

УДК 616.53-002.25:579.22

Перифолликулярная микробиота кожи при акне. Часть I. Общие характеристики колонизации и резистентность к системным антибиотикам.

Г.Н. Бурцева¹, А.Ю. Сергеев², В.Г. Арзуманян³, Ю.Ю. Сергеев²¹Научно-Исследовательский Центр «Клиника Дерматологии», Москва²Первый московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова³Институт вакцин и сывороток имени И.И. Мечникова, Москва

Perifollicular cutaneous microbiota in acne patients. Part I. Common patterns of colonization and resistance to systemic antimicrobials

G.N. Burceva¹, A.Y. Sergeev², V.G. Arzumanyan³, Y.Y. Sergeev²

Central Research Dermatology Clinic, Moscow

I.M. Sechenov First Moscow State Medical University

I.I. Mechnikov Institute of Vaccines and Sera, Moscow

Аннотация

Заселение кожи человека постоянной и временной микробиотой может осложнять понимание патогенеза и поиск подходов к терапии хронических воспалительных дерматозов, в том числе угревой сыпи. Пропионибактерии, стафилококки и грибы *Malassezia* могут участвовать в развитии или поддержании воспалительного процесса в сально-волосных фолликулах и на поверхности кожи. Обследовав 873 взрослых пациента с акне, мы установили значительный процент колонизации кожи стафилококками с преобладанием *S. aureus*. Установлены взаимосвязи между клинико-эпидемиологическими особенностями заболевания, характеристиками микробной колонизации и устойчивостью к противомикробным препаратам, используемым в системной терапии акне. Большинство выделенных штаммов оказалось чувствительно к цефалоспорином, линкомицину и фторхинолонам, но устойчиво к тетрациклинам, макролидам и ко-тримоксазолу. Результаты исследования свидетельствуют о необходимости пересмотра устоявшихся подходов к использованию антибиотиков и антимикробной химиотерапии при акне.

Ключевые слова

Акне, угревая сыпь, стафилококки, пропионибактерии, *S. aureus*, метициллин-резистентные стафилококки, антибиотики, противомикробные средства, устойчивость к антибиотикам

Summary

Microbial colonization of human skin with permanent and transient microbiota may add to complexity of understanding the pathogenic mechanisms and treatment choices in several chronic cutaneous conditions, including acne. Propionibacteria, staphylococci and *Malassezia* spp. may induce or maintain the inflammatory processes in sebaceous glands and on skin surface. We have observed 873 acne adultorum patients to find substantial levels of skin colonization with staphylococci, *S. aureus* in particular. The colonization patterns display correlations with a number of clinical and epidemiological features of acne, and with profiles of antimicrobial resistance towards antibiotics and chemotherapeutic agents administered systemically. Most strains appeared to be resistant to tetracyclines, macrolides and co-trimoxazole, sensitive to cephalosporins, lincomycin and fluoroquinolones. The results may provide new evidence for revising the established treatment approaches in antimicrobial administration in acne patients.

Keywords

acne, microbiota, bacteria, Staphylococcus, methicillin-resistant staphylococci, antibiotic therapy, chemotherapy, antimicrobial resistance

Кожу человека сегодня рассматривают, с одной стороны, как барьер, защищающий макроорганизм от внешних воздействий, а с другой – как микробиом, сложную экосистему, где сообщества микроорганизмов живут в диапазоне определенных физиологических условий. Эти условия, как и результаты исследований кожной микробиоты, определяются, в том числе, и локализацией – исследуемым участком кожи.

Классическими микробиологическими и современными молекулярно-генетическими исследованиями показано, что на состав микробиома кожи влияют: возраст, пол, участок кожи, уровень гигиены и тип используемых моющих средств, климат, раса, профессия, и другие [1]. Филогенетический анализ Е.А. Grice и соавт. (2009) с последовательностями генов 16S rРНК выявил большее видовое разнообразие, чем при использовании культивирования [2], что можно объяснить, в частности, тем, что большинство жизнеспособных микроорганизмов, населяющих кожу, не дают роста на питательных средах (S.L. Percival et al., 2012) [1]. В целом установлено, что физиологически сопоставимые участки кожи заселены сходными сообществами микробов. Среди крупных таксонов преобладают Actinobacteria (51,8% биоты), Firmicutes (24,4%), Proteobacteria (16,5%), Bacteroidetes – 6,3%. Среди 205 выявленных родов бактерий, более чем 62% исследуемого материала пришлось на *Corynebacterium* (22,8%; Actinobacteria), *Propionibacterium* (23,0%; Actinobacteria), *Staphylococcus* (16,8%; Firmicutes).

На коже взрослого человека так же распространены *Micrococcus*, *Brevibacterium*, *Acinetobacter*, *Dermabacter* и др. Количество микроорганизмов на коже у здорового человека постоянно меняется и зависит от сезона, достигая максимума зимой и минимальных значений – летом [3]. С 1980-х гг. изучается роль этих групп бактерий и дрожжей рода *Malassezia* при наиболее распространенных ассоциированных с ними заболеваниях кожи – акне, атопическом дерматите, себорейном дерматите и др.

Особой формой организации микробиоты является биопленка – подвижное, непрерывно изменяющееся гетерогенное сообщество [4]. Известна роль, бактериальных и грибковых биопленок в патогенезе и устойчивости к терапии многих инфекций. Образование биопленки – многоступенчатый процесс, с последовательным прикреплением микробов к поверхности, затем перманентной адгезией к субстрату, и, по мере размножения микроорганизмов и роста колоний, – дифференцировкой и обменом гена-

ми. На последнем этапе следует формирование внеклеточного полимерного вещества, приводящего к прочному прикреплению бактерий к поверхности, в том числе – к стенкам сально-волосяного фолликула, что может иметь значение при формировании комедонов [5].

Биопленка существенно повышает толерантность микроорганизмов, находящихся в матриксе, к антимикробным агентам, иммунной системе хозяина и стрессам окружающей среды: например, ограничения в питании и кислороде. Концентрации большинства антибиотиков, требуемые для удаления или уничтожения бактериальной биопленки, фактически превышают максимальные терапевтические [6, 7].

Резистентные к антибиотикам бактерии могут выделять связывающие антибиотик белки или защитные ферменты, защищая все чувствительные к данному препарату бактерии в биопленке [4]. Возможна передача генов устойчивости к антибиотикам, в том числе между различными видами и родами бактерий [8]. Так, Dier В.А. и соавт. (2006) показали передачу генов кожными стафилококками от симбионта *S. epidermidis* к высоко патогенному штамму резистентного к метициллину *S. aureus* [9].

На участках кожи, богатых сальными железами, преобладают пропионибактерии и стафилококки [2]. Сальная железа формирует почти лишнюю кислорода нишу, заселяемую у основания такими факультативными анаэробами, как *Propionibacterium* spp., а в области устья – липофильными аэробами, как *Malassezia* spp. Плотность заселения кожи пропионибактериями на лице и голове может достигать $1 \cdot 10^5$ КОЕ/см² [10]. Плотность заселения кожи пропионибактериями начинает заметно возрастать в пубертатном периоде и стабилизируется к 25 годам жизни [11].

Постоянство состава микрофлоры сальных зон кожи, наряду с доступностью триглицеридов для преобладающих там пропионибактерий, считается характерным для кожи человека [12, 13]. Преобладание гидрофильной грамотрицательной микробиоты и стафилококков с постоянными сменами видового состава характерно для участков кожи, богатых потовыми железами. Считается, что на сальных участках кожи как среда кожного сала, так и деятельность пропионибактерий, препятствуют колонизации кокковой флорой [14].

Удаление резидентной микробиоты в ходе противомикробной терапии может приводить к заселению сальных участков кожи нетипичной для них микробиотой; кроме того, действие

фармакологических препаратов, стимулирующих или подавляющих активность сальных желез, оказывает заметное влияние на содержание пропионибактерий [15, 16]. Кроме того, у мужчин старше 20 лет *P. acnes* выделяются с кожи в меньших количествах, чем у женщин [11].

Оценку микробиоты при акне и других дерматозов в современных условиях может осложнять распространяющееся носительство кожных стафилококков, включая *S. aureus* и устойчивые к антибиотикам штаммы. В частности, в дерматологической клинике *S. aureus* может быть выделен у 13–59% всех пациентов и у 15 – 26% медицинского персонала, в том числе 45 – 61% – метициллин-резистентные штаммы [17].

Регулярное, с частотой около 26%, выделение *S. aureus* отмечается также у родственников пациентов с разными нозологиями и у врачей общей практики [18, 19, 20]. У пациентов, госпитализированных в стационары 17 регионов России в 2000 – 2001 гг. среди штаммов *S. aureus* была определена устойчивость к эритромицину у 39,6%, к тетрациклину 37,1%, гентамицину 30,7%, клиндамицину 27,1%, ципрофлоксацину 13,1%, к хлорамфениколу 43,1%, а метициллин-резистентных 33,6% [21].

Для оценки микробиоты сально-волосяного фолликула используются методы соскобов, отпечатков или пункционная биопсия отдельных фолликулов. Однако даже последний, эффективный и трудоемкий метод показывает, что не из каждого фолликула могут быть выделены микробы.

Так, J. Leeming и соавт. (1984) показали, что в норме лишь из 12% фолликулов выделяются пропионибактерии. Выделяемость из фолликулов стафилококков, в основном *S. epidermidis*, составляет около 4%, а грибов *Malassezia* – 13 %, а не менее трети фолликулов являются стерильными [22]. При акне пропионибактерии и стафилококки выделяются из 17% и 10% фолликулов, соответственно [23].

Оценки микробиоты из очагов акне также может давать расходящиеся и не всегда легко интерпретируемые результаты. Посевы из комедонов могут давать равную или сходную частоту выделения пропионибактерий и стафилококков между 51 и 96% [24, 25, 26, 27]. При этом сложные методы оценки микробиоты: цианоакрилатный метод и микросрезы при биопсиях кожи не выявили существенных различий между содержанием *P. acnes* на неповрежденной коже и в элементах акне, а часть комедонов оказалась стерильной [23, 28].

Из папулезных элементов акне посевы чаще дают выделение пропионибактерий, причем в большей степени при более зрелых элементах сыпи. При этом стерильными оказываются 20 – 54% папул при акне [29].

Часть пустул при акне также оказывается стерильной, однако чаще выделяются и пропионибактерии (около 70%), и стафилококки (около 60%) [30, 31]. По данным С.Н. Рахмановой и соавт. (2011) из выделенных при акне 34 видов микроорганизмов в комедонах встречались, в порядке убывания частоты, пропионибактерии, *Malassezia* spp., стафилококки и *Candida* spp.; в пустулах, соответственно, стафилококки, *Candida* spp., *Malassezia* spp. и пропионибактерии [3].

Критика концепции, рассматривающей *Propionibacterium acnes* как единственную бактерию – «виновника» воспалительных явлений при акне, основывается не только на неудачах обнаружения *P. acnes* в фолликулах и различных элементах акне [32]. Показано, что до 28% воспалительных элементов акне могут развиваться *de novo*, минуя стадию комедонов, что дает больше оснований для взаимосвязи воспаления и присутствия бактерий на поверхности кожи [33].

Представления о неспособности *P. acnes* индуцировать комедогенез или запускать первичные звенья воспалительного процесса основываются, прежде всего, на суждениях *post hoc*. С этих позиций, динамика роста *P. acnes* и других микроорганизмов при акне является не причиной, а следствием изменившейся среды сально-волосяного фолликула [34]. Допускается роль *P. acnes* как участника воспаления за счет метаболизма липидов [35] или индуктора каскадов цитокиновых реакций [36], лиганда рецепторов кератиноцитов и иммунокомпетентных клеток (интегрины, Toll-подобные рецепторы) [37, 38].

Однако авторы зарубежных публикаций, описывающих патогенный потенциал *P. acnes*, порой забывают о том, что для других родов микроорганизмов, выделяемых с кожи, из сально-волосяных фолликулов и различных элементов акне почти с той же частотой, подобные свойства давно описаны. Общеизвестны липофильность и участие в метаболизме кожного сала *Malassezia* spp.; взаимодействие кожных стафилококков с рецепторами иммунокомпетентных клеток кожи и кератиноцитов подробно изучены на моделях псориаза, атопического дерматита и пиодермий.

Кроме того, данные исследований о потенциальной роли и характеристиках тех или иных микроорганизмов в патогенезе акне следует рассматривать применительно к представлениям

как о фазах протекающего во времени процесса, так и о различной популяции пациентов с акне. Очевидно, что состав микробиоты на начальных стадиях развития элементов акне и в развитой стадии воспаления, в комедональной, пустулезной и узловой формах заболевания может различаться [29].

Точно также можно рассудить, что у подростков с дебютом акне и у зрелых пациентов с многолетним анамнезом и опытом лечения, в том числе антимикробными препаратами, состав микробиоты может быть различным. В последнем случае имеет смысл обратить внимание и на профиль устойчивости выделенной микробиоты к антимикробным средствам – прежде всего к тем, которые используются или использовались в традиционной терапии акне.

Исследования, нацеленные на изучение резистентности *P. acnes* к антибиотикам у больных акне, с трудом поддаются оценке [39]. На большой выборке из ряда европейских стран в 2003 г. была показана повсеместная устойчивость *P. acnes* к макролидным антибиотикам, в том числе перекрестная к эритромицину и клиндамицину. Достоверной оказалась взаимосвязь между устойчивостью пропионибактерий к эритромицину и ранее применявшимся в лечении акне у тех же пациентов наружным препаратам эритромицина и системным антибиотикам [40].

Данные по *P. acnes* европейских исследователей дополняются работой Hassanzadeh et al., использовавших штаммы, полученные в анаэробных и аэробных культурах от больных с пустулезной и кистозно-узловой формами акне, и везде получивших обильный рост *S. aureus* и *S. epidermidis*. Устойчивость к эритромицину и клиндамицину в данной работе была выявлена в 52% и 50% штаммов бактерий, соответственно [41]. Устойчивость к антибиотикам для одновременно выделяемых *P. acnes* и *S. aureus* не всегда удается продемонстрировать, несмотря на достоверную взаимосвязь устойчивости с предшествующим лечением антибиотиками [42]. Тем не менее известен феномен плазмидного переноса резистентности к эритромицину между стафилококками и другими родами бактерий [43, 44].

В России вопрос об устойчивости кожных стафилококков к противомикробным средствам при акне был поставлен группой Арзуманян В.Г. в 2005 г. [45]. Авторы выделили 85,2% штаммов, устойчивых к эритромицину, 43,8% – к клиндамицину и 47,1% – к доксициклину. Однако в данной работе обследован всего 61 пациент, и при большом количестве оцененных антибио-

тиков и антисептиков изучение взаимосвязи устойчивости с клинической картиной и опытом предшествовавшего лечения не проводилось.

Показано, что в ходе лечения акне наружными препаратами эритромицина в течение 12 недель вероятность обнаружения популяции коагулазо-негативных стафилококков на коже вырастает до 98% и не снижается впоследствии, причем не только в зонах лечения, но и на коже других локализаций и на слизистой носа [46].

Вопрос о колонизации кожи *S. aureus* в ходе лечения акне антибиотиками и развитии устойчивой к тетрациклину популяции этих бактерий вызывает дискуссию в последнее время [47]. Однако такая взаимосвязь показана для штаммов *S. aureus* и *Streptococcus pyogenes* из полости рта и глотки [48], что поднимает вопрос о влиянии терапии акне на устойчивость возбудителей других инфекций [49].

Указанные противоречия, а также отсутствие достоверных сведений об устойчивости микробиоты кожи к антибиотикам, используемым для лечения акне в современной России, и ее взаимосвязи с особенностями клинической картины и предшествовавшей терапии, вынудили нас провести настоящее исследование.

Материалы и методы

Исследование проводилось на базе медицинского центра Eurofemme (Москва) в 2008–2011 гг. В группу наблюдения вошли 873 пациента с акне в возрасте 17–64 лет (средний возраст $30 \pm 8,5$ лет), среди них 71,4% – женщины. Средний возраст мужчин был достоверно больше, в среднем на 2 года. Часть пациентов одновременно участвовала в сравнительном исследовании наружной терапии акне, проходя обследование перед началом лечения [50]. Критерием включения в исследование было выделение от пациентов с акне культур микроорганизмов в рамках единой микробиологической методики.

Посевы проводили методом отпечатков с наиболее пораженных участков кожи лица или туловища на селективную агаризованную среду ЖСА, помещенную в бакпечатки. Сбор материала сопровождался выделением культур и определением чувствительности выделенной микробиоты к противомикробным средствам, включая: цефуросим, цефоперазон, цефотаксим, гентамицин, неомицин, тетрацилин, доксицилин, азитромицин, кларитромицин, рокситромицин, клиндамицин, линкомицин, ципрофлоксацин, офлоксацин, котримоксазол, хлорамфеникол, фузидиевая кислота. Популяция метициллин-