

ОЦЕНКА ИНВАЗИВНЫХ И НЕИНВАЗИВНЫХ МЕТОДОВ ДИАГНОСТИКИ ХЕЛИКОБАКТЕРНОЙ ИНФЕКЦИИ

УДК 616.981—07

Поступила 27.12.2010 г.



Н.И. Леонтьева, к.м.н., старший научный сотрудник клинического отдела¹;
И.Т. Щербakov, д.м.н., ведущий научный сотрудник¹;
Л.И. Новикова, к.м.н., зав. лабораторией иммунобиологических препаратов¹;
Н.М. Грачева, д.м.н., профессор, руководитель клинического отдела¹;
Б.Н. Хренников, врач-гастроэнтеролог, врач-эндоскопист²;
Э.Г. Щербакoва, д.б.н., профессор, зав. проблемной лабораторией медицинской цитологии³;
П.П. Потехин, д.м.н. профессор, главный научный сотрудник лабораторно-диагностического отдела⁴

¹Московский НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Г.Н. Габричевского, Москва;

²Инфекционная клиническая больница №1, Москва;

³Российская медицинская академия последипломного образования, Москва;

⁴Нижегородский НИИ детской гастроэнтерологии, Н. Новгород

Цель исследования — дать сравнительную оценку некоторых инвазивных и неинвазивных методов диагностики хеликобактерной инфекции.

Материалы и методы. На 283 гастробιοптатах, полученных от 113 больных с хроническим гастродуоденитом, проведена диагностика хеликобактерной инфекции инвазивными (гистология, гистобактериоскопия, уреазный хелик-тест) и неинвазивными (дыхательный хелик-тест, иммуноферментная тест-система «ГастроПанель») методами. Хеликобактериоз был верифицирован гистобактериоскопическим методом в 95,3% случаев, хелик-тестом — в 83,6%, уреазный хелик-тестом — в 63,2% и тестовым методом «ГастроПанель» — в 87%. Поражение антрального отдела желудка гистологическим методом выявлено у 59,7% больных, а методом «ГастроПанель» — у 36,6%. Изменения в фундальном отделе были диагностированы гистологическим методом у 20,5% наблюдавшихся больных, а методом «ГастроПанель» — у 17,6%.

Заключение. Из неинвазивных методов наиболее перспективным является тест-система «ГастроПанель» и, в меньшей степени, уреазный дыхательный хелик-тест, а из инвазивных методов — хелик-тест и гистобактериоскопия. Полученные данные могут использоваться для быстрой диагностики хеликобактеров в организме, раннего назначения терапии при неинвазивном варианте верификации хронического гастрита.

Ключевые слова: гистология, гистобактериоскопия, хелик-тест, уреазный хелик-тест, тест-система «ГастроПанель».

English

The assessment of invasive and noninvasive diagnostic techniques of *Helicobacter pylori*

N.I. Leontyeva, PhD, Senior Research Worker, the Clinical Department¹;
I.T. Stcherbakov, D.Med.Sc., Leading Research Worker¹;
L.I. Novikova, PhD, Head of the Laboratory of Immunobiological Preparations¹;
N.M. Grachyova, D.Med.Sc., Professor, Head of the Clinical Department¹;
B.N. Khrennikov, Gastroenterologist, Endoscopist²;
E.G. Stcherbakova, D.Bio.Sc., Professor, Head of the Department of Fundamental Research Laboratory of Medical Cytology³;
P.P. Potekhin, D.Med.Sc., Professor, Chief Research Worker, the Laboratory and Diagnosis Department⁴

¹Moscow SRI of Epidemiology and Microbiology named after G.N. Gabrichevsky, Moscow;

²Infectious Clinical Hospital No.1, Moscow;

³Russian Medical Academy of Postgraduate Education, Moscow;

⁴Nizhny Novgorod SRI of Children Gastroenterology, N. Novgorod

The aim of the study is to present a comparative assessment of some invasive and noninvasive diagnostic techniques of *Helicobacter pylori*.

Materials and methods. *Helicobacter pylori* has been diagnosed on 283 gastrobiopsates obtained for diagnosis purposes in 113 patients

Для контактов: Леонтьева Нина Ивановна, тел. раб. 8(499)190-46-70, тел. моб. +7 926-502-12-31; e-mail: leonteva-nina@yandex.ru.

with chronic gastroduodenitis using invasive (histology, histobacterioscopy, urease Helypl-test) and noninvasive (respiratory Helic-test, "GastroPanel" immunoenzyme test system) techniques. Helicobacteriosis was verified by histobacterioscopy in 95.3% of cases, by Helypl-test — in 83.6%, by Helic-test — in 63.2% and by "GastroPanel" test system — 87%. The involvement of antral part of the stomach using histological technique has been revealed in 59.7% of patients, and by "GastroPanel" test system — in 36.6%. The changes in gastric fundus have been diagnosed by histological technique in 20.5% of patients, and by "GastroPanel" test system — in 17.6%.

Conclusion. Among noninvasive techniques the most promising one is "GastroPanel" test system, and in a less degree — urease respiratory Helic-test; and from invasive techniques — Helypl-test and histobacterioscopy. The data received can be used in quick *H. pylori* diagnosis, early treatment in a noninvasive form of chronic gastritis verification.

Key words: histology, histobacterioscopy, Helypl-test, Helic-test, "GastroPanel" test system.

Известно, что хеликобактерная (НР) инфекция определяет морфологическое состояние слизистой оболочки (СО) желудка. Активный воспалительный процесс, развивающийся под действием НР, вызывает нарушение процессов регуляции кислотопродукции, а повышение уровня гастрина и пепсиногенов инициирует язвенный эффект [1—4]. Однако до настоящего времени не разработаны показания к применению того или иного метода диагностики этой инфекции.

Наиболее широко распространенными методами диагностики НР считаются гистологическое, гистобактериоскопическое и иммуногистохимическое исследование гастробиоптатов и их отпечатков на предметном стекле [5—11]. Метод окраски отпечатка с гастробиоптата — быстрый в исполнении (15—20 мин) и содержит информацию о контаминации НР СО желудка. При этом бактериоскопическое изучение отпечатка гастробиоптата носит субъективный характер, так как контаминация СО является очаговой.

Консенсус «Маастрихт-3» определил современные подходы к диагностике НР-инфекции [12]. В случаях невозможности проведения эзофагогастроуденоскопии (ЭГДС) отдается предпочтение неинвазивным методам диагностики (уреазный дыхательный тест, серологический метод, полимеразная цепная реакция — ПЦР и др.). Для контроля эффективности эрадикации оптимальным является применение дыхательного уреазного теста, который следует проводить не ранее чем через 4 нед после завершения лечения. Альтернативой может служить исследование фекалий моноклональными антителами.

Методы диагностики НР-инфекции могут быть прямыми и косвенными, инвазивными и неинвазивными (гистологический, цитологический, бактериологический, биохимический, серологический, радионуклеидный, иммунологический и молекулярный, ПЦР) [10, 13—15]. С помощью прямых методов выявляют НР. Инвазивные методы диагностики требуют проведения ЭГДС с прицельной биопсией и дальнейшим изучением гастробиоптатов. Для неинвазивных методов эндоскопия не нужна. При серологических исследованиях используют кровь. При помощи дыхательного уреазного теста изучают пробы выдыхаемого воздуха, а материалом для ПЦР служат зубной налет, слюна, кал.

Оказание медицинской помощи больным хроническим гастритом регламентируется стандартом, утвержденным Минздравсоцразвития России [16].

В поликлинической работе возникает необходимость

в более быстрой диагностике НР-инфекции по принципу «диагностируй и лечи» (**test and treat**). У взрослых пациентов моложе 45 лет с упорной диспепсией идентификация НР осуществляется одним из неинвазивных методов (без эндоскопии) с последующим назначением лечения [7]. ЭГДС с взятием биоптатов СО разных отделов желудка проводят больным с язвенной симптоматикой, гастроэзофагеальной рефлюксной болезнью, лицам, принимающим нестероидные противовоспалительные препараты, а также больным с тревожными симптомами и с семейно-отягощенным анамнезом по раку желудка.

Цель исследования — дать сравнительную оценку некоторых инвазивных и неинвазивных методов диагностики хеликобактерной инфекции.

Материалы и методы. Объектом изучения служили 283 биоптата СО разных отделов желудка и двенадцатиперстной кишки, полученные с диагностической целью от 113 больных с хроническим гастроуденитом (мужчин 51, женщин 62). Возраст больных варьировал от 15 до 75 лет, средний возраст не превышал 41 года. Биоптаты были получены с согласия пациентов при проведении ЭГДС.

Гастробиоптаты фиксировали и проводили по обычным гистологическим методам и заливали в парафин. Срезы для гистологического исследования толщиной 5 мкм последовательно окрашивали комбинированно — альциановым синим, гематоксилином Майера и эозином. Для гистобактериоскопического изучения СОЖ биоптаты окрашивали 0,1% водным раствором акридинового оранжевого [17] в собственной модификации (рац. предложение №214-493 от 13.08.1990), тионином по Николя, метиленовым синим по Лефлеру и азур II-эозином по Гимзе. Инфицированность биоптатов НР определяли полуколичественным методом [11] по трем степеням.

Экспресс-диагностику НР-инфекции у пациентов осуществляли уреазными тестами (хелик-тестом и хелпил-тестом) согласно инструкциям Ассоциации медицины и аналитики. Принцип использования хелпил-теста (ХП-тест) основан на изменении цвета индикаторного диска при размещении на нем биоптата СО антрального и фундального отделов желудка. Изменение цвета индикаторного диска на синий через 3 мин после контакта с биоптатом считается хеликобактерположительным (НР+), а отсутствие изменения окраски — хеликобактернегативным (НР-) показателем.

Ускоренная диагностика хеликобактериоза дыха-

тельным хелик-тестом (Х-тест) основана на изменении цвета индикаторной композиции трубки при прохождении через нее выдыхаемого воздуха. Этот тест считается положительным, если прирост между базальным и нагрузочным уровнями превышает 3 мм и более. Следует обратить внимание на то, что ХП-тест отражает инфицированность гастробиоптата, а Х-тест свидетельствует об общей инфицированности организма НР. Продолжительность исполнения ХП-теста равна 5 мин после взятия биоптата при проведении ЭГДС, а Х-теста — 15—20 мин с момента использования индикаторной диагностической трубки.

У 391 пациента в сыворотке крови определяли уровни показателей гастрин 17 (G-17), пепсиногена I (PGI), а также специфических иммуноглобулинов класса G (IgG) к НР с помощью тест-системы «ГастроПанель» (Biohit, Финляндия). Тесты основаны на технологии иммуноферментного анализа. Метод диагностики «ГастроПанель» является неинвазивным, безопасным и удобным для пациента. Нормативы «ГастроПанели» следующие: PGI — 30—165 мг/л; G-17 (базальный, нестимулированный) — 10 пмоль/л; IgG НР < 30 ЕIV. Для снижения стоимости обследования тестом «ГастроПанель» показатели PGI и стимулированного G-17 контролировали с гистологическим исследованием гастробиоптатов.

Статистическая обработка заключалась в выявлении уровня инфицированности НР в процентах не только гастробиоптатов, но и всего организма.

Результаты исследования. При гистологическом обследовании 283 биоптатов от 113 больных в 169 случаях выявлен хронический антральный гастрит В (59,7%), в 58 случаях — хронический фундальный гастрит В (20,5%), а у 51 пациента — хронический дуоденит (18,0%). У всех больных хроническим гастритом и дуоденитом отмечена разная степень активности патологического процесса. Инфицированность НР СО антрального отдела желудка составила 95,3%, фундального отдела — 93,1%, а метаплазированных участков СО двенадцатиперстной кишки — 4,4% (см. таблицу).

Диагностическая значимость уреазного ХП-теста составила 83,6%, его результаты близки к гистобактериоскопической верификации бактерий в СО антрального отдела желудка (95,3%). Диагностическая ценность выявления НР уреазным дыхательным Х-тестом составила 63,2%, он значительно уступает гистобактериоскопическому методу и ХП-тесту.

При исследовании сыворотки крови 391 больного с хроническим гастритом и хроническим дуоденитом методом «ГастроПанель» у 340 человек (87,0%) выявлены IgG-антитела к НР, что свидетельствовало об их инфицированности. Поражение антрального отдела желудка установлено у 36,6%, фундального отдела — у 17,6%, пангастрит диагностирован в 30,7% случаев. При сравнении результатов двух методов исследования (гистобактериоскопия гастробиоптатов, «ГастроПанель») отмечены близкие по значениям данные: диагностическая значимость гистобактериоскопического исследования — 95,3%, метода «ГастроПанель» — 87,0%. Следовательно, показатели «ГастроПанели» могут быть

Сравнительная оценка выявления НР разными методами, %

Методы выявления НР	НР+	НР-
Гистобактериоскопия (n=283)	95,3	4,7
Хелпил-тест (n=85)	83,6	16,4
Хелик-тест (n=38)	63,2	36,8
«ГастроПанель» (IgG-антитела) (n=51)	87,0	13,0

использованы в неинвазивной диагностике хеликобактериоза и хронических болезней желудка, особенно при скрининговых исследованиях большой группы лиц. Это позволит выделить группу риска для дальнейшего проведения ЭГДС с обязательным исследованием биоптатов.

Обсуждение. В литературе для ранней первичной диагностики хеликобактериоза предлагают использовать только уреазные неинвазивные методы [2, 14]. Нами проведено сравнительное исследование эффективности разных методов верификации НР-инфекции: гистобактериоскопического, уреазных экспресс-тестов (Х-теста и ХП-теста), а также метода «ГастроПанель».

Гистобактериоскопический метод является «золотым стандартом», но он инвазивный и длительный в исполнении (5—7 дней). Этот метод верификации НР в биоптатах СО желудка и двенадцатиперстной кишки мы сочетали с их гистологическим исследованием, что позволило уточнить гистологическую картину поражения СО антрального и фундального отделов желудка, а также степень активности патологического процесса в гастробиоптатах. Гистологическое и гистобактериоскопическое изучение этих биоптатов по своей значимости приближается к 96%.

Исследование эффективности двух диагностических уреазных экспресс-методов (Х-теста и ХП-теста) позволило определить их диагностическую значимость: у Х-теста она равна 63,2%, у ХП-теста — 83,6%. Следует отметить, что результат Х-теста получали в течение 20 мин от начала его постановки, длительность ХП-теста с учетом времени, затраченного на проведение ЭГДС с взятием биоптатов, не превышала 10 мин. Х-тест считают неинвазивным, а ХП-тест — инвазивным. Однако результаты Х-теста менее достоверны, чем ХП-теста. С учетом этого для верификации НР-инфекции предпочтительнее использовать ХП-тест, который дает возможность более раннего назначения стандартной эрадикационной терапии. Х-тест следует использовать у тех пациентов (детей и взрослых), которым противопоказано эндоскопическое обследование, но для верификации НР-инфекции необходимо дополнительно использовать другие методы диагностики (например, серологический метод).

Заключение. Диагностика хеликобактерной инфекции в организме больного должна быть комплексной с использованием неинвазивных и инвазивных методов исследования. Оценка их эффективности позволяет утверждать, что из неинвазивных методов наиболее перспективным является тест-система «ГастроПанель»

и, в меньшей степени, уреазный дыхательный хелик-тест, а из инвазивных методов — желпил-тест и гистобактериоскопия.

Неинвазивная тест-система «ГастроПанель» вместе с гистологическим исследованием гастробиоптатов может быть использована при верификации хронического хеликобактерного гастрита.

Литература

1. Кешав С. Наглядная гастроэнтерология. Учебное пособие. Пер. с англ. С.В. Демичева. Под ред. В.Т. Ивашкина. М: ГЭОТАР-Медиа; 2005; 135 с.
2. Сидоренко С.В. Диагностика и лечение инфекций, вызванных *Helicobacter pylori*. Антибиотики и химиотерапия 2001; 46: 23—31.
3. Пиманов С.И., Макаренко Е.В., Воропаева А.В., Матвеевко М.Е. Динамика морфологических и функциональных характеристик слизистой оболочки желудка после эрадикации *Helicobacter pylori* у больных с язвами двенадцатиперстной кишки. Тер архив 2006; 2: 26—31.
4. Минушкин О.Н., Васильева Н.Ю., Минаев В.И. и др. Диагностическая ценность различных методов определения *Helicobacter pylori* у пациентов, страдающих язвенной болезнью и хроническим гастритом. Рос журн гастроэнтерол, гепатол и колопроктол 1997; 4: 6—9.
5. Чернин В.В. Болезни пищевода, желудка и двенадцатиперстной кишки. М: ООО «Медицинское информационное агентство»; 2010; 528 с.
6. Циммерман Я.С. Клиническая гастроэнтерология: избранные разделы. М: ГЭОТАР-Медиа; 2009; 416 с.
7. Калинин А.В. Хронический гастрит. В кн.: Гастроэнтерология и гепатология: диагностика и лечение. Под ред. А.В. Калинина и А.И. Хазанова. М: Миклош-2007; с. 59—69.
8. Ройтберг Г.Е., Струтынский А.В. Внутренние болезни. Система органов пищеварения. М: МЕДЭкспресс-информ; 2007.
9. Пальцев М.А., Аничков Н.М. Патологическая диагностика. В 2-х т. Т. 2. 2001.
10. Аруин Л.И., Капуллер Л.Л., Исаков В.А. Морфологическая диагностика болезней желудка и кишечника. М: Триада-Х; 1998; 496 с.
11. Damjanov I. *Helicobacter pylori*. A color atlas and textbook. Lippincott Williams and Wilkins; 1996.
12. Шептулин А.А., Киприанис В.А. Диагностика и лечение инфекции *Helicobacter pylori*: основные положения согласительного совещания «Маастрихт-3». Рос журн гастроэнтерол, гепатол, колопроктол 2006; 2: 88—91.
13. Авалуева Е.Б., Ткаченко Е.И. Язвенная болезнь (краткое изложение состояния проблемы на современном этапе). Гастроэнтерология и инфекционные болезни 2007; 4: 3—10.
14. Исаков В.А., Доморадский И.В. Хеликобактериоз. М: Медпрактика-М; 2003; 412 с.
15. Осадчук М.А., Усик С.Ф., Кулиджанов А.Ю. Заболевания, ассоциированные с хеликобактерной инфекцией. Самара: Изд-во ООО «Научно-технический центр»; 2002; 246 с.
16. Рапопорт С.И. Гастриты. Пособие для врачей. М; 2010; 20 с.
17. Wolters L.L., Rudin R.E., Paul G. Acridin-orange to identify *Campylobacter pyloridis* in formalin fixed, paraffin embedded gastric biopsies. Lancet 1986; 1(8471): 42.
18. Sipponen P., Ranta P., Helske T. et al. Serum levels of amidated gastrin-17 and pepsinogen I in atrophic gastritis. An observational case-control study. Scand J Gastroenterol 2002; 37: 785—791.