



НЕИНВАЗИВНЫЕ МЕТОДЫ ДИАГНОСТИКИ *HELICOBACTER PYLORI* ИНФЕКЦИИ В СОВРЕМЕННЫХ ВЗГЛЯДАХ

ХудайбергANOва Н.Х., Солихов М.У.

Ташкентский государственный медицинский университет

Патогенность многих бактерий, колонизирующих желудочно-кишечный тракт, часто зависит от их способности получать доступ к клеткам, которые обычно не являются фагоцитарными. *Helicobacter pylori* (Hр) колонизирует желудок более чем у половины населения мира и является основной причиной язвенной болезни и рака желудка [5-9]. Обычно его считают неинвазивным патогеном, присутствующим только в просвете желудка и прикрепленным к эпителиальным клеткам желудка, хотя ряд исследований *in vivo* и *in vitro* продемонстрировали, что Hр на самом деле является инвазивным. Кроме того, Hр может повторно заселять внеклеточную среду после полного устранения внеклеточных бактерий гентамицином, что позволяет предположить, что его можно считать факультативной внутриклеточной бактерией [15-19]. В этом обзоре рассматривается обоснованность этих наблюдений и описываются доказательства, предполагающие, что внутриклеточное присутствие Hр играет роль в индукции заболеваний, в уклонении от иммунного ответа и в пожизненном сохранении бактерии в желудке большинства людей [1-4].

Инвазивность многих патогенов играет роль в их вирулентности и патогенности, возможно, что инвазивность играет роль в патогенности Hр [25-29]. Настоящий обзор обновляет имеющуюся на тот момент информацию и суммирует данные *in vivo* и *in vitro*, демонстрирующие, что Hр может проникать в слизистую оболочку желудка и присутствовать в эпителиальных клетках желудка и иммунocyтах. В обзоре также обсуждается, играет ли инвазивность Hр роль в персистенции и патогенности бактерии [10-14].



Метод неинвазивный – это значит, что для исследования подозрительного новообразования не требуется забор тканей для проведения биопсии. Неинвазивные диагностические тесты включали дыхательный тест на мочевины, тест на антиген стула, серологические и молекулярные исследования [20-24].

Если говорить о тенденциях в развитии методов диагностики, то в последние годы произошел сдвиг в сторону неинвазивных методов, где достигнут наибольший прогресс.

Уреазный дыхательный тест (УДТ). Прежде всего, следует сказать, что в развитых странах в последние годы стандартным методом контроля за эрадикацией стал именно этот тест. Тест основан на способности уреазы разлагать мочевины до HCO_3^- и NH_4^+ . Из HCO_3^- образуется CO_2 , который попадая в кровоток затем транспортируется в легкие.

Для проведения УДТ необходима мочевины, меченная радиоактивным углеродом ^{13}C или ^{14}C . Чаще в клинической практике используется нерадиоактивный стабильный углерод ^{13}C . ^{14}C используется реже, так как является источником излучения низко энергетических β -частиц, которые обнаруживаются сцинтиляционным счетчиком. Изотоп количественно определяют газовым хроматомасс-спектрометром или с помощью инфракрасного и лазерного оборудования.

В начале исследования берутся 2 фоновые пробы выдыхаемого воздуха. Далее пациент съедает легкий завтрак и тестовый субстрат и в течение 1 часа, с интервалом в 15 минут у него берут по 4 пробы выдыхаемого воздуха. Уровень радиоактивного изотопа в выдыхаемом воздухе определяют в течение 10-30 минут. Затем пробирки направляются на масс-спектрометрию. Результат выражается как приращение $^{13}\text{CO}_2 - \text{d}^{13}\text{CO}_2$, его экскреция (‰) и считается положительным при значениях выше 5%.

В развитых странах данный тест считается основным для выявления *Helicobacter pylori* - инфекции, однако сдерживающими факторами для



повсеместного использования этой методики являются стоимость оборудования (масс-спектрометр) и изотопа. Поскольку уменьшение стоимости изотопа невозможно, были предложены варианты масс-спектрометров на основе лазерного и инфракрасного излучения, стоимость которых существенно ниже. С другой стороны, использование микрокапсул для упаковки мочевины, меченной радиоактивным изотопом, позволило свести к минимуму трудности, связанные с хранением, утилизацией и безопасностью данного изотопа. Показаниями для проведения УДТ служат: эпидемиологические исследования, скрининг перед эндоскопией и наблюдение за больным после лечения.

Иммунологический метод. Колонизация Нр вызывает системный иммунный ответ. Через 3-4 недели после инфицирования в слизистой оболочке и в крови больных появляются антитела к Нр. Эти антитела определяются путем иммуноферментного анализа. Выявляют антитела IgG, IgA, IgM-классов в крови и секреторные sIgA, sIgM в слюне и желудочном соке.

Поскольку инфекция является хронической и ее спонтанный клиренс невозможен, то положительные серологические тесты у нелеченных пациентов указывают на наличие текущей инфекции. Несмотря на то, что уровень антител в процессе успешной эрадикации падает, серологическая реакция остается положительной в течение ряда лет. Этот “серологический рубец” ограничивает возможности исследования крови для оценки эффективности лечения или для диагностики наличия у больного Нр. Однако быстрое падение уровня антител косвенно может указывать на санацию СОЖ.

Имеется несколько модификаций этого теста: -ELISA- (ферментный иммуносорбентный метод), реакции фиксации комплемента, бактериальной и пассивной гемагглютинации.

Классический иммуноферментный анализ с количественным определением в сыворотке или плазме крови больных антихеликобактерных антител разных классов характеризуется высокой чувствительностью и



специфичностью, в пользу чего свидетельствуют сравнительные исследования наборов для проведения таких анализов, выпускаемых различными производителями. Данный метод идеален для первичной диагностики, так как при высокой чувствительности и специфичности (более 90% по сравнению с инвазивными методами, включая ПЦР) он на сегодняшний день самый дешевый. Увеличение чувствительности и специфичности метода, вследствие совершенствования технологии, позволило применить его для диагностики эрадикации, и если 5 лет назад диагностика эрадикации с помощью иммуноферментного анализа была возможна только через 8-12 месяцев после лечения, то для выпускаемых в настоящее время наборов для ИФА этот срок уменьшился до 3 месяцев.

Использование же высокочувствительных наборов, в основу которых положен непрямой ИФА с применением антигена Нр, меченного биотином, позволяет зафиксировать снижение концентрации специфических антител уже через 30-40 дней после окончания успешного лечения, и, таким образом, укладывается в сроки оценки эрадикации, принятые для инвазивных методов и дыхательного теста. Учитывая это обстоятельство, и то, что стоимость такого анализа ненамного выше обычного ИФА, следует признать его весьма перспективным.

ИФА в кале. Безусловной сенсацией 1998 года явилось появление на рынке теста для количественного определения антигена Нр в фекалиях больных с помощью ИФА. Мультицентровое исследование в странах ЕС, проведенное более чем на 400 больных, подтвердило его высокую эффективность в определении эрадикации в сравнении с инвазивными методиками и дыхательным тестом. Более того, полученные данные свидетельствуют, что с помощью этого теста можно мониторировать лечение, то есть прогнозировать эффект антихеликобактерной терапии.

Иммуноблотинг существенно уступает другим иммунологическим методам как по стоимости, так и по трудоемкости выполнения анализа, однако



только с его помощью можно, имея лишь сыворотку крови больного, получить данные о свойствах штамма *Hp* (продуцирует ли он CagA и VacA).

ПЦР в кале. На конференциях Канадской группы по изучению *Helicobacter pylori* (CSHPG) и Европейской группы по изучению *Helicobacter pylori* (ESHPG) были приняты рекомендации по диагностике и лечению *Hp* инфекции у детей, в которых указывалось на предпочтительность неинвазивной диагностики этой инфекции, особенно при контроле лечения. На основании этих рекомендаций в Европе и Америке для диагностики *Hp* инфекции в настоящее время используют иммуноферментный анализ (ИФА) для определения антител против *Hp* (серологический метод) и уреазный дыхательный тест с C^{13} меченым атомом углерода ($[^{13}C]UBT$).

Однако, серологический метод на практике оказался малоэффективным для диагностики *Hp* инфекции у детей. Так, при первичной диагностике *Hp* инфекции у детей в ряде случаев отмечается слабый иммунный ответ, а это, в свою очередь, затрудняет верификацию антител против *Hp*. Из-за медленного снижения титра антител после успешно проведенной противохеликобактерной терапии, которое продолжается в течение 6 месяцев, серологический метод, как оказалось, мало пригоден и при раннем контроле лечения как у детей, так и у взрослых.

Несколько лет назад в Европе появился новый неинвазивный тест, на основе ИФА, позволяющий определять антиген *Hp* в кале – Premier Platinum *HpSA*. Многочисленные мультицентровые исследования, как в нашей стране, так и за рубежом показали высокую чувствительность и специфичность этого теста при первичной диагностике *Hp* инфекции и контроле лечения. Этот тест был признан «золотым стандартом» в диагностике *Hp* инфекции. Единственным ограничением широкого использования этого теста в клинической практике остается его высокая стоимость по сравнению с другими методами диагностики хеликобактериоза.



Чувствительность нового неинвазивного метода диагностики *Helicobacter pylori* инфекции в кале у взрослых составила 91,1%. Созданная тест-система на основе ПЦР, позволяет верифицировать ДНК *Hp* в кале у детей и взрослых и не уступает по чувствительности и специфичности Premier Platinum *HpSA* - тесту.

При проведении первой серии экспериментов верификации ДНК *Hp* в кале у взрослых чувствительность созданного нами теста оказалась значительно ниже и составила 75,6%. Более длительная эвакуация каловых масс у взрослых, по сравнению с детьми, по-видимому, способствовала разрушению ДНК *Hp*. Для увеличения скорости эвакуации кала, всем взрослым пациентам накануне исследования в качестве слабительного был назначен Дюфалак по 30 мл утром и вечером. После назначения слабительного и сокращения времени эвакуации кала чувствительность ПЦР-метода при первичной диагностике *Hp* инфекции у взрослых стала такой же, как при первичной диагностике у детей и составила 91,1%.

Использование ПЦР-теста на 4-ой неделе после успешно проведенной противохеликобактерной терапии показало низкую специфичность, созданного нами теста, которая составила – 75,7%.

При проведении контроля лечения на 6-ой неделе была отмечена тенденция к снижению количества ложноположительных результатов и специфичность, созданного нами теста составила – 93,9%.

На 8-ой неделе специфичность теста составила 100%. Не было получено ни одного ложноположительного результата.

L. Trevisani и R. Ohkura также обратили внимание на высокий процент ложноположительных результатов при постановке Premier Platinum *HpSA* теста на 4-6 неделе после успешно проведенной противохеликобактерной терапии. Полученные ложноположительные результаты они объяснили возможностью персистенции в организме пролеченных пациентов кокковых



форм Нр, количество которых, скорее всего, начинает со временем снижаться и полностью отсутствует на 8-12 неделе.

G. Masoero и соавт. показали, что подобные проблемы могут встречаться и при использовании для контроля лечения ^{13}C УДТ.

Тем не менее, следует отметить, что потеря специфичности при использовании неинвазивных методов для контроля лечения не сопровождается потерей их чувствительности.

К преимуществам созданного нами ПЦР-теста можно, прежде всего, отнести его неинвазивность, простоту и быстроту выполнения и относительно низкую себестоимость по сравнению с ИФА, дыхательным тестом, бактериологическим и гистологическим методами исследования. Ввиду невысокой стоимости данного теста он может быть использован не только для первичной диагностики Нр инфекции, но и для эпидемиологических исследований.

ЛИТЕРАТУРА.

1. Аликулов, И. Т., Хайтимбетов, Ж. Ш., Нарзиев, Н. М., Ботирова, Н. А. (2023). Изучение особенностей клинического течения заболевания у больных хронической сердечной недостаточностью с дисфункцией почек. Journal of new century innovations, 21(2), 185-189.
2. Жураев, Б., Гулиев, Х. Т., Аликулов, И. Т. (2019). Изучение факторов риска сердечно-сосудистых заболеваний у больных гипертонической болезнью с цереброваскулярными нарушениями. Евразийский кардиологический журнал, (S1), 105.
3. Мирахмедова, Х. Т., Нигина, Б., Нарзиев, Н. М., Аликулов, И. Т. (2023). General Examination of the Patient (General Condition of the Patient, Consciousness, Position, Physique). Examination by Parts of the Body: Head, Face, Neck, Limbs, Skin Integuments.



4. Худайберганова, Н. Х., Аликулов, И. Т. (2023). Helicobacter Pylorosis in Children: Features of Diagnosis and Treatment. European Science Methodical Journal, 1(9), 23-28.
5. Худайберганова, Н. Х., Азадаева, К. Э., Аликулов, И. Т. (2023). Determination of Nutrition-Dependent Micronutrient Deficiencies Among School-Age Children.
6. Худайберганова, Н. Х., Ахмедова, И. М., Аликулов, И. Т. (2024). Проблема клинической патогенности helicobacter pylori в гастроэнтерологии (Обзор).
7. Худайберганова, Н. Х., Рахматуллаева, Г. К., Аликулов, И. Т. (2023). Инфекция helicobacter pylori и принципы терапии у детей.
8. Kamilova, U. K., & Alikulov, I. T. (2014). Assessment of indicators of renal dysfunction in patients with chronic heart failure. Cardiovascular therapy and prevention, 13(2), 51-54.
9. Мирахмедова, Х. Т., Нигина, Б., Нарзиев, Н. М., & Аликулов, И. Т. (2023). General Examination of the Patient (General Condition of the Patient, Consciousness, Position, Physique). Examination by Parts of the Body: Head, Face, Neck, Limbs, Skin Integuments.
10. Khudayberganova, N. K., Rakhmatullaeva, G. K., & Alikulov, I. T. (2023). Helicobacter pylori infection and principles of therapy in children. Best Intellectual Research, 9(3), 272-277.
11. Худайберганова, Н. Х., Ахмедова, И. М., & Аликулов, И. Т. (2024). Проблема клинической патогенности helicobacter pylori в гастроэнтерологии (Обзор). Miasto Przyszłości, 47, 593-601.
12. Мирзаева, Г. П., Жаббаров, О. О., Аликулов, И. Т., Бувамухамедова, Н. Т., & Рахматов, А. М. (2022). Особенности течения подагрического поражения почек у больных с ожирением.



13. Khudayberganova, N. K., & Alikulov, I. T. (2023). Helicobacter pylorosis in children: Features of diagnosis and treatment. European Science Methodical Journal, 1(9), 23-28.
14. Khudayberganova, N. K., Azadaeva, K. E., & Alikulov, I. T. (2023). Determination of Nutrition-Dependent Micronutrient Deficiencies Among School-Age Children.
15. Камилова У.К., & Аликулов И.Т. (2014). Оценка показателей дисфункции почек у больных с хронической сердечной недостаточностью. Кардиоваскулярная терапия и профилактика, 13 (2), 51-54.
16. Жураев Б., Гулиев Х.Т., & Аликулов И.Т. (2019). ИЗУЧЕНИЕ ФАКТОРОВ РИСКА СЕРДЕЧНО-СОСУДИСТЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ У БОЛЬНЫХ ГИПЕРТОНИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНЬЮ С ЦЕРЕБРОВАСКУЛЯРНЫМИ НАРУШЕНИЯМИ. Евразийский кардиологический журнал, (S1), 105.
17. Аликулов, И. Т., Хайтимбетов, Ж. Ш., & Нарзиев, Н. М. (2023). Myocardial infarction: patogenesis, signs and symptoms, diagnosis.
18. Khudayberganova, N. K., Akhmedova, I. M., & Alikulov, I. T. (2024). The problem of clinical pathogenicity of helicobacter pylori in gastroenterology. Miasto Przyszłości, 47, 593-601.
19. Аликулов, И. Т., Хайтимбетов, Ж. Ш., & Абдакимова, Б. И. (2024). Ремоделирование сердца у больных хронической сердечной недостаточностью и хронической болезнью почек. Journal of new century innovations, 52(3), 44-49.
20. Камилова, У. К., Икрамова, Ф. А., Аликулов, И. Т., & Абдуллаева, Ч. А. (2021). Оценка показателей качества жизни у больных хронической сердечной недостаточностью с дисфункцией почек. In XVI Национальный конгресс терапевтов с международным участием (pp. 29-29).
21. Mirzaeva, G. P., Zhabbarov, O. O., Alikulov, I. T., Buvamukhamedova, N. T., & Rakhmatov, A. M. (2022). Features of the course of gouty kidney damage in obese patients.



22. Juraev, B., Guliev, K. T., & Alikulov, I. T. (2019). Study of risk factors for cardiovascular diseases in hypertensive patients with cerebrovascular disorders. Eurasian Journal of Cardiology,(S1), 105.
23. Kamilova U.K., Alikulov I.T. KIDNEY DYSFUNCTION EVALUATION IN CHRONIC HEART FAILURE PATIENTS. Cardiovascular Therapy and Prevention. 2014;13(2):51-54. (In Russ.) <https://doi.org/10.15829/1728-8800-2014-2-51-54>
24. Kamilova, U., & Alikulov, I. T. (2014). Kidney dysfunction evaluation in chronic heart failure patients. Cardiovascular Therapy and Prevention. 2014; 13 (2): 51-4. Russ.) doi, 10, 1728-8800.
25. Kamilova, U. K., & Alikulov, I. T. Renal dysfunction evaluation in chronic heart failure patients. Cardiovascular Therapy and Prevention, 2014, vol. 13, no. 2. <https://doi.org/10.15829/1728-8800-2014-2-51-54>, 51-54.
26. Худайберганаева, Н. Х., Рахматуллаева, Г. К., & Аликулов, И. Т. (2023). Инфекция helicobacter pylori и принципы терапии у детей.