

КРАВЧЕНКО АНЖЕЛА СЕРГЕЕВНА

**КЛИНИЧЕСКИЕ И ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ РОЗАЦЕА
ПРИ ВЫЯВЛЕНИИ КЛЕЩЕЙ РОДА DEMODEX**

14.01.10 - Кожные и венерические болезни

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени

кандидата медицинских наук

МОСКВА - 2019

Работа выполнена в ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Минздрава России

Научный руководитель:

доктор медицинских наук, доцент

Галлямова Юлия Альбертовна

Официальные оппоненты:

Корсунская Ирина Марковна – доктор медицинских наук, профессор, ФГБУН «Центр теоретических проблем физико-химической фармакологии» Российской академии наук, лаборатория физико-химических и генетических проблем дерматологии, заведующая лабораторией

Круглова Лариса Сергеевна – доктор медицинских наук, профессор, ФГБУ ДПО «Центральная государственная медицинская академия» Управления делами Президента Российской Федерации, кафедра дерматовенерологии и косметологии, заведующая кафедрой; проректор по учебной работе

Ведущая организация:

ФГБОУ ВО «Московский государственный медико-стоматологический университет имени А.И. Евдокимова» Минздрава России

Защита диссертации состоится «___» _____ 2019 года в ___ часов на заседании Диссертационного совета Д 208.040.10 на базе ФГАОУ ВО «Первый МГМУ имени И.М. Сеченова» Минздрава России (Сеченовский Университет) по адресу: 119991, г. Москва, ул. Трубецкая, д.8, стр.2

С диссертацией можно ознакомиться в ЦНМБ ФГАОУ ВО «Первый МГМУ имени И.М. Сеченова» Минздрава России (Сеченовский Университет) по адресу: 119034, г. Москва, Зубовский бульвар, д.37/1 и на сайте: <http://sechenov.ru>

Автореферат разослан «___» _____ 2019 года

Ученый секретарь диссертационного совета,

кандидат медицинских наук, доцент

Чебышева Светлана Николаевна

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность проблемы

В настоящее время, несмотря на актуальность вопроса, в современной литературе открытым остается вопрос о роли клещей рода *Demodex* в развитии клинической картины розацеа.

По мнению некоторых авторов, клещи рода *Demodex* являются представителями условно-патогенной микрофлоры кожи лица наряду с *Propionibacterium acnes*, *Staphylococcus epidermidis* и грибами рода *Malassezia* (Мокроносова М.А. и соавт., 2012). Данное мнение поддерживается тем, что в 55-100% случаев клещи выявляются, как у больных с дерматозами лица, так и у лиц, не имеющих клинических проявлений дерматологических заболеваний (Адаскевич В.П., 2000; Сюч Н.И., 2003; Елистратова Л.Л., 2013). Однако существуют научные работы доказывающие, что клещи рода *Demodex* способны к патогенному паразитированию и являются наиболее часто выявляемыми микробными агентами при розацеа (Потекаев Н.Н., 2000; Вислобоков А.В., 2005; Хамаганова И.В. и соавт., 2005; Лалаева А.М. и соавт., 2005). В тоже время, обращает на себя внимание отсутствие диагноза «Демодекоз» в Международной классификации болезней X пересмотра, что указывает на тот факт, что клещи рода *Demodex* выступают, скорее, в роли агента, осложняющего течение розацеа (Давыдова И.Б. и соавт., 2008). В настоящее время выделено два вида клещей рода *Demodex*, паразитирующих на коже человека: *Demodex folliculorum longus* и *Demodex folliculorum brevis* (Акбулатова Л.Х., 1968). Данные виды имеют сходные морфофункциональные характеристики, но отличаются по преимущественному месту локализации. В современной литературе не представлены обоснованные научные исследования, указывающие на роль видовой принадлежности возбудителя в формировании клинической картины розацеа.

Существующие предположения не являются в полной мере доказанными. Имеющиеся данные о паразитировании клещей рода *Demodex* у больных розацеа противоречивы и, зачастую, взаимно исключают друг друга. Следовательно,

выявление особенностей течения розацеа при наличии клещей рода *Demodex* представляет с одной стороны большой теоретический интерес, с другой – имеет практическую значимость, определяя новые направления терапии этого заболевания.

Важным разделом клинической медицины является вопрос о совершенствовании и внедрении новых диагностических методов исследований. Имеющиеся методы диагностики наличия клещей рода *Demodex* не удовлетворяют требованиям современной медицины, не гарантируют абсолютной достоверности результатов анализов, нередко травматичны. Одним из инструментальных методов диагностики в дерматологии является конфокальная лазерная сканирующая *in vivo* микроскопия (Митрошина Е.В., 2012; Sattler E.C. et al., 2012). Это инновационный метод, достоинства которого - неинвазивность и высокая информативность, однако, до настоящего времени, в Российской Федерации данный метод не применялся для выявления клещей рода *Demodex*. Применение конфокальной лазерной сканирующей *in vivo* микроскопии может стать альтернативным направлением в современной диагностике клещей рода *Demodex*.

Таким образом, с целью повышения качества диагностики и терапии возникает необходимость проведения научного исследования с анализом клинической картины, сравнением методов диагностики и лечения больных розацеа, ассоциированного с клещами рода *Demodex*.

Цель исследования: Усовершенствовать лабораторную и инструментальную диагностику и терапию больных розацеа, ассоциированную с клещами рода *Demodex*, с учетом клинических и диагностических особенностей.

Задачи исследования

1. Изучить влияние клещей рода *Demodex* на клиническую картину и течение розацеа;
2. Изучить особенности клинической картины розацеа, ассоциированной с клещами рода *Demodex*, в зависимости от видовой принадлежности клещей рода *Demodex*;

3. Оценить эффективность лабораторных и инструментальных методов диагностики по обнаружению клещей рода *Demodex*;
4. Оценить эффективность наружной терапии, направленной на элиминацию клещей рода *Demodex* у больных розацеа.

Научная новизна: Впервые уточнена роль клещей рода *Demodex* в формировании тяжелых форм розацеа. Впервые установлено, что клиническая картина розацеа и тяжесть течения зависят от видовой принадлежности клещей рода *Demodex*. Вид клеща *Demodex folliculorum longus* оказывает большее влияние на развитие тяжелых форм розацеа, чем *Demodex folliculorum brevis*. Впервые доказано, что конфокальная лазерная сканирующая *in vivo* микроскопия является эффективным и специфичным методом диагностики наличия клещей рода *Demodex* на коже лица.

Практическая значимость: Полученные данные обосновывают необходимость диагностики клещей рода *Demodex* у больных розацеа с определением видовой принадлежности, что дает возможность дифференцировать подход к проведению антипаразитарной терапии. Доказана высокая терапевтическая эффективность топического препарата, содержащего 1% ивермектин у больных розацеа, ассоциированной с клещами рода *Demodex*.

Основные положения, выносимые на защиту:

1. Клещи рода *Demodex* оказывают влияние на клиническую картину и течение розацеа, способствуя развитию островоспалительных морфологических элементов.
2. Вид клеща *Demodex folliculorum longus* способствует развитию тяжелых форм розацеа. Тяжесть клинических проявлений заболевания не зависит от количества обнаруженных особей в соскобе.
3. Конфокальная лазерная сканирующая *in vivo* микроскопия позволяет обнаружить клещей рода *Demodex* на глубине недоступной для скарификации, идентифицировать видовую принадлежность клещей рода *Demodex*.

Внедрение результатов исследования в практику. Результаты проведенного исследования внедрены в программы обучения интернов, ординаторов,

аспирантов, слушателей повышения квалификации по специальности 31.08.32 - «Дерматовенерология» и используются в учебном процессе кафедры дерматовенерологии и косметологии ФГБОУ ДПО «РМАПО» Минздрава России. По материалам диссертации написано учебное пособие «Демодекоз», утвержденное 13 ноября 2014 года на Ученом совете ГБОУ ДПО «РМАПО» Минздрава России. Метод лечения больных розацеа, ассоциированного с клещами рода *Demodex* с применением наружного препарата, содержащего 1% ивермектин, внедрен в практическую деятельность кожно-венерологического отделения ФГБУ «3 ЦВКГ им. А.А. Вишневого» Минобр России.

Апробация работы. Основные положения диссертации доложены на:

Научно-практической конференции с международным участием «Актуальные вопросы дерматовенерологии и косметологии». Москва, 7 ноября 2014 г.; VI Конференции молодых ученых РМАПО с международным участием «Современная медицина: традиции и инновации», Москва, 22-23 апреля 2015 г.; XV Всероссийском съезде дерматовенерологов и косметологов, Москва, 23-26 июня 2015 г.; V Конференции дерматовенерологов и косметологов Приволжского Федерального округа, Казань, 12-13 ноября 2015 г.; VI Конференции дерматовенерологов и косметологов Южного Федерального округа, Краснодар, 17-18 марта 2016 г.; 1104 заседании МОДВ в клинике кожных болезней имени В.А. Рахманова Первого МГМУ им. И.М. Сеченова, 19 апреля 2016 г.; XVI Всероссийском съезде дерматовенерологов и косметологов, г. Москва, 14-17 июня 2016 г.; 27-th European Academy of Dermatology and Venereology Congress. Paris, France, 12-16 September 2018. Апробация диссертации состоялась на расширенном заседании кафедры дерматовенерологии и косметологии ФГБОУ ДПО РМАПО Минздрава России, протокол №49 от 22 октября 2018 г.

Публикации: По теме диссертации опубликовано 14 научных работ, из них 4 (2 обзорные) в журналах, входящих в перечень рецензируемых научных изданий, рекомендованных ВАК при Минобрнауки Российской Федерации, 1 в журнале, индексируемом в международной цитатно-аналитической базе данных Scopus.

Личный вклад автора в проведенное исследование: Автор подготовил обзор литературы по данной проблеме, разработал дизайн исследования, составил и вел протоколы исследования, самостоятельно провел социологический, клинические методы исследования, обследование респондентов на цифровой видеокамере «Agamo SG», измерение уровня pH кожи лица. Автор лично ассистировал при диагностике на конфокальном лазерном сканирующем *in vivo* микроскопе. Автором проанализированы и обработаны полученные данные. По результатам работы подготовлены к публикациям статьи, тезисы и учебное пособие. Подготовлены доклады и презентации для выступлений на научно-практических конференциях и съездах.

Соответствие диссертации паспорту научной специальности: Диссертация соответствует формуле специальности: 14.01.10 - кожные и венерические болезни в частности 1, 3 и 4 пунктам паспорта специальности.

Структура и объем диссертации: Работа изложена на 119 страницах машинописного текста и состоит из введения, обзора литературы, раздела материалов и методов исследования, результатов собственных исследований, заключения, выводов, практических рекомендаций и списка литературы. Список литературы содержит 133 источника, в том числе 60 отечественных и 73 зарубежных. Текст иллюстрирован 9 рисунками и 23 таблицами.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Работа выполнена на базе кафедры дерматовенерологии и косметологии Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения дополнительного профессионального образования «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Министерства здравоохранения Российской Федерации и на базе кожно-венерологического отделения Федерального государственного бюджетного учреждения «3 Центральный военный клинический госпиталь им. А.А. Вишневского» Министерства обороны Российской Федерации в период с 2013 по 2018 годы.

За время проведения исследования всего обследовано 212 человек (мужчин и женщин). В исследование были включены здоровые лица, больные с

диагнозом розацеа с наличием и отсутствием клещей рода *Demodex* на коже лица. В процессе исследования сформированы две группы больных и группа здоровых лиц в возрасте старше 18 лет. I группа - больные с диагнозом розацеа с наличием клещей рода *Demodex*. В I группу вошли больные, у которых наличие клещей рода *Demodex* было подтверждено двумя методами исследования (световой микроскопией соскобов кожи и конфокальной лазерной сканирующей *in vivo* микроскопией в количестве более 5 особей на 1 см²) – 60 человек. II группа - группа сравнения, которую составили больные с диагнозом розацеа с отсутствием клещей рода *Demodex* – 60 человек. У больных II группы двумя методами исследования клещи рода *Demodex* найдены не были. III группа - группа сравнения, в которую были включены здоровые лица – 72 человека.

Методы лечения были выбраны согласно Клиническим рекомендациям Российского общества дерматологов и косметологов (2015). Препараты, использованные в исследовании: 1% ивермектин («Солантра»), регистрационный номер: ЛП-003692, 1% метронидазол («Метрогил»), регистрационный номер: П N011666/01-010411, 250 мг метронидазол («Трихопол»), регистрационный номер: 014703/01-2003.

Методы исследования. Сбор анамнеза у больных розацеа и здоровых лиц перед включением в исследование и заполнение «Индивидуальной карты».

Клинические: осмотр и установление диагноза. Диагноз «Розацеа» устанавливался на основании клинической картины заболевания. Для определения степени тяжести розацеа руководствовались клинικο-морфологической классификацией, предложенной Рыжковой Е.И. (1976). Всем больным с диагнозом розацеа производилась оценка распространенности морфологических элементов на всей поверхности кожи лица. Лабораторные: 1.

Определение наличия и видовой принадлежности клещей рода *Demodex* с помощью световой микроскопии соскобов кожи, содержимого сальных желез, волосяных фолликул ресниц и/или бровей, подсчет обнаруженных особей на единицу площади (1 см²); 2. Определение уровня pH кожи лица.

Инструментальные: 1. Фотографирование больных до и после лечения; 2.

Дерматоскопия на цифровой видеокамере «Aramo SG» с проведением следующих тестов на: влажность, жирность, гладкость, пигментацию, определение размера пор и типа кожи. 3. Исследование кожи лица с помощью конфокальной лазерной сканирующей *in vivo* микроскопии с определением наличия клещей рода *Demodex*. Статистические: Статистическая обработка данных выполнялась программой IBM SPSS Statistics for Windows, Version 21.0. Armonk, NY, USA: IBM Corporation. Данные представлены как медиана $\pm$ стандартное отклонение, а также количество наблюдений и их процентное соотношение. Различия считали достоверными при $p < 0.05$.

Нормальность распределения выборки проверялась с помощью критерия Колмогорова-Смирнова с поправкой Большева. Для сравнения групп и подгрупп по степени тяжести розацеа, распределению клещей рода *Demodex*, типов кожи и методов исследования на наличие клещей рода *Demodex* (световая микроскопия соскобов кожи, конфокальная лазерная сканирующая *in vivo* микроскопия), использовали хи-квадрат (χ^2) с описанием наблюдаемых значений, расчетом ожидаемых значений и вычислением хи-квадрата для каждой ячейки и общей хи-квадрат статистики.

Оценку различий между двумя независимыми группами по количественному признаку при отсутствии нормального распределения проводили с помощью U-критерия Манна-Уитни. Для проверки равенства медиан двух и более групп использовали критерии Крускала-Уоллиса. Для установления различий между двумя зависимыми группами и зависимыми изменениями пользовались W-критерием Вилкоксона. Для определения степени корреляции тяжести розацеа и наличия различных видов клещей рода *Demodex* использовали коэффициент корреляции Спирмена.

РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

Клиническая характеристика больных, вошедших в исследование. Под наблюдением находилось 192 респондента в возрасте от 18 до 69 лет, из них лиц мужского пола 82 человека, женского - 110. Диагноз розацеа был выставлен 120 больным. Вследствие того, что у 20 больных розацеа клещи рода *Demodex* были

обнаружены только одним методом исследования, данные этой группы были использованы для статистической обработки при сравнении эффективности методов диагностики наличия клещей рода *Demodex*.

Согласно методике исследования больные были разделены на две группы. В I группу вошли больные, у которых был обнаружен клещ рода *Demodex* в количестве более 5 особей на 1 см² двумя методами исследования (световой микроскопией и конфокальной лазерной сканирующей *in vivo* микроскопией), во II группу вошли больные, имеющие отрицательный анализ на наличие клещей рода *Demodex* двумя методами исследования (световой микроскопией и конфокальной лазерной сканирующей *in vivo* микроскопией) (табл. 1).

Таблица 1 – Распределение больных по полу, возрасту, диагнозу и наличию клещей рода *Demodex*

I группа (с наличием клещей рода <i>Demodex</i>)			Всего (n; %)
Пол	Мужчины (n; %)	Женщины (n; %)	
	n=28; 46.7%	n=32; 53.3%	60 (100%)
Возраст±SD	47±10.4	51±17.6	
II группа (с отсутствием клещей рода <i>Demodex</i>)			60 (100%)
Пол	Мужчины (n; %)	Женщины (n; %)	
	n=24; 40.0%	n=36; 60.0%	60 (100%)
Возраст±SD	41±6.3	33±2.9	
III группа (здоровые лица)			72 (100%)
Пол	Мужчины (n; %)	Женщины (n; %)	
	n=30; 41.7%	n=42; 58.3%	72 (100%)
Возраст±SD	26±1.4	31±3.1	

Данные представлены, как среднее значение±SD-стандартное отклонение

Клиническая картина больных розацеа. Распределение больных по тяжести заболевания розацеа представлено в таблице 2.

Таблица 2 – Распределение больных розацеа I и II групп по степени тяжести заболевания

Форма заболе-вания	Эритематозно- телеанги эктатическая	Папулезная	Пустулезная	Инфильтративно- продуктивная	Итого
Группа					
I группа	5 (16.5) [8.02]	8 (15.0) [3.27]	22(15.5)[2.73]	25 (13.0) [11.08]	60
II группа	28 (16.5) [8.02]	22(15.0)[3.27]	9 (15.5) [2.73]	1 (13.0) [11.08]	60
Итого	33	30	31	36	120

Таблица содержит следующую информацию: наблюдаемые значения, (ожидаемые значения) и [χ^2 статистика для каждой ячейки], $p < 0.05$

Как видно из таблицы 2, клещи рода *Demodex* чаще обнаруживались у больных с более тяжелыми клиническими формами розацеа (пустулезная, инфильтративно-продуктивная формы).

Для объективности исследования больные розацеа I и II групп были распределены по выраженности клинических проявлений розацеа (папулы, пустулы, открытые комедоны, милиум, телеангиэктазии, перифокальная эритема, эскориации, пигментация, жирный блеск). Частота встречаемости клинических проявлений розацеа представлена в таблице 3. У больных I группы при наличии клещей рода *Demodex* преобладали более тяжелые клинические случаи с наличием глубоких папулопустулезных элементов, узлов, перифокальной эритемы кожи лица, жирного блеска ($p < 0.05$). У больных II группы отмечались папулы, пустулы, небольшое количество телеангиэктазий и пигментации.

Таблица 3 – Частота встречаемости клинических проявлений розацеа у больных I и II групп

Группа	I группа	II группа	S1 Values	S1 Ranks	S2 Values	S2 Ranks
Морфологические элементы	(%)	(%)				
Папулы	87	48	48	8.5	19	1.5
Пустулы	72	22	50	10.5	19	1.5
Открытые комедоны	87	41	56	12	22	3
Милиум	50	47	65	13	24	4
Телеангиэктазии	48	50	68	14	30	5
Перифокальная эритема	65	19	72	15	41	6
Эскориации	56	24	82	16	47	7
Пигментация	82	19	87	17.5	48	8.5
Жирный блеск	68	30	87	17.5	50	10.5

Mann-Whitney U Test, two-tailed, $p < 0.05$

При сравнении клинических проявлений заболевания получена статистическая разница между I и II группами наблюдения. Такие патологические образования, как глубокие папулопустулезные элементы и узлы, эритема кожи лица, жирный блеск более выражены у больных I группы, что еще раз подтверждает, что наличие клещей рода *Demodex* предрасполагает к

возникновению островоспалительных морфологических элементов, способствуя развитию более тяжелых клинических форм заболевания.

Определение видовой принадлежности клещей рода *Demodex*. Наибольшее количество случаев розацеа у больных I группы было связано с паразитированием *Demodex folliculorum longus* (n=47; 78.3%), *Demodex folliculorum brevis* был обнаружен у 13 больных (21.7%).

При обследовании 72 здоровых лиц методом световой микроскопии соскобов кожи, клещи рода *Demodex* были выявлены в шести случаях (n=6; 8.3%), в остальных 66 случаях (91.7%) выявить клещей не удалось. Это говорит о том, что при отсутствии клинической картины розацеа достоверно более значимо, что клещи рода *Demodex* в соскобе обнаружены не будут ($p<0.05$). При определении видовой принадлежности клещей рода *Demodex* у здоровых лиц, выявлено паразитирование *Demodex folliculorum brevis* во всех шести случаях. В структуре диагнозов розацеа статистически значимо чаще преобладает *Demodex folliculorum longus* (n=47; 78.3%). Количество случаев обнаружения данного вида клеща превалирует над частотой обнаружения *Demodex folliculorum brevis*.

Дальнейшее исследование показало, что *Demodex folliculorum longus* сопровождает более тяжелые формы заболевания (пустулезную и инфильтративно-продуктивную формы розацеа) (n=21; 35% и n=25; 41.7% соответственно). *Demodex folliculorum brevis* обнаруживался при легких формах розацеа (эритематозно-телеангиэктатической и папулезной) (n=10; 16.7%).

Морфофункциональные характеристики кожи. При сравнении морфофункциональных характеристик кожи лица, полученных на цифровой видеокамере «Агато SG», выявлены статистические различия между группами. При наличии клеща у больных имеются статистически достоверные изменения морфофункциональных характеристик кожи в сторону ухудшения показателей влажности, жирности, пигментации, размера пор, гладкости кожи и смещение уровня pH в щелочную сторону по сравнению с больными, не зараженными клещом, и здоровыми ($p<0.05$).

Сравнительный анализ методов диагностики по обнаружению клещей рода Demodex. Для оценки достоверности метода конфокальной лазерной сканирующей *in vivo* микроскопии обследование проводилось во всех трех группах исследуемых. Проведено сравнительное исследование по эффективности методов конфокальной лазерной сканирующей *in vivo* микроскопии и соскоба с последующим микроскопическим исследованием. Полученные данные представлены в таблице 4.

Таблица 4 – Сравнительный анализ методов исследования на наличие клещей рода Demodex в диагностически значимых количествах

Идентификация клещей Demodex (>5 особей на 1см ²)	Положительный анализ	Отрицательный анализ	Итого
Световая микроскопия соскобов			
Больные розацеа	60 (43.58) [6.18]	80 (96.42) [2.79]	140
Здоровые лица	6 (22.42) [12.02]	66 (49.58) [5.43]	72
Итого	66	146	212
Идентификация клещей Demodex (>5 особей на 1см ²)	Положительный анализ	Отрицательный анализ	Итого
Конфокальная лазерная сканирующая <i>in vivo</i> микроскопия			
Больные розацеа	80 (60.75) [6.1]	60 (79.25) [4.67]	140
Здоровые лица	12 (31.25) [11.85]	60 (40.75) [9.09]	72
Итого	92	120	212

Таблица содержит следующую информацию: наблюдаемые значения, (ожидаемые значения) и [χ^2 статистика для каждой ячейки], $p < 0.05$

Сравнивая результаты, полученные методом световой микроскопии и конфокальной лазерной сканирующей *in vivo* микроскопии у больных розацеа и здоровых лиц выявлено, в большем количестве случаев клещи рода Demodex обнаруживаются методом конфокальной лазерной сканирующей *in vivo* микроскопии, тогда как соскоб у данных больных был отрицательный ($p < 0.05$). Положительный результат на наличие клещей рода Demodex методом световой микроскопии соскобов имели 60 больных розацеа (28.3%), методом конфокальной лазерной сканирующей *in vivo* микроскопии - 80 больных (37.7%).

Методом конфокальной лазерной сканирующей *in vivo* микроскопии также удалось выявить клещей рода Demodex у здоровых лиц ($n=12$; 5.7%),

причем, при проведении световой микроскопии соскобов клещи рода *Demodex* в количестве 5 особей на 1 см² были обнаружены только у шести здоровых лиц (n=6; 2.8%), у остальных 66 человек (31.2%) данные световой микроскопической диагностики были отрицательными (p<0.05). Полученные данные демонстрируют не только высокую информативность метода конфокальной лазерной сканирующей in vivo микроскопии, но и его превосходство над микроскопической диагностикой.

Количественное определение клещей рода *Demodex*. В результате исследования нами установлено, что обнаружить клеща методом световой микроскопии соскобов на 1 см² кожи сложно (табл. 5).

Таблица 5 – Обнаружение клещей рода *Demodex* методом световой микроскопии соскобов

Больные розацеа с наличием клещей рода <i>Demodex</i> (n; %)	Больные розацеа с отсутствием клещей рода <i>Demodex</i> (n; %)	Здоровые лица (n; %)			Итого (n; %)
Наличие клещей рода <i>Demodex</i> >5/см ²	Отсутствие клещей рода <i>Demodex</i>	Наличие клещей рода <i>Demodex</i> >5/см ²	Наличие клещей рода <i>Demodex</i> <5/см ²	Отсутствие клещей рода <i>Demodex</i>	
60; 28.3	80; 37.8	2; 0.9	4; 1.9	66; 31.1	212;
60; 28.3	80; 37.8	72; 33.9			100

Таблица содержит следующую информацию: n=количество наблюдений; процентное соотношение (%)

Клещи рода *Demodex* в диагностически значимом количестве (>5 особей на 1 см²) выявились у 60 больных розацеа (28.3%), вошедших в I группу. У 80 больных розацеа (37.8%) клещи рода *Demodex* отсутствовали вовсе при развернутой клинической картине заболевания.

При обследовании здоровых лиц отрицательный анализ на наличие клещей рода *Demodex* имели 66 человека (31.1%), при этом клещи рода *Demodex* обнаруживались в диагностически значимом количестве (>5 особей на 1 см²) у двоих исследуемых (0.9%), у четверых клещи обнаружили в количестве <5

особей на 1 см² (1.9%). Учитывая способность клещей к передвижению по поверхности кожного покрова со скоростью 8-16 мм/ч (Hoekzema R. et al., 1995; Demler M., de Kaspar H.M., 1997), а также случайный выбор исследуемого участка, данный факт не доказывает отсутствие клещей. Учитывая видовую принадлежность клещей рода *Demodex* у здоровых лиц (у всех был обнаружен *Demodex folliculorum brevis*), отсутствие клинической картины заболевания подтверждает, что данный вид относится к сапрофитам кожи лица.

При исследовании тех же респондентов методом конфокальной лазерной сканирующей *in vivo* микроскопии, были получены следующие данные (табл. 6)

Таблица 6 – Обнаружение клещей рода *Demodex* методом конфокальной лазерной сканирующей *in vivo* микроскопии

Больные розацеа с наличием клещей рода <i>Demodex</i> (n; %)	Больные розацеа с отсутствием клещей рода <i>Demodex</i> (n; %)	Здоровые лица (n; %)		Итого (n; %)
Наличие клещей рода <i>Demodex</i> >5/см ²	Отсутствие клещей рода <i>Demodex</i>	Наличие клещей рода <i>Demodex</i> >5/см ²	Отсутствие клещей рода <i>Demodex</i>	
80; 37.8	60; 28.3	12; 5.7	60; 28.3	
80; 37.8	60; 28.3	72; 34		212; 100

Таблица содержит следующую информацию: n=количество наблюдений; процентное соотношение (%)

При анализе данных таблицы 6 обращает на себя внимание тот факт, что <5 особей клещей на 1 см² ни в одном случае обнаружено не было.

Методом конфокальной лазерной сканирующей *in vivo* микроскопии клещи рода *Demodex* были найдены у больных розацеа II группы (n=20; 9.4%) и у здоровых лиц в большем количестве случаев (n=12; 5.7%) (p<0.05). Клещи рода *Demodex* определялись в виде округлых или длинных конусообразных образований в устьях волосяных и сальных желез с наличием контурации по периферии в количестве от одной до 25 особей (в среднем 3.37).

Получая поочередно снимки всех слоев эпидермиса с шагом в 3 мкм, конфокальная лазерная сканирующая *in vivo* микроскопия позволяет обнаружить клеща на глубине залегания, недоступного для скарификации, как, например, в

протоках сальных желез. Клещ регистрировался на всем протяжении эпидермиса. Средняя глубина залегания клещей составляет $46,63 \pm 6,78$ мкм, что соответствует уровню шиповатого слоя эпидермиса. Пенетрации паразита в верхние слои дермы выявлено не было.

Использование конфокального лазерного сканирующего *in vivo* микроскопа позволило определить средние размеры клещей рода *Demodex*. При определении размеров клещей от 100 до 200 мкм, считали, что в данном случае наблюдается *Demodex folliculorum brevis*, при этом, средняя длина клеща равнялась 125 мкм; от 200 до 400 мкм - *Demodex folliculorum longus* со средней длиной 293 мкм. Средний размер ширины клещей рода *Demodex* был равен 24 мкм (рисунок 1).

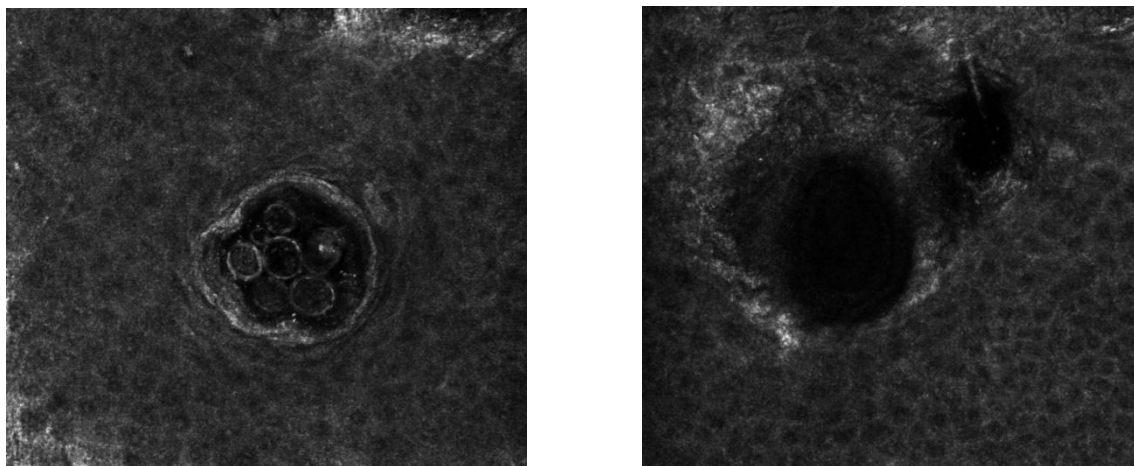


Рисунок 1. Изображения, полученные на конфокальном лазерном сканирующем микроскопе VivaScope 1500 ® (Lucid Inc., Rochester, NY, USA). Волосяные фолликулы и протоки сальных желез с наличием (слева) и отсутствием (справа) клещей рода *Demodex*

При измерении размеров устьев фолликул и оценке их количества на единицу площади, за которую принимали случайным образом выбранный участок, равный 25 мм^2 , выявлены статистически значимые различия между тремя группами ($p < 0.05$). Установлено, что размеры устьев фолликул и их количество на единицу площади во всех трех группах достоверно отличаются (табл. 7, 8).

Таблица 7 – Диаметр устьев фолликул и выводных протоков сальных желез в группах исследования

I группа (мкм)	II группа (мкм)	III группа (мкм)
145.1±25	89.4±32	72.2±29

Kruskal – Wallis Test; статистически значимые различия между группами $p < 0.05$

Данные представлены, как среднее значение±SD-стандартное отклонение

Таблица 8 – Количество фолликул и выводных протоков сальных желез в группах исследования на единицу площади (25 мм²)

I группа	II группа	III группа
324.3±11	114.0±6	28.4±7

Kruskal – Wallis Test; статистически значимые различия между группами $p < 0.05$

Данные представлены, как среднее значение±SD-стандартное отклонение

Наибольший размер устьев волосяных фолликул и выводных протоков сальных желез имели больные I группы с наличием клещей рода *Demodex*.

Антипаразитарная терапия у больных розацеа. После получения положительного результата исследований на наличие клещей рода *Demodex*, больные были рандомизированы по схемам лечения на две равные подгруппы (А и В соответственно) по 30 человек в каждой. Больные, вошедшие в подгруппу А, получали только наружную терапию препаратом, содержащим 1% ивермектин в виде крема 1 раз в день в течении 30 дней. Больные, включенные в подгруппу В, получали препарат, содержащий 250 мг метронидазола системно 2 раза в день, наружно - 1% метронидазола в форме геля 1 раз в день в течение 30 дней. Повторный визит больных состоялся через 30 дней непрерывной терапии. Субъективно обе схемы лечения больными переносились хорошо, побочных эффектов отмечено не было, ни один больной не был исключен из исследования.

При сравнении эффективности проведенной терапии, выявлено, что статистически достоверно чаще клещи рода *Demodex* обнаруживались после антипаразитарной терапии при проведении конфокальной лазерной сканирующей *in vivo* микроскопии ($p < 0.05$). Что еще раз демонстрирует превосходство конфокальной лазерной сканирующей *in vivo* микроскопии над методом световой микроскопии соскобов и последующей световой микроскопией (табл. 9).

Таблица 9 – Сравнительная таблица обнаружения клещей рода Demodex после проведенной терапии в подгруппах А и В

	Световая микроскопия соскобов кожи лица		Конфокальная лазерная сканирующая in vivo микроскопия	
	Наличие клещей рода Demodex	Отсутствие клещей рода Demodex	Наличие клещей рода Demodex	Отсутствие клещей рода Demodex
Подгруппа А	3 (6.5) [1.88]	27 (23.5) [0.52]	9 (14.5) [2.09]	21 (15.5) [1.95]
Подгруппа В	10 (6.5) [1.88]	20 (23.5) [0.52]	20 (14.5) [2.09]	10 (15.5) [1.95]

Таблица содержит следующую информацию: наблюдаемые значения, (ожидаемые значения) и χ^2 статистика для каждой ячейки], $p < 0.05$

При анализе полученных данных, приведенных в таблице 9, можно констатировать, что высокую противопаразитарную эффективность имели оба метода лечения. Учитывая то, что статистически достоверной разницы при отрицательных анализах на наличие клещей рода Demodex при проведении как лабораторной, так и инструментальной диагностики выявлено не было, можно говорить о высокой противопаразитарной эффективности топического препарата, содержащего 1% ивермектин в сравнении с комбинированным лечением системным препаратом метронидазола и топическим средством, содержащим 1% метронидазола.

Для сравнительной оценки эффективности методов лечения в подгруппах А и В на следующем этапе сопоставлялась клиническая картина больных розацеа, ассоциированного с клещами рода Demodex до и после лечения.

Как видно из таблицы 10, после лечения статистически достоверно снизились жалобы больных на высыпания, жжение, боль, зуд, красноту. Причем, у больных подгруппы А снизились жалобы на жирный блеск кожи, что является дополнительным преимуществом топической терапии.

Таблица 10 – Сравнение субъективных жалоб больных розацеа, ассоциированного с клещами рода *Demodex* до и после лечения

Подгруппы (до и после лечения)	Подгруппа А		Подгруппа В	
	До лечения (%)	После лечения (%)	До лечения (%)	После лечения (%)
Высыпания	100	73	100	66
Боль	69	33	76	32
Жжение	60	36	64	31
Краснота	68	40	71	40
Зуд	72	22	55	12
Пигментация	44	24	35	18
Наличие корочек/эксориаций	45	32	39	20
Сосудистые звездочки	63	41	57	41
Жирный блеск кожи	74	38	68	37

Wilcoxon Test; two-tailed; $p < 0.05$

Объективный анализ клинической картины больных розацеа, ассоциированного с клещами рода *Demodex*, после проведенной терапии показал, что достоверно регрессировали следующие морфологические элементы в подгруппах А и В: папулы, пустулы, эксориации ($p < 0.05$) по сравнению с первоначальными данными (табл. 11).

Таблица 11 – Частота встречаемости клинических проявлений розацеа до и после лечения у больных подгрупп А и В

Подгруппы (до и после лечения)	Подгруппа А		Подгруппа В	
	До лечения (%)	После лечения (%)	До лечения (%)	После лечения (%)
Морфологические элементы				
Папулы	100	43	74	48
Пустулы	82	30	63	42
Открытые комедоны	87	42	87	47
Милиум	60	23	41	14
Телеангиэктазии	41	14	56	12
Перифокальная эритема	56	20	75	36
Эксориации	45	11	68	21
Пигментация	74	53	90	63
Жирный блеск	65	25	72	56

Wilcoxon Test; two-tailed; $p < 0.05$

Анализ клинической картины показал положительную динамику терапии, которая проявлялась в достоверном снижении количества морфологических элементов, характеризующих остроту воспаления. Эффективность терапии подтверждалась уменьшением субъективных жалоб больных после проведенного лечения, причем, у больных, получавших только наружную терапию, отсутствовали жалобы на ощущение жирности кожи и появление жирного блеска, что является дополнительным преимуществом. После проведения антипаразитарной терапии статистически улучшились морфофункциональные параметры кожи ($p < 0.05$). Таким образом, клинические наблюдения продемонстрировали отсутствие превосходства в комбинированной противопаразитарной терапии с использованием системного препарата, по сравнению с наружной терапией с использованием препарата, содержащего 1% ивермектин в виде крема, что подтверждено результатами статистического анализа.

ВЫВОДЫ

1. Клещи рода *Demodex* осложняют клиническую картину и течение розацеа, способствуя развитию островоспалительных морфологических элементов (глубоких папулезных, пустулезных элементов, узлов, перифокальной эритемы). Тяжесть клинических проявлений розацеа не зависит от количества обнаруженных особей методом световой микроскопии соскобов кожи лица. Наиболее значимыми факторами, предрасполагающими к развитию осложнений, являются: морфофункциональные характеристики кожи (повышенная жирность, сниженная влажность, смещение pH в щелочную сторону, большой размер пор).
2. У больных с тяжелыми проявлениями заболевания (пустулезная и инфильтративно-продуктивная формы розацеа) достоверно чаще обнаруживается вид клеща *Demodex folliculorum longus* ($p < 0.05$). *Demodex folliculorum brevis* обнаруживается при легких формах заболевания и у здоровых лиц ($p < 0.05$).
3. Конфокальная лазерная сканирующая *in vivo* микроскопия является эффективным методом диагностики с целью обнаружения клещей рода *Demodex* не требующим предварительной подготовки к анализу и позволяющим

обнаружить клещей рода *Demodex* на уровне 46.63 ± 6.78 мкм, что соответствует шиповатому слою эпидермиса, который недоступен для скарификации, идентифицировать видовую принадлежность по размеру клещей рода *Demodex* (от 100 до 200 мкм - *Demodex folliculorum brevis*; от 200 до 400 мкм - *Demodex folliculorum longus*).

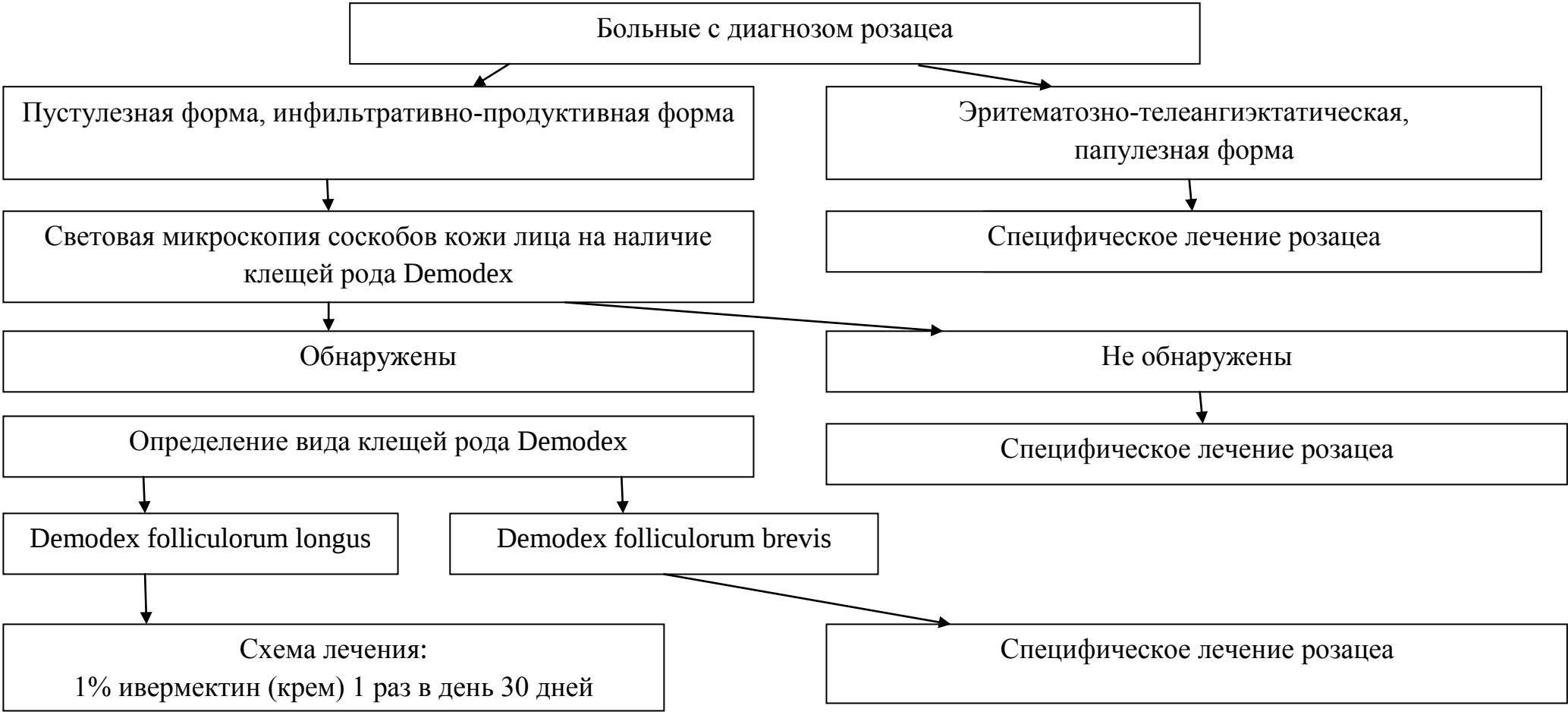
4. Антипаразитарный лекарственный препарат ивермектин, в виде - наружной формы (крем), в концентрации 1% (1 раз в день, общим курсом 30 дней) имеет высокую терапевтическую эффективность у больных розацеа, ассоциированного с клещами рода *Demodex*. Эффективность наружной терапии препаратом, содержащим 1% ивермектин (курс 30 дней), сравнима с комбинированным лечением с применением системного препарата метронидазола 250 мг per os 2 раза в день и наружного применения 1% метронидазола (гель) 1 раз в день в течение 30 дней.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Всем больным с диагнозом «Розацеа пустулезная и инфильтративно-продуктивная формы» показано обследование на наличие клещей рода *Demodex* с определением их видовой принадлежности.
2. При обнаружении *Demodex folliculorum longus* независимо от его количественной нагрузки показано лечение противопаразитарными препаратами.
3. При обнаружении *Demodex folliculorum brevis* лечение противопаразитарными препаратами не показано.
4. В качестве противопаразитарного препарата в лечении розацеа, ассоциированного с клещами рода *Demodex* рекомендовано использовать 1% ивермектин в виде крема в течение 30 дней наружно. Препарат необходимо наносить тонким слоем на предварительно очищенную кожу лица на ночь. Последующее лечение проводить в соответствии с основным диагнозом. Алгоритм обследования больных с диагнозом розацеа представлен на рисунке 2.

Рисунок 2

Алгоритм обследования и лечения больных с диагнозом розацеа



СПИСОК ОПУБЛИКОВАННЫХ РАБОТ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. **Гревцева (Кравченко) А.С.** Структура заболеваемости папулопустулезными дерматозами среди населения / **А.С. Гревцева (Кравченко)** // V Конференция молодых ученых РМАПО «Актуальные вопросы фундаментальной и клинической медицины»: сборник статей молодых ученых РМАПО; ГБОУ ДПО «Российская медицинская академия последипломного образования», Москва, 23 апреля 2014 г. - М.: ГБОУ ДПО РМАПО, 2014. – С. 68-69.
2. Кубанов А.А. Роль клещей *Demodex* в развитии папуло-пустулезных дерматозов (обзор) / А.А. Кубанов, Ю.А. Галлямова, **А.С. Гревцева (Кравченко)** // *Экспериментальная и клиническая дерматокосметология*. – 2014. - №2. - С. 43-46.
3. Кубанов А.А., Галлямова Ю.А., **Гревцева (Кравченко) А.С.** / Демодекоз. Учебное пособие // Утверждено на заседании Большого Ученого совета ГБОУ ДПО РМАНПО Минздрава России - 13 ноября 2014 г. – 41с.
4. А.А. Кубанов, Ю.А. Галлямова, **А.С. Гревцева (Кравченко)** / Демодекоз (обзор) // *Лечащий врач*. - 2014. - №11. - С. 7-11.
5. **Гревцева (Кравченко) А.С.** Морфофункциональные характеристики кожи / **А.С. Гревцева (Кравченко)** // VI Конференция молодых ученых РМАПО с международным участием «Современная медицина: традиции и инновации»: Материалы конференции; ГБОУ ДПО «Российская медицинская академия последипломного образования», Москва, 22-23 апреля 2015. - М.: ГБОУ ДПО РМАПО, 2015 - С. 105-106.
6. **Гревцева (Кравченко) А.С.** Современный взгляд на диагностику демодекоза / **А.С. Гревцева (Кравченко)** // *Terra medica*. – 2015. - №1-2. - С. 29-31.
7. **Гревцева (Кравченко) А.С.** Морфофункциональные характеристики кожи у больных акне и розацеа, осложненных демодекозом / **А.С. Гревцева (Кравченко)** // Тезисы научных работ XV Всероссийского съезда дерматовенерологов и косметологов. Тез. науч. работ. - Москва, 23-26 июня 2015 г. / Под ред. Кубановой А.А. - 2015. - С. 6-7.

8. **Гревцева (Кравченко) А.С.** Анализ клинической картины акне, осложненных демодекозом / **А.С. Гревцева (Кравченко)** // Kosmetic international. – 2015. - №5. - С. 63-67.
9. Кубанов А.А. Особенности клинической картины течения демодекоза / А.А. Кубанов, Ю.А. Галлямова, **А.С. Гревцева (Кравченко)** // **Лечащий врач.** - 2015. - №11. - С. 24-28.
10. **Гревцева (Кравченко) А.С.** Клинические варианты течения демодекоза кожи человека / **А.С. Гревцева (Кравченко)** // Программа и научные труды Научной конференции молодых ученых по медицинской биологии ФГБУ ФНКЦ физико-химической медицины ФМБА. - Под ред. Е.Н. Ильиной, Е.С. Кострюковой. - 19-20 апреля 2016 г. - ФГБУ ФНКЦ ФХМ ФМБА, 2016. - С. 48-49.
11. Кубанов А.А. Современные методы диагностики демодекоза / А.А. Кубанов, Ю.А. Галлямова, **А.С. Гревцева (Кравченко)** // **Вестник дерматологии и венерологии.** - 2016. - №1, - С. 47-56.
12. Kubanov A. The diagnosis of Demodex mites by confocal laser scanning microscopy / A. Kubanov, Y. Gallyamova, **A. Grevtseva (Kravchenko)** // 12-th EADV Spring Symposium. Valencia, Spain, 5-8 March 2015. - P. 116.
13. Kubanov A. Demodecosis: Clinical picture and early diagnosis. / A. Kubanov, Y. Gallyamova, **A. Grevtseva (Kravchenko)** // Research Journal of Medical Sciences. - 2015. - №9. – P. 18-24.
14. Kubanov A. Diagnostic procedures identification of Demodex mites by scanning laser confocal microscopy in vivo / A. Kubanov, Y. Gallyamova, **A. Grevtseva (Kravchenko)** et al. // 24-th EADV Congress. Copenhagen, Denmark, 7-11 October 2015. - P. 0903.