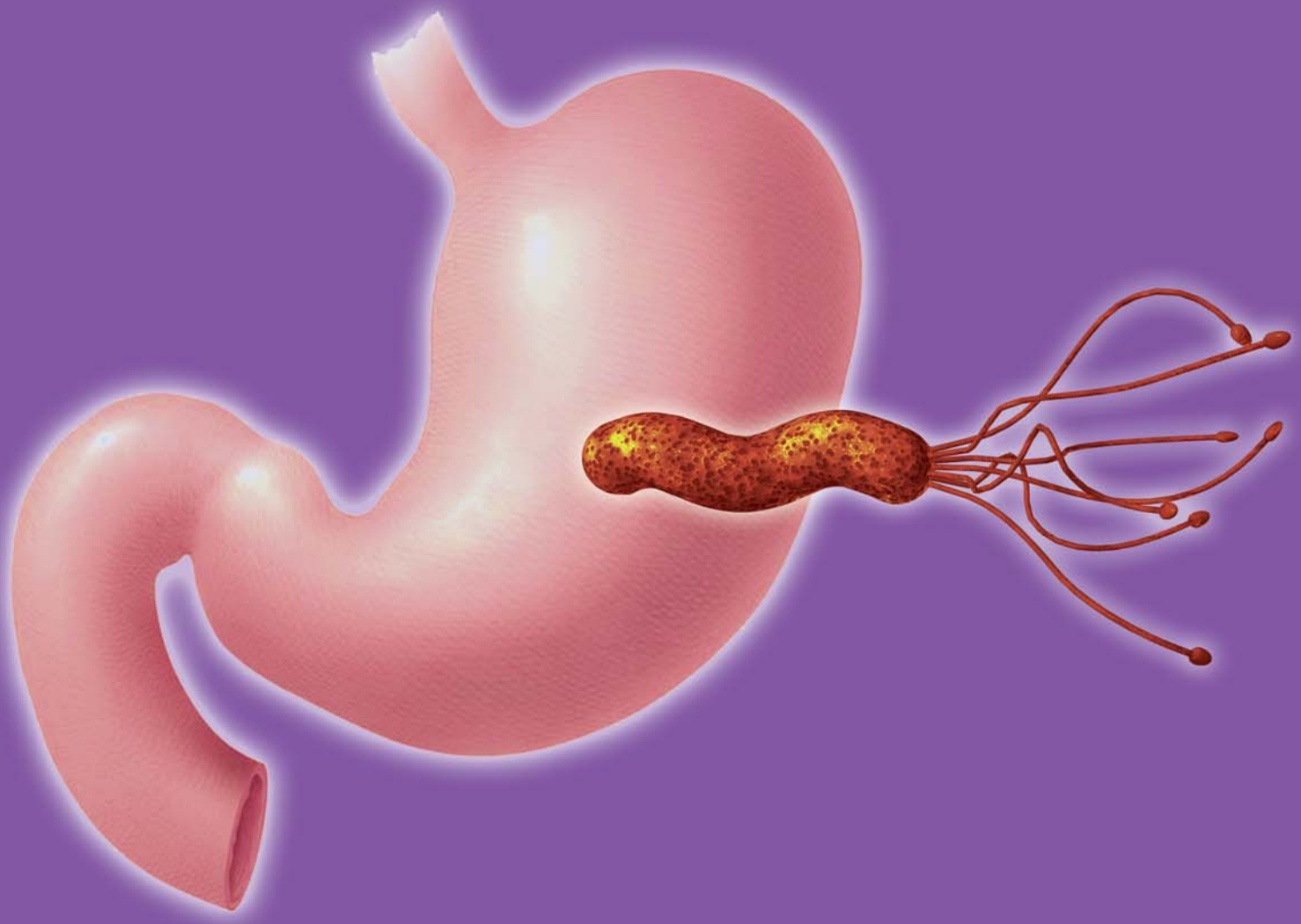
Научный прорыв

в лечении гастрита, ассоциированного с Helicobacter pylori

Новая концепция

эрадикации HP при монотерапии без антибиотиков



Москва

2019 - 2020

Ключевые изменения, внесённые пятым Маастрихтским консенсусом (2016):

- Инфекция ***H. pylori*** является инфекционным заболеванием независимо от клинических симптомов и осложнений.
- Эрадикация ***H. pylori*** уменьшает количество осложнений.
- Частота эрадикации может быть предсказана на основании уровня резистентности в данной популяции.
- Терапия с использованием комбинации кларитромицин + ингибиторы протонной помпы не должна применяться в регионах, где уровень резистентности к кларитромицину превышает 15 %, но остается приемлемой в регионах с низким уровнем резистентности.
- В регионах с высоким уровнем резистентности к кларитромицину рекомендуется четырёхкомпонентная терапия с применением висмута либо ингибиторов протонной помпы.
- Терапия с применением висмута либо ингибиторов протонной помпы должна длиться 14 дней.
- При неуспешности четырехкомпонентной терапии с применением висмута либо ингибиторов протонной помпы может быть рекомендована трёх- или четырёхкомпонентная терапия с применением фторхинолонов.
- При неуспешности двух методов лечения рекомендуется исследование чувствительности ***H. pylori*** к антибиотикам для определения дальнейших способов лечения.
- ***H. pylori*** является основным этиологическим фактором рака желудка, который можно предотвратить ранней эрадикацией до появления метаплазии и атрофии.

NB!

- **Состав здоровой микробиоты желудка и то, каким образом *H. pylori* влияет на микробиоту, пока что не определены.**

Во всех прошедших Маастрихтских консенсусах (I-V, 1996-2016гг.) постулировалось использование внешнего (экзогенного) воздействия на Helicobacter pylori и воспалительный процесс в слизистой желудка в целом с применением комбинаций антибиотиков, блокаторов протонной помпы, солей висмута и т.д.

Российские учёные Научного общества «Микробиота» утверждают, что используемые в России и во всём мире принципы воздействия на H.pylori являются стратегически тупиковыми.

Принцип воздействия на HP

Внешнее воздействие на патогенный микроб антибактериальными средствами – исторически сложившиеся стандарты лечения – Маастрихт I - V

Стратегически тупиковый путь

Перспективный инновационный путь – с научным и экспериментальным обоснованием in vitro, in vivo и на людях-добровольцах

Эндогенное воздействие путём повышения колонизационной резистентности слизистой оболочки за счёт стимулирования собственной микробиоты желудка

Механизм действия метапребиотика Стимбифид плюс

Прямое действие

Бактерицидный антибиотикоподобный эффект

Косвенное действие

Стимуляция индигенной микробиоты желудка

Можно выделить два взаимосвязанных механизма действия метабиотического и пребиотического компонентов препарата на слизистую оболочку желудка: прямого действия на бактерии H.pylori, что было продемонстрировано в опытах in vitro с использованием Лактата кальция, и косвенного, связанного со стимуляцией размножения желудочной микробиоты, продуцирующей экзометаболиты, прежде всего молочную кислоту, и восстановлением естественной колонизационной резистентности.

Антихеликобактерная активность метапребиотика Стимбифид плюс при монотерапии

Объект болезни	Вид хеликобактериоза	Дозировка препарата	Срок приёма, сут	Процент эрадикации H.pylori	Контроль эрадикации через 30 сут после лечения
Белые мыши	Острый экспериментальный гастрит, ассоциированный с H.pylori	2 табл (по 500мг) 3 раза/сут (в пересчёте на человека)	7	100 *	H.pylori отсутствует
Люди-добровольцы	Острый экспериментальный гастрит, ассоциированный с H.pylori	2 табл (по 500мг) 3 раза/сут за 30 мин до еды	12	100 *	H.pylori отсутствует
Люди	Хронический гастрит, ассоциированный с H.pylori	2 табл (по 500мг) 3 раза/сут за 30 мин до еды	14	50-55 **	H.pylori отсутствует
		3 табл (по 500мг) 3 раза/сут за 30 мин до еды	14	80 **	H.pylori отсутствует
		2 табл (по 500мг) 3 раза/сут за 30 мин до еды	28	90 ***	H.pylori отсутствует

Примечание:

* И.Ю. Чичерин, И.П. Погорельский, И.В. Дармов, И.А. Лундовских, М.З. Шабалина, Е.П. Колеватых, П.А. Козлов, А.С. Корнаухов. Оценка эрадикационной эффективности метапребиотика Стимбифид плюс при остром экспериментальном хеликобактериозе у лабораторных животных и людей-добровольцев. Инфекционные болезни. 2018; 16 (4): 62-74. DOI: 10.20953/1729-9225-2018-4-62-74

** О.Н. Минушкин, И.В. Зверков, О.А. Проценко, И.Ю. Чичерин, И.П. Погорельский. Первый опыт использования метапребиотической терапии в эрадикации Helicobacter pylori. Кремлёвская медицина. Клинический вестник. 2019; 2: 36-38. Doi 10.26269/wm3r-5p96

*** «Отчёт по оценке эффективности и переносимости метапребиотика Стимбифид плюс в эрадикационной терапии больных хроническим антральным гастритом, ассоциированным с Helicobacter pylori, в фазе обострения», проведённой на кафедре гастроэнтерологии ФГБУ ДПО «Центральная государственная медицинская академия» УД Президента РФ в срок с 10.12.18г. по 29.03.19г.

Таким образом, в исследованиях Научного общества «Микробиота» впервые в мире показано, что фундаментальный характер работы и инновационное решение по лечению острого экспериментального хеликобактериоза, продемонстрированное нами с точки зрения доказательной медицины in vitro, in vivo и на людях-добровольцах (эрадикация при остром процессе – 100%), позволяет отнести её, на наш взгляд, к определённому научному прорыву в решении данной проблемы.

С другой стороны, необходимо подчеркнуть, что в повседневной лечебной практике приходится встречаться с необходимостью эрадикации возбудителя HP-инфекции с хроническим течением, что вероятно будет являться более сложной задачей.

Этому посвящены работы наших коллег из Главного Мед. Управления УД Президента РФ.

Инфекционные болезни, 2018, т. 16, №4, с. 62–74
Infectious diseases, 2018, volume 16, No 4, p. 62–74
DOI: 10.20953/1729-9225-2018-4-62-74

Оценка эрадикационной эффективности метапребиотика Стимбифид плюс при остром экспериментальном хеликобактериозе у лабораторных животных и людей-добровольцев

И.Ю.Чичерин[1], И.П.Погорельский[1], И.В.Дармов[2], И.А.Лундовских[2], М.Р.Шабалина[2], Е.П.Колеватых[3], П.А.Козлов[4], А.С.Корнаухов[1]

[1]Научное общество «Микробиота», Сергиев Посад, Московская область, Российская Федерация;
[2]Вятский государственный университет, Киров, Российская Федерация;
[3]Кировский государственный медицинский университет, Киров, Российская Федерация;
[4]Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М.Сеченова (Сеченовский Университет), Москва, Российская Федерация

Цель. Изучить возможность воспроизведения клинической картины острого хеликобактериоза у здоровых людей-добровольцев при приеме внутрь культуры рифампицинустойчивого мутанта *Helicobacter pylori* КМ-11 (Rif^R), получить доказательства приживления бактерий *H. pylori* КМ-11 (Rif^R) в слизистой оболочке желудка, описать симптоматику заболевания и представить доказательства успешности эрадикационной терапии острого экспериментального хеликобактериоза метапребиотиком Стимбифид плюс.

Материалы и методы. В экспериментах по изучению состава кишечной микробиоты использовали конвенциональных белых мышей обоего пола массой 18–20 г. Количество бифидобактерий, лактобацилл и эшерихий (КОЕ), выделенных из фекалий животных, определяли высевом соответствующих десятикратных разведений изучаемых суспензий на плотные питательные среды и подсчетом выросших колоний по истечении времени инкубации. Выращивание микроорганизмов представителей кишечной микробиоты проводили с использованием системы «анаэростата». Идентификацию микроорганизмов, сопутствующих кишечной микробиоте и выделяемых из фекалий экспериментальных животных, проводили по морфологическим признакам и с использованием наборов для биохимической идентификации. Формирование хеликобактериоза у белых мышей осуществляли путем перорального введения суспензий бактерий *H. pylori* КМ-11 (Rif^R) на фоне иммуносупрессивного эффекта от внутримышечного введения Дексаметазона. Для проведения экспериментов на людях отбирали практически здоровых добровольцев мужского пола. Добровольцы принимали внутрь суспензию агаровой культуры бактерий *H. pylori* КМ-11 (Rif^R) на изотоническом растворе хлорида натрия. Отбор фекалий добровольцев осуществляли ежедневно в течение всего периода наблюдений, а также через 2 недели и 1 месяц после завершения приема метапребиотика Стимбифид плюс; суспензии фекалий на изотоническом растворе хлорида натрия высевали на селективную геминсодержащую плотную питательную среду с рифампицином в концентрации 160 мкг·мл$^{-1}$ для выращивания и подсчета выросших колоний *H. pylori* КМ-11 (Rif^R). По результатам эксперимента выносили суждение об эффективности эрадикации хеликобактера под влиянием метапребиотика Стимбифид плюс.

Результаты. В экспериментах *in vitro* и на конвенциональных белых мышах с острым хеликобактериозом выявлена антихеликобактерная активность метапребиотика Стимбифид плюс и входящих в его состав ингредиентов, последовательность восстановления желудочной микробиоты, колонизационной резистентности слизистой оболочки желудка и удаления бактерий *H. pylori* КМ-11 (Rif^R). В результате опыта самозаражения возбудителем *H. pylori* КМ-11 (Rif^R) у добровольцев воспроизведен острый хеликобактериоз. Заболевание проявилось легким недомоганием, неприятными ощущениями в эпигастральной области, отрыжкой, учащением стула, изменением цвета фекалий. Обнаружение бактерий *H. pylori* КМ-11 (Rif^R) бактериологическим методом в фекалиях добровольцев и выделение чистой культуры возбудителя как в начале приема метапребиотика Стимбифид плюс, так и в процессе его приема, сопровождавшегося постепенным снижением численности бактерий в фекалиях вплоть до полного их исчезновения на 11-й день приема метапребиотика Стимбифид плюс, является свидетельством адгезии введенных бактерий и их приживления в слизистой оболочке желудка. Прием добровольцами метапребиотика Стимбифид плюс привел к полному удалению бактерий *H. pylori* КМ-11 (Rif^R) из желудочно-кишечного тракта. Бактерии *H. pylori* КМ-11 (Rif^R) не выделялись из фекалий добровольцев при контрольных исследованиях через 2 недели и через 1 месяц после окончания приема метапребиотика Стимбифид плюс. Госпитализации добровольцев не потребовалось.

Заключение. Результаты исследований, полученные при моделировании хеликобактериоза на животных, а также в процессе приема внутрь метапребиотика Стимбифид плюс для эрадикационной терапии острого экспериментального хеликобактериоза на добровольцах будут в последующем использованы с целью детального изучения патогенеза хеликобактериоза и его клинической картины, установления реального воздействия факторов патогенности *H. pylori*

© Издательство «Династия», 2018
Тел./факс: +7 (495) 660-6004, e-mail: red@phdynasty.ru, www.phdynasty.ru

на организм хозяина, выбора новых средств профилактики и лечения хронического хеликобактерного гастрита, мониторинга эффективности эрадикации бактерий *H. pylori*.
Ключевые слова: Helicobacter pylori, острый хеликобактериоз, гастрит, эрадикация, дисбиоз, микробиота, колонизационная резистентность, Стимбифид плюс, белые мыши, добровольцы

Для цитирования: Чичерин И.Ю., Погорельский И.П., Дармов И.В., Лундовских И.А., Шабалина М.Р., Колеватых Е.П., Козлов П.А. Оценка эрадикационной эффективности метапребиотика Стимбифид плюс при остром экспериментальном хеликобактериозе у лабораторных животных и людей-добровольцев. Инфекционные болезни. 2018; 16(4): 62–74. DOI: 10.20953/1729-9225-2018-4-62-74

Efficacy of eradication therapy with Stimbifid plus in experimental acute *Helicobacter pylori* infection in murinemodels and in volunteers

I.Yu.Chicherin[1], I.P.Pogorelsky[1], I.V.Darmov[2], I.A.Lundovskikh[2], M.R.Shabalina[2], E.P.Kolevatykh[3], P.A.Kozlov[4], A.S.Kornaukhov[1]

[1]Scientific society «Microbiota», Sergiev Posad, Moscow Region, Russian Federation;
[2]Vyatka State University, Kirov, Russian Federation;
[3]Kirov State Medical University, Kirov, Russian Federation;
[4]I.M.Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University), Moscow, Russian Federation

Objective: to evaluate the possibility of creating a human model of acute *Helicobacter pylori* infection in healthy volunteers after infecting them with a mutant rifampicin-resistant strain of *H. pylori* KM-11 (Rif^R), to obtain evidence of *H. pylori* survival and invasion into the gastric mucosa, describe the symptoms, and assess the efficacy of *H. pylori* eradication therapy with Stimbifid plus.
Materials and methods. In our experiments, we used conventional white mice of both genders weighing 18–20 g. The concentration of bifidobacteria, lactobacilli, and Escherichia (CFU) in animal faeces was determined by inoculating tenfold dilutions of biomaterial onto solid media and further counting of bacterial colonies grown after the incubation period. Microorganisms were cultivated in an anaerobic incubator and then identified by morphological evaluation and using biochemical identification kits. We created a murine model of *H. pylori* infection by oral administration of *H. pylori* KM-11 (Rif^R) suspensions to immunocompromised mice that had earlier undergone intramuscular administration of dexamethasone. For a human model of *H. pylori* infection, we selected healthy male volunteers. They took suspensions of *H. pylori* KM-11 (Rif^R) isolates in isotonic sodium chloride solution. Fecal specimens were collected from volunteers on daily basis during the entire follow-up period and then 2 weeks and 1 month after treatment completion. Fecal suspensions in isotonic sodium chloride solution were inoculated

onto the selective hemin-containing solid media with rifampicin at a concentration of 160 μg·mL^{-1}. The results of this experiment (*H. pylori* colony count) were used to evaluate the efficacy of *H. pylori* eradication therapy with Stimbifid plus.
Results. Both *in vitro* experiments and murine models demonstrated high anti-*H. pylori* activity of Stimbifid plus and its ingredients, restoration of the gastric microbiota, restoration of gastric colonization resistance, and eradication of *H. pylori* KM-11 (Rif^R). Self-infection with *H. pylori* KM-11 (RifR) caused acute infection in volunteers. The disease manifested with mild ailment, epigastric discomfort, belching, increased stool frequency, and changes in the color of stool. The detection of *H. pylori* KM-11 (Rif^R) in the faeces of volunteers and isolation of pure cultures prior to treatment initiation indicated bacterial adhesion to gastric mucosa and survival of microorganisms. Treatment with Stimbifid plus caused gradual decrease in the number of bacteria isolated from feces and their complete elimination by day 11 of therapy. All fecal specimens collected 2 weeks and 1 month after therapy completion from volunteers were negative for *H. pylori* KM-11 (Rif^R). None of the study participants required in-patient treatment.
Conclusion. The results of our experiments obtained in both murine and human models of *H. pylori* infection will be used for more detailed assessment of this pathological process, clinical manifestations, impact of *H. pylori* virulence factors on the host, choosing new methods for the prevention and treatment of chronic gastritis caused by *H. pylori*, and monitoring the efficacy of eradication therapy.
Key words: Helicobacter pylori, acute Helicobacter pylori infection, gastritis, eradication, dysbiosis, microbiota, colonization resistance, Stimbifid plus, white mice, volunteers

For citation: Chicherin I.Yu., Pogorelsky I.P., Darmov I.V., Lundovskikh I.A., Shabalina M.R., Kolevatykh E.P., Kozlov P.A., Kornaukhov A.S. Efficacy of eradication therapy with Stimbifid plus in experimental acute *Helicobacter pylori* infection in murinemodels and in volunteers. Infekc. bolezni (Infectious diseases). 2018; 16(4): 62–74. (In Russian).DOI: 10.20953/1729-9225-2018-4-62-74

Профессор B.J.Marshall – один из авторов открытия бактерий *Helicobacter pylori*, установивших роль возбудителя в патогенезе хронического гастрита, язвенной болезни желудка и двенадцатиперстной кишки, испытал на себе возможность самозаражения и предложил использовать для лечения хеликобактериоза висмутсодержащую тройную терапию, направленную на эрадикацию *H. pylori* [1–4].

Принципами терапии *H. pylori*-инфекции являются: использование многокомпонентных схем лечения (тройная и квадротерапия); строгое соблюдение выбранной схемы лечения (определенные лекарственные препараты, определенные дозы, определенная продолжительность терапии); учет синергизма лекарственных препаратов; применение вспомогательных методов, в частности лазеротерапии, направленных на повышение общей реактивности организма, т.е. потенцирование действия основной терапии [5].

Реализация принципов терапии *H. pylori*-инфекции сводится к стандартной тройной и квадротерапии с препаратом висмута (первая линия в схеме лечения), квадротерапии с препаратом висмута и тройной терапии с левофлокса-

© Издательство «Династия», 2018
Тел./факс: +7 (495) 660-6004, e-mail: red@phdynasty.ru, www.phdynasty.ru

цином (вторая линия в схеме лечения), определению антибиотикорезистентности *H. pylori* (третья линия в схеме лечения) [5].

В научной литературе приведены также и несколько иные схемы современной эрадикационной терапии с оценкой их клинической эффективности: монотерапия, двухкомпонентная терапия, трехкомпонентная терапия, квадротерапия [6]. Конечным итогом терапии *H. pylori*-ассоциированных заболеваний должна быть эрадикация, т.е. удаление возбудителя *H. pylori* и санация организма. Дальнейшие перспективы совершенствования антихеликобактерной терапии в настоящее время связывают с апробацией новых схем с высоким показателем стоимость/эффективность и меньшим числом побочных действий, отмечаемых при тройной терапии.

Как показывает опыт клиницистов, эрадикационная терапия представляет собой довольно трудную задачу, не всегда решаемую положительно. В то же время считается, что эрадикация возбудителя *H. pylori* в 80–90% случаев должна восприниматься как отличный показатель эффективности терапии.

В 2000 г. были приняты так называемые «Маастрихтские рекомендации», направленные на решение двух основных вопросов: кого лечить и как лечить при *H. pylori* [5, 6]. Данным соглашением настоятельно рекомендуется эрадикационная терапия *H. pylori*-позитивным больным, у которых выявлены язвенная болезнь желудка и двенадцатиперстной кишки в стадии обострения или ремиссии [7], включая осложненную язвенную болезнь, MALT-лимфому, атрофический гастрит, состояния после резекции желудка по поводу рака, а также ближайшим родственникам больных раком желудка – естественно, по желанию пациента и после подробной консультации с врачом.

Диагностика успешности эрадикации осуществляется известными методами при обязательном непосредственном обнаружении бактерий в двух биоптатах слизистой оболочки тела желудка и одного биоптата из антрального отдела [6]. Особо следует отметить, что взятие биопсии во время эндоскопии является инвазивной процедурой, хотя, как утверждается, изъязвления после биопсии успешно и достаточно быстро заживают. Однако существует риск кровотечения при биопсии, взятой из здоровой слизистой.

В случае отрицательного результата и отсутствия возбудителя *H. pylori* в биоптатах не исключена повторная эндоскопия и повторное взятие биоптатов с возможными осложнениями. Таким образом, существует настоятельная необходимость во внедрении в практику неинвазивного метода и специальных питательных сред для выделения из биологических материалов чистых культур бактерий *H. pylori*. На это указывает также и следующее обстоятельство: несмотря на значительное накопление теоретических знаний о хеликобактериозе и возбудителе *H. pylori*, существует все более увеличивающийся разрыв между теорией и практикой диагностики, профилактики и лечения заболевания, что, безусловно, отражается на эффективности эрадикационной терапии.

На повестку дня с неизбежностью выдвигается вопрос о необходимости выработки и согласования единого подхода к диагностике и лечению хеликобактериоза, обобщению передового опыта по использованию различных композиций лекарственных средств в эрадикационной терапии *H. pylori*. Профессор B.J.Marshall считает, что как только учеными в том или ином регионе или стране будет накоплен положительный опыт, то этот опыт обязательно позволит усовершенствовать существующие стратегии лечения данного инфекционного заболевания [1, 2].

Не умаляя достоинств клинического опыта, позволяющего лечащему врачу во всех деталях разобраться в развитии и течении заболевания и корректировать лечебный процесс, следует отметить опыт экспериментальный, в том числе с использованием лабораторных животных. Итогом многочисленных экспериментальных исследований, которые по известным причинам невозможно поставить на людях, является выработка рекомендаций, адресованных прежде всего лечащему врачу, по использованию в клинической практике лечебных препаратов и схем их применения для получения максимального эффекта в проведении эрадикационной терапии с учетом современных научных знаний.

Именно экспериментальные исследования, с одной стороны, могут дать мощный импульс развитию стратегии лечения хеликобактериоза, а с другой – с учетом результатов экспериментальных исследований позволят апробировать на добровольцах новые средства и методы эрадикационной терапии.

Эти результаты имеют принципиальное значение, поскольку, во-первых, до настоящего времени вопрос о моделировании хеликобактериоза не решен, а во-вторых, это шаг в направлении экспериментального изучения многих вопросов инфектологии *H. pylori*, ждущих своего решения.

В доступной литературе нет описания специальных исследований в данном направлении. То, что эрадикация *H. pylori* возможна, свидетельствует успешный опыт профессора B.J.Marshall по самозаражению возбудителем и излечению приобретенного хеликтобактерного гастрита в результате двухнедельного курсового приема метронидозола и солей висмута [3, 8, 9].

В этой связи весьма уместным будет сослаться на работу А.В.Сергеевой и Н.В.Саперкина, представивших оригинальное определение самозаражения как варианта научного эксперимента: «…самозаражение (самоэксперимент) представляет собой разновидность экспериментального исследования (иногда в клинических условиях) путем сознательного введения в собственный организм возбудителя инфекции и моделирования патологического процесса, а также воздействия предполагаемых факторов передачи возбудителя инфекции, которое проводится с целью получения научных данных или уточнения имеющихся» [10].

Безусловно, профессор B.J.Marshall в эксперименте получил научные данные, которые в последующем легли в основу современной эрадикации *H. pylori*. Можно со всей определенностью сказать, что он является ярким представителем экспериментального подхода в медицине, основоположник которого, Клод Бернар, изложил основные положения такого подхода в своем капитальном труде «Введение в изучение экспериментальной медицины» [11].

И сегодня эксперимент является неотъемлемой составляющей современной медицинской науки, в том числе

© Издательство «Династия», 2018
Тел./факс: +7 (495) 660-6004, e-mail: red@phdynasty.ru, www.phdynasty.ru

в сфере изучения инфекционной патологии [10]. Подобного рода эксперименты часто оказывают эффект «социальной рекламы», которая, по сути, способствует устранению патологической боязни инфекции среди населения разных стран [10]. Неотъемлемой чертой таких экспериментов является высокий потенциальный риск здоровью исследователя. Объектом исследования становится сам врач, который выступает и как исполнитель, и как естествоиспытатель, регистрирующий результаты опыта.

Опубликованная А.В.Сергеевой и Н.В.Саперкиным статья была подготовлена в рамках исследований по истории эпидемиологии, на основе поиска и критической оценки информации, полученной из архивных и электронных ресурсов. Целью работы являлось осмысление значения экспериментов, поставленных врачами и исследователями на себе, в становлении учения об этиологии, патогенезе, эпидемиологических и клинических проявлениях, а также о мерах профилактики различных инфекционных и паразитарных заболеваний [10].

Действительно, применительно к самоэксперименту, представляющему собой разновидность экспериментального исследования, можно говорить о том, что это тот случай, когда, по образному выражению Г.Глязера, «…медицина, которая служит человеку, слагается из искусства и науки, и над ними простирается чудесный покров героизма, без которого не может быть медицины» [12].

Без чудесного покрова героизма медицина не приобрела бы научный характер. И конечно же, в этой связи следует отметить большой вклад в изучение инфекционной патологии многих отечественных и зарубежных ученых, среди которых необходимо упомянуть военного врача В.А.Знаменского, который, как и профессор B.J.Marshall, решился на опыт самозаражения, но не бактериями *H. pylori*, а возбудителем псевдотуберкулеза (дальневосточной скарлатиноподобной лихорадки).

В процессе эксперимента, который был проведен в Ленинграде, В.А.Знаменский в несколько приемов принял внутрь взвесь культуры бактерий псевдотуберкулеза, содержащую 1 млрд микробных клеток дальневосточной скарлатиноподобной лихорадки. Эта культура была получена им в 1967 г. от больного во Владивостоке [13, 14].

В результате самозаражения ученый заболел и был госпитализирован в клинику инфекционных болезней Военно-медицинской академии. Диагноз был подтвержден руководителем клиники профессором П.А.Алисовым, который уже был знаком с картиной этого заболевания, поскольку наблюдал таких больных во время пребывания во Владивостоке [15]. При бактериологическом и серологическом обследовании псевдотуберкулезный микроб был выделен у В.А.Знаменского многократно из слизи зева и из фекалий. Именно после опыта самозаражения В.А.Знаменского получило признание иерсиний псевдотуберкулеза (*Yersinia pseudotuberculosis*) этиологическим агентом дальневосточной скарлатиноподобной лихорадки.

Опыты самозаражения В.А.Знаменского и B.J.Marshall разделяет небольшой промежуток времени. Но они свидетельствуют о том, что и в отечественной, и в зарубежной медицинской науке есть место экспериментальному исследованию, которое Г.Глязер охарактеризовал как «драматическая медицина», имея в виду возможность драматического исхода для волонтера [12].

До настоящего времени вопрос о моделировании хеликобактериоза не решен. В доступной литературе нет описания специальных исследований, выполненных в данном направлении. Имеются лишь сведения о прогрессирующей атрофии слизистой оболочки желудка у взятых в эксперименты крыс, вследствие продолжительного введения в желудок аммиака. Последующая за этим малигнизация тканей желудка развивалась на фоне усиленной клеточной пролиферации с постепенным формированием низкодифференцированных аденокарцином [1, 16].

Возможным объяснением трудностей, возникающих в связи с попытками моделирования хеликобактериоза, является следующий факт, о котором 20.06.2015 сообщил информационно-аналитический портал «Русская Планета»: животные практически никак не реагируют на хеликобактера и не страдают связанными с ним болезнями. И эта констатация фактически переводит хеликобактериоз в разряд антропонозов, что с очевидностью усложняет проблему моделирования данной инфекции, но при этом делает ее более интересной.

В выполненных нами исследованиях проведено теоретическое и экспериментальное обоснование возможности моделирования хеликобактериоза у конвенциональных белых мышей при пероральном введении возбудителя *H. pylori*: были апробированы методические подходы к воспроизведению хеликобактериоза у экспериментальных животных при пероральном введении культуры рифампицинустойчивого мутанта *H. pylori* КМ-11 (Rif^R) на фоне внутримышечного введения животным синтетического глюкокортикоидного препарата Дексаметазон, содержащего гормоны коры надпочечников и их синтетические аналоги. Логичным продолжением исследований в данном направлении является получение дополнительных данных о биологии возбудителя и подтверждающих результатов в эксперименте самозаражения возбудителем хеликобактериоза людей-добровольцев [17].

Цель исследования – изучение возможности воспроизведения клинической картины острого хеликобактериоза у здоровых людей-добровольцев при приеме внутрь культуры рифампицинустойчивого мутанта *H. pylori* КМ-11 (Rif^R), получение доказательств приживления бактерий *H. pylori* КМ-11 (Rif^R) в слизистой оболочке желудка, описание симптоматики заболевания и доказательство успешности эрадикационной терапии хеликобактериоза метапребиотиком Стимбифид плюс.

Материалы и методы

Штамм бактерий *H. pylori* 11 выделен из биопсийного материала со слизистой оболочки антрального отдела желудка больного, страдающего гастритом; маркированный рифампицинустойчивый мутант *H. pylori* КМ-11 (Rif^R), полученный методом спонтанного мутагенеза, способен расти на плотной питательной среде с рифампицином в концентрации 160 мкг·мл$^{-1}$. Выращивание бактерий *H. pylori* 11 проводили

© Издательство «Династия», 2018

на плотной питательной среде с гемином, а бактерий *H. pylori* КМ-11 (Rif^R) – на селективной геминсодержащей плотной питательной среде со специальными добавками (дрожжевой экстракт, глюкоза, тиамина хлорид, кальция пантотенат, натрия сульфит, гемин, твин-80) и с рифампицином в концентрации 160 мкг·л$^{-1}$ в микроаэрофильных условиях при температуре 37°С.

Штамм лактобацилл *L. plantarum* 8Р-А3 выделен из пробиотика Лактобактерин (изготовитель ФГУП «НПО «Микроген», Россия).

В экспериментах по изучению состава желудочной и кишечной микробиоты использовали конвенциональных белых мышей обоего пола массой 18–20 г, прошедших акклиматизацию в виварии. У животных в процессе экспериментов отбирали желудки, гомогенизировали в изотоническом растворе хлорида натрия и высевали на плотную питательную среду для подращивания при температуре 37°С и подсчета выросших колоний; в случае выделения хеликобактера суспензию гомогената высевали на селективную плотную питательную среду с рифампицином. Отбор фекалий у экспериментальных животных для проведения исследований проводили ежедневно в течение всего периода выполнения экспериментов.

Количество представителей желудочной микробиоты (КОЕ) – бифидобактерий, лактобацилл и эшерихий, выделенных из фекалий животных, – определяли высевом соответствующих десятикратных разведений изучаемых суспензий на плотные питательные среды рекомендованного состава в чашках Петри и подсчетом выросших колоний по истечении времени инкубации [18].

Выращивание микроорганизмов представителей кишечной микробиоты проводили на плотных питательных средах с использованием системы для анаэробного культивирования (анаэростат) Anaerobic system Mark III-LE003 (HiMedia Laboratories Pvt. LTD, Мумбаи, Индия) с пакетами газогенераторными HiAnaero Gas Pacet.

Для выращивания бактерий *H. pylori* КМ-11 (Rif^R), полученных из гомогенатов желудков животных, а также установления факта возможного выделения с фекалиями животных бактерий *H. pylori* КМ-11 (Rif^R) и их количественной оценки суспензии гомогенатов желудков, а также суспензии фекалий белых мышей высевали на селективную плотную питательную среду с рифампицином (160 мкг·мл$^{-1}$) и выращивали в микроаэрофильных условиях при температуре 37°С.

Изучение антибактериальной активности тестируемых растворов проводили суспензионным и диско-диффузионным методами [19].

Формирование хеликобактериоза у белых мышей осуществляли путем перорального введения животным суспензий бактерий *H. pylori* КМ-11 (Rif^R) на фоне иммуносупрессивного эффекта от внутримышечного введения Дексаметазона (раствор для инъекций, 4 мг·мл$^{-1}$, производитель ОАО «Дальхимфарм», Россия). С учетом переводного коэффициента суточная доза перорально вводимого животным препарата, соответствующая таковой для человека, составила 40 мкг.

Идентификацию экзогенных (заносных, по определению О.К.Поздеева [20]) микроорганизмов, сопутствующих кишечной микробиоте и выделяемых из фекалий экспериментальных животных, проводили по морфологическим признакам и с использованием набора для биохимической идентификации грибов рода *Candida* (HiMedia, Индия), миниатюрных биохимических рядов API-стрипов (bioMerieux, Франция), а также с помощью тест-системы AUXACOLOR2 (Bio-RAD Laboratories,США) и тест-системы для идентификации микроорганизмов MICRO-LA-TEST(ERBA Lachema, Хорватия).

При проведении экспериментов использовали метапребиотик Стимбифид плюс, в 1 таблетке которого массой 500 мг содержится олигофруктозы 270 мг, инулина 116 мг, кальция 19 мг (ООО «В-МИН», г. Сергиев Посад, Россия); Фруктаны – смесь фруктоолигосахарида (олигофруктозы) и фруктополисахарида (инулина) (Рафтилоза ТМ, Бельгия); Лактат кальция (GALACTIC S.A., Бельгия), антибиотик Рифампицин-Ферейн (ЗАО «Брынцалов-А», Россия).

Электронную микроскопию бактерий *H. pylori* КМ-11 (Rif^R) проводили с помощью просвечивающего электронного микроскопа JEOL JEM 1200 EV при ускоряющем напряжении 72 кВ.

Для проведения экспериментов на людях отобрали 5 практически здоровых добровольцев мужского пола. Добровольцы принимали внутрь суспензию агаровой культуры бактерий *H. pylori* КМ-11 (Rif) на изотоническом растворе хлорида натрия. Отбор фекалий добровольцев осуществляли ежедневно; суспензии фекалий на изотоническом растворе хлорида натрия высевали на селективную геминсодержащую плотную питательную среду с рифампицином в концентрации 160 мкг·мл$^{-1}$ для выращивания и подсчета выросших колоний.

Добровольцы обязались ежедневно сообщать о своем самочувствии, чтобы в случае ухудшения состояния можно было прекратить дальнейшее проведение эксперимента. Согласие стать участником эксперимента было добровольным при сохранении права в любой момент отозвать свое согласие на эксперимент и прервать его.

Статистическую обработку результатов экспериментов проводили по методу Кербера в модификации И.П.Ашмарина и А.А.Воробьёва [21].

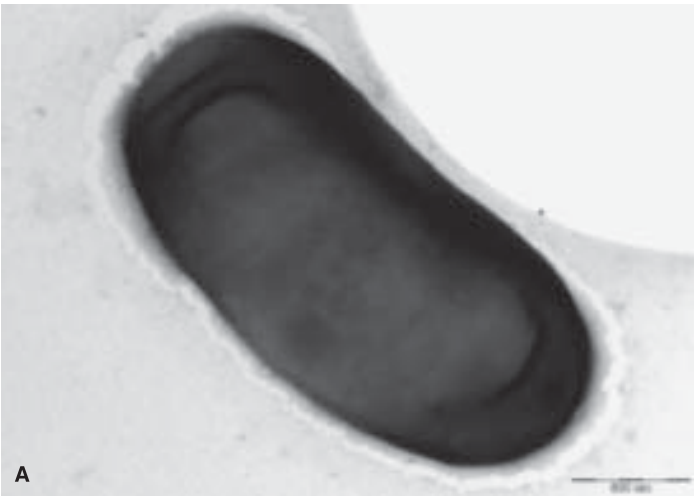
Результаты исследования и их обсуждение

Хеликобактер – микроаэрофильная грамотрицательная бактерия, имеющая изогнутую S-образную или спиралевидную форму. При культивировании на искусственных питательных средах принимает форму слегка изогнутых палочек или шара. На рис. 1 приведены электронные микрофотографии бактерий *H. pylori* КМ-11 (Rif^R), выращенных на селективной плотной питательной среде при оптимальных условиях в течение 24 ч (рис. 1, А) и хранившихся при температуре 4–6°С в течение 5 суток (рис. 1, Б).

Несмотря на морфологические различия, бактерии растущих и стареющих агаровых культур способны расти на селективной питательной среде с рифампицином (160 мкг·мл$^{-1}$), что имеет принципиальное значение при проведении экспериментальных исследований.

Ввиду того, что бенефициарами кишечной микробиоты (маркерными микроорганизмами), по количеству которых

© Издательство «Династия», 2018



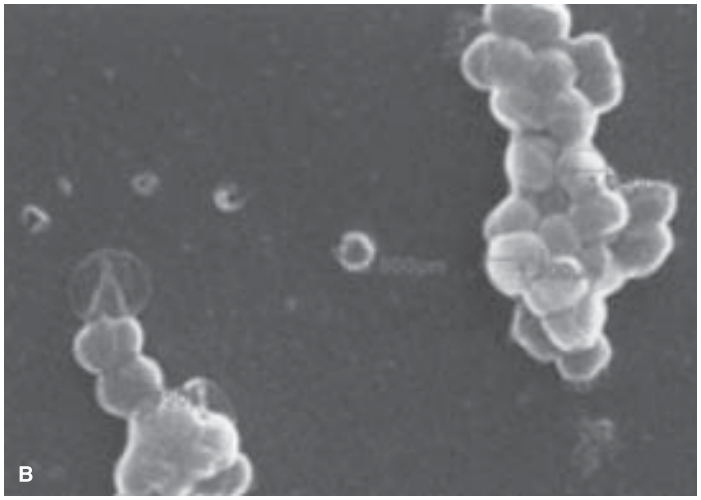


Рис. 1. **Электронная микроскопия бактерий *H. pylori* КМ-11 (Rif^R), выращенных на плотной питательной среде с рифампицином** (А – растущая культура, В – стареющая культура)**.**

Fig. 1. ***Electron microscopy images of H. pylori KM-11 (Rif^R) isolated on solid medium containing rifampicin*** *(A – growing culture, B – aging culture).*

чаще всего судят о наличии дисбиотических нарушений, являются бифидобактерии, лактобациллы и эшерихии, было определено их количество в консорциуме желудочных микроорганизмов.

Установлено, что в содержимом желудка конвенциональных белых мышей количество бифидобактерий достигает (4,6 ± 0,6) × 10^4 КОЕ, лактобацилл – (3,9 ± 0,6) × 10^5 КОЕ, эшерихий – (4,6 ± 0,7) × 10^3 КОЕ. Помимо бенефициаров, из суспензий желудочного содержимого на плотной питательной среде были выделены микроорганизмы, идентифицированные как стрептококки, кандиды, золотистый стафилококк, сахаромицеты, синегнойная палочка, клебсиеллы. В то же время на начальном этапе инфицирования (2-е сутки эксперимента) животных суспензией *H. pylori* КМ-11 (Rif^R) количество бифидобактерий снизилось до (2,6 ± 0,7) × 10^2 КОЕ, лактобацилл – до (1,9 ± 0,6) × 10^3 КОЕ, эшерихий – до (1,6 ± 0,7) × 10^2 КОЕ.

В опытах *in vitro* с использованием диско-диффузионного метода J.H.Jorgensen, J.D.Turnidge [19] установлено формирование зон ингибирования роста бактерий *H. pylori* КМ-11 (Rif^R) растворами (по 3 мг в 1 мл дистиллированной воды) метапребиотика Стимбифид плюс и Лактата кальция диаметром 12 и 12,5 мм соответственно (рис. 2).

Под воздействием раствора Фруктанов в той же концентрации также формировались зоны (10–10,5 мм в диаметре) ингибирования роста бактерий *H. pylori* КМ-11 (Rif^R), превосходящие таковую у антибиотика цефотаксим.

Продолжением опытов *in vitro* стало изучение жизнеспособности бактерий хеликобактера *H. pylori* КМ-11 (Rif^R) в растворах метапребиотика Стимбифид плюс, Лактата кальция и Фруктанов. Отличие данной серии опытов от предыдущих состоит в том, что они дают возможность проследить поминутно, а не через 18–20 ч, как при диско-диффузионном методе, динамику гибели тестируемых бактерий.

Суть опытов состояла в следующем: агаровую культуру *H. pylori* КМ-11 (Rif^R) в конечной концентрации (1,1–1,2) × × 10^8 КОЕ·мл$^{-1}$ вносили в указанные растворы в пробирках

Рис. 2. **Зоны ингибирования роста бактерий *H. pylori* КМ-11 (Rif^R).** 1 – Стимбифид плюс; 2 – Лактат кальция; 3 – Фруктаны; 4 – антибиотик цефотаксим.

Fig. 2. ***Zones of H. pylori KM-11 (Rif^R) growth inhibition.*** *1 – Stimbifid plus; 2 – Calcium lactate; 3 – Fructans; 4 – Cefotaxime.*

(две концентрации ингредиентов – 8 и 4 мг·мл$^{-1}$), инкубировали при температуре 37°С, после чего через определенные промежутки времени из пробирок отбирали пробы и высевали на селективную плотную питательную среду с рифампицином для получения роста и подсчета выросших колоний. Результаты определений представлены в табл. 1.

Из представленных в таблице 1 данных следует, что метапребиотик Стимбифид плюс и Лактат кальция в концентрации 8 мг·мл$^{-1}$ уже через 20 мин полностью ингибируют рост бактерий *H. pylori* КМ-11 (Rif^R), а Фруктаны в той же концентрации через 20 и 30 мин снижают их численность на 4 и 5 порядков соответственно. При концентрации 4 мг·мл$^{-1}$ более высокой бактерицидной активностью обладает Лактат кальция: в его растворе бактерии *H. pylori* КМ-11 (Rif^R) гибнут к 30-й мин экспозиции. Метапребиотик Стимбифид плюс

© Издательство «Династия», 2018

Таблица 1. **Выживаемость бактерий *H. pylori* KM-11 (Rif^R) в растворах метапребиотика Стимбифид плюс, Лактата кальция и Фруктанов**
Table 1. ***Survival of H. pylori KM-11 (Rif^R) in the solutions containing Stimbifid plus, calcium lactate, and fructans***

Экспозиция, мин / *Exposure, min*	Содержание живых бактерий *H. pylori* KM-11 (Rif^R) в растворах … при концентрациях ингредиентов … на … мин эксперимента, КОЕ ($\bar{x} \pm I_{95}$, n = 6) / *Concentration of viable H. pylori KM-11 (Rif^R) bacteria in various solutions with various concentrations by min … of the experiment CFU ($\bar{x} \pm I_{95}$, n = 6)*					
	8 мг·мл$^{-1}$ / *8 mg·mL^{-1}*			4 мг·мл$^{-1}$ / *4 mg·mL^{-1}*		
	Стимбифид плюс / *Stimbifid plus*	Лактат кальция / *Calcium lactate*	Фруктаны / *Fructans*	Стимбифид плюс / *Stimbifid plus*	Лактат кальция / *Calcium lactate*	Фруктаны / *Fructans*
Начало эксперимента / *Start of the experiment*	(1,1 ± 0,5) × 10^8	(1,2 ± 0,6) × 10^8	(1,1 ± 0,4) × 10^8	(1,1 ± 0,5) × 10^8	(1,2 ± 0,6) × 10^8	(1,1 ± 0,4) × 10^8
10	(1,2 ± 0,6) × 10^7	(1,3 ± 0,7) × 10^4	(1,2 ± 0,6) × 10^7	(1,6 ± 0,6) × 10^6	(1,3 ± 0,5) × 10^7	(1,2 ± 0,6) × 10^7
20	0	0	(1,4 ± 0,6) × 10^4	(1,4 ± 0,4) × 10^6	(1,4 ± 0,6) × 10^6	(1,1 ± 0,5) × 10^7
30	0	0	(1,1 ± 0,5) × 10^3	(8,9 ± 0,5) × 10^5	0	(7,9 ± 0,5) × 10^6

Таблица 2. **Оценка биосовместимости регидратированных в изотоническом растворе хлорида натрия культур бактерий *H. pylori* KM-11 (Rif^R) и *L. plantarum* 8P-A3**
Table 2. ***Assessment of biocompatibility of H. pylori KM-11 (Rif^R) isolates rehydrated in isotonic sodium chloride solution and L. plantarum 8P-A3***

Экспозиция / *Exposure*	Содержание живых бактерий на … мин (ч) эксперимента, КОЕ ($\bar{x} \pm I_{95}$, n = 6) / *Concentration of viable bacteria by min (h) … of the experiment, CFU ($\bar{x} \pm I_{95}$, n = 6)*		
	Общее количество бактерий в смеси / *Total bacterial count*	*H. pylori* KM-11 (Rif^R)	*L. plantarum* 8P-A3
Начало эксперимента / *Start of the experiment*	(2,7 ± 0,6) × 10^5	(1,5 ± 0,6) × 10^5	(1,3 ± 0,5) × 10^5
5 мин / *min*	(2,5 ± 0,5) × 10^5	(1,2 ± 0,5) × 10^5	(1,3 ± 0,6) × 10^5
20 мин / *min*	(2,4 ± 0,7) × 10^5	(1,1 ± 0,6) × 10^5	(1,3 ± 0,5) × 10^5
50 мин / *min*	(2,2 ± 0,7) × 10^5	(9,4 ± 0,5) × 10^4	(1,3 ± 0,7) × 10^5
2 ч / *h*	(1,9 ± 0,6) × 10^5	(6,5 ± 0,7) × 10^4	(1,3 ± 0,7) × 10^5
6 ч / *h*	(1,8 ± 0,6) × 10^5	(5,2 ± 0,7) × 10^4	(1,3 ± 0,6) × 10^5
24 ч / *h*	(1,6 ± 0,5) × ·10^5	(3,1 ± 0,5) × 10^4	(1,3 ± 0,4) × 10^5

и Фруктаны при концентрации в растворах 4 мг·мл$^{-1}$ понижают содержание в них бактерий хеликобактера на 3 и 2 порядка соответственно.

В литературе нет сведений о взаимоотношениях пробиотических микроорганизмов и бактерий *H. pylori* при смешивании *in vitro* бактериальных культур в изотоническом растворе хлорида натрия и выдерживании смешанной культуры в статических условиях при температуре 37°С. Исходные концентрации бактерий в смеси и результаты определений приведены в табл. 2.

Из данных табл. 2 следует, что при исходной примерно одинаковой численности микроорганизмов в бактериальной суспензии в ходе эксперимента происходит неуклонное снижение общего количества бактерий в смеси за счет снижения численности бактерий *H. pylori* KM-11 (Rif^R).

Так, через 5 мин средняя численность хеликобактера снизилась на 17,8%, через 20 мин – на 24,7%, через 50 мин – на 35,6%, через 2 ч – на 55,5%, через 6 ч – на 64,4%, через 24 ч – на 78,8%. При этом средняя численность лактобацилл в смеси в ходе эксперимента практически не изменяется.

Данное обстоятельство свидетельствует в пользу того, что синтезированные в процессе роста лактобацилл *L. plantarum* 8P-A3 экзометаболиты частично остались экспонированными на клеточной поверхности, а частично перешли в растворенное состояние в смешанной бактериальной суспензии, проявляя при этом антихеликобактерную активность.

Учитывая тот факт, что основным компонентом синтезированных лактобациллами экзометаболитов является молочная кислота, можно с большой долей вероятности говорить о влиянии именно этого экзометаболита на снижение жизнеспособности хеликобактера в смешанной бактериальной суспензии [22, 23].

Следующий этап работы, ставший логичным продолжением исследований по изучению микробиоты желудка конвенциональных белых мышей, состоял в изучении влияния метапребиотика Стимбифид плюс и входящих в его состав ингредиентов (олигофруктозы, инулина, лактата кальция) на желудочную микробиоту здоровых конвенциональных белых мышей.

В начале эксперимента было установлено, что количество бифидобактерий в желудочном содержимом животных достигает (4,7 ± 0,6) × 10^4 КОЕ, лактобацилл – (3,8 ± 0,6) × × 10^5 КОЕ, эшерихий – (4,3 ± 0,7) × 10^3 КОЕ. В последующем подопытным животным, разделенным на три группы, перорально вводили в течение 6 суток индивидуальные дозы (по 7–8 мг) метапребиотика Стимбифид плюс, Лактата кальция и Фруктанов, что соответствует суточной дозе метапребиотика Стимбифид плюс для человека. На 2, 5 и 7-е сутки экспериментов бактериологическим методом определяли количество бенефициаров микробиоты животных – бифидобактерий, лактобацилл и эшерихий в желудочном содержимом. Результаты определений представлены в табл. 3.

Из представленных в табл. 3 данных следует, что наиболее благоприятное влияние на исследуемые микроорганизмы желудка подопытных животных оказывают метапребиотик Стимбифид плюс и Лактат кальция: уже на 7-е сутки под их воздействием в желудочном содержимом животных увеличиваются численно лактобациллы, которым несколько уступают бифидобактерии.

Весьма важными, на наш взгляд, являются выполненные *in vivo* эксперименты, связанные с получением доказа-

© Издательство «Династия», 2018

Таблица 3. **Влияние метапребиотика Стимбифид плюс, Лактата кальция и Фруктанов на микробиоту желудка конвенциональных белых мышей** *Table 3.* ***Impact of Stimbifid plus, calcium lactate, and fructans on the murine gastric microbiota***

Группа животных, получавших … в суточной дозе / *Group of animals that received daily doses of …*	Микроорганизмы / *Microorganisms*	Содержание живых бактерий в желудочном содержимом на … сутки эксперимента, КОЕ ($\bar{x} \pm I_{95}$, $n = 6$) / *Concentration of viable bacteria in gastric contents on day … of the experiment, CFU ($\bar{x} \pm I_{95}$, $n = 6$)*		
		2	5	7
Стимбифид плюс, 7–8 мг / *Stimbifid plus, 7–8 mg*	Бифидобактерии / *Bifidobacteria*	$(4{,}9 \pm 0{,}7) \times 10^4$	$(5{,}6 \pm 0{,}7) \times 10^5$	$(2{,}6 \pm 0{,}7) \times 10^7$
	Лактобациллы / *Lactobacilli*	$(4{,}4 \pm 0{,}6) \times 10^5$	$(4{,}3 \pm 0{,}6) \times 10^6$	$(8{,}7 \pm 0{,}6) \times 10^8$
	Эшерихии / *Escherichia*	$(4{,}6 \pm 0{,}7) \times 10^3$	$(4{,}6 \pm 0{,}7) \times 10^4$	$(5{,}6 \pm 0{,}7) \times 10^5$
Лактат кальция, 7–8 мг / *Calcium lactate, 7–8 mg*	Бифидобактерии / *Bifidobacteria*	$(4{,}6 \pm 0{,}5) \times 10^4$	$(3{,}6 \pm 0{,}6) \times 10^5$	$(3{,}6 \pm 0{,}6) \times 10^7$
	Лактобациллы / *Lactobacilli*	$(4{,}3 \pm 0{,}6) \times 10^5$	$(9{,}5 \pm 0{,}6) \times 10^6$	$(9{,}5 \pm 0{,}6) \times 10^8$
	Эшерихии / *Escherichia*	$(4{,}7 \pm 0{,}7) \times 10^3$	$(4{,}6 \pm 0{,}7) \times 10^4$	$(6{,}6 \pm 0{,}7) \times 10^4$
Фруктаны, 7–8 мг / *Fructans, 7–8 mg*	Бифидобактерии / *Bifidobacteria*	$(4{,}3 \pm 0{,}6) \times 10^4$	$(3{,}6 \pm 0{,}7) \times 10^5$	$(7{,}6 \pm 0{,}7) \times 10^6$
	Лактобациллы / *Lactobacilli*	$(4{,}2 \pm 0{,}6) \times 10^5$	$(8{,}5 \pm 0{,}6) \times 10^5$	$(9{,}5 \pm 0{,}6) \times 10^6$
	Эшерихии / *Escherichia*	$(4{,}4 \pm 0{,}7) \times 10^3$	$(9{,}6 \pm 0{,}7) \times 10^3$	$(9{,}6 \pm 0{,}7) \times 10^4$

тельств существования антихеликобактерной активности метапребиотика Стимбифид плюс, Лактата кальция и Фруктанов и возможности эрадикации возбудителя *H. pylori* при остром экспериментальном хеликобактериозе у конвенциональных белых мышей.

Инфекция сопровождалась ухудшением общего состояния животных, неопрятностью внешнего вида, взъерошенностью, плохим поеданием корма, некоторой адинамией. При этом на 2-е сутки введения культуры *H. pylori* КМ-11 (Rif^R) из желудочного содержимого исчезли бенефициары желудочной микробиоты – бифидобактерии, лактобациллы и эшерихии, а их экологическую нишу заняли кандиды *Candida sp.*, превотеллы *P. oralis* и клебсиеллы *K. pneumonia*.

Полное отсутствие в желудочном содержимом бифидобактерий, лактобацилл и эшерихий сохранялось в течение 5 суток, но уже через одни сутки после начала введения животным метапребиотика Стимбифид плюс и Лактата кальция в составе желудочного содержимого появились лактобациллы, а после введения Фруктанов – на 3-и сутки. Полное восстановление желудочной микробиоты произошло к 6-м суткам после введения животным метапребиотика Стимбифид плюс, Лактата кальция и Фруктанов (на фоне прекращения введения в течение 5 суток культуры *H. pylori* КМ-11 (Rif^R).

Такая очередность исчезновения и в последующем восстановления под влиянием метапребиотика Стимбифид плюс, Лактата кальция и Фруктанов микробиоты желудка и удаление из желудочного биотопа бактерий *H. pylori* КМ-11 (Rif^R) имеет принципиальное значение для понимания механизма эрадикационной терапии хеликобактериоза и роли в этом процессе колонизационной резистентности слизистой оболочки желудка.

Очевидно, что, обладая довольно внушительным набором факторов патогенности, хеликобактер «расчищает» себе путь уничтожением желудочной микробиоты и подавлением колонизационной резистентности, обеспечивая адгезию и колонизацию слизистой оболочки желудка.

При введении инфицированным животным метапребиотика Стимбифид плюс, а также Лактата кальция и Фруктанов мы наблюдаем два взаимосвязанных механизма действия указанных антибактериальных средств на слизистую оболочку желудка: прямое действие на бактерии *H. pylori*, что было продемонстрировано в опытах *in vitro* с использованием Лактата кальция, и косвенное, связанное со стимуляцией размножения желудочной микробиоты, продуцирующей экзометаболиты, прежде всего молочную кислоту, и восстановлением естественной колонизационной резистентности. Оба механизма действия метапребиотика Стимбифид плюс, а также входящих в его состав Лактата кальция и Фруктанов в конечном итоге приводят к рестрикции возбудителя и удалению его из желудка.

На рис. 3 приведены макропрепараты желудков в норме и при остром хеликобактериозе. Визуально желудки здоровых и инфицированных хеликобактером животных существенно различаются. Желудок здоровых животных имеет обычные размеры и форму, хорошо контурируются дно и тело желудка, малая и большая кривизна, пилорический отдел. При развившемся остром хеликобактериозе желудок увеличен

© Издательство «Династия», 2018

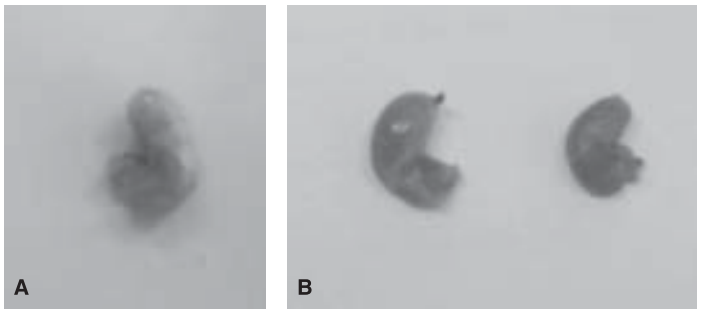


Рис. 3. **Макропрепараты желудков:** А – норма; В – при хеликобактериозе.

Fig. 3. ***Gross specimens of stomach:*** *A – normal; B – H. pylori infection.*

в размерах, его масса достигает 520 ± 25 мг (у здоровых животных 460 ± 20 мг). Обращает на себя внимание красно-бурое окрашивание стенки желудка, что может быть связано с капиллярной имбибицией кровью в условиях «тотального» гастрита.

Имеющаяся теоретическая и экспериментальная база позволила провести исследования с прогнозируемым положительным результатом по оценке перспективности применения метапребиотика Стимбифид плюс для эрадикационной терапии острого хеликобактериоза у добровольцев. Очевидно, воздействуя на патоген, содействуя возрождению желудочной микробиоты и повышая колонизационную резистентность слизистой оболочки желудка, можно будет добиться рестрикции патогена и восстановления собственной микробиоты, благодаря чему произойдет купирование инфекционного процесса с ликвидацией морфологических и симптоматических признаков гастрита [17, 22, 23].

Бактериологический анализ образцов фекалий добровольцев накануне эксперимента показал, что исходные образцы фекалий были свободны от бактерий *H. pylori* КМ-11 (Rif^R). Также бактерии *H. pylori* КМ-11 (Rif^R) не были выявлены в образцах фекалий на 2-е сутки эксперимента. Именно в этот день добровольцы начали принимать суспензию хеликобактера – 10 млрд бактерий в 30 мл изотонического раствора хлорида натрия; длительность приема 5 суток.

Следует отметить, что у всех добровольцев через 25–30 мин после приема суспензии *H. pylori* КМ-11 (RifR) отмечалось «урчание» в эпигастральной области и отрыжка воздухом, которые повторились спустя 1,5–2 часа. Указанные симптомы были отмечены после 2-го и 3-го приема суспензии *H. pylori* КМ-11 (Rif^R). В целом, прием суспензии *H. pylori* КМ-11 (Rif^R) в первый и последующие дни эксперимента существенно не сказался на самочувствии добровольцев.

На третий день эксперимента (т.е. через сутки после начала приема суспензии *H. pylori* КМ-11 (Rif^R)) в фекалиях всех добровольцев появились маркированные по Rif^R-признаку бактерии хеликобактера (табл. 4). На 5-й день эксперимента содержание бактерий *H. pylori* КМ-11 (Rif^R) в фекалиях добровольцев достигло максимальных значений, кото-

Таблица 4. **Результаты определения количества бактерий *H. pylori* КМ-11 (Rif^R) в фекалиях добровольцев в течение всего периода наблюдений**

Table 4. ***Results of evaluating the concentration of H. pylori KM-11 (Rif^R) in the feces of volunteers during the entire follow-up period***

День эксперимента / *Day of the experiment*	Прием суспензии *H. pylori* КМ-11 (Rif^R) / *Intake of H. pylori KM-11 (RifR) suspension*	Прием метапребиотика Стимбифид плюс / *Intake of Stimbifid plus*	Содержание бактерий *H. pylori* КМ-11 (Rif^R) в фекалиях добровольцев, КОЕ·г$^{-1}$, ($\bar{x} \pm I_{95}$, $n = 5$) / *Concentration of H. pylori KM-11 (Rif^R) in the feces of volunteers, CFU·г$^{-1}$, ($\bar{x} \pm I_{95}$, $n = 5$)*				
			1	2	3	4	5
1	–	–	0	0	0	0	0
3	+	–	96 ± 8	82 ± 7	80 ± 9	74 ± 8	65 ± 37
4	+	–	970 ± 34	1112 ± 86	1070 ± 78	996 ± 42	870 ± 37
5	+	–	$(9,9 \pm 0,6) \times 10^5$	$(1,3 \pm 0,7) \times 10^6$	$(1,3 \pm 0,7) \times 10^6$	$(1,0 \pm 0,6) \times 10^6$	$(1,3 \pm 0,5) \times 10^6$
6	+	–	$(9,9 \pm 0,5) \times 10^5$	$(9,9 \pm 0,7) \times 10^5$	$(9,9 \pm 0,6) \times 10^5$	$(8,9 \pm 0,7) \times 10^5$	$(9,0 \pm 0,6) \times 10^5$
7	–	+	$(5,1 \pm 0,7) \times 10^5$	$(5,7 \pm 0,6) \times 10^5$	$(4,9 \pm 0,8) \times 10^5$	$(4,8 \pm 0,6) \times 10^5$	$(6,9 \pm 0,8) \times 10^5$
8	–	+	310 ± 34	375 ± 42	506 ± 68	498 ± 58	458 ± 48
9	–	+	360 ± 38	410 ± 36	390 ± 39	386 ± 42	356 ± 43
10	–	+	160 ± 39	56 ± 8	10 ± 3	280 ± 29	120 ± 26
11	–	+	99 ± 8	114 ± 29	200 ± 31	195 ± 29	206 ± 33
12	–	+	$(1,3 \pm 0,6) \times 10^5$	$(1,0 \pm 0,8) \times 10^5$	$(2,0 \pm 0,6) \times 10^5$	$(1,9 \pm 0,8) \times 10^5$	$(1,7 \pm 0,7) \times 10^5$
13	–	+	420 ± 42	510 ± 58	1280 ± 66	630 ± 47	720 ± 62
14	–	+	82 ± 8	109 ± 28	320 ± 27	89 ± 9	68 ± 9
15	–	+	0	0	39 ± 7	0	0
16	–	+	0	0	2	0	0
17	–	+	0	0	0	0	0
18	–	+	0	0	0	0	0
19	–	+	0	0	0	0	0
20	–	+	0	0	0	0	0
21–25	–	–	0	0	0	0	0
Через 2 недели после завершения лечения / *Two weeks after treatment completion*	–	–	0	0	0	0	0
Через 1 месяц после завершения лечения / *One month after treatment completion*	–	–	0	0	0	0	0

© Издательство «Династия», 2018

рые поддерживались практически на том же уровне вплоть до 7-го дня эксперимента, после чего суспензия бактерий *H. pylori* КМ-11 (Rif^R) добровольцами больше не принималась. На высоком уровне содержание бактерий *H. pylori* КМ-11 (Rif^R) в фекалиях добровольцев сохранялось еще на 7-е сутки, которые стали началом приема метапребиотика Стимбифид плюс (по 2 таблетки 3 раза в день за 20–30 мин до еды в течение двух недель), что сопровождалось резким снижением численности бактерий хеликобактера в фекалиях вплоть до 11-го дня эксперимента (пятого дня приема метапребиотика Стимбифид плюс).

На 12-й день эксперимента у всех добровольцев был зафиксирован довольно значительный подъем численности бактерий *H. pylori* КМ-11 (Rif^R) в образцах фекалий, отобранных для бактериологического изучения. Такое увеличение численности хеликобактера в фекалиях добровольцев на фоне приема метапребиотика Стимбифид плюс можно связать, по-видимому, с «выбросом» в просвет желудка отторгнутых микробных клеток *H. pylori* КМ-11 (RifR) вследствие повышения колонизационной резистентности слизистой оболочки желудка и активизации индигенной микробиоты под влиянием метапребиотика Стимбифид плюс.

Данное предположение следует признать правомерным, поскольку дальнейший прием добровольцами метапребиотика Стимбифид плюс сопровождался резким снижением численности хеликобактера в фекалиях вплоть до полного их исчезновения к 17-му дню эксперимента (к 11-му дню приема метапребиотика Стимбифид плюс). Таким образом, мы наблюдали полную эрадикацию возбудителя хеликобактериоза в результате метапребиотикотерапии.

На 8-е и 9-е сутки эксперимента у трех добровольцев отмечалась изжога, которая прекратилась через сутки на фоне приема метапребиотика Стимбифид плюс. На 12-й день эксперимента исчезли неприятные ощущения в эпигастральной области. Следует отдельно отметить, что у четырех добровольцев на 12-14-й дни эксперимента было зафиксировано учащение стула и изменение цвета фекалий: они приобрели красновато-коричневый цвет, как и надосадочная жидкость после центрифугирования образцов фекалий, что было расценено как проявление острого гастрита. Краткосрочное изменение цвета фекалий и учащение стула прекратились в последующие дни эксперимента на фоне продолжающегося приема метапребиотика Стимбифид плюс.

По завершении двухнедельного приема добровольцами метапребиотика Стимбифид плюс и в последующем (через 2 недели и через 1 месяц) бактериологическим методом микробные клетки *H. pylori* КМ-11 (Rif^R) в фекалиях не выявлялись. В дальнейшем никаких изменений в самочувствии добровольцев и их работоспособности не отмечено.

Проведенные исследования со всей очевидностью показали, что моделирование острого хеликобактериоза на животных является серьезным инструментом в изучении данного динамичного инфекционного процесса.

Выполненный самоэксперимент по заражению добровольцев возбудителем *H. pylori*, представляющий собой по сути разновидность экспериментального исследования, конечно же, не мог быть осуществлен без детальной научной и практической проработки в опытах на животных. Именно разработанный способ моделирования хеликобактериоза у конвенциональных белых мышей и его практическое использование позволил вначале на животных, а затем и на добровольцах перейти к прямому испытанию *in vivo* создаваемых средств лечения.

Разработанный способ моделирования острого хеликобактериоза у конвенциональных белых мышей как направление исследования является чрезвычайно важным, поскольку, на наш взгляд, с его помощью можно будет «нащупать» путь к созданию «идеального антимикробного агента» для удаления возбудителя *H. pylori* при хроническом инфекционном процессе, о чем мечтают клиницисты [5, 6]. Для такого средства (или антихеликобактерного агента) уже определен перечень свойств, которыми оно должно обладать.

К их числу отнесены: ограниченность спектра действия; стабильность антибактериальной активности в любой pH-среде; способность проникать сквозь слой слизи без утраты антимикробной активности. При этом комбинация ингредиентного состава антимикробного агента должна быть простой, высокоэффективной, дешевой, лишенной серьезных побочных действий и обеспечивающей высокий процент эрадикации *H. pylori*. Препаратов с перечисленными выше свойствами у клиницистов на сегодняшний день нет, но их поиск продолжается.

Положительные результаты настоящих исследований дают основание для определенного оптимизма. И как в случае доказанного на подопытных животных полного очищения их желудков от возбудителя хеликобактериоза с использованием метапребиотика Стимбифид плюс, так и в ходе экспериментального исследования по самозаражению добровольцев, мы близки к пониманию того, что мечта клиницистов может быть реализована.

В обоих случаях – и в экспериментах на конвенциональных белых мышах, и в эксперименте самозаражения добровольцев – была испытана терапевтическая эффективность метапребиотика Стимбифид плюс. Этот препарат можно считать довольно близким к «идеальному антимикробному агенту» по следующим его терапевтическим свойствам:

- не является классическим антибиотиком, к нему не может вырабатываться устойчивость;
- обладает ограниченным спектром действия – угнетает рост бактерий *H. pylori* и в то же время стимулирует рост индигенной микробиоты (данные подкреплены экспериментально);
- характеризуется стабильной антагонистической активностью в отношении бактерий *H. pylori* в кислой среде желудка как подопытных животных, так и добровольцев;
- способен проникать сквозь слой слизи, достигать мишени на поверхности бактерий *H. pylori* без утраты антимикробной активности, а также повышать колонизационную резистентность слизистой оболочки желудка и содействовать ее деконтаминации от бактерий *H. pylori*.

Очевидно, что другие важные характеристики метапребиотика Стимбифид плюс будут, безусловно, выявлены и всесторонне изучены в ходе дальнейших исследований. В частности, установленная нами успешная эрадикация бактерий *H. pylori* при остром экспериментальном хелико-

© Издательство «Династия», 2018

бактериозе является первым шагом на пути реального прекращения прогрессирования предраковых изменений стенки желудка, инициированных возбудителем.

Эта проблема ждет своего решения, поскольку клиницисты до сих пор не могут установить степень индуцированных предраковых изменений в стенке желудка: когда они – эти изменения – начнут регрессировать или вообще прекратится их прогрессирование после эрадикации.

Представлены доказательства, согласно которым при уничтожении бактерий *H. pylori* рецидивов больше не возникает, а ремиссия длится до тех пор, пока не произойдет реинфекция *H. pylori*, частота которой у взрослых не превышает 1,5% в год [1, 2, 24, 25].

Важным моментом является также и то, что хеликобактериоз – это хроническая инфекция, и длится она в течение десятилетий. Самопроизвольного излечения *H. pylori*-инфекции не происходит. В этой связи чрезвычайно важно зарегистрировать стадию инфекционного процесса, которую условно можно назвать «точкой невозврата».

В условиях экспериментального хеликобактериоза у лабораторных животных, способ воспроизведения которого предложен нами, такую стадию возможно зафиксировать, дополнив эксперименты патологоанатомическими и патогистологическими исследованиями.

Исходя из опубликованных данных, свидетельствующих о том, что при успешной эрадикации бактерий *H. pylori* на некоторой стадии купирования инфекции в дальнейшем патологический процесс не будет прогрессировать и трансформироваться в рак желудка, можно надеяться на возможность использования в научном и прикладном аспектах моделирования хеликобактериоза на животных и получения новых знаний об этом инфекционном процессе, которые, как показал опыт настоящих исследований, будут вполне применимы для апробации новых средств и методов лечения заболевания у людей [17].

Заключение

В период, предшествующий экспериментам на добровольцах, нами был разработан способ моделирования острого хеликобактериоза у конвенциональных белых мышей. Важность разработки данного способа вполне согласуется с Положением 21 Киотского консенсуса и канцеропревенции [7], согласно которому «…результат эрадикационной терапии следует оценивать всегда, более предпочтительно неинвазивным методом».

Такой подход оправдан, поскольку, согласно Положению 18 того же Киотского консенсуса и канцеропревенции, «…максимальная польза от эрадикационной терапии *H. pylori* достигается при отсутствии атрофических изменений слизистой оболочки желудка».

Разработанный неинвазивный способ моделирования острого хеликобактериоза, по нашему мнению, должен был получить импульс развития, в частности апробирован на добровольцах, поскольку в эксперименте были получены убедительные доказательства полного очищения (эрадикации) желудков животных, леченных метапребиотиком Стимбифид плюс.

При этом были определены условия, обеспечивающие возможность моделировать острый хеликобактериоз у здоровых добровольцев и методические подходы к оценке эффективности эрадикации возбудителя метапребиотиком Стимбифид плюс, что обеспечило объективно установленное развитие при самозаражении возбудителем хеликобактериоза манифестной формы острого инфекционного заболевания и его излечение с полной эрадикацией бактерий *H. pylori* с использованием метапребиотика Стимбифид плюс.

Результаты экспериментальных исследований, полученные при испытании метапребиотика Стимбифид плюс при купировании острого хеликобактериоза у инфицированных животных на фоне внутримышечного введения Дексаметазона, а также в процессе его приема внутрь для эрадикационной терапии острого экспериментального хеликобактериоза на добровольцах, в последующем станут основой проведения более масштабных научных и клинических исследований по уточнению ряда пока еще не выясненных вопросов изучения патогенеза как острого, так и хронического хеликобактериоза и их клинической картины, установления реального воздействия факторов патогенности *H. pylori* на организм хозяина, разработки и апробации новых средств профилактики и лечения хронического хеликобактерного гастрита, мониторинга эффективности эрадикации бактерий *H. pylori*.

Информация о финансировании
Финансирование данной работы не проводилось.
Financial support
No financial support has been provided for this work.

Конфликт интересов
Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.
Conflict of interests
The authors declare that there is not conflict of interests.

Литература

1. Goodwin CS, Armstrong JA, Marshall BJ. *Campylobacter pyloris*, gastritis, and peptic ulcer. J Clin Pathol. 1986 Apr;39(4):353-65.
2. Mobley H. The role of *Helicobacter pylori* urease in the pathogenesis of gastritis and peptic ulceration. Aliment Pharmacol Ther. 1996 Apr;10 Suppl 1:57-64.
3. Marshall BJ. Unidentified curved bacilli on gastric epithelium in acute chronic gastritis. Lancet. 1983;1:1273-5.
4. Marshall BJ. *Helicobacter pylori*: etiologic agent for peptic ulcer. JAMA. 1995 Oct 4;274(13):1064-6.
5. Кудрявцева ЛВ, Щербаков ПЛ, Иваников ИО, Говорун ВМ. *Helicobacter pylori*-инфекция: современные аспекты диагностики и терапии (пособие для врачей). НИИ физико-химической медицины МЗ РФ, Научно-производственная фирма «Литех», Научный центр здоровья детей, Центральная клиническая больница МЦ УД Президента РФ. М., 2004, 41.
6. Ивашкин ВТ, Маев ИВ, Лапина ТЛ, Шептулин АА, Трухманов АС, Баранская ЕК, и др. Клинические рекомендации Российской гастроэнтерологической ассоциации по диагностике и лечению инфекции *Helicobacter pylori* у взрослых. РЖГГК. 2018:28(1):55-77. Доступно по: http://www.gastroscan.ru/literature/authors/10334
7. Кляритская ИЛ, Стилиди ЕИ, Кривой ВВ, Максимова ЕВ. Гастрит, ассоциированный с *Helicobacter pylori*: положения Киотского консенсуса и канцеропревенция. Крымский терапевтический журнал. 2015;3:12-7.

© Издательство «Династия», 2018

8. Marshall BJ, McGechie DB, Rogers PA, Glancy RJ. Pyloric campylobacter infection and gastroduodenal disease. Med J Aust. 1985 Apr 15;142(8):439-44.
9. Marshall BJ. *Helicobacter pylori*: etiologic agent for peptic ulcer. JAMA. 1995 Oct 4;274(13):1064-6.
10. Сергеева АВ, Саперкин НВ. Роль опытов самозаражения в истории изучения инфекционной патологии. Медицина в Кузбассе. 2016;15(3):11-5.
11. Bernard K. Introduction a l'etude de la medecine experimentale. Champs classiques. Paris, 2013, 190 p.
12. Глязер Г. Драматическая медицина. Опыты врачей на себе. 2 изд. Пер. с нем. В.Хорохордина. Предисловие и научн. ред. Б.Д.Петрова. М.: Молодая гвардия; 1965, 216 с.
13. Знаменский ВА, Вишняков АК. Этиология дальневосточной скарлатиноподобной лихорадки. Журнал микробиологии. 1967;2:125-30.
14. Знаменский ВА. Дальневосточная скарлатиноподобная лихорадка (псевдотуберкулез). Природно-очаговые болезни в Приморском крае. Владивосток, 1975, с. 136-61.
15. Сомов ГП, Покровский ВИ, Беседнова НН, Антоненко ФФ. Псевдотуберкулез. 2-е изд., перераб. и доп. М.: Медицина; 2001, 256 с.
16. Googwin CS, Mendall MM, Northfield TC. *Helicobacter pylori* infection. Lancet. 1997;349:265-9.
17. Чичерин ИЮ, Погорельский ИП, Лундовских ИА, Горшков АС, Шабалина МР, Смирнова ДН, Богачёва НВ. Экспериментальный хеликобактериоз у конвенциональных белых мышей при инфицировании возбудителем *Helicobacter pylori.* Инфекционные болезни. 2018;16(2):77-85. DOI: 10.20953/1729-9225-2018-2-77-85
18. Бондаренко ВМ, Лиходед ВГ. Методические рекомендации: микробиологическая диагностика дисбактериоза кишечника. М.: ГУ НИИЭМ им. Н.Ф.Гамалеи РАМН; 2007, 70 с.
19. Jorgensen JH, Turnidge JD. Susceptibility test methods: dilution and disk diffusion methods. Manual of clinical microbiology. 9th ed., ASM Press Washington, 2007, pp. 1152-72.
20. Поздеев ОК. Медицинская микробиология. Под ред. В.И.Покровского. М.: ГЭОТАР-МЕД; 2001, 768 с.
21. Ашмарин ИП, Воробьёв АА. Статистические методы в микробиологических исследованиях. Л.: Медгиз; 1962, 280 с.
22. Чичерин ИЮ, Погорельский ИП, Лундовских ИА, Бессолицына ЕА, Дармов ИВ, Шабалина МР. Колонизационная резистентность слизистой оболочки кишечника при экспериментальном иерсиниозе. Журнал инфектологии. 2013;5(1):75-82.
23. Чичерин ИЮ, Погорельский ИП, Лундовских ИА, Гаврилов КЕ, Горшков АС, Дармов ИВ. Профилактика и лечение экспериментального псевдотуберкулеза метаболитами *Lactobacillus plantarum* 8Р-А3. Инфекционные болезни. 2015;13(1):53-9.
24. Periti P, Tonelli F, Capurso L, Nicoletti P. Managing *Helicobacter pylori* infection in the new millennium: a review. J Chemotherapy. 1999;11(Suppl.4):3-55.
25. Goodwin CS, Mendall MM, Northfield TC. *Helicobacter pylori* infection. Lancet. 1997;349:265-9.

© Издательство «Династия», 2018
Тел./факс: +7 (495) 660-6004, e-mail: red@phdynasty.ru, www.phdynasty.ru

Doi 10.26269/wm3r-5p96

Первый опыт использования метапребиотической терапии в эрадикации Helicobacter pylori

О.Н. Минушкин, И.В. Зверков, О.А. Проценко, И.Ю. Чичерин, И.П. Погорельский
ФГБУ ДПО «Центральная государственная медицинская академия» УД Президента РФ, Москва

The first experience of using meta-prebiotic therapy in the eradication of Helicobacter pylori

O.N. Minushkin, I.V. Zverkov, O.A. Protsenko, I.Yu. Chicherin, I.P. Pogorelsky
Central State Medical Academy of Department of President Affairs, Moscow, Russia

Аннотация

В настоящем сообщении оценена эффективность метапребиотика «Стимбифид-плюс» в эрадикации Helicobacter pylori (HP) у 30 больных хроническим гастритом, ассоциированным с персистенцией HP. Это подтверждается не только достижением эрадикации HP у 55% и 80% больных, но и эффективностью дозы (3000 мг – 55%; 4500 мг – 80%). Необходимы дальнейшие исследования для уточнения доз и продолжительности лечения метапробиотикам «Стимбифид - плюс».

Ключевые слова: метапребиотик, хронический гастрит, эрадикация HP.

Abstract

In the present report, the effectiveness of metaprebiotics Stimbifid-plus in the eradication of HP in 30 patients with chronic gastritis (CG) associated with the persistence of HP was evaluated. This confirms not only the achievement of HP eradication in 55% and 80% of patients, but also the effectiveness of the dose (3000 mg - 55%; 4500 mg - 80%). Further research is needed to clarify the dosage and duration of treatment for the metaprobiotic "Stimififid - plus".

Key words: metaprebiotic, chronic gastritis, HP eradication.

Ссылка для цитирования: Минушкин О.Н., Зверков И.В., Проценко О.А., Чичерни И.Ю., Погорельский И.П. Первый опыт использования метапребиотической терапии в эрадикации Helicobacter pylori. Кремлевская медицина. Клинический вестник. 2019; 2: 36-38.

В зарубежной и отечественной литературе имеются единичные работы об использовании зарубежного пробиотика Pylopass (Lactobacillus reuter DSMZ17648) (в России известен как Хелинорм) в эрадикационном лечении HP у больных хроническим гастритом (ХГ) в течение 28 сут, при этом успешная эрадикация отмечена у 56% больных [1–3], хотя другие авторы предлагают их включать в стандартные эрадикационные схемы для снижения побочных эффектов от антибиотиков [4, 5]. В последнее время появились данные (диплом №503 на открытие, 2017 г. – Чичерин И.Ю. и соавт.) о влиянии метапребиотиков на флору желудочно-кишечного тракта, оказывающих бактерицидное действие, затрудняющее рост и размножение возбудителей кишечной инфекции. Наряду с вышеуказанными данными это дало нам основание использовать метапребиотик «Стимбифид - плюс» в эрадикации HP у больных ХГ.

В связи с этим в настоящей работе была поставлена задача – оценить эффективность метапребиотика «Стимбифид-плюс» в эрадикационной терапии больных ХГ, ассоциированным с HP.

Материалы и методы

В исследование было включено 30 больных ХГ, ассоциированным с HP - инфекцией. Исходно и в динамике исследования больным были проведены ЭГДС со взятием 2 биоптатов из слизистой оболочки (СО) пилорического отдела желудка (ПЖ) с последующими окрасками по Гимзе без дифференцировки и быстрым уреазным тестом (БУТ) для определении HP-инфекции, уреазный дыхательный тест (УДТ), опрос (согласно протоколу исследования).

Критерии включения: больные ХГ, ассоциированным с HP, в фазе обострения: мужчины и женщины в возрасте от 18 лет до 80 лет; критерии исключения: язвенная болезнь желудка, сочетанные язвы, язвенная болезнь двенадцатиперстной кишки; декомпенсированные заболевания сердца, легких, печени, почек и опухоли,

наркомания, применение эрадикационной терапии менее чем за 4 нед до исследования.

Больные были рандомизированы на 2 подгруппы: 1-я подгруппа – 20 больных, получавщих терапию «Стимбифид-плюс» в дозе 2 таблетки (1000 мг) 3 раза в сутки за 30 мин до еды (3000 мг/сут) в течение 14 дней, 2-я подгруппа - 10 больных, получавших терапию «Стимбифид-плюс» в дозе 3 таблетки (1500 мг) 3 раза в сутки за 30 мин до еды (4500 мг/сут) в течение 14 дней. Исследование проводилось как открытое контролируемое.

Химическая структура «Стимбифид-плюс»: метапребиотик является инновационной разработкой российских ученых научного общества «Микробиота» и состоит из двух компонентов – пребиотического и метабиотического. Узконаправленный пребиотический компонент – природные фруктоолигосахариды (ФОС) и фруктополисахариды (ФПС) с оптимизированным соотношением коротких (GFn, n = 2-8) и длинных (GFn, n=2-60) цепочек, что обеспечивает снабжение бифидобактерий питанием по всей длине толстой кишки. Метабиотический компонент – лактат кальция – является мощным стимулятором роста и размножения нормобиоты (патенты РФ). Сочетание в «Стимбифид-плюс» одновременно метабиотика и пребиотика с различными механизмами действия способствует безопасному и эффективному восстановлению собственной микробиоты кишечника, повышению колонизационной резистентности слизистой оболочки ЖКТ, что является предпосылкой успешной эрадикации НР-инфекции.

Критериями эффективности лечения были:

а) эндоскопические данные (снижение, купирование воспаления в желудке);

б) эффективность эрадикации НР -оценивали через 4-6 нед от начала лечения в 2 биоптатах из ПЖ (в 1-м биоптате – БУТ и во 2-м биоптате- морфологическое исследование с окраской по Гимзе без дифференцировки);

в) степень обсемененности НР в СОЖ исходно оценивалась по критериям, предложенным Л.И.Аруином и соавт. (1995), при этом выделяли: слабую степень обсемененности - до 20 микробов в поле зрения (п/з) (+), умеренную степень - от 20 до 50 микробов в п/з (++) и выраженную степень - 50 микробов и более в п/з (+++);

г) активность уреазы оценивали с помощью БУТ в биоптате из ПЖ по изменению цвета раствора из желтого в малиновый: до 1 ч реакция считалось выраженной (+++), от 1 до 3 ч – умеренной (++) и от 3 до 24 ч – слабой (+);

д) УДТ исходно и через 4-6 нед от начала лечения;

е) оценивалась безопасность и переносимость лечения по фиксации побочных эффектов.

Статистическую обработку полученных результатов проводили с помощью пакета прикладных статистических программ Stats Graphics 2000. Применялся метод анализа таблиц сопряженных признаков с вычислением критерия согласия Хи^2 (хи-квадрат). Для сравнения цифровых данных двух выборок пользовались t – критерием Стъюдента и методом Фишера, считая достоверные различия на уровне значимости 95% при $p<0,05$, для определения средней ошибки целых чисел применяли таблицы В.С.Генеса. Границы нормы для изучаемых показателей определяли по формуле $M \pm 2\sigma$, где M – среднее арифметическое показателя в контрольной группе, σ - среднее квадратичное отклонение.

Результаты исследования

Полученные результаты исследования больных 1-й подгруппы представлены в табл. 1.

Таблица 1

Больные 1-й подгруппы, получавшие метапребиотик «Стимбифид-плюс» в дозе 3000 мг/сут

Методы и показатели	Исходно (%)		После терапии (%)	
УДТ на НР-инфекцию				
Отрицательный	0	0	11	55±11%*
Положительный	20	100%	9	45±11%*
БУТ на НР в ПЖ				
Отрицательный	0	0	11	55±11%*
Слабая реакция (+)	13	65±11%	3	15±8%*
Умеренная реакция (++)	5	25±10%	4	20±9%
Выраженная реакция (+++)	2	10±7%	2	10±7%
ПЖ, обсемененность НР				
Отрицательный	0	0	11	55±11%*
Слабая (+)	13	65±11%	3	15±8%*
Умеренная (++)	5	25±10%	4	20±9%
Выраженная (+++)	2	10±7%	2	10±7%

Примечание: * достоверные различия по сравнению с исходным ($p<0.05$).

Согласно полученным данным, после терапии эрадикация была достигнута у 11 пациентов (55%) и у 1 больного уменьшилась степень обсемененности с ++ до + в ПЖ, у остальных 8 пациентов умеренная (++) и выраженная (+++) степени обсемененности НР остались без изменений; ЭГДС в ТЖ показала, что число пациентов с поверхностным гастритом осталось прежним, а в ПЖ диффузный поверхностный гастрит у 7 па-

циентов (33%)– принял очаговую форму.

Таким образом, эрадикация НР показала, что метапребиотик «Стимбифид-плюс» в дозе 3000 мг оказался эффективным в достижении эрадикации у 55% больных при 14-дневном лечении: исходно у них степень обсемененности НР (+) была у 13 человек, (++) - у 5 человек и (+++) – у 2 человек. Эрадикация НР не была достигнута у 45% больных, при этом у 1 больного зафиксировано уменьшение активности воспаления и интенсивности обсеменения НР СОЖ с (++) до (+), что свидетельствует об эффективности эрадикации, но требует, по всей вероятности, большей продолжительности лечения.

Результаты исследования больных 2-й подгруппы представлены в табл. 2.

Таблица 2

Больные 2-й группы, получавшие метапребиотик «Стимбифид-плюс» в дозе 4500 мг/сут

Методы и показатели	Исходно (%)		После терапии (%)	
УДТ на НР - инфекцию				
Отрицательный	0	0	8	80±13%*
Положительный	10	100%	2	20±13%*
БУТ на НР в ПЖ				
Отрицательный	0	0	8	80±13%*
Слабая реакция (+)	8	80±13%	2	20±13%*
Умеренная реакция (++)	2	20±13%	2	0
Выраженная реакция (+++)	0	0	0	0
ПЖ, обсемененность НР				
Отрицательный	0	0	8	80±13%*
Слабая (+)	8	80±13%	2	20±13%*
Умеренная (++)	2	20±13%	0	0
Выраженная (+++)	0	0	0	0

Примечание: * достоверные различия по сравнению с исходным ($p<0.05$).

Как следует из табл. 2, исходно у больных 2-й подгруппы имелось в основном слабая степень обсемененности НР (+, 8 человек) и умеренная степень обсемененности НР (++, 2 человека); после терапии слабая степень обсемененности НР (+) сохранилась только у 2 человек. После терапии ЭГДС в ТЖ показала, что число пациентов с поверхностным гастритом осталось прежним, а в ПЖ диффузный поверхностный гастрит у 7 пациентов (70%) принял очаговую форму.

Таким образом, метапребиотик «Стимбифид-плюс» в дозе 4500 мг оказался эффективным в достижении эрадикации НР у 80% больных при 14-дневном лечении ХГ: исходно у них степень обсемененности НР (+) была у 8 человек) и (++) - у 2 человек. Эрадикация НР не была достигнута в 20% случаев (2 человека), при этом у них частота обсемененности НР СОЖ не изменилась и составляла (+). По всей вероятности, для достижения эрадикации требуется более продолжительное лечение.

Заключение

Проведенное исследование показало, что метапребиотик «Стимбифид-плюс» эффективен в эрадикации НР у больных ХГ. Это подтверждается не только достижением эрадикации НР у 55 и 80% больных, но и эффективностью дозы (3000 мг – 55%; 4500 мг – 80%). Для окончательного суждения о возможности использования метапробиотика «Стимбифид-плюс» в эрадикации НР у больных с персистенцией НР-инфекции необходимы дальнейшие исследования (с оценкой суточной и курсовой доз препарата, продолжительности лечения).

Литература

1. *Holz C. et al Management of Helicobacter pylori infection—the Maastricht V/Florence Consensus Reports.Gut. 2017; 11: 1128.*

2. *Бордин Д.С. и др. Эффективность и безопасность Lactobacillus reuteri DSMZ17648 у инфицированных Helicobacter pylori. Лечащий врач. 2016; 5: 106-110 [Bordin DS et al. Efficacy and safety of Lactobacillus reuteri DSMZ17648 in Helicobacter pylori. Attending doctor. 2016; 5: 106-110. In Russian].*

3. *Mehling H, Busjahn A. Non-Viable Lactobacillus reuteri DSMZ 17648 (Pylopass™) as a New Approach to Helicobacter pylori Control in Humans. Nutrients. 2013; 5: 3062-3073.*

4. *Минушкин О.Н, Зверков И.В, Ардатская М.Д. и др. Применение нормазе в комплексном лечении язвенной болезни двенадцатиперстной кишки, ассоциированной с НР. Клинические перспективы гастроэнтерологии, гепатологии. 2007; 5: 32-36 [Minushkin ON, Zverkov IV, Ardatskaya MD et al. The use of normase in the complex treatment of duodenal ulcer associated with HP. Clinical perspectives of gastroenterology, hepatology. 2007; 5: 32-36. In Russian].*

5. *Хомерики Н.М., Хомерики С.Г. Факторы, влияющие на чувствительность уреазного теста при диагностике хеликобактерной инфекции.Российский журнал Гастроэнтерологии, Гепатологии, Колопроктологии. 2003; 3 (приложение): 20-21 [Khomeriki NM, Khomeriki SG. Factors affecting the sensitivity of the urease test in the diagnosis of Helicobacter pylori infection. Russian Journal of Gastroenterology, Hepatology, Coloproctology. 2003; 3 (suppl): 20-21. In Russian].*

Для корреспонденции/Corresponding author
Зверьков Игорь Владимирович/ Zverkov Igor
prof.igor.zverkov@mail.ru

Конфликт интересов отсутствует

Состав и основные лечебные свойства метабиотического и пребиотического компонентов, составляющих основу первого в мире метапребиотика СТИМБИФИД ПЛЮС:

Узконаправленный пребиотический компонент – природные фруктоолигосахариды (ФОС) и фруктополисахариды (ФПС) с оптимизированным соотношением коротких (GFn, n = 2-8) и длинных (GFn, n = 2-60) цепочек, что обеспечивает снабжение бифидобактерий эксклюзивным питанием по всей длине толстой кишки.

- Для взрослых и детей с 3 лет. Приятный вкус, хорошая переносимость.
- Абсолютно натуральный препарат, содержащий уникальную композицию природных фруктополи- и фруктоолигосахаридов, эксклюзивно стимулирующих размножение и функциональную активность «индивидуального» (родного) штамма бифидобактерий в кишечнике.
- Высокая эффективность при дисбактериозе (дисбиозе) кишечника, острых кишечных инфекциях.
- В отличие от препаратов-пробиотиков, содержащих живые микроорганизмы, Стимбифид – пребиотик нового поколения – восстанавливает собственную (индивидуальную) микробиоту пациента. При этом скорость и безопасность восстановления существенно выше.
- Высокая эффективность для профилактики нарушений кишечной микробиоты до, во время и после проведения антибактериальной терапии.
- В отличие от лактулозы, являющейся продуктом химической промышленности, фруктоолигосахариды имеют натуральную основу и более высокую эффективность (в 2-3 раза из расчета равноэффективных доз).
- Стимулирует перистальтику кишечника, способствует уменьшению запоров, подавляет образование в кишечнике гнилостных веществ.
- Стабилизирует барьерные свойства слизистой оболочки кишечника.
- У детей способствует уменьшению случаев метеоризма, поноса, кишечных заболеваний и повышенной температуры. Отчетливый положительный эффект на самочувствие детей.
- Противовоспалительный эффект при хронических заболеваниях кишечника.
- Выраженное влияние на иммунную систему, приводящее к снижению частоты вирусных и микробных инфекций.
- Повышает фагоцитарную активность клеток печени, способствуя защите ее от инфекций.
- Профилактика остеопороза путем повышения усвоения кальция на 20% и увеличения минеральной плотности костей, что особенно важно для женщин в период менопаузы и для формирования костной ткани у детей.
- Защитный эффект при раке кишечника.
- Низкая энергетическая ценность фруктоолигосахаридов – 1,5 ккал/г (у сахара около 4 ккал/г). В отличие от сахара не превращаются в гликоген и не повышают уровень глюкозы в крови, что очень важно для больных диабетом.
- Улучшение липидного обмена, снижение холестерина и триглицеридов в крови и, как следствие, уменьшение риска сердечно-сосудистых заболеваний. Способствует меньшему накоплению жировой ткани.
- Понижает уровень грелина в крови, гормона, который контролирует чувство голода. При использовании чувство насыщения наступает от меньшего количества пищи, и человек не переедает. Способствует нормализации массы тела.
- Повышает эффективность вакцинации детей и людей преклонного возраста.
- Улучшает умственную деятельность, скорость реакций и памяти.

Приведены обобщенные данные зарубежной литературы, а также российских исследований

Метабиотический компонент – лактат кальция. Является патентованным мощным стимулятором роста и размножения нормобиоты желудка и кишечника (патенты РФ).

СТИМБИФИД® ПЛЮС

ПЕРВЫЙ МЕТАПРЕБИОТИК

БЫТЬ КРАСИВЫМ ВНУТРИ!

САМОЕ МОЩНОЕ СРЕДСТВО ДЛЯ ВОССТАНОВЛЕНИЯ КИШЕЧНОЙ МИКРОБИОТЫ

- **эрадикация Helicobacter pylori;**
- безопасное и эффективное восстановление собственной (индивидуальной) микробиоты кишечника, в том числе и при одновременном приёме антибиотиков;
- повышение колонизационной резистентности слизистой оболочки ЖКТ при инфекционной патологии;
- устранение запоров (эффект диетического / пищевого волокна).

Узконаправленный пребиотический компонент – природные фруктоолигосахариды (ФОС) и фруктополисахариды (ФПС) с оптимизированным соотношением коротких (GFn, n = 2-8) и длинных (GFn, n = 2-60) цепочек.

! Обеспечивает снабжение бифидобактерий эксклюзивным питанием по всей длине толстой кишки.

Метабиотический компонент – лактат кальция.

! Является мощным стимулятором роста и размножения нормобиоты (патенты РФ).

СОЗДАНО НА ОСНОВАНИИ 2 ПАТЕНТОВ РФ И МЕЖДУНАРОДНОГО НАУЧНОГО ОТКРЫТИЯ

3+

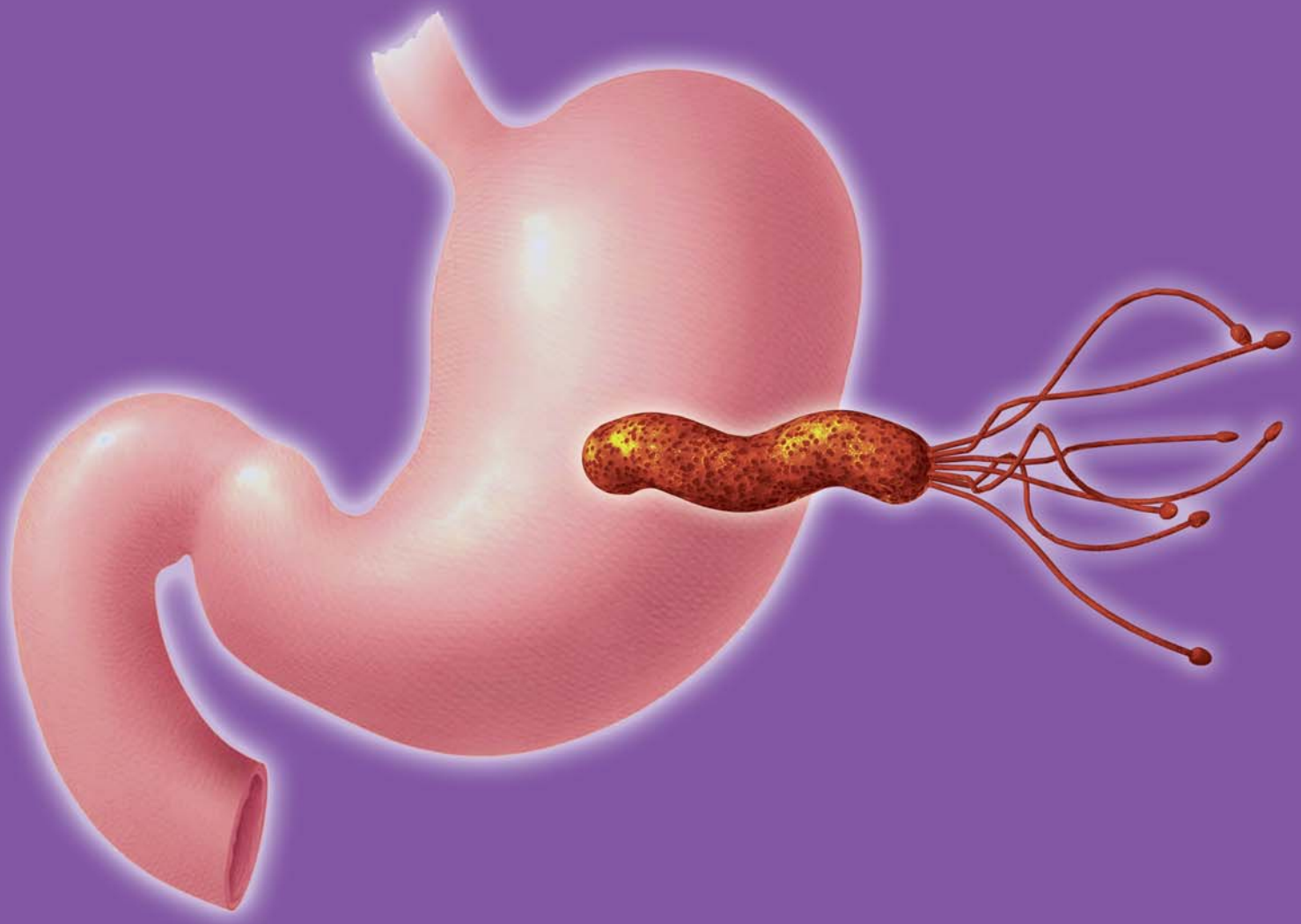
www.stimbifid.ru

Научный прорыв

в лечении гастрита, ассоциированного с Helicobacter pylori

Новая концепция

эрадикации HP при монотерапии без антибиотиков



Москва

2019 - 2020