

АНАЛИЗ АНТИБИОТИКОРЕЗИСТЕНТНОСТИ К КЛАРИТРОМИЦИНУ В РЕСПУБЛИКЕ БЕЛАРУСЬ

А.В. Воропаева¹, Э.Н. Платошкин², А.Д. Борсук¹, О.В. Карпенко¹

¹ГУ «РНПЦ радиационной медицины и экологии человека», г. Гомель, Беларусь

²УО «Гомельский государственный медицинский университет», г. Гомель, Беларусь

H. pylori – инфекция играет ключевую роль в патогенезе заболеваний желудка, включая хронический гастрит, язвенную болезнь желудка и двенадцатиперстной кишки и рак желудка. Количество антимикробных препаратов, используемых в клинической практике для лечения *H. pylori* – инфекции ограничено из-за уникальной способности обитания этого микроорганизма в подслизистом пространстве. Бактерия приобретает устойчивость ко всем антибиотикам, применяемым для эрадикации в результате точечных мутаций. Преобладающей причиной неуспешного лечения хеликобактериозов является развитие устойчивости к кларитромицину во время терапии.

Разработанные молекулярные методики позволяют проводить как индивидуальное определение устойчивости к кларитромицину, так и отслеживать уровень резистентности в регионе, что является основополагающим фактором при проведении терапии. Резистентность *H.pylori* к макролидам возникает в результате нуклеотидных замен в участках связывания антибиотика с большой субъединицей бактериальной рибосомы. *H. pylori* содержит две копии 23S рРНК-гена и мутации, как правило, содержатся в обеих, однако предполагается наличие мутаций и в одной из копий. Чаще такие мутации связаны с низким уровнем резистентности к кларитромицину. Мутации в одной из копий 23S рРНК могут быть легко переданы другим копиям за счет рекомбинации ДНК, придавая высокий уровень устойчивости к кларитромицину. Среди выявленных мутаций наиболее распространенными являются три типа мононуклеотидных замен – A2143G, A2142G, A2142C. Итальянские исследователи зафиксировали точечную мутацию T2717C (при проведении секвенирования 125 клинических изолятов *H. pylori* точечная мутация T2717C наблюдалась в двух пробах (1,6%). Точечная мутация T2182C была описана WanG. с соавт. как сопутствующая точечной мутации A2143G. Khan R. с соавт. подтвердил наличие мутантного генотипа 2182C в устойчивых штаммах из Бангладеш. Новым положением рекомендаций Маастрихт-4 является последовательная терапия, состоящая из 2 циклов. Каждый цикл может иметь длительность от 4 до 6 дней. На фоне постоянного приема ИПП производится последовательная смена антибиотика: в начале терапии – амоксициллин, в конце терапии – кларитромицин и метронидазол. По результатам новых исследований, в зависимости от чувствительности к кларитромицину возможно применение метронидазола. В регионах с низким уровнем резистентности к кларитромицину схемы с кларитромицином рекомендуются в качестве первой линии эмпирической терапии.

Целью настоящей работы является определение уровня первичной резистентности к кларитромицину в белорусской популяции *H. pylori*.

В качестве материала для исследования использовались биоптаты слизистой оболочки желудка (СОЖ) 256 пациентов с гастроудоденальной патологией подобранных методом случайной выборки, не принимавших ранее лечения с применением кларитромицина (2009-2014 гг.). Взятие биоптатов СОЖ осуществляли во время фиброэзофагогастроудоденоскопии с прицельной биопсией слизистой оболочки антрального отдела и тела желудка.

Изучение резистентности к кларитромицину проводили методом полимеразной цепной реакции с определением длины рестрикционных фрагментов (ПЦР-ПДРФ). Выделение суммарной ДНК из биоптатов СОЖ при помощи коммерческого набора реагентов «Genomic DNA Purification Kit» (Fermentas, Литва) и определяли наличие в образце ДНК *H.pylori* определяли коммерческой ПЦР-тест-системой производства ФБУН «Центральный НИИ Эпидемиологии» Роспотребнадзора, г. Москва «АмплиСенс *H.pylori* 100-R» для амплификации участка ДНК длиной 520 нуклеотидных пар (н.п.) 16S-рибосомального гена.

Исследование полиморфизма 23S rRNA *H.pylori* проводили при помощи праймеров, синтезированных по нашему заказу ОДО «Праймтех», г. Минск, Беларусь: HP- 5'-GTCCGGTTAAATACCGACCTG-3'-F и HP- 5'-TGTGTAGCTACCCAGCGATGCTC-3'-R (размер продукта ПЦР 783 н.п.) и 2182 MspI mut 5'-TACAACCTAGCACTGCTAC-3'-F и 2182-5'-TCAAGGGTGGTATCTCAAGGA-3'-R (размер продукта ПЦР 105 н.п.) при соответствующих программах амплификации и последующий анализ с помощью рестриктаз Eco 31I (BsaI) -точечная мутация A2143G, MboII- точечная мутация A2142C/G, HhaI- точечная мутация T2717C, MspI -точечная мутация T2182C.

Проведенное тестирование с использованием данных методик определения точечных мутаций A2142G/C, A2143G, T2182C и T2717C позволило выявить семнадцать устойчивых штаммов (6,6%) и показало низкий уровень резистентности к кларитромицину.

Несмотря на то, что резистентность *H. pylori* к антибиотикам группы макролидов в Беларуси еще не превышает 15%, постоянно растущее использование антибиотика населением нашей страны приводит к увеличению числа устойчивых штаммов. Изменчивость и способность к рекомбинации между циркулирующими в регионе штаммами *H. pylori* также предполагает рост устойчивости бактерии к проводимой терапии с применением макролидов. Исследование, проводимое нами в 2009-2011 гг показывало 5,2% уровень резистентности.

Таким образом, настоящее проведенное нами исследование указывает на рост резистентности к кларитромицину белорусских штаммов *H. pylori* и подтверждает важность проведения подобных исследований, позволяющих контролировать распространение резистентных к кларитромицину штаммов в Беларуси. Данный алгоритм соответствует рекомендациям Консенсуса Маастрихт – 4 (1a,A; 1b,A).

ОПРЕДЕЛЕНИЕ РЕФЕРЕНТНЫХ ИНТЕРВАЛОВ ДЛЯ ПОКАЗАТЕЛЕЙ, ХАРАКТЕРИЗУЮЩИХ СИСТЕМНУЮ ВОСПАЛИТЕЛЬНУЮ РЕАКЦИЮ В СТАРШЕЙ ВОЗРАСТНОЙ ГРУППЕ

Н.В. Галиновская¹, М.Г. Шитикова², Н.М. Голубых¹, П.В. Шахров¹, А.Н. Цуканов²

¹УО «Гомельский государственный медицинский университет», г. Гомель Беларусь

²ГУ «РНПЦ радиационной медицины и экологии человека», г. Гомель, Беларусь

Синдром системной воспалительной реакции (СВР) представляет собой универсальный генерализованный ответ организма на различные повреждающие воздействия, в том числе – ишемическое. Отражением СВР служит обнаружение повышенной экспрессии молекул клеточной адгезии, продукция цитокинов и хемоаттрактантов, а также, повышение в крови уровней маркеров неспецифического повреждения: CRP, сывороточного амилоида, фибриногена. Выбор главного звена СВР показал, что совместная гиперсекреция отдельных цитокинов: IL-6, 8, 10, TNF- α и CRP – может отражать уровень СВР и использоваться в клинической практике.

Проводимые ранее исследования воспалительных показателей у пациентов с ишемическим повреждением головного мозга в 100% случаев выявили повышение TNF- α в плазме крови при поступлении в стационар. Была зарегистрирована дополнительная выработка цитокинов в кровеносных сосудах и астроцитах в области ишемического повреждения, сопровождающаяся активной воспалительной реакцией. Также в течение острого периода инфаркта мозга отмечено разнонаправленное изменение содержания данных показателей в крови и спинномозговой жидкости, которое коррелирует с изменениями клинической картины и имеет прогностическое значение.

Однако если сравнивать полученные данные с интервалами нормальных значений вышеуказанных показателей, при наличии достоверного различия изучаемых параметров между клинической и контрольной группами, в целом отдельные полученные цифры при негрубой патологии не выходят за верхнюю границу нормы. Являются ли эти изменения диагностически значимыми можно ответить только при условии определения более узкого коридора для волонтеров без сердечно-сосудистой патологии, что и определило цель нашего исследования.

Определение референтного интервала IL 6, 8, 10, TNF- α , CRP у практически здоровых лиц старшей возрастной категории.

Исследование выполнялось на базе центральной научно-исследовательской лаборатории, кафедры неврологии и нейрохирургии УО «Гомельский государственный медицинский университет». Биологический материал был отобран у 16 практически здоровых волонтеров, средний возраст которых составил 55,3 \pm 0,8 лет, из них: 9 женщин и 7 мужчин.

Забор крови для определения цитокинового спектра осуществлялся утром, натощак. Взятие крови производили, используя подготовленные емкости. Затем выполнялось центрифугирование взятых образцов, отделение сыворотки крови для последующего осуществления иммуноферментного анализа на аппарате «Анализатор иммуноферментный АИФ М/340». Расчет интегрального показателя цитокинемии – коэффициента реактивности, был основан на исследовании в плазме крови 5 показателей: 4 цитокинов (IL-6, IL-8, IL-10, TNF- α) и острофазного CRP.