

Резолюция экспертного совещания «Тактика ведения пациента с инфекцией *Helicobacter pylori*. От простого к сложному»¹

Н. Н. Дехнич¹, Н. В. Захарова², М. И. Кузьмин-Крутецкий², Т. Л. Лапина³,
С. С. Пирогов⁴, О. А. Саблин⁵, А. А. Самсонов⁶, В. И. Симаненков²

¹ ГБОУ ВПО «Смоленская государственная медицинская академия» Минздрава России, Смоленск, Россия

² ГБОУ ВПО «Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова» Минздрава России, Санкт-Петербург, Россия

³ ГБОУ ВПО «Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова» Минздрава России, Москва, Россия

⁴ ФГБУ «Московский научно-исследовательский онкологический институт им. П.А. Герцена» Минздрава России, Москва, Россия

⁵ ФГБУ «Всероссийский центр экстренной и радиационной медицины» МЧС России, Санкт-Петербург, Россия

⁶ ГБОУ ВПО «Московский государственный медико-стоматологический университет им. А.И. Евдокимова» Минздрава России, Москва, Россия

The Summary of Expert Meeting «Managing Patients with *Helicobacter pylori* Infection: From Simple to Complex»¹

N. N. Dekhnich¹, N. V. Zakharova², M. I. Kuzmin-Krutetcki², T. L. Lapina³, S. S. Pirogov⁴,
O. A. Sablin⁵, A. A. Samsonov⁶, V. I. Simanenkova²

¹ Smolensk State Medical Academy, Smolensk, Russia

² North-Western State Medical University named after I.I. Mechnikov, Saint-Petersburg, Russia

³ First Moscow State Medical University, Moscow, Russia

⁴ Moscow Research Institute for Oncology named after P.A. Hertsen, Moscow, Russia

⁵ Russian Center of Emergency and Radiation Medicine, Saint-Petersburg, Russia

⁶ Moscow State Medical and Dentistry University named after A.I. Evdokimov, Moscow, Russia

Введение

На сегодняшний день *Helicobacter pylori* (*H. pylori*) является одной из наиболее распространенных бактериальных инфекций человека. По данным ряда авторов, около 50% населения земного шара (более трех миллиардов человек) инфицировано этим микроорганизмом, при этом в развивающихся странах частота значительно выше [1, 2]. *H. pylori*-инфекция встречается у 80–90% жителей развивающихся стран Азии и Африки, 40–80% жителей Восточной Европы и 25–40% населения развитых стран Европы и Северной Америки [3, 4].

Частота инфекции *H. pylori* у взрослого населения Российской Федерации, по данным отечественных исследований, составляет более 80% [5].

Геликобактерная инфекция признана ключевым этиопатогенетическим фактором в развитии хронического гастрита, язвенной болезни желудка и двенадцатиперстной кишки, некардиального рака желудка, MALT-лимфомы. Можно констатировать, что проблема перешагнула рамки патологии гастродуоденальной зоны [6–10]. Имеются данные о связи между инфекцией и рядом негастродуоденальных заболеваний, в частности железодефицитной анемией, идиопатической тромбоцитопенической пурпурой, а также дефицитом витамина B₁₂ [11–14].

Контактный адрес:
Татьяна Львовна Лапина
Эл. почта: tatlapina@gmail.com

¹ Экспертное совещание «Тактика ведения пациента с инфекцией *Helicobacter pylori*. От простого к сложному» состоялось 27.06.2014 в Санкт-Петербурге.

Диагностика и контроль эффективности эрадикационной терапии *H. pylori*

Для диагностики *H. pylori* разработан ряд методов, которые можно разделить на неинвазивные и инвазивные [7, 15].

К **неинвазивным методам** относятся:

- определение антигена *H. pylori* в кале;
- изотопный дыхательный тест с мочевиной, меченой ^{13}C – считается эталонным и рекомендован как для первичной диагностики, так и для контроля успешности эрадикации;
- определение антител к *H. pylori* в сыворотке крови (серологический метод)

Инвазивные методы диагностики выполняются в рамках эндоскопического исследования. К ним относятся:

- быстрый уреазный тест с биоптатом, полученным при ЭГДС (биоптат помещается на индикаторный диск тест-системы);
- полимеразная цепная реакция с гастробиоптатами;
- гистологическое исследование (с окрашиванием биоптатов или мазков-отпечатков);
- микробиологическое исследование биоптатов (с возможностью определения чувствительности к антибиотикам).

Для повышения вероятности выявления *H. pylori* при применении инвазивных методов диагностики рекомендуется исследовать хотя бы два биоптата из тела желудка и один биоптат из антрального отдела [15].

Прием *ингибиторов протонной помпы* (ИПП) (а также препаратов висмута и антибактериальных средств) менее чем за 2 нед до исследования может привести к ложноотрицательным результатам всех методов диагностики, кроме серологических тестов. Поэтому прием этих лекарственных средств необходимо отменить не менее чем за 2 нед до проведения диагностических мероприятий.

В России на сегодняшний день диагностика инфекции затруднена, так как не все из имеющихся современных методов доступны в различных регионах страны. Руководствуясь последними российскими и зарубежными рекомендациями, предпочтение стоит отдавать дыхательному тесту с мочевиной, меченой ^{13}C (чувствительность составляет 88–95%, специфичность – 95–100%) и определению антигена *H. pylori* в кале (чувствительность – 94%, специфичность – 92%) [7, 15–17]. Однако при недоступности этих методов для первичной диагностики можно использовать любой из имеющихся в распоряжении валидизированных методов.

Контроль эффективности эрадикации должен осуществляться не ранее чем через 4 нед после окончания курса антигеликобактерной терапии или приема любых антибиотиков и не ранее чем через 2 нед после окончания приема ИПП [7, 15]. Необходимо учитывать, что не все методики подходят для контроля излеченности. Так, антитела к *H. pylori* могут сохраняться в течение многих лет. Косвенно об уничтожении инфекции будет свидетельствовать снижение титра антител, выявляющееся обычно к 6–12 месяцу [16]. В связи с этим серологические методы для контроля эрадикации использовать нецелесообразно.

Лечение больных с инфекцией *H. pylori*

«Рекомендации Российской гастроэнтерологической ассоциации по диагностике и лечению инфекции *Helicobacter pylori* у взрослых» служат основным практическим руководством для врачей нашей страны [15].

Для лечения больных с инфекцией *H. pylori* назначают *эрадикационную терапию* (ЭТ), включающую 2–3 антибактериальных препарата вместе с ИПП. В схемы ЭТ входит ИПП, назначаемый 2 раза в сутки в стандартной дозе по 20 мг (оме-, эзо-, рабепразол), 40 мг (пантопразол) или 30 мг (лансопразол). Стандартом лечения для пациентов с впервые выявленной инфекцией на сегодняшний день является тройная терапия: ИПП в стандартной дозе + кларитромицин 500 мг + амоксициллин 1000 мг (или метронидазол 500 мг). Все препараты принимаются 2 раза в сутки, оптимальная длительность терапии 10–14 дней, минимальная допустимая длительность лечения – 7 дней [7, 15, 18, 19].

В последнее время отмечается снижение эффективности этой схемы из-за ряда факторов и, в первую очередь, из-за наличия резистентности бактерии к кларитромицину и метронидазолу [18–21]. С учетом этого, решением последнего консенсуса Маастрихт IV предложен дифференцированный подход к назначению схем ЭТ в зависимости от показателя резистентности *H. pylori* к кларитромицину в каждом конкретном регионе. Согласно положениям консенсуса, в регионах с высокой резистентностью (более 20%) в качестве ЭТ первой линии рекомендуется квадротерапия с препаратами висмута: ИПП в стандартной дозе 2 раза в сутки + тетрациклин 500 мг 4 раза в сутки + метронидазол 500 мг 3 раза в сутки + висмута трикалия дицитрат 120 мг 4 раза в сутки. При этом длительность терапии составляет 10 дней. Эта схема также является предпочтительной у пациентов с непереносимостью препаратов пенициллинового ряда [7, 15].

Необходимо отметить, что данные по резистентности значительно отличаются в различных странах и даже регионах одной и той же страны. Так, в южных регионах Европы показатель резистентности достигает 21,5%, в то время как в северных он не превышает порога 10%. В США эта цифра составляет 13%, а самая высокая отмечена в странах Африки — до 44,7% [23–25]. Что касается России, то этот показатель, судя по ограниченному числу локальных исследований, колеблется в пределах 5,4–7,6% [26–29].

Таким образом, если нет региональных данных о ситуации с резистентностью к кларитромицину, российским врачам в качестве терапии первой линии следует отдавать предпочтение тройной схеме с кларитромицином [15].

Правильное проведение первой схемы антигеликобактерной терапии очень важно, так как именно первая линия лечения может обеспечить наибольшую вероятность «искоренения» инфекции *H. pylori*. В случае соблюдения всех рекомендаций врача, вероятность успешности эрадикации составляет не менее 80% [7, 30]. Важное место в обеспечении эффективности ЭТ занимает выбор ИПП. Например, в метаанализе A.G. McNicholl и соавт. было показано, что у более современных ИПП (эзо- и рабепразол) вероятность эрадикации микроорганизма выше, чем у препаратов «первого поколения» (оме-, лансо-, пантопразол). Так, при анализе 20 исследований применение схемы эрадикации *H. pylori* на основе рабепразола (группа составила 1795 пациентов) привело к успешной эрадикации в 80,5% случаев, а при использовании схемы на основе оме-, лансо-, пантопразола (1969 пациентов) — в 76,2% случаев [31].

Небрежное или неправильное проведение ЭТ первой линии может привести к ее неудаче, что потребует назначения второй линии. К сожалению, последующие схемы лечения, особенно если используются те же антибактериальные препараты или пациент ранее принимал какой-либо из антибиотиков, содержащийся в схеме лечения, имеют меньше шансов достижения успешного результата. Таким образом, важно использовать только схемы лечения, для которых имеется достаточная доказательная база и данные о доказанной эффективности [15, 18, 28].

Учитывая важность именно первого курса антигеликобактерной терапии, следует более подробно остановиться на возможных причинах неудач [32, 33]. Условно их можно объединить в 3 основные группы причин:

- зависящие от свойств самой бактерии;
- зависящие от пациента;
- зависящие от врача.

К первой группе причин можно отнести резистентность *H. pylori* к антибактериальным препаратам, переход бактерии в кокковую форму и высокую бактериальную нагрузку (инокулюм-эффект), а также генотипические особенности геликобактера — вирулентность штамма бактерии (CagA-положительные штаммы более восприимчивы к антибиотикам по сравнению с CagA-негативными) [34–36].

К причинам неудач ЭТ, зависящим от пациента, относится низкий комплаенс (приверженность) — несоблюдение пациентом назначенной многокомпонентной схемы терапии либо преждевременная отмена препаратов в связи с развитием побочных эффектов на фоне проводимого лечения. В исследовании D. Y. Graham и соавт. показано, что эффективность эрадикации достигает 96% у тех пациентов, кто следовал схеме терапии и принял 60% и более лекарственных препаратов. У тех больных, которые приняли менее 60% курсовой дозы препаратов, эффективность составила 69% [37]. В таких ситуациях очень важна роль врача, который может мотивировать пациента полностью пройти «правильный» курс лечения. Специалист должен объяснить необходимость соблюдать кратность приема препаратов, причину назначения нескольких препаратов (в зависимости от схемы терапии пациенту может быть назначено от 6 до 29 таблеток в сутки). Доктор должен предупредить о развитии наиболее частых побочных эффектов (диарея, неприятный вкус во рту, тошнота), которые не всегда требуют отмены препаратов. Кроме низкого комплаенса, у ряда пациентов причиной низкой эффективности выбранной схемы может иметь полиморфизм гена CYP2C19 и связанный с этим ускоренный метаболизм ряда ИПП [38, 39]. Все эти особенности следует учитывать при выборе схемы терапии и конкретных препаратов в ней.

К последней группе причин, приводящих к неудачам антигеликобактерной терапии, можно отнести факторы, зависящие от лечащего врача. Как уже упоминалось ранее, очень важна мотивация пациента, и здесь большую роль имеет отношение самого врача и знание им проблемы. По данным зарубежных авторов, у части врачей имеется недостаток знаний относительно инфекции *H. pylori*. Особенно это касается знаний о риске развития рака желудка и MALT-лимфомы, связанных с наличием бактерии [40].

Таким образом, не всегда специалист может объяснить пациенту все риски, связанные с его заболеванием, и убедительно доказать необходимость лечения. Следует отметить, что несмотря на наличие и доступность российских и европейских

рекомендаций по рациональному лечению инфекции *H. pylori*, на практике применяются схемы, существенно отличающиеся от стандартов. В крупном исследовании, выполненном при поддержке Российской гастроэнтерологической ассоциации в 2005 г., было показано, что нерациональная ЭТ имеет место в 81% случаев (включая применение неправильных схем, неадекватных доз и препаратов с недоказанной эффективностью). Кроме этого, диагностика *H. pylori* до лечения проводится в 22,5% случаев, а контроль эффективности ЭТ — только в 6,7% [41]. Следует продолжить учебно-образовательные мероприятия среди врачей и просветительскую работу о значении инфекции *H. pylori* среди населения.

Если врач учел все вышеперечисленное, а эффекта от первого курса терапии достичь не удалось, пациенту необходимо назначить второй курс терапии, при этом врач должен избегать назначения антибиотиков, использовавшихся в предыдущих схемах лечения. Согласно современным рекомендациям, в регионах с низкой резистентностью к кларитромицину терапией второй линии является квадротерапия на основе препаратов висмута. Что же касается регионов с высокой резистентностью, то там терапией второй линии при неэффективности квадротерапии первой линии является тройная терапия с левофлоксацином: ИПП в стандартной дозе + левофлоксацин 500 мг + амоксициллин 1000 мг. Все препараты принимаются 2 раза в сутки, длительность терапии — 10 дней [7, 15, 18, 19].

Европейскими и российскими экспертами предложен ряд мер, позволяющий повысить эффективность ЭТ: увеличить длительность ЭТ с 7 до 10–14 дней, использовать высокие (двойные, по отношению к принятым в схемах ЭТ) дозы ИПП (эзо- и рабепразола 40 мг два раза в сутки), добавить препараты висмута трикалия дицитрата (120 мг 4 раза в сутки) и пробиотики с доказанной эффективностью в отношении геликобактерной инфекции [7, 15]. Необходимо отметить, что применение высоких доз ИПП для ЭТ является off-label (офф-лейбл — использование препарата в дозе, не утвержденной государственными регулирующими

органами). Однако анализ научных данных позволяет обосновать целесообразность такого подхода, учитывая увеличение эффективности ЭТ на 12% [7]. Кроме того, ИПП обладают широким терапевтическим диапазоном. Так, для лечения больных с синдромом Золлингера–Элисона разрешен длительный прием дозы 120 мг рабепразола и 160 мг эзомеразола [42].

К сожалению, как уже упоминалось выше, каждый следующий курс терапии может иметь меньшую вероятность успеха и в дальнейшем врач может столкнуться с проблемой подбора эффективных антибактериальных препаратов для эрадикации. Поэтому, в случае неудачи двух курсов эрадикационной терапии лечение должно основываться на определении индивидуальной чувствительности микроорганизма к антибиотикам [7, 15]. В такой ситуации очень важно правильно провести микробиологическое исследование с определением чувствительности бактерии к конкретным антимикробным препаратам и назначить курс терапии, опираясь на полученные данные. Подробные **рекомендации по выделению, идентификации и определению чувствительности *H. pylori* к антимикробным препаратам изложены в приложении к данному документу.**

Заключение

К настоящему времени разработка и внедрение в практику современных диагностических методов, адекватных схем ЭТ позволили добиться значительных успехов в борьбе с инфекцией *H. pylori* и ее последствиями. Тем не менее, сохраняющийся высокий уровень инфицированности населения большинства развитых стран, появление резистентных штаммов бактерии, высокая частота ассоциированных с *H. pylori* заболеваний, в том числе рака желудка, определяют актуальность данной проблемы. Только индивидуальный врачебный подход, детальный расспрос пациента с учетом всех особенностей его состояния и назначение рекомендованных схем терапии с последующим контролем излеченности позволит сделать лечение геликобактерной инфекции максимально эффективным.

Литература

1. Go M.F. Review article: natural history and epidemiology of *Helicobacter pylori* infection. *Aliment Pharmacol Ther* 2002; 16(Suppl1):3-15.
2. Salih B.A. *Helicobacter pylori* infection in developing countries: The burden for how long? *Saudi J Gastroenterol* 2009; 15(3):201-7.
3. Tonkic A., Tonkic M., Lehours P., Megraud F. Epidemiology and diagnosis of *Helicobacter pylori* infection. *Helicobacter* 2012; 17(Suppl.1):1-8.
4. Ford A.C., Axon A.T. Epidemiology of *Helicobacter pylori* infection and public health implications. *Helicobacter* 2010; 15(Suppl.1):1-6.
5. Гастроэнтерология: национальное руководство. Под ред. В.Т. Ивашкина, Т.Л. Лапиной. - М.: ГЭОТАР-

- Медиа, 2008. - 704 с. - (Серия «Национальные руководства»).
6. Маев И.В. Современные представления о заболеваниях желудочно-кишечного тракта, ассоциированных с *Helicobacter pylori*. Терапевтический архив 2006; 78(2):10-5.
 7. Malfertheiner P., Megraud F., O'Morain C., et al. Management of *Helicobacter pylori* infection - the Maastricht IV / Florence Consensus Report. Gut 2012 ;61(5):646-64.
 8. Uemura N., Okamoto S., Yamamoto S., et al. *Helicobacter pylori* infection and the development of gastric cancer. N Engl J Med 2001; 345:784-9.
 9. Leung W.K., Lin S.R., Ching J.Y., et al. Factors predicting progression of gastric intestinal metaplasia: Results of a randomised trial on *Helicobacter pylori* eradication. Gut 2004; 53:1244-9.
 10. Farinha P., Gascoyne R.D. *Helicobacter pylori* and MALT lymphoma. Gastroenterology 2005; 128:1579-605.
 11. Muhsen K., Cohen D. *Helicobacter pylori* infection and iron stores: a systematic review and meta-analysis. *Helicobacter* 2008; 13(5):323-40.
 12. Qu X.H., Huang X.L., Xiong P., et al. Does *Helicobacter pylori* infection play a role in iron deficiency anemia? A meta-analysis. World J Gastroenterol 2010; 16(7):886-96.
 13. Arnold D.M., Bernotas A., Nazi I., et al. Platelet count response to *H.pylori* treatment in patients with immune thrombocytopenic purpura with and without *H.pylori* infection: a systematic review. Haematologica 2009; 94(6):850-6.
 14. Vitale G., Barbaro F., Ianiro G., et al. Nutritional aspects of *Helicobacter pylori* infection. Minerva Gastroenterol. Dietol 2011; 57(4):369-77.
 15. Ивашкин В.Т., Маев И.В., Лапина Т.Л., Шептулин А.А. и комитет экспертов. Рекомендации Российской Гастроэнтерологической Ассоциации по диагностике и лечению инфекции *Helicobacter pylori* у взрослых. Рос журн гастроэнт гепатол колопроктол 2012; 22(1):87-9
 16. Sablin O., Yurin M., Zakharova N., Simanenkov V. Efficiency of eradication therapy in patients with autoimmune gastritis associated with *Helicobacter pylori*: a prospective study. Gastroenterology 2014; 146(Suppl. 1):S-399.
 17. Vaira D., Malfertheiner P., Megraud F., et al. Diagnosis of *Helicobacter pylori* infection with a new non-invasive antigen-based assay. HpSA European study group. Lancet 1999; 354:30-3.
 18. Chey W.D., Wong B.C. American College of Gastroenterology guideline on the management of *Helicobacter pylori* infection. Am J Gastroenterol 2007; 102(8):1808-25.
 19. Fock K.M., Katelaris P., Sugano K., et al. Second Asia-Pacific consensus guidelines for *Helicobacter pylori* infection. J Gastroenterol Hepatol 2009; 24(10):1587-600.
 20. Fischbach L.A., Goodman K.J., Feldman M., et al. Sources of variation of *Helicobacter pylori* treatment success in adults worldwide: a meta-analysis. Int J Epidemiol 2002; 31(1):128-39.
 21. Vakil N., Megraud F. Eradication therapy for *Helicobacter pylori*. Gastroenterology 2007; 133(3):985-1001.
 22. Megraud F. *H. pylori* antibiotic resistance: prevalence, importance, and advances in testing. Gut 2004; 53(9):1374-84.
 23. De Francesco V., Giorgio F., Hassan C., et al. Worldwide *H. pylori* antibiotic resistance: a systematic review. J Gastrointest Liver Dis 2010; 19(4):409-14.
 24. Megraud F., Coenen S., Versporten A., et al. *Helicobacter pylori* resistance to antibiotics in Europe and its relationship to antibiotic consumption. Gut 2013; 62(1):34-42.
 25. Duck W.M., Sobel J., Pruckler J.M., et al. Antimicrobial resistance incidence and risk factors among *Helicobacter pylori*-infected persons, United States. Emerg Infect Dis 2004; 10(6):1088-94.
 26. Бокарев А.А., Перфилова К.М. и соавторы. Устойчивость *Helicobacter pylori* к макролидам у больных с *H.pylori*-позитивной гастродуоденальной патологией. Материалы II Ежегодного Всероссийского Конгресса по инфекционным болезням. Москва, 29-31 марта 2010 г.
 27. Дехнич Н.Н., Костякова Е.А., Пунин А.А., Алимов А.В., Иванчик Н.В., Козлов Р.С. Антибиотикорезистентность *H.pylori*: результаты микробиологического регионального исследования. Рос журн гастроэнтерол гепатол колопроктол 2011; 21(2):37-42.
 28. Саблин О.А. Факторы, определяющие эффективность эрадикационной терапии *Helicobacter pylori*-ассоциированных заболеваний. Консилиум Медикум. Гастроэнтерология 2011; 2:34-8.
 29. Осипенко М.Ф., Бикбулатова Е.А., Шакалите Ю.Д. и соавт. Резистентность *Helicobacter pylori* к кларитромицину в Новосибирске. Рос журн гастроэнт гепатол колопроктол 2012; 22(5), Приложение № 40:36
 30. Cardenas V.M., Graham D.Y., el-Zimaity H.M., et al. Rabeprazole containing triple therapy to eradicate *Helicobacter pylori* infection on the Texas-Mexican border. Aliment Pharmacol Ther 2006; 23(2):295-301.
 31. McNicholl A.G., Linares P.M., Nyssen O.P., Calvet X., Gisbert J.P. Meta-analysis: esomeprazole or rabeprazole vs. first-generation pump inhibitors in the treatment of *Helicobacter pylori* infection. Alimentary Pharmacology and Therapeutics; 2012; 36:414-25.
 32. Graham D.Y., Fischbach L. *Helicobacter pylori* treatment in the era of increasing antibiotic resistance. Gut 2010; 59(8):1143-53.
 33. Маев И.В., Кучерявый Ю.А., Андреев Д.Н. Причины неэффективности антигеликобактерной терапии. Рос журн гастроэнтерол гепатол колопроктол 2013; 23(6):62-72.
 34. De Francesco V., Ierardi E., Hassan C., Zullo A. *Helicobacter pylori* therapy: present and future. World J Gastrointest Pharmacol Ther 2012; 3(4):68-73.
 35. Perri F., Clemente R., Festa V., et al. Relationship between the results of pre-treatment urea breath test and efficacy of eradication of *Helicobacter pylori* infection. Ital J Gastroenterol Hepatol 1998; 30(2):146-50.
 36. Van Doorn L.J., Schneeberger P.M., Nouhan N., et al. Importance of *Helicobacter pylori* cagA and vacA sta-

- tus for the efficacy of antibiotic treatment. *Gut* 2000; 46(3):321-6.
37. Graham D.Y., Lew G.M., Malaty H.M. et al. Factors influencing the eradication of *Helicobacter pylori* with triple therapy. *Gastroenterology* 1992; 102(2):493-4.
38. McColl K. E., Kennerley P. Proton pump inhibitors - differences emerge in hepatic metabolism *Dig Liver Dis* 2002; 34(7):461-7.
39. Ishizaki T., Horai Y. Review article: cytochrome P450 and the metabolism of proton pump inhibitors - emphasis on rabeprazole. *Aliment Pharmacol Ther* 1999; 13(Suppl 3):27-36.
40. Niv Y., Abuksis G. Survey of the opinions, knowledge and practices of surgeons and internists regarding *Helicobacter pylori* test-and-treat policy. *J Clin Gastroenterol* 2003; 36(2):139-43.
41. Страчунский Л.С., Ивашкин В.Т., Лапина Т.Л. и др. Ведение больных язвенной болезнью в амбулаторно-поликлинических условиях: результаты многоцентрового российского фармакоэпидемиологического исследования. *Рос журн гастроэнтерол гепатол колопроктол* 2005; 15 (6):16-21.
42. grls.rosminzdrav.ru (Парият рег. №: П N011880/01, Онтайм рег. №: ЛП 000831, Зульбекс рег. №: ЛП-000944, Нексиум рег. №: П N013775/01).

Приложение

Рекомендации по выделению, идентификации и определению чувствительности *Helicobacter pylori* к антимикробным препаратам

Межрегиональная ассоциация по клинической микробиологии и антимикробной химиотерапии (МАКМАХ)

Научно-исследовательский институт антимикробной химиотерапии
ГБОУ ВПО «Смоленская государственная медицинская академия» Минздрава России

Р.С. Козлов¹, Н.В. Иванчик¹, Н.Н. Дехнич²

¹ НИИ антимикробной химиотерапии ГБОУ ВПО «Смоленская государственная медицинская академия» Минздрава России, Смоленск, Россия

² Кафедра факультетской терапии ГБОУ ВПО «Смоленская государственная медицинская академия» Минздрава России, Смоленск, Россия

Guidelines for the Isolation, Identification and Susceptibility Testing of *Helicobacter pylori*

Interregional Association for Clinical Microbiology and Antimicrobial Chemotherapy (IACMAC)
Institute of Antimicrobial Chemotherapy (IAC)

R.S. Kozlov¹, N.V. Ivanchik¹, N.N. Dekhnich²

¹ Institute of Antimicrobial Chemotherapy, Smolensk, Russia

² Smolensk State Medical Academy, Smolensk, Russia

Получение биопсийного материала для бактериологического исследования

Биопсийный материал для выделения *H. pylori* необходимо получать до начала антибиотикотерапии либо, при неэффективности предшествующего лечения, до назначения нового режима анти-

биотикотерапии. Перед получением биопсийного материала для посева рекомендовано за 14 дней прекратить прием ингибиторов протонной помпы, препаратов висмута и антибиотиков.

Взятие биопсийного материала слизистой оболочки желудка для бактериологического исследования на *H. pylori* не исключает других методов диагностики (например, проведение быстрого уреазного теста или гистологического исследования).

Отрицательный результат быстрого уреазного теста или других методов диагностики *H. pylori* не

Контактный адрес:
Наталья Николаевна Дехнич
Эл. почта: n.dekhnich@antibiotic.ru

исключает возможности выделения данного возбудителя бактериологическим методом, в связи с чем в ходе эндоскопического исследования осуществляется взятие двух биопсийных образцов из антрального отдела желудка (на 2–3 см от привратника на передней и задней стенке) и двух из тела желудка (10 см от кардии по большой кривизне).

Хранение и транспортировка материала до первичного посева

Четыре биоптата немедленно помещаются в транспортную пробирку. В случае если предполагаемое время от взятия материала до доставки в микробиологическую лабораторию не превышает 6 ч, используется стерильная плотно закрывающаяся пробирка с 0,1 мл фосфатно-солевого буфера.

Если доставка образцов будет осуществляться в течение 6–48 ч, в качестве транспортной среды используется Portagerm pylori (BioMerieux, Франция). Хранение и транспортировка образцов осуществляется при температуре +4°C в защищенном от света месте.

При необходимости длительного хранения (до 6 мес), биоптаты могут храниться в 20–25% глицериновом бульоне при температуре –70 °С, однако в этом случае жизнеспособность *H. pylori* и вероятность положительного результата бактериологического исследования снижаются.

Первичный посев

Перед посевом биопсийный материал помещается в 0,5 мл стерильного физиологического раствора и гомогенизируется в пробирке типа эппендорф при помощи стерильной микробиологической петли в течение 1 мин или электрическим гомогенизатором при 10 тыс. об/мин в течение 10–20 с. Затем по 2 капли гомогенизированного раствора помещают на поверхность чашек с неселективной (кровяной агар: основа агар Мюллера–Хинтон с добавлением 5% бараньей или лошадиной крови) и селективной (Pylori agar, BioMerieux, Франция) питательными средами. Посев производится сплошным газоном с помощью шпателя Дригальского или бактериологической петли.

Чашки с посевами немедленно помещают в анаэроб-контейнер (GENbox, BioMerieux,

Франция), где с помощью коммерческих газогенерирующих пакетов (GENbox microaer, BioMerieux, Франция, или Campy Pak, Becton Dickinson, США) создается микроаэрофильная атмосфера (O₂ – 11%, CO₂ – 9%, N₂ – 80%). Также для создания микроаэрофильной атмосферы может применяться прибор «Аноксомат» (Advanced Instruments, Великобритания).

Посевы инкубируются в термостате при температуре 35–37°C и влажности 95%. Учет результатов посева проводится через 4 сут. На кровяном и Pylori агаре на 3–5-е сутки при первичном посеве, а так же на 2–3-и сутки при пересевах чистой культуры, *H. pylori* формирует мелкие, круглые, гладкие, прозрачные, похожие на «капли росы» колонии диаметром 1–3 мм. В случае отсутствия признаков роста, инкубация продляется до 10 суток.

Идентификация *H. pylori*

Идентификация на основе фенотипических и биохимических свойств. При получении роста колоний по морфологии сходных с *H. pylori* проводится их предварительная идентификация, которая включает в себя окраску мазка по Граму и 3 биохимических теста – уреазный, каталазный и оксидазный (табл. 1).

Идентификация с применением время-пролётной масс-спектрометрии (MALDI-TOF MS). Для идентификации *H. pylori* может использоваться профилирование рибосомальных белков с использованием метода MALDI-TOF MS (при этом необходима специфическая пробоподготовка исследуемой культуры в соответствии с рекомендациями производителя).

Идентификация с применением молекулярно-генетических методов. Существуют коммерческие тест-системы на основе технологии амплификации нуклеиновых кислот, прежде всего – полимеразная цепная реакция в режиме реального времени (ПЦР-РВ). Данный метод является особенно перспективным для прямого выявления ДНК/РНК *H. pylori*, а также отдельных генетических детерминант вирулентности и резистентности не только в выделенной культуре микроорганизма, но и непосредственно в клиническом материале.

Таблица 1. Идентификация *H. pylori*

Окраска по Граму	Характер роста на селективной среде	Уреаза	Каталаза	Оксидаза
Грамотрицательные извитые S-образные палочки	При культивировании в микроаэрофильной атмосфере, повышенной влажности при 35–37 °С на Pylori agar через 3–5 сут образуются мелкие, круглые, гладкие, прозрачные как «капли росы» колонии диаметром 1–3 мм	+++	+	+

Таблица 2. Методы определения чувствительности *H. pylori* к антимикробным препаратам

	Микроразведения в бульоне	Разведения в агаре	Etest® (bioMérieux, Франция)	MIC Test Strip (Liofilchem, Италия)
Среда	Катионсбалансированный бульон Мюллера–Хинтон + 5% лизированная лошадиная кровь и 20 мг/л β -NAD	Катионсбалансированный агар Мюллера–Хинтон + 5% дефибрированная лошадиная кровь и 20 мг/л β -NAD	Катионсбалансированный агар Мюллера–Хинтон ¹ + 5% лошадиная или баранья кровь (≥ 2 нед.)	Катионсбалансированный агар Мюллера–Хинтон + 5% баранья кровь
Инокулом	≥ 48 -часовую культуру, разведенную в 3–5 мл стерильного физиологического раствора до достижения плотности, эквивалентной стандарту мутности 2 по МакФарланду с непосредственной последующей инокуляцией	≥ 48 -часовую культуру, разведенную в 3–5 мл стерильного физиологического раствора до достижения плотности, эквивалентной стандарту мутности 2 по МакФарланду с непосредственной последующей инокуляцией	≥ 72 -часовую культуру суспендировать в бульоне (Мюллера–Хинтон или др.) с добавлением 5% сыворотки крови. Довести до мутности 3 по МакФарланду. На 1 чашку диаметром 90 мм поместить 1 полоску Etest.	≥ 72 -часовую культуру суспендировать в бульоне (Мюллера–Хинтон или др.) с добавлением 5% сыворотки крови. Довести до мутности 3 по МакФарланду. На 1 чашку диаметром 90 мм поместить 1 полоску MIC Test Strip.
Инкубация	Температура 35–37 °С. Атмосфера микроаэрофильная ² . Длительность ≥ 72 ч (до появления хорошо видимого роста)	Температура 35–37 °С. Атмосфера микроаэрофильная ² . Длительность ≥ 72 ч (до появления хорошо видимого роста)	Температура 35 °С. Атмосфера микроаэрофильная ² . Длительность ≥ 72 ч (до появления хорошо видимого эллипса вокруг полоски Etest).	Температура 35 \pm 2 °С. Атмосфера микроаэрофильная ² . Длительность ≥ 72 ч (до появления хорошо видимого эллипса вокруг полоски MIC Test Strip).
Учет результата	За значение МПК принимается наименьшая концентрация антибиотика, при которой наблюдается значимое снижение мутности	Колонии <i>H. pylori</i> мелкие, прозрачные и трудноразличимые. Поэтому при определении значения МПК используйте увеличительное стекло или смотрите на поверхность чашки под углом. Для бактерицидных препаратов (амоксциллин, левофлоксацин, метронидазол, рифампицин) значение МПК соответствует полному отсутствию роста микроорганизма, включая микроколонии, «пылевидный» рост и отдельные колонии. Для бактериостатических препаратов (кларитромицин, тетрациклин) при «размытой» зоне подавления роста учитывайте 80% от края зоны ингибирования роста.		

¹ Рекомендован агар Мюллера–Хинтон производства «Becton Dickinson» (США) ввиду наиболее высокой стабильности качества между различными партиями среды.

² Для метронидазола первые 24 ч инкубации в анаэробных условиях, затем ≥ 48 ч – в микроаэрофильных условиях.

Таблица 3. Критерии оценки чувствительности *H. pylori* к антимикробным препаратам, (EUCAST, v.4.0).

Препарат	Референсные значения МПК (мг/л) для контрольного штамма <i>H. pylori</i> ATCC 43504 (NCTC 11637)	МПК, мг/л	
		Чувствительный ¹ , \leq	Резистентный ¹ , $>$
Амоксициллин	0,015–0,12	0,12	0,12
Кларитромицин	0,015–0,12	0,25	0,5
Левофлоксацин	– ²	1,0	1,0
Тетрациклин	0,12–1	1,0	1
Метронидазол	64–256	8,	8,0
Рифампицин	– ²	1,0	1,0

¹ данные критерии не являются клиническими, а представляют собой эпидемиологические пограничные значения, разделяющие штаммы с природной чувствительностью и штаммы со сниженной чувствительностью.

² референсные значения МПК для данного контрольного штамма отсутствуют.

Хранение штаммов

Выделенные штаммы хранятся в пробирках с триптиказо-соевым бульоном с добавлением 30% стерильного глицерина при температуре -70°C .

Определение чувствительности

В соответствии с рекомендациями Европейского комитета по определению чувствительности к антимикробным препаратам (European Committee on Antimicrobial Susceptibility testing – EUCAST) исследование чувствительности *H. pylori* проводится путем определением *минимальных подавляющих концентраций* (МПК) либо методами разведения в бульоне или агаре, либо с использованием коммер-

ческих тестов (в соответствии с рекомендациями производителя). Методы определения МПК антимикробных препаратов для *H. pylori* приведены в табл. 2.

Рекомендуется определять чувствительность *H. pylori* к амоксицилину, кларитромицину, тетрациклину, метронидазолу, а также, при необходимости, к левофлоксацину и рифампицину. При тестировании используются двойные серийные разведения химически чистых субстанций антибиотиков.

Критерии интерпретации результатов определения чувствительности *H. pylori* к антимикробным препаратам, а также референсные значения МПК для контрольного штамма представлены в табл. 3.