УДК 616.5-002-056.43:616.521]:582.284.3-074:577.213.3

КОМПЛЕКСНЫЙ АНАЛИЗ КЛИНИКО-АНАМНЕСТИЧЕСКИХ ДАННЫХ И РЕЗУЛЬТАТОВ МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКОЙ ИДЕНТИФИКАЦИИ ДЕРМАТОФИТОВ, ДРОЖЖЕЙ, МАЛАССЕЗИЙ У ПАЦИЕНТОВ С АТОПИЧЕСКИМ ДЕРМАТИТОМ И ЭКЗЕМОЙ

Милькото Надежда Алексеевна
Старший преподаватель кафедры дерматовенерологии ГУО
«Белорусская медицинская академия последипломного образования»
г.Минск
Шиманская Ирина Григорьевна
Доцент кафедры дерматовенерологии ГУО
«Белорусская медицинская академия последипломного образования»
г.Минск,
кандидат медицинских наук, доцент
Костюк Светлана Андреевна
Главный научный сотрудник группы ПЦР
диагностики научно-исследовательской лаборатории ГУО
«Белорусская медицинская академия последипломного образования»
г.Минск,
доктор медицинских наук, профессор
Руденкова Татьяна Владимировна
Ведущий научный сотрудник группы ПЦР
диагностики научно-исследовательской лаборатории ГУО
«Белорусская медицинская академия последипломного образования»
г.Минск,
кандидат биологических наук

COMPREHENSIVE ANALYSIS OF CLINICAL AND ANAMNESTIC DATA AND THE RESULTS OF MOLECULAR GENETIC IDENTIFICATION OF DERMATOPHYTES, YEAST FUNGI, MALASSEZIA IN PATIENTS WITH ATOPIC DERMATITIS AND ECZEMA

Milkoto N.A.
Shimanskaya I.G.
Kostiuk S.A.
Rudenkova T.V.
State institution of education
“Belarusian medical academy of postgraduate education”,
The Republic of Belarus,
Minsk

РЕЗЮМЕ

Введение. Отличительной чертой атопического дерматита и экземы является повышенная колонизация кожи пациентов микроорганизмами и чрезвычайно высокая восприимчивость к инфекционным агентам. В соскобах поверхностного эпителия с пораженных участков кожи пациентов, страдающих атопическим дерматитом и экземой, выявлено присутствие ассоциаций дерматофитов, дрожжей и малассезий. В группах обследованных пациентов по частоте встречаемости превалировали C. albicans, M. sympodialis, C. glabrata, M. furfur и M. globose.

Цель. Провести комплексный анализ клинико-анамнестических данных и результатов молекулярно-генетической идентификации дерматофитов, дрожжей, малассезий у пациентов с атопическим дерматитом и экземой.

Материалы и методы. В основную группу исследования были включены 107 пациентов: 79 пациентов с атопическим дерматитом; 28 пациентов с экземой. В качестве биологического материала использовали соскобы поверхностного эпителия с пораженных участков кожи пациентов с атопическим дерматитом и экземой. Молекулярно-генетическую идентификацию C. albicans, C. glabrata, C. parapsilosis, E. floccosum, M. furfur, M. restricta, M. obtusa, M. globosa, M. sympodialis, M. pachydermatis, T. interdigitale проводили с применением метода ПЦР в режиме реального времени (ПЦР-РВ).

Результаты и обсуждение. В биологическом материале пациентов основной группы исследования возбудители присутствовали в форме микст-инфекции. С применение статистического анализа (критерий независимости – χ^2-Пирсона) были установлены достоверные связи между присутствием 3 и более возбудителей в биологическом материале пациентов и распространенностью кожного процесса 40-80% (χ^2=71,26; p=0,007), интенсивностью клинических проявлений со степенью выраженности 2-3 балла (χ^2=52,18; p=0,025), степенью выраженности субъективных симптомов от 5 до 10 баллов (χ^2=29,65;

p=0,031). Наличие достоверных связей также было установлено между присутствием 4 и более возбудителей в соскобе с кожи пациента и тяжелой формой течения заболевания (χ^2=64,75; p=0,034).

Заключение. В соскобах с пораженных участков кожи пациентов, страдающих атопическим дерматитом и экземой, присутствуют ассоциации дерматофитов, дрожжей и малассезий. В группах обследованных пациентов по частоте встречаемости превалировали C. albicans, M. sympodialis, C. glabrata, M. furfur и M. globose. По результатам статистического анализа установлено, что присутствие в соскобах кожи пациента 3 и более возбудителей связано с усилением выраженности симптомов АД и экземы, а 4 и более – с тяжелой формой течения патологического процесса.

ABSTRACT

Introduction. A distinctive feature of atopic dermatitis and eczema is increased colonization of the patient's skin by microorganisms and extremely high susceptibility to infectious agents. In the scrapings of the surface epithelium from the affected skin areas of patients suffering from atopic dermatitis and eczema, the presence of associations of dermatophytes, yeasts and Malassezies was revealed. In the groups of examined patients, C. albicans, M. sympodialis, C. glabrata, M. furfur, and M. globose prevailed in frequency of occurrence.

Purpose. Conduct a comprehensive analysis of clinical and anamnestic data and the results of molecular genetic identification of dermatophytes, yeasts, Malasses in patients with atopic dermatitis and eczema.

Materials and methods. The study group included 107 patients: 79 patients with atopic dermatitis; 28 patients with eczema. The biological epithelium scrapings from the affected skin areas of patients with atopic dermatitis and eczema were used as biological material. Molecular genetic identification of C. albicans, C. glabrata, C. parapsilosis, E. floccosum, M. furfur, M. restricta, M. obtusa, M. globosa, M. sympodialis, M. pachydermatis, T. interdigitale was performed using real-time PCR method (PCR-RV).

Results and discussion. In the biological material of patients in the main group of the study, pathogens were present in the form of mixed infections. With the use of statistical analysis (criterion of independence - χ2-Pearson), reliable links were established between the presence of 3 or more pathogens in the patients' biological material and the skin process prevalence of 40–80% (χ2 = 71.26; p = 0.007), the intensity of clinical manifestations degree of severity of 2-3 points (χ2 = 52.18; p = 0.025), degree of severity of subjective symptoms from 5 to 10 points (χ2 = 29.65; p = 0.031). The presence of reliable links was also established between the presence of 4 or more pathogens in the patient's skin scraping and a severe form of the disease (χ2 = 64.75; p = 0.034).

Conclusion. In scrapings from the affected skin areas of patients suffering from atopic dermatitis and eczema, there are associations of dermatophytes, yeast and malacesia. In the groups of examined patients, C. albicans, M. sympodialis, C. glabrata, M. furfur, and M. globose prevailed in frequency of occurrence. According to the results of statistical analysis, it was found that the presence of 3 or more pathogens in the patient’s skin scrapings is associated with an increased severity of symptoms of AD and eczema, and 4 or more with a severe form of the pathological process.

Ключевые слова: дерматофиты, дрожжи, малассезии, атопический дерматит и экзема.

Key words: dermatophytes, yeast, Malassezia, atopic dermatitis and eczema.

Введение. Атопический дерматит (АД) — хроническое воспалительное иммунозависимое заболевание кожи, течение которого может усугубляться генетически наследуемым дефектом кожного барьера (потеря функции гена филаггрина) и высокой восприимчивостью кожи к инфекциям [1].

Установлено, что существенное влияние на характер течения АД оказывает колонизация кожи патогенными и условно-патогенными микроорганизмами. Течение основного заболевания может осложняться инфекциями, вызванными прежде всего токсигенными штаммами *Staphylococcus aureus.* По данным литературных источников у 90% пациентов с АД *Staphylococcus aureus*, колонизирует как поврежденные и здоровые участки кожного покрова. В тоже время у здоровых людей данный показатель находится на уровне 5% общей популяции [1].

Данные о колонизации кожи пациентов с АД и экземой грибами рода *Malassezia*, дрожжеподобными грибами рода *Candida*, мицелиарными дерматофитами представленые в доступных литературных источниках немногочисленные и притиворечивы [1].

Продукты метаболизма бактерий, грибов или вирусных белков представляют собой суперантигены, вызывающие неспецифическую активацию Т-клеток. Число Т-клеток, взаимодействующих с суперантигенами, почти в 100 раз превосходит число Т-клеток, взаимодействующих с обычным антигеном, при этом CD4+ Т-клетки выделяют большое число цитокинов, способных оказать токсическое действие на организм хозяина [2].

Нарушение барьерной функции кожи при АД повышает ее проницаемость для аллергенов, что приводит к развитию иммуноглобулин Е-опосредованной сенсибилизации. Недавние исследования показывают, что увеличение проницаемости кожного барьера и нарушение его антимикробной функции имеют взаимозависимые общие структурные и биохимические механизмы [3].

Важное значение в патогенезе АД некоторые авторы придают и состоянию иммунитета, в частности уровню активности супрессорной популяции Т-лимфоцитов. Иммунопатогенез АД прежде всего характеризуется не количеством Т-хелперов и Т-супрессоров, а нарушением дифференцировки Т-хелперов 0 порядка в сторону

Т-хелперов второго порядка (Th2), что приводит к изменению профиля цитокиновой секреции и стимулирует усиление продукции специфических IgE-антител. Подверженность кожи пациентов с АД инфекциям обусловлена также снижением выработки в коже провоспалительных цитокинов, в частности фактора некроза опухоли α (ФНО-α) и интерферона λ (INF- λ).

Однако существует мнение, что есть еще и другой механизм стимуляции образования IgE. Он нередко присоединяется к указанному выше механизму и переводит моно- или олигоаллергенное атопическое заболевание в полиаллергенное. Этот механизм связывают с действием суперантигенов – высокомолекулярных белков, каковыми являются некоторые антигены бактериального и вирусного происхождения. Суперантигены способны поддерживать воспаление в коже и приводить к сенсибилизации организма, индуцировать стероидорезистентность и снижать эффективность лечения. В коже при этом происходит снижение содержания антимикробных пептидов, которые необходимы для защиты организма-хозяина от бактерий, грибов и вирусов [4].

Целый ряд микроорганизмов может образовывать антигенные продукты, обладающие свойствами суперантигенов. Из них наиболее изученными являются суперантигены золотистого стафилококка (*Staphylococcus aureus – S. aureus*). Всего у данного возбудителя выделено 7 серологических типов экзотоксинов: энтеротоксины A, B, C, D, E, эксфолиатин и TSST1 (Toxic Shock Syndrome Toxin 1 – токсин синдрома токсического шока 1) [5].

Экзотоксины и другие компоненты клеток стафилококка участвуют в патологическом процессе выступая как антигены, на которые идет образование IgE-антител и цитотоксических Т-лимфоцитов. При выраженной сенсибилизации экзотоксины и другие антигены стафилококка становятся аллергенами и запускают аллергическую реакцию немедленного типа, как и другие пищевые или ингаляционные аллергены, что приводит к дегрануляции тучных клеток и освобождению провоспалительных медиаторов. В этом отношении, наряду со *S. aureus,* следует отметить значения таких инфекционных агентов, как дрожжевые грибы рода *Malassezia*. При этом у детей раннего возраста при АД преобладает именно стафилококковая колонизация кожи, а в старшей возрастной группе доминирует грибковая инфекция. Повышенная колонизация кожи пациентов микроорганизмами и чрезвычайно высокая восприимчивость к инфекционным агентам и вирусам, таким как вирус герпеса, являются отличительной чертой АД [5].

Изменение видового состава микрофлоры кожи происходит в том числе и за счёт дисфункции кожного барьера. Одним из механизмов формирования этих нарушений являются наличие мутации в гене, кодирующем филаггрин и белки, участвующие в процессе ороговения. Ген FLG (filaggrin) расположен в хромосоме 1, локус q21.3. У пациентов с АД выявлена повышенная предрасположенность к возникновению мутаций в данном гене, что сопровождается нарушением функций кожного барьера, увеличением трансэпидермальных потерь воды, повреждением кератиноцитов и усиление аллергического воспаления [6].

Еще одним механизмом, который может провоцировать увеличение восприимчивости пациентов с АД к инфекциям кожных покровов является дефицит природных антимикробных пептидов (кателицидина, β-дефензина-2 и дермицидина). В коже человека основными источниками продукции данных пептидов служат кератиноциты, тучные клетки, нейтрофилы и себоциты. Эти клетки усиливают свою активность при контакте с патогенными микроорганизмами или продуктами их жизнедеятельности. В коже пациентов с АД количество эндогенных антимикробных пептидов снижено, что способствует усиленной колонизации кожных покровов *S. aureus* и другими инфекционными агентами [7].

Колонизация кожи бактериальными и грибковыми патогенами у пациентов с АД приводит к усугублению тяжести кожного процесса. Присоединение вторичной бактериальной и/или грибковой инфекции создаёт трудности в ведении этих пациентов в связи с резистентностью к традиционной терапии. Например, *Malassezia spp.* постоянно обитают на коже человека, однако, у пациентов с АД начинают играть роль сильнейшего антигенного стимула, инициируя IgE-зависимый иммунный ответ [8].

Уровень содержания кандидозного антигена циркулирующего в сыворотке крови является показателем активности микотического процесса, так как, в отличие от бактериальных антигенов и антител, он быстро элиминируется из организма. Поэтому, в качестве иммунологического маркера развития инвазивной кандидозной инфекции при АД используют соотношение между уровнем антигена *Candida spp.* в крови пациента и содержанием Т-хелперов – иммунорегуляторный индекс (CD4+/CD8+); также можно использовать показатели индуцированного НСТ-теста и фагоцитарного индекса [9].

У пациентов с АД грибковые инфекции играют значительную роль как в поддержании инфекционно-воспалительного процесса в коже, так и в формированнии аллергических реакций, участвуя в патогенезе заболевания путем дополнительной активации дермальных лимфоцитов, развития сенсибилизации и индукции аллерген-специфических IgE. Таким образом, микотическая инфекция при АД вызывает не только грибковые поражения кожи, но и способствует микотической сенсибилизации организма пациентов.

Также известно, что грибы (сама грибковая клетка, продукты ее жизнедеятельности: пигменты, антибиотикоподобные субстанции, токсины)

оказывают выраженное аллергизирующее действие. Таким образом, возбудители микоза создают благоприятный фон для развития инфекционных дерматозов и заболеваний аллергической и аутоиммунной природы.

Известно, что дерматофитная инфекция встречается примерно у 5% пациентов с АД и усиливает степень его тяжести, при этом развивается торпидность течения данного дерматоза. К особенностям течения АД в сочетании с микотической инфекцией можно отнести: упорное непрерывно-рецидивирующее течение (92,4%), распространенный характер процесса (67,5%), резистентность к традиционной противоаллергической терапии (100%), с преобладанием тяжелого (65,5%) и среднетяжелого (31,2%) течения заболевания [9].

В настоящее время в дерматологии приоритетными становятся вопросы развития резистентности к традиционной терапии и возможности ее преодоления. Особое значение придают роли инфекции в поддержании непрерывнорецидивирующего течения дерматозов и формировании торпидных форм. При этом наибольшее влияние на течение заболевания оказывают токсигенные штаммы стафилококка, дрожжеподобные грибы рода *Candida, Malassezia* и дерматофиты [9].

Таким образом, нарушение барьерной функции кожи у пациентов с АД само по себе предрасполагает к присоединению вторичной инфекции, и, наоборот, патогенное микробное обсеменение/инфекция кожных покровов ещё более усиливает нарушение функций кожного барьера. Это повышает вероятность абсорбции антигенов, создавая порочный круг, который приводит к избыточной активации иммунной системы и поддержанию хронического воспаления [2].

Цель исследования. Провести комплексный анализ клинико-анамнестических данных и результатов молекулярно-генетической идентификации дерматофитов, дрожжей, малассезий у пациентов с атопическим дерматитом и экземой.

Материалы и методы. В основную группу исследования были включены 107 пациентов: группа 1 – 79 пациентов с атопическим дерматитом (L20.0 – L20.9); группа 2 – 28 пациентов с экземой (L30.0 - L30.9). В контрольную группу (группа 3) были включены 30 практически здоровых лиц.

Возраст пациентов основной группы исследования составил 27 (18/59) лет; пациентов контрольной группы – 29 (18/62) лет.

В качестве основных методов клинико-инструментального обследования пациентов применялись: осмотр пациентов и сбор анамнестических данных; визуальная оценка с применением оценочной шкалы SCORAD, подтверждённая фотодокументированием, дерматоскопия.

В качестве биологического материала использовали соскобы поверхностного эпителия с пораженных участков кожи пациентов с атопическим дерматитом и экземой. У пациентов контрольной группы соскобы брали на локтевых сгибах. Для получения соскобов использовали ложку Фолькмана. Полученный материал помещали в пробирку типа эппендорф объемом 1,5 мл, содержащую 200 мкл транспортной среды («ВекторБест», РФ). Пробирки замораживали и оставляли для хранения при температуре -18ºС.

Для выделения микробной ДНК из соскобов с кожи пациентов использовали наборы реагентов «Экстракция-100» («ВекторБест», РФ).

Молекулярно-генетическую идентификацию *C. albicans, C. glabrata, C. parapsilosis, E. floccosum, M. furfur, M. restricta, M. obtusa, M. globosa, M. sympodialis, M. pachydermatis, T. interdigitale* проводили с применением метода ПЦР в режиме реального времени (ПЦР-РВ) [10].

Амплификацию проводили на термоциклере «Rotor-Gene-6000» («Corbett research», Австралия).

Для 38 пациентов основной группы исследования было проведено изучение биологического материала с применением микробиологического анализатора Vitek 2. В ходе которого выявляли *S. aureus* (MRSA), *S. epidermidis, S. pseudintermedius, S. warneri*.

Статистическую обработку данных проводили с использованием статистической программы SPSS версия 15.

Результаты и их обсуждение. При сборе данных анамнеза были охарактеризованы следующие показатели: длительность течения заболевания, частота обострений, наличие сопутствующих заболеваний, использование лекарственных средств (таблица 1).

Таблица 1.

ДАННЫЕ АНАМНЕЗА ПАЦИЕНТОВ, НА ОСНОВАНИИ АНАЛИЗА ПЕРСОНИФИЦИРОВАННЫХ АНКЕТ (N=107)

Показатель		Количество пациентов	
		n	%
Длительность заболевания	до 1 года	4	3,74
	1-5 лет	12	11,21
	5-10 лет	41	38,32
	10-20 лет	36	33,64
	более 20 лет	14	13,08
Количество обострений в год	1-2	21	19,63
	2-4	52	48,60
	4-6	34	31,78
Сопутствующие заболевания	связанные с атопией	9	8,41
	не связанные с атопией	5	4,67
Использование наружных средств	моно-кортикостероид	52	48,60
	кортикостероид + антибиотик	22	20,56
	кортикостероид + антисептик	9	8,41
	ингибиторы кальцийневрина	7	6,54
	эмоленты	36	33,64

Длительность заболевания у пациентов, включенных в исследование, варьировала от 6 месяцев до 35 лет (7 (3/19) лет). Частота обострений составила от 2 до 6 и более раз за год. Все обследованные пациенты использовали наружные средства лечения, кроме того, 77,57% пациентов (n=83) длительно использовали топические моно- или комбинированные глюкокортикостероиды, и только 33,64% пациентов (n=36) пользовались эмолентами для увлажнения кожи.

В ходе обследования по шкале SCORAD у пациентов основной группы исследования были выявлены: распространенность кожного процесса от 40 до 80% площади поверхности кожи у 81,31% пациентов (таблица 2). При оценке интенсивности клинических проявлений в зонах поражения у 86,92% пациентов (n=93) была выявлена значительно выраженная отечная эритема. У пациентов основной группы были отмечены таки проявления как экссудация, многочисленные папулезные элементы ярко красного цвета различных размеров и формы, при слиянии которых образовывались очаги инфильтрации и лихенификации кожи различной степени выраженности (таблица 2).

Все пациенты отмечали сухость кожи различной степени выраженности, предъявляли жалобы на зуд и нарушения сна.

Таблица 2.

ДАННЫЕ ОБСЛЕДОВАНИЯ ПАЦИЕНТОВ ПО ШКАЛЕ SCORAD (N=107)

Показатель		Степень выраженности симптомов	Количество пациентов	
			n	%
Распространенность кожного процесса		5-40	20	18,69
		40-80	87	81,31
		80-100	-	-
Интенсивность клинических проявлений	эритема	1	-	-
		2	14	13,08
		3	93	86,92
	отек/папула	1	86	80,37
		2	21	19,63
		3	-	-
	корки/мокнутие	1	58	54,21
		2	15	14,02
		3	0	0,00
	экскориации	1	66	61,68
		2	26	24,30
		3	5	4,67
	лихенификация	1	19	17,76
		2	70	65,42
		3	17	15,89
	сухость кожи	1	14	13,08
		2	77	71,96
		3	16	14,95

Субъективные симптомы	зуд	1-4	7	6,54
		5-7	88	82,24
		8-10	11	10,28
	нарушение сна	1-4	5	4,67
		5-7	95	88,79
		8-10	7	6,54

В ходе проведения дерматоскопии оценивали следующие показатели: морфология, расположение сосудистых структур, паттерны шелушения, цвет. Результаты обследования пациентов основной группы исследования представлены в таблице 3.

Таблица 3.

РЕЗУЛЬТАТЫ ПРОВЕДЕНИЯ ДЕРМАТОСКОПИИ У ПАЦИЕНТОВ С АД И ЭКЗЕМОЙ (N=107)

Показатель		Количество пациентов	
		n	%
Морфология	Микровезикулы	21	19,63
	Микропапулы	27	25,23
	Нормальные сосуды	27	25,23
	Точечные сосуды	80	74,77
Расположение сосудистых структур	Однородное	34	31,78
	Неоднородное	75	70,09
Паттерны шелушения	Отсутствие	-	-
	Фолликулярное	20	18,69
	Нефолликулярное	89	83,18
	Желтые корочки	50	46,73
	Желтые чешуйки	41	38,32
	Белые чешуйки	36	33,64
Цвет	Норма	32	29,91
	Ярко-розовый	71	66,36
	Красный	5	4,67

При оценке морфологии и расположения сосудистых структур у 74,77 % пациентов (n=80) с АД и экземой были выявлены точечные сосуды с неоднородным распределением, что являются наиболее важными дерматоскопическими особенностями данной патологии.

Изучение паттернов шелушения с использованием метода дерматоскопии позволило установить, что у пациентов основной группы исследования, заболевание проявляется образованием желтых корочек (46,73%, n=50) и чешуек (38,20%, n=41), что является характерным признаком экзематозного процесса – признак «желтого комка». В ряде случаев при дерматоскопии были видны фокальные белые чешуйки (33,64%, n=36), но они всегда были связаны с вышеописанными признаками.

Оценка цвета кожных покровов в месте локализации пораженных участков с использованием метода дерматоскопии позволила установить, что у 66,36% пациентов (n=71) цвет был ярко-розовый, у 29,91% пациентов (n=32) – нормальный, у 4,67% пациентов (n=5) – красный.

При хронических и лихенифицированных поражениях были выявлены преимущественно неравномерно распределенные точечные сосуды (74,47%, n=35) и шелушение (38,30%, n=18).

По результатам обследования среди пациентов основной группы исследования было выявлено в 12,15 % случаев (n=13) тяжелого течения АД и экземы – пациенты, у которых индекс SCORAD составил более 50 и дерматоскопический индекс – более 10. В 60,75% случаев (n=65) у пациентов было установлено средне-тяжелое течение АД и экземы – пациенты, у которых индекс SCORAD составил 30-50 и дерматоскопический индекс – 5-10. В 27,1% случаев (n=29) у пациентов было установлено легкое течением АД и экземы – пациенты, у которых индекс SCORAD составил менее 30 и дерматоскопический индекс – менее 5 (таблица 4).

Таблица 4.

РАСПРЕДЕЛЕНИЕ ПАЦИЕНТОВ ПО СТЕПЕНИ ТЯЖЕСТИ ЗАБОЛЕВАНИЯ ПО РЕЗУЛЬТАТАМ SCORAD И ДЕРМАТОСКОПИИ (N=107)

Степень тяжести заболевания	Количество выявленных случаев	
	n	%
тяжелая форма	13	12,15
средне-тяжелая форма	65	60,75
легкая форма	29	27,1

По результатам анализа клинико-анамнестических данных и результатов инструментального обследования у пациентов с тяжелой и средне-тяжелой формами заболевания (n=78) в 39,74% (n=31) случаев была установлена резистентная форма течения АД и экземы. У этих пациентов заболевание трудно поддавалось лечению, единичные очаги поражения сохранялись через 6 недель после проведенного лечения. Среди пациентов с тяжелой и средне-тяжелой формами АД и экземы у 41 (52,56%) была установлена часто длительно рецидивирующая форма заболевания, при которой обострения происходили 4 и более раз в год (таблица 5).

Таблица 5.

ЧАСТОТА ВЫЯВЛЕНИЯ РЕЗИСТЕНТНЫХ И РЕЦИДИВИРУЮЩИХ ФОРМ АД И ЭКЗЕМЫ У ПАЦИЕНТОВ С ТЯЖЕЛОЙ И СРЕДНЕ-ТЯЖЕЛОЙ ФОРМАМИ ЗАБОЛЕВАНИЯ (N=78)

Форма заболевания	Количество выявленных случаев	
	n	%
Резистентные формы	31	39,74
Часто длительно рецидивирующие формы	41	52,56

В ходе бактериологического исследования биологического материла с пораженной кожи пациентов с АД и экземой были выявлены: *S. aureus* (MRSA) в 71,05% случаев (n=27), *S. epidermidis* – 18,42% (n=7), *S. pseudintermedius* – 7,89% (n=3), *S. warneri* – 2,63% (n=1) (таблица 6).

Таблица 6.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИЗУЧЕНИЕ БИОЛОГИЧЕСКОГО МАТЕРИАЛА С ПОРАЖЕННОЙ КОЖИ ПАЦИЕНТОВ (N=38)

Возбудитель	Количество выявленных случаев	
	n	%
Staphylococcus aureus обильный рост	18	47,37
Staphylococcus aureus умеренный рост	9	23,68
Staphylococcus epidermidis	7	18,42
Staphylococcus pseudintermedius	3	7,89
Staphylococcus warneri	1	2,63

В ходе анализа результатов, полученных при проведении молекулярно-генетического анализа по выявлению дерматофитов, дрожжей и малассезий в соскобах кожи, на коже пациентов основной группы исследования было выявлено присутствие: *C. albicans* (74,77% (n=80)), *C. glabrata* (37,38% (n=40)), *C. parapsilosis* (15,89% (n=17)), *E. floccosum* (4,67% (n=5)), *M. furfur* (35,51% (n=38)), *M. restricta* (7,48% (n=8)), *M. obtusa* (12,15% (n=13)), *M. globose* (22,43% (n=24)), *M. sympodialis* (44,86% (n=48)), *M. pachydermatis* (5,61% (n=6)), *T. interdigitale* (4,67% (n=5)). Полученные результаты по частоте выявления данных микроорганизмов в группа 1 и 2 представлены в таблице 7.

Таблица 7.

РЕЗУЛЬТАТЫ ВЫЯВЛЕНИЯ ДЕРМАТОФИТОВ, ДРОЖЖЕЙ, МАЛАССЕЗИЙ В БИОЛОГИЧЕСКОМ МАТЕРИАЛЕ ОБСЛЕДОВАННЫХ ГРУПП ПАЦИЕНТОВ (N=107)

Название микроорганизма	Частота выявления, % (n)					
	Группа 1 (n=79)		Группа 2 (n=28)		Группа 3 (n=30)	
	%	n	%	n	%	n
C. albicans	73,42	58	78,57	22	46,67	14
C. glabrata	39,24	31	32,14	9	16,67	5
C. parapsilosis	15,19	12	17,86	5	6,67	2
E. floccosum	5,06	4	3,57	1	-	0
M. furfur	34,18	27	39,29	11	16,67	5
M. restricta	8,86	7	3,57	1	-	0
M. obtusa	12,66	10	10,71	3	-	0
M. globosa	20,25	16	28,57	8	10,00	3
M. sympodialis	44,30	35	46,43	13	10,00	3
M. pachydermatis	6,33	5	3,57	1	-	0
T. interdigitale	5,06	4	3,57	1	-	0

В образцах биологического материала пациентов контрольной группы была выявлена ДНК таких возбудителей как *C. albicans* (46,67% (n=14)), *C. glabrata* (16,67% (n=5)), *C. parapsilosis* (6,67% (n=2)), *M. furfur* (16,67% (n=5)), *M. globose* (10,0% (n=3)), *M. sympodialis* (10,0% (n=3)).

С применение статистического анализа (критерий независимости – χ^2-Пирсона) были установлены достоверные отличия по частоте выявления всех изученных возбудителей между основной и контрольной группами ($p<0,05$), а также между группами 1 и 3 ($p<0,05$) и группами 2 и 3 (таблица 8).

Таблица 8.

РЕЗУЛЬТАТЫ СТАТИСТИЧЕСКОГО АНАЛИЗА ЧАСТОТЫ ВЫЯВЛЕНИЯ ДЕРМАТОФИТОВ, ДРОЖЖЕЙ, МАЛАССЕЗИЙ У ПАЦИЕНТОВ, ОБСЛЕДОВАННЫХ ГРУПП

Название микроорганизма	Значение χ^2, p						
	Основная группа vs контрольная группа		Группа 1 vs группа 3		Группа 2 vs группа 3		Группа 1 vs группа 2
	χ^2	p	χ^2	p	χ^2	p	p
C. albicans	61,24	0,001	21,16	0,004	18,64	0,002	>0,05
C. glabrata	34,21	0,001	16,44	0,013	8,27	0,021	>0,05
C. parapsilosis	12,55	0,003	9,25	0,012	4,73	0,017	>0,05
E. floccosum	4,18	<0,001	3,99	<0,001	3,41	<0,001	>0,05
M. furfur	29,24	0,003	18,62	0,018	8,22	0,011	>0,05
M. restricta	6,72	<0,001	5,97	<0,001	3,19	<0,001	>0,05
M. obtusa	10,04	<0,001	8,14	<0,001	3,47	<0,001	>0,05
M. globosa	18,25	0,007	11,72	0,014	7,23	0,012	>0,05
M. sympodialis	26,73	0,002	24,57	0,006	11,71	0,004	>0,05
M. pachydermatis	4,94	<0,001	4,12	<0,001	3,22	<0,001	>0,05
T. interdigitale	4,01	<0,001	3,17	<0,001	3,57	<0,001	>0,05

При анализе частоты выявления изучаемых возбудителей в группах 1 и 2 достоверных отличий между данными группами установлено не было (p>0,05).

В биологическом материале пациентов основной группы исследования возбудители присутствовали в форме микст-инфекции. Чаще всего были выявлены ассоциации 3 возбудителей – в 57,94% случаев (n=62). Ассоциации 2 и 4 микроорганизмов были выявлены в 31 (28,97%) и 10 (9,35%) пробах соответственно (таблица 9).

Таблица 9.

РЕЗУЛЬТАТЫ ВЫЯВЛЕНИЯ АССОЦИАЦИЙ ВОЗБУДИТЕЛЕЙ У ПАЦИЕНТОВ ОСНОВНОЙ ГРУППЫ ИССЛЕДОВАНИЯ (N=107)

Количество возбудителей в составе микст-инфекции	Количество выявленных случаев	
	n	%
5 возбудителей	4	3,74
4 возбудителя	10	9,35
3 возбудителя	62	57,94
2 возбудителя	31	28,97

В 4 пробах (3,74 %) была выявлена ассоциация 5 микроорганизмов. Постоянную основу ассоциации во всех этих пробах составляли *C. albicans, C. glabrata, M. sympodialis* и *T. interdigitale*. В качестве пятого члена ассоциации выступали *M. furfur* (n=1), *M. restricta* (n=2), *M. pachydermatis* (n=1).

В пробах где было выявлено присутствие 2, 3 или 4-х возбудителей в качестве основных компонентов ассоциаций выступали: *C. albicans* и *M. sympodialis* – 28,97% случаев (n=31); *C. albicans* и *C. glabrata* – 19,63% случаев (n=21).

С применение статистического анализа (критерий независимости – χ^2-Пирсона) были установлены достоверные связи между присутствием 3 и более возбудителей в биологическом материале пациентов и распространенностью кожного процесса 40-80% (χ^2=71,26; p=0,007), интенсивностью клинических проявлений со степенью выраженности 2-3 балла (χ^2=52,18; p=0,025), степенью выраженности субъективных симптомов от 5 до 10 баллов (χ^2=29,65; p=0,031).

Наличие достоверных связей также было установлено между присутствием 4 и более возбудителей в соскобе с кожи пациента и тяжелой формой течения заболевания (χ^2=64,75; p=0,034).

Заключение. В соскобах с пораженных участков кожи пациентов, страдающих атопическим дерматитом и экземой, присутствуют ассоциации дерматофитов, дрожжей и малассезий. В группах обследованных пациентов по частоте встречаемости превалировали *C. albicans, M. sympodialis, C. glabrata, M. furfur* и *M. globose*. По результатам статистического анализа установлено, что присутствие в соскобах кожи пациента 3 и более возбудителей связано с усилением выраженности симптомов АД и экземы, а 4 и более – с тяжелой формой течения патологического процесса.

В настоящее время в дерматологии приоритетными становятся вопросы развития резистентности к традиционной терапии и поиск путей ее преодоления. При этом особое значение придают роли инфекции в поддержании непрерывно рецидивирующего течения хронических дерматозов и формировании торпидных форм. В связи с этим актуальным является изучение предрасполагающих факторов развития осложненных форм дерматоза и возможность управления ими, верификация

возбудителей и определение их вирулентных свойств.

Таким образом, нарушения эпидермального барьера у больных АД создают благоприятные условия для поступления аллергенов трансдермально с вовлечением механизмов, приводящих к повреждению кожи, активации бактериальной и грибковой флоры, ранней сенсибилизации организма, инициации и хронизации воспаления. Одной из причин развития резистентности к стандартной терапии у больных АД является присоединение вторичной бактериальной и грибковой инфекции с формированием осложненных форм дерматоза.

Внимательное изучение клинико-анамнестических данных и результатов инструментального обследования, молекулярно-генетическая идентификация дерматофитов, дрожжей и малассезий, а также проведение бактериологического анализа являются необходимым инструментом для диагностики и выбора тактики лечения пациентов с АД и экземой.

Литература:

1. Атопический дерматит: руководство для врачей./ под ред. Ю. В. Сергеева. - М.: Медицина для всех, 2002. – 183 с.
2. De Benedetto A. et all Tight junction defects in patients with atopic dermatitis. // J. Allergy Clin. Immunol, - 2011 - no. 127, P. 773–786.
3. Рыбальченко О.В., Гуслева О.Р., Потокин И.Л. и др. Морфофизиологическая характеристика микробиоты кожи при атопическом дерматите.// Российский журнал кожных и венерических болезней. - 2010 - №1, С. 31–33.
4. Мишанькин Б.Н., Васильева Г.И. Суперантигены - актуальная проблема современной аллергологии. Иммунология. - 1996 - №3, С. 1-10.
5. Leung, D.Y. New insights into atopic dermatitis: role of skin barrier and immune dysregulation. // Allergology Intern. (official journal of the Japanese Society of Allergology). – 2013 - no 62, P. 151–161.
6. Пахнова Л.Р. и др. Роль мутаций гена филаггрина в патогенезе атопического дерматита. // Астраханский медицинский журнал. - 2016 г - Т. 11 (1), С. 30-37.
7. Valdman-Grinshpoun Y. Barrier-restoring therapies in atopic dermatitis: Current approaches and future perspectives. // Dermatol. Res. Pract. – 2012 – P 9231–9234.
8. Мокроносова, М.А. Аллергия на дрожжи рода Malassezia у больных атопическим дерматитом. // Леч. врач. -2009 - №4, С. 18–21.
9. Джавадзаде Т.З. Видовой состав микрофлоры кожи при атопическом дерматите у детей в различные возрастные периоды // Фундаментальные исследования. – 2015. – № 1-10. – С. 2048-2051
10. Руденкова Т.В. и др. Метод определения микромицетов в соскобах кожи // БГМУ в авангарде медицинской науки и практики: сб. науч. статей. Минск - 2018 - №8, С. 158-164.

Авторы статьи заявляют об отсутствии конфликта интересов.