

ВИВЧЕННЯ ФАКТОРІВ ПАТОГЕННОСТІ СТАФІЛОКОКОВОЇ МІКРОФЛОРИ ШКІРИ У ХВОРИХ НА ПОШИРЕНІ ДЕРМАТОЗИ

Джорасва С.К., Кутасевич Я.Ф., Олійник І.О., Гончаренко В.В.,
Іванцова О.К., Щоголева О.В., Васильєва О.С.

ДУ «Інститут дерматології та венерології НАМН України»

Резюме. Стаття присвячена вивченню біологічних характеристик лабораторних штамів різновидів стафілококів, вилучених від хворих з тяжкими розповсюдженими дерматозами, і порівнянню їх з властивостями ізолятів, отриманих від практично здорових людей. Встановлено, що стафілококова мікрофлора не тільки є найбільш представленою складовою мікроценозу шкіри, а й може приймати участь у розвитку та обтяженні патологічного процесу, що може виражатися у збільшенні ступеню обміненія, витискуванню нормальної мікрофлори більш агресивними штамми *S. aureus* та *S. haemolyticus*, що особливо спостерігається у пацієнтів, які отримували імуносупресивну терапію.

Ключові слова: поширені дерматози, мікробіоценоз шкіри, фактори патогенності стафілококів.

ВСТУП

В останні роки спостерігається зростання рівня захворюваності на поширені дерматози (аллергодерматози, псоріаз, пухирчатка, еротридермії, пухирні дерматози та ін) зі збільшенням кількості важких форм цих захворювань [2-4]. Вплив несприятливої екологічної ситуації, загальне погіршення здоров'я населення, агресивне розповсюдження бактеріальної, вірусної та мікотичної флори, резистентної до фармакологічного впливу, досить суттєво змінює перебіг цих дерматозів та призводить до розвитку більш тяжких форм, що характеризуються безперервно рецидивуючим перебігом та вираженими мікробно-запальними проявами [5, 12]. Мікробіологічні дослідження при цих захворюваннях упродовж останніх 20 років були присвячені вивченню ролі стафілоко-

кової мікрофлори шкіри, як найбільш вагомої складової мікроценозів шкіри людини. У результаті досліджень було встановлено, що ступінь колонізації шкіри *Staphylococcus aureus* прямо корелює з тяжкістю перебігу дерматозів. Так, наявність стафілококової інфекції при atopічному дерматиті часто стає пусковим фактором загострення захворювання [6, 7].

Тому, **метою** даного дослідження було обрано вивчення факторів патогенності стафілококової мікрофлори шкіри у групах хворих на поширені дерматози.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

У дослідження було включено 45 пацієнтів з тяжкими та розповсюдженими дерматозами, що знаходились на стаціонарному

лікуванні у дерматологічному відділенні ДУ «ІДВ НАМН України». Контрольну групу склали 15 волонтерів відповідного віку та статі. Матеріал для дослідження брали з ділянок, розташованих на передпліччях, внутрішній поверхні стегон, грудній клітці, животі, спині, обличчі та ін. з уражених ділянок шкіри: при атопічному дерматиті – з вогнищ ліхеніфікації, при псоріазі – з псоріатичних бляшок. Ідентифікацію аеробних грампозитивних, аеробних грамнегативних ферментуючих та неферментуючих бактерій, вилучених з різних ділянок шкіри, проводили за допомогою рутинних методів на підставі морфологічних, культуральних та біохімічних властивостей [9]. Визначення чутливості вилучених аеробних мікроорганізмів до антибактеріальних препаратів за допомогою диск-дифузійного методу та інтерпретацію отриманих результатів проводили згідно нормативних документів МОЗ України [10]. Резистентні та помірно-резистентні мікроорганізми були об'єднані до групи нечутливих штамів.

Контроль якості методики визначення чутливості мікроорганізмів до антибіотиків, якість реагентів, що використовувались (поживні середовища та диски з антибіотиками) проводилась з застосуванням контрольних штамів Американської колекції типових культур (ATCC): *S. aureus* ATCC 25923, *E. coli* ATCC 25922, *P. aeruginosa* ATCC 27853, *E. faecalis* ATCC 29212.

Матеріал з вогнища та контрольної ділянки засівали на поживні та диференціально-діагностичні середовища (простий агар, кров'яний агар, агар Чистовича, сироватко-телурітовий агар, середовище Ендо, агар з метиленовим синім та ін.). При дослідженні мікрофлори шкіри враховували: загальне бактеріальне обсіменіння, грампозитивні коки родини *Micrococcaceae* (стафілококи, мікрококи, стрептококи), коринебактерії та грамнегативні мікроорганізми (ентеробактерії, псевдомонади) з подальшим вивченням факторів патогенності стафілококової складової мікроценозів шкіри [11].

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

На першому етапі дослідження було проведено вивчення мікробного пейзажу шкіри з відокремленням лабораторних штамів стафілококів. У результаті бактеріологічних досліджень було вилучено 120 штамів мікроорганізмів від пацієнтів та 40 штамів від практично здорових людей. У посіві з вогнища у всіх пацієнтів домінували мікроорганізми роду *Staphylococcus* (65,0%), а саме: *S. aureus* (22,7%), *S. haemolyticus* (15,9%), *S. epidermidis* (13,6%), *S. warneri* (9,1%), *S. cohnii* (6,8%) та *S. saprophyticus* (4,6%). Крім того, представники роду *Staphylococcus* утворювали асоціації з *Corynebacterium* spp., *Micrococcus* spp. та *Streptococcus* spp. Ступінь загального мікробного обсіменіння коливався від $<1 \times 10^3$ до 1×10^7 КОЕ/мл. Частіш за все з осередку ураження вилучали 2 мікроорганізми (асоціація різних видів стафілококів визначалась у 40,0%, стрептококів зі стафілококами – у 15,0%, стафілококів з мікрококами або з коринебактеріями у 10,0% та мікрококів з коринебактеріями у 5% випадків). Мікробний склад контрольної групи був представлений стафілококами і складався зі *S. epidermidis* (82,5%), *S. haemolyticus* (5,0%), *S. aureus* (2,5%) та інших (10,0%). Після проведеного лікування у пацієнтів при дослідженні ураженої шкіри спостерігалася тенденція до збільшення мікробного обсіменіння на 1-2 порядки та зростання кількості штамів стафілококів з гемолітичною активністю: *S. aureus* та *S. haemolyticus* – до 26,6% та 20,0%, відповідно, що пов'язано з застосуванням препаратів імуносупресивної дії.

При дослідженні чутливості вилучених штамів *S. aureus* до антибактеріальних препаратів було встановлено, що дані мікроорганізми виявили високу чутливість до гентаміцину (95,2%), ципрофлоксацину (89,5%), азитроміцину (68,4%); середню чутливість до доксицикліну, левоміцетину та лінкоміцину (38,1%, 47,4% та 50,0% штамів відповідно); та високу резистентність до пеніциліну. Резистентність до оксациліну складала 18,5%. Штамів, резистентних до ванкомі-

цину, не виділено. При дослідженні чутливості до антибактеріальних препаратів коагулазонегативних стафілококів було встановлено, що дослідні штами були чутливі до гентаміцину (90,3%), ципрофлоксацину (78,5%), доксицикліну (64,5%); менш чутливі до азітроміцину, лінкомцину та левоміцетину (59,1%, 58,1% та 35,4% відповідно). Резистентність до оксациліну склала 26,9%. Штамів, резистентних до ванкоміцину, не виділено. Звертає на себе увагу наявність у коагулазонегативних стафілококів більш високої резистентності до оксациліну, що свідчить про посилення агресивності даних мікроорганізмів та можливої їх ролі у розвитку патологічного процесу.

На наступному етапі дослідження було проведено визначення основних факторів патогенності, а саме: коагулазної активності, лецитиназної активності, гемолітичної активності, ліпазної активності а також модифікацію патогенних властивостей в умовах сокультивування у парах «патоген-сімбіонт», вивчення міжштамових взаємовідносин бактерій роду *Staphylococcus*.

Відомо, що представники виду *S. aureus* володіють вираженою коагулазною та лецитиназною активністю, що чітко відрізняє їх від інших представників роду. Нами було встановлено, що усі отримані лабораторні штами *S. aureus* виявили дані ознаки патогенності.

Перебування мікроорганізмів у макроорганізмі передбачає різноманітні механізми їх адаптації до факторів природної резистентності хазяїна з метою забезпечення необхідних умов для початку активного розвитку мікробів. Однією з таких властивостей є гемолітична активність (ГА), яку вивчали шляхом модифікації патогенних властивостей стафілококів в умовах сокультивування у парах „патоген-індиген”. Для проведення дослідів було відібрано 24 штами стафілококів, вилучених з відповідних ділянок дослідної та контрольної груп. В результаті проведених досліджень виявлено, що *S. haemolyticus* підсилював ГА *S. aureus* у 66,7% випадків (рис.1В) у порівнянні зі *S. epidermidis*, що

виявляв дану властивість лише у 25,0%. Поряд с цим відзначено, що деякі представники роду були індиферентними у цьому відношенні (рис.1Б). Звертає на себе увагу, що співіснування одних й тих самих видів мікроорганізмів може призвести до протилежних результатів (рис.1А).



Рис.1 Визначення ГА при сокультивуванні в парах «індиген-патоген».

А – пригнічення ГА при культивуванні *S. aureus* та *S. epidermidis*;

Б - індиферентність ГА при культивуванні *S. aureus* та *S. warneri*;

В - підсилення ГА при культивуванні *S. aureus* та *S. haemolyticus*

Так, відмічено пригнічення ГА у 14,5% для штамів, виділених з уражених ділянок шкіри, та у 30,5% - з контрольних: придушення ГА *S. aureus* реєструвалось при сумісному культивуванні з *S. haemolyticus* у 12,5%, а при культивуванні з *S. epidermidis* – у 37,5%.

Для вивчення міжштамових взаємовідносин було відібрано 6 різновидів стафілококів, а саме *S. epidermidis*, *S. haemolyticus*, *S. aureus*, *S. warneri*, *S. cohnii*, *S. saprophyticus*. Дослідження біосумісності стафілококів проводили методом сумісного культивування на щільному поживному агарі [1]. Отримані результати дозволили нам розподілити штами на 3 групи: з сильною, середньою та слабкою антагоністичною активністю. При аналізі ступеня вираженості міжштамового антагонізму виявлено, що до групи штамів з

сильною антагоністичною активністю було віднесено штами *S. aureus* та *S. haemolyticus*, де відзначалась наявність зони пригнічення однієї культури по периферії плями іншої або виражена зона затримки розвитку культури (рис. 2А). До штамів з середньою антагоністичною властивістю було віднесено *S. epidermidis*, *S. warneri*, *S. saprophyticus*,

де спостерігався „вихід однієї культури наверх”, яка пригнічувала розвиток іншої культури (2Б). Сінергійні взаємовідносини – виявлення зон повного „злиття” плям або підсилення росту дослідних штамів у зоні сумісного культивування - спостерігали лише при посіві культур, що відносяться до одного виду (2В).

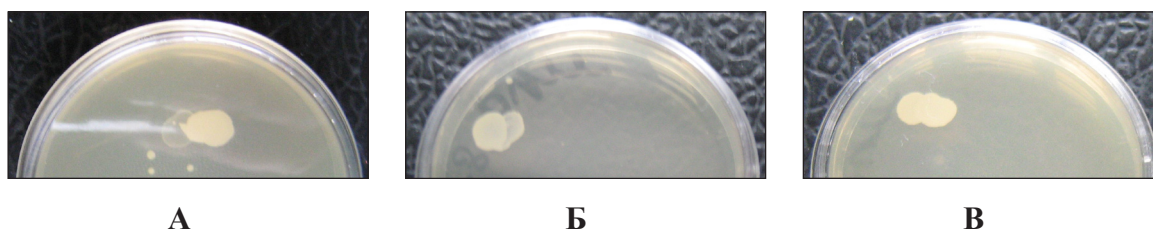


Рис.2 Міжвидова антагоністична активність бактерій роду *Staphylococcus*. А – сильна антагоністична активність, Б – середня антагоністична активність, В – сінергізм

Найбільш слабку антагоністичну властивість проявляли штами *S. cohnii* (не ілюстровано).

Одним з вагомих факторів патогенності стафілококів є ліпазна активність, якою во-

лодіють лише 10% штамів *S. haemolyticus* та *S. epidermidis*, на відміну від *S. aureus*, для усіх ізолятів якого притаманна данна властивість, що ще раз підтверджує його високий патогенний потенціал (рис.3).

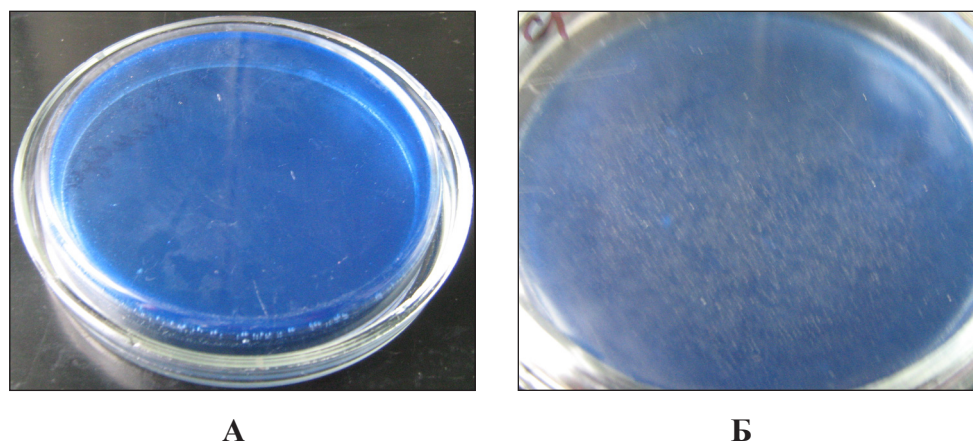


Рис.3 Дослід на наявність ліпазної активності. А – відсутність ліпазної активності (*S. epidermidis*), Б – присутність ліпазної активності (*S. aureus*)

Враховуючи, що найбільш досяжними субстратами для мікроорганізмів, що знаходяться на здоровій шкірі, є жири сального секрету та амінокислоти з потового секрету [8], стає зрозумілим переважання на цих ділянках *S. epidermidis*. Крім того, відсутність гемвісуючого субстрату, незалежно від рівня секреції ліпідів, призводить до зниження частоти виявлення *S. aureus*, на від-

міну від уражених ділянок шкіри, де, як при atopічному дерматиті, так і при псоріазі частота виявлення штамів *S. aureus* вище, ніж *S. haemolyticus* та *S. epidermidis*, чому також сприяє наявність мікроушкоджень при псоріазі, мікротріщин та екскоріацій при atopічному дерматиті, порушень цілісності шкіри при пухирних дерматозах.

ВИСНОВКИ

1. У результаті проведених досліджень встановлено, що стафілококова мікрофлора не тільки є найбільш представленою складовою мікроценозів шкіри, а й може приймати участь у розвитку та обтяженні патологічного процесу, що може виражатися у збільшенні ступеню обміненія, витискуванням нормальної мікрофлори більш агресивними штамми, а саме *S. aureus* та *S. haemolyticus*, що особливо спостерігається у пацієнтів, які отримували імуносупресивну терапію.

2. В умовах сокультивування в парах «патоген-індиген» штами індигенної мікрофлори, вилучені з мікроценозів з золотистим стафілококом, чинять вплив на підвищення його патогенного потенціалу, що підтверджується результатами визначення гемолітичної активності при сумісному культивуванні штамів у парах. Так, сокультивування *in vitro* *S. aureus* - *S. haemolyticus* у переважній більшості випадків приводить до підси-

лення патогенних властивостей золотистого стафілококу.

3. У результаті вивчення міжштамових взаємовідносин встановлено високий рівень патогенного потенціалу штамів *S. aureus*, вилучених від хворих на поширені дерматози, які виявляли найсильнішу антагонистичну активність і практично пригнічували розвиток всіх інших різновидів стафілококів в відміну від ізолятів того ж виду, виділених від практично здорових людей, що мали менш виражені патогенні властивості і виявляли лише зони затримки росту інших культур.

4. Результати аналізу досліджених властивостей лабораторних штамів стафілококів (*S. haemolyticus* та *S. aureus*) показали, що наявність мікроушкоджень при псоріазі, мікротріщин й екскоріацій при атопічному дерматиті та ерозивних поверхонь при пухирних дерматозах сприяють появі більш агресивних ізолятів з вираженим патогенним потенціалом, що в результаті призводить до обтяження перебігу основного захворювання.

ЛІТЕРАТУРА

1. Глушанова Н.А. Автореферат дис. на соиск. ... д-ра мед.наук. М.: ФГУНМНИИСМ им.Г.Н.Габричевского Роспотребнадзора. – 2005. – 24 с.
2. Кагунина, О. Р. Современные представления об участии кожи в иммунных процессах / О. Р. Кагунина, А. В. Резайкина // Вестник дерматологии и венерологии. – 2009. – № 2. – С. 39-46.
3. Кутасевич Я.Ф. Современный взгляд на проблему псориаза / Я.Ф. Кутасевич // Дерматология та венерология. – 2002. – № 2 (16). – С. 3 - 10.
4. Лютина, Е. И. К вопросу об эпидемиологии аллергических заболеваний / Е. И. Лютина, Ф. К. Манеров // Аллергология. – 2004. – № 4. – С. 55-57.
5. Мокроносова, М. А. Влияние *Staphylococcus aureus* на течение атопического дерматита / М. А. Мокроносова // Аллергология. – 2003. – № 1. – С. 46-50.
6. Мониторинг стафилококковой микрофлоры кожи у больных атопическим дерматитом / Л. В. Текучёва, Е. В. Зайцева, В. Г. Арзуманян, Р. М. Темпер // Вестник дерматологии и венерологии. – 2006. – № 5. – С. 69-72.
7. Определение кокковой и дрожжевой микрофлоры кожи у больных с кожной патологией: Пособие для врачей / В.Г. Арзуманян Е. В. Зайцева Р. М. Темпер [и др.]. – М.: Медицина, 2004. – 150 с.
8. Оценка стафилококковой и нелипофильной дрожжевой микрофлоры кожи у больных с кожной патологией при контактном способе посева / В.Г. Арзуманян Е. В. Зайцева Т. И. Кабаева Р. М. Темпер // Вестник дерматологи и венерологи. – 2004. – № 6. – С. 4 - 8.
9. Приказ МЗ СССР № 535 от 22.04.1985 «Об унификации микробиологических (бактериологических) методов исследования, применяемых в клинико-диагностических лабораториях лечебно-профилактических учреждений».

10. Приказ МЗ Украины № 167 от 05.04.2007 «Про затвердження методичних вказівок «Визначення чутливості мікроорганізмів до антибактеріальних препаратів».

11. Фалова О.Е. Модификация свойств патогенности микроорганизмов кожи в условиях бактериальных ассоциаций при хронических дерматозах / О.Е.Фалова // Современные наукоемкие технологии. – 2010. – № 1 – С. 42-43 .

12. Noble Ed.W.C. The skin microflora and microbial skin disease / Ed.W.C. Noble // Cambridge univ.press. – 1993. – № 66. – P. 8.

**ИЗУЧЕНИЕ ФАКТОРОВ
ПАТОГЕННОСТИ
СТАФИЛОКОККОВОЙ
МИКРОФЛОРЫ
КОЖИ У БОЛЬНЫХ С
РАСПРОСТРАНЕННЫМИ
ДЕРМАТОЗАМИ**

**С.К. Джораева,
Я.Ф. Кутасевич,
И.А. Олейник,
В.В. Гончаренко,
Е.К. Иванцова,
Е.В. Щеголева,
Е.С. Васильева**

Резюме. *Статья посвящена изучению биологических характеристик лабораторных штаммов разных видов стафилококков, выделенных от больных с тяжелыми распространенными дерматозами, и сравнению их со свойствами изолятов, полученных от практически здоровых людей. Установлено, что стафилококковая микрофлора является не только наиболее представленной составляющей микроценоза кожи, но и может принимать участие в развитии и отягощении патологического процесса, что может выражаться в увеличении степени обсемененности, вытеснении нормальной микрофлоры более агрессивными штаммами *S. aureus* и *S. haemolyticus*, что особенно наблюдается у пациентов, которые получали иммуносупрессивную терапию.*

Ключевые слова: *распространенные дерматозы, микробиоценоз кожи, факторы патогенности стафилококков.*

**STAPHYLOCOCCUS'
MICROFLORA
PATHOGENICITY FACTOR
STUDY OF SKIN IN
PATIENTS WITH
SPREAD DERMATOSIS**

**S.K. Dzhoraeva,
Y.F. Kutasevich,
I.A. Oleynik,
V.V. Goncharenko,
E.K. Ivantsova,
E.V. Schegoleva,
E.S. Vasileva**

Resume. *The study of biological characteristics of Staphylococcus' laboratory strains isolated from the patients with grave spread dermatosis as compared to the isolate peculiarity from practically healthy people have been presented in the article. It was determined that Staphylococcus' microflora prevailed in the skin microbiocenosis and participated in pathologically process aggravation by means of dissemination degree increase and supplementing of normal microflora by aggressive strains of *S. aureus* or *S. haemolyticus*. It was observed more often in patients who were undergone immunosuppressive therapy.*

Key words: *spread dermatosis, skin microbiocenosis, Pathogenicity factor of Staphylococcus.*