

Костюк О.В.

АНТИБІОТИКОРЕЗИСТЕНТНІСТЬ ШТАМІВ *HELICOBACTER PYLORI*, ВИДІЛЕНИХ ВІД ХВОРИХ НА ВИРАЗКОВУ ХВОРОБУ ШЛУНКА, ДВАНАДЦЯТИПАЛОЇ КИШКИ ТА ХРОНІЧНІ ГАСТРИТИ

Національний медичний університет імені О.О.Богомольця

Резюме. Резистентність до антимікробних препаратів, що входять до складу схем ерадикаційної терапії, є основною причиною неефективності антигелікобактерної терапії. У хворих на виразкову хворобу шлунка, виразкову хворобу 12-палої кишки та хронічними гастритами був виділений 51 штам *H. pylori*. Для всіх штамів вивчалась чутливість до амоксициліну, тетрацикліну, кліндаміцину, ципрофлоксацину, метронідазолу, еритроміцину (кларитроміцину) методом дисків (дифузії антибіотика в агар). Найбільше число штамів (66,6%) було резистентні до метронідазолу, найменше до кларитроміцину (еритроміцину) (11,8%) і тетрацикліну (9,8%).

Ключові слова: *H. pylori*, антибіотики, чутливість, резистентність.

Відкриття в 1983 році австралійськими вченими J.R.Warren та B.J.Marshall спірального мікроорганізму *Helicobacter pylori* та визнання його ролі в розвитку хронічних гастритів (у 90–95% випадків), виразкової хвороби 12-палої кишки (90–95%), виразкової хвороби шлунка (70–80%), раку шлунка (60–70%) та MALT-лімфоми шлунка, докорінно змінило існуюче уявлення про їх патогенез та змусило переглянути фундаментальні концепції патофізіології шлунка [14].

Було створено та впроваджено нові схеми діагностики і лікування цих "неінфекційних" захворювань. Вперше з'явилась реальна можливість повного видужання від виразкової хвороби завдяки ерадикації збудника та розробці ефективних профілактичних заходів щодо раку шлунка.

H. pylori – інфекція відноситься до найбільш розповсюджених інфекцій в світі [9]. Більше половини населення земної кулі інфіковано [17, 23]. Динамічна рівновага в системі паразит – господар при хелікобактерній інфекції може коливатися у бік вираженого захворювання (наприклад, виразкової хвороби) чи безсимптомного носійства. Напрямок коливань залежить як від стану організму господаря, так і від внутрішньовидових особливостей популяції *H. pylori* [4].

Серед біологічних характеристик штамів *H. pylori* чільне місце займає чутливість до антибіотичних препаратів. Антибіотикорезистентність штамів *H. pylori* являється однією з причин неефективності антихелікобактерної те-

рапії та втрати довіри до багатокомпонентних схем лікування, особливо в тому випадку, коли збудник стійкий до декількох антибіотиків одночасно [2,5,10]. Є повідомлення, що в світі кількість штамів *H. pylori*, які мають первинну та вторинну резистентність до кларитроміцину, складає від 1 до 58%, а до метронідазолу – від 5 до 76% відповідно [21]. Виходячи з цього, призначення етіотропного лікування потребує в ідеалі попереднього виділення та визначення чутливості до антибіотиків штамів, отриманих від кожного хворого. Проте, навіть при проведенні фіброгастроскопії, лікарі в більшості випадків не беруть біоптатів для подальшого виділення та дослідження штамів збудника. Це пов'язано як з особливостями самої процедури (інвазивність, загроза ятрогенної інфекції), так і з недоліками бактеріологічного методу дослідження (довготривалий та затратний). Тому при призначенні антихелікобактерної терапії раціонально враховувати особливості регіональних штамів *H. pylori*, щодо їх чутливості до антибіотиків.

Метою нашого дослідження було вивчення антибіотикорезистентності регіональних штамів *H. pylori*, виділених від хворих з різною гастро-дуоденальною патологією.

Матеріали та методи дослідження

На кафедрі мікробіології, вірусології та імунології Національного медичного університету імені О.О.Богомольця були проведені дослідження з виділення *H. pylori* від хворих на виразкову

хворобу шлунка, виразкову хворобу 12-палої кишки та хронічними гастритами і визначенню антибіотикочутливості виділених штамів. Всі хворі проживали в м. Києві та Київській області. Біопсійні зразки слизової оболонки шлунка (2 з антрального відділу шлунка та 1 з тіла шлунка) було взято у 78 хворих перед початком антихелікобактерної терапії. Біоптати надходили в лабораторію в транспортному середовищі Portagerm pylori (Bio Merieux, Франція) не пізніше 2–3 годин від моменту взяття. Перед посівом проводилась ручна гомогенізація матеріалу в 0,5 мл стерильного фізіологічного розчину чи серцево-мозковому бульйоні протягом 1 хвилини. Посів гомогенізата проводився на селективне середовище – Agar pylori та неселективне – Columbia agar з 10% баранячої крові (Bio Merieux, Франція). Чашки з посівами інкубувались в пластикових боксах GENbox Jar, в мікроаерофільних умовах, що створювались газогенеруючими пакетами (Bio Merieux, Франція) при температурі 37°C, протягом 3–7 діб. Ідентифікацію виділеної культури проводили за культуральними, морфологічними, тинкторіальними та ферментативними критеріями. Виділені штами *H. pylori* субкультивувались на колумбійському агарі з додаванням 10% конячої крові в мікроаерофільних умовах протягом 48–72 годин.

Чутливість до антимікробних препаратів: амоксициліну, ципрофлоксацину, метронідазолу, кліндаміцину, тетрацикліну, еритроміцину (кларитроміцину) визначалась диско-дифузійним методом на колумбійському агарі з додаванням 10% конячої крові [11]. Тестуванню підлягали лише "молоді" культури, що містять не більше 25% кокових форм чи конгломератів. Результати ураховувались після 48–72 годин інкубації в мікроаерофільних умовах за величиною зони затримки росту [11, 3, 13].

Результати дослідження та їх обговорення

Було виділено та перевірено на антибіотикочутливість 51 штам *H. pylori*. Дані про розподіл штамів *Helicobacter pylori* за ступенем резистентності наведені в діаграмі №1.

Як видно з діаграми, найбільша кількість резистентних штамів (66,6%) до метронідазолу, найменша до тетрацикліну (9,8%) та кларитроміцину (еритроміцину) – 11,76%. На нашу думку, висока резистентність виділених штамів *Helicobacter pylori* до метронідазолу може бути пов'язана з широким використанням препаратів групи нітроїмідазолу за іншими призначеннями (лікування інфекцій, що передаються статевим шля-

хом, захворювання малого тазу у жінок та ін.), а також з широким використанням їх в схемах антихелікобактерної терапії, котра часто неадекватна щодо доз та тривалості лікування. Чутливість до метронідазолу регіональних штамів *H. pylori*, що нами тестувалися, співпадає із чутливістю штамів, виділених дослідниками в інших країнах. Так, 61% французьких ізолятів та 69,5% ізолятів з Саудівської Аравії були також резистентними до метронідазолу [22, 16]. Генетичний механізм, що лежить в основі резистентності до метронідазолу – мутація генів нітроредуктази (*rdxA* та *fixA*), що призводить до погіршення внутрішньоклітинної активації метронідазолу [20].

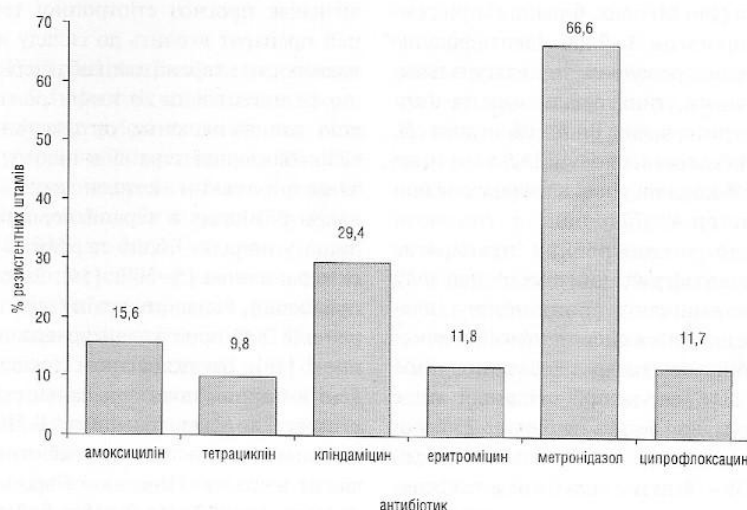
Чутливість більшості штамів до антибіотиків – макролідів (еритроміцину, кларитроміцину) дозволяє рекомендувати ці препарати в якості складових частин ерадикаційних схем при лікуванні *H. pylori* – асоційованих захворювань. Саме резистентність до кларитроміцину в значній мірі визначає прогноз етіотропної терапії, оскільки цей препарат входить до складу найбільш ефективних схем терапії хелікобактеріоза [1]. Відомо, що резистентність до кларитроміцину є ключовою для визначення оптимальних схем антихелікобактерної терапії в цілому. Тому, згідно з Маастрихтським консенсусом, використання кларитроміцину в терапії першої лінії доцільне лише у випадку, якщо первинна резистентність складає менше 15–20%. [14]. За даними останніх публікацій, більшість країн Європи та Азії не перейшли 20% поріг кларитроміцинової резистентності [19]. Багатоцентрові дослідження, проведені в Європі, показали наявність різного рівня стійкості до кларитроміцину. В Північній Європі резистентність до цього антибіотика 5–15%, в той час як в країнах Південної Європи цей показник досягає 21–28% [6, 7, 18]. В Туреччині резистентність до кларитроміцину зареєстрована в 44–48% випадків [21]. Резистентність до макролідів пов'язана з мутацією в 23 *SrRNA*-гені, що зменшує спорідненість макролідів з рибосомами бактеріальної клітини [19]. Більшість авторів притримуються точки зору про появу резистентних штамів саме завдяки мутаціям, а не обміну генетичною інформацією між окремими штамми бактерій [18].

Досліджувані нами ізоляти виявили високу чутливість до амоксициліну (85,4% штамів). Проте відсоток резистентних штамів до цього антибіотика був значним, порівняно з даними, що опубліковано. Так, за Francis M^ograud та Philippe Lehoucq, середня резистентність до амоксициліну

менше 1% [19]. Окремі публікації про резистентність різних регіональних штамів до цього антибіотика свідчать про значне перевищення середньої резистентності. Так 39% бразильських штамів виявились резистентними до амоксициліну [8]. Під час проведення європейського багатоцентрового дослідження антибіотикорезистентності культур *H. pylori* з Італії, Німеччини та Великобританії показники резистентності *H. pylori* до амоксициліну склали 8,2, 4,0 та 1,2% відповідно [12]. Механізм виникнення резистентності до цього антибіотика пов'язують з блокадою його транспорту за рахунок зміни пеніцилінзв'язуючого білка. Опубліковані дані про можливість інтрацелюлярного персистування *Helicobacter pylori* та, як наслідок, його недоступності для антибіотиків, що не здатні до проникнення в еукаріотичні клітини (таких як амоксицилін) [2].

Висновки

1. Визначення чутливості регіональних штамів *H. pylori* до антибіотичних препаратів є необхідною умовою для внесення відповідних коректив до схем антихелікобактерної терапії. Для України ця проблема особливо важлива, оскільки існують лише поодинокі дані про розповсюдження та динаміку резистентності штамів *H. pylori* до антибіотиків в нашій країні.
2. Проведені дослідження свідчать про високу резистентність регіональних штамів до метронідазолу. Це слід враховувати при обґрунтуванні схем антихелікобактерної терапії, які містять цей хіміотерапевтичний препарат.
3. Висока чутливість регіональних штамів до кларитроміцину та амоксициліну дозволяє рекомендувати їх як основні складові компоненти антихелікобактерної терапії.



Малюнок 1. Розподіл штамів *H. pylori* за ступенем резистентності до різних антибіотиків

АНТИБИОТИКОРЕЗИСТЕНТНОСТЬ ШТАММОВ *H. PYLORI*, ВЫДЕЛЕННЫХ У БОЛЬНЫХ ЯЗВЕННОЙ БОЛЕЗНЬЮ ЖЕЛУДКА, 12-ПЕРСТНОЙ КИШКИ И ХРОНИЧЕСКИМИ ГАСТРИТАМИ

Костюк Е.В.

Национальный медицинский университет имени А.А.Богомольца

Резюме. Резистентность к антимикробным препаратам, входящих в состав схем эрадикационной терапии, является основной причиной неэффективности антихеликобактерной терапии. У больных язвенной болезнью желудка, язвенной болезнью 12-перстной кишки и хроническими гастритами был выделен 51 штам *H. pylori*. Для всех штаммов изучалась чувствительность к амоксицилину, тетрациклину, клндамицину, ципрофлоксацину, метронидазолу, эритромицину (кларитромицину) методом дисков (диффузии антибиотика в агар). Наибольшее число штаммов (66,6%) было резистентно к метронидазолу, наименьшее к кларитромицину (эритромицину) (11,8%) и тетрациклину (9,8%).

Ключевые слова: *H. pylori*, антибиотики, чувствительность, резистентность.

ANTIBIOTIC RESISTANCE OF HELICOBACTER PYLORI STRAINS ISOLATED FROM PATIENTS WITH DUODENAL AND GASTRIC ULCER AND CHRONIC GASTRITIS

Kostyuk Y.V.

O.O. Bohomolets National Medical University

Abstract. Resistance of *Helicobacter pylori* to antimicrobial agents included in current regimens used to eradicate *H. pylori* is a major reason for failure of antimicrobial therapy. The 51 strains of *Helicobacter pylori* were isolated from patients with duodenal ulcer, gastric ulcer and chronic gastritis. The resistance of all strains to metronidazole, clarithromycin (erythromycin), amoxicillin, clindamycin and tetracycline was tested with disk diffusion method. Most strains were resistance to metronidazole (66,6%), the least - clarithromycin (erythromycin) (11,8%) and tetracycline (9,8%).
Key words: *H. pylori*, antibiotics, sensitivity, resistance.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Маев И.В., Самсонов А.А., Голубев Н.Н. Кларитромицин как неотъемлемый компонент антихеликобактерной терапии // Фарматека -2009. - № 6. - С.22-29.
2. Algood H.M., Cover T.L. Helicobacter pylori persistence: an overview of interactions between *H. pylori* and host immune defenses // Clin. Microbiol. Rev. -2006. - V.19, № 4. - P.597-613.
3. Boyanova L, Stancheva I, Spassova Z, Katzarov N, Mitov I, Koumanova R. Primary and combined resistance to four antimicrobial agents in *Helicobacter pylori* in Sofia, Bulgaria // J. Med. Microbiol. - 2000. - V.49.- P.415-418.
4. Blaser M. Ecology of *Helicobacter pylori* in Human stomach // J. Clin. Invest.- 1997. - V.100. - P.62.
5. Broutet N., Tchamgoue S. et al. Risk factors for failure of *Helicobacter pylori* therapy -results of an individual data analysis of 2751 patients // Aliment. Pharmacol. Ther. -2003.- V.17. - P.99-109.
6. De Francesco V., Margiotta M., Zullo A., et al. Prevalence of primary clarithromycin resistance in *Helicobacter pylori* strains over a 15 year period in Italy // J. Antimicrob. Chemother. - 2007. - V.59, №4. - P.783-85.
7. Dzierzanowska-Fangrat K., Rozynek E., Celinska-Cedro D., et al. Antimicrobial resistance of *Helicobacter pylori* in Poland: a multicentre study // Antimicrob. Agents. - 2005. - V.26, №3. - P.230A.
8. Godoy A. O., Ribeiro M. L. et al. Analysis of antimicrobial susceptibility and virulence factors in *Helicobacter pylori* clinical isolates // BMC Gastroenterology. - 2003. - V.3 - P.20.
9. Graham D.Y. Can therapy ever be denied for *Helicobacter pylori* infection? // Gastroenterology. - 1997. - Vol.113 (Suppl.1). - P.113-117.
10. Graham D.Y., Fischbach L. *Helicobacter pylori* treatment in the era of increasing antibiotic resistance // Gut. - 2010. - V.59. - P.1143-1153.
11. Glupczynski Y. Culture of *Helicobacter pylori* from gastric biopsies and antimicrobial susceptibility testing // Ed. by Lee A. and Megraud F. - London: Saunders, 1996. - P.17-27.
12. Glupczynski Y., Megraud F., Lopez-Brea M. et al. European multicenter survey of in vitro antimicrobial resistance in *Helicobacter pylori* // Eur.J.Clin.Microbiol.Infect.Dis. - 2000.- V. 11. - P.820-823.
13. Lang L, Garcia F. Comparison of E-test and disk diffusion assay to evaluate resistance of *Helicobacter pylori* isolates to amoxicillin, clarithromycin, metronidazole, and tetracycline in Costa Rica // Int. J. Antimicrob. Agents. -2004. - V 24. - P.572-577.
14. Lee A., Megraud F. *Helicobacter pylori*: techniques for clinical diagnosis and basic research. - London: Saunders, 1996.
15. Malfertheiner P., Megraud F., O' Morain C., et al. Current concepts in the management of *Helicobacter pylori* infection. The Maastricht III Consensus Report // Gut. - 2007. - V56. - P.772-81.
16. Marie M. A. Patterns of *Helicobacter pylori* resistance to metronidazole in Saudi Arabia // Journal of Bacteriology and Virology. - 2008. - Vol. 38, No.4. - P.173 - 178.
17. Matysiak-Budnik T., Megraud F. Epidemiology of *Helicobacter pylori* infection with special reference to professional risk // J. Physiol. Pharmacol. -1997.- V. 48 (Suppl. 4). - P. 3-17.
18. Megraud F. *H. pylori* antibiotic resistance: prevalence, importance, and advances in testing // Gut. - 2004.- V.53.-P.1374-84.
19. Megraud F., Lehours Ph. *Helicobacter pylori* detection and antimicrobial susceptibility testing // Clinical microbiology reviews. -2007- V. 20, № 2. - P. 280-322.
20. Mugraud F., Hazell S., Glupczynski Y. Antibiotic susceptibility and resistance // *Helicobacter pylori*: physiology and genetics, W:ASM Press, 2001. - P.511-530.
21. Onder G., Aydin A., Akarca U., et al. High *Helicobacter pylori* resistance rate to clarithromycin in Turkey // J. Clin. Gastroenterol. - 2007. - V.41 - P.747-750.
22. Raymond J. et al. High level of antimicrobial resistance in french *Helicobacter pylori* isolates // *Helicobacter*. - 2010. - V. 15. - P. 21-27
23. The EUROGAST Study Group. Epidemiology of, and risk factors for, *Helicobacter pylori* infection among 3194 asymptomatic subjects in 17 populations // Gut. -1993- V. 34. - P. 1672-1676.