

Современные (Неинвазивные) Методы Диагностики Инфекции *Helicobacter Pylori*

Худайбергана Н. Х.¹

Ахмедова И. М.²

Талипов Р. М.³

Нурметов Х. Т.⁴

Аннотация: 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.

^{1,2,3,4} Ташкентская медицинская академия

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

Патогенность многих бактерий, колонизирующих желудочно-кишечный тракт, часто зависит от их способности получать доступ к клеткам, которые обычно не являются фагоцитарными. *Helicobacter pylori* (*Hp*) 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 *Hp* на самом деле является инвазивным. Кроме того, *Hp* 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 *Hp* играет роль в индукции заболеваний, в уклонении от иммунного ответа и в пожизненном сохранении бактерии в желудке большинства людей [1-4].

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 мочевина, 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 хромато-масс-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 пробы направляются на масс-спектрометрию. Результат выражается как приращение $^{13}\text{CO}_2$ – $\delta^{13}\text{CO}_2$, 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 *Hp* вызывает системный иммунный ответ. Через 3-4 недели после инфицирования в слизистой оболочке и в крови больных появляются антитела к *Hp*. 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 *Hp*. 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 Hp, 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 Hp 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 *Hp*, 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 ¹³C 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 *Hp* инфекции, но и для эпидемиологических исследований.

Литература.

1. Kh, K. N., & Rahmatullayeva, G. K. (2023). To Assess the Frequency of Iron Deficiency Anemia and Helicobacter Pylori Infection Among School-Age Children with Chronic Gastroduodenal Pathology. *European Science Methodical Journal*, 1(8), 10-18.
2. Khudayberganova, N. H., & Rakhmatullaeva, G. K. (2023). Prevalence of helicobacter pylori infection in children with gastroduodenal pathology. *Western European Journal of Medicine and Medical Science*, 1(4), 1-3.
3. Ахмедова, И. М., & Худайберганова, Н. Х. (2022). Внежелудочные проявления хронического гастродуоденита у детей.
4. Ахмедова, Н. А., Рахматуллаева, Г. К., Худайберганова, Н. Х., & Саидмуродова, М. С. (2024). Оптимизация лечение артериальной гипертензии у женщин в климактерическом периоде.

5. Нурметов, Х. Т., Талипов, Р. М., Худайбергана, Н. Х., Азадаева, К. Э., & Ходжиматова, И. Х. (2024). ОСОБЕННОСТИ ИММУННОГО СТАТУСА ПРИ НЕКОТОРЫХ ПИЩЕВАРИТЕЛЬНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЯХ.
6. Салаева, М. С., & Худайбергана, Н. Х. (2015). Взаимосвязь социальных факторов с параметрами качества жизни у больных хронической обструктивной болезнью легких. Вестник КГМА им. ИК Ахунбаева, (3), 74-79.
7. Талипов, Р. М., Нурметов, Х. Т., & Худайбергана, Н. Х. (2022). Достижение приверженности пациентов к выполнению врачебных назначений (Doctoral dissertation).
8. Талипов, Р. М., Тулабаева, Г. М., Сагатова, Х. М., Нурметов, Х. Т., & Худайбергана, Н. Х. (2021). Peculiarities of comorbidity in elderly patients with myocardial infarction. Узбекский медицинский журнал, 2(3).
9. Талипов, Р. М., Тулабаева, Г. М., Сагатова, Х. М., Нурметов, Х. Т., & Худайбергана, Н. Х. (2021). Особенности коморбидности у пациентов пожилого возраста с инфарктом миокарда. Узбекский медицинский журнал, 2(3).
10. Худайбергана, Н. Х. (2022). Клиническая характеристика *Helicobacter pylori* ассоциированной гастродуоденальной патологии у детей.
11. Худайбергана, Н. Х. (2023). Изучить инфекции *helicobacter pylori* у детей школьного возраста при хронической ассоциированной гастродуоденальной патологии.
12. Худайбергана, Н. Х. (2023). Клиническая эффективность применения препарата ферлатум для лечения железодефицитной анемии.
13. Худайбергана, Н. Х. (2024). Диагностики и лечения хеликобактериоза.
14. Худайбергана, Н. Х. (2024). Железодефицитной анемии у детей при хроническом гастродуодените.
15. Худайбергана, Н. Х., & Аликулов, И. Т. (2023). *Helicobacter Pylorosis in Children: Features of Diagnosis and Treatment*. European Science Methodical Journal, 1(9), 23-28.
16. Худайбергана, Н. Х., & Ахмедова, И. М. (2023). Клинико–биохимические особенности внежелудочных проявлений *helicobacter pylori* ассоциированной гастродуоденальной патологии у детей.
17. Худайбергана, Н. Х., & Ахмедова, И. М. (2023). Течение хронической гастродуоденальной патологии у детей и инфекция *helicobacter pylor*. Academic research in educational sciences, (1), 196-205.
18. Худайбергана, Н. Х., & Рахматуллаева, Г. К. (2023). Распространённость инфекции *helicobacter pylori* у детей с гастродуоденальной патологией. Лучшие интеллектуальные исследования, 9(3), 278-281.
19. Худайбергана, Н. Х., & Сибиркина, М. В. (2024). Диагностика и лечение гастродуоденальной патологий у детей, ассоциированной с хеликобактериозом.
20. Худайбергана, Н. Х., Азадаева, К. Э., & Аликулов, И. Т. (2023). Determination of Nutrition-Dependent Micronutrient Deficiencies Among School-Age Children.
21. Худайбергана, Н. Х., Азадаева, К. Э., Талипов, Р. М., Нурметов, Х. Т., & Ходжиматова, И. Х. (2024). Влияние Хеликобактериоза На Развитие Ревматоидного Артрита (Обзор).
22. Худайбергана, Н. Х., Азимова, М. М., & Абзалова, Д. А. (2024). ДИАГНОСТИКА ИНФЕКЦИИ *HELICOBACTER PYLORI* У ДЕТЕЙ. SCIENTIFIC JOURNAL OF APPLIED AND MEDICAL SCIENCES, 3(4), 252-261.

23. Худайберганава, Н. Х., Азимова, М. М., & Талипов, Р. М. (2023). Formation of Iron Deficiency Anemia in Children with Chronic Gastroduodenitis of Helicobacteriosis Etiology.
24. Худайберганава, Н. Х., Азимова, М. М., Эшмурзаева, А. А., & Гимадуддинова, А. Р. (2023). Влияние инфекции *helicobacter pylori* на течение хронического гастродуоденита у детей и этапы диагностики.
25. Худайберганава, Н. Х., Ахмедова, И. М., & Аликулов, И. Т. (2024). Проблема клинической патогенности *helicobacter pylori* в гастроэнтерологии (Обзор).
26. Худайберганава, Н. Х., Йулдошева, Д. Ш., Абзалова, Д. А., & Рашидова, М. А. (2019). Изучение пищевого статуса детей школьного возраста с избыточной массой тела. ТОМ–II, 361.
27. Худайберганава, Н. Х., Нурметов, Х. Т., & Хайдаралиев, С. У. (2024). Оценить частоту встречаемости железодефицитных анемий и инфекции *helicobacter pylori* среди детей школьного возраста при хронической гастродуоденальной патологии.
28. Худайберганава, Н. Х., Рахматуллаева, Г. К., & Аликулов, И. Т. (2023). Инфекция *helicobacter pylori* и принципы терапии у детей.
29. Худайберганава, Н. Х., Талипов, Р. М., & Хайдаралиев, С. У. (2023). Современные представления о формировании *helicobacter pylori* ассоциированной гастродуоденальной патологии у детей.