

# Mikrobiom i mykobiom skóry u zwierząt – charakterystyka i metody analizy

Sebastian Gnat

z Zakładu Mikrobiologii Instytutu Przedklinicznych Nauk Weterynaryjnych Wydziału Medycyny Weterynaryjnej w Lublinie

Badania naukowe opublikowane w okresie ostatnich 20 lat wykazały, że zróżnicowane gatunkowo populacje drobnoustrojów, nazywane mikrobiomem, zasiedlają niemal wszystkie narządy organizmów ludzkich i zwierzęcych (1, 2, 3). Mikroorganizmy stanowiące mikrobiom wchodzą w relacje komensalne z gospodarzem, konkurują z patogenami o składniki odżywcze, a także wytwarzają liczne metabolity, które modulują działanie układu odpornościowego, co w konsekwencji przyczynia się do zachowania homeostazy organizmu i zdrowia (3).

Koncepcja roli mikrobiomu w stanach normobiozy i dysbiozy wskazała jednoznacznie, że organizmy wyższe nie są układami sterylnymi (4). Głębsze zainteresowanie naukowe tym tematem otworzyło drogę do zbadania tzw. drugiego genomu człowieka i różnych gatunków zwierząt, jego funkcji i znaczenia w utrzymaniu zdrowia oraz określeniu zależności, w jaki sposób zaburzenia równowagi w populacjach drobnoustrojów tworzących mikrobiom związane są z rozwojem stanów patologicznych u żywicieli i skutkują zwiększeniem prawdopodobieństwa wystąpienia chorób (5, 6). W tym artykule zostały syntetycznie przedstawione wyniki badań naukowych dotyczących mikrobiomów skóry u zwierząt w stanach fizjologicznych i w okresach zaburzenia równowagi.

## The microbiome and mycobiome of the skin in animals – characteristics and methods of analysis

Gnat S., Sub-Department of Microbiology, Institute of Preclinical Veterinary Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, University of Life Sciences in Lublin

Several studies published in the last 20 years have shown that complex communities of microbes, known as the microbiome, inhabit the different sites of the human and animal body. Due to these new concepts, Lederberg coined the term microbiome in 2000, describing a more “ecologically-informed metaphor” to better understand and describe the relationship between human hosts and their microbes. This article synthetically presents the results of research on the skin microbiome in animals in physiological states and in periods of health imbalance. Small number of studies that describe the skin microbiota in animals have been published to date. These have included only limited numbers of animals, rendering them rather descriptive, currently. So far, the bacterial skin microbiome has been studied in dogs, cats, cattle, sheep, and amphibians. In contrast, the skin mycobiome has been defined only in dogs and cats. The analysis of the literature made it possible to draw a conclusion that the skin microbiome has unique composition: it varies across body areas and a remarkable variability is seen across different individuals.

**Keywords:** microbiome, mycobiome, skin, animal species.

Szczególna uwaga została zwrócona na rezultaty analiz z wykorzystaniem sekwencjonowania nowej generacji (NGS).

### Definicja mikrobiomu

Joshua Lederberg użył w 2000 r. terminu mikrobiom po raz pierwszy (7), opisując związek między organizmem człowieka a zasiedlającymi go drobnoustrojami. Termin mikrobiom odnosi się nie tylko do całej gamy mikroorganizmów, w tym bakterii, archeonów, grzybów i pasożytów, ale także ich genów, metabolitów i obecnych w organizmie wyższym cząstek wirusowych (8). Pojęcie mikrobiomu stało się wyjątkowo popularne w ostatnich latach, kiedy do mikrobiologii zaczęto implementować analizy z wykorzystaniem sekwencjonowania typu „shotgun”. Technika ta umożliwia ocenę całego DNA zawartego w próbce, zarówno w zakresie ilościowym, jak i jakościowym, czego wymiernym skutkiem jest możliwość wskazania potencjału funkcjonalnego populacji mikroorganizmów tworzących mikrobiomy (9, 10). Naukowcy, zwłaszcza specjaliści badający ekologię drobnoustrojów, wskazują, że te nowoczesne narzędzia molekularne i skokowy postęp w bioinformatyce pozwalają klasyfikować mikroorganizmy i wirusy bez ich hodowli, a dodatkowo umożliwiają analizę danych genomowych w celu oceny różnorodności mikrobiomów (11). Imponujący wręcz rozwój tej gałęzi biologii molekularnej, opartej na analizie sekwencji genetycznych populacji drobnoustrojów, ugruntował się w nowej dziedzinie nazywanej metagenomiką (tab. 1).

Szacowane jest, że liczba komórek drobnoustrojów kolonizujących organizm ludzki jest 10 razy większa niż liczba komórek tworzących organizm (12). Niestety podobnych danych nie ma obecnie dla zwierząt. Mikroorganizmy stanowiące mikrobiom nie tylko kolonizują organizm, ale także stanowią „wektory”

przenoszące ważne funkcjonalne geny, np. odpowiedzialne za syntezę metabolitów, które mogą wpływać na zdrowie gospodarza (7). Mikroorganizmy komensalne bytują na skórze, w przewodzie pokarmowym, drogach oddechowych i układzie rozrodczym u ludzi i zwierząt. Co jest istotne, skład gatunkowy mikrobiomów jest zróżnicowany w poszczególnych narządach i układach, a także zachowuje specyficzność gospodarzową (12, 13). Zdecydowana większość dotychczasowych badań mikrobiomów skoncentrowana była na opisie jakościowym i ilościowym drobnoustrojów w układzie żołądkowo-jelitowym, a dopiero w ciągu ostatnich 10 lat badania mikrobiomu skóry zyskały znaczącą wagę badaczy.

Badania metagenomiczne ujawniły, że powierzchnie warstwy skóry są skolonizowane przez większą liczbę drobnoustrojów niż opisano wcześniej wyłącznie na podstawie konwencjonalnych badań hodowlanych. Należy jednak w tym miejscu zaznaczyć minusy badania metagenomicznego, którym jest niewątpliwie wskazywanie obecności genów drobnoustrojów lub ich fragmentów w próbce bez dociekania, czy za nimi idzie występowanie żywych organizmów (14). Niektórzy badacze twierdzą wręcz, że zdecydowana większość drobnoustrojów na skórze, zidentyfikowanych na podstawie sekwencjonowania nowej generacji (NGS), jest nieaktywna lub martwa (15, 16). Costello i wsp. (17) na łamach uznanego w świecie nauki czasopisma „Science” podają, że część wykazanych za pomocą sekwencjonowania drobnoustrojów może być częścią mikrobiomu skóry jedynie przejściowo. Natomiast Meisel i wsp. (18) wskazują na możliwe błędy w prawidłowym oszacowaniu bioróżnorodności tych mikrobiomów za pomocą metagenomiki związane z niewielkimi różnicami filogenetycznymi między drobnoustrojami, które w konsekwencji mogą przyczynić się do odmiennych wyników w zależności od zastosowanej metody i markera molekularnego (18).

**Tabela 1.** Techniki i cele molekularne stosowane w analizie mikrobiomów

Technika	Charakterystyka
Sekwencjonowanie nowej generacji (NGS)	Technika umożliwia sekwencjonowanie całego genomu bądź jego fragmentów z wykorzystaniem techniki strzelby (ang. shotgun). W jednym cyklu można sekwencjonować wiele próbek. Najpopularniejsze platformy stosowane w NGS to pirosekwencjonowanie Roche 454 i Illumina.
Sekwencjonowanie całego genomu techniką strzelby (ang. shotgun)	W metodach opartych na sekwencjonowaniu shotgun wykonuje się losowe sekwencjonowanie krótkich fragmenty pociętego DNA z całych genomów w próbce. Te krótkie fragmenty są następnie składane w ciągłe dłuższe sekwencje. W badaniach mikrobiomu ta metoda jest stosowana do scharakteryzowania dowolnych genów, które są sekwencjonowane w sposób nieukierunkowany z genomu gospodarza i mikroorganizmów, umożliwiając charakterystykę filogenetyczną i identyfikację genów drobnoustrojów.
Analiza bakteriomu na podstawie analizy sekwencji genu 16S rRNA	Analiza genu podjednostki rybosomalnej 16S (16S rRNA) jest metodą szeroko wykorzystywaną w identyfikacji prokariotów. W sekwencji 16S rDNA znajdują się regiony wysoce konserwatywne, umożliwiające przyrównanie względem odpowiednich <i>locus</i> , a także regiony hiperzmiennie, stanowiące odpowiedniki odległości ewolucyjnych między mikroorganizmami. Sekwencje uzyskane z tego genu pozwalają na filogenetyczną charakterystykę populacji bakteryjnych.
Analiza mykobiomu na podstawie sekwencji 18S rRNA, 28S rRNA oraz ITS (Internal Transcribed Spacer)	Podobnie jak prokarioty, eukarioty również mają konserwatywne regiony w swoim genomie. W przypadku grzybów regiony genów 18S rRNA, 28S rRNA i sekwencja międzygenowa ITS są z wyboru stosowane w badaniach NGS. Chociaż te sekwencje umożliwiają charakterystykę jakościową populacji grzybów, bazy danych grzybów są nadal niekompletne, oferując ograniczoną charakterystykę uzyskanych sekwencji.
Analiza wiromu	Wirom to zespół społeczności wirusowych w próbce, w tym bakteriofagów, jednoniciowych i dwuniciowych wirusów DNA i RNA. W odróżnieniu od bakteryjnego 16S rRNA i grzybowego 18S rRNA, 28S rRNA i ITS, wirusy nie mają konserwatywnych regionów w swoim genomie. Tworzenie wirusowych baz danych jest trudne ze względu na znaczną zmienność genomową wirusów i ich szybką ewolucję.

## Mikrobiom skóry u zwierząt

Doniesienia literaturowe dotyczące bakteryjnego mikrobiomu skóry u zwierząt, a zwłaszcza wyniki badań z wykorzystaniem NGS są skąpe (tab. 2). Najciekawsze z nich charakteryzują biotę skóry u psów (19, 20, 21), jamy nosowej u kotów (22), racic u bydła (23, 24, 25) i owiec (26). U egzotycznych gatunków zwierząt scharakteryzowano mikrobiotę skórną płazów (27, 28), które to badania były podyktowane wysoką prevalencją zakażeń powierzchniowych dziesiątkujących populacje kilku gatunków płazów.

## Zwierzęta towarzyszące

Badania charakteryzujące mikrobiom skóry psów wykazały, że jego bioróżnorodność jest nawet większa od występującej na skórze ludzi (19, 20, 21). Na podstawie analiz NGS wskazane zostały główne typy bakterii wchodzące w skład mikrobiomu, tj. Proteobacteria, Actinobacteria, Firmicutes, Bacteroidetes i Fusobacteria (tab. 2). Nie dziwi fakt, że u psów wykazano dużą zmienność jakościową mikrobioty, a większość zidentyfikowanych mikroorganizmów stanowiły komensale środowiskowe.

W przeciwieństwie do ludzi, skóra u psów i innych zwierząt jest w większości pokryta włosami. Konsekwencją różnic anatomicznych jest odmienne zlokalizowanie głównych typów gruczołów. Gruczoły apokrynowe są rozmieszczone u zwierząt na całym ciele, podczas gdy gruczoły ekrynowe, wytwarzające pot, znajdują się tylko na stopach. Dodatkowo zwierzęta mają też bardziej równomiernie rozmieszczone gruczoły łojowe. Biorąc pod uwagę wszystkie te fizjologiczne różnice, podział skóry psów na mikrośrodowisko suche, wilgotne i łojowe nie jest tak naprawdę wykonalny. W badaniu obejmującym 12 psów zbadano różnice w mikrobiocie między skórą

w różnych rejonach ciała u zwierząt i stwierdzono, że powierzchnie błon śluzowych, tj. spojówek, warg i nozdrzy, wykazywały mniejsze zróżnicowanie mikrobiomu w porównaniu z miejscami skóry owłosionej, np. pach, pachwin, grzbietu i małżowin usznych (20). Z miejsc skóry owłosionej na grzbietowej stronie nosa u psów odnotowano największe zróżnicowanie mikrobiomu. Odkrycie to było bardzo ciekawe i wpisujące się w behavior psów, które za pomocą nosa rozpoznają różnorakie przedmioty i powierzchnie. Ich nozdrza były skolonizowane głównie przez bakterie z rodzaju *Moraxella*. Ponadto w badaniach tych stwierdzono znaczącą zmienność międzyosobniczą mikrobiomów skóry w różnych rejonach ciała psów. Podobnie jak u ludzi, niektóre regiony skóry wykazywały większe podobieństwo mikrobioty u różnych osobników, a niektóre były mocno zróżnicowane. Określono również tzw. wspólną mikrobiotę, co jest kolejną cechą tożsamą z mikrobiomem skóry u ludzi. Psy zamieszkujące to samo gospodarstwo domowe miały podobną mikrobiotę (19). Interesujące jest, że pomimo zróżnicowanego składu mikrobiomu w różnych regionach ciała, przewidywane profile metaboliczne wytwarzane przez te drobnoustroje były podobne (29). Cecha ta została również wcześniej wykazana u ludzi (13).

Na podstawie wstępnych badań opisujących mikrobiotę skóry u 11 zdrowych kotów wskazano, że mikrobiota skóry kotów jest bardziej zróżnicowana niż u psów, a najczęściej identyfikowane typy bakterii to Proteobacteria, Bacteroidetes, Firmicutes i Actinobacteria (30). Co ciekawe, na skórze kotów w różnych miejscach ciała występowały liczniejsze niż u psów bakterie typu Bacteroidetes, a głównymi rodzajami były Porphyromonadaceae i Paraprevotellaceae. Bakterie te stanowią najczęściej występujące drobnoustroje w jamie ustnej, co prawdopodobnie jest odzwierciedleniem nawyków pielęgnacyjnych kotów.

Tabela 2. Różnorodność i skład mikrobioty bakteryjnej w różnych lokalizacjach na skórze u ludzi i zwierząt

Gatunek	Miejsca na skórze i fizjologia	Skład gatunkowy	Piśmiennictwo
Człowiek	miejsca suche	Równomiernie rozmieszczone mikroorganizmy z czterech głównych typów: Actinobacteria, Firmicutes, Proteobacteria i Bacteroidetes.	(38)
	miejsca wilgotne	Skolonizowane głównie przez <i>Staphylococcus</i> spp. i <i>Corynebacterium</i> spp.	
	miejsca z gruczołami łojowymi	Skolonizowane głównie przez <i>Propionibacterium</i> spp.	
Pies	powierzchnie śluzówki/ połączenia śluzówkowo-skórne	Proteobacteria, Firmicutes, Actinobacteria i Bacteroidetes. <i>Moraxella</i> spp. przeważają w nozdrzu, Proteobacteria i Bacteroidetes dominują w okolicach pyska.	(20, 29)
	skóra owłosiona	Najliczniejsze typy to Proteobacteria, a następnie Firmicutes, Actinobacteria i Bacteroidetes.	
Kot	jama nosowa	Liczne bakterie z typów Proteobacteria, Bacteroidetes i Actinobacteria. Wysoka liczebność bakterii występujących w jamie nosowej w porównaniu z innymi gatunkami zwierząt.	(30)
Bydło	skóra międzypalcowa	Firmicutes, Spirochaetae, Bacteroidetes i Actinobacteria. Wysokie liczebności <i>Treponema</i> sp., występujące również u zdrowych zwierząt.	(23–25)
Owce	skóra międzypalcowa	Actinobacteria, Bacteroidetes, Firmicutes i Proteobacteria. <i>Dichelobacter nodosus</i> występujący również na zdrowej skórze.	(26)
Świnie	nozdrza	Proteobacteria, w większości próbek dominują bakterie z rodzaju <i>Moraxella</i> .	(35)
	małżowina uszna	Firmicutes, z najliczniejszymi bakteriami z rodzaju <i>Streptococcus</i> i <i>Lactobacillus</i> .	
Płazy	skóra grzbietowa i brzuszna	Proteobacteria, Bacteroidetes, Firmicutes i Sphingobacteria.	(27, 28)

W badaniach ostatnich lat scharakteryzowano również mikrobiotę grzybową, tj. mykobiotę skóry w różnych miejscach ciała, na podstawie badań wykonanych u 10 zdrowych psów (tab. 3; 31). Mykobiota okazała się bardzo zróżnicowana i, podobnie jak mikrobiota bakteryjna, o większym stopniu różnorodności grzybów niż identyfikowane na ludzkiej skórze. Mykobiota psów była stosunkowo wysoce podobna u tego samego osobnika niezależnie od lokalizacji na ciele. Natomiast duże zróżnicowanie odnotowano u różnych psów w tych samych lokalizacjach. Na podstawie badań NGS określono, że skóra psów była skolonizowana głównie przez grzyby z gromady Ascomycota i Basidiomycota. W obrębie gromady Ascomycota, rodzaje *Alternaria*, *Cladosporium* i *Epicoccum* były najliczniej reprezentowane. Chociaż drożdżaki z rodzaju *Malassezia* są jednymi z najczęstszych rodzajów grzybów notowanych na skórze psów, w populacji badanych psów stwierdzono ogólnie niską ich liczebność. Jedynie u kilku psów w okolicach ciała związanych z większym wydzielaniem łoju zidentyfikowano grzyby *Malassezia* spp. Natomiast mykobiotę kotów oceniono na podstawie badań wykonanych na 11 zdrowych kotach. Stwierdzono, że populacje grzybów również były bardzo zróżnicowane i reprezentowane głównie przez grzyby gromady Ascomycota, w tym z rodzajów *Cladosporium* i *Alternaria*. Mniejszy udział w mykobiocie miały grzyby z gromady Basidiomycota (32).

Generalnie grzyby występujące na skórze u zwierząt towarzyszących należą do mikroorganizmów kosmopolitycznych, prawdopodobnie w większości pochodzących ze środowiska naturalnego. Przyszłe badania powinny objąć większą liczbę zwierząt i zostać ukierunkowane na zbadanie, czy kolonizacja skóry przez te grzyby jest jedynie przejściowa, czy też utrzymuje się na podobnym poziomie w różnych okresach życia. Niezależnie od wyników tych badań, w obu przypadkach obecność grzybów na skórze zwierząt towarzyszących może mieć wpływ na transmisję i uczulenie ludzi już w okresie dziecięcym, co może wyjaśniać powiązanie przypadków alergii z hodowlą zwierząt w mieszkaniach (33, 34).

### Zwierzęta hodowlane

W mniejszej liczbie badań opisano mikrobiom skóry u dużych zwierząt (24, 25, 35). U przeżuwaczy najwięcej uwagi poświęcono opisowi mikrobiomu

przeźreni międzypalcowych ze względu na częste występowanie zapalenia skóry w tych miejscach (24, 25, 35). Rejony te prezentowały bardzo zróżnicowane populacje drobnoustrojów, a dominującymi typami bakterii były Firmicutes, Spirochaetae, Bacteroidetes i Actinobacteria. Natomiast w przestrzeniach międzypalcowych u owiec występowały populacje mikroorganizmów z typów Actinobacteria, Bacteroidetes, Firmicutes i Proteobacteria, a szczególnie licznie reprezentowane były bakterie z rodzaju *Peptostreptococcus* (26). Co więcej, na zdrowej skórze owiec występował gatunek *Dichelobacter nodosus*, będący częstą przyczyną zgnilizny racic oraz zapalenia skóry międzypalcowej. Badania te były jednak utrudnione metodycznie ze względu na problemy z analizą opartą na sekwencji genu 16S rRNA i konieczność zastosowania PCR w czasie rzeczywistym (26).

Mikrobiota skóry w okolicach ucha i nozdrzy została opisana również u świń (21, 36). Stwierdzono, że prosięta miały większą różnorodność mikrobioty uszu w porównaniu ze świniami w wieku 21 tygodni (21, 37). Najczęstszymi rodzajami bakterii kolonizującymi uszy były *Streptococcus* i *Lactobacillus*. W jamie nosowej dominującym typem były proteobakterie, przy czym rodzaj *Moraxella* stanowił ponad 1/3 wszystkich uzyskanych w NGS sekwencji (32). Zróżnicowanie gatunkowe populacji mikroorganizmów nosa było wyższe u świń z konwencjonalnych ferm, na których nie stosowano antybiotyków niż u świń z ferm, gdzie podawano rutynowo paszę z tylozyną. Nie zaobserwowano natomiast różnic między nosicielstwem gronkowca złocistego opornego na metycylinę (MRSA, ang. methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*).

### Zwierzęta egzotyczne

W przypadku zwierząt egzotycznych badania mikrobioty skóry z zastosowaniem NGS dotyczyły płazów (27, 28). Do najczęstszych filotypów kolonizujących ich skórę należały Bacteroidetes, Proteobacteria, Firmicutes i Sphingobacteria (tab. 2). W jednym z badań wykazano, że różne gatunki płazów były silnymi predyktorami składu zbiorowisk drobnoustrojów terenów podmokłych (28). Co więcej, w innym badaniu udokumentowano, że dzikie ropuchy miały większe bogactwo i różnorodność bakterii mikrobiomu skóry niż ropuchy żyjące w niewoli (27).

Tabela 3. Różnorodność i skład mykobioty grzybowej na skórze u ludzi i zwierząt towarzyszących

Gatunek	Mikrośrodowisko	Skład mykobioty	Piśmiennictwo
Człowiek	większa powierzchnia ciała	Składa się głównie z drożdżaków <i>Malassezia</i> spp.	(10)
	stopy	Bardziej zróżnicowana i złożona z drożdżaków <i>Malassezia</i> spp., a w następnej kolejności z grzybów klasyfikowanych w rodzajach <i>Aspergillus</i> , <i>Cryptococcus</i> , <i>Rhodotorula</i> i <i>Epicoccum</i> .	
Pies	powierzchnie śluzówki/połączenia śluzówkowo-skórne	Złożony głównie z grzybów środowiskowych z gromady Ascomycota, w tym dominujące rodzaje to <i>Alternaria</i> , <i>Cladosporium</i> i <i>Epicoccum</i> , z mniejszą liczebnością grzybów z gromady Basidiomycota oraz rodzajów <i>Cryptococcus</i> i <i>Malassezia</i> .	(31)
Kot	bez zróżnicowania lokalizacji	Złożony głównie z grzybów środowiskowych z gromady Ascomycota, w tym rodzaje <i>Cladosporium</i> , <i>Alternaria</i> i <i>Epicoccum</i> , z mniejszą liczebnością grzybów z gromady Basidiomycota i rodzaju <i>Cryptococcus</i> .	(32)

W badaniu przeprowadzonym w Australii oceniono mikrobiotę skóry, jamy ustnej i kałową diałbła tasmańskiego (*Sarcophilus harrisii*) i stwierdzono, że mikroflora kałowa była bardziej zróżnicowana w porównaniu ze skórną i występującą w jamie ustnej. Ich skóra była kolonizowana głównie przez bakterie z typu Firmicutes, a następnie przez typ Proteobacteria (38).

### Dysbiozy związane ze stanami zapalnymi skóry

W kontekście oceny korelacji zaburzeń jakościowych i ilościowych mikrobiomów z występowaniem chorób najczęściej uwagi poświęcono analizie stanów zapalnych przewodu pokarmowego. Współcześnie istnieją dane potwierdzające, że mikrobiom przewodu pokarmowego jest współodpowiedzialny za rozwój niektórych nieżytów żołądkowo-jelitowych u ludzi i zwierząt. Badania oceniające mikrobiom skóry w stanach zapalnych skóry są ograniczone i raczej opisowe. Stąd nadal nie jest jasne, czy dysbiozy drobnoustrojów zasiedlających skórę są przyczyną czy skutkiem stanów zapalnych. Pomimo niewielkiej liczby opublikowanych dotychczas badań przyjmuje się, że ekspozycja na różnorodny mikrobiom skóry jest kluczowym elementem regulacji jej odporności. Dysbioza skórna, którą definiuje się jako brak równowagi w składzie populacji drobnoustrojów, może być zatem związana z chorobami zapalnymi skóry ludzi i zwierząt (tab. 4; 2, 39, 40, 41, 42).

### Atopowe zapalenie skóry i alergiczne choroby skóry u zwierząt towarzyszących

Podobnie jak u ludzi, u psów może rozwijać się atopowe zapalenie skóry (AD, atopie dermatitis) objawiające się przewlekłymi zmianami skórnymi, w szczególności rumieniowymi plamami z intensywnym świądem, w okolicach głównie pyska, pachwin i łap (43). Choroba ta charakteryzuje się reakcją nadwrażliwości z produkcją przeciwciał IgE przeciwko alergenom środowiskowym, takim jak roztocza kurzu domowego, pyłki i pleśnie. Czasami psy mogą również

rozwinąć nadwrażliwość na drobnoustroje, m.in. *Staphylococcus pseudintermedius* lub *Malassezia pachydermatis* (44). Zmiany skórne mogą być nawet zaostrome przez towarzyszące infekcje bakteryjne lub grzybicze (najczęściej zakażenie *S. pseudintermedius*), które powodują powstawanie grudek, krost i strupów (45). We wstępnym badaniu obejmującym sześć psów alergicznych/atopowych, podczas remisji zmian skórnych oceniono mikrobiotę skóry tych psów i porównano ją z mikrobiotą występującą u zdrowych psów (20, 29). Psy alergiczne miały mniejszą różnorodność mikrobioty skóry i były skolonizowane odmiennymi gatunkami bakterii niż zdrowe psy. Natomiast badanie obejmujące 14 psów wykazało, że na skórze psów z AD była zwiększona liczebność bakterii *S. pseudintermedius*, szczególnie podczas rozwoju zmian skórnych, co w konsekwencji skutkowało zmniejszoną całkowitą różnorodnością mikrobioty (46). Podobną zależność opisano wcześniej u ludzi. Różnorodność bakterii była pozytywnie skorelowana również z przeznaskórkową utratą wody i zmianami pH. Po zastosowaniu leczenia remisja zmian była związana ze wzrostem różnorodności drobnoustrojów i przywróceniem niższego odsetka bakterii *Staphylococcus* spp. w mikrobiocie.

Mikrobiota skóry była również oceniana w psim modelu AD przy użyciu prowokacji z zastosowaniem roztoczy kurzu domowego (HDM, house dust mites). To badanie eksperymentalne obejmowało osiem psów, u których stwierdzono nadwrażliwość na HDM i po celowanej prowokacji w prawym obszarze pachwinowym rozwinęły się u nich ogniskowe zmiany skórne. Próbkę pobierano przed i po prowokacji z dotkniętych zmianami lokalizacji, a także z przeciwnych obszarów. Nie zaobserwowano żadnych zmian w ilości lub różnorodności mikrobioty skóry u tych psów. Jedyne obserwowalne zmiany obejmowały zwiększenie udziału niektórych filotypów bakterii podczas rozwoju i po remisji zmian skórnych. Obejmowały one głównie wzrost liczebności bakterii z rodziny Corynebacteriaceae wkrótce po wystąpieniu zmian skórnych. Natomiast proporcje drobnoustrojów z rodziny Staphylococcaceae (głównie

**Tabela 4.** Różnorodność i skład mikrobioty bakteryjnej i grzybiczej w częstych zapalnych chorobach skóry u zwierząt

Gatunek	Choroba	Skład mikrobioty bakteryjnej	Skład mykobioty	Piśmiennictwo
Psy	atopowe zapalenie skóry (AD)	Zmiany skórne z wysokim udziałem <i>Staphylococcus aureus</i> .	zróżnicowane proporcje grzybów w przebiegu AD w porównaniu ze zdrowymi psami	(29, 31, 46)
Koty	alergie skórne	Zmiana proporcji na rzecz większego udziału grzybów w biocie u kota alergicznego niż u zdrowego.	zwiększony udział Agaricomycetes i Sordariomycetes, mniejsze proporcje <i>Epicoccum</i> w porównaniu do zdrowych	(30)
Bydło	brodawczakowate zapalenie skóry (DD)	Zwiększone proporcje Spirochaetes, Bacteroidetes i Proteobacteria w DD. <i>Treponema</i> spp. <i>Fusobacterium necrophorum</i> przeważają, zwłaszcza w głębszych zmianach.	brak danych	(24, 25, 35, 48)
Owce	zgnilizna racic (zanokcica)	Zwiększone proporcje <i>Corynebacterium</i> spp. i <i>Staphylococcus</i> spp. w stanie chorobowym. Wysoka liczebność <i>Dichelobacter nodosus</i> .	brak danych	(26, 51)
Płazy	chytridiomykoza	Wysokie zróżnicowanie. Zakażenie <i>Batrachochytrium dendrobatidis</i> powoduje istotne zmiany w różnorodności mikrobioty.	brak danych	(27, 52)

gatunku *S. pseudintermedius*), potwierdzone metodą PCR w czasie rzeczywistym, były znacznie wyższe w uszkodzonej skórze przez ponad dwa tygodnie po ustąpieniu zmian (47). Te wstępne badania opisane powyżej wskazują, że dysbioza drobnoustrojów związana ze wzrostem przede wszystkim udziału *S. pseudintermedius* w mikrobiocie skóry może mieć istotny związek z występowaniem AD u psów. W tej kwestii potrzebne są dodatkowe, szersze badania.

Dysbioza drobnoustrojów w psim AD występuje nie tylko w kontekście mikrobioty bakteryjnej, ale także mykobioty. Badanie obejmujące populację ośmiu psów alergicznych/atopowych wykazało, że ich skóra miała mniejszą różnorodność grzybów (31, 32). Różni się to od podobnych przypadków choroby u ludzi, w których przebiegu notuje się zwiększoną różnorodność grzybów (39). Oceniono również mykobiotę u kotów z alergicznym zapaleniem skóry i stwierdzono, że alergiczne koty miały dysbiozę skóry ale nie było tak istotnego zróżnicowania populacji mikroorganizmów między kotami alergicznymi i zdrowymi jakiego występuje u psów (31, 32, 47). Postawiono hipotezę, że stan chorobowy u psów jest związany ze zmianami mykobioty skóry, doprowadzającymi do zmniejszenia różnorodności grzybów i umożliwienia niektórym populacjom dominację w zmianach skórnych. Ponadto skóra psów atopowych ma zasadniczo zmienioną barierę, np. spowodowaną mutacjami fillagryny, podczas gdy podobne zmiany w barierach skórnych nie zostały opisane lub potwierdzone u kotów alergicznych, co może wyjaśniać, dlaczego nie zaobserwowano żadnych zmian w różnorodności mykobioty w alergicznej chorobie skóry kotów (32).

### Choroby racic u przeżuwaczy

Znaczna część przypadków kulawizny obserwowanych u bydła jest spowodowana zmianami skórnymi obejmującymi palce i prowadzącymi do zapalenia skóry (DD, digital dermatitis). DD występuje najczęściej u bydła mlecznego, rzadziej notowane jest u bydła mięsnego. DD jest chorobą wywołaną przez wiele drobnoustrojów, a do najpowszechniejszych bakterii związanych z tą chorobą należą *Treponema* spp. (48). Badania mikrobiomu bakteryjnego w oparciu o analizę sekwencji genu 16S rRNA ujawniły, że zmiany chorobowe charakteryzują się wysoką różnorodnością mikrobiologiczną. Bakterie z typu Firmicutes dominują w zmianach powierzchniowych i pośrednich, podczas gdy drobnoustroje z rodzaju *Treponema* notuje się w głębszych warstwach (35). Inne badania oparte na analizie sekwencji genu 16S rRNA i fluorescencyjnej hybrydyzacji *in situ* (FISH) wykazało, że ok. 50% uzyskanych sekwencji odpowiadało *Treponema* spp., 25% należało do *Fusobacterium necrophorum*, a pozostały odsetek stanowiły inne gatunki bakterii (49).

W badaniu metagenomicznym z użyciem sekwencjonowania typu shotgun stwierdzono, że bydło z DD miało na skórze racic zwiększoną liczebność bakterii z typów Spirochaetes, Bacteroidetes i Proteobacteria, w przeciwieństwie do mikrobiomu

u osobników zdrowych, u których notowano głównie bakterie z typu Firmicutes i Actinobacteria (24, 25). *Treponema denticola* i *T. vincentii* były dominującymi gatunkami bakterii zidentyfikowanymi zarówno w aktywnej, jak i nieaktywnej DD. W badaniu metagenomicznym materiału z racic bydła z DD stwierdzono większą liczebność genów związanych z opornością na miedź i cynk, a więc mikroelementów obecne w preparatach do kąpieli racic w celu zapobiegania DD. Wykryto ponadto geny związane z opornością na wiele antybiotyków. W innym badaniu wykazano, że odmienne filotypy *Treponema* kolonizowały skórę palców w aktywnych (wrzodzących) zmianach chorobowych, a inne w zmianach gojących się (24). Zaproponowano, że jelita mogą być ważnym rezerwuarem dla tych gatunków *Treponema*, ponieważ mikroorganizmy te były powszechnie spotykane w mikrobiomach żwacza i kale. Niestety hipotezy tej nie udało się potwierdzić na podstawie szerszej analizy porównawczej drobnoustrojów uzyskanych z jelit i kopyt chorego bydła (48, 50). Badania te wykazały jednak, że DD bydła jest chorobą wywołaną przez wiele drobnoustrojów, co czyni ten model doskonałym do badania roli mikrobiomu w tych zakażeniach.

Innym przykładem choroby wywołanej przez więcej niż jeden gatunek bakterii jest zgnilizna racic owiec i kóz. Czynnikiem etiologicznym tej choroby są bakterie *Dichelobacter nodosus* i *Fusobacterium necrophorum* (51). Z tą chorobą, w oparciu o badanie genu 16S rRNA, powiązано także kilka innych taksonów bakterii (26). Wykazano, że różnorodność drobnoustrojów jest większa w tkankach owiec z międzypalcowym zapaleniem skóry, pierwszym klinicznym objawem zmian w obrębie racic, niż w zdrowych obszarach międzypalcowych lub w tych z przewlekłą postacią choroby. Ta przewlekła postać znana jest jako zjadliwa zgnilizna racic (zanokcica) i powoduje oddzielenie rogu kopyta od wrażliwej tkanki. Badanie wykazało, że bakterie z rodzaju *Corynebacterium* były powiązane z zapaleniem międzypalcowym skóry, a z rodzaju *Staphylococcus* ze zgnilizną racic. Dodatkowo, specyficzny test PCR w czasie rzeczywistym dla *D. nodosus* wykazał, że owce z międzypalcowym zapaleniem skóry miały znacznie wyższą liczebność *D. nodosus* niż owce ze zdrowymi palcami lub zgnilizną racic (32).

### Zakażenia skóry u płazów

Grzyb *Batrachochytrium dendrobatidis* był intensywnie badany ze względu na powodowane poważne zakażenia skórne o wysokiej śmiertelności u płazów, np. u żab śmiertelność sięgała 100%. Budziło to poważne obawy, zwłaszcza w kontekście zagrożonych gatunków płazów. W kilku badaniach naukowych określono interakcje między tym grzybem a mikrobiotą skóry (27, 52). Wykazano, że zakażenie *B. dendrobatidis* powoduje istotne zmiany w różnorodności mikrobioty bakteryjnej skóry płazów (52). Wydaje się prawdopodobne, że dysbioza w mikrobiocie skóry wywołana przez *B. dendrobatidis* ma wpływ na rozwój choroby.

## Podsumowanie

Opisane powyżej badania stanowią przykłady potwierdzające hipotezę, że mikrobiom skóry ludzi i zwierząt odgrywa znaczącą rolę w utrzymaniu jej zdrowia. Mikrobiom skóry jest bardzo zróżnicowany, zarówno między osobnikami, jak również między różnymi lokalizacjami na ciele. Ponadto badania wykazały, że brak równowagi w populacjach drobnoustrojów może przyczynić się do rozwoju lub nasilić ciężkość chorobowych zmian skórnych. Co więcej, ostatnie badania wykazały, że interakcje między mikrobiomem skóry a układem odpornościowym mogą utrzymać skórę w zdrowiu, zapewniając odpowiednią barierę dla patogenów (6, 53). Mikrobiom jest z pewnością ekscytującym obszarem badań naukowych i wciąż pozostaje wiele do zrobienia w dziedzinie jego poznania. Potrzebne są dodatkowe badania obejmujące większą liczbę zwierząt zdrowych i w przebiegu różnych chorób skóry. Przyszłe kierunki analiz powinny zostać skoncentrowane na funkcjonalnych aspektach mikrobioty, w tym na ocenie metabolomiki, transkryptomiki i proteomiki. Istnieje potrzeba lepszego zrozumienia relacji między drobnoustrojami a układem odpornościowym gospodarza oraz określenia, czy i jak mikrobiom może powodować zmiany skórne lub zmieniać ich nasilenie. Ponadto badania nad nowymi lekami wykorzystywanymi w chorobach skóry powinny obejmować ocenę mikrobiomu jako dodatkowego źródła monitorowania wyników leczenia. Można przewidywać, że w przyszłości badania z wykorzystaniem NGS w analizach mikrobiomu mogą być implementowane jako pomoc w opracowywaniu testów diagnostycznych w kierunku zakażeń skóry i identyfikacji nowych patogenów. Jest również wysoce prawdopodobne, że rozumiejąc te mechanizmy i wraz z rozwojem technologii w biologii będziemy w stanie modulować mikrobiom na korzyść jego gospodarza.

## Piśmiennictwo

- Ursell L.K., Clemente J.C., Rideout J.R., Gevers D., Caporaso J.G., Knight R.: The interpersonal and intrapersonal diversity of human-associated microbiota in key body sites. *J. Allergy Clin. Immunol.* 2012, 129, 1204–1208.
- Ruff W.E., Kriegl M.A.: Autoimmune host–microbiota interactions at barrier sites and beyond. *Trends Mol. Med.* 2015, 21, 233–244.
- Gill S.R., Pop M., DeBoy R.T., Eckburg P.B., Turnbaugh P.J., Samuel B.S., Gordon J.I., Relman D.A., Fraser-Liggett C.M., Nelson K.E.: Metagenomic Analysis of the Human Distal Gut Microbiome. *Science* (80–). 2006, 312, 1355–1359.
- Abt M.C., Artis D.: The dynamic influence of commensal bacteria on the immune response to pathogens. *Curr. Opin. Microbiol.* 2013, 16, 4–9.
- Hamady M., Knight R.: Microbial community profiling for human microbiome projects: Tools, techniques, and challenges. *Genome Res.* 2009, 19, 1141–1152.
- Underhill D.M., Iliev I.D.: The mycobiota: interactions between commensal fungi and the host immune system. *Nat Rev Immunol.* 2014, 14, 405–416.
- Lederberg J.: Infectious History. *Science* (80–). 2000, 288, 287–293.
- Marchesi J.R., Ravel J.: The vocabulary of microbiome research: a proposal. *Microbiome.* 2015, 3, 31.
- Ranjan R., Rani A., Metwally A., McGee H.S., Perkins D.L.: Analysis of the microbiome: Advantages of whole genome shotgun versus 16S amplicon sequencing. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2016, 469, 967–977.
- Oh J., Byrd A.L., Deming C., Conlan S., Kong H.H., Segre J.A.: Biogeography and individuality shape function in the human skin metagenome. *Nature.* 2014, 514, 59–64.
- Caporaso J.G., Kuczynski J., Stombaugh J., Bittinger K., Bushman F.D., Costello E.K., Fierer N., Peña A.G., Goodrich J.K., Gordon J.I., Huttley G.A., Kelley S.T., Knights D., Koenig J.E., Ley R.E., Lozupone C.A., McDonald D., Muegge B.D., Pirrung M., Reeder J., Sevinsky J.R., Turnbaugh P.J., Walters W.A., Widmann J., Yatsunenkov T., Zaneveld J., Knight R.: QIIME allows analysis of high-throughput community sequencing data. *Nat. Methods.* 2010, 7, 335–336.
- Savage D.C.: MICROBIAL ECOLOGY OF THE GASTROINTESTINAL TRACT. *Annu. Rev. Microbiol.* 1977, 31, 107–133.
- Nash A.K., Auchtung T.A., Wong M.C., Smith D.P., Gesell J.R., Ross M.C., Stewart C.J., Metcalf G.A., Muzny D.M., Gibbs R.A., Ajami N.J., Petrosino J.F.: The gut mycobiome of the Human Microbiome Project healthy cohort. *Microbiome.* 2017, 5, 153.
- Mac Aogáin M., Chaturvedi V., Chotirmall S.H.: MycopathologiaGENOMES: The New “Home” for the Publication of Fungal Genomes. *Mycopathologia.* 2019, 184, 551–554.
- Li Q., Wang C., Tang C., He Q., Li N., Li J.: Dysbiosis of gut fungal microbiota is associated with mucosal inflammation in crohn's disease. *J. Clin. Gastroenterol.* 2014, 48, 513–523.
- Cangelosi G.A., Meschke J.S.: Dead or Alive: Molecular Assessment of Microbial Viability. Drake HL, ed. *Appl. Environ. Microbiol.* 2014, 80, 5884–5891.
- Costello E.K., Lauber C.L., Hamady M., Fierer N., Gordon J.I., Knight R.: Bacterial Community Variation in Human Body Habitats Across Space and Time. *Science* (80–). 2009, 326, 1694–1697.
- Meisel J.S., Hannigan G.D., Tyldsley A.S., SanMiguel A.J., Hodkinson B.P., Zheng Q., Grice E.A.: Skin Microbiome Surveys Are Strongly Influenced by Experimental Design. *J. Invest. Dermatol.* 2016, 136, 947–956.
- Se Jin Song, Lauber C., Costello E.K., Lozupone C.A., Humphrey G., Berg-Lyons D., Caporaso J.G., Knights D.J.C.C.: Cohabiting family members share microbiota with one another and with their dogs. *Elife.* 2013, 2, e00458.
- Hoffmann R.A., Patterson A.P., Diesel A., Lawhon S.D., Ly H.J., Stephenson C.E., Mansell J., Steiner J.M., Dowd S.E., Olivry T., Suchodolski J.S.: The Skin Microbiome in Healthy and Allergic Dogs. Balczar JL, ed. *PLoS One.* 2014, 9, e83197.
- Weese J.S.: The canine and feline skin microbiome in health and disease. *Vet. Dermatol.* 2013, 24, 137–e31.
- Misic A.M., Davis M.F., Tyldsley A.S., Hodkinson B.P., Tolomeo P., Hu B., Nachamkin I., Lautenbach E., Morris D.O., Grice E.A.: The shared microbiota of humans and companion animals as evaluated from Staphylococcus carriage sites. *Microbiome.* 2015, 3, 2.
- Santos S.S., Pardo S., Proença D.N., Lopes R.J., Ramos J.A., Mendes L., Morais P.V.: Diversity of cloacal microbial community in migratory shorebirds that use the Tagus estuary as stopover habitat and their potential to harbor and disperse pathogenic microorganisms. *FEMS Microbiol. Ecol.* 2012, 82, 63–74.
- Zinicola M., Lima F., Lima S., Machado V., Gomez M., Döpfer D., Guard C., Bicalho R.: Altered Microbiomes in Bovine Digital Dermatitis Lesions, and the Gut as a Pathogen Reservoir. Guan LL, ed. *PLoS One.* 2015, 10, e0120504.
- Zinicola M., Higgins H., Lima S., Machado V., Guard C., Bicalho R.: Shotgun Metagenomic Sequencing Reveals Functional Genes and Microbiome Associated with Bovine Digital Dermatitis. Suchodolski J.S., ed. *PLoS One.* 2015, 10, e0133674.
- Calvo-Bado L.A., Oakley B.B., Dowd S.E., Green L.E., Medley G.F., Ul-Hassan A., Bateman V., Gaze W., Witcomb L., Grogono-Thomas R., Kaler J., Russell C.L., Wellington E.M.: Ovine pedemics: the first study of the ovine foot 16S rRNA-based microbiome. *ISME J.* 2011, 5, 1426–1437.
- Bataille A., Lee-Cruz L., Tripathi B., Kim H., Waldman B.: Microbiome Variation Across Amphibian Skin Regions: Implications for Chytridiomycosis Mitigation Efforts. *Microb. Ecol.* 2016, 71, 221–232.
- Kueneman J.G., Parfrey L.W., Woodhams D.C., Archer H.M., Knight R., McKenzie V.J.: The amphibian skin-associated microbiome across species, space and life history stages. *Mol. Ecol.* 2014, 23, 1238–1250.
- Rodrigues Hoffmann A.: The cutaneous ecosystem: the roles of the skin microbiome in health and its association with inflammatory skin conditions in humans and animals. *Vet. Dermatol.* 2017, 28, 60–e15.
- Older C.E., Diesel A., Patterson A.P., Meason-Smith C., Johnson T.J., Mansell J., Suchodolski J.S., Rodrigues Hoffmann A.: The feline skin microbiota: The bacteria inhabiting the skin of healthy and allergic cats. Viroille M-J, ed. *PLoS One.* 2017, 12, e0178555.
- Meason-Smith C., Edwards E.E., Older C.E., Branco M., Bryan L.K., Lawhon S.D., Suchodolski J.S., Gomez G., Mansell J., Hoffmann A.R.: Panfungal Polymerase Chain Reaction for Identification of Fungal Pathogens in Formalin-Fixed Animal Tissues. *Vet. Pathol.* 2017, 54, 640–648.
- Meason-Smith C., Diesel A., Patterson A.P., Older C.E., Johnson T.J., Mansell J.M., Suchodolski J.S., Rodrigues Hoffmann A.: Characterization of the cutaneous mycobiota in healthy and allergic cats using next generation sequencing. *Vet. Dermatol.* 2017, 28, 71–e17.

33. Łagowski D, Gnat S, Nowakiewicz A, Osińska M, Trościańczyk A, Zięba P.: In search of the source of dermatophytosis: Epidemiological analysis of Trichophyton verrucosum infection in llamas and the breeder (case report). *Zoonoses Public Health*. 2019, **66**, 982–989.
34. Gnat S, Łagowski D, Nowakiewicz A, Dyląg M.: Tinea corporis caused by Trichophyton equinum transmitted from asymptomatic dogs to two siblings. *Brazilian J. Microbiol.* 2020, **51**, 1433–1438.
35. Santos T.M.A., Pereira R. V., Caixeta L.S., Guard C.L., Bicalho R.C.: Microbial diversity in bovine papillomatous digital dermatitis in Holstein dairy cows from upstate New York. *FEMS Microbiol. Ecol.* 2012, **79**, 518–529.
36. Swe P.M., Zakrzewski M., Kelly A., Krause L., Fischer K.: Scabies Mites Alter the Skin Microbiome and Promote Growth of Opportunistic Pathogens in a Porcine Model. *Ribeiro JMC*, ed. *PLoS Negl. Trop. Dis.* 2014, **8**, e2897.
37. Tal M., Weese J.S., Gomez D.E., Hesta M., Steiner J.M., Verbrugge A.: Bacterial fecal microbiota is only minimally affected by a standardized weight loss plan in obese cats. *BMC Vet. Res.* 2020, **16**, 112.
38. Cheng Y., Fox S., Pemberton D., Hogg C., Papenfuss A.T., Belov K.: The Tasmanian devil microbiome—implications for conservation and management. *Microbiome*. 2015, **3**, 76.
39. Kong H.H., Oh J., Deming C., Conlan S., Grice E.A., Beatson M.A., Nomicos E., Polley E.C., Komarow H.D., Murray P.R., Turner M.L., Segre J.A.: Temporal shifts in the skin microbiome associated with disease flares and treatment in children with atopic dermatitis. *Genome Res.* 2012, **22**, 850–859.
40. Takemoto A., Cho O., Morohoshi Y., Sugita T., Muto M.: Molecular characterization of the skin fungal microbiome in patients with psoriasis. *J. Dermatol.* 2015, **42**, 166–170.
41. Hata T.R., Gallo R.L.: Antimicrobial Peptides, Skin Infections, and Atopic Dermatitis. *Semin. Cutan. Med. Surg.* 2008, **27**, 144–150.
42. Sanford J.A., Gallo R.L.: Functions of the skin microbiota in health and disease. *Semin. Immunol.* 2013, **25**, 370–377.
43. Favrot C., Steffan J., Seewald W., Picco F.: A prospective study on the clinical features of chronic canine atopic dermatitis and its diagnosis. *Vet. Dermatol.* 2010, **21**, 23–31.
44. Olivry T.: What Can Dogs Bring to Atopic Dermatitis Research? 2012: 61–72.
45. Fazakerley J., Nuttall T., Sales D., Schmidt V., Carter S.D., Hart C.A., McEwan N.A.: Staphylococcal colonization of mucosal and lesional skin sites in atopic and healthy dogs. *Vet. Dermatol.* 2009, **20**, 179–184.
46. Bradley C.W., Morris D.O., Rankin S.C., Cain C.L., Misic A.M., Houser T., Mauldin E.A., Grice E.A.: Longitudinal Evaluation of the Skin Microbiome and Association with Microenvironment and Treatment in Canine Atopic Dermatitis. *J Invest Dermatol.* 2016, **136**, 1182–1190.
47. Pierezan F., Olivry T., Paps J.S., Lawhon S.D., Wu J., Steiner J.M., Suchodolski J.S., Rodrigues Hoffmann A.: The skin microbiome in allergen-induced canine atopic dermatitis. *Vet. Dermatol.* 2016, **27**, 332.
48. Wilson-Welder J., Alt D., Nally J.: Digital Dermatitis in Cattle: Current Bacterial and Immunological Findings. *Animals*. 2015, **5**, 1114–1135.
49. Klitgaard K., Boye M., Capion N., Jensen T.K.: Evidence of Multiple Treponema Phylotypes Involved in Bovine Digital Dermatitis as Shown by 16S rRNA Gene Analysis and Fluorescence In Situ Hybridization. *J. Clin. Microbiol.* 2008, **46**, 3012–3020.
50. Yan D., Issa N., Affi L., Jeon C., Chang H.W., Liao W.: The Role of the Skin and Gut Microbiome in Psoriatic Disease. *Curr. Dermatol. Rep.* 2017, **6**, 94–103.
51. Witcomb L.A., Green L.E., Kaler J., Ul-Hassan A., Calvo-Bado L.A., Medley G.F., Grogono-Thomas R., Wellington E.M.H.: A longitudinal study of the role of Dichelobacter nodosus and Fusobacterium necrophorum load in initiation and severity of footrot in sheep. *Prev. Vet. Med.* 2014, **115**, 48–55.
52. Jani A.J., Briggs C.J.: The pathogen Batrachochytrium dendrobatidis disturbs the frog skin microbiome during a natural epidemic and experimental infection. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 2014, **111**, E5049–E5058.
53. Scharschmidt T.C., Vasquez K.S., Truong H.-A., Gearty S. V., Pauli M.L., Nosbaum A., Gratz I.K., Otto M., Moon J.J., Liese J., Abbas A.K., Fischbach M.A., Rosenblum M.D.: A Wave of Regulatory T Cells into Neonatal Skin Mediates Tolerance to Commensal Microbes. *Immunity*. 2015, **43**, 1011–1021.

---

Dr hab. Sebastian Gnat prof. uczelni,  
e-mail: sebastian.gnat@up.lublin.pl