

*На правах рукописи*

**ТИХОМИРОВ ТИМУР АЛЕКСАНДРОВИЧ**

**МЕТОДЫ КОМБИНИРОВАННОЙ ТЕРАПИИ АТОПИЧЕСКОГО  
ДЕРМАТИТА, ОТЯГОЩЕННОГО СТАФИЛОКОККОВОЙ ИНФЕКЦИЕЙ,  
У ДЕТЕЙ И ПОДРОСТКОВ**

**14.01.10 – кожные и венерические болезни**

**АВТОРЕФЕРАТ**

**диссертации на соискание ученой степени**

**кандидата медицинских наук**

**МОСКВА 2018**

Работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова» Министерства здравоохранения Российской Федерации

**Научный руководитель:**

Заслуженный деятель науки РФ,  
доктор медицинских наук, профессор

**Короткий Николай Гаврилович**

**Научный консультант:**

доктор медицинских наук

**Дмитренко Ольга Александровна**

**Официальные оппоненты:**

Доктор медицинских наук, профессор

**Корсунская Ирина Марковна**

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки "Центр теоретических проблем физико-химической фармакологии" Российской Академии Наук, лаборатория физико-химических и генетических основ дерматологии, заведующий лабораторией

Доктор медицинских наук

**Тамразова Ольга Борисовна**

Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Российский университет дружбы народов» Министерства образования и науки Российской Федерации, кафедра дерматовенерологии ФПК МР Медицинского института РУДН, профессор кафедры

**Ведущая организация:**

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Московский государственный медико-стоматологический университет имени А.И. Евдокимова» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Защита диссертации состоится «\_\_\_» \_\_\_\_\_ 2018 года в 14.00 часов на заседании диссертационного совета Д 208.072.10 на базе ФГБОУ ВО РНИМУ имени Н.И. Пирогова Минздрава России по адресу: 117997, г. Москва, ул. Островитянова, д. 1.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке и на сайте <http://rsmu.ru> ФГБОУ ВО РНИМУ имени Н.И. Пирогова Минздрава России по адресу: 117997, г. Москва, ул. Островитянова, д. 1.

Автореферат разослан «\_\_\_» \_\_\_\_\_ 201\_\_ года.

Ученый секретарь диссертационного совета  
доктор медицинских наук, профессор

**Шарова Наталья Михайловна**

## **ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ**

### **Актуальность темы исследования**

В настоящее время аллергические заболевания являются одной из наиболее острых медико-социальных проблем патологии детского возраста. Наиболее значимое место среди них занимает группа алергодерматозов, в которой основная позиция по праву принадлежит атопическому дерматиту (АД), частота заболеваемости которым у детского населения в развитых странах мира по данным современных исследований в последние годы достигает 20-30% (Nutten S., 2015). Согласно данным официальной статистики в Российской Федерации (РФ) распространенность АД составляет 439 на 100 тыс. человек, при заболеваемости 203 человека на 100 тыс. обследованного населения. Из всех зарегистрированных случаев заболеваемости АД 72% приходится на детей в возрастном интервале от 0 до 17 лет (Заславский Д.В. и соавт., 2018). АД – хроническое воспалительное заболевание кожи, возникающее чаще в раннем детском возрасте у лиц с наследственной предрасположенностью к атопическим заболеваниям, имеющее рецидивирующее течение с возрастными особенностями локализации и морфологии очагов воспаления, характеризующееся кожным зудом, осложняющееся присоединением бактериальной инфекции и обусловленное гиперчувствительностью как к специфическим (аллергенным), так и к неспецифическим раздражителям (Альбанова В.И., 2016; Короткий Н.Г., 2016).

Согласно современной концепции патогенеза АД, ведущую роль в его развитии играют генетические дефекты барьерной функции кожи и нарушения адаптивного иммунного ответа (Sullivan M. et al., 2017). Известно, что первичное нарушение барьерных свойств кожи развивается вследствие генетических нарушений метаболизма филаггрина и межклеточных липидов, функционирования рогового конверта и десквамации кератиноцитов (Egawa G. et al., 2018). Несостоятельность барьерной функции приводит к более интенсивному проникновению через кожу аллергенов из окружающей среды с первичной сенсibilизацией и последующей активацией механизмов иммунного ответа.

Большое значение отводится патологической активации клеточного и гуморального звеньев иммунной системы, приводящей к секреции целого ряда цитокинов и медиаторов воспаления (IL-4, IL-5, IL-13, и др.). Указанные провоспалительные цитокины способствуют угнетению процессов, обеспечивающих барьерную и антимикробную функции кожи ( $\beta$ -дефенсины). Дополнительно к этому, в патогенез заболевания включается еще и инфекционный фактор, обусловленный присоединением бактериальных патогенов, ведущим из которых является золотистый стафилококк (*S. aureus*).

### **Степень разработанности темы исследования**

На сегодняшний день известно, что золотистый стафилококк обладает обширным набором факторов, обеспечивающих его адгезию, колонизацию по поверхностям и тканям макроорганизма, а также агрессию и уклонение от иммунокомпетентных клеток хозяина. Наиболее важными из них являются: адгезины, инвазины, мембраноповреждающие токсины, эксфолиативные токсины и суперантигены (Брусина Е.Б. и соавт., 2014).

Важным направлением в исследовании факторов патогенности *S. aureus* стало изучение семейства суперантигенов. Взаимодействуя с фрагментами  $\beta$ -цепи Т-клеточного рецептора ( $V\beta$ -ТКР), суперантигены способны активировать до 60% всех Т-клеток (CD-4 положительные Т-хелперы) без предварительной презентации на поверхности антигенпрезентирующей клетки (АПК). Массовая активация Т-лимфоцитов сопровождается секрецией большого количества цитокинов, приводящей к системной токсичности и подавлению адаптивного иммунного ответа (Kraakauer T. et al., 2016; Thomas D. et al., 2009). Другой отличительной особенностью суперантигенов, является то, что, кодирующие их гены, находятся на мобильных генетических элементах различных типов, и потому различные штаммы *S. aureus* могут содержать разный набор генов этих токсинов (Argudín M. et al., 2010).

При изучении связи тяжести течения заболевания с колонизацией токсигенными штаммами *S. aureus* была определена корреляция тяжести кожного

процесса с наличием у штаммов *S. aureus* генов, кодирующих токсины со свойствами суперантигенов (Nada H. A. et al., 2012). В то же время, ряд исследователей не подтвердил влияния наличия генов токсинов со свойствами суперантигенов *S. aureus* на тяжесть клинического течения и уровень секреции провоспалительных цитокинов (Kozman A. et al., 2010).

В РФ до настоящего времени не проводилось молекулярно-генетических исследований особенностей *S. aureus*, выделенных от пациентов с АД и изучения их влияния на тяжесть течения и другие клинические особенности течения заболевания.

Особого внимания заслуживает вопрос лечения АД, протекающего в условиях колонизации/инфицирования *S. aureus*. Распространенное на сегодняшний день использование топических моно- и комбинированных антибактериальных/кортикостероидных препаратов строго ограничено курсовым применением, в виду снижения чувствительности микробных агентов при длительной обработке пораженной кожи и рядом побочных эффектов стероидного компонента комбинированных форм препаратов.

Отсутствие данных молекулярно-генетических исследований суперантигенов *S. aureus* у пациентов с АД в РФ, на фоне противоречивых выводов зарубежных исследований, а также недостаточное внимание, уделенное методам лечения и профилактики стафилококковой инфекции у больных АД, определили целесообразность и обоснованность проведения настоящего исследования.

### **Цель настоящего исследования**

Патогенетическое обоснование комбинированной терапии атопического дерматита у детей и подростков Российской Федерации, в условиях колонизации/инфицирования кожи и слизистых оболочек носа штаммами *S. aureus*, несущими гены токсинов со свойствами суперантигенов.

### **Задачи исследования**

Определить клинические особенности течения АД, отягощенного колонизацией *S. aureus*, включающие: степень тяжести, значение SCORAD,

клинико-морфологическую форму, характер воспалительного процесса, частоту обострений, продолжительность ремиссий, уровень IgE и сопутствующие заболевания у обследуемых больных.

Установить частоту колонизации, интенсивность микробной обсемененности, превалирующие гены экзотоксинов, кластера иммунного уклонения и лейкоцидина *LukDE* у штаммов *S. aureus*, выделенных с пораженной кожи и слизистых оболочек носа больных АД, а также с кожи и слизистых оболочек носа здоровых детей.

Сопоставить и оценить влияние генов экзотоксинов, *LukDE* и факторов иммунного уклонения *S. aureus* на тяжесть клинического течения АД.

Оценить клиническую эффективность топических форм препаратов микросеребра и  $\alpha$ -глутамил триптофана на санацию *S. aureus* и продолжительность ремиссии у больных АД.

### **Научная новизна работы**

Впервые в Российской Федерации у детей с АД, отягощенным колонизацией *S. aureus* было проведено молекулярно-генетическое исследование штаммов, высеянных с пораженной кожи и слизистых оболочек носа, в результате которого были определены превалирующие гены лейкоцидина *LukDE*, кластера иммунного уклонения (*scn*, *chp*, *sak*), а также определен набор доминирующих генов токсинов со свойствами суперантигенов (*seg*, *tst*, *sep*, *sea*, *sec*, *seb*, *sed*, *see*), которые качественно и/или количественно отличались от наборов генов суперантигенов, выявленных ранее в других географических регионах мира.

Впервые в РФ проведена оценка влияния обнаруженных генов факторов патогенности *S. aureus* на тяжесть клинического течения АД.

Впервые в составе комплексного лечения детей с АД показана клиническая эффективность комбинированной коррекции стафилококковой инфекции/носительства на коже и слизистых оболочках носа различными наружными формами препаратов микросеребра и  $\alpha$ -глутамил триптофаном.

## Теоретическая и практическая значимость

Полученные в результате молекулярно-генетических исследований данные, впервые позволили определить набор генов токсинов со свойствами суперантигенов, характерных для штаммов *S. aureus*, персистирующих у больных АД в Российской Федерации. В дальнейшем, это поможет сформировать представление о полном спектре генов экзотоксинов *S. aureus*, для изучения их свойств и механизмов влияния на развитие и течение АД у детей и подростков.

Анализ клинических и лабораторных данных указывает на то, что наличие генов конкретных токсинов, определенных в настоящем исследовании, не влияло на тяжесть клинического течения АД. На основании этого было выдвинуто предположение о том, что либо данные гены не обладают выраженным влиянием на степень тяжести течения АД, либо не наблюдалось экспрессии генов данных токсинов. Полученные нами результаты свидетельствуют о необходимости дальнейшего изучения других, менее изученных факторов патогенности *S. aureus*, (экзотоксинов, лейкоцидинов, факторов иммунного уклонения).

На основании полученных данных разработана методика комбинированной коррекции стафилококковой инфекции/носительства на коже и слизистых оболочках носа у детей и подростков с АД. Различные наружные формы препарата микро серебра, обладающие выраженным антисептическим и дерматопротективными свойствами, в комбинации с назальной формой  $\alpha$ -глутамил триптофана, стимулирующей неспецифические механизмы местного иммунного ответа, способствуют снижению колонизации, вплоть до полной санации *S. aureus*. Длительное применение различных топических форм микро серебра в качестве альтернативы традиционной эмолентной терапии способно обеспечить как санацию, так и предотвращение повторной колонизации патогенной микрофлорой кожи больных АД. Топическое курсовое применение  $\alpha$ -глутамил триптофана способствует снижению колонизации *S. aureus* на слизистой оболочке носа, за счет преимущественно местной стимуляции фагоцитарной функции

нейтрофилов и моноцитов/макрофагов, тем самым уменьшая риск ауто/реинфицирования данным патогенным штаммом у больных АД.

### **Методология и методы исследования**

Методология данного исследования была спланирована с учетом современных принципов научного познания и организована адекватно поставленной цели. В работе был применен современный комплекс клинических (сбор и анализ анамнеза жизни, настоящего заболевания, определение клинической тяжести течения АД по шкале SCORAD, оценка эффективности предложенной терапии по показателям, принятым в доказательной медицине) и лабораторных (общий анализ крови и мочи, биохимический анализ крови, определение содержания общего IgE, бактериологическое исследование мазков с пораженной кожи и слизистой оболочки передних отделов носа, молекулярно-генетическое исследование *S. aureus*, высеянного с пораженной кожи и слизистой оболочки передних отделов носа) методов. В настоящей работе в составе комплексного лечения АД, нами впервые проведена комбинированная терапия, направленная на санацию *S. aureus*, локализованного на поверхности кожи и слизистой оболочке носа с помощью топических форм микросеребра и назальной формы  $\alpha$ -глутамил триптофана, убедительно показавшая свою клиническую и лабораторную эффективность.

### **Основные положения, выносимые на защиту**

1. Для детей с АД, поступивших в стационар из внебольничных условий, характерна крайне высокая частота колонизации *S. aureus* пораженной кожи и слизистой оболочки носа, превышающая значения колонизации данных экотопов у здоровых детей в три и два раза, соответственно. У больных АД, по сравнению со здоровыми, наблюдается стойкая колонизация пораженной кожи и слизистой оболочки носа штаммами *S. aureus*, несущими гены токсинов со свойствами суперантигенов.

2. На пораженной коже и слизистой оболочке носа больных АД доминирующими генами стафилококковых токсинов со свойствами

суперантигенов являются: *seg*, *tst*, *sep*, *sea*, *sec*. Наличие генов данных токсинов не влияло на тяжесть течения заболевания, которая была соизмерима с тяжестью течения АД у детей, кожа которых была колонизирована штаммами *S. aureus*, не обладающими генами данных токсинов.

3. Использование различных наружных форм микросеребра в сочетании с топическим (назальным) применением  $\alpha$ -глутамил триптофана в составе комплексной терапии АД, отягощенного стафилококковой инфекцией у детей и подростков, значительно повышает эффективность лечения, способствуя снижению SCORAD, обеспечивая санацию условно-патогенных микроорганизмов и достоверно увеличивая продолжительность клинической ремиссии заболевания.

### **Степень достоверности полученных результатов**

Математическая обработка данных проводилась на персональном компьютере с использованием программ Microsoft Office Excel 2016 версии Windows 10, а также STATISTICA 10 for Windows. Анализ количественных признаков проводился с использованием параметрических (t-критерий Стьюдента для несвязанных групп) и непараметрических методов (критерий Манна-Уитни), в зависимости от полученной формы распределения. При определении нормального распределения признака предпочтение отдавалось параметрическому методу, которым являлся t-критерий Стьюдента для несвязанных групп. Проводилось вычисление среднего арифметического (M), среднего квадратичного отклонения (SD), стандартной ошибки среднего (m), доверительного интервала (CI, 95%). Данные считали статистически значимыми при  $p < 0,05$ . При условиях, когда нормальное распределение признака определено не было, применялся непараметрический метод с определением критерия Манна-Уитни для несвязанных групп. Сравнение относительных показателей проводилось с помощью точного критерия Фишера. Анализ связи признаков проводился с помощью вычисления непараметрического критерия корреляции Спирмена ( $\rho$ ). Для качественной оценки количественного значения линейного коэффициента корреляции использовалась шкала Чеддока.

## **Апробация работы**

Основные положения диссертации были заслушаны, обсуждены и одобрены на следующих мероприятиях: V Московском Форуме «Дерматология и косметология: синтез науки и практики» (Москва, 14-16 октября 2015 г.), IX Международном форуме дерматовенерологов в косметологов (Москва, 16-18 марта 2016 г.), 25th Congress European academy of dermatology and venereology (Vienna, Austria 28 September – 02 October 2016), X Международном форуме дерматовенерологов в косметологов (Москва, 15-17 марта 2017 г.), 26th Congress European academy of dermatology and venereology (Genève, Switzerland 13 – 17 September 2017).

Результаты исследования были заслушаны, обсуждены и одобрены на заседании кафедры дерматовенерологии педиатрического факультета ФГБОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздрава России 27 апреля 2018 года (протокол № 10).

### **Публикации по теме диссертации.**

По теме диссертации опубликовано 10 печатных работ: из них 3 – в рецензируемых научных журналах, рекомендованных ВАК РФ, 6 – в материалах научных конференций, 1 монография.

### **Объем и структура работы:**

Диссертация изложена на 134 страницах машинописного текста, состоит из введения, обзора литературы, материалов и методов исследования, результатов собственных исследований, обсуждения результатов собственных исследований, выводов, практических рекомендаций, списка сокращений и списка использованной литературы, который включает 191 источника, из них 158 на иностранных языках. Диссертация иллюстрирована 21 таблицей и 27 рисунками.

## СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

### Материал и методы исследования:

Работа выполнена на кафедре дерматовенерологии педиатрического факультета ФГБОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова. Исследование одобрено локальным Этическим комитетом ФГБОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздрава России. Клинико-лабораторные исследования проведены на кафедре дерматовенерологии педиатрического факультета ФГБОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова, отделении дерматовенерологии, цитологической клинической лаборатории, клинико-диагностической лаборатории, лаборатории клинической иммунологии, лаборатории клинической бактериологии «РДКБ ФГБОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова» Минздрава России, лаборатории молекулярных основ патогенности ФГБУ «НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России.

Было обследовано 90 детей в возрасте от 2 до 17 лет, из них 60 детей со среднетяжелым и тяжелым течением атопического дерматита и 30 детей, не имеющих заболеваний кожи и ЛОР-органов.

У всех участников исследования собирался анамнез жизни и настоящего заболевания, включающий: оценку манифестации АД, аллергологический анамнез, продолжительность дерматоза и клинических ремиссий, наличие наследственной предрасположенности и сопутствующих заболеваний. Проводился дерматологический осмотр всех детей, с определением тяжести по коэффициенту SCORAD (kS), клинико-морфологической формы заболевания и оценки характера воспалительного процесса.

Лабораторные методы исследования включали в себя: цитологическое исследование периферической крови, биохимическое исследование крови, общий анализ мочи, иммунологическое исследование уровня общего IgE в сыворотке крови.

Всем детям с АД в первые 48 часов пребывания в стационаре после физикального осмотра и оценки степени тяжести состояния по kS проводился забор биоматериала с очагов пораженной кожи с (чаще всего область локтевых

и/или подколенных сгибов) и слизистых оболочек полости носа. У 30 детей без патологии кожи и ЛОР-органов забор биоматериала проводился с аналогичных участков кожи и слизистых оболочек в поликлиническом отделении при плановом посещении.

Также проводилось бактериологическое исследование биоматериала, полученного с пораженной кожи и слизистой оболочки носа с определением видов персистирующих микроорганизмов, интенсивности их колонизации и чувствительности к антибиотикам.

Все выделенные культуры *S. aureus* были подвергнуты молекулярно-генетическому исследованию с целью определения носительства генов токсинов со свойствами суперантигенов (*seg, tst, sep, sea, sec, seb, sed, see*), лейкоцидина *LukDE* и кластера иммунного уклонения (*scn, chp, sak*).

Все пациенты с АД были разделены на две сопоставимые по полу, возрасту и тяжести заболевания группы: основную группу (N=30) и группу сравнения (N=30). Базовая системная и топическая терапия проводилась согласно действующим стандартам оказания стационарной медицинской помощи (РОДВК., 2016).

Дети с АД, включённые в группу сравнения, получали следующую традиционную терапию: седативную микстуру, антигистаминные препараты (при остро и/или подостро-воспалительном характере заболевания с выраженным зудом кожи), циклоспорин А (при тяжелой степени заболевания –  $kS < 40$ ). Наружно на очаги поражения применялись комбинированные препараты – топические глюкокортикостероиды 2-3 класса противовоспалительной активности в сочетании с антибактериальными средствами, крем Унны на физиологическом растворе в качестве эмоленга и анилиновые красители (фукорцин, метиленовый синий) для туширования полостных элементов (остеофолликулярные и/или фолликулярные пустулы, фликтены), эксфолиаций, трещин, серозно-гемморагических и/или гнойных корочек.

Больные с АД основной группы (дополнительно к базовой системной терапии пациентов группы сравнения) получали 10-ти дневный интраназальный

курс  $\alpha$ -глутамил триптофана по следующей методике: дети от 1 до 6 лет – 1 доза в один носовой ход 1 раз в день; от 7 до 14 лет – по 1 дозе в каждый носовой ход 1 раз в день; от 14 до 17 лет – по 1 дозе в каждый носовой ход 2 раза в день.

Наружно на очаги поражения в виде монотерапии использовали препараты микросеребра (лосьон/крем) в соответствии с характером воспаления и клинкоморфологической формой заболевания.

На 3-й, 7-й, 10-й и 14-й день терапии пациентам с АД основной группы лечения и группы сравнения проводился клинический осмотр с целью оценки тяжести состояния заболевания и эффективности терапии по динамике среднего значения kS.

Кроме того, детям основной группы и группы сравнения было проведено повторное бактериологическое исследование с имевших место ранее очагов пораженной кожи (по окончании 14-го дня) и слизистой носа (по окончании 10-го дня) для определения изменений микробного пейзажа и интенсивности обсемененности *S. aureus* исследуемых экотопов.

### **Результаты исследования и их обсуждение:**

По данным анамнеза: у 51 пациента (91,5%) манифестация АД наступила в первые 2 года жизни. Продолжительность заболевания варьировалась от 1 года до 16,5 лет; со средней длительностью клинических ремиссий от непрерывно-рецидивирующего течения до 3 месяцев. У 49 (81,6%) детей определялась наследственная предрасположенность к аллергическим заболеваниям. У 53 (88,3%) детей наблюдались сопутствующие заболевания, наиболее распространенными из которых были: атопическая бронхиальная астма, патология ЖКТ, различные нарушения психоземotionalной сферы.

По результатам клинического осмотра при поступлении в стационар у 36 детей нами была установлена эритематозно-сквамозная клинкоморфологическая форма АД, у 24 детей – эритематозно-сквамозная с лихенификацией. Острых характер воспалительного процесса наблюдался у 26

больных, подострый – у 16, хронический – у 18 детей. Средняя степень тяжести АД определена нами у 7 пациентов, тяжелое течение – у 53 детей.

По результатам цитологического исследования крови у 49 (81,6%) пациентов с АД наблюдалась стойкая эозинофилия, отклонения по остальным показателям общего анализа крови встречались в единичных случаях. При биохимическом исследовании крови значимых патологических отклонений не определялось. У 56 (93,3%) детей отмечалось повышение содержания уровня общего IgE в сыворотке крови.

Бактериологическое исследование пораженной кожи больных АД продемонстрировало колонизацию 10 видами, принадлежащими к 5 бактериальным родам: *Staphylococcus* (*S. aureus*, *S. epidermidis*, *S. hominis*, *S. capitis*, *S. haemolyticus*), *Streptococcus* (*St. viridans*, *St. cristatus*), *Enterobacter* (*E. cloacae*), *Acinetobacter* (*A. Iwofii*) и *Pseudomonas* (*P. slutzeri*). При этом колонизация/инфицирование *S. aureus* пораженной кожи было установлено нами у 56 (93,3%) детей с АД. При бактериологическом исследовании кожи здоровых детей было определено носительство 5 видов микроорганизмов, принадлежащих 3 бактериальным родам: *Staphylococcus* (*S. aureus*, *S. коагулазонегативный*), *Streptococcus* (*St. viridans*) и *Klebsiella* (*K. pneumonia*). Носительство *S. aureus* было установлено на коже у 10 (33,3%) детей.

Оценка интенсивности микробной обсемененности продемонстрировала, что из 56 детей с АД у 24 (39%) определялся обильный рост *S. aureus*, у 31 (51%) – умеренный рост, у 1 (3%) – скудный рост. В свою очередь, на коже здоровых детей нами установлен умеренный и скудный рост *S. aureus* у 5 (16,5%) человек, соответственно.

Бактериологическое исследование слизистой носа больных АД продемонстрировало колонизацию 13 видами микроорганизмов, принадлежащих к 7 бактериальным родам: *Staphylococcus* (*S. aureus*, *S. epidermidis*, *S. hominis*, *S. capitis*, *S. haemolyticus*, *S. warneri*), *Streptococcus* (*St. viridans*), *Enterobacter* (*E. cloacae*). Впервые в нашем исследовании были обнаружены микроорганизмы родов: *Moraxella*, *Corynebacterium*, *Citrobacter*, *Escherichia*, а также дрожжевые

грибы рода *Candida*. Колонизация *S. aureus* была определена у 59 (98,3%) детей с АД.

У здоровых детей на слизистой оболочке носа отмечалось носительство 6 видов микробов, принадлежащих к 5 бактериальным родам: *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Klebsiella*, *Pseudomonas*, *Sphingomonas*. Носительство *S. aureus* было установлено нами у 14 (46,6%) здоровых детей.

При оценке интенсивности микробной обсемененности *S. aureus* слизистой оболочки носа детей с АД у 11 пациентов (18,3%) отмечался обильный рост, у 36 (56,6%) – умеренный рост, у 14 (23,3%) – скудный рост. У здоровых детей на слизистой оболочке носа установлен обильный рост *S. aureus* у 2 человек (7%), умеренный и скудный рост у 6 (20%), соответственно.

Проведенное нами определение чувствительности к антибактериальным препаратам штаммов *S. aureus*, полученных с кожи и слизистых оболочек передних отделов носа у детей с АД выявило 100% чувствительность к амоксициллин-клавулановой кислоте, ампициллин-сульбактаму, даптомицину, левофлоксацину, линезолиду, оксациллину, цефокситину, фузидовой кислоте. Высокая чувствительность отмечалась к моксифлоксацину (97,7%), ципрофлоксацину (94,7%), цефазолину (96,8%), триметоприм-сульфаметоксазолу (92,6%), рифампину (89,7%). Чувствительность менее 80% определялась к гентамицину (80%), эритромицину (73,6%), хлорамфениколу (73,1%), тетрациклину (72%), клиндамицину (64,2%). Все обследованные штаммы демонстрировали 100% устойчивость к ампициллину и пенициллину.

### **Анализ результатов молекулярно-генетического исследования**

При молекулярно-генетическом исследовании изолятов *S. aureus*, выделенных с пораженной кожи 56 больных с АД, нами установлено, что гены токсинов со свойствами суперантигенов (*sea*, *seb*, *sec*, *sed*, *see*, *seg*, *sep*, *tst*) определялись у 39 человек (69,6%). Гены токсинов, кодирующие SEA, были обнаружены у 8 (14,2%) пациентов, SEB – у 3 (5,3%), SEC – у 6 (10,7%) и SEP – у

7 (12,5%). Ген *sed* был идентифицирован в 1,7% случаев. Ген *see* в данной группе больных АД не определялся. (Табл. 1)

Таблица 1. Молекулярно-генетическое исследование изолятов *S. aureus*

Гены обнаруженных токсинов	Число изолятов <i>S. aureus</i> , у которых определены гены экзотоксинов							
	Больные АД				Здоровые дети			
	Пораженная кожа		Слизистая оболочка носа		Интактная кожа		Слизистая оболочка носа	
	N	%	N	%	N	%	N	%
<i>sea</i>	8	14,2	6	10,1	-	-	-	-
<i>seb</i>	3	5,3	4	6,7	-	-	-	-
<i>sec</i>	6	10,7	8	13,5	2	20	2	13,3
<i>sed</i>	1	1,7	-	-	-	-	-	-
<i>see</i>	-	-	1	1,7	-	-	-	-
<i>seg</i>	28	50	33	55,9	2	20	5	33,3
<i>sep</i>	7	12,5	8	13,5	-	-	-	-
<i>tst</i>	11	19,6	9	15,2	1	10	2	13,3
Не обнаружено	17	30,3	16	27,1	7	70	8	53,3

У штаммов *S. aureus*, выделенных с пораженной кожи больных АД, определено носительство гена одного экзотоксина: *seg* – у 10 (17,8%) детей, *sea* – у 3 (5,3%), *sep* – у 2 (3,5%), *tst* – у 1 (1,7%); 2-х экзотоксинов у 21 (37,5%) пациента, в том числе: *seg+tst* – у 8 (14,2%), *seg+sec* – у 4 (7,1%), *seg+sea* – у 4 (7,1%), *seb+sep* – у 2 (3,5%), *sep+tst* – у 2 (3,5%), *seg+seb* – у 1 (1,7%), *sea+sec* – у 1 (1,7%). У одного ребенка был выделен штамм *S. aureus*, который содержал одновременно гены 3-х токсинов *seg+sec+sep*. (Табл. 2).

Были исследованы изоляты *S. aureus*, полученные со слизистых оболочек передних отделов носа больных АД. В 43 (72,8%) изолятах были определены 1 и более генов токсинов со свойствами суперантигенов (*sea*, *seb*, *sec*, *sed*, *see*, *seg*, *sep*, *tst*). Самым распространенным являлся ген *seg*, обнаруженный у 33 (55,9%) пациентов. Ген *tst* определялся у 9 (15,2%) детей, гены *sep* и *sec* – у 8 (13,5%),

соответственно. У 6 (10,1%) изолятов был идентифицирован ген *sea*, а *seb* – у 4 (6,7%).

Установлены гены одного токсина: *seg* – у 12 (20,3%) пациентов, *sea* – у 3 (5,0%), *sep* – у 3 (5,0%), *sec* и *tst* – у 1 (1,6%), соответственно; гены 2-х токсинов одновременно: *seg+tst* – у 8 (13,5%) пациентов, *seg+sec* – у 6 (10,1%), *seg+sea* – у 2 (3,3%), *seb+sep* – у 2 (3,3%), *seg+sep* – у 2 (3,3%), *seg+seb* – у 1 (1,7%); гены 3-х токсинов: *seg+sep+sec* – у 1 (1,7%) пациента, *seg+sea+seb* – у 1 (1,7%). (Табл. 2)

При молекулярно-генетическом исследовании изолятов с поверхности кожных покровов и слизистых оболочек носа гены лейкоцидина *LukDE* обнаружены в 45 (80,3%) и 44 (74,5%) случаев, соответственно.

При исследовании изолятов, полученных с пораженной кожи и слизистой полости носа детей с АД на предмет обнаружения генов кластера иммунного уклонения (*chr*, *scn*, *sak*), было установлено, что 52 (92,5%) изолята, полученных с очагов кожных поражений, несли ген *scn*, 49 (87,5%) – ген *chr* и 47 (83,9%) – ген *sak*. При исследовании изолятов со слизистой оболочки полости носа детей с АД, в 55 (93,2%) из них обнаружено носительство гена *scn*, в 46 (77,9%) – гена *chr* и в 51 (86,4%) – гена *sak*.

Таблица 2. Сочетанное носительство нескольких генов экзотоксинов *S. aureus*

		Больные АД				Здоровые дети			
		Пораженная кожа		Слизистая оболочка носа		Интактная кожа		Слизистая оболочка носа	
	Ген	N	(%)	N	(%)	N	(%)	N	(%)
<b>1</b> ген	<i>seg</i>	10	17,8%	12	20,3%	1	3,3%	3	10%
	<i>sea</i>	3	5,3%	3	5%	-	-	-	-
	<i>sec</i>	-	-	1	1,7%	-	-	1	3,3%
	<i>tst</i>	1	1,7%	1	1,7%	-	-	1	3,3%
	<i>sep</i>	2	3,5%	-	-	-	-	-	-
<b>2</b> гена	<i>seg + tst</i>	8	14,2%	8	13,5%	1	3,3%	1	3,3%
	<i>seg + sec</i>	4	7,1%	6	10,1%	1	3,3%	1	3,3%
	<i>seg + sea</i>	4	7,1%	2	3,3%	-	-	-	-
	<i>seb + sep</i>	2	3,5%	2	3,3%	-	-	-	-
	<i>seg + sep</i>	-	-	2	3,3%	-	-	-	-

	<i>seg + seb</i>	1	1,7%	1	1,7%	-	-	-	-
	<i>sep + tst</i>	2	3,5%	-	-	-	-	-	-
	<i>sea + sec</i>	1	1,7%	-	-	-	-	-	-
<b>3 гена</b>	<i>seg + sec + sep</i>	1	1,7%	1	1,7%	-	-	-	-
	<i>seg + sea + seb</i>	-	-	1	1,7%	-	-	-	-

При исследовании 10 изолятов *S. aureus* с поверхности кожи здоровых детей, у 3 из них обнаружены гены токсинов, обладающих свойствами суперантигенов. Ген одного токсина *sec* был обнаружен в одном изоляте, гены двух токсинов (*seg+tst* и *seg+sec*, соответственно) – одновременно в двух.

Аналогичное исследование 14 (46,6%) изолятов *S. aureus*, полученных со слизистой оболочки носа здоровых детей показало, что у 7 (23,3%) участников исследования обнаружены штаммы *S. aureus*, несущие гены экзотоксинов. У 5 детей определялся *S. aureus*, несущий ген 1 экзотоксина: *seg* – у 3 детей, *tst* – у 1 ребенка, *sec* – у 1 ребенка; гены 2 экзотоксинов были обнаружены у 2 детей: *seg+tst* – 1 ребенка, *seg+sec* – 1 ребенка.

Исследование изолятов *S. aureus*, полученных с кожи здоровых детей продемонстрировало у 3 (10%) детей носительство гена лейкоцидина *LukDE*, у 8 (26,6%) – генов *sak* и *scn*, у 4 (13,3%) – гена *chr*. При исследовании изолятов со слизистой оболочки носа на предмет обнаружения генов лейкоцидина *LukDE* и кластера иммунного уклонения (*chr*, *scn*, *sak*), было установлено, что 5 (16,6%) изолятов имеют ген лейкоцидина *LukDE*, 13 (43,3%) – ген *scn*, 11 (36,6%) – ген *chr* и 12 (40%) – ген *sak*.

### **Оценка эффективности комбинированной коррекции стафилококковой инфекции/носительства различными формами препарата микросеребра и $\alpha$ -глутамил триптофаном у детей с АД.**

Нами проведена оценка клинической эффективности предложенной методики комбинированной терапии стафилококковой колонизации/инфицирования с использованием различных форм препаратов микросеребра и  $\alpha$ -глутамил триптофана. У детей с АД, включенных в основную группу исследования, наблюдалось снижение среднего значения SCORAD с  $62,85 \pm 13,23$

до  $18,95 \pm 7,25$ , что составило 69,6% от исходного значения. В свою очередь, динамика изменений среднего значения SCORAD в группе сравнения продемонстрировала его снижение с  $57,45 \pm 12,92$  в начале исследования, до  $21,45 \pm 8,35$  на 14 день терапии, что составило 63% от первоначального значения. (Рис. 1). При сравнении результатов лечения, различия были статистически незначимы  $p=0,1858$ , ( $p > 0,05$ ).

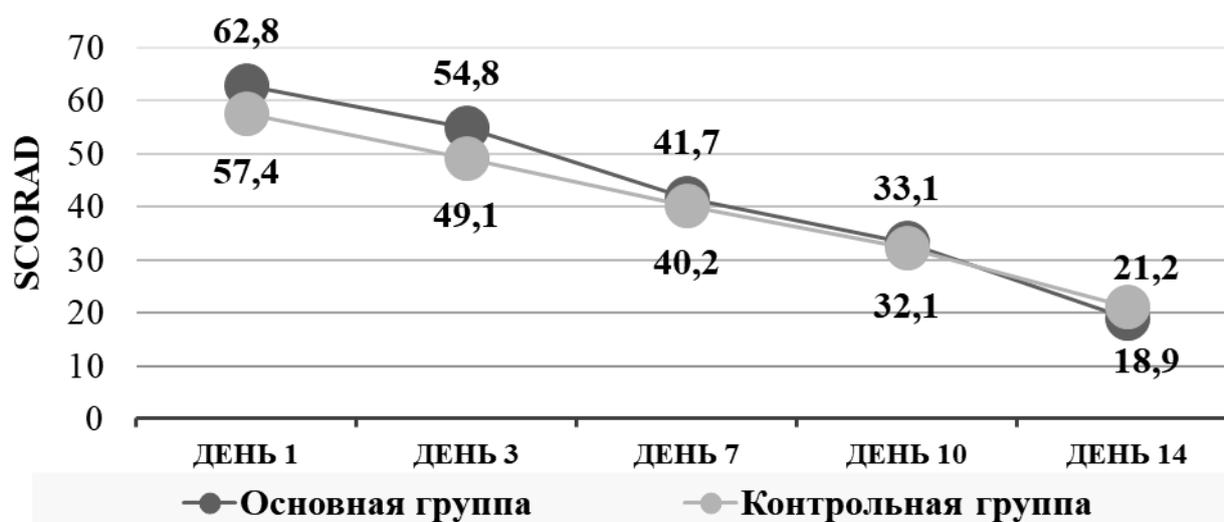


Рисунок 1. Динамика SCORAD основной группы и группы сравнения

Повторное бактериологическое исследование кожного покрова у детей основной группы, проведенное на 14 день исследования, продемонстрировало: у 28 (93,3%) детей отмечалось значительное уменьшение интенсивности колонизации. Так, у 7 (23,3%) детей наблюдалась полная санация *S. aureus* с поверхности кожи, обрабатываемой препаратом микросеребра, у 6 (20%) – умеренный рост, у 17 (56,6%) – скудный рост. При повторном бактериологическом исследовании группы сравнения колонизация кожи наблюдалась у 26 (86,6%) детей. При этом установлено: обильный рост в посевах отмечался у 5 (16,6%) детей, умеренный рост – у 11 (36,6%), скудный рост – у 10 (33,3%). Ни у одного больного не наблюдалось санации *S. aureus*. (Табл. 3)

Таблица 3. Изменение интенсивности колонизации кожи *S. aureus*

Интенсивность роста <i>S. aureus</i>	Пораженная кожа							
	Основная группа (N=30)				Группа сравнения (N=30)			
	День 1		День 14		День 1		День 14	
	N	%	N	%	N	%	N	%
Обильный рост	11	37%	-	-	13	46%	5	17%
Умеренный рост	18	60%	6	20%	13	46%	11	37%
Скудный рост	1	3%	17	57%	-	-	10	33%
Санация	-	-	7	23%	-	-	-	-
Роста нет	-	-	-	-	4	13%	4	13%

Повторное бактериологическое исследование слизистых оболочек носа у детей основной группы продемонстрировало изменение степени колонизации *S. aureus*. У 5 (16,6%) пациентов зафиксирована санация *S. aureus*, у 8 (26,6%) детей – умеренный рост, у 17 (56,6%) – скудный рост. Тогда как, у детей группы сравнения, не получавших терапию, направленную на санацию *S. aureus*, положительной динамики не было, более того отмечалось увеличение интенсивности обсемененности данного экотопа *S. aureus*. У 13 (43,3%) детей наблюдался обильный рост *S. aureus*, у 17 (56,6%) – умеренный рост. (Табл. 4)

Таблица 4. Изменение интенсивности колонизации слизистой оболочки носа *S. aureus*

Интенсивность роста <i>S. aureus</i>	Слизистая оболочка носа							
	Основная группа (N=30)				Группа сравнения (N=30)			
	День 1		День 10		День 1		День 10	
	N	%	N	%	N	%	N	%
Обильный рост	4	13%	-	-	4	13%	13	43%
Умеренный рост	19	63%	8	27%	19	63%	17	57%
Скудный рост	7	23%	17	57%	7	23%	-	-
Санация	-	-	5	17%	-	-	-	-

Отдаленные результаты наблюдения за детьми основной группы исследования, продолжавших использовать препарат микросеребра в составе базовой терапии после окончания исследования, свидетельствовали об увеличении продолжительности периодов ремиссий в первые 3, 6 и 12 месяцев у 76,6%, 60% и

43,3% случаев, соответственно. Тогда как, по отдаленным результатам наблюдения у детей группы сравнения увеличение продолжительности клинической ремиссии в 3, 6 и 12 наблюдалось в 40%, 30% и 16,6% случаев, соответственно. (Табл. 5)

Таблица 5. Увеличение продолжительности клинических ремиссий у больных АД

Интервал оценки	Основная группа		Группа сравнения	
	N	%	N	%
<b>3 месяца</b>	<b>23</b>	<b>76,6</b>	<b>12</b>	<b>40</b>
<b>6 месяцев</b>	<b>18</b>	<b>60</b>	<b>9</b>	<b>30</b>
<b>12 месяцев</b>	<b>14</b>	<b>43,3</b>	<b>5</b>	<b>16,6</b>

Статистический анализ полученных данных подтвердил, что предложенная терапевтическая методика, направленная на санацию *S. aureus*, с помощью микросеребра, не уступала по эффективности традиционной терапии АД, включающей комбинированные антибактериальные/глюкокортикостероидные препараты  $\rho=0,1858$ , ( $\rho>0,05$ ). Была подтверждена корреляционная связь между тяжестью состояния больных АД и интенсивностью колонизации *S. aureus*,  $\rho=0,716$ , сила связи по шкале Чеддока – высокая. Влияние генов токсинов со свойствами суперантигенов *S. aureus* на тяжесть течения АД было статистически незначимо,  $\rho=0.3569$ , ( $\rho>0,05$ ). Наличие у штаммов *S. aureus* гена лейкоцидина *LukDE*, влияло на среднюю тяжесть течения АД, различия статистически значимы  $\rho=0,009$ , ( $\rho<0,05$ ). Между тяжестью АД и наличием у *S. aureus* генов *LukDE* и кластера иммунного уклонения (*scn*, *chp*, *sak*) отмечалась корреляционная связь умеренной силы,  $\rho=0,459$  и  $\rho=0,48$ , соответственно.

В результате настоящего исследования установлено, что у больных АД преобладает колонизация пораженной кожи и слизистой оболочки носа штаммами *S. aureus*, несущими гены экзотоксинов *seg*, *tst*, *sep*, *sea*, *sec*, лейкоцидина *LukDE*, а также факторов иммунного уклонения (*scn*, *chp*, *sak*). Подтверждена корреляция между тяжестью течения АД и наличием у *S. aureus* генов лейкоцидина *LukDE* и факторов иммунного уклонения (*scn*, *chp*, *sak*). Подтверждена клиническая и лабораторная эффективность терапии,

направленной на санацию *S. aureus*, с помощью  $\alpha$ -глутамил триптофана и препаратов микросеребра.

## **ВЫВОДЫ:**

1. У наблюдаемых нами больных АД, отягощенным колонизацией *S. aureus*, было определено среднетяжелое и тяжелое течение дерматоза, SCORAD [29.0; 88.1]. У больных наблюдался острый, подострый и хронический характер воспалительного процесса, продолжительность заболевания от 1 месяца до 16,5 лет, с частотой обострений от 1 раза в 3 месяца до непрерывно-рецидивирующего течения, высокая частота сопутствующих аллергических заболеваний, на ряду с повышенным уровнем эозинофилов и общего IgE в сыворотке крови.

2. У пациентов с АД, по сравнению со здоровыми детьми, определялась тотальная колонизация *S. aureus* пораженной кожи и слизистых оболочек носа. Интенсивность роста *S. aureus* на исследованных экотопах больных АД многократно превосходила показатели, полученные от здоровых детей. Изоляты *S. aureus*, полученные более чем от 2/3 детей с АД, несли гены лейкоцидина *LukDE*, кластера иммунного уклонения и экзотоксинов, из которых преобладали: *seg*, *tst*, *sep*, *sea*, *sec*. У здоровых детей изоляты, с соответствующими генами, определялись менее чем в 1/3 случаев.

3. Между тяжестью течения АД и колонизацией *S. aureus*, несущими ген лейкоцидина *LukDE* и гены кластера иммунного уклонения была определена корреляционная связь умеренной силы, тогда как между тяжестью течения и наличием генов экзотоксинов корреляционная связь была слабая.

4. Комбинированная терапия с применением топических форм препарата микросеребра и  $\alpha$ -глутамил триптофана продемонстрировала высокую клиническую эффективность, способствовала снижению средних значений SCORAD и уменьшению колонизации *S. aureus*, вплоть до полной санации, что было подтверждено повторным бактериологическим исследованием. Катамнестические данные свидетельствовали об увеличении продолжительности

клинической ремиссии в 2,5 раза у пациентов, получавших в течение года препараты микросеребра, по сравнению с группой сравнения, применявшей традиционные эоленты.

### **Практические рекомендации**

1. С целью прогнозирования тяжести течения АД и определения подхода к терапии АД, включающего санацию организма от микробных патогенов, рекомендуется проведение молекулярно-генетического исследования клинических изолятов *S. aureus*, персистирующих у больных АД.

2. Для санации патогенной микрофлоры на слизистой оболочке полости носа рекомендуется назначение назальной формы  $\alpha$ -глутамил триптофана в течение 10 дней, в следующих дозах: детям от 1 года до 6 лет – 1 дозу в один носовой ход, 7-14 лет – по 1 дозе в каждый носовой ход 1 раз в день, детям от 14 лет и взрослым – по 1 дозе в каждый носовой ход 2 раза в день.

3. С целью санации *S. aureus* с очагов пораженной кожи и удлинения периода ремиссии АД рекомендуется топическое применение препаратов микросеребра, в форме лосьона или крема 2-3 раза в день как на очаги пораженной, так и на участки видимо здоровой кожи.

### **Список работ, опубликованных по теме диссертации:**

1. Тихомиров, Т.А. Микробиологические аспекты воспалительного процесса различных локализаций у детей, страдающих атопическим дерматитом/ Т.А. Тихомиров, В.Н. Короткий, А.А. Тихомиров// Материалы VII международной научно-практической конференции «Наука в современном информационном обществе». – 2015. – 1. – с. 16-18.
2. Тихомиров, Т.А. Роль золотистого стафилококка в развитии и течении атопического дерматита/ Т.А. Тихомиров, В.Н. Короткий // Материалы II международной научно-практической конференции «Проблемы современной медицины: актуальные вопросы». – 2015. – 1. – с. 68-70.
3. Тихомиров, Т.А. Микробиологические особенности воспалительного процесса в различных экотопах у детей, страдающих атопическим дерматитом/ Т.А. Тихомиров,

- Н.И. Федорова, В.Н. Короткий, А.А. Тихомиров, О.А. Дмитренко// **Клиническая дерматология и венерология**. – 2016. – 15(3). – с. 43-47.
4. Короткий, Н.Г. Атопический дерматит / Н.Г. Короткий, Т.А. Тихомиров, А.В. Таганов, В.Н. Короткий, А.А. Тихомиров. – М.: ООО «Прондо», 2016. – с. 576.
  5. Tikhomirov, T. Microbiological characteristics of staphylococcal infection of different ecotopes in children with atopic dermatitis/ Т. Tikhomirov, V. Korotkiy. O. Dmitrenko// Abstract, 25th Congress European Academy of Dermatology and Venereology. – Vienna (Austria), 28 September – 2 October 2016.
  6. Tikhomirov, T. Changes in the skin microbiome in children with atopic dermatitis with the use of Microsilver cream/ Т. Tikhomirov, N. Korotkiy. A. Taganov, A. Tikhomirov// Abstract, 26th Congress European Academy of Dermatology and Venereology. – Geneva (Switzerland), 13 – 17 September 2017.
  7. Тихомиров, Т.А. Молекулярно-генетические особенности *Staphylococcus aureus* у детей и подростков, страдающих атопическим дерматитом, в России/ Т.А. Тихомиров, О.А. Дмитренко// Материалы Российско-китайского конгресса по медицинской микробиологии, эпидемиологии и клинической микологии «Проблемы медицинской микологии». – 2017. – 19(2). – с.144.
  8. Тихомиров, Т.А. Применение топических форм препарата микро серебра в комплексной терапии атопического дерматита, осложненного стафилококковой инфекцией/ Т.А. Тихомиров, В.Н. Короткий, А.А. Тихомиров, А.В. Таганов, Н.И. Федорова// Сборник тезисов XI Международного форума дерматовенерологов и косметологов. – 2018. – с.121.
  9. Тихомиров, Т.А. Целесообразность использования наружных форм микро серебра в комплексной терапии атопического дерматита у детей/ Т.А. Тихомиров, Н.Г. Короткий, А.А. Тихомиров, А.В. Таганов// **Вестник последипломного медицинского образования**. – 2018. – (1). – с. 34-37.
  10. Тихомиров, Т.А. Сравнительный анализ частоты колонизации больных атопическим дерматитом и здоровых детей представителями вида *Staphylococcus aureus*, содержащих гены токсинов, обладающих свойствами суперантигенов/ Т.А. Тихомиров, О.А. Дмитренко, А.А. Тихомиров, Н.И. Федорова, Н.Г. Короткий // **Педиатрия**. – 2018. – 97(2). – с. 86–93.