

М. В. Богдан

**АЛЬТЕРНАТИВНЫЕ МЕТОДЫ ОПРЕДЕЛЕНИЯ
DEMODEX FOLLICULORUM И DEMODEX BREVIS**

Научный руководитель канд. хим. наук, доц. В. Н. Беляцкий

Кафедра биоорганической химии,

Белорусский государственный медицинский университет, г. Минск

Резюме. В статье приведены результаты экспериментов по качественному определению клещей рода *Demodex*, а также сравнительный анализ различных методик.

Ключевые слова: демодекоз, хитин, хитозан.

Resume. The article presents the results of experiments on the qualitative detection of *Demodex* mites of the genus, as well as a comparative analysis of different methods.

Key words: demodekoz, chitin, chitosan.

Актуальность. Демодекс или демодекоз – заболевание, вызываемое паразитированием на человеческой коже патогенного клеща под названием угревая железница (*Demodex folliculorum* и *Demodex brevis*). Клещ обитает в сальных протоках и волосяных фолликулах человека. Как правило, поражает кожу лица: поселяется на веках, лбу, в носогубных складках, наружных слуховых проходах. Чаще всего заболевание начинается в среднем возрасте на фоне ослабления иммунной системы человека и нарушения обмена веществ, однако известно множество случаев наличия паразитов и у молодых людей. Продукты жизнедеятельности лицевого клеща способствуют развитию аллергических реакций, себореи, вызывают поражение глаз (демодекозный блефарит и конъюнктивит).

Для выявления клеща и подтверждения диагноза традиционно производят микроскопическое исследование: проводится соскоб с кожи лица или из сальных желез на наличие яиц и взрослых особей демодекса.

Результаты проведенной работы могут применяться для диагностики *Demodex folliculorum* и *Demodex brevis*, что является актуальной проблемой у большого количества людей (оценочно носителями клещей являются треть детей и молодых людей, половина взрослых и 2/3 пожилых людей) [1,2].

Цель: разработать альтернативные методы проведения анализа на *D. folliculorum* и *D. brevis*.

Задачи:

1. Подобрать оптимальный биологический материал *D. folliculorum* и *D. brevis*.
2. Разработать метод определения выбранного биологического материала, который бы удовлетворял следующим параметрам: доступность необходимых реактивов и простота выполнения опыта, дешевизна производимой операции.
3. Провести сравнительный анализ разработанных методов.

Материалы и методы. Общепринятая методика предполагает проведение микроскопического исследование соскоба с поверхности кожи лица, предлагаемая нами – проведение цветных качественных реакций на покровы тела клеща (в качестве анализируемого материала был выбран хитин). Были проведены следующие

качественные цветные реакции: реакция на продукт щелочного гидролиза хитина – N-ацетилглюкозамин с использованием дифенилкарбазола (как альтернативный вариант может быть использован дифенилкарбазид), о положительном результате данной реакции свидетельствует появляющееся в течение 5-10 секунд интенсивно-красное окрашивание; реакция на продукт деацетилирования хитина – хитозан. Хитозан был получен с использованием микробиологических методов: деацетилирование молекулы хитина с помощью ферментов-деацетилаз, продуцируемых бактериями (была использована мазь для наружного применения Биосептин, содержащая бактерии *Bacillus amyloliquefaciens* штамм ВКПМ В-10642 (DSM 24614) и *Bacillus amyloliquefaciens* штамм ВКПМ В-10643 (DSM 24615). Для установления наличия хитозана в растворе применялась реакция с йодом, положительный результат которой представляет собой появление фиолетового окрашивания.

Результаты и их обсуждение. Были разработаны две методики определения биологического материала *D. folliculorum* и *D. brevis*. Каждая из приведенных методик имеет свои преимущества и недостатки. К преимуществам реакции с дифенилкарбазолом (дифенилкарбазидом) можно отнести быстрый результат, высокую точность, доступность реактивов, воспроизводимость результатов, возможность выпуска экспресс-тестов для диагностики патологии, недостатком метода является невозможность проведения анализа непосредственно на коже. Преимуществами реакции на хитозан являются простота применения, возможность проведения теста непосредственно на коже (благодаря избирательному действию ферментов), широкое использование хитозана для активизации заживления без образования рубцов, что особенно важно в вопросе косметической коррекции [3]. Недостатком метода является меньшая доступность реактивов в сравнении с предыдущим методом. Оба метода были использованы практически. В ходе экспериментальной части были произведены 10 смывов с кожи 10 разных пациентов (все женщины, средний возраст составил $19 \pm 3,6$ года) после оформления информированного согласия. Все полученные материалы были проанализированы с использованием обоих методов, результаты исследований были сопоставлены с данными, полученными при микроскопии соскоба с кожи лица тех же пациентов. Во всех случаях результаты микроскопического исследования подтвердили данные, полученные путем проведения качественных цветных реакций, предложенных в работе. Кроме того, было обнаружено, что результат качественной цветной реакции на продукт щелочного гидролиза хитина N-ацетилглюкозамин в значительной степени зависит от количества особей, находящихся на поверхности кожи, так при анализе смыва с кожи пациентки, начавшей лечение за неделю до участия в исследовании, наблюдалось слабо-розовое окрашивание, в то время как при анализе смыва с кожи пациентки, не начавшей лечение, было получено ярко-розовое окрашивание. Несмотря на наличие определенных плюсов и минусов у каждого метода, применение каждого из них является эффективным для определения наличия паразита.

Выводы:

1 Традиционный метод диагностики отнюдь не всегда является оптимальным.

2 Каждый из предложенных в работе вариантов имеет свои преимущества: а) реакция с дифенилкарбазолом может найти широкое применение в экспресс-диагностике; б) анализ путем перевода хитина в хитозан позволяет не только получить достоверный результат без проведения дополнительных манипуляций, но и позволяет получить позитивный эффект уже на стадии диагностики.

3 Реактивы, применяемые в предложенном методе, имеют относительно невысокую стоимость, что позволяет использовать результаты проведенной работы как альтернативный вариант общепринятому подходу.

M. V. Bogdan
ALTERNATIVE METHODS
DEMODEX FOLLICULORUMI DEMODEX BREVIS
Tutor PhD, associate professor V. N. Byalyatski
Department of Bioorganic Chemistry,
Belarusian State Medical University, Minsk

Литература

1. Акбулатова, Л. Х. О двух формах клеща демодексфолликулорумгоминис и о демодикозе человека / Л. Х. Акбулатова// Труды Ленинградского института усовершенствования врачей. Выпуск 4.–М.: Медицина. – 1970. – С. 54–66.
2. Вартапетов, А. Я. Фолликулярный демодекс в патологии кожи / Тезисный доклад на научно-практической конференции, Московский НИИ косметологии МЗ РСФСР. –М. – 1972. – С. 38–39.
3. Rufli, T. Tile hair follicle mites Demodex folliculorum and Demodex brevis: biology and medical importance /T. Rufli// Dermatolog. –1981. – P. 162.