

УДК 616.33-002.2-07:579.835.12+616.34-008.3-07

ВЛИЯНИЕ ВНУТРИКЛЕТОЧНЫХ "ДЕПО" ХЕЛИКОБАКТЕРНОЙ ИНФЕКЦИИ НА ДОСТОВЕРНОСТЬ СТУЛ-ТЕСТА ПРИ ТЕСТИРОВАНИИ БОЛЬНЫХ ХРОНИЧЕСКИМ НЕАТРОФИЧЕСКИМ ГАСТРИТОМ

Авраменко А.А.

*Кафедра биологии человека и животных биологического факультета Николаевского Национального Университета им. В.А. Сухомлинского, Центр прогрессивной медицины и реабилитации "Rea+Med", г. Николаев
E-mail: aaahelic@mksat.net*

Было комплексно обследовано 32 больных хроническим неатрофическим гастритом, у которых было выявлено внутриклеточное "депо" НР-инфекции. После выявления у пациентов внутриклеточных "депо" НР-инфекции дополнительно проводился стул-тест. Отрицательным стул-тест был в ситуации, когда в "депо" находилась большая часть НР, а на поверхности слизистой желудка небольшое количество бактерий, что подтверждалось проведением уреазного теста, при котором достоверно ($p < 0,05$) более длительно фиксировалась наступление положительной реакции у пациентов 2-ой группы.

Ключевые слова: хронический неатрофический гастрит, внутриклеточное "депо" хеликобактерной инфекции, стул-тест.

Введение

Широкое внедрение в гастроэнтерологическую практику такого метода, как стул-тест, основой которого является выявление антигенов хеликобактерной инфекции (НР) в кале (в роли антигенов выступают липополисахариды оболочки бактерий) с применением моноклональных антител, породило необходимость более детально изучить причины, влияющие на достоверность этого теста [1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8]. Проведенные ранее исследования показали, что при низкой концентрации хеликобактерной инфекции на слизистой желудка, а также при наличии НР в неактивной (коккообразной) форме, стул-тест будет ложноотрицательным [1]. Однако НР-инфекция способна проникать внутрь париетальных клеток и формировать внутриклеточное "депо" данной инфекции [9]. Отсутствие в доступной нам литературе данных о параллельных исследованиях с использованием стул-теста и методов, кото-

рые могут определять наличие внутриклеточных "депо" НР - инфекции (сравнительная характеристика данных уреазного теста и микроскопирования окрашенных мазков-отпечатков) [10, 11] стали поводом для наших исследований.

Материалы и методы

Было комплексно обследовано 32 больных хроническим неатрофическим гастритом, у которых было выявлено внутриклеточное "депо" НР-инфекции. Возраст больных колебался от 21-го до 52-х лет (средний возраст составил $33,14 \pm 1,41$ года); лиц мужского пола было 19 (59,4 %), женского - 13 (40,6 %). Стаж заболевания колебался от 6-ти до 34-х лет.

Комплексное обследование больных, позволяющее выявить внутриклеточное "депо" НР-инфекции, включало эзофагогастродуоденоскопию (ЭГДС) по общепринятой методике [12], двойное тестирование на НР (уреазный тест и

микроскопирование окрашенных по Гимза мазков-отпечатков), биопсийный материал для которых брался из 4-х топографических зон желудка: из средней трети антрального отдела и тела желудка по большой и малой кривизне по разработанной нами методике [10], а также гистологические исследования состояния самой слизистой желудка в этих же зонах, согласно последней классификации [13].

Выявление внутриклеточных "депо" НР-инфекции осуществлялась при сравнительной характеристике данных, полученных двумя методами с одного участка слизистой желудка: если данные по степени обсеменения слизистой желудка НР-инфекцией, полученные при проведении уреазного теста не совпадали с данными, полученными при микроскопировании окрашенных мазков-отпечатков (время наступления реакции при проведении уреазного теста соответствовала меньшей концентрации НР, чем это определялось при микроскопировании мазков), то это свидетельствовало о наличии внутриклеточных "депо" хеликобактерной инфекции [10].

Тест на выявление антигенов *H. pylori* в образцах фекалий, который является одношаговым иммунохроматографическим анализом, проводился согласно нашей модификации, позволяющей повысить достоверность этого теста. Для забора фекалий использовалась стандартная ёмкость с крышкой для забора мочи, так как она более удобная для проведения стул-теста ввиду широкого основания ёмкости. Забор фекалий осуществлялся стерильным шпателем по следующему принципу: если кал имел форму "колбаски", то образцы брались из 5-ти разных отделов "колбаски", если в форме "кучки" - из 5-ти зон "кучки". Объём фекалий в ёмкости занимал от ? до 1/3 объёма самой ёмкости. После забора необходимого объёма фекалии тщательно перемешивались прямо в ёмкости с

целью равномерного распределения антигенов. Образец фекалий брался из 5-ти точек полученной массы фекалий, погружался в пробирку с растворителем и взбалтывают до получения однородной суспензии образца [14].

После этого 5 капель или 150 мкл полученного образца наносился на указанный участок теста. Во время тестирования образец вступал в реакцию с окрашенным конъюгат (моноклональные антитела к антигенам *H. pylori* - красные микросферы, который предварительно наносился и высушивался на мембране тест-пластинки. Затем смесь мигрировала вдоль мембраны под действием капиллярных сил, и в случае положительного результата специфические антитела, имеющиеся на тестовом участке пластинки, захватывали окрашенный (красный) конъюгат. Смесь продолжала продвигаться вдоль мембраны до иммобилизованных антител, размещенных на контрольном участке пластинки, и появлялась линия зеленого цвета. Наличие этой линии являлось подтверждением достаточного количества использованного материала, заполнения капилляров мембраны, а также внутренним контролем качества реагентов. Тест считался отрицательным при наличии только полоски зеленого цвета, положительным - при наличии красной и зеленой полосок [1, 2, 16].

Последовательность обследования: сначала проводилась ЭГДС с забором биопсийного материала для проведения тестирования на НР и гистологических исследований слизистой желудка. Исследование проводилось утром, натощак, через 12-14 часов после последнего приёма пищи. Стул - тест проводился через 1 сутки после комплексного обследования. При этом учитывались данные предварительного опроса, целью которого было выяснение факта отсутствия приёма больными ингибиторов протонной помпы, антибиотиков, препаратов висмута и сукральфата в течение последних 3-х месяцев

[6, 15].

Полученные данные были обработаны статистически с помощью t-критерия Стьюдента с вычислением средних величин (M) и оценкой вероятности отклонений (m). Изменения считались статистически достоверными при $p < 0,05$. Статистические расчёты выполнялись с помощью электронных таблиц Excel для Microsoft Office.

Результаты исследования и их обсуждение

При проведении анализа данных, полученных после проведения стул-теста, все пациенты были сгруппированы в две группы: 1-я группа - 15 (46,9 %) пациента, у которых стул-тест был положительный, 2-я группа - 17 (53,1 %) пациента, у которых стул-тест был отрицательный. Данные, полученные при комплексном обследовании, проводились в сравнительной характеристике по группам.

При проведении ЭГДС у всех пациентов в 100 % случаев отсутствовал активный язвенный процесс как на слизистой желудка, так и на слизистой двенадцатиперстной кишки. У пациентов 1-ой группы в 3-х (20 %) случаев и у пациентов 2-ой группы в 2-х (11,8 %) имелись проявления перенесенных

в прошлом язвенной болезни ДПК в виде рубцовой деформации разной степени выраженности. У 7-ми (41,2 %) пациентов 2-ой группы в полости желудка определялось наличие желчи.

При анализе данных, полученных при гистологическом исследовании состояния слизистой желудка у всех пациентов в 100 % случаев был выявлен хронический воспалительный процесс как в активной, так и в неактивной форме разной степени тяжести.

Данные тестирования на НР-инфекцию представлены в таблице 1.

При проведении анализа полученных данных можно отметить отсутствие у пациентов обеих групп на слизистой антрального отдела желудка по большой кривизне и активных, и неактивных форм НР-инфекции, а на слизистой антрального отдела по малой кривизне - наличие активных форм при низкой концентрации (не более (+)). На слизистой тела желудка и по большой, и по малой кривизне у пациентов обеих групп отмечалось наличие активных форм НР-инфекции при высокой концентрации (больше (++)). Наличие внутриклеточных "депо" НР-инфекции у пациентов 1-ой группы подтверждалось в теле желудка по большой кривизне у

Таблица 1
Уровень обсеменения хеликобактерной инфекцией слизистой желудка у больных с положительным и отрицательным стул-тестом

Топографические зоны желудка	Данные по степени обсеменения слизистой желудка разными формами НР-инфекции и скорости уреазного теста					
	1-я группа (n = 15)			2-я группа (n = 17)		
	Активные формы M ± m / (+)	Неактивные формы M ± m / (+)	Уреазный тест M ± m /мин	Активные формы M ± m / (+)	Неактивные формы M ± m / (+)	Уреазный тест M ± m /мин
Антральный отдел желудка	а) 0 ± 0,0 б) 0,81 ± 0,31	а) 0 ± 0,0 б) 0 ± 0,0	а) 0 ± 0,0 б) 638,17 ± 1,39	а) 0 ± 0,0 б) 0,85 ± 0,33	а) 0 ± 0,0 б) 0,91 ± 0,33	а) 0 ± 0,0 б) 614,17 ± 1,28
Тело желудка	а) 2,63 ± 0,31 б) 2,72 ± 0,31	а) 0 ± 0,0 б) 0 ± 0,0	а) 96,14 ± 1,34 б) 83,18 ± 1,33	а) 2,87 ± 0,33 б) 2,83 ± 0,33	а) 1,00 ± 0,33 б) 0 ± 0,0	а) 651,13 ± 1,23 б) 584,17 ± 1,28

Примечание: n – количество исследований, а) большая кривизна, б) малая кривизна

13-ти (86,7 %), в теле желудка по малой кривизне - у 15-ти (100 %) пациентов; во 2-ой группе внутриклеточные "депо" НР-инфекции были выявлены в теле желудка и по большой, и по малой кривизне в 100 % случаев.

При сравнительной характеристике данных по степени обсеменения слизистой аналогичных зон желудка активными формами НР, полученными после проведения микроскопирования мазков-отпечатков, в обеих группах достоверных различий выявлено не было ($p > 0,05$); при сравнительной характеристике данных по степени обсеменения слизистой аналогичных зон желудка активными формами НР, полученными после проведения уреазного теста, достоверно ($p < 0,05$) более длительно фиксировалась наступление положительной реакции у пациентов с внутриклеточными "депо" в теле желудка и по большой, и по малой кривизне во 2-ой группе по сравнению с данными, полученными при тестировании тех же зон в теле желудка у пациентов 1-ой группы.

Данные, полученные при исследовании, подтверждают данные, полученные в нами ранее: достоверность стул-теста напрямую зависит от степени обсеменения слизистой желудка активными формами НР-инфекции [1]. При наличии внутриклеточных "депо" НР-инфекции достоверность стул-теста будет зависеть от того, какая масса НР находится на поверхности слизистой и может подвергаться смыванию в кишечник с формированием антигенов, а какая находится в "депо": если в "депо" находится небольшая часть НР, а на поверхности слизистой желудка большое количество бактерий, то стул-тест будет положительный, если ситуация будет противоположная - стул-тест будет отрицательный, что подтверждается проведением уреазного теста: чем меньше бактерий на поверхности слизистой, которые способны контактировать с реактивом, тем больше време-

ни проходит, пока не будет зафиксирована положительная реакция.

Выводы

1. Стул - тест недостоверен при наличии внутриклеточных "депо" НР-инфекции в ситуации, когда большая часть бактерий находится в "депо", а на поверхности слизистой желудка НР присутствует при низкой концентрации.

Литература

1. Авраменко А.А. Достоверность стул-теста при тестировании больных хроническим хеликобактериозом при наличии активных и неактивных форм хеликобактерной инфекции на слизистой оболочке желудка / А.А. Авраменко // Сучасна гастроентерологія. - 2014. - № 3 (77). - С.22 - 26.
2. Бичков М. А. Надійність антигенного калового тесту в діагностиці гелікобактеріозу / М.А. Бичков // Сучасна гастроентерологія. - 2011. - № 6 (62). - С. 48-50.
3. Диагностическая значимость дыхательных тестов в диагностике инфекций *Helicobacter pylori* / И. В. Маев, С.И. Рапопорт, В.Б. Гречушников [и др.] // Клиническая медицина. - 2013. - № 2. - С.29 - 33.
4. Эволюция представлений о диагностике и лечении инфекции *Helicobacter pylori* (по материалам консенсуса Маастрихт I V, Флоренция, 2010) / И.В. Маев, А.А. Самсонов, Д.Н. Андреев [и др.] // Вестник практического врача. - 2012. - № 1. - С.19 - 26.
5. Циммерман Я.С. "Маастрихтский консенсус - 4" (2011): основные положения и комментарии к ним / Я.С. Циммерман // Клиническая медицина. - 2012. - № 9. - С.28 - 34.
6. Чубенко С.С. Опыт клинического использования экспресс-определения антигенов *H. Pylori* в кале при диагностике хеликобактериоза / Чубенко С.С., Иманова И.Р., Чубенко Д.С. // Сучасна гастроентерологія. - 2009. - № 3 (47). - С. 5 - 8.
7. Шептулин А.А. Обсуждение докладов рабочего совещания Европейской группы по изучению инфекции *Helicobacter pylori* (Любляна, 2012) / А.А. Шептулин // РЖГГК. - 2013. - № 3. - С. 85 - 88.

8. Шептулин А.А. Обсуждение проблемы инфекции *Helicobacter pylori* в докладах 19-ой Объединённой европейской недели гастроэнтерологии / А.А. Шептулин, Ю.В. Евсютина // РЖГГК. - 2012. - № 5. - С. 88 - 92.
9. Авраменко А.А. Частота выявления внутриклеточных депо хеликобактерной инфекции у больных хроническим хеликобактериозом при их плановом тестировании (результаты 529 исследований) / А.А. Авраменко, И.Н. Шухтина // Загальна патологія та патологічна фізіологія. - 2012. - Т.7, № 3. - С.124 - 127.
10. 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 / А.О. Авраменко.- № у 200603422; Заявл.29.03.06;Опубл. 16.10.06, Бюл. № 10.- 4 с.
11. Авраменко А. А. Хеликобактериоз /А. А. Авраменко, А. И. Гоженко - Николаев, "X- press полиграфия", 2007. - 336 с.
12. Ендоскопія травного каналу. Норма, патологія, сучасні класифікації / За ред. В.Й. Кімаковича і В.І. Нікішаєва. - Львів: Видавництво Медицина Світу, 2008. - 208 с., іл. 4.
13. Меркулов Г.А. Курс патогистологической техники / Г.А. Меркулов. - М.:Медицина,1988. - 253 с.
14. Патент на корисну модель № 93 273 Україна, UA МПК G01N 33/48 (2006.01) Спосіб тестування гелікобактерної інфекції у хворих на хронічний гелікобактеріоз / А.О. Авраменко - № у 2014 03956; Заявл. 14.04.2014; Опубл.25.09.2014.; Бюл. № 18,2014. - 3 с.
15. Avramenko A.O. The effect of proton pump inhibitors on formation of inactive (coccoid) forms of *H. pylori* infection / A.O. Avramenko // Clinical Pharmacy. - 2013. - Vol. 17, No. 4. - P.15 - 17.
16. Pharmasco - лабораторія в кишені (каталог продукції). - Київ,2012. - С.24.
1. Avramenko A.A. 2014, "Credibility chair test when testing patients with chronic *Helicobacter pylori* infection in the presence of active and inactive forms of *H. pylori* infection on gastric mucosa", Modern Gastroenterology, No 3 (77), pp.22 - 26. (in Russian).
2. Bychkov M.A. 2011, "Reliability fecal antigen test in the diagnosis gelikobakterioza", Modern Gastroenterology, No 6 (62), pp. 48-50. (in Ukrainian).
3. Maiev I.V., Rapoport S.I., Grechushnikov V.B. and al. 2013, "The diagnostic value of the tests in the diagnosis of respiratory infections *Helicobacter pylori*", Clinical Medicine, No 2, pp. 29 - 33. (in Russian).
4. Maiev I.V., Samsonov A.A., Andreev D.N. and al. 2012, "The evolution of ideas about the diagnosis and treatment of infection *Helicobacter pylori* (based on consensus Maastricht IV, Florence, 2010)", Bulletin of the practicing physician, No 1, pp.19 - 26. (in Russian).
5. Zimmermann Y.S. 2012, "The Maastricht Consensus - 4" (2011): Fundamentals and commentaries", Clinical Medicine, No 9, pp.28 - 34. (in Russian).
6. Chubenko S.S., Imanov I.R., Chubenko D.S. 2009, "Experience in the clinical use of rapid antigen detection in stool *H. Pylori* in the diagnosis helikobakterioz", Modern gastroenterology, No 3, pp. 5 -8. (in Russian).
7. Sheptulin A.A. 2013, "Discussion papers of the workshop of the European Group for the Study of Infection *Helicobacter pylori* (Ljubljana 2012)", RZHGGK, No 3, pp 85 - 88. (in Russian).
8. Sheptulin A.A., Evsyutin Y. V. 2012, "Discussion of problems of *Helicobacter pylori* infection in the reports of the 19th European United Gastroenterology Week", RZHGGK, No 5, pp. 88 - 92. (in Russian).
9. Avramenko A.A., Shuhtina I.N. 2012, "The detection rate of intracellular stores of *H. pylori* infection in patients with chronic *Helicobacter pylori* infection during their routine testing (results of 529 studies)", General pathology and pathological physiology, Vol.7, No 3, pp.124 - 127. (in Russian).
10. Avramenko A.O. Patent for Utility Model number 17723 Ukraine, UA IPC A61V1 / 00 Method of diagnosis of chronic gastritis type B, and peptic ulcer disease and gastric cancer associated with *Pylori* infection.- № у 200603422; Zayavl.29.03.06; Publish. 10.16.06, Bull. Number 10. - 4 p. (in Ukrainian).
11. Avramenko A.A., Gozhenko A.I. 2007,

References

1. Avramenko A.A. 2014, "Credibility chair test when testing patients with chronic *Helicobacter pylori* infection in the presence of active and inactive forms of *H. pylori* infection on gastric mucosa", Modern Gastroenterology, No 3 (77),

- "Helikobakterioz". - Nikolaev, "X-press printing". - 336 p. (in Russian).
12. Kimakovych V.J., Nikishayev V.I., Tumas I.M. and al. 2008, "Endoscopy gastrointestinal tract. Norma, pathology, modern classification" / edited V.I. Kimakovycha and V.I. Nikishayeva. - Lviv: Publishing Medical World, 2008. - 208 p., Ill. 4./ For Ed. VJ Kimakovicha i V.I. Nikishaeva. - Lviv: Publishing World Medicine. - 208 p., Il. 4. (in Ukrainian).
 13. Merkulov G.A. 1988, "Course pathohistological techniques". - M: Medicine. - 253 p. (in Russian).
 14. Avramenko A.A. Patent for Utility Model number 93273 Ukraine, UA MPK G01N 33/48 (2006.01) Testing method Pylori infection in patients with chronic gelikobakterioza. - № u 2014 03956; Zayavl. 14.04.2014; Publish.25.09.2014.; Bull. Number 18,2014. - 3 p. (in Ukrainian).
 15. Avramenko A.O. 2013, "The effect of proton pump inhibitors on formation of inactive (cocoid) forms of H. pylori infection", Clinical Pharmacy, Vol. 17, No. 4, pp.15 - 17. (in English).
 16. "Pharmasco- lab in your pocket (product catalog)". - Kyiv, 2012. - p.24. (in Ukrainian).

Резюме

ВПЛИВ ВНУТРІШНЬОКЛІТИННИХ "ДЕПО" ГЕЛІКОБАКТЕРНОЇ ІНФЕКЦІЇ НА ДОСТОВІРНІСТЬ ВИПОРОЖНЕННЯ-ТЕСТУ ПРИ ТЕСТУВАННІ ХВОРИХ НА ХРОНІЧНИЙ НЕАТРОФІЧНИЙ ГАСТРИТ.

Авраменко А.О.

Було комплексно обстежено 32 хворих на хронічний неатрофічний гастрит, у яких було виявлено внутрішньоклітинне "депо" НР-інфекції. Після виявлення у пацієнтів внутрішньоклітинних "депо" НР-інфекції додатково проводився випорожнення-тест. Негативним порожнення-тест був у ситуації, коли в "депо" знаходилася велика частина НР, а на поверхні слизової шлунка невели-

ка кількість бактерій, що підтверджувалося проведенням уреазного тесту, при якому достовірно ($p < 0,05$) триваліше фіксувався наступ позитивної реакції у пацієнтів 2-ї групи.

Ключові слова: *хронічний неатрофічний гастрит, внутрішньоклітинне "депо" гелікобактерної інфекції, випорожнення-тест.*

Summary

EFFECT OF INTRACELLULAR "DEPOT" OF H. PYLORI INFECTION ON RELIABILITY STOOL TEST FOR TESTING NON-ATROPHIC CHRONIC GASTRITIS.

Avramenko A.A.

Was comprehensively examined 32 patients with chronic non-atrophic gastritis, which was revealed intracellular "depot" of HP infection. After identifying patients intracellular "depot" HP infection additionally held the stool test. Negative stool test was in a situation where a "depot" was a large part of HP, but on the surface of the gastric mucosa a few bacteria that confirms the urease test, during which significantly ($p < 0.05$) was recorded over long offensive positive reaction patients the second group.

Keywords: *chronic non-atrophic gastritis, intracellular "depot" of H. pylori infection, stool test.*

Впервые поступила в редакцию 20.11.2014 г. Рекомендована к печати на заседании редакционной коллегии после рецензирования