

УДК 616.5-002-056.43.2-078

ОСОБЕННОСТИ МИКРОБИОЦЕНОЗА КОЖИ И СЛИЗИСТЫХ ЛОР-ОРГАНОВ У БОЛЬНЫХ АТОПИЧЕСКИМ ДЕРМАТИТОМ**Стукова Е.И., Кохан М.М., Кениксфест Ю.В., Юровских Л.И.***ФГБУ «Уральский научно-исследовательский институт дерматовенерологии и иммунопатологии»
Минздрава России, Екатеринбург, e-mail: nauka-urnii@mail.ru*

У больных АД видовой состав микробиоты кожи изменяется в зависимости от стадии процесса (обострения или ремиссии). Целью исследования явилось изучение видового и количественного состава микрофлоры, выделяемой как с очагов пораженной кожи, так и с видимо здоровой кожи, потенциальных очагов носительства хронической инфекции (крупных складок, носоглотки) у больных АД в период обострения кожного процесса. Анализ результатов культурального исследования показал, что типичным представителем микробной колонизации кожи больных АД независимо от наличия бактериального осложнения является *S. aureus*, который при микробиологическом обследовании в подавляющем большинстве случаев выделяется в монокультуре с пораженной кожи (с очага вторичной инфекции) у 53,4–66,7%, с кожи складок у 53,4–70,0%, с клинически непораженной кожи у 40,0–48,0%, со слизистой носа у 46,6–58,3%. У больных с осложненным АД установлена прямая дозозависимая реакция плотности колонизации *S. aureus*, выделенного с кожи складок ($r_s = 0,256$, $p = 0,0488$), слизистой зева ($r_s = 0,265$, $p = 0,0411$) и слизистой носа ($r_s = 0,259$, $p = 0,0456$) и утяжелении кожного процесса, оцениваемого по индексу SCORAD.

Ключевые слова: атопический дерматит, *Staphylococcus aureus*, микрофлора, осложненное течение

FEATURES MICROBIOCENOSIS SKIN AND MUCOUS MEMBRANES OF UPPER RESPIRATORY TRACT IN PATIENTS WITH ATOPIC DERMATITIS**Stukova E.I., Kokhan M.M., Keniksfest Y.V., Yurovskikh L.I.***Ural Research Institute of Dermatology, Venereology and Immunopathology, Ekaterinburg,
e-mail: nauka-urnii@mail.ru*

In patients with AD species composition of the microbiota of the skin varies depending on the stage of the process (exacerbation or remission). The aim of the research was to study the species and quantitative composition of the microflora released to the lesion of the skin, and with apparently healthy skin, potential sources of chronic carriers of infection (large folds, nose and throat) in patients with AD during the exacerbation of the skin process. Analysis of culture results showed that a typical representative of the microbial colonization of the skin of AD patients regardless of the presence of bacterial complications is *S. aureus*, which in the microbiological examination in most cases stands in monoculture with skin lesions (with a secondary focus of infection) in 53,4–66,7%, from the skin folds in 53,4–70,0%, with clinically unaffected skin of 40,0–48,0%, from the nasal mucosa in 46,6–58,3%. In patients with AD complicated a direct dose-dependent response colonization density *S. aureus*, allocated from the skin folds ($r_s = 0,256$, $p = 0,0488$), pharyngeal mucosa ($r_s = 0,265$, $p = 0,0411$) and nasal mucosa ($r_s = 0,259$, $p = 0,0456$) and the weighting of the skin, as measured by the index SCORAD.

Keywords: atopic dermatitis, *Staphylococcus aureus*, microflora, complicated course

Атопический дерматит (АД) – хроническое воспалительное заболевание кожи, которое поражает до 25 % детей и 1–3 % взрослых во всем мире и негативно отражается на качестве жизни пациентов [7]. Патогенез АД имеет мультифакториальную природу, включающую взаимодействие между генетической предрасположенностью, дисфункцией эпидермального барьера, нарушением врожденного и приобретенного иммунитета и влиянием факторов окружающей среды, что приводит к выраженному воспалению, интенсивному зуду, проникновению аллергенов и предрасполагает к развитию вторичных инфекций на коже, вызванных бактериальными, вирусными и грибковыми агентами [1,7].

Основными представителями нормальной микрофлоры на коже человека являются грамм-положительные бактерии, представленные *Staphylococcus* spp., микрококками и коринебактериями. Грамотри-

цательные бактерии рода *Acinetobacter* встречаются редко и могут присутствовать в области крупных складок [6]. Видовой и количественный состав микробиоты кожи меняется со временем и зависит от локализации, местной температуры, влажности [3]. У больных АД видовой состав микробиоты кожи меняется в зависимости от стадии процесса (обострения или ремиссии) [5]. Кроме того, у больных АД снижена продукция кератиноцитами, антимикробных пептидов – кателицидинов (LL-37) и β -дефензинов (HBD – 1, 2, 3), дермицидинов экзокринными потовыми железами, которые обладают противомикробной и иммуномодулирующей активностью, что способствует снижению резистентных свойств кожи к микробной колонизации [4]. Наиболее значимая роль в развитии обострений, поддержании и утяжелении кожного процесса отводится *S. aureus*, который обнаруживается у 93 % с пораженной и у 76 %

больных с непораженной кожей АД, а также способен колонизировать слизистую рото- и носоглотки [1, 2].

Целью исследования явилось изучение видового и количественного состава микрофлоры, выделяемой как с очагов пораженной кожи, так и с видимо здоровой кожи, потенциальных очагов носительства хронической инфекции (крупных складок, носоглотки) у больных АД в период обострения кожного процесса

Материалы и методы исследования

В клинике ФГБУ «Уральский научно-исследовательский институт дерматовенерологии и иммунопатологии» Минздрава России (г. Екатеринбург) проведено обследование 90 больных АД в возрасте от 13 до 49 лет (средний возраст 26 (20; 31) лет). Из них 51 (56,7%) – женского пола и 39 (43,3%) – мужского. Клинически пациенты были распределены на 2 группы: I группа (n = 60) – больные тяжелым АД, осложненным вторичной бактериальной инфекцией (индекс SCORAD 67,2 (12,2) балла) и II группа (n = 30) – больные тяжелым АД, клинически не имеющих признаков вторичной инфекции (индекс SCORAD 64,2 (10,9) балла). Обе группы были сопоставимы по полу, возрасту, длительности заболевания и тяжести кожного процесса ($p > 0,05$).

Для изучения видового состава микрофлоры кожи производилось микробиологическое исследование, включающее забор материала стерильным ватным тампоном с пораженной, клинически непораженной кожи, крупных складок, полости носа и слизистой зева. Первичный посев производился на плотные дифференциально-диагностические питательные среды с последующим инкубированием материала в течение 24 часов при температуре 37 °C. После инкубирования отбирали изолированные колонии с учетом их морфологических особенностей при росте на питательных средах. Количественный анализ, показывающий диагностическую значимость выросших колоний, выражали вlg КОЕ/мл от среднего количества микроорганизмов. Идентификацию выросших суточных культур проводили методом времяпролетной масс-спектрометрии по технологии MALDI-TOFMS (BioMérieux, VITEK MS, France). Подготовку материала перед идентификацией микроорганизмов проводили согласно инструкции производителя. Интерпретация полученных результатов проводилась с использованием базы данных VITEK MS.

Анализ полученных данных производился в программах Microsoft Excel 2007, MedCalc 15.2.2. Оценка характера распределения данных производилась с помощью критерия Шапиро-Уилка. Параметрические данные представлены в виде среднего и стандартного отклонения – M (SD), непараметрические данные в виде медианы и межквартильных интервалов – Me (LQ₂₅; UQ₇₅). При сравнении двух независимых групп, имеющих ненормальное распределение, использовался U-критерий Манна-Уитни. Анализ качественных данных проводился с помощью критерия χ^2 с поправкой Йейтса (при необходимости). Наличие связи между изучаемыми признаками и явлениями выборочных данных устанавливали с использованием коэффициентов ранговой корреляции Спирмена (r_s). Статистически значимыми различия данных

и корреляционных связей между признаками считали при $p < 0,05$.

Результаты исследования и их обсуждение

При анализе культурального исследования больных АД I группы с очага вторичной инфекции у 83,3% больных, складок – у 80,0% и с непораженной кожей – у 66,7% чаще выделялся *S. aureus*, при этом в подавляющем числе случаев он был выделен в монокультуре. Рост *S. aureus* в ассоциации с другими условно-патогенными (УП) микроорганизмами (*S. epidermidis*, *S. hominis*, *S. haemolyticus*) в исследуемых локализациях отмечался у 13,3% больных из очага вторичной инфекции, у 10,0% с кожи складок, и у 18,3% с непораженной кожей больных АД I группы. У одного больного наблюдался ассоциативный рост *S. aureus* и *S. pyogenes*. Рост другой УП флоры, представленный микроорганизмами семейств *Streptococcaceae* и *Micrococcaceae*, ассоциированных друг с другом или выделенных в монокультуре, чаще встречался у пациентов данной группы на непораженной коже (рис. 1).

Проведенный анализ культурального исследования больных АД II группы до лечения показал, что удельный вес *S. aureus* на пораженной коже составил 66,7%, на коже складок 60,0% был *S. aureus*, который в подавляющем большинстве также выделялся в монокультуре. На непораженной коже *S. aureus* встречался только в 43,3%. Другие представители УП флоры, входящие в состав нормобиоты кожи (*S. epidermidis*, *S. capitis*, *S. haemolyticus*, *C. aurimucosum*) выделялись в монокультуре или в ассоциации из 2 вышеперечисленных видов у 40,0% больных. Стоит отметить, что у 10,0–16,7% больных не было отмечено роста флоры (рис. 2).

Изучение видового микробного пейзажа слизистых ЛОР-органов у больных I группы показал, что частота выделения *S. aureus* в исследуемом материале как со слизистой зева, так и со слизистой носа составляла 75,0%. При этом со слизистой зева преобладал рост ассоциаций *S. aureus* с другой УП флорой (73,3%), представленной резидентными и транзитными видами (*Neisseriaspp.*, *alpha-hemolytic Streptococcus*, *R. mucilaginosa*, *C. albicans*), а со слизистой носа чаще выделялись монокультуры *S. aureus* (58,3%), и только в 20% случаев со слизистой носа он выделялся в ассоциации с другой УП флорой (*S. epidermidis*, *Serratiamarcescens*, *C. pseudodiphtheriticum*). Среди других УП микроорганизмов, полученных в иссле-

двоем материале со слизистой зева, наиболее встречаемыми были резидентные бактерии рода *Neisseria* и *alpha-hemolytic Streptococcus* (*S. viridians*, *S. salivarius* др.), которые, как правило, выделялись

в ассоциации друг с другом (20,0%). Со слизистой носа частота выделений монокультур других УП микроорганизмов, составила 18,3% (*S. epidermidis*), а в ассоциации 6,7% (рис. 3).

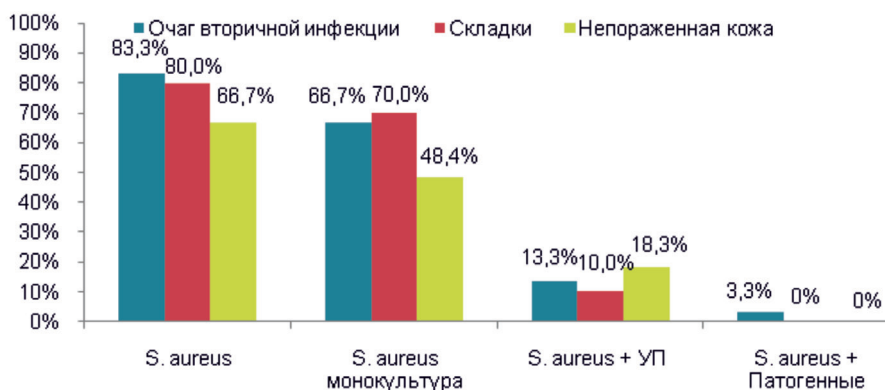


Рис. 1. Спектр выделенных микроорганизмов с кожи больных АД, осложненным вторичной инфекцией

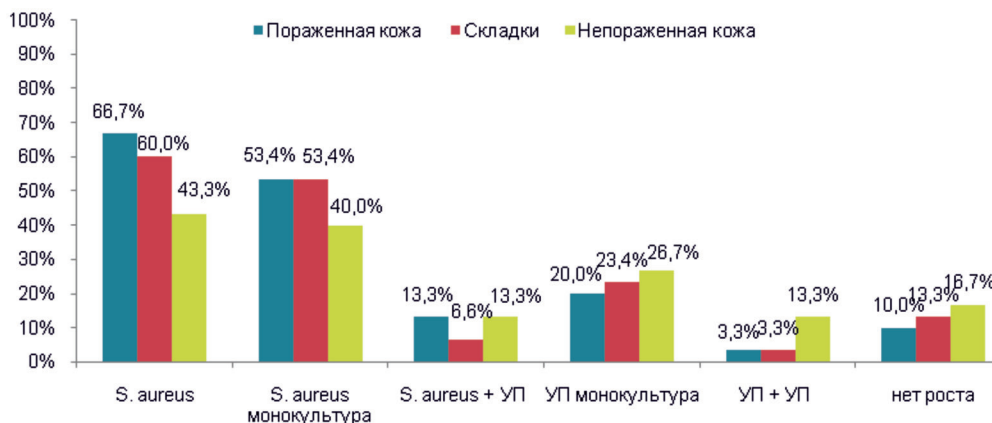


Рис. 2. Спектр выделенных микроорганизмов с кожи больных неосложненным АД

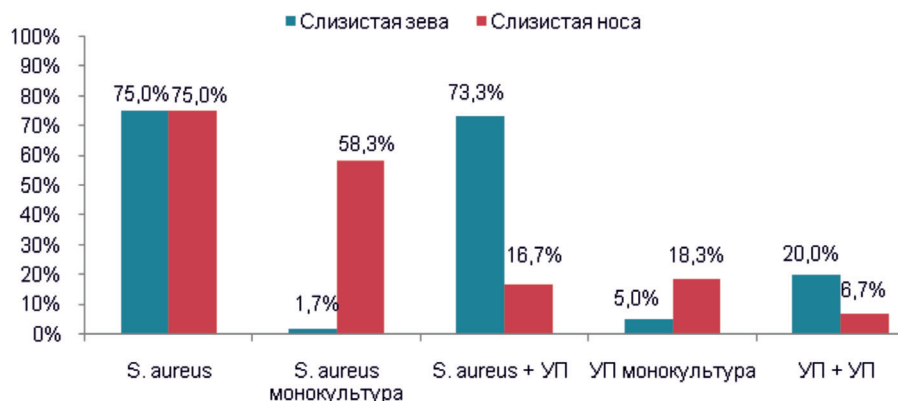


Рис. 3. Спектр выделенных микроорганизмов со слизистой ЛОР-органов больных АД, осложненным вторичной инфекцией

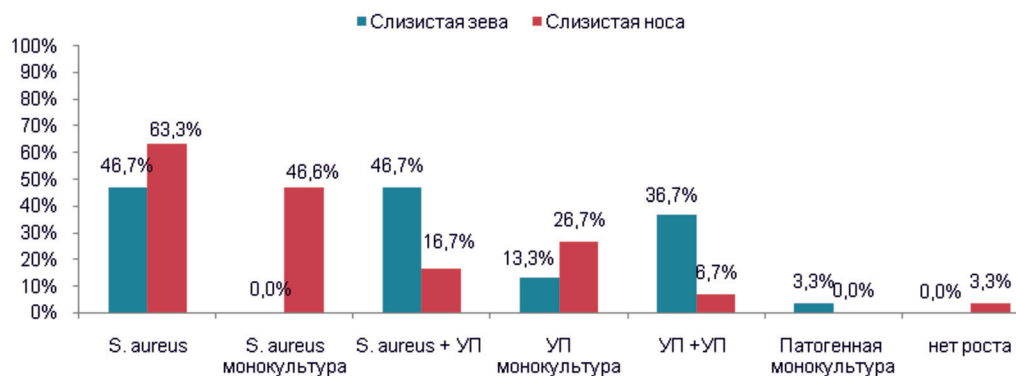


Рис. 4. Спектр выделенных микроорганизмов со слизистой ЛОР-органов больных неосложненным АД

В отличие от I группы больных во II исследуемой группе, в микробиологическом материале со слизистой зева преобладал рост резидентных и транзитных УП микроорганизмов (50,0%) – *Neisseriaspp.*, *alpha-hemolytic Streptococcus* (*Str. viridans*, *Str. salivarius* и др.), *S. epidermidis*, *H. haemolyticus*, *Acinetobacterspp.*, *H. alvei*, *C. albicans*, которые были выделены в ассоциации у 36,7% больных и в монокультуре у 13,3% больных. *S. Aureus* был высеян только у 43,3% больных, что в 1,6 раза меньше, чем у больных I группы ($p < 0,05$). У 1 (3,3%) пациента был отмечен рост патогенной флоры (*Histophylussomni*). Со слизистой полости носа у больных АД II группы частота выделения культур *S. aureus* составила 63,3%, причем у 46,6% больных он был выделен в монокультуре. Кроме того, со слизистой носа был выделен большой спектр других УП бактерий (*S. epidermidis*, *S. hominis*, *C. pseudodiphtheriticum*, *H. influenzae*, *K. pneumoniae*, *E. aerogenes*, *P. mirabilis*, *C. koseri*) среди которых чаще всего встречался *S. epidermidis* (в 30,0%). У 1 (3,3%) больного не был получен рост в исследуемом материале. Значимых различий в частоте выделения *S. aureus* и другой УП на слизистой носа между группами установлено не было (рис. 4).

При анализе видовой структуры выделенных микроорганизмов не было установлено значимых различий между группами в частоте выделения монокультур и ассоциаций, а также количестве выделенных изолятов. Отмечено, что удельный вес выделенных монокультур превалировал в очаге вторичной инфекции (в I группе), с пораженной кожи, а также со складок, непораженной кожи, а также со слизистой носа, тогда как при микробиологическом исследовании со слизистой зева наблюдалась противоположная картина,

отражающая преобладание ассоциаций из 3 и более видов.

При анализе степени обсемененности *S. Aureus* у больных АД, осложненным вторичной инфекцией, отмечено, что плотность колонизации *S. Aureus* в очаге вторичной инфекции (7 (4; 9) lg КОЕ/мл), на коже складок (9 (4; 9) lg КОЕ/мл) и слизистой полости носа (7 (4; 9) lg КОЕ/мл) была статистически значимо выше, чем на непораженной коже (4 (4; 6,5) lgКОЕ/мл, $p < 0,05$) и на слизистой зева (4 (4; 6,5) lg КОЕ/мл, $p < 0,05$). Несмотря на более высокие медианные показатели плотности колонизации в очаге вторичной инфекции) и кожи складок у больных АД, осложненным вторичной инфекцией, по сравнению с больными с неосложненным АД не было установлено значимых различий между группами ($p > 0,05$).

Установлено, что увеличение плотности колонизации на пораженной коже у пациентов обеих групп сопровождается увеличением степени колонизации *S. aureus* на коже складок ($r_s = 0,646$, $p < 0,0001$ для обеих групп), непораженной кожи ($r_s = 0,355$, $p = 0,054$ для обеих групп), слизистой носа ($r_s = 0,499$, $p < 0,0001$ для обеих групп), зева ($r_s = 0,384$, $p = 0,0024$ для обеих групп). У больных с осложненным АД установлена прямая дозозависимая реакция плотности колонизации *S. aureus*, выделенного с кожи складок ($r_s = 0,256$, $p = 0,0488$), слизистой зева ($r_s = 0,265$, $p = 0,0411$) и слизистой носа ($r_s = 0,259$, $p = 0,0456$) и утяжелении кожного процесса, оцениваемого по индексу SCORAD.

Таким образом, анализ результатов культурального исследования показал, что типичным представителем микробной колонизации кожи больных АД независимо от наличия бактериального осложнения является *S. aureus*, который при микробиологическом обследовании в подавляющем боль-

шинстве случаев выделяется в монокультуре с пораженной кожи (с очага вторичной инфекции) у 53,4–66,7%, с кожи складок у 53,4–70,0%, с клинически непораженной кожи у 40,0–48,0%, со слизистой носа у 46,6–58,3%. Плотность колонизации *S. aureus* у больных АД, осложненным вторичной пиогенной инфекцией, значимо выше в очаге вторичной инфекции, чем на клинически непораженной коже. Увеличение плотности колонизации *S. aureus* на коже складок, слизистых зева и носа, рассматриваемых с позиции потенциальных очагов хронического носительства, утяжеляет течение кожного процесса.

Список литературы

1. Кунгуров Н.В. Современные подходы к организации специализированной помощи детям, больным хроническими дерматозами / Н.В. Кунгуров, Н.П. Торопова, Ю.В. Кенексфест и др. – Курган: «Зауралье», 2009. – 212 с.
2. Смирнова Г.И. Диагностика и лечение осложненных форм atopического дерматита у детей / Г.И. Смирнова // РАЖ. – 2014. – № 2. – С. 59–66.
3. Costello E.K. Bacterial community variation in human body habitats across space and time / E.K. Costello, C.L. Lauber, M. Hamady et al. // Science. – 2009. – Vol. 326 (5960). – P. 1694–1697.
4. Gallo R.L. Epithelial antimicrobial defence of the skin and intestine / R.L. Gallo, L.V. Hooper // Nat. Rev. Immunol. – 2012. – Vol. 12 (7). – P. 503–516.
5. Kong H.H. Temporal shifts in the skin microbiome associated with disease flares and treatment in children with atopical dermatitis / H.H. Kong, J. Oh, C. Deming et al. // Genome Res. – 2012. – Vol. 22 (5). – P. 850–859.
6. Murakawa G.J. Microflora and Bacterial Infections of the Skin / G.J. Murakawa, B.M. Aufiero // The Dermatologist. – 2005. – Vol. 13 (4). – P. 45–50.
7. Novak N. Immune mechanisms leading to atopical dermatitis / N. Novak, T. Bieber, D.Y. Leung // J. Allergy Clin. Immunol. – 2003. – Vol. 112 (Suppl. 6). – P. 128–139.

References

1. Kungurov N.V. Sovremennye podhody k organizacii specializirovannoj pomoshhi detjam, bolnym hronicheskim dermatozami / N.V. Kungurov, N.P. Toropova, Ju.V. Keneksfest i dr. Kurgan: «Zaurale», 2009. 212 p.
2. Smirnova G.I. Diagnostika i lechenie oslozhnennyh form atopicheskogo dermatita u detej / G.I. Smirnova // RAZh. 2014. no. 2. pp. 59–66.
3. Costello E.K. Bacterial community variation in human body habitats across space and time / E.K. Costello, C.L. Lauber, M. Hamady et al. // Science. 2009. Vol. 326 (5960). pp. 1694–1697.
4. Gallo R.L. Epithelial antimicrobial defence of the skin and intestine / R.L. Gallo, L.V. Hooper // Nat. Rev. Immunol. 2012. Vol. 12 (7). pp. 503–516.
5. Kong H.H. Temporal shifts in the skin microbiome associated with disease flares and treatment in children with atopical dermatitis / H.H. Kong, J. Oh, C. Deming et al. // Genome Res. 2012. Vol. 22 (5). pp. 850–859.
6. Murakawa G.J. Microflora and Bacterial Infections of the Skin / G.J. Murakawa, B.M. Aufiero // The Dermatologist. 2005. Vol. 13 (4). pp. 45–50.
7. Novak N. Immune mechanisms leading to atopical dermatitis / N. Novak, T. Bieber, D.Y. Leung // J. Allergy Clin. Immunol. 2003. Vol. 112 (Suppl. 6). pp. 128–139.

Рецензенты:

Сырнева Т.А., д.м.н., профессор кафедры кожных и венерических болезней, ГБОУ ВПО «Уральский государственный медицинский университет» Минздрава здравоохранения Российской Федерации, г. Екатеринбург;

Евстигнеева Н.П., д.м.н., руководитель экспериментально-лабораторного отдела, ФГБУ «Уральский научно-исследовательский институт дерматовенерологии и иммунопатологии» Минздрава России, г. Екатеринбург.