

Сравнительная оценка диагностических тестов определения *Helicobacter pylori* и спектр мукозной микрофлоры желудка при гастрите и язвенной болезни

Я. С. Циммерман¹, Ю. А. Захарова², В. Е. Ведерников²

¹ГБОУ ВПО Пермская государственная медицинская академия им. акад. Е. А. Вагнера Минздравсоцразвития России, РФ;

²ФГБУЗ Пермский клинический центр Федерального медико-биологического агентства России, РФ

Ключевые слова: *Helicobacter pylori*, информативность диагностических тестов, видовой состав мукозной микрофлоры желудка, гастрит, язвенная болезнь

Открытие в 1983 г. *Helicobacter pylori* (HP) — спиралевидной бактерии, колонизирующей слизистую оболочку желудка (СОЖ), связано с именами австралийских ученых В. Marshall и J. Warren [36]. За прошедшие 30 лет была установлена этиологическая роль HP в развитии неатрофического антрального хронического гастрита (ХГ) типа В, который именуют HP-ассоциированным ХГ, а также в патогенезе HP-ассоциированных форм язвенной болезни (ЯБ), дистального рака желудка (РЖ) и мальтомы (MALT-лимфомы) желудка низкой степени злокачественности [17].

Вместе с тем нет сомнения в том, что ЯБ и РЖ — это не местные инфекционные патологические процессы в желудке, а общие полиэтиологические гастроэнтерологические заболевания со сложным патогенезом, в развитии которых HP-инфекция принадлежит важная, но не решающая роль. Об этом свидетельствует возможность развития ЯБ и РЖ без участия HP: это HP-негативные формы ЯБ, частота которых достигает 20–30% от числа дуоденальных и 40–50% от числа желудочных язв [18, 19, 20, 22, 23, 26, 31, 33], и проксимальный (кардиальный) РЖ, также не связанный с HP-инфекцией [15, 21, 27, 29, 30, 32, 34]. Выдающийся клиницист и ученый В. Х. Василенко утверждал: «Язва является местным проявлением каких-то общих нарушений» [1]. Р. Согтеа [27] — один из наиболее авторитетных исследователей, изучающих проблему РЖ — считает развитие РЖ многофакторным и многоступенчатым процессом. Согласно Сиднейской классификационной системе, существуют и HP-независимые формы ХГ: аутоиммунный ХГ (тип А), токсико-химический ХГ (тип С) и особые

формы ХГ (эозинофильный, гранулематозный, радиационный) [8, 35].

Как известно, HP-инфекция широко распространена в мире: до 60% популяции на всех континентах Земли инфицировано HP, однако ЯБ развивается только у 12–15% инфицированных, дистальный РЖ — у 1%, а мальтома желудка — у 0,5% [30, 32]. Большинство (до 70%) инфицированных людей являются здоровыми (бессимптомными) бактерионосителями, часто на протяжении всей жизни. Тем не менее, точная диагностика HP-инфекции имеет важное значение, прежде всего при HP-ассоциированных ХГ, ЯБ и РЖ, для обоснования эрадикационной терапии [9, 15, 32, 34].

Сравнительная оценка различных диагностических тестов определения *Helicobacter pylori*

За прошедшие годы разработано множество диагностических методов — инвазивных и неинвазивных. Среди инвазивных методов получил признание гистологический метод определения HP в биопсийном материале, окрашенном метиленовым синим, по Граму, по Гимзе или по Вартину — Старри (чувствительность 90%, специфичность 97%). Одно время его даже называли золотым стандартом в диагностике HP [9]. Особенно удобным для практических врачей оказался уреазный экспресс-тест с биопсийным материалом.

Для массовых эпидемиологических обследований более всего пригоден серологический метод определения антител — иммуноглобулинов (Ig) классов G и A — к HP в сыворотке крови (чувствительность 64,0–98,4%, специфичность 88,4–95,0%).

Из неинвазивных методов диагностики HP высокую оценку получили уреазный дыхательный тест с ¹³C-мочевинной (чувствительность 64–99%, специфичность 75–95%), метод определения антигенов HP в фекалиях (определение антигена HP в кале — HPBA) с помощью тест-системы (чувствительность 92–94%, специфичность 94–97%) и полимеразная цепная реакция (чувствительность 96,7%, специфичность 100,0%) [7, 28, 34]. Важно отметить, что исследование эффективности эрадикации HP должно проводиться не ранее чем через 4 недели после окончания курса лечения [28].

В то же время были установлены и определенные недостатки всех тестов, используемых для диагностики

НР-инфекции. Так, при применении серологического метода определения в сыворотке крови антител к НР нельзя исключить возможности перекрестного реагирования антител. Кроме того, антитела к НР сохраняются в крови в течение 6 месяцев после успешной эрадикации возбудителя, что не позволяет применять этот метод для оценки эффективности курса эрадикационной терапии. При использовании полимеразной цепной реакции возможны ошибки, обусловленные сходством ДНК-фрагментов НР и других микроорганизмов. Уреазные тесты не обеспечивают достоверных результатов, поскольку уреазная активность присуща не только НР, но и другой мукозной микрофлоре (М-микрофлоре), колонизирующей СОЖ при ХГ, ЯБ и РЖ. При цитологическом и гистологическом исследовании биоптатов СОЖ ошибочное заключение возможно из-за близости структуры НР и некоторых других микроорганизмов, обнаруженных в желудке [7].

Гиподиагностика НР-инфекции может объясняться либо низкой колонизацией НР биоптатов СОЖ, либо иммунодефицитным состоянием [7].

Основные требования (критерии), предъявляемые к тестам, определяющим наличие НР в СОЖ:

- высокая чувствительность и специфичность;
- простота (доступность);
- отсутствие необходимости в дефицитном оборудовании;
- быстрота получения ответа;
- минимальность материальных затрат (экономичность).

Маастрихтский консенсус-4 по диагностике и лечению НР-ассоциированных заболеваний (Дублин, 2011) рекомендует для принятия решения о назначении антибактериальных и антисекреторных средств в качестве диагностических методов уреазный экспресс-тест, серологический тест определения антител к НР, уреазный дыхательный тест с ^{13}C -мочевинной и НРЭА, отдавая предпочтение двум последним.

Ряд исследователей считают, что диагностика НР-инфекции должна быть комплексной [6, 28]. Вместе с тем до сих пор не определены критерии отбора тестов, которые должны входить в этот комплекс.

Таким образом, многие вопросы, связанные с выявлением НР у больных с гастродуоденальными заболеваниями, ассоциированными с НР-инфекцией, и определение оптимального комплекса диагностических тестов, которые призваны помочь клиницистам в решении важнейшей задачи — выяснении роли этого микроорганизма в развитии указанных болезней, весьма актуальны и еще ждут своего решения.

Мы поставили целью настоящего исследования разработку стандартного комплекса диагностических методик по определению НР-инфекции у пациентов с гастродуоденальными заболеваниями.

Материал и методы

Для решения поставленных задач в эндоскопическом отделении стационара Пермского клинического центра ФМБА России в 2010–2011 гг. были обследованы 102 пациента с гастродуоденальными заболеваниями, предъявлявших активные жалобы на боль в

эпигастральной области и диспепсические явления и давших информированное согласие на участие в исследовании. Диагноз устанавливали в ходе комплексного клинического, инструментального и лабораторного обследования, включая морфологическое подтверждение диагноза. В исследуемой группе у 11 пациентов диагностирована ЯБ желудка, у 6 — ЯБ двенадцатиперстной кишки (ДПК), у 25 — гастродуоденальные эрозии, у 9 — очаговый или диффузный атрофический ХГ, у 37 — неатрофический гастрит антрального (пилорического) отдела, у 9 — рубцовая деформация луковицы ДПК, у 2 — дуоденогастральный рефлюкс, у 1 — поверхностный гастродуоденит, у 1 — недостаточность нижнего пищеводного сфинктера и у 1 — пищевод Барретта. Средний возраст обследуемых составил ($54,90 \pm 4,93$) года, среди них было 64 (62,9%) мужчины и 46 (45,1%) женщины.

В комплекс исследований по выявлению НР были включены клинико-диагностические, инструментальные, морфологические, биохимические, бактериологические и иммунологические методы.

Общеклиническое обследование пациентов сопровождалось их анкетированием с целью изучения анамнеза заболевания. В ходе работы были изучены истории болезни (форма № 003/у) и карты амбулаторного больного (форма № 025/у-87).

Биологические пробы СОЖ или ДПК получали при гастродуоденофиброскопии (ГДФС) с прицельной биопсией в пораженном участке желудка и ДПК. После обработки полости рта пациента антисептиком с помощью стерильных щипцов эндоскопа получали три образца с избранного участка слизистой оболочки (в зависимости от локализации патологического процесса), помещали их в 0,3–0,5 мл забуференного физиологического раствора. Часть фрагментов биологической ткани после извлечения щипцов фиброскопа снимали препаровальной иглой и, не отмывая водой, помещали в 10% раствор нейтрального формалина на 24 ч для световой микроскопии. Далее материал обезжировывали, обезжиривали и заливали парафином в гистологическом автомате по общепринятой методике. С парафиновых блоков готовили срезы толщиной 5 мкм на 10–12 предметных стеклах. Для окрашивания гистологических и цитологических микропрепаратов применяли стандартные растворы красителей [25].

Посев биологического материала осуществляли после тщательного перемешивания и гомогенизации кусочков биоптата на вортексе (Lachema, Чехия) по усовершенствованной нами методике на две чашки геликобактерного кровяного агара (с высокопитательными биологическими добавками BioMerieux, Франция); при этом на одну чашку питательной среды — методом мазков-отпечатков с последующей инкубацией в анаэробном состоянии с газогенераторными пакетами (AnaeroHiGas — Compylo Pack HiMedia, Индия) или Microaerophil Becton Dickinson, США). Второй кусочек биоптата с целью обогащения помещали в тиогликолевую питательную среду для контроля стерильности (СКС). Третий кусочек использовали для проведения уреазного теста (тест-полоски BioMerieux, США). При этом для получения достоверного результата нами были одновременно использованы тест-полоски

с мочевиной (BioMérieux, Франция) вместе с жидкой питательной средой, содержащей мочевины [14], или микропланшетный тест (Lachema, Чехия).

После двух суток инкубации в стандартном режиме СКС проводили микроскопическое исследование препарата, окрашенного по Граму (при отсутствии визуального роста на питательном агаре продолжали термостагирование до семи суток) и делали дополнительные высевы на питательные среды для первичного посева. После 5–7 суток инкубации биологических проб на чашках Петри оценивали характер роста микрофлоры. Идентификацию НР проводили по классической и собственной модифицированной методикам [2].

Суммарные антитела IgG, IgA, IgM к антигену CagA выявляли в сыворотке крови методом иммуноферментного анализа с использованием тест-системы Гелико-Бест-антитела (ЗАО «Вектор-Бест», Россия) на аппарате StatFax-303. Результаты анализа оценивали как отрицательные (не содержащие антител к антигену CagA), как сомнительные (титр антител менее 1:5) либо слабоположительные (титр 1:5), как положительные (1:10–1:20) или резко положительные (1:40–1:80). Диагностически значимым считали титр антител 1:10 и выше.

Согласно рекомендации Маастрихтского консенсуса-4 (2011), в работе был использован неинвазивный копрологический иммунохроматографический тест с моноклональными анти-НР-антителами (ImmunoCard STAT HpSA, Германия). Перед проведением исследования образец фекалий предварительно разводили в два раза. Затем три капли полученного раствора вносили в тест-систему и наблюдали по мере продвижения пробы лиловое окрашивание контрольной полосы; интерпретацию результатов проводили не ранее чем через 10–15 мин. Результат считали отрицательным,

если появлялось окрашивание только линии контроля, и положительным, если произошло окрашивание двух полос (тестовой и контрольной).

На начальной стадии исследования из комплекса методов выявления НР был исключен уреазный дыхательный Хелик-тест по причине отказа большинства пациентов исследуемой группы от его проведения. Неудобство процедуры заключалось в вынужденном статичном положении обследуемого при непрерывном выдыхании воздуха в трубку аппарата в течение 15–20 мин. Кроме того, из первых 25 проведенных исследований положительными оказались все 25 проб, что ставило под сомнение достоверность этого метода.

При разработке метода стандартного определения НР-инфекции у пациентов с гастродуоденальной патологией было использовано девять наиболее часто встречающихся, по данным литературы [6, 28], признаков: наличие воспалительных гастродуоденальных заболеваний и ЯБ желудка или ДПК, гастродуоденальных эрозий (по данным ГДФС); присутствие в крови суммарных антител (IgG, IgA, IgM) к антигену CagA; данные гистологического и цитологического исследования, подтверждающие наличие НР в биоптате; положительные результаты уреазного экспресс-теста; наличие антигена НР в кале (положительные результаты определения НРSA); присутствие в СКС с биоптатом СОЖ изогнутых палочек, морфологически сходных с НР.

Из выборочной совокупности пациентов с заболеваниями гастродуоденальной зоны были сформированы две группы. В основную группу вошли 40 обследуемых с положительными посевами возбудителя из биоптата, что достоверно подтверждало наличие НР-инфицирования. Контрольную группу составили 62 пациента без посева.

Таблица 1

Частота встречаемости признаков НР-инфекции у пациентов с гастродуоденальными заболеваниями

Признак	Основная группа (n=40)		Контрольная группа (n=62)		P
	абс.	%±m	абс.	%±m	
Воспалительные гастродуоденальные заболевания	18	45,0±7,9	25	40,3±6,2	>0,2
ЯБ желудка и ДПК	9	22,5±6,6	6	9,7±3,8	>0,05
Эрозии СОЖ или ДПК, по данным ГДФС	26	65,0±7,5	24	38,1±6,2	<0,05
Наличие антител к антигену CagA в сыворотке крови	21	52,5±7,9	11	17,7±4,8	<0,01
Данные гистологического исследования, подтверждающие НР-инфицирование	17	27,4±7,1	6	9,6±3,7	<0,05
Данные цитологического исследования, подтверждающие НР-инфицирование	23	57,5±7,8	13	21,0±5,2	<0,01
Положительные результаты уреазного экспресс-теста с биоптатом СОЖ	34	85,0±5,6	10	16,0±4,7	<0,001
Положительные результаты определения антигена НР в кале	20	50,0±7,9	0	0	<0,001
Присутствие в СКС с биоптатом СОЖ изогнутых палочек, морфологически сходных с НР	40	100,0	7	11,1±3,9	<0,001

Группы были сопоставимы по возрасту, полу, перенесенным ранее инфекционным заболеваниям, а также по выявленным заболеваниям гастродуоденальной зоны ($p > 0,2$).

Стандартное определение НР проводили по методике ВОЗ [16] с расчетом чувствительности и специфичности исследуемого теста (набора признаков), характеризующего НР-инфекцию. Статистическая обработка материала проводилась с использованием таблиц Microsoft Excel 2013, 11.5612. 5606.

Результаты и обсуждение

Анализ частоты встречаемости трех клинико-инструментальных признаков и шести лабораторных показателей (всего девять критериев), характеризующих НР-инфекцию и включенных в проводимое нами исследование у пациентов основной и контрольной групп, выявил достоверные отличия по семи из них (табл. 1).

Исключение составили два признака, характеризующие перенесенные ранее гастродуоденальные заболевания: ХГ и гастродуоденит, ЯБ желудка и ДПК.

Оценка чувствительности и специфичности остальных семи критериев показала, что максимальную (100%) чувствительность имел только один из них — присутствие в СКС с биоптатом СОЖ изогнутых палочек, морфологически сходных с НР, а максимальную (100%) специфичность — положительные результаты определения антигена НР в кале (табл. 2).

Чувствительность таких признаков, как положительные результаты уреазного экспресс-теста с биоп-

татом СОЖ, не превышала 85,0%. Наиболее низкая (27,4%) чувствительность наблюдалась при гистологическом методе определения НР. Показатели специфичности по большинству (пять из семи) признаков находились в диапазоне от 61,9 до 90,4%.

Таким образом, ни один из семи перечисленных признаков не обладал одновременно высокой чувствительностью и специфичностью.

Анализ частоты встречаемости сочетаний указанных семи признаков выявил высокую чувствительность, но низкую специфичность (100,0 и 66,1%) при сочетании не менее двух признаков (рис. 1).



Рис. 1. Чувствительность и специфичность (в %) сочетаний признаков, характеризующих НР-инфекцию, у пациентов с гастродуоденальными заболеваниями.

Таблица 2

Чувствительность и специфичность ведущих признаков НР-инфекции у пациентов с гастродуоденальными заболеваниями

Признак	Чувствительность, %	Специфичность, %
Эрозии СОЖ или ДПК, по данным ГДФС	65,0	61,9
Наличие антител к антигену CagA в сыворотке крови	52,5	82,3
Данные гистологического исследования, подтверждающие НР-инфицирование	27,4	90,4
Данные цитологического исследования, подтверждающие НР-инфицирование	57,5	79,0
Положительные результаты уреазного экспресс-теста с биоптатом СОЖ	85,0	84,0
Положительные результаты определения антигена НР в кале	50,0	100,0
Присутствие в СКС с биоптатом СОЖ изогнутых палочек, морфологически сходных с НР	100,0	88,9

Напротив, низкой чувствительностью, но высокой специфичностью характеризовались сочетания не менее четырех (75,6 и 96,8%), пяти (45,0 и 96,8%), шести (32,5 и 100%) и семи (5,0 и 100%) признаков. Одновременно высокие чувствительность и специфичность были выявлены при сочетании не менее трех признаков (по 95,2%).

Таким образом, диагноз НР-инфекции у пациентов с гастродуоденальными заболеваниями может

быть установлен при наличии не менее трех из перечисленных ниже признаков:

- определение антигена НР в кале;
- присутствие в крови суммарных антител (IgG, IgA, IgM) к антигену CagA;
- данные гистологического исследования, подтверждающие наличие НР в биоптате;
- данные цитологического исследования, указывающие на присутствие НР в биоптате;

- положительные результаты уреазного экспресс-теста с биоптатом СОЖ;
- присутствие в СКС с биоптатом СОЖ изогнутых палочек, морфологически сходных с НР.

Положительные результаты уреазного теста, указывающие на присутствие НР в биоптате, отмечены у 44 пациентов с гастродуоденальными заболеваниями. При этом у девяти (20,5%) пациентов из СОЖ были выделены только НР, у 25 (56,7%) — НР в сочетании с другой М-микрофлорой, а у 10 (22,8%) — только М-микрофлора (исключая НР). Среди представителей М-микрофлоры, обладающих уреазной активностью, следует назвать *Staphylococcus aureus*, *St. caprae*, *St. epidermidis*, *Enterobacter cloacae*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus mirabilis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Streptococcus salivarius*, *Corynebacterium hoffmannii*, *C. matruchottii*.

Отрицательные результаты уреазного теста наблюдались у 52 обследованных, в том числе у шести (10,3%) из них были выделены НР в низкой концентрации (10 КОЕ/г).

В ходе изучения специфичности и чувствительности набора тестов, характеризующих НР-инфекцию, был установлен высокоспецифичный признак — положительные результаты НРSA. Учитывая изложенное выше, целесообразно считать этот метод исследования наиболее предпочтительным для активного выявления НР при проведении диспансеризации пациентов с заболеваниями гастродуоденальной зоны, особенно в группах повышенного риска, с учетом того, что это неинвазивный метод, который не требует дорогостоящего оборудования.

Таким образом, разработанный стандарт для выявления НР у пациентов с гастродуоденальными заболеваниями позволяет оптимизировать диагностику этой инфекции с целью снижения заболеваемости и предупреждения клинических осложнений.

Спектр и частота выделения мукозной микрофлоры из слизистой оболочки желудка у больных острым и хроническим гастритом и язвенной болезнью

Известно, что М-микрофлора желудка, формируя микробиоценоз этого органа, может участвовать в развитии различных гастродуоденальных заболеваний, прежде всего ХГ и ЯБ [26, 27]. Данные о составе М-микрофлоры СОЖ в норме и при гастродуоденальных заболеваниях существенно различаются [10, 11]. Предпринятые ранее попытки изучения М-микрофлоры желудка при воспалительных и эрозивно-язвенных поражениях желудка и ДПК были немногочисленны и проводились в небольших группах пациентов [10, 11, 24].

Мы изучили видовой и количественный состав М-микрофлоры СОЖ у пациентов с острым гастритом (ОГ) и активным ХГ и ЯБ в фазе рецидива.

На базе эндоскопического отделения Пермского клинического центра ФМБА России было обследовано 103 пациента, разделенных на две группы. В 1-ю группу включили 61 больного ОГ или активным ХГ, во 2-ю — 42 больных ЯБ желудка и ДПК. Средний возраст обследованных 1-й группы (54,1% мужчин и 45,9% женщин) составил (46,2±3,6) года, 2-й группы

(57,1% мужчин и 42,9% женщин) — (52,9±3,8) года. Диагноз заболевания устанавливали на основании комплексного клинико-лабораторного обследования, включая гистологическое и цитологическое исследование СОЖ. При ОГ и активном ХГ прицельную биопсию СОЖ осуществляли из зоны воспаления, при ЯБ — из периаульцерозной зоны.

Прицельную биопсию СОЖ (три образца) при ГДФС производили после предварительной обработки полости рта пациента антисептиком с целью деконтаминации сопутствующей микрофлоры. Один образец использовали для изготовления гистологического и цитологического препаратов, два других помещали в 0,3–0,5 мл забуференного физиологического раствора и немедленно доставляли в бактериологическую лабораторию. Исходный микробиологический посев второго образца проводили на специальные питательные среды, в том числе на две чашки Петри хеликобактерного агара с биодобавками (BioMerieux). Третий образец помещали в полужидкую СКС с целью визуализации роста микрофлоры, включая трудно культивируемые формы. Бактериологическое исследование биоптата СОЖ включало качественное и количественное определение аэробных, факультативно-аэробных, анаэробных микроорганизмов и грибов рода *Candida*. Первичный посев, культивирование, изучение морфологических, культуральных свойств и идентификацию выделенных микроорганизмов проводили в соответствии с действующей нормативной документацией и методическими пособиями [1, 13, 14]. В ходе исследований применяли стандартные и усовершенствованные питательные среды, тест-системы экспресс-диагностики фирм Lachema и BioMerieux, а также собственные модифицированные методики, защищенные патентами РФ [2, 3, 4, 5]. Цифровые данные обрабатывали с помощью программы BioStat для Windows (версия 4.03) и таблиц Microsoft Excel.

Анализ микрофлоры СОЖ у пациентов с ОГ и активным ХГ (1-я группа) выявил в 80,3% образцов наличие различных микроорганизмов, в том числе в виде бактериальных ассоциаций (55,7%).

У больных ЯБ (2-я группа) рост микрофлоры был получен в 90,5% случаев, в том числе в виде микробных ассоциаций (69,4%), что существенно не отличалось от показателей в 1-й группе ($p>0,2$). Всего из биоптатов СОЖ у пациентов 1-й группы было выделено 105 бактериальных изолятов, 2-й — 93.

Чаще всего в составе М-микрофлоры СОЖ у пациентов с ОГ и активным ХГ (табл. 3) встречались *Streptococcus spp.* (52,5%), второе ранговое место занимали *Staphylococcus spp.* (23,0%), третье — грибы рода *Candida* (19,7%). При ЯБ преобладающими видами микрофлоры были те же *Streptococcus spp.* (57,1%); доля НР составила 52,4%, грибов рода *Candida* — 40,5%.

В 1-й группе анаэробные *Peptostreptococcus spp.* были зафиксированы у 11,5% пациентов, *Enterobacteriaceae spp.* и *Corynebacterium spp.* — у 9,8%. Частота обнаружения остальных представителей микрофлоры (*Neisseria*, *Haemophilus*, *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, *Bacteroides*, *Fusobacterium*, *Veillonella spp.*) была невысокой (менее 6,6% для каждого) и в сумме составила 24,9%.

Таблица 3

Частота встречаемости М-микрофлоры в СОЖ у пациентов с ОГ, ХГ (1-я группа) и ЯБ (2-я группа)

Микробный пейзаж	1-я группа (n=61)			2-я группа (n=42)			t	p
	Кол-во штаммов		Концентрация, lgКОЕ/г	Кол-во штаммов		Концентрация, lgКОЕ/г		
	абс.	%		абс.	%			
<i>Staphylococcus spp.</i>	14	23,0	2,1	10	23,8	2,2	0,1	>0,2
<i>Streptococcus spp.</i>	32	52,5	4,4	24	57,1	3,1	0,5	>0,2
<i>Corynebacterium spp.</i>	6	9,8	3,0	3	7,1	2,3	0,5	>0,2
<i>Neisseria spp.</i>	4	6,6	3,0	3	7,1	4,3	0,1	>0,2
<i>Haemophilus spp.</i>	2	3,3	5,0	1	2,4	5,0	0,3	>0,2
<i>Enterobacteriaceae spp.</i>	6	9,8	2,8	4	9,5	3,8	0,1	>0,2
<i>Lactobacillus spp.</i>	2	3,3	3,0	1	2,4	3,0	0,3	>0,2
<i>Bifidobacterium spp.</i>	2	3,3	2,0	1	2,4	3,0	0,3	>0,2
<i>Bacteroides spp.</i>	1	1,6	3,0	1	2,4	3,0	0,3	>0,2
<i>Peptostreptococcus spp.</i>	7	11,5	3,0	4	9,5	3,0	0,3	>0,2
<i>Fusobacterium spp.</i>	4	6,6	3,0	1	2,4	3,0	1,1	>0,05
<i>Veillonella spp.</i>	2	3,3	3,0	1	2,4	3,0	0,3	>0,2
<i>Candida spp.</i>	12	19,7	1,7	17	40,5	1,5	2,3	<0,05
<i>Helicobacter spp.</i>	11	18,0	3,6	22	52,4	3,0	3,8	<0,001

Во 2-й группе *Peptostreptococcus spp.* и *Enterobacteriaceae spp.* были обнаружены у 9,5%, *Corynebacterium spp.* и *Neisseria spp.* – у 7,1%. Единичные высевы *Haemophilus spp.*, *Lactobacillus spp.*, *Bifidobacterium spp.*, *Bacteroides spp.*, *Fusobacterium spp.* и *Veillonella spp.* в общей совокупности не превысили 14,3%.

Достоверные различия по составу М-микрофлоры в СОЖ у пациентов 1-й и 2-й групп выявлены между НР (18,0%±4,9% против 52,4%±7,7%; p<0,001) и грибами рода *Candida* (19,7%±5,1% против 40,5%±7,6%; p<0,05).

В 1-й группе наиболее высокая степень колонизации СОЖ отмечена для *Haemophilus spp.* (5 lgКОЕ/г) и *Streptococcus spp.* (4,4 lgКОЕ/г), во 2-й – для *Haemophilus spp.* (5 lgКОЕ/г) и *Neisseria spp.* (4,3 lgКОЕ/г). В целом средняя концентрация микробных клеток в биоптатах СОЖ в 1-й группе составила 3,4 lgКОЕ/г, во 2-й – 2,7 lgКОЕ/г, что подтверждает данные литературы о невысоком уровне колонизации СОЖ М-микрофлорой [21].

Важно отметить, что у больных ОГ и активным ХГ концентрация НР в СОЖ (3,6 lgКОЕ/г) уступала только количественным показателям колонизации *Haemophilus spp.* (5 lgКОЕ/г) и *Streptococcus spp.* (4,4 lgКОЕ/г). У пациентов с ЯБ на одном уровне с НР (3 lgКОЕ/г) находилось большинство представителей М-микрофлоры, в том числе нормофлоры

(*Lactobacillus spp.* и *Bifidobacterium spp.*). Ниже была только степень колонизации *Staphylococcus spp.* (2,2 lgКОЕ/г), *Corynebacterium spp.* (2,3 lgКОЕ/г) и грибов рода *Candida* (1,5 lgКОЕ/г). Несмотря на более низкие показатели колонизации СОЖ НР при ЯБ (3 lgКОЕ/г против 3,6 lgКОЕ/г), в этой группе пациентов достоверно чаще встречались ассоциации НР с другой М-микрофлорой (38,1% против 13,1%; p<0,01).

Аналогичные или близкие данные были получены и другими авторами. Так, С. Н. Базловым и соавт. [12] при рецидиве ЯБ из периаульцерозной зоны была выделена разнообразная М-микрофлора, обладающая высокой ферментативной (в том числе уреазной) и цитотоксической активностью, в количестве 2,8–5,7 lgКОЕ/г с преобладанием стрептококков (67,7%), стафилококков (62,5%), энтеробактерий (46,9), бактериоидов (43,7%), грибов рода *Candida* (40,6%). В то же время НР были обнаружены только в 34,4% случаев.

Таким образом, нами установлено, что антральный отдел желудка при ОГ и ХГ и периаульцерозную зону при ЯБ колонизирует, помимо НР, и другая, весьма многочисленная М-микрофлора, обладающая цитотоксичностью и ферментативной (в том числе уреазной) активностью, роль которой в развитии этих заболеваний до сих пор не изучали и не учитывали.

Выводы

1. Наиболее информативными методами идентификации НР являются сочетания трех из числа изученных нами диагностических признаков: определения антигена НР в кале (HPSA), наличия в сыворотке крови суммарных антител (иммуноглобулинов классов G, A и M) к антигену CagA, результатов гистологического (или цитологического) исследования, подтверждающих присутствие НР в биоптате, положительных результатов уреазного экспресс-исследования биоптата СОЖ, наличия в СКС с биоптатом СОЖ изогнутых палочек, морфологически сходных с НР.

2. М-микробиота слизистой оболочки антрального отдела желудка при ОГ и ХГ в 52,5% случаев представлена *Streptococcus spp.*, в 23% — *Staphylococcus spp.*, в 19,7% — грибами рода *Candida*, в 18% — НР.

3. При ЯБ в периульцерозной зоне преобладающими видами М-микробиоты являются *Streptococcus spp.* (57,1%), НР (52,4%) и грибы рода *Candida* (40,5%).

4. Достоверные различия по частоте встречаемости М-микробиоты в желудке у больных ОГ, ХГ и ЯБ выявлены между НР (18,0%±4,9% против 52,4%±7,7%; $p<0,001$) и грибами рода *Candida* (19,7%±5,1% против 40,5%±7,6%; $p<0,05$).

Литература:

1. Василенко В. Х. Чего мы не знаем о язвенной болезни (пути изучения проблемы) / В. Х. Василенко // В кн. : Актуальные вопросы гастроэнтерологии. — М., 1970. — Вып. 1. — С. 3–17.
2. Захарова Ю. А. Способ бактериологической диагностики *Helicobacter pylori* в слизистой оболочке желудка у пациентов с гастродуоденальной патологией / Ю. А. Захарова // Приоритетная справка на патент РФ № 2011125763/15(038053).
3. Захарова Ю. А. Способ видовой дифференциальной диагностики стафилококков / Ю. А. Захарова, И. В. Фельдблюм, А. М. Николаева // Пат. РФ на изобретение № 2331073.
4. Захарова Ю. А. Способ видовой дифференциальной диагностики стрептококков группы В и группы Д / Ю. А. Захарова // Пат. РФ на изобретение № 2327181.
5. Захарова Ю. А. Способ видовой микробиологической диагностики условно-патогенных энтеробактерий / Ю. А. Захарова // Пат. РФ на изобретение № 2327161.
6. Исаков В. А. Хеликобактериоз / В. А. Исаков, И. В. Домарадский. — М., 2003.
7. Кишкун А. А. Современные методы диагностики и оценки эффективности лечения инфекции, вызванной *Helicobacter pylori* / А. А. Кишкун // Клиническая лабораторная диагностика. — 2002. — № 8. — С. 41–46.
8. Комптон К. К. Гастрит: новое в патоморфологической классификации и диагностике / К. К. Комптон // Рос. журн. гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии. — 1999. — № 3. — С. 24–30.
9. Маев И. В. Современные стандарты лечения кислотозависимых заболеваний, ассоциированных с *Helicobacter pylori* (Материалы конференции «Маастрихт-3») / И. В. Маев, А. А. Самсонов // Consilium Medicum. Прил. : Гастроэнтерология. — 2006. — № 1. — С. 3–8.
10. Микробиота периульцерозной зоны у больных с язвенной болезнью и ее чувствительность к антибактериальным препаратам / В. М. Червинец, С. Н. Базлов, В. В. Чернин [и др.] // Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. — 2002. — № 1. — С. 37–39.
11. Микробиота слизистой оболочки двенадцатиперстной кишки и ее роль в патогенезе рецидива язвенной болезни / Я. С. Циммерман, В. Е. Ведерников, В. Н. Новиков [и др.] // Сиб. журн. гастроэнтерологии и гепатологии. — 2001. — № 12–13. — С. 61–63.
12. Мукозная микрофлора и *Helicobacter pylori* и их роль в ульцерогенезе. / С. Н. Базлов, В. М. Червинец, В. В. Чернин [и др.] // Рос. журн. гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии. — 2001. — № 2 (Прилож. 13). — С. 15–16.
13. Определитель нетривиальных грамотрицательных бактерий (аэробных и факультативно-анаэробных) / Р. Вейант, У. Мосс, Р. Уивер [и др.] // Пер. с англ. — М., 1999.
14. Приказ МЗ СССР (22.04.1985) № 535 «Об унификации микробиологических (бактериологических) исследований, применяемых в клинико-диагностических лабораториях лечебно-профилактических учреждений». — М., 1985.
15. Роккас Ф. Инфекция *Helicobacter pylori*, как фактор риска рака желудка: современные доказательства / Ф. Роккас // Рос. журн. гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии. — 2002. — № 3. — С. 66–77.
16. Флетчер Р. Клиническая эпидемиология. Основы доказательной медицины / Р. Флетчер, С. Флетчер, Э. Вагнер. — М. : Медиа Сфера, 1998. — 352 с.
17. Хронический гастрит / Л. И. Аруин, П. Я. Григорьев, В. А. Исаков, Э. П. Яковенко. — Амстердам, 1993.
18. Циммерман Я. С. Гастродуоденальные заболевания и *Helicobacter pylori*-инфекция: общее обозрение проблемы / Я. С. Циммерман // Клиническая медицина. — 2009. — № 5. — С. 9–15.
19. Циммерман Я. С. Гастроэнтерология / Я. С. Циммерман. — М., 2012.
20. Циммерман Я. С. Проблема этиологии и патогенеза язвенной болезни: перечитывая В. Х. Василенко / Я. С. Циммерман // Клиническая медицина. — 2011. — № 1. — С. 14–19.
21. Циммерман Я. С. Рак желудка: современный взгляд на проблему / Я. С. Циммерман // Вестн. хирургической гастроэнтерологии. — 2011. — № 2. — С. 77–88.
22. Циммерман Я. С. Хронический гастрит и язвенная болезнь / Я. С. Циммерман. — Пермь, 2000.
23. Циммерман Я. С. Этиология, патогенез и лечение

язвенной болезни, ассоциированной с *Helicobacter pylori*-инфекцией: состояние проблемы и перспективы / Я. С. Циммерман // Клиническая медицина. — 2006. — № 3. — С. 9–19.

24. Язвенная болезнь, хронический гастрит и эзофагит в аспекте дисбактериоза гастродуоденальной зоны / В. В. Чернин, В. М. Червинец, В. М. Бондаренко [и др.]. — Тверь, 2004.

25. Bergey's manual of determinative bacteriology / J. Holt, N. Krieg, P. Sneath [et al.]. — 9-th ed. Baltimore etc., 1997.

26. Bytzer P. *Helicobacter pylori* — negative duodenal ulcers: prevalence, clinical characteristics and prognosis: results from a randomized trial with 2-year follow-up / P. Bytzer, P. S. Taglbiaerd // Am. J. Gastroenterol. — 2001. — Vol. 96. — P. 1409–1416.

27. Correa P. Human gastric cancerogenesis: a multistep and multifactorial process. First American Cancer Society lecture on cancer epidemiology and prevention / P. Correa // Cancer Res. — 1992. — Vol. 52. — P. 6735–6740.

28. Diagnostic tests for *Helicobacter pylori*: a prospective evaluation of their accuracy, without selecting a single test as the gold standard / J. C. Thijs, A. A. Van Zwet, W. J. Thijs [et al.] // Am. J. Gastroenterol. — 1996. — Vol. 91, No 10. — P. 2125–2129.

29. Gastric cancer and *Helicobacter pylori*: a combined analysis of 12 case control studies nested with in prospective cohorts / P. M. Webb, M. Law, C. Varghese [et al.] // Gut. — 2001. — Vol. 49. — P. 347–353.

30. *Helicobacter pylori* infection and risk of cardia cancer and non-cardia gastric cancer. A nested case-control study / S. Hansen, K. K. Melby, S. Aase [et al.] // Scand. J. Gastroenterol. — 1993. — Vol. 34. — P. 353–369.

31. Laine L. Has the impact of *Helicobacter pylori* therapy on ulcer recurrence in the United State been overstated? — A meta-analysis of rigorously designed trials / L. Laine, R. Hopkins, L. Gerardi // Am. J. Gastroenterol. — 1998. — Vol. 93, No 9. — P. 1409–1415.

32. Perez-Perez G. I. Инфекция *Helicobacter pylori* и рак желудка / G. I. Perez-Perez // В кн.: Диагностика и лечение заболеваний, ассоциированных с *Helicobacter pylori*: II Международный симпозиум. — М., 1999. — С. 32–33.

33. Prevalence and risk factors of *Helicobacter pylori* — negative peptic ulcer: a multicenter study / G. Meucci, R. di Battista, C. Abbiati [et al.] // J. Clin. Gastroenterol. — 2000. — Vol. 31. — P. 42–47.

34. The stool antigen-test for detection of *Helicobacter pylori* after eradication therapy / D. Vaira, N. Vakil, M. Menegatti [et al.] // Ann. Intern. Med. — 2002. — Vol. 136. — P. 280–287.

35. The Sydney system: a new classification of gastritis / J. J. Misiewicz, G. N. Tytgat, C. S. Goodwin [et al.] // 9-th Congress of gastroenterology: Working party reports. — Melbourne: Blackwell, 1990. — P. 1–10.

36. Warren J. R. Unidentified curved bacilli in the stomach of patients with gastritis and peptic ulceration / J. R. Warren, B. J. Marshall // Lancet. — 1983. — Vol. 1. — P. 1311–1315.

УДК 616.33–002.44–022:579.835.12J–07

**RU Сравнительная оценка
диагностических тестов определения
Helicobacter pylori и спектр мукозной
микрофлоры желудка при гастрите
и язвенной болезни**

Я. С. Циммерман¹, Ю. А. Захарова², В. Е. Ведерников²

¹ГБОУ ВПО Пермская государственная
медицинская академия им. акад. Е. А. Вагнера
Минздравсоцразвития России, РФ;

²ФГБУЗ Пермский клинический центр Федерального
медико-биологического агентства России, РФ

Ключевые слова: *Helicobacter pylori*, информативность
диагностических тестов, видовой состав мукозной микрофлоры желудка, гастрит, язвенная болезнь

Изучены специфичность и чувствительность клинико-диагностических тестов, характеризующих инфекцию *Helicobacter pylori* (HP) у пациентов с гастродуоденальными заболеваниями; проведена сравнительная оценка видовой состава мукозной микрофлоры при гастрите и язвенной болезни. Установлены наиболее

информативные признаки инфицирования HP: определение антигена HP в кале, присутствие в крови суммарных антител (иммуноглобулинов классов G, A и M) к антигену *CagA*, результаты гистологического (цитологического) исследования, подтверждающие наличие HP в биоптате, уреазный экспресс-тест, присутствие в тиогликолевой питательной среде для контроля стерильности с биоптатом слизистой оболочки желудка изогнутых палочек, морфологически сходных с HP. Использование этих признаков в сочетании (не менее трех) позволит выполнить качественную диагностику HP-инфекции для обоснования эрадикационной терапии. Изучение спектра и частоты встречаемости микрофлоры в слизистой оболочке желудка выявило преобладание у пациентов, страдающих гастритом, *Streptococcus spp.*, *Staphylococcus spp.*, грибов рода *Candida*, HP; у пациентов с язвенной болезнью — *Streptococcus spp.*, HP, грибов рода *Candida* при средней концентрации микробных клеток 3,4 и 2,7 IgКОЕ/г соответственно. Достоверные различия по частоте встречаемости микрофлоры в слизистой оболочке желудка отмечены между HP и грибами рода *Candida*.

UA **Порівняльна оцінка діагностичних тестів визначення *Helicobacter pylori* і спектр мукозної мікрофлори шлунка при гастриті і виразковій хворобі**

Я. С. Циммерман¹, Ю. О. Захарова²,
В. Є. Ведерніков²

¹ДБОУ ВПО Пермська державна медична академія ім. акад. Є. А. Вагнера Мінздравсоцрозвитку Росії, РФ;
²ФДБУЗ Пермський клінічний центр Федерального медико-біологічного агентства Росії, РФ

Ключові слова: *Helicobacter pylori*, інформативність діагностичних тестів, видовий склад мукозної мікрофлори шлунка, гастрит, виразкова хвороба

Вивчено специфічність і чутливість клініко-діагностичних тестів, що характеризують інфекцію *Helicobacter pylori* (HP) у пацієнтів з гастродуоденальними захворюваннями; проведена порівняльна оцінка видового складу мукозної мікрофлори при гастриті і виразковій хворобі. Встановлено найбільш інформативні ознаки інфікування HP: визначення антигену HP в калі, присутність в крові сумарних антитіл (імуноглобулінів класів G, A і M) до антигену CagA, результати гістологічного (цитологічного) дослідження, що підтверджують наявність HP в біоптаті, уреазний експрес-тест, присутність в тіогліколевому живильному середовищі для контролю стерильності з біоптатів слизової оболонки шлунка вигнутих паличок, морфологічно подібних до HP. Використання цих ознак у поєднанні (не менше трьох) дозволить виконати якісну діагностику HP-інфекції для обґрунтування ерадикаційної терапії. Вивчення спектру і частоти находження мікрофлори в слизовій оболонці шлунка виявило переважання у пацієнтів, страждаючих гастритом, *Streptococcus spp.*, *Staphylococcus spp.*, грибів роду *Candida*, HP; у пацієнтів з виразковою хворобою — *Streptococcus spp.*, HP, грибів роду *Candida* при середній концентрації мікробних клітин 3,4 і 2,7 ІгКОЕ/г відповідно. Достовірні відмінності за частотою зустрічальності мікрофлори в слизовій оболонці шлунка відзначені між HP і грибами роду *Candida*.

EN **Comparative estimation of diagnostic tests for *Helicobacter pylori* and the spectrum of gastric mucosal microflora in gastritis and ulcer disease**

Ya. S. Tsimmerman¹, Yu. A. Zakharova², V. E. Vedernikov¹

¹Vagner Perm State Medical Academy,
Russian Federation;

²Perm Clinical Centre, Russian Federation

Key words: *Helicobacter pylori*, informative value of diagnostic tests, species composition of gastric mucosal microflora, gastritis, peptic ulcer

We estimated specificity and sensitivity of diagnostic tests for *H. pylori* (HP) infection in patients with gastroduodenal problems and studied species composition of gastric mucosal microflora in gastritis and ulcer disease. The following characteristics have been determined as the most informative signs of HP infection: HP fecal antigen, plasma total antibodies (IgG, IgA, IgM) against CagA, histological (cytological) findings confirming the presence of HP antigens in biopsies, rapid urease test, the presence of bent rods morphologically resembling HP in gastric mucosa biopsies cultured in the glycol medium for sterility control. The use of these signs (at least three) in combination ensures efficacious diagnostics of HP infection for the substantiation of its traditional therapy.

The study of the spectrum and occurrence of gastric mucosal microflora revealed the predominance of *Streptococcus spp.*, *Staphylococcus spp.*, *Candida* fungi, and HP in patients with gastritis and *Streptococcus spp.*, HP and *Candida* in those with ulcer disease at a mean concentration of microbial cells 3.41 and 2.71 CFU/g respectively. Significant differences were documented only in the occurrence of HP and *Candida*.