

1. **Авдеев В. Г.** Первичный склерозирующий холангит. Гепатологический форум. 2009; 1: 24—32.
2. **Лазебник Л. Б., Рыбак В. С., Ильченко Л. Ю.** Первичный склерозирующий холангит. Consilium Medicum. 2003; 5(3): 28—30.
3. **Губергриц Н. Б.** Сочетание первичного склерозирующего холангита и неспецифического язвенного колита у двух однояйцевых близнецов. Сучасна гастроентерология. 2009; 4(48): 83—7.
4. **Silveira M. G., Lindor K. D.** Primary sclerosing cholangitis. Can. J. Gastroenterol. 2008; 22(8): 689—98.
5. **Chapman R., Fevery J., Kalloo A.** et al. Diagnosis and management of primary sclerosing cholangitis. Hepatology. 2010; 51(2): 660—78.
6. **Schrumpf E., Boberg K. M.** Hepatic and extrahepatic malignancies and primary sclerosing cholangitis. Gut. 2003; 52: 165.
7. **Kim W. R., Wiesner R. H., Poterucha J. J.** et al. Hepatic retransplantation in cholestatic liver disease: impact of the interval to retransplantation on survival and resource utilization. Hepatology. 1999; 30(2): 395—400.
8. **Weismuller T. J., Wedemeyer J., Kubicka S.** et al. The challenges in primary sclerosing cholangitis — aetiopathogenesis, autoimmunity, management and malignancy. J. Hepatol. 2008; 48: S38—57.
9. **Rubio-Tapia A., Murray J. A.** The liver in celiac disease. Hepatology. 2007; 46(5): 1650—8.
10. **Comings D.E., Skubi K.B., Van Eyes J.** et al. Familial multifocal fibrosclerosis. Findings suggesting that retroperitoneal fibrosis, mediastinal fibrosis, sclerosing cholangitis, Riedel's thyroiditis, and pseudotumor of the orbit may be different manifestations of a single disease. Ann. Intern. Med. 1967; 66: 884—92.
11. **Scherr B., Tromm A., Voigt E.** et al. Association of primary sclerosing cholangitis and sarcoidosis. Med. Klin. 2001; 96(9): 550—4.
12. **Lamy P., Valla D., Bourgeois P.** et al. Primary sclerosing cholangitis and systemic lupus erythematosus. Gastroenterol. Clin. Biol. 1988; 12(12): 962.
13. **Jeevagan A.** Overlap of primary biliary cirrhosis and primary sclerosing cholangitis — a rare coincidence or a new syndrome. Int. J. Gen. Med. 2010; 3: 143—6.
14. **Verresen L., Waer M., Verberckmoes R.** et al. Primary sclerosing cholangitis associated with membranous nephropathy. Ann. Intern. Med. 1988; 108(6): 909—10.
15. **Cohard M., Rolachon A., Vetter D.** et al. Primary sclerosing cholangitis and autoimmune cochlear deafness: a new syndrome? Gastroenterol. Clin. Biol. 1993; 17(5): 391—4.
16. **Katsinelos P., Kountouras J., Paroutoglou G.** et al. Alopecia areata, primary sclerosing cholangitis, and ulcerative colitis: autoimmunity and apoptosis as common links? Dig. Dis. Sci. 2007; 52(5): 1288—92.
17. **Takikawa H., Takamori Y., Tanaka A.** et al. Analysis of 388 cases of primary sclerosing cholangitis in Japan; presence of a subgroup without pancreatic involvement in older patients. Hepatol. Res. 2004; 29: 153—9.
18. **Sakai M., Egawa N., Sakamaki H.** et al. Primary sclerosing cholangitis complicated with idiopathic thrombocytopenic purpura. Intern. Med. 2001; 40: 1209—14.
19. **White E., Melmed G.Y., Vasiliauskas E.A.** et al. A prospective analysis of clinical variables, serologic factors, and outcome of ileal pouch-anal anastomosis in patients with backwash ileitis. Dis. Colon Rect. 2010; 53(7): 987—94.
20. **Haskell H., Andrews C. W. Jr., Reddy S.I.** et al. Pathologic features and clinical significance of «backwash» ileitis in ulcerative colitis. Am. J. Surg. Pathol. 2005; 29(11): 1472—81.

Поступила 19.09.12

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2013

УДК 616.33-002.44-022:579.835.12]-07

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; ²ФГБУЗ Пермский клинический центр Федерального медико-биологического агентства России

Изучены специфичность и чувствительность клинико-диагностических тестов, характеризующих инфекцию Helicobacter pylori (HP) у пациентов с гастродуоденальными заболеваниями; проведена сравнительная оценка видового 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 тигликолевой 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, Staphylococcus, грибов рода Candida, HP; у пациентов с язвенной болезнью — Streptococcus, HP, грибов рода Candida при средней концентрации микробных клеток 3,4 и 2,7 IgKOE/г соответственно. Достоверные различия по частоте встречаемости микрофлоры в слизистой оболочке желудка отмечены между HP и грибами рода Candida.

Ключевые слова: Helicobacter pylori, информативность диагностических тестов, видовой состав мукозной микрофлоры желудка при гастритах и язвенной болезни

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; ²Perm Clinical Centre

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*, *Staphylococcus*, *Candida* fungi, and *HP* in patients with gastritis and *Streptococcus*, *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*.

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

Открытие в 1983 г. *Helicobacter pylori* (*HP*) — спиралевидной бактерии, колонизирующей слизистую оболочку желудка (СОЖ), связано с именами австралийских ученых В. Marshall и J. Warren [1]. 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 (МАЛТ-лимфомы) желудка низкой степени злокачественности.

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*-инфекции 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 [6—12], и проксимальный (кардиальный) РЖ, также не связанный с *HP*-инфекцией [13—16, 19—21]. Выдающийся клиницист и ученый В.Х. Василенко: [17] утверждал: «Язва является местным проявлением каких-то общих нарушений». Р. Соггеа [13] — 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) [4].

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% [19, 20]. 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 [14, 18, 19, 21].

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* [18]. 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—98,4%, специфичность 88,4—95%).

Из неинвазивных методов диагностики *HP* высокую оценку получили уреазный дыхательный тест с ¹³С-мочевинной (чувствительность 64—99%, специфичность 75—95%); метод определения антигенов *HP* в фекалиях (определение антигена *HP* в кале — HPSA) с помощью тест-системы (чувствительность 92—94%, специфичность 94—97%) и полимеразная цепная реакция (чувствительность 96,7%, специфичность 100%) [21—23]. Важно отметить, что исследование эффективности эрадикации *HP* должно проводиться не ранее чем через 4 нед после окончания курса лечения [23].

В то же время были установлены и определенные недостатки всех тестов, используемых для диагностики *HP*-инфекции. Так, при применении серологического метода определения в сыворотке крови антител к *HP* нельзя исключить возможности перекрестного реагирования антител. Кроме того, антитела к *HP* сохраняются в крови в течение 6 мес 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 *HP* и других микроорганизмов. Уреазные тесты не обеспечивают достоверных результатов, поскольку уреазная активность присуща не только *HP*, 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 *HP* и некоторых других микроорганизмов, обнаруженных в желудке [22].

Гиподиагностика *HP*-инфекции может объясняться либо низкой колонизацией *HP* биоптатов СОЖ, либо иммунодефицитным состоянием [22].

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

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

Маастрихтский консенсус-4 по диагностике и лечению *HP*-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 *HP* (IgG и др.); уреазный дыхательный тест с ¹³С-мочевинной и HPSA, отдавая предпочтение двум последним.

Ряд исследователей считают, что диагностика *HP*-инфекции должна быть комплексной [23, 24]. Вместе с тем до сих пор не определены критерии отбора тестов, которые должны входить в этот комплекс.

Таким образом, многие вопросы, связанные с выявлением *HP* у больных с гастродуоденальными заболеваниями, ассоциированными с *HP*-инфекцией, и определение оптимального комплекса диагностических тестов, которые призваны помочь клиницистам в решении важнейшей задачи — выяснении роли этого микроорганиз-

ма в развитии указанных болезней, весьма актуальны и еще ждут своего решения.

Мы поставили целью настоящего исследования разработку стандартного комплекса диагностических методик по определению *HP*-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 $54,9 \pm 4,93$ года, среди них было 64 (62,9%) мужчин и 46 (45,1%) женщин.

В комплекс исследований по выявлению *HP* 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 3 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 обезвоживали, обезжировали 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.

Посев биологического материала осуществляли после тщательного перемешивания и гомогенизации кусочков биоптата на вортексе (Lachema, Чехия) по усовершенствованной нами методике на 2 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 газогенераторных пакетами (AnaeroHiGas — Compylo Pack HiMedia (Индия) или Microaerophil Weston 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 (BioMerieux) (Франция) вместе с жидкой питательной средой, содержащей мочевины [25], или микропланшетный тест (Lachema, Чехия).

После 2 сут инкубации в стандартном режиме СКС проводили микроскопическое исследование препарата, окрашенного по Граму (при отсутствии визуального роста на питательном агаре продолжали термостатирование до 7 сут) и делали дополнительные высевы на питательные среды для первичного посева. После 5—7 сут инкубации биологических проб на чашках Петри оценивали характер роста микрофлоры. Идентификацию *HP* проводили по классической и собственной модифицированной методикам [26].

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-*HP*-антителами (ImmunoCard STAT HpSA, Германия). Перед проведением исследования образец фекалий предварительно разводили в 2 раза. Затем 3 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 *HP* был исключен уреазный дыхательный Хелик-тест по причине отказа от его проведения большинства пациентов исследуемой группы: 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 *HP*-инфекции у пациентов с гастродуоденальной патологией было использовано 9 наиболее часто встречающихся, по данным литературы [23, 24], 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 *HP* в биоптате; положительные результаты уреазного экспресс-теста; наличие антигена *HP* в кале (положительные результаты определения HPSA); присутствие СКС с биоптатом СОЖ изогнутых палочек, морфологически сходных с *HP*.

Из выборочной совокупности пациентов с заболеваниями гастродуоденальной зоны были сформированы 2 группы. В основную группу вошли 40 обследуемых с положительными посевами возбудителя из биоптата, что достоверно подтверждало наличие *HP*-инфицирования; контрольную группу составили 62 пациента без посева.

Таблица 1. Частота встречаемости признаков *HP*-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 <i>CagA</i> в сыворотке крови	21	52,5±7,9	11	17,7 ± 4,8	< 0,01
Данные гистологического исследования, подтверждающие <i>HP</i> -инфицирование	17	27,4 ± 7,1	6	9,6 ± 3,7	< 0,05
Данные цитологического исследования, подтверждающие <i>HP</i> -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 <i>HP</i> в кале	20	50,0 ± 7,9	0	0	< 0,001
Присутствие в СКС с биоптатом СОЖ изогнутых палочек, морфологически сходных с <i>HP</i>	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 *HP* проводили по методике ВОЗ [27] с расчетом чувствительности и специфичности исследуемого теста (набора признаков), характеризующего *HP*-инфекцию. Статистическая обработка материала проводилась с использованием таблицы Microsoft Excel 2013, 11.5612. 5606.

Результаты и обсуждение

Анализ частоты встречаемости трех клинико-инструментальных признаков и шести лабораторных показателей (всего 9 критериев), характеризующих *HP*-инфекцию и включенных в проводимое нами исследование у пациентов основной и контрольной групп, выявил достоверные отличия по 7 из них (табл. 1).

Исключение составили 2 признака, характеризующих перенесенные ранее гастродуоденальные заболевания: ХГ и гастродуоденит; ЯБ желудка и ДПК.

Оценка чувствительности и специфичности остальных 7 критериев показала, что максимальную (100%) чувствительность имел только один из них — присутствие в СКС с биоптатом СОЖ изогнутых палочек, морфологически сходных с *HP*, а максимальную (100%) специфичность — положительные результаты определения антигена *HP* в кале (табл. 2).

Чувствительность таких признаков, как положительные результаты уреазного экспресс-теста с биоптатом СОЖ, не превышала 85%. Наиболее низкая (27,4%) чувствительность наблюдалась при гистологическом методе определения *HP*. Показатели специфичности по большинству (5 из 7) 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 и 66,1%) при сочетании не менее двух признаков (см. рисунок).

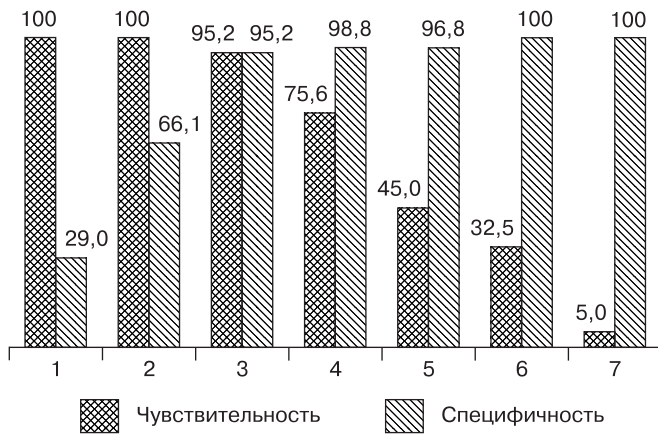
Напротив, низкой чувствительностью, но высокой специфичностью характеризовались сочетания не менее четырех (75,6 и 96,8%), пяти (45,0 и 96,8%), шести (32,5 и 100%) и семи (5 и 100%) признаков. Одновременно высокая чувствительность и специфичность были выявлены при сочетании не менее трех признаков (по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

Таким образом, диагноз *HP*-инфекции у пациентов с гастродуоденальными заболеваниями может быть установлен при наличии не менее трех из перечисленных ниже признаков:

- определение антигена *HP* в кале,
- присутствие в крови суммарных антител (IgG, IgA, IgM) к антигену *CagA*,
- данные гистологического исследования, подтверждающие наличие *HP* в биоптате,

Таблица 2. Чувствительность и специфичность ведущих признаков *HP*-инфекции у пациентов с гастродуоденальными заболеваниями

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



Чувствительность и специфичность (в %) сочетаний признаков, характеризующих *HP*-инфекцию, у пациентов с гастродуоденальными заболеваниями.

- данные цитологического исследования, указывающие на присутствие *HP* в биоптате,
- положительные результаты уреазного экспресс-теста с биоптатом СОЖ,
- присутствие в СКС с биоптатом СОЖ изогнутых палочек, морфологически сходных с *HP*.

Положительные результаты уреазного теста, указывающие на присутствие *HP* в биоптате, отмечены у 44 пациентов с гастродуоденальными заболеваниями. При этом у 9 (20,5%) пациентов из СОЖ были выделены только *HP*, у 25 (56,7%) — *HP* в сочетании с другой мукозной микрофлорой (М-микрофлорой), а у 10 (22,8%) — только М-микрофлора (исключая *HP*). 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 6 (10,3%) из них были выделены *HP* в низкой концентрации (10^2 КОЕ/г).

В ходе изучения специфичности и чувствительности набора тестов, характеризующих *HP*-инфекцию, был установлен высокоспецифичный признак — положительные результаты НРСА. Учитывая изложенное выше, целесообразно считать этот метод исследования наиболее предпочтительным для активного выявления *HP* 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 *HP* 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 [8, 13]. Данные о составе М-микрофлоры СОЖ в норме и при гастродуоденальных заболеваниях существенно различаются [28, 29]. Предпринятые ранее попытки изучения М-микрофлоры желудка при воспалительных и эрозивно-язвенных поражениях желудка и ДПК были немногочисленны и проводились на небольших группах пациентов [28—30].

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

На базе эндоскопического отделения Пермского клинического центра ФМБА России было обследовано 103 пациента, разделенных на 2 группы. В 1-ю группу включили 61 больного с острым гастритом (ОГ) или активным ХГ, во 2-ю — 42 больных с ЯБ желудка и ДПК. Средний возраст обследованных 1-й группы (54,1% мужчин и 45,9% женщин) составил $46,2 \pm 3,6$ года, 2-й группы (57,1% мужчин и 42,9% женщин) — $52,9 \pm 3,8$ года. Диагноз заболевания устанавливали на основании комплексного клиничко-лабораторного обследования, включая гистологическое и цитологическое исследование СОЖ. При ОГ и активном ХГ прицельную биопсию СОЖ осуществляли из зоны воспаления, при ЯБ — из периульцерозной зоны.

Прицельную биопсию СОЖ (3 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 2 чашки Петри хеликобактерного агара с биодобавками (Biomeriex). Третий образец помещали в полужидкую СКС с целью визуализации роста микрофлоры, включая труднокультивируемые 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 [25, 31, 32]. В ходе исследований применяли стандартные и усовершенствованные питательные среды, тест-системы экспресс-диагностики фирм Lachema и Biomeriex, а также собственные модифицированные методики, защищенные патентами РФ [26, 33—35]. Цифровые данные обрабатывали с помощью программы BioStat для Windows (версия 4.03) и таблиц Microsoft Excel.

Анализ микрофлоры СОЖ у пациентов с острым 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%), третье — грибы рода *Candida* (19,7%). При ЯБ преобладающими видами микрофлоры были те же *Streptococcus* (57,1%); доля *HP* составила 52,4%, грибов рода *Candida* — 40,5%.

В 1-й группе анаэробные *Peptostreptococcus* spp. были обнаружены у 11,5% пациентов, *Enterobacteriaceae* spp. и *Corynebacterium* spp. — у 9,8%. Частота обнаружения остальных представителей микрофлоры (*Neisseria*, *Haemophilus*, *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, *Bacteroides*, *Fusobacterium*, *Veillonella*) 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
	количество штаммов		концентрация, IgКОЕ/г	количество штаммов		концентрация, IgКОЕ/г		
	абс.	%		абс.	%			
<i>Staphylococcus</i> spp.	14	23,0	2,1	10	23,8	2,2	0,1	> 0,2
<i>Streptococcus</i> spp.	32	52,5	4,4	24	57,1	3,1	0,5	> 0,2
<i>Corynebacterium</i> spp.	6	9,8	3,0	3	7,1	2,3	0,5	> 0,2
<i>Neisseria</i> spp.	4	6,6	3,0	3	7,1	4,3	0,1	> 0,2
<i>Haemophilus</i> spp.	2	3,3	5,0	1	2,4	5,0	0,3	> 0,2
<i>Enterobacteriaceae</i> spp.	6	9,8	2,8	4	9,5	3,8	0,1	> 0,2
<i>Lactobacillus</i> spp.	2	3,3	3,0	1	2,4	3,0	0,3	> 0,2
<i>Bifidobacterium</i> spp.	2	3,3	2,0	1	2,4	3,0	0,3	> 0,2
<i>Bacteroides</i> spp.	1	1,6	3,0	1	2,4	3,0	0,3	> 0,2
<i>Peptostreptococcus</i> spp.	7	11,5	3,0	4	9,5	3,0	0,3	> 0,2
<i>Fusobacterium</i> spp.	4	6,6	3,0	1	2,4	3,0	1,1	> 0,05
<i>Veillonella</i> spp.	2	3,3	3,0	1	2,4	3,0	0,3	> 0,2
<i>Candida</i> spp.	12	19,7	1,7	17	40,5	1,5	2,3	< 0,05
<i>Helicobacter</i> spp.	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* 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 *HP* ($18,0 \pm 4,9\%$ против $52,4 \pm 7,7\%$; $p < 0,001$) и грибами рода *Candida* ($19,7 \pm 5,1$ против $40,5 \pm 7,6$; $p < 0,05$).

В 1-й группе наиболее высокая степень колонизации СОЖ отмечена для *Haemophilus* spp. (5 IgКОЕ/г) и *Streptococcus* spp. (4,4 IgКОЕ/г), во 2-й — для *Haemophilus* spp. (5 IgКОЕ/г) и *Neisseria* spp. (4,3 IgКОЕ/г). В целом средняя концентрация микробных клеток в биоптатах СОЖ в 1-й группе составила 3,4 IgКОЕ/г, во 2-й — 2,7 IgКОЕ/г, что подтверждает данные литературы о невысоком уровне колонизации СОЖ М-микрофлорой [16].

Важно отметить, что у больных ОГ и активным ХГ концентрация *HP* в СОЖ (3,6 IgКОЕ/г) уступала только количественным показателям колонизации *Haemophilus* spp. (5 IgКОЕ/г) и *Streptococcus* spp. (4,4 IgКОЕ/г). У пациентов с ЯБ на одном уровне с *HP* (3 IgКОЕ/г) находилось большинство представителей М-микрофлоры, в том числе нормофлоры (*Lactobacillus* spp. и *Bifidobacterium* spp.). Ниже была только степень колонизации *Staphylococcus* spp. (2,2 IgКОЕ/г), *Corynebacterium* spp. (2,3 IgКОЕ/г) и грибов рода *Candida* (1,5 IgКОЕ/г). Несмотря на более низкие показатели колонизации СОЖ *HP* при ЯБ (3 IgКОЕ/г против 3,6 IgКОЕ/г), в этой группе пациентов достоверно чаще встречались ассоциации *HP* 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. [36] 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 IgКОЕ/г с преобладанием стрептококков (67,7%), стафилококков

(62,5%), энтеробактерий (46,9), бактероидов (43,7%), грибов рода *Candida* (40,6%). В то же время *HP* 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 *HP*, 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 *Helicobacter pylori* являются сочетания трех из числа изученных нами диагностических признаков: определения антигена *H. pylori* в кале (HPSA); наличия в сыворотке крови суммарных антител (иммуноглобулинов классов G, A и M) к антигену CagA; результаты гистологического (или цитологического) исследования, подтверждающие присутствие *H. pylori* в биоптате; положительные результаты уреазного экспресс-исследования биоптата слизистой оболочки желудка; наличия в питательной среде для контроля стерильности с биоптатом слизистой оболочки желудка изогнутых палочек, морфологически сходных с *H. pylori*.

2. Мукозная микрофлора слизистой оболочки антрального отдела желудка при остром и хроническом гастрите в 52,5% случаев представлена *Streptococcus* spp.; в 23% — *Staphylococcus* spp., в 19,7% — грибами рода *Candida*, в 18% — *H. pylori*.

3. При язвенной болезни в периаульцерозной зоне преобладающими видами мукозной микрофлоры являются *Streptococcus* spp. (57,1%), *H. pylori* (52,4%) и грибы рода *Candida* (40,5%).

4. Достоверные различия по частоте встречаемости мукозной микрофлоры в желудке у больных острым и хроническим гастритом и язвенной болезнью выявлены между *H. pylori* ($18,0 \pm 4,9\%$ против $52,4 \pm 7,7\%$; $p < 0,001$) и грибами рода *Candida* ($19,7 \pm 5,1\%$ против $40,5 \pm 7,6\%$; $p < 0,05$).

Сведения об авторах:

Циммерман Яков Саулович — д-р мед. наук, проф.; тел. 8(342)281-27-74.
Захарова Юлия Александровна.
Ведерник Владимир Евгеньевич.

ЛИТЕРАТУРА

1. **Warren J.R., Marshall B.J.** Unidentified curved bacilli in the stomach of patients with gastritis and peptic ulceration. *Lancet*. 1983; 1: 1311—5.
2. **Аруин Л.И., Григорьев П.Я., Исаков В.А., Яковенко Э.П.** Хронический гастрит. Амстердам; 1993.
3. **Комптон К.К.** (Compton C.C.) Гастрит: новое в патоморфологической классификации и диагностике. *Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии*. 1999; 3: 24—30.
4. **Misiewicz J.J., Tytgat G.N., Goodwin C.S.** et al. The Sydney system: A new classification of gastritis. In: 9-th Congress of gastroenterology: Working party reports. Melbourne: Blackwell; 1990: 1—10.
5. **Циммерман Я.С.** Хронический гастрит и язвенная болезнь. Пермь; 2000.
6. **Meucci G., di Battista R., Abbiati C.** et al. Prevalence and risk factors of *Helicobacter pylori* — negative peptic ulcer: A multicenter study. *J. Clin. Gastroenterol.* 2000; 31: 42—7.
7. **Laine L., Hopkins R., Gerardi L.** Has the impact of *Helicobacter pylori* therapy on ulcer recurrence in the United State been overstated? — A meta-analysis of rigorously designet trials. *Am. J. Gastroenterol.* 1998; 93 (9): 1409—15.
8. **Bytzer P., Taglibjaerd P.S.** *Helicobacter pylori* — negative duodenal ulcers: Prevalence, clinical characteristics and prognosis: Results from a randomized trial with 2-year follow-up. *Am. J. Gastroenterol.* 2001; 96: 1409—16.
9. **Циммерман Я.С.** Этиология, патогенез и лечение язвенной болезни, ассоциированной с *Helicobacter pylori*-инфекцией: состояние проблемы и перспективы. *Клиническая медицина*. 2006; 3: 9—19.
10. **Циммерман Я.С.** Гастродуоденальные заболевания и *Helicobacter pylori*-инфекция: общее обозрение проблемы. *Клиническая медицина*. 2009; 5: 9—15.
11. **Циммерман Я.С.** Проблема этиологии и патогенеза язвенной болезни: перчитывая В.Х. Василенко. *Клиническая медицина*. 2011; 1: 14—9.
12. **Циммерман Я.С.** Гастроэнтерология. М.; 2012.
13. **Correa P.** Human gastric cancerogenesis: A multistep and multifactorial process. First American Cancer Society Lecture on Cancer Epidemiology and Prevention. *Cancer Res.* 1992; 52: 6735—40.
14. **Роккас Ф.** (Rokkas Th.) Инфекция *Helicobacter pylori*, как фактор риска рака желудка: современные доказательства. *Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии*. 2002; 3: 66—77.
15. **Webb P.M., Law M., Varghese C.** et al. Gastric cancer and *Helicobacter pylori*: A combined analysis of 12 case control studies nested with in prospective cohorts. *Gut*. 2001; 49: 347—53.
16. **Циммерман Я.С.** Рак желудка: современный взгляд на проблему. *Вестник хирургической гастроэнтерологии*. 2011; 2: 77—88.
17. **Василенко В.Х.** Чего мы не знаем о язвенной болезни (пути изучения проблемы). В кн: Актуальные вопросы гастроэнтерологии. М.; 1970; вып.1: 3—17.
18. **Маев И.В., Самсонов А.А.** Современные стандарты лечения кислотозависимых заболеваний, ассоциированных с *Helicobacter pylori* (Материалы конференции «Маастрихт-3»). *Consilium Medicum. Прил.: Гастроэнтерология*. 2006; 1: 3—8.
19. **Perez-Perez G.I.** Инфекция *Helicobacter pylori* и рак желудка. В кн.: Диагностика и лечение заболеваний, ассоциированных с *Helicobacter pylori*: II Международный симпозиум. М., 1999: 32—3.
20. **Hansen S., Melby K.K., Aase S.** et al. *Helicobacter pylori* infection and risk of cardia cancer and non-cardia gastric cancer. A nested case-control study. *Scand. J. Gastroenterol.* 1993; 34: 353—69.
21. **Vaira D., Vakil N., Menegatti M.** et al. The stool antigen-test for detection of *Helicobacter pylori* after eradication therapy. *Ann. Intern. Med.* 2002; 136: 280—7.
22. **Кишкун А.А.** Современные методы диагностики и оценки эффективности лечения инфекции, вызванной *Helicobacter pylori*. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2002; 8: 41—6.
23. **Thijs J.C., Van Zwet A.A., Thijs W.J.** et al. Diagnostic tests for *Helicobacter pylori*: A prospective evaluation of their accuracy, without selecting a single test as the gold standard. *Am. J. Gastroenterol.* 1996; 91(10): 2125—9.
24. **Исаков В.А., Домарадский И.В.** Хеликобактериоз. М.; 2003.
25. Приказ МЗ СССР (22.04.1985) №535 «Об унификации микробиологических (бактериологических) исследований, применяемых в клинико-диагностических лабораториях лечебно-профилактических учреждений». М.; 1985.
26. **Захарова Ю.А.** Способ бактериологической диагностики *Helicobacter pylori* в слизистой оболочке желудка у пациентов с гастродуоденальной патологией: Приоритетная справка на патент РФ №2011125763/15(038053).
27. **Флетчер Р.** Клиническая эпидемиология. Основы доказательной медицины. М.; 1998.
28. **Циммерман Я.С., Ведерников В.Е., Новиков В.Н.** и др. Микрофлора слизистой оболочки двенадцатиперстной кишки и ее роль в патогенезе рецидива язвенной болезни. *Сибирский журнал гастроэнтерологии и гепатологии*. 2001; 12-13: 61—3.
29. **Червинец В.М., Базлов С.Н., Чернин В.В.** и др. Микрофлора периульцерозной зоны у больных с язвенной болезнью и ее чувствительность к антибактериальным препаратам. *Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология*. 2002; 1: 37—9.
30. Язвенная болезнь, хронический гастрит и эзофагит в аспекте дисбактериоза гастродуоденальной зоны / Чернин В.В., Червинец В.М., Бондаренко В.М. и др. Тверь; 2004.
31. Определитель нетривиальных грамотрицательных бактерий (аэробных и факультативно-анаэробных) / Вейант Р., Мосс У., Уивер Р. и др.; пер. с англ. М.; 1999.
32. **Holt J., Krieg N., Sneath P.** et al. *Bergeys manual of determinative bacteriology*. 9-th ed. Baltimore etc.; 1997.
33. **Захарова Ю.А.** Способ видовой микробиологической диагностики условно-патогенных энтеробактерий. Пат. РФ на изобретение № 2327161.
34. **Захарова Ю.А., Фельдблюм И.В., Николаева А.М.** Способ видовой дифференциальной диагностики стафилококков. Пат. РФ на изобретение № 2331073.
35. **Захарова Ю.А.** Способ видовой дифференциальной диагностики стрептококков группы В и группы Д. Пат. РФ на изобретение № 2327181.
36. **Базлов С.Н., Червинец В.М., Чернин В.В.** и др. Мукозная микрофлора и *Helicobacter pylori* и их роль в ульцерогенезе. *Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии*. 2001; 2, прил.13: 15—6.

Поступила 31.05.12