

УДК 616.53-002.25:579.22

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

Г.Н. Бурцева<sup>1</sup>, А.Ю. Сергеев<sup>2</sup>, В.Г. Арзуманян<sup>3</sup>, Ю.Ю. Сергеев<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Научно-Исследовательский Центр «Клиника Дерматологии», Москва

<sup>2</sup>Первый московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова

<sup>3</sup>Институт 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. Burceva<sup>1</sup>, A.Y. Sergeev<sup>2</sup>, V.G. Arzumanyan<sup>3</sup>, Y.Y. Sergeev<sup>2</sup>

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 осложнить 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-волосяных 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]. Известная 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 кислородную 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 1·10<sup>5</sup> КОЕ/см<sup>2</sup> [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 кожной 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 препаратом 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 Арзумян 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 коагулазонегативных 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: цефуроксим, цефоперазон, цефотаксим, гентамицин, неомицин, тетрациклин, доксициклин, азитромицин, кларитромицин, рокситромицин, клиндамицин, линкомицин, ципрофлоксацин, офлоксацин, котримоксазол, хлорамфеникол, фузидиевая кислота. Популяция метициллин-

резистентных *S. aureus* (MRSA) была оценена в подгруппе из 45 пациентов, с использованием оксациллина. Видовой состав оценивали по схеме, разработанной В.Г. Арзумян и соавт. (2004) [51]. Для данного метода носительство (обсемененность) у здоровых лиц для видов *S. saprophyticus*, *S. epidermidis* и *S. hominis* ранее расценивалась в диапазоне до  $1 \cdot 10^3$  КОЕ/дм<sup>2</sup>, а для *S. aureus* и *S. haemolyticus* – до 200 КОЕ/дм<sup>2</sup>.

Определение чувствительности к препаратам проводили дискодиффузионным способом по усовершенствованному методу Керби–Бауэра с помощью стандартных дисков с антибиотиками (Приказ МЗ РФ № 2675, 1983).

Для всех обследованных пациентов регистрировались клинико-анамнестические данные, включая клиническую форму и степень тяжести заболевания согласно международной классификации (AAD), историю предыдущих обращений к врачу-дерматологу по поводу лечения акне, использование системных (тетрациклины и обобщенно для других групп) и местных (эритромицин-цинк: «зинерит», клиндамицин, левомецетин) антибиотиков в течение последнего года, назначение системного изотретиноина в течение последнего года, а также наличие рубцов (постакне) на момент обследования.

В контрольную группу вошли 56 лиц без явлений акне или иной воспалительной патологии кожи, в том числе 27 посевов от сотрудников медицинского центра (врачи-дерматологи и других специальностей, средний медицинский персонал).

Статистическая обработка результатов проводилась с помощью пакета прикладных программ SPSS, использованы методы сравнения средних, включая однофакторный дисперсионный анализ, а также непараметрического анализа (критерии Манна–Уитни и Вилкоксона), построения таблиц сопряженности с оценкой критерия  $\chi^2$  и анализ ранговой корреляции по Спирману.

### Результаты

Из 873 обследованных пациентов с акне легкая степень тяжести заболевания была определена у 361 (41,4%), средняя у 489 (56%), тяжелая у 23 (2,6%). Рубцовые изменения постакне были выявлены у 219 больных (25,1%). Отмечалась достоверная корреляция тяжести заболевания и пола пациентов (у мужчин отмечались более тяжелые формы заболевания) при  $p < 0,01$ . Наличие рубцовых явлений постакне достоверно чаще отмечалось у мужчин, а также при среднетяжелой (35,6%) и тяжелой (82,6%) формах заболевания.

Женщины в обследованной группе достоверно чаще обращались к дерматологу в прошлом (37,2% против 26,2% у мужчин), однако достоверных гендерных различий по использованию каких-либо антибиотиков или системных ретиноидов не отмечалось.

Наличие рубцовых изменений постакне на момент обследования достоверно коррелировало с сообщенным опытом использования системных ретиноидов ( $p = 0,03$ ), антибиотиков (в целом  $p < 0,001$ ), особенно «зинерита» ( $p < 0,04$ ), и обращения к дерматологу по поводу акне в прошлом ( $p = 0,04$ ).

Со старшим возрастом пациентов достоверно ассоциировались: наличие рубцовых изменений, среднетяжелые (в среднем, на 5 лет старше, чем при легких формах акне) и тяжелые (в среднем, на 3,5 года старше, чем при среднетяжелых формах акне) формы заболевания, обращения к дерматологу и использование антибиотиков в прошлом (особенно «зинерита» и пероральных тетрациклинов). В частности, использовавшие «зинерит» были старше в среднем на 2,7 лет. Использование системных ретиноидов в анамнезе не имело достоверной корреляции с возрастом пациентов.

Из 873 выделенных от пациентов культур стафилококков 397 (45,5%) были получены с очагов на коже лица, 43 (4,9%) – груди и спины, 21 – одновременно с лица и шеи, 412 (47,2%) – лица, груди и спины одновременно.

Средняя плотность выделенных культур (обсемененность) составила  $3,58 \cdot 10^3$  КОЕ/дм<sup>2</sup>. Обсемененность оказалась достоверно выше у пациентов-мужчин ( $4,49$  против  $3,23 \cdot 10^3$  КОЕ/дм<sup>2</sup>), возраст не оказывал на обсемененность достоверного влияния.

Степень обсемененности у больных с акне была достоверно выше по сравнению со смешанной контрольной группой ( $3,58$  против  $2,15 \cdot 10^3$  КОЕ/дм<sup>2</sup>). При этом по сравнению с подгруппой дерматологических пациентов без диагноза акне и воспалительных элементов в местах сбора материала различий в обсемененности выявлено не было. Достоверными были различия только с группой медицинского персонала. При этом, в отличие от группы наблюдения и контрольной группы пациентов, в группе медперсонала обсемененность была выше на груди и спине, а не на лице.

Среди выделенных от пациентов с акне видов стафилококков доминирующими были: *S. aureus* в 570 случаях (65,3%), *S. intermedius* в 139 (15,9%), *S. epidermidis* в 113 (12,9%), *S. haemolyticus* в 35 (4%) и *S. saprophyticus* в 14 (1,6%). Таким образом,

среди выделенной микробиоты преобладали коагулазо-положительные стафилококки (85,2%).

В контрольной группе *S. aureus* выделялись почти с той же частотой (64,5% против 65,4% у больных с акне), реже выделялись *S. epidermidis* (7,5 против 13%), но чаще *S. intermedius* (20,8 против 16%) и *S. saprophyticus* (7,5% против 1,6%). *S. haemolyticus* в контрольной группе выделен не был. Для каждого из выделенных в контрольной группе видов степень обсемененности была в 1,56 – 2,5 раза ниже, однако для *S. aureus* это было заметно в меньшей степени. В контрольной подгруппе медперсонала *S. epidermidis* и *S. saprophyticus* были выделены лишь однократно, в то же время *S. aureus* выделялся с даже большей частотой, чем от пациентов с акне.

Локализация очага сыпи – точки сбора материала достоверно коррелировала с видовой этиологией ( $p = 0,05$ ) и обсемененностью ( $p = 0,013$ ), однако различия были небольшими. Более выраженная обсемененность была характерна для посевов с кожи лица ( $3,9$  против  $3,0 \cdot 10^3$  КОЕ/дм<sup>2</sup>). С кожи лица достоверно чаще выделялись *S. intermedius* (15,4% против 7% на груди и спине), менее часто *S. aureus* (66,9% против 76,7%) и *S. epidermidis* (12,4; против 16,3%).

Видовая структура выделенной микробиоты не имела достоверных взаимосвязей с полом и возрастом, клинической формой и тяжестью акне, наличием рубцовых изменений, обращением к дерматологу или опытом лечения антибиотиками и системными ретиноидами.

Степень обсемененности также не имела достоверной взаимосвязи с опытом обращения к дерматологу или лечения системными ретиноидами. Тем не менее отмечалась взаимосвязь с наличием рубцовых изменений и более тяжелой формой акне. Средние показатели обсемененности составили 3,46, 3,62 и  $4,79 \times 10^3$  КОЕ/дм<sup>2</sup> для легкой, среднетяжелой и тяжелой форм акне, соответственно.

Кроме того, обсемененность оказывалась немного выше при сообщенном опыте использования пероральных тетрациклинов (4,8 против  $3,57 \times 10^3$  КОЕ/дм<sup>2</sup>).

В первой части статьи мы опишем результаты определения чувствительности выделенных штаммов стафилококков только в отношении противомикробных средств, используемых в системной терапии. Такими в настоящем исследовании являлись: из группы бета-лактамов антибиотиков цефуроксим, цефоперазон и цефотаксим, а также оксациллин; из группы тетрациклиновых антибиотиков тетрациклин и доксициклин; из группы макролидных антибиотиков эритромицин, кларитромицин, рокситромицин и азитромицин; из группы линкозамидов линкомицин; из химиотерапевтических средств фторхинолонов офлоксацин и цiproфлоксацин; а также ко-тримоксазол. Спектр действия всех указанных средств традиционно включает стафилококки. Результаты определения чувствительности к данным средствам штаммов, полученных в группе наблюдения, приведены в табл. 1.

Препарат	Протестировано штаммов	Доля штаммов по чувствительности к противомикробным средствам, %		
		Высоко чувствительны	Умеренно чувствительны	Нечувствительны
Цефуроксим	868	88,7	6,6	4,1
Цефоперазон	868	89,2	8,7	1,5
Цефотаксим	869	89,5	7,6	2,5
Тетрациклин	859	21,1	24,4	52,9*
Доксициклин	867	17,2	27,5	55,0*
Эритромицин	867	1,0	5,1	93,9
Кларитромицин	859	1,0	5,5	93,5
Рокситромицин	859	1,6	5,6	92,8
Азитромицин	860	2,4	9,9	87,7
Линкомицин	869	61,1	18,5	20,4
Офлоксацин	868	71,9	18,9	9,2
Цiproфлоксацин	869	77,7	13,9	8,4
Ко-Тримоксазол	836	9,6	15,3	75,1

\*Достоверные различия в сравнении с контрольной группой при  $p < 0,05$

Как видно из табл. 1, для разных классов антибиотиков и химиотерапевтических средств различались. Большинство выделенных штаммов стафилококков демонстрировало высокую чувствительность к цефалоспорином, линкомицину и фторхинолонам. Большинство штаммов оказало устойчиво к тетрациклинам, макролидам и ко-тримоксазолу.

При анализе чувствительности к противомикробным средствам штаммов, полученных от больных акне и в контрольной группе, не было обнаружено достоверных различий в профиле большинства макролидов, всех цефалоспоринов, линкозамидов, фторхинолонов и ко-тримоксазола. Достоверные различия были обнаружены в профиле чувствительности штаммов стафилококков лишь по отношению к тетрациклиновым антибиотикам.

Так, нечувствительными к тетрациклину оказались около 53% штаммов в группе наблюдения, 60% штаммов в контрольной подгруппе дерматологических пациентов с другими диагнозами и 34,6% в подгруппе медперсонала, при  $p = 0,04$  в сравнении методом  $\chi^2$ . Для доксициклина были продемонстрированы еще более заметные различия, с 55% устойчивых штаммов у больных с акне, 56% в контрольной подгруппе пациентов и лишь 15,4% в подгруппе медперсонала, с достоверностью различий при  $p < 0,001$ .

Наличие метициллин-резистентных штаммов стафилококков определялось тестированием чувствительности выделенных штаммов *S. aureus* к оксациллину. Такие штаммы не были обнаружены ни в группе наблюдения, ни в контрольных подгруппах. Тем не менее в контрольной подгруппе дерматологических пациентов были выделены штаммы *S. saprophyticus* и *S. epidermidis*, устойчивые к оксациллину.

При анализе взаимосвязей характеристик пациентов с акне и чувствительности выделенных от них стафилококков было установлено, что от женщин чаще выделялись штаммы, устойчивые к цефоперазону (при  $p < 0,05$ ) и ципрофлоксацину ( $p < 0,03$ ), однако различия находились в пределах 10% разницы по доле устойчивых изолятов.

Средний возраст больных, от которых были выделены штаммы, устойчивые к ципрофлоксацину, был выше в среднем на 1,6 лет по сравнению с пациентами, от которых были получены чувствительные штаммы.

По показателю чувствительности к офлоксацину, эта разница составляла более 2 лет и оказалась достоверной в однофакторном дисперсионном анализе при  $p < 0,03$ . Другие корреляции

чувствительности с полом и возрастом больных установлены не были.

При изучении взаимосвязи между чувствительностью стафилококков к антибиотикам и клинической формой акне или наличием рубцов достоверных взаимосвязей выявлено не было. Не обнаруживалось и ассоциаций между чувствительностью антибиотиков и предшествовавшим использованием системного изотретиноина. В то же время, от пациентов, ранее обращавшихся к дерматологу, с меньшей частотой выделялись штаммы, высоко чувствительные к офлоксацину (66,2% против 74,8%), с достоверностью при  $p < 0,05$ .

Была установлена достоверная при  $p < 0,05$  взаимосвязь между чувствительностью к тетрациклину и сообщенным опытом использования антибиотиков разных групп в течение года перед началом исследования, однако разница в доле устойчивых штаммов находилась в пределах 4,5 – 12,5%. Для доксициклина эта разница была выше (26,4% для использовавших тетрациклины и 22,1% для использовавших другие или неустановленные антибиотики) при  $p < 0,02$ .

Кроме того, оказалось, что от пациентов, использовавших наружную форму эритромицина, устойчивые к доксициклину штаммы стафилококков выделялись на 9,8% чаще с достоверностью, оцененной методом  $\chi^2$  и ранговой корреляцией при  $p < 0,04$ . Указанные различия были продемонстрированы и для линкомицина (разница в доле устойчивых штаммов 9,0% при  $p < 0,01$ ), а также ко-тримоксазола (разница 7,6% по устойчивым штаммам и –7,2% по высокочувствительным, при  $p < 0,02$ ).

Изучение межвидовой чувствительности к антибиотикам разных групп показало достоверные различия только для рокситромицина. К нему были устойчивы все штаммы *S. saprophyticus*, 95,6% штаммов *S. intermedius*, 93,6% штаммов *S. aureus*, но только 85,3% штаммов *S. epidermidis*. В целом, среди штаммов *S. aureus* доля устойчивых была больше, а высокочувствительных – меньше и в отношении других противомикробных средств по сравнению с *S. epidermidis*, однако достоверность этих различий не была установлена.

### Заключение

Результаты настоящего исследования, проводившегося в течение нескольких лет в профильной клинике, специализирующейся на лечении акне, позволяют сделать выводы, значимые для понимания современного патогенеза акне и осо-

бенностей популяции не только бактерий, но и пациентов, кожу которых колонизируют бактерии. Представления о патоморфозе, приложимые и к проблеме акне, рассматривают влияние социальных и экологических факторов на течение и проявления заболевания, что в свою очередь, связано с этиологией и патогенезом, а не только с особенностями учета диагнозов и исходов или наблюдения пациентов. Демографические сдвиги, меняющееся репродуктивное здоровье и поведение, изменения пищевого уклада, как факторы, непосредственно влияющие на патогенез акне через эндокринную систему, выводят заболевание за рамки проблемы пубертатного периода и юности. Большинство обращений с акне на частном приеме де-факто представлены аспе *adultorum*, а средний возраст больных по данным интернет-анкетирования составляет 22 года [52].

Мы убеждены, что не меньшее влияние на патогенез и патоморфоз акне взрослых оказывает опыт предшествующей терапии и самостоятельного ухода за кожей. Продолжительное или постоянное использование различных косметических и безрецептурных наружных лекарственных средств, в том числе антибиотиков и антисептиков оказывает непосредственное влияние не только на состав изучаемой кожной микробиоты, но и на среду ее существования – кислотность, состав доступных микроорганизмам питательных веществ, барьерные функции кожи, микробное окружение, в том числе в составе биопленок.

Этими факторами мы можем объяснить преобладание золотистого стафилококка в составе грам-положительной микробиоты кожи не только у взрослых больных с акне, но и у других дерматологических пациентов, что показано в настоящем исследовании и подтверждается работами зарубежных авторов. Распространившееся, как минимум, за последнее десятилетие носительство *S. aureus*, вероятно, заставит нас пересмотреть нормы для колонизации кожи стафилококками, сформировавшиеся к концу XX в.

Концепция акне как заболевания, обусловленного размножением *P. acnes* и на этом основании подлежащего терапии макролидами или тетра-

циклинами, сформировавшаяся в 1950-х гг. [53, 54], в настоящее время также представляется нам несостоятельной. В 2012 г. полирезистентная кожная микробиота, устойчивая и к макролидам, и к тетрациклинам, и к ряду других средств, требует иных подходов [55].

При этом профиль устойчивости кожных штаммов, выделенных от больных с акне, представляется как бы зеркалом, отражающим опыт предшествовавшей терапии антибиотиками данных групп, что особенно заметно для доксициклина и местной формы эритромицина, до настоящего времени широко назначаемых врачами.

На этом фоне становятся слышнее голоса в пользу пересмотра концепции наружной терапии акне с исключением из нее не только отдельных средств наружного действия, но и вообще всей группы антибиотиков, по крайней мере, в качестве монотерапии [56, 57]. Эти представления отражены в актуальных европейских рекомендациях по лечению акне, где монотерапия антибиотиками уже не рассматривается [58].

В качестве решения проблемы устойчивости кожной микробиоты при акне изучаются два направления. Одно из них – замена наружных антибиотиков более эффективным бензоила пероксидом [59, 60]. Уровень доказательности для данной тактики считается наибольшим, ее рекомендуют для лечения акне с заранее известной устойчивостью бактерий [61].

Другой вариант – сочетание наружных ретиноидов с антибиотиками для наружного применения, что в ряде случаев позволяет преодолеть устойчивость бактерий [62]. Не исключая возможного развития устойчивости к комбинированным препаратам, содержащим антибиотики, некоторые авторы предлагают начинать лечение с сочетания наружных ретиноидов и бензоила пероксида [63, 64].

Вопросы чувствительности кожной микробиоты к антибиотикам и химиотерапевтическим препаратам, входящим в состав средств наружной терапии, используемых при акне, будут рассмотрены нами в следующей части статьи.

### Литература

1. Percival SL, Emanuel C, Cutting KF, Williams DW. Microbiology of the skin and the role of biofilms in infection. *Int Wound J.* 2012; 9(1): 14–32.
2. Grice EA, Kong HH, Conlan S. NISC Comparative Sequencing Program, Bouffard GG, Blakesley RW, Murray PR et al. Topographical and temporal diversity of the human skin microbiome. *Science.* 2009; 325(5943): 944–5.
3. Рахманова С.Н., Шаркова В.А., Юцковский А.Д. Структура и иерархия таксономических групп микрофлоры кожи больных угревой болезнью в Приморском крае. *Тихоокеанский мед. ж.* 2011; 3: 33–36
4. Hall-Stoodley L, Stoodley P. Evolving concepts in biofilm infections *Cell Microbiol.* 2009;11(7):1034–43.

5. Jahns AC, Lundskog B, Ganceviciene R et al. An increased incidence of *Propionibacterium acnes* biofilms in acne vulgaris: a case-control study. *Br J Dermatol.* 2012; 167(1): 50–8
6. Conley J, Olson ME, Cook LS et al. Biofilm formation by group A streptococci: is there a relationship with treatment failure? *J Clin Microbiol.* 2003;41(9): 4043–8
7. Koseoglu H, Aslan G, Esen N, et al. Ultrastructural stages of biofilm development of *Escherichia coli* on urethral catheters and effects of antibiotics on biofilm formation. *Urology* 2006; 68(5): 942–6.
8. Weigel LM, Donlan RM, Shin DH et al. High-level vancomycin-resistant *Staphylococcus aureus* isolates associated with a polymicrobial biofilm. *Antimicrob Agents Chemother.* 2007; 51(1): 231–8.
9. Diep BA, Gill SR, Chang RF et al. Complete genome sequence of USA300, an epidemic clone of community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Lancet.* 2006; 367(9512): 731–9.
10. McGinley KJ, Webster GF, Leyden JJ. Regional variations of cutaneous propionibacteria. *Appl Environ Microbiol* 1978; 35(1): 62–6.
11. Leyden JJ, McGinley KJ, Mills OH, Kligman AM. Age-related changes in the resident bacterial flora of the human face. *J Invest Dermatol.* 1975; 65(4): 379–81.
12. Leyden JJ, McGinley KJ, Nordstrom KM, Webster GF. Skin microflora. *J Invest Dermatol.* 1987; 88(3 Suppl): 65s–72s.
13. Webster GF, Ruggieri MR, McGinley KJ. Correlation of *Propionibacterium acnes* populations with the presence of triglycerides on non-human skin. *Appl Environ Microbiol.* 1981; 41: 1269–1270.
14. Ushijima T, Takahashi M, Ozaki Y. Acetic, propionic and oleic acid as possible factors influencing the predominant residence of some species of propionibacterium and coagulase negative staphylococci on normal human skin. *Can J Microbiol.* 1984; 30(5): 647–52
15. Király CL, Alén M, Korvola J, Horsmanheimo M. The effect of testosterone and anabolic steroids on the skin surface lipids and the population of *Propionibacteria acnes* in young postpubertal men. *Acta Derm Venereol.* 1988; 68(1): 21–6.
16. Miller J, Wojnarowska F, Dowd P et al. Anti-androgen treatment in women with acne: a controlled trial. *Br J Dermatol* 1986; 114(6): 705–16.
17. Pacheco RL, Lobo RD, Oliveira MS et al. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) carriage in a dermatology unit. *Clinics (Sao Paulo).* 2011; 66(12): 2071–7.
18. Olsen K, Sangvik M, Simonsen GS et al. Prevalence and population structure of *Staphylococcus aureus* nasal carriage in healthcare workers in a general population. *The Tromsø Staph and Skin Study.* *Epidemiol Infect.* 2013; 141(1): 143–52.
19. Fritz SA, Hogan PG, Hayek G et al. *Staphylococcus aureus* colonization in children with community-associated *Staphylococcus aureus* skin infections and their household contacts. *Arch Pediatr Adolesc Med.* 2012; 166(6): 551–7.
20. Warren R. *Staphylococcus aureus* – a cross sectional study of prevalence and risk factors in one general practice. *Aust Fam Physician.* 2012; 41(5): 325–8.
21. Страчунский Л.С., Дехнич А.В., Белькова Ю.А. Сравнительная активность антибактериальных препаратов, входящих в лекарственные формы для местного применения, в отношении *Staphylococcus aureus*: результаты российского многоцентрового исследования. *Клин. микробиол. антимикроб. химиотер.* 2002; 2: 157–63.
22. Leeming J, Holland K, Cunliffe WJ. The microbial ecology of pilosebaceous units isolated from human skin. *J Gen Microbiol* 1984; 130(4): 803–7.
23. Leeming J, Holland K, Cunliffe WJ. The pathological and ecological significance of microorganisms colonizing acne vulgaris comedones. *J Med Microbiol* 1985; 20: 11–16.
24. Shehadeh N, Kligman AM. The bacteriology of acne. *Arch Dermatol.* 1963; 88: 829–31.
25. Ganor S, Sacks T. A comparison of the flora of the comedones of acne vulgaris and comedones in elderly people. *Dermatologica* 1969; 138(1): 1–9.
26. Marples R, McGinley KJ, Mills OH. Microbiology of comedones in acne vulgaris. *J Invest Dermatol.* 1973; 60(2): 80–3.
27. Puhvel S, Amirian D. Bacterial flora of comedones. *Br J Dermatol.* 1979; 101(5): 543–8.
28. Lavker RM, Leyden JJ, McGinley KJ. The relationship between bacteria and the abnormal follicular keratinization in acne vulgaris. *J Invest Dermatol.* 1981; 77(3): 325–30.
29. Leeming J, Holland K, Cunliffe WJ. The microbial colonization of inflamed acne vulgaris lesions. *Br J Dermatol* 1988; 118(2): 203–8.
30. Marples R, Izumi A. Bacteriology of pustular acne. *J Invest Dermatol.* 1970; 54(3): 252–5.
31. Brook I, Frazier EH, Cox ME, Yeager JK. The aerobic and anaerobic microbiology of pustular acne lesions. *Anaerobe* 1995; 1(6): 305–7.
32. Zouboulis CC. *Propionibacterium acnes* and sebaceous lipogenesis: a love-hate relationship? *J Invest Dermatol.* 2009; 129(9): 2093–6.
33. Do TT, Zarkhin S, Orringer JS. Computer-assisted alignment and tracking of acne lesions indicate that most inflammatory lesions arise from comedones and de novo. *J Am Acad Dermatol.* 2008; 58(4): 603–8.
34. Shaheen B, Gonzalez M. A microbial aetiology of acne: what is the evidence? *Br J Dermatol.* 2011; 165(3): 474–85.
35. Inuma K, Sato T, Akimoto N et al. Involvement of *Propionibacterium acnes* in the augmentation of lipogenesis in hamster sebaceous glands in vivo and in vitro. *J Invest Dermatol.* 2009; 129(9): 2113–19.
36. Graham G, Farrar M, Cruse-Sawyer J et al. Proinflammatory cytokine production by human keratinocytes stimulated with *Propionibacterium acnes* and *P. acnes* GroEL. *Br J Dermatol.* 2004; 150(3): 421–8.
37. Jarrousse V, Castex-Rizzi N, Khammari A et al. Modulation of integrins and filaggrin expression by *Propionibacterium acnes* extracts on keratinocytes. *Arch Dermatol Res* 2007; 299(9): 441–7.
38. Jugeau S, Tenaud I, Knol AC et al. Induction of toll-like receptors by *Propionibacterium acnes*. *Br J Dermatol.* 2005; 153(6): 1105–13
39. Eady AE, Cove JH, Layton AM. Is antibiotic resistance in cutaneous propionibacteria clinically relevant? Implications of resistance for acne patients and prescribers. *Am J Clin Dermatol.* 2003; 4(12): 813–31.
40. Ross JI, Snelling AM, Carnegie E et al. Antibiotic-resistant acne: lessons from Europe. *Br J Dermatol.* 2003; 148(3): 467–78.
41. Hassanzadeh P, Bahmani M, Mehrabani D. Bacterial resistance to antibiotics in acne vulgaris: an in vitro study. *Indian J Dermatol.* 2008; 53(3): 122–4.
42. Toyne H, Webber C, Collignon P et al. *Propionibacterium acnes* (P. acnes) resistance and antibiotic use in patients attending Australian general practice. *Australas J Dermatol.* 2012; 53(2): 106–11.
43. Lü P, Xu XW, Song WQ, Zhen JH et al. Transfer of erythromycin-resistance among strains and species of bacteria: plasmid conjugation method in enterococcal isolates. *Zhonghua Yi Xue Za Zhi.* 2007; 87(30): 2129–31.
44. Hassan KA, Skurray RA, Brown MH. Active export proteins mediating drug resistance in staphylococci. *J Mol Microbiol Biotechnol.* 2007; 12(3–4): 180–96.
45. Кабаева Т.Н., Арзумян В.Г., Зайцева Е.В., Орлова Н.А. Изучение чувствительности штаммов *Staphylococcus spp.*, выделенных от пациентов с акне, к антибиотикам и антисептикам. *Иммунопатол., аллергол., инфектол.* 2004; 4: 70–73.
46. Mills O, Jr, Thornsberry C, Cardin CW, Smiles KA, Leyden JJ. Bacterial resistance and therapeutic outcome following three months of topical acne therapy with 2% erythromycin gel versus its vehicle. *Acta Derm Venereol.* 2002; 82(4): 260–5.
47. Fanelli M, Kupperman E, Lautenbach E et al. Antibiotics, acne, and *Staphylococcus aureus* colonization. *Arch Dermatol.* 2011; 147(8): 917–21.
48. Levy RM, Huang EY, Roling D, Leyden JJ, Margolis DJ. Effect of antibiotics on the oropharyngeal flora in patients with acne. *Arch Dermatol.* 2003; 139(4):467–71.
49. Margolis DJ, Bowe WP, Hoffstad O, Berlin JA. Antibiotic treatment of acne may be associated with upper respiratory tract infections. *Arch Dermatol.* 2005; 141(9): 1132–6.
50. Сергеев А.Ю., Макова Г.Н., Сергеев В.Ю., Свечникова Е.В. Открытое рандомизированное сравнительное исследование трех схем наружной комбинированной терапии угревой сыпи. *Рос. журн. кожн. и вен. бол.* 2010; 6: 50–59.
51. Арзумян В.Г., Зайцева Е.В., Темпер Р.М. и др. Определение кокковой и дрожжевой микрофлоры кожи у больных с кожной патологией: Пособие для врачей. М., 2004: 30
52. Макова Г.Н., Сергеев А.Ю., Свечникова Е.В., Сергеев В.Ю. Самооценка тяжести заболевания, качества жизни и комплаентность у больных с акне. *Врач.* 2009; 8: 58–61.
53. Cronk G, Naumann D, Heitzman E et al. Tetracycline hydrochloride in the treatment of acne vulgaris. *AMA Arch Derm.* 1956; 73(3): 228–35.
54. Van De Erve J. Erythromycin therapy of acne vulgaris. *J Invest Dermatol.* 1954; 23(2): 67–9.
55. Chon SY, Doan HQ, Mays RM. Antibiotic overuse and resistance in dermatology. *Dermatol Ther.* 2012; 25(1): 55–69.
56. Ghali F, Kang S, Leyden J et al. Changing the face of acne therapy. *Cutis.* 2009 Feb; 83 2 Suppl): 4–15.
57. Thiboutot D. Rethinking treatment of acne in the severe patient. *J Drugs Dermatol.* 2011;10(6):s8–12.
58. European evidence based (S3) Guidelines for the treatment of acne. Final version 13/09/2011. <http://euroderm.org/index.php/edf-guidelines>. Доступ: 10.06.2012
59. Dreno B. Topical antibacterial therapy for acne vulgaris. *Drugs.* 2004; 64(21): 2389–97.
60. Simpson RC, Grindlay DJ, Williams HC. What's new in acne? An analysis of systematic reviews and clinically significant trials published in 2010–11. *Clin Exp Dermatol.* 2011; 36(8): 840–3;
61. Tzellos T, Zampeli V, Makrantonaki E, Zouboulis CC. Treating acne with antibiotic-resistant bacterial colonization. *Expert Opin Pharmacother.* 2011;12(8): 1233–47.
62. Narahari S, Gustafson CJ, Feldman SR. What's new in antibiotics in the management of acne? *G Ital Dermatol Venereol.* 2012;147(3): 227–38.
63. Feneran AN, Kaufman WS, Dabade TS, Feldman SR. Retinoid plus antimicrobial combination treatments for acne. *Clin Cosmet Investig Dermatol.* 2011; 4: 79–92.
64. Leyden JJ, Preston N, Osborn C, Gottschalk RW. In-vivo effectiveness of adapalene 0.1%/benzoyl peroxide 2.5% gel on antibiotic-sensitive and resistant *Propionibacterium acnes*. *J Clin Aesthet Dermatol.* 2011; 4(5): 22–6.