



Ю.А. ТЮРИН, А.Ф. ШАМСУТДИНОВ, О.Ф. ТЮПКИНА, И.Д. РЕШЕТНИКОВА,
Е.О. СУКМАНСКАЯ, Л.Т. БАЯЗИТОВА, Р.С. ФАССАХОВ

УДК 616.5-001/-002-08:615.262

Казанский НИИЭМ Роспотребнадзора
Казанская государственная медицинская академия
Казанский государственный медицинский университет

Клинические и бактериологические критерии эффективности препарата «СКИН-КАП» при местной терапии атопического дерматита

Тюрин Юрий Александрович

кандидат медицинских наук, ведущий научный сотрудник, заведующий лабораторией иммунологии и разработки аллергенов
420015, г. Казань, ул. Б. Красная, д. 67, тел. (843) 236-67-21, e-mail: immunolab@yandex.ru

*Проведено прицельное выборочное исследование антибактериальной активности пиритиона цинк («Скин-кап») в отношении вирулентных штаммов золотистого стафилококка (*S. aureus*), колонизирующих поражённую кожу у 40 пациентов с атопическим дерматитом в возрасте от 1 года до 13 лет. Применение 0,2% крема «Скин-кап» или аэрозоля при местном лечении атопического дерматита по схеме 2 раза в день утром и вечером способствует снижению плотности колонизации кожи у детей золотистым стафилококком, а также приводит к элиминации с кожи наиболее вирулентных штаммов стафилококка этого вида.*

Ключевые слова: атопический дерматит, *S. aureus*, пиритиона цинк, факторы вирулентности, местное лечение.

Y.A. TYURIN, A.F. SHAMSUTDINOV, O.F. TUPKINA, I.D. RESHETNIKOVA, E.O. SUKMANSKAYA,
L.T. BAYAZITOVA, R.S. FASSAKHOV

Kazan Scientific Research Institute of Epidemiology and Microbiology
Kazan Medical State Academy
Kazan Medical State University

Clinical and bacteriological criteria of efficiency of drug «SKIN-CAP» at local therapy atopic dermatitis

*The aiming selective examination of antibacterial activity pyrrithione zinc is carried out concerning the virulent strains of *S. aureus*, the hit skin for 40 patients with atopic dermatitis in the age of from 1 year till 13 years. The application 0,2 % of a cream or aerosol pyrrithione zinc at local treatment atopic dermatitis under the plan 2 times per day in the morning and evening promotes lowering on a skin of children *S. aureus*, and also results in elimination from a skin of the most virulent strains of staphylococcus of this strains.*

Keywords: atopic dermatitis, *S. aureus*, pyrrithione zinc, virulence factors, local treatment.

В мире ежегодно более 1 млн. человек страдают аллергическими заболеваниями, среди которых одним из наиболее распространённых и клинически значимых является атопический дерматит (АтД). Его отличительной особенностью является патоморфоз клинических проявлений, связанный с развитием

осложнённых форм заболевания, торпидных к традиционной терапии. Более чем у 50% больных АтД наблюдается присоединение инфекции. Среди микроорганизмов, колонизирующих кожу пациентов с АтД, лидирующую роль играет *Staphylococcus aureus*. Показано, что более 75% штаммов *S. aureus* продуци-

Таблица 1.
Генотипический профиль штаммов *Staphylococcus aureus*, колонизирующих гладкую кожу пациентов, до и после местной терапии препаратом «Скин-кап»

Детектируемые гены факторов вирулентности	Кол-во штаммов <i>S. aureus</i> , абс.ч.,%	
	до терапии «Скин-кап»	после терапии «Скин-кап»
<u>Адгезины к белкам плазмы и межклеточного матрикса</u>		
<i>efb</i> ,	97 (93,2%)	72 (91,1%)
<i>fnbA</i>	100 (96,1%)	73 (92,4%)
<i>clfA</i>	102 (98,0%)	72 (91,1%)
Не типизируемые	5 (4,8%)	6 (7,6%)*
Гидролитические ферменты		
<i>spIC</i>	103 (99,0%)	70 (88,6%)
<i>spIA</i>	103 (99,0%)	70 (88,6%)
<i>aur</i>	98 (94,2%)	68 (86,1%)
<i>nuc</i>	97 (93,2%)	59 (74,6%)
Не типизируемые	4 (3,8)	6 (7,5%)*
<u>Энтеро-и цитотоксины</u>		
<i>sea</i>	62 (59,6%)	47 (59,5%)
<i>seb</i>	45 (43,2%)	10 (12,6%)**
<i>sec</i>	68 (65,3%)	25 (31,6%)*
<i>sed</i>	37 (35,5%)	4 (5,1%)**
<i>see</i>	14 (13,4%)	4 (5,1%)*
<i>tst-H</i>	8 (7,6%)	1 (1,3%)*
<i>lukD/E</i>	25 (24,0%)	19 (0,3%)**
Не типизируемые	7 (6,7%)	6 (7,5%)
<u>Детерминанты устойчивости к оксациллину</u>		
<i>mecA</i>	67 (64,4%)*	13 (16,4%)*
<i>SCCmec I</i>	-	-
<i>SCCmec II</i>	8 (7,6%)	-
<i>SCCmec III</i>	14 (13,4%)	-
<i>SCCmec IV</i>	45 (43,2%)*	12 (15,2%)*
<i>SCCmec V</i>	1 (1,0%)	-
Не типизируемые	1 (1,0%)	1 (1,2%)
Всего	104 (100%)	79 (100%)

Различия достоверны * - $p < 0,05$, ** - $p < 0,01$

руют факторы вирулентности, которые способствуют поддержанию аллергических реакций в дерме, нарушению барьерной функции кожи, что приводит к прогрессированию хронического воспаления кожи (2, 3).

Одним из препаратов, предназначенных для наружной терапии АД, является активированный 1-окси-2(1H)-пиридинтион цинк или пиритиона цинк, торговое название «Скин-кап» (Испания). В рандомизированном исследовании подтверждена его безопасность и эффективность при применении у больных с АД (1).

Целью исследования явилось определение клинико-бактериологической эффективности препарата «Скин-кап» в отношении штаммов *Staphylococcus aureus*, колонизирующих поражённую кожу у больных с атопическим дерматитом. В связи с этим были поставлены следующие **задачи исследования**:

1. Генотипировать по генам вирулентности и мобильным участкам генома (SCCmec I, II, III, IV типа, *mecA*), отвечающим за устойчивость к оксациллину, штаммы стафилококков, колонизирующих кожу пациентов до и после местной терапии с применением лекарственных форм препарата «Скин-кап»;

2. Оценить эффективность элиминации золотистого стафилококка с кожи больных АД при терапии с применением «Скин-кап».

Материалы и методы исследования

В исследование были включены пациенты ($n=40$) в возрасте от 1 года до 13 лет. В процессе терапии все пациенты получали препарат «Скин-кап» по схемам в зависимости от распространенности процесса и формы аллергодерматоза: при ограниченной форме АД использовали крем для наружного применения 0,2% 2 раза в день (утром и вечером) на 4-6 ч. до полного разрешения процесса (21 день); при наличии экзематизации, мокнутия, отека использовали аэрозоль для наружного применения 0,2% 2 раза в день до полного разрешения процесса (21 день); при лихеноидной форме и на участки лихенизации кожи — крем для наружного применения 0,2% 1 раз в день до полного разрешения процесса (21 день). У всех больных до начала терапии определяли тяжесть заболевания по SCORAD и индексу IGA (*Investigator's Global Assessment*, индекс выраженности кожных изменений при АД), а также проводили бактериологическое исследование кожи с оценкой видового спектра основных бактериальных представителей и плотности колонизации.

Фенотипические вирулентные свойства штаммов *S. aureus* кожи определяли *in vitro* по активности ферментов термонуклеазы, протеазы. Определяли адгезию стафилококка к фибриногену, коллагену IV, фибронектину на полистироловых 96-луночных планках с 16-часовой культурой *S. aureus* по модифицированному методу M. Rynnonen et al., 2011 (4). Определение метициллинорезистентности стафилококков осуществляли согласно рекомендациям NCLS (2008). Контроль качества выполняли с эталонным штаммом *S. aureus* ATCC 25923 (ГИСК им. Тарасевича).

Генотипирование штаммов осуществляли методом ПЦР-амплификации ДНК штаммов *S. aureus* с определением праймер-специфических ампликонов генов, кодирующих адгезины (*efb*, *fnbA*, *clfA*), ферменты (*spIC*, *spIA*, *aur*, *nuc*) и энтеро- и цитотоксины (*sea*, *seb*, *sec*, *sed*, *see*, *tst*, *lukD/E*). Специфические праймеры синтезированы в ЗАО «Синтол» Москва, Россия. Синтез праймеров осуществлён по нуклеотидным последовательностям эталонных штаммов *S. aureus*, представленных в базе данных GenBank.

Геномную ДНК *S. aureus* выделяли по рекомендациям коммерческих наборов ZR Genomic DNA II Kit™. Праймеры исполь-

зовали в концентрации 15 нмоль/мкл, TaqF полимеразу (Россия) в концентрации 2,5U/мкл. Для увеличения специфичности полимеразу вносили в аликвоты под воск при «горячем старте» – 95°C, 3 минуты, конечный объем реакционной смеси составил 20 мкл, использовали свободную от нуклеаз воду (Fermentas). Детекцию праймер-специфических ампликонов проводили методом горизонтального электрофореза в 2% агарозном геле, проявление осуществляли интеркалирующим красителем этидиумом бромидом. Размер ампликонов оценивали по шкале маркеров DNA Ladder, Fermentas. Амплификацию проводили в амплификаторе «Терцик» (ДНК Технология, Россия), а визуализацию результатов с использованием транслюминатора Vilber Lourmat SCX-15M, Франция.

Статистический анализ

Проводили сравнительный анализ однородности двух выборок по критерию Манна-Уитни при уровне значимости $\alpha=0,05$.

Результаты, отражающие клинические критерии эффективности проведённой терапии с применением двух лекарственных форм (0,2 % крема и аэрозоля) ПЦ в виде «Скин-кап», показали, что на 21-й день терапии у всех больных было отмечено снижение индекса тяжести заболевания (SCORAD) в 3,6 раза по сравнению с исходным уровнем (соответственно $51,2 \pm 0,5$ и $14,2 \pm 0,7$, $p < 0,05$), а также уменьшение объективного клинического критерия тяжести кожных проявлений атопического дерматита по индексу IGA почти в 3 раза и уровня общего сыровоточного IgE (через 3 недели от начала лечения на $13,8\%$ от исходного уровня).

У всех пациентов к концу 3-х недельного курса терапии отмечено также значительное купирование местных воспалительных изменений кожи (гиперемии, зуда, мокнутия), что сопровождалось улучшением общего самочувствия, в частности, улучшился сон. Объективные критерии положительной динамики общего состояния пациентов к 21 дню терапии, такие как снижение в 3 раза выраженности зуда кожи ($5,9 \pm 0,4$ балла и $2,0 \pm 0,3$ балла соответственно, $p < 0,05$), снижение показателя нарушения сна в 2,5 раза ($5,0 \pm 0,3$ балла и $2,2 \pm 0,4$ балла, $p < 0,05$), а также уменьшение объективного клинического критерия тяжести атопического дерматита — индекса IGA — почти в 3 раза ($3,3 \pm 0,3$ балла и $1,2 \pm 0,2$ балла соответственно, $p < 0,05$), подтверждают клиническую эффективность терапии с применением препарата «Скин-кап» в данной группе пациентов.

До терапии и на 21-й день её проведения у всех пациентов оценивали плотность колонизации поражённой кожи видом *S. aureus* и сравнительно сопоставляли вирулентный фенотип и генотипический профиль изолятов золотистого стафилококка. Плотность колонизации поражённой кожи *S. aureus* к 21-дню терапии у пациентов данной группы достоверно снизилась по сравнению с исходным уровнем на 15% ($\log_{10} 4,32 \pm 0,5$ и $3,7 \pm 0,3 \log_{10}$ КОЕ/см², соответственно, $p < 0,05$).

Отмечено, что к концу терапии с участков поражённой кожи детей в возрасте до 5 лет выделялись штаммы *S. Aureus* со сниженными адгезивными свойствами к белкам (коллагену IV, фибронектину, фибриногену) по сравнению со штаммами, колонизировавшими кожу этих пациентов до терапии. У детей в возрасте старше 5 лет к концу терапии достоверные различия в адгезивных свойствах между штаммами *S. aureus* до так и после терапии выявлено только к белку фибронектину.

При изучении вирулентных свойств у штаммов *S. aureus*, выделенных с кожи до и после лечения (21-й день), было показано, что к концу терапии кожа пациентов колонизировалась штаммами со сниженными ферментативными свойствами, по сравнению с дотерапевтическим периодом. Активность гидролитических ферментов у штаммов, выделяемых к концу

терапии, была достоверно ниже, так активность IgG-протеиназ в 1,5 раза, термонуклеазы в 1,24 раза ($p < 0,05$).

При сравнении генотипического профиля штаммов *S. aureus*, выделенных с кожи пациентов после проведённой терапии, установлено достоверное снижение доли штаммов, содержащих в своем геноме гены, кодирующие синтез белков экзотоксинов золотистого стафилококка (суперантигенные белки, лейкоцидин, TSST-1-токсин). После проведённой терапии почти в 4 раза снизилась доля штаммов, содержащих в геноме мобильные генетические элементы (SCCmec), обуславливающие дополнительную устойчивость к оксациллину и б-лактамам антибиотикам, а также к антибиотикам других групп (табл. 1).

Обсуждение

Необходимо отметить, что важную роль в развитии патологического процесса в коже при АД играет плотность её колонизации условно-патогенными видами бактерий, среди которых *S. aureus* является доминирующим видом. Выявлены значительные различия между здоровыми и пациентами с атопическим дерматитом в плотности колонизации кожи золотистым стафилококком. Показано, что вероятность развития пиогенной инфекции кожи прямо пропорциональна плотности её колонизации и обратно пропорциональна местным защитным реакциям (5). В период выраженного обострения АД кожа пациентов, как правило, колонизируется стафилококками с высокой активностью гидролитических энзимов, а при проведении местной терапии с применением препарата «Скин-кап» происходит элиминация штаммов, у которых сохраняется выраженная экспрессия генов, кодирующих синтез этих ферментов, на менее активные варианты *S. aureus*. Существенным фактом, установленным при проведении генотипирования штаммов до и после терапии, является достоверное уменьшение количества штаммов, которые в составе мобильных элементов своего генома содержат гены, кодирующие синтез суперантигенов и лейкоцидинов, а также обеспечивают устойчивость к оксациллину и б-лактамам антибиотикам.

Таким образом, применение лекарственной формы пиритиона цинк в местной терапии у пациентов с АД приводит к достоверному снижению плотности колонизации кожи золотистыми стафилококками и меняет качественный состав штаммов *S. aureus*. Применение 0,2% крема или аэрозоля «Скин-кап» в местном лечении поражений кожи при атопическом дерматите по схеме 2 раза в день утром и вечером продемонстрировало клиническую и бактериологическую эффективность.

ЛИТЕРАТУРА

1. Фассахов Р.С. Сукманская Е.О., Решетникова И.Д. и др. Активированный цинк-пиритион («Скин-Кап») в лечении атопического дерматита у детей (результаты Российского многоцентрового исследования) // Журн. Пульмонология, аллергология. — 2007. — №4. — С. 43-46.
2. Мокроносова М.А. Влияние *Staphylococcus aureus* на течение атопического дерматита // Аллергология. — 2003. — №1. — С. 46-50.
3. Breuer K., Kapp A., Werfel T. Bacterial infections and atopic dermatitis // Allergy. — 2001. — Vol. 56. — P. 1034-1041.
4. Pynnonen M., Stephenson R.E., Schwartz K., Hernandez M., Boles B.R. Hemoglobin promotes *Staphylococcus aureus* nasal colonization // PLoS Pathogens. — 2011. — Vol. 7, №7. — P. 3.
5. Leung D.Y. The immunologic basis of atopic dermatitis // Clin. Rev. Allergy. — 1993. — Vol. 11. — P. 447-469.