasis. *Arch Dermatol.* 1992 Jan;128(1):39-42. PMID: 1739285.
66. Valdimarsson H, Thorleifsdottir RH, Sigurdardottir SL, Gudjonsson JE, Johnston A. Psoriasis-as an autoimmune disease caused by molecular mimicry. *Trends Immunol.* 2009 Oct;30(10):494-501. doi: 10.1016/j.it.2009.07.008. Epub 2009 Sep 24. PMID: 19781993
67. Elfatoiki FZ, El Azhari M, El Kettani A, Serhier Z, Othmani MB, Timinouni M, Benchikhi H, Chiheb S, Fellah H. Psoriasis and *Staphylococcus aureus* skin colonization in Moroccan patients. *Pan Afr Med J.* 2016 Feb 8;23:33. doi: 10.11604/pamj.2016.23.33.7198. PMID: 27200138; PMCID: PMC4856496
68. Balci D.D., Duran N., Ozer B., Gunesacar R., Onlen Y., Yenin J.Z. High prevalence of *Staphylococcus aureus* cultivation and superantigen production in patients with psoriasis. *Eur. J. Dermatol.* 2009;19:238–242. doi: 10.1684/ejd.2009.0663
69. Fey PD, Olson ME. Current concepts in biofilm formation of *Staphylococcus epidermidis*. *Future Microbiol.* 2010 Jun;5(6):917-33. doi: 10.2217/fmb.10.56. PMID: 20521936; PMCID: PMC2903046
70. de Aguiar Cordeiro R, Reis AT, Lima XTV, de Andrade ARC, Aguiar ALR, Portela FVM, Pereira LMG, Moura SGB, da Silva BN, de Lima-Neto RG, Maia DCSC, Rocha MFG, Sidrim JJC. *Malassezia* spp. and *Candida* spp. from patients with psoriasis exhibit reduced susceptibility to antifungals. *Braz J Microbiol.* 2023 Mar;54(1):169-177. doi: 10.1007/s42770-022-00883-2. Epub 2022 Dec 8. PMID: 36480120; PMCID: PMC9944151.

71. Gomez-Moyano E, Crespo-Erchiga V, Martínez-Pilar L, Godoy Diaz D, Martínez-García S, Lova Navarro M, Vera Casaño A. Do Malassezia species play a role in exacerbation of scalp psoriasis? J Mycol Med. 2014 Jun;24(2):87-92. doi: 10.1016/j.mycmed.2013.10.007. Epub 2014 Jan 9. PMID: 24411177
72. Lee YJ, Yassa C, Park SH, Song SW, Jung WH, Lee YW, Kang H, Kim JE. Interactions between Malassezia and New Therapeutic Agents in Atopic Dermatitis Affecting Skin Barrier and Inflammation in Recombinant Human Epidermis Model. Int J Mol Sci. 2023 Mar 24;24(7):6171. doi: 10.3390/ijms24076171. PMID: 37047166; PMCID: PMC10094540.
73. Chifiriuc Carmen, Mihăescu Grigore, Lazăr Veronica, 2011, "Microbiologie și virologie medicală", Editura Universitatii din Bucuresti;
74. Lazăr, V., 2007, „Microbiologie medicală. Note de curs și principii de diagnostic microbiologic”, Editura Universității din București.
75. Olshina, M. A., & Sharon, M. (2016). Mass Spectrometry: A Technique of Many Faces. Quarterly reviews of biophysics, 49, e18. <https://doi.org/10.1017/S0033583516000160>
76. Singhal, N., Kumar, M., Kanaujia, P. K., & Viridi, J. S. (2015). MALDI-TOF mass spectrometry: an emerging technology for microbial identification and diagnosis. Frontiers in microbiology, 6, 791. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2015.00791>
77. Alekseyenko, A. V., Perez-Perez, G. I., De Souza, A., Strober, B., Gao, Z., Bihan, M., Li, K., Methé, B. A., & Blaser, M. J. (2013). Community differentiation of the cutaneous microbiota in psoriasis. Microbiome, 1(1), 31. <https://doi.org/10.1186/2049-2618-1-31>
78. Fahlén A, Engstrand L, Baker BS, Powles A, Fry L. Comparison of bacterial microbiota in skin biopsies from normal and psoriatic skin. Arch Dermatol Res. 2012 Jan;304(1):15-22. doi: 10.1007/s00403-011-1189-x. Epub 2011 Nov 8. PMID: 22065152
79. Boix-Amorós A, Badri MH, Manasson J, Blank RB, Haberman RH, Neimann AL, Giriya PV, Jimenez Hernandez A, Heguy A, Korolov SB, Bonneau R, Clemente JC, Scher JU. Alterations in the cutaneous microbiome of patients with psoriasis and psoriatic arthritis reveal similarities between non-lesional and lesional skin. Ann Rheum Dis. 2023 Apr;82(4):507-514. doi: 10.1136/ard-2022-223389. Epub 2022 Dec 12. PMID: 36600182.
80. Yan D, Issa N, Afifi L, Jeon C, Chang HW, Liao W. The Role of the Skin and Gut Microbiome in Psoriatic Disease. Curr Dermatol Rep. 2017 Jun;6(2):94-103. doi: 10.1007/s13671-017-0178-5. Epub 2017 Apr 22. PMID: 28804689; PMCID: PMC5552074
81. Gao, Z., Tseng, C. H., Strober, B. E., Pei, Z., & Blaser, M. J. (2008). Substantial alterations of the cutaneous bacterial biota in psoriatic lesions. PloS one, 3(7), e2719. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0002719>
82. Chang, H. W., Yan, D., Singh, R., Liu, J., Lu, X., Ucmak, D., Lee, K., Afifi, L., Fadrosh, D., Leech, J., Vasquez, K. S., Lowe, M. M., Rosenblum, M. D., Scharschmidt, T. C., Lynch, S. V., & Liao, W. (2018). Alteration of the cutaneous microbiome in psoriasis and potential role in Th17 polarization. Microbiome, 6(1), 154. <https://doi.org/10.1186/s40168-018-0533-1>
83. Ng CY, Huang YH, Chu CF, Wu TC, Liu SH. Risks for Staphylococcus aureus colonization in patients with psoriasis: a systematic review and meta-analysis. Br J Dermatol. 2017 Oct;177(4):967-977. doi: 10.1111/bjd.15366. Epub 2017 Sep 8. PMID: 28160277
84. Casas C, Ribet V, Alvarez-Georges S, Sibaud V, Guerrero D, Schmitt AM, Redoulès D. Modulation of Interleukin-8 and staphylococcal flora by Avène hydrotherapy in patients suffering from chronic inflammatory dermatoses. J Eur Acad Dermatol Venereol. 2011 Feb;25 Suppl 1:19-23. doi: 10.1111/j.1468-3083.2010.03898.x. PMID: 21175870
85. Atefi, N., Tabaie, M., Noorbakhsh, S., Tabatabaie, A., Rezaee, M., Rohaninasab, M. The role of Staphylococcus superantigens in chronic plaque type psoriasis. Iranian Journal of Dermatology, 2012; 15(1): 1-3
86. Tatu, A. and Radaschin, D. (2018) "A short review about cutaneous microbiome", *Analele Universității "Dunărea de Jos" din Galați. Fascicula II, Matematică, fizică, mecanică teoretică / Annals of the "Dunarea de Jos" University of Galati. Fascicle II, Mathematics, Physics, Theoretical Mechanics*, 41(2), pp. 237-241. doi: <https://doi.org/10.35219/ann-ugal-math-phys-mec.2018.2.17>.
87. Radaschin DS, Iancu AV, Ionescu AM, Gurau G, Niculet E, Bujoreanu FC, Nastase F, Radaschin T, Popa LG, Axente RE, Tatu AL. An Eastern County from an European Eastern

- Country-The Characteristics of Cutaneous Microbiome in Psoriasis Patients-Preliminary Results. *Life (Basel)*. 2024 May 24;14(6):678. doi: 10.3390/life14060678. PMID: 38929663; PMCID: PMC11205136.
88. Gonzalez T, Stevens ML, Baatyrbek Kyzy A, Alarcon R, He H, Kroner JW, Spagna D, Grashel B, Sidler E, Martin LJ, Biagini Myers JM, Khurana Hershey GK, Herr AB. Biofilm propensity of *Staphylococcus aureus* isolates is associated with increased atopic dermatitis severity and barrier dysfunction in the MPAACH pediatric cohort. *Allergy*. 2021 Jan;76(1):302-313. doi: 10.1111/all.14489. Epub 2020 Aug 9. PMID: 32640045; PMCID: PMC8561741
 89. Parlet CP, Brown MM, Horswill AR. Commensal *Staphylococci* Influence *Staphylococcus aureus* Skin Colonization and Disease. *Trends Microbiol*. 2019 Jun;27(6):497-507. doi: 10.1016/j.tim.2019.01.008. Epub 2019 Mar 5. PMID: 30846311; PMCID: PMC7176043
 90. Nakatsuji T, Chen TH, Narala S, Chun KA, Two AM, Yun T, Shafiq F, Kotol PF, Bouslimani A, Melnik AV, Latif H, Kim JN, Lockhart A, Artis K, David G, Taylor P, Streib J, Dorrestein PC, Grier A, Gill SR, Zengler K, Hata TR, Leung DY, Gallo RL. Antimicrobials from human skin commensal bacteria protect against *Staphylococcus aureus* and are deficient in atopic dermatitis. *Sci Transl Med*. 2017 Feb 22;9(378):eaa4680. doi: 10.1126/scitranslmed.aah4680. PMID: 28228596; PMCID: PMC5600545
 91. Pietrzak A, Grywalska E, Socha M, Roliński J, Franciszkiewicz-Pietrzak K, Rudnicka L, Rudzki M, Krasowska D. Prevalence and Possible Role of *Candida* Species in Patients with Psoriasis: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Mediators Inflamm*. 2018 May 6;2018:9602362. doi: 10.1155/2018/9602362. PMID: 29853795; PMCID: PMC5960518.
 92. Ovčina-Kurtović N, Kasumagić-Halilović E, Helppikangas H, Begić J. Prevalence of *Candida* Species in Patients with Psoriasis. *Acta Dermatovenerol Croat*. 2016 Aug;24(3):209-13. PMID: 27663922
 93. Takemoto A, Cho O, Morohoshi Y, Sugita T, Muto M. Molecular characterization of the skin fungal microbiome in patients with psoriasis. *J Dermatol*. 2015 Feb;42(2):166-70. doi: 10.1111/1346-8138.12739. Epub 2014 Dec 15. PMID: 25510344.
 94. Flytström I, Bergbrant IM, Bråred J, Brandberg LL. Microorganisms in intertriginous psoriasis: no evidence of *Candida*. *Acta Derm Venereol*. 2003;83(2):121-3. doi: 10.1080/00015550310007463. PMID: 12735640.]
 95. Leibovici V, Alkalay R, Hershko K, Ingber A, Westerman M, Leviatan-Strauss N, Hochberg M. Prevalence of *Candida* on the tongue and intertriginous areas of psoriatic and atopic dermatitis patients. *Mycoses*. 2008;51(1):63–66. doi: 10.1111/j.1439-0507.2007.01443.x.
 96. Kim BY, et al. Sebum, acne, skin elasticity, and gender difference—which is the major influencing factor for facial pores? *Skin Res. Technol*. 2013;19:e45–53. doi: 10.1111/j.1600-0846.2011.00605.x
 97. Kim, J. H., Son, S. M., Park, H., Kim, B. K., Choi, I. S., Kim, H., & Huh, C. S. (2021). Taxonomic profiling of skin microbiome and correlation with clinical skin parameters in healthy Koreans. *Scientific reports*, 11(1), 16269. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-95734-9>
 98. Huang SHaiminen N, Carrieri A, Hu R, Jiang LParida L, Russell B, Allaband C, Zarrinpar AVázquez-Baeza YBelda-Ferre PZhou H, Kim H, Swafford AD, Knight R, Xu ZZ 2020. Human Skin, Oral, and Gut Microbiomes Predict Chronological Age. *mSystems* 5:10.1128/msystems.00630-19.<https://doi.org/10.1128/msystems.00630-19>
 99. Song, S.J.; Lauber, C.; Costello, E.K.; Lozupone, C.A.; Humphrey, G.; Berg-Lyons, D.; Caporaso, J.G.; Knights, D.; Clemente, J.C.; Nakielny, S.; et al. Cohabiting family members share microbiota with one another and with their dogs. *Elife* 2013, 2, e00458. <https://doi.org/10.7554/eLife.00458>. PMID: 23599893; PMCID: PMC3628085
 100. Prescott, S. L., Larcombe, D. L., Logan, A. C., West, C., Burks, W., Caraballo, L., Levin, M., Etten, E. V., Horwitz, P., Kozyrskyj, A., & Campbell, D. E. (2017). The skin microbiome: impact of modern environments on skin ecology, barrier integrity, and systemic immune programming. *The World Allergy Organization journal*, 10(1), 29. <https://doi.org/10.1186/s40413-017-0160-5>
 101. Kraemer, J. G., Ramette, A., Aebi, S., Oppliger, A., & Hilty, M. (2018). Influence of Pig Farming on the Human Nasal Microbiota: Key Role of Airborne Microbial Communities.

- Applied and environmental microbiology, 84(6), e02470-17.
<https://doi.org/10.1128/AEM.02470-17>
102. Callewaert C., Ravard Helffer K., Lebaron P. Skin Microbiome and its Interplay with the Environment. *Am. J. Clin. Dermatol.* 2020;21:4–11. doi: 10.1007/s40257-020-00551-x
 103. Leung, M. H., & Lee, P. K. (2016). The roles of the outdoors and occupants in contributing to a potential pan-microbiome of the built environment: a review. *Microbiome*, 4(1), 21. <https://doi.org/10.1186/s40168-016-0165-2>
 104. Buhaş, M. C., Candrea, R., Gavrilaş, L. I., Miere, D., Tătaru, A., Boca, A., & Căţinean, A. (2023). Transforming Psoriasis Care: Probiotics and Prebiotics as Novel Therapeutic Approaches. *International journal of molecular sciences*, 24(13), 11225. <https://doi.org/10.3390/ijms241311225>
 105. Radaschin DS, Iancu AV, Ionescu AM, Gurau G, Niculet E, Bujoreanu FC, Beiu C, Tatu AL, Popa LG. Comparative Analysis of the Cutaneous Microbiome in Psoriasis Patients and Healthy Individuals—Insights into Microbial Dysbiosis: Final Results. *International Journal of Molecular Sciences*. 2024; 25(19):10583. <https://doi.org/10.3390/ijms251910583>
 106. Radaschin DS, Tatu A, Iancu AV, Beiu C, Popa LG. The Contribution of the Skin Microbiome to Psoriasis Pathogenesis and Its Implications for Therapeutic Strategies. *Medicina*. 2024; 60(10):1619. <https://doi.org/10.3390/medicina60101619>