

**А. А. Авраменко**

Николаевский национальный университет имени В. А. Сухомлинского  
Центр прогрессивной медицины и реабилитации «Rea+Med», Николаев

## Достоверность стул-теста при тестировании больных хроническим хеликобактериозом при наличии активных и неактивных форм хеликобактерной инфекции на слизистой оболочке желудка

**Цель** — изучить достоверность стул-теста при наличии активных форм инфекции *H. pylori* в разной концентрации у больных хроническим неатрофическим гастритом.

**Материалы и методы.** Проверена достоверность стул-теста по результатам сравнения его данных и комплексного обследования с помощью уреазного теста и микроскопирования окрашенных мазков-отпечатков 62 больных хроническим хеликобактериозом.

**Результаты.** У 34 (54,8%) пациентов результаты стул-теста были позитивными, у остальных — негативными. При анализе данных гистологического исследования слизистой оболочки желудка у всех пациентов выявлены хронический воспалительный процесс и наличие активной или неактивной формы *H. pylori*. По нашим данным, достоверность стул-теста зависит не столько от наличия, сколько от степени обсеменения слизистой оболочки активными формами инфекции *H. pylori*. Неактивные формы также «смываются» в кишечник, но они не могут крепко прикрепиться к слизистой оболочке и попадают в кишечник неповрежденными. У неактивных форм резко снижены антигенные свойства.

**Выводы.** Установлено, что результаты стул-теста являются недостоверными при низкой концентрации на слизистой оболочке желудка активных форм *H. pylori*, а также при любой концентрации его неактивных форм.

**Ключевые слова:** хронический неатрофический гастрит, активные и неактивные формы хеликобактерной инфекции, стул-тест.

Стул-тест является одним из последних методов, который был широко внедрен в гастроэнтерологическую практику и рекомендован для тестирования хеликобактерной (*H. pylori*) инфекции у больных с патологией гастродуоденальной зоны согласно Маастрихтскому консенсусу 4-го пересмотра [5, 8–11]. В основе метода лежит выявление антигенов *H. pylori*-инфекции в кале (в роли антигенов выступают липополисахариды оболочки бактерий) с применением моноклональных антител [3, 6, 13]. Однако наличие двух форм *H. pylori*-инфекции — активной, которая развивается только на слизистой оболочке желудка и погибает, попав в кишечник, и неактивной (коккообразной), которая

может попасть в кишечник с фекалиями, выйти во внешнюю среду, формируя фекально-оральный путь передачи [1], — порождает вопрос, который возникает при внедрении новых методов диагностики *H. pylori*-инфекции: фиксирует ли данный метод неактивные формы *H. pylori*? Кроме того, неясно, при какой концентрации активных форм на слизистой оболочке желудка стул-тест будет положительным. Отсутствие в доступной нам литературе данных о параллельных исследованиях с использованием стул-теста и методов, которые могут определять активные и неактивные формы *H. pylori* на слизистой оболочке желудка (комбинация уреазного теста и микроскопирования окрашенных мазков-отпечатков) [2], стали поводом для проведения наших исследований.

Цель работы — изучить достоверность стул-теста при наличии неактивных форм, а также при наличии активных форм *H. pylori*-инфекции разной концентрации у больных хроническим неатрофическим гастритом.

### Материалы и методы

Комплексно обследовано 63 больных хроническим неатрофическим гастритом в возрасте от 17 до 53 лет (средний возраст —  $(35,17 \pm 1,58)$  года). Среди пациентов преобладали лица мужского пола — 41 (65,1 %). Стаж заболевания — от 4 до 38 лет.

При отборе больных для исследования учитывали данные предварительного опроса, целью которого было выяснить, не принимали ли больные в течение последних 3 мес ингибиторы протонной помпы, антибиотики, препараты висмута и сукральфата, так как применение данных препаратов влияет на достоверность стул-теста [9, 12].

Комплексное обследование больных включало эзофагогастродуоденоскопию (ЭГДС), двойное тестирование на *H. pylori* (уреазный тест и микроскопирование окрашенных по Гимзе мазков-отпечатков, биопсийный материал для которых брали из 4 топографических зон желудка), гистологические исследования состояния слизистой оболочки желудка в этих зонах.

Для определения состояния органов верхнего отдела желудочно-кишечного тракта (ЖКТ) проводили ЭГДС по общепринятой методике [4], во время которой осуществляли забор биопсийного материала для гистологического исследования слизистой оболочки и двойного тестирования на *H. pylori*-инфекцию из средней трети антрального отдела (65–70 см от резцов) и тела (50–55 см от резцов) желудка по большой и малой кривизне, причем расстояние между биоптатами из каждой топографической зоны не превышало 0,5 см. В каждой топографической зоне первый биоптат брали в месте выраженного воспаления, остальные — под зрительным контролем относительно места забора первого биоптата (всего 4 биоптата из каждой топографической зоны). 2 биоптата из каждой зоны использовали для гистологического исследования слизистой оболочки, 1 — для проведения уреазного теста, 1 — для изготовления и микроскопирования окрашенного по Гимзе мазка-отпечатка [2].

Тест на уреазную активность проводили в нашей модификации, которая повышает качество теста по сравнению с общепринятой методикой. Раствор для проведения теста готовили ежедневно: к 10,0 мл дистиллированной воды в пробирке для центрифугирования добавляли 8–10 части-

чек индикатора (фенолового красного) и 0,01 г тетрациклина гидрохлорида для подавления бактериальной флоры, кроме *H. pylori*, после чего раствор тщательно перемешивали и помещали в термостат при температуре +37 °С. Перед проведением тестирования в 5 пробирок для центрифугирования помещали по 15 мг лабораторной мочевины и добавляли по 0,5 мл базового раствора. В пробирки с готовым раствором помещали биоптаты слизистой оболочки из каждой топографической зоны и инкубировали в термостате при температуре +37 °С в течение 24 ч. Тест считали положительным при изменении цвета раствора со светло-желтого на светло-малиновый. По времени появления положительной реакции рассчитывали концентрацию активных форм *H. pylori*-инфекции на слизистой оболочке: от 1 до 10 мин — (++++), от 11 до 45 мин — (+++), от 46 мин до 1 ч 30 мин — (++) , от 1 ч 31 мин до 24 ч — (+), отсутствие реакции в течение 24 ч — (–).

Окрашивание мазков-отпечатков проводили в нашей модификации, что повышало качество мазков по сравнению с общепринятой методикой, особенно при определении наличия митоза *H. pylori*. Мазок-отпечаток изготавливали следующим образом: биоптат слизистой оболочки размывали по предметному стеклу, предварительно обработанному 96 % этиловым спиртом, и просушивали в термостате при температуре +37 °С в течение 1 ч. Затем мазок-отпечаток окрашивали водно-спиртовым раствором (1 : 1) метиленового синего в течение 0,5–1,0 мин, тщательно промывали дистиллированной водой и просушивали в термостате в течение 1 ч, после чего проводили микроскопирование мазка-отпечатка с использованием иммерсионной системы. Подсчет концентрации как активных, так и кокковидных форм *H. pylori* в поле зрения осуществляли по общепринятым критериям в нашей модификации: от 1 до 20 — (+), от 21 до 50 — (++) , от 51 до 100 — (+++) , от 101 и больше — (++++) [2].

Гистологические исследования проводили по общепринятой методике на базе гистологической лаборатории Областного онкологического диспансера г. Николаева [7]. Тяжесть морфологических изменений слизистой оболочки желудка оценивали визуально с использованием микроскопа Micros MC-20 (Австрия) согласно Хьюстонской модификации Сиднейской системы (1996) [8]. Изменения слизистой оболочки желудка при хроническом активном воспалении (инфильтрация полиморфноядерными лейкоцитами (нейтрофилами)), хроническом неактивном воспалении (инфильтрация мононуклеарными клетками (лимфоцитами и моноцитами)), атрофии антрального

отдела, атрофии тела желудка, кишечной метаплазии и дисплазии имели 3 степени: слабая — (+), средняя — (++) и сильная — (+++) [4].

Тест на выявление антигенов *H. pylori* в образцах фекалий является одношаговым иммунохроматографическим анализом, который проводили следующим образом: образец фекалий погружали в пробирку с растворителем и взбалтывали до получения однородной суспензии образца. После этого 5 капель или 150 мкл полученного образца наносили на указанный участок теста. Во время тестирования образец вступал в реакцию с окрашенным конъюгатом (моноклональные антитела к антигенам *H. pylori* — красные микросферы), который предварительно наносили и высушивали на мембране тест-пластинки. Смесь мигрировала вдоль мембраны под действием капиллярных сил. В случае положительного результата специфические антитела на тестовом участке пластинки захватывали окрашенный (красный) конъюгат. Смесь продолжала продвигаться вдоль мембраны до иммобилизованных антител, размещенных на контрольном участке пластинки, появлялась линия зеленого цвета. Наличие этой линии являлось подтверждением достаточного количества использованного материала, заполнения капилляров мембраны, а также контролем качества реагентов. Тест считали отрицательным при наличии только полоски зеленого цвета, положительным — при наличии красной и зеленой полосок [3, 13].

Последовательность обследования: сначала проводили рН-метрию, потом — ЭГДС с забором биопсийного материала для проведения тестирования на *H. pylori* и гистологических исследований слизистой оболочки желудка.

Исследование выполняли утром натощак, через 12–14 ч после последнего приема пищи. Стул-тест проводили за 1 сутки до комплексного обследования.

Полученные данные обработаны статистически с помощью t-критерия Стьюдента с вычислением средних величин (M) и оценкой вероят-

ности отклонений (m). Изменения принимали статистически достоверными при  $p < 0,05$ . Статистические расчеты выполняли с помощью электронных таблиц Excel для Microsoft Office.

### Результаты и обсуждение

Для анализа данных, полученных после проведения стул-теста, пациентов распределили в две группы: 1-я группа — 34 (54,8%) пациента, у которых стул-тест был положительным, 2-я группа — 28 (45,2%) пациентов, у которых стул-тест был отрицательным.

При проведении ЭГДС у пациентов 1-й группы в 3 (8,8%) случаях выявлено наличие язвенного процесса в луковице двенадцатиперстной кишки (ДПК) в активной стадии, в 4 (11,8%) — следы перенесенных в прошлом язвенной болезни ДПК в виде рубцовой деформации разной степени выраженности, у пациентов 2-й группы — соответственно в 4 (14,3%) и 3 (10,7%) случаях. У 23 (82,1%) пациентов 2-й группы в полости желудка определялось наличие желчи.

При анализе данных, полученных при гистологическом исследовании состояния слизистой оболочки желудка, у всех пациентов выявлен хронический воспалительный процесс как в активной, так и в неактивной форме разной степени выраженности.

Данные тестирования на *H. pylori*-инфекцию представлены в таблице.

Полученные данные свидетельствовали об отсутствии на слизистой оболочке желудка у пациентов 1-й группы неактивных форм и наличие во всех случаях активных форм с высокой концентрацией. Во 2-й группе отмечено либо полное отсутствие активных форм *H. pylori*-инфекции, либо наличие бактерий в низкой концентрации (до (+)), в то время как во всех отделах выявлены неактивные формы *H. pylori* при высокой степени обсеменения (больше (++)).

При сравнительном анализе данных о степени обсеменения слизистой оболочки разных зон

Таблица. Уровень обсеменения хеликобактерной инфекцией слизистой оболочки желудка у больных с положительным и отрицательным стул-тестом (M ± m)

Топографические зоны желудка		1-я группа (n = 34)		2-я группа (n = 28)	
		Активные формы	Неактивные формы	Активные формы	Неактивные формы
Антральный отдел желудка	Большая кривизна	2,87 ± 0,24	0	0,85 ± 0,26	2,22 ± 0,26
	Малая кривизна	2,97 ± 0,24	0	1,00 ± 0,26	2,24 ± 0,26
Тело желудка	Большая кривизна	2,65 ± 0,24	0	0	2,88 ± 0,26
	Малая кривизна	2,61 ± 0,24	0	0,90 ± 0,26	2,57 ± 0,26

желудка активними и неактивными формами *H. pylori* в 2-й группе установлена достоверно ( $p < 0,05$ ) более высокая степень обсеменения неактивными формами *H. pylori*-инфекции по сравнению с активными в этих же зонах. У пациентов 1-й группы по сравнению с пациентами 2-й группы выявлена достоверно ( $p < 0,05$ ) более высокая степень обсеменения активными формами в аналогичных зонах желудка и отсутствие достоверных различий ( $p > 0,05$ ) в степени обсеменения неактивными формами.

При анализе полученных данных необходимо учитывать влияние забросов желчи на жизнедеятельность *H. pylori*-инфекции и уровень кислотности. При забросах желчи уровень кислотности снижается из-за ее щелочного характера. Наличие в забросах, кроме желчи, панкреатического сока с ферментами поджелудочной железы, которые негативно влияют на активную форму бактерий, вынуждает *H. pylori*-инфекцию перейти в защитную неактивную форму [1].

Что касается самого стул-теста, то его достоверность, исходя из полученных нами данных, напрямую зависит не столько от наличия, сколько от степени обсеменения слизистой оболочки желудка активными формами *H. pylori*-инфекции. С нашей точки зрения, определенная доля активных форм *H. pylori* всегда «смывается» с поверхности слизистой оболочки желудка при приеме пищи и жидкости (чем выше концентрация на слизистой оболочке, тем большее количество бактерий попадает в кишечник). Погибая в кишечнике, бактерия создает большое количество антигенов в виде обломков оболочки, которые с калом выводятся из

организма, позволяя провести данный тест. При низкой степени обсеменения слизистой оболочки желудка активными формами *H. pylori* процент «смыва», возможно, такой же, но при этом количество бактерий, попавших в кишечник, резко снижается, что приводит к отрицательным результатам стул-теста. Неактивные формы также «смываются» в кишечник, так как они неподвижны и не могут прочно прикрепиться к слизистой оболочке, однако они попадают в кишечник неповрежденными, и, кроме того, у неактивных форм резко снижены антигенные свойства [1, 12], что делает стул-тест в этом случае недостоверным.

Контроль качества эрадикации с помощью стул-теста проводят не раньше, чем через 1 мес после окончания лечения [3], за это время концентрация активных форм *H. pylori*-инфекции, если они еще остались на слизистой оболочке желудка, увеличивается, что повышает достоверность стул-теста.

### Выводы

При проведении исследований установлено, что стул-тест достоверен только при высокой концентрации активных форм *H. pylori*-инфекции на слизистой оболочке желудка.

Стул-тест недостоверен при наличии на слизистой оболочке желудка активных форм *H. pylori*-инфекции в низкой концентрации, а также неактивных форм при любой концентрации.

**Перспективы исследований** заключаются в дальнейшем изучении факторов, влияющих на достоверность стул-теста.

### Список литературы

1. Авраменко А.А., Гоженко А.И. Хеликобактериоз. — Николаев: X-press полиграфія, 2007. — 336 с.
2. Авраменко А.О. Патент на корисну модель 17723 Україна, UA МПК А61В1/00 Спосіб діагностики хронічного гастриту типу В, а також виразкової хвороби та раку шлунка, асоційованих з гелікобактерною інфекцією. — № u200603422; Заявл. 29.03.06; Опубл. 16.10.06, Бюл. № 10. — 4 с.
3. Бичков М.А. Надійність антигенного калового тесту в діагностиці гелікобактеріозу // Сучасна гастроентерол. — 2011. — № 6 (62). — С. 48—50.
4. Кімакович В.Й., Нікішаєв В.І., Тумак І.М. та ін. Ендоскопія травного каналу. Норма, патологія, сучасні класифікації / За ред. В.Й. Кімаковича і В.І. Нікішаєва. — Львів: Медицина світу, 2008. — 208 с.
5. Маев І.В., Рапопорт С.И., Гречушников В.Б. и др. Диагностическая значимость дыхательных тестов в диагностике инфекций *Helicobacter pylori* // Клини. мед. — 2013. — № 2. — С. 29—33.
6. Маев И.В., Самсонов А.А., Андреев Д.Н. и др. Эволюция представлений о диагностике и лечении инфекции *H. pylori* (по материалам консенсуса Маастрихт IV, Флоренция, 2010) // Вестн. практ. врача. — 2012. — № 1. — С. 19—26.
7. Меркулов Г.А. Курс патогистологической техники. — М.: Медицина, 1988. — 253 с.
8. Циммерман Я.С. «Маастрихтский консенсус — 4» (2011): основные положения и комментарии к ним // Клини. мед. — 2012. — № 9. — С. 28—34.
9. Чубенко С.С., Иманова И.Р., Чубенко Д.С. Опыт клинического использования экспресс-определения антигенов *H. pylori* в кале при диагностике хеликобактериоза // Сучасна гастроентерол. — 2009. — № 3 (47). — С. 5—8.
10. Шепулин А.А. Обсуждение докладов рабочего совещания Европейской группы по изучению инфекции *Helicobacter pylori* (Любляна, 2012) // РЖГТК. — 2013. — № 3. — С. 85—88.
11. Шепулин А.А., Евсютина Ю.В. Обсуждение проблемы инфекции *Helicobacter pylori* в докладах 19-й Объединенной европейской недели гастроэнтерологии // РЖГТК. — 2012. — № 5. — С. 88—92.
12. Avramenko A.O. The effect of proton pump inhibitors on formation of inactive (coccoid) forms of *H. pylori* infection // Clin. Pharm. — 2013. — Vol. 17, N 4. — P 15—17.
13. Pharmasco — лабораторія в кишені (каталог продукції). — К., 2012. — 24 с.

А. О. Авраменко

Миколаївський національний університет імені В. О. Сухомлинського

Центр прогресивної медицини і реабілітації «Rea+Med», Миколаїв

## Достовірність випорожнення-тесту при тестуванні хворих на хронічний гелікобактеріоз за наявності активних і неактивних форм гелікобактерної інфекції на слизовій оболонці шлунка

**Мета** — вивчити достовірність випорожнення-тесту за наявності активних форм інфекції *H. pylori* у різній концентрації у хворих на хронічний неатрофічний гастрит.

**Матеріали та методи.** Перевірено достовірність випорожнення-тесту за результатами порівняння його даних та комплексного обстеження за допомогою уреазного тесту і мікроскопування забарвлених мазків-відбитків 62 хворих на хронічний гелікобактеріоз.

**Результати.** У 34 (54,8%) пацієнтів результати випорожнення-тесту були позитивними, у решти — негативними. При аналізі даних гістологічного дослідження слизової оболонки шлунка в усіх пацієнтів виявлено хронічний запальний процес та наявність активної або неактивної форми *H. pylori*. За нашими даними, достовірність випорожнення-тесту залежить не стільки від наявності, скільки від ступеня обсіменіння слизової оболонки активними формами інфекції *H. pylori*. Неактивні форми також «змиваються» в кишечник, але вони не можуть міцно прикріпитися до слизової оболонки і потрапляють у кишечник непошкодженими. У неактивних форм різко знижені антигенні властивості.

**Висновки.** Установлено, що результати випорожнення-тесту є недостовірними за низької концентрації на слизовій оболонці шлунка активних форм *H. pylori*, а також за будь-якої концентрації його неактивних форм.

**Ключові слова:** хронічний неатрофічний гастрит, активні і неактивні форми гелікобактерної інфекції, випорожнення-тест.

A. A. Avramenko

Mykolayiv National University named after V. O. Sukhomlynskyi

Center for Progressive Medicine and Rehabilitation «Rea+Med», Mykolayiv

## The reliability of the stool test in the testing of patients with chronic helicobacteriosis based on the presence of active and inactive forms of *Helicobacter* infection on the gastric mucosa

**Objective** — to investigate the reliability of the stool test at presence of the of the different concentrations of active forms of *H. pylori* infection in patients with chronic non-atrophic gastritis.

**Materials and methods.** The reliability of the stool test has been examined based on the data of examinations of 62 patients with chronic helicobacteriosis, obtained by parallel conducting of stool test and comprehensive examinations which included determination of *H. pylori* using urease test and microscopic investigation of the stained smears.

**Results.** The positive stool-test has been established in 34 (54.8%) of patients, and negative one in 28 (45.2%) patients. The analysis of the data of histological investigations of gastric mucosa in all patients revealed chronic inflammatory process and presence of the *H. pylori* active and non-active forms. Based on our data, the reliability of stool test directly depends not only from the presence but from the degree of mucosal insemination with *H. pylori* forms. Non-active forms are also «washed out» in the intestine, but they cannot tightly attach to the mucosa, they fall into the intestine intact, and in addition to inactive forms acutely reduced antigenic properties.

**Conclusions.** It has been clarified that stool test is not reliable at low concentration on gastric mucosa of active forms as well as any levels of non-active *H. pylori* forms.

**Key words:** chronic non-atrophic gastritis, active and inactive forms of helicobacter infection, stool test.

### Контактна інформація

Авраменко Анатолій Олександрович, д. мед. н., доцент, зав. кафедри

54003, м. Миколаїв, вул. Чкалова, 118, кв. 4

Тел. (512) 55-64-14. E-mail: aaahelic@mksat.net

Стаття надійшла до редакції 11 березня 2014 р.