

АО «Медицинский университет Астана»

УДК: 616.33-022.44-085 : 616.98 : 579.835.12

МПК: G01N33/53;G01N33/4

Галиева Айман Жакиевна

**ОПРЕДЕЛЕНИЕ АНТИГЕНА HELICOBACTER PYLORI В КАЛЕ НА
ЭТАПЕ ДИАГНОСТИКИ НР-ИНФЕКЦИИ И ОЦЕНКИ
ЭФФЕКТИВНОСТИ ЭРАДИКАЦИОННОЙ ТЕРАПИИ**

6М110100 Медицина (гастроэнтерология)

Диссертация на присуждение академической
степени магистра медицинских наук

Научный руководитель: д.м.н., профессор Бектаева Р.Р.

Официальные оппоненты: д.м.н., профессор Искаков Б.С.

Астана, 2016

СОДЕРЖАНИЕ

НОРМАТИВНЫЕ ССЫЛКИ	3
ОБОЗНАЧЕНИЯ И СОКРАЩЕНИЯ	4
СПИСОК ТАБЛИЦ И РИСУНКОВ	5
ВВЕДЕНИЕ	6
1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ	
1.1 Диагностика Нр инфекции	12
1.2. Общая характеристика диагностических методов	13
1.2.1 Бактериологический метод	15
1.2.2 Морфологические методы.....	6
1.2.3 Методы, основанные на уреазной активности <i>H. pylori</i>	20
1.2.4 Иммунологические методы	23
1.2.5 Молекулярно-биологические методы	26
1.3 Классы рекомендаций и уровни доказательности методов диагностики инфекции <i>H. pylori</i>	28
2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ	
2.1 Клиническая характеристика больных	30
2.2 Методы исследования	
2.2.1 ИХА экспресс-тест определения антигена <i>H. pylori</i> в кале с помощью моноклональных антител (экспресс stool-тест.....	32
2.2.2 Экспресс тест по кинетической оценке концентрации аммиака в воздухе ротовой полости (дыхательный Хелик-тест	34
2.2.3 ЭГДС и гистологический метод определения <i>H. pylori</i>	35
2.2.4 Статистический анализ.....	36
3. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ	
3.1.Диагностическая эффективность экспресс stool-теста определения антигена <i>H.pylori</i> с помощью моноклональных антител в кале.....	38
3.1.1 Результаты диагностики <i>H.pylori</i> при одновременном проведении тестируемого экспресс stool-теста определения антигена <i>H. pylori</i> с помощью моноклональных антител в кале, Хелик теста и гистологического метода... 38	
3.1.2 Корреляционный анализ результатов неинвазивных методов диагностики НР (экспресс stool-теста и дыхательного Хелик теста).....	43
3.1.3 Оценка диагностических возможностей экспресс stool-теста определения антигенов <i>H. pylori</i> с помощью моноклональных антител в кале в контроле эффективности эрадикации	45
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	48
ВЫВОДЫ.....	51
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ.....	52
СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ	53

НОРМАТИВНЫЕ ССЫЛКИ

1. Государственная программа развития образования Республики Казахстан на 2011 – 2020 годы;
2. Указ Президента Республики Казахстан от 1 февраля 2010 г. № 922 «О Стратегическом плане развития Республики Казахстан до 2020 года»;
3. Постановление правительства Республики Казахстан № 41 "Об увеличении плана мероприятий по реализации Государственной программы развития здравоохранения Республики Казахстан «Саламатты Казахстан» на 2011-2015 годы", г. Астана, 2011;
4. Инструкция по оформлению диссертации и автореферата» - приказ председателя ВАК МОН Республики Казахстан №377-Зж от 28.09.2004г.
5. **ГОСО РК-7.09.108–2009г. Утвержден приказом МЗ РК №261 от 17.06.2011г. Послевузовское образование. Магистратура.**
6. **МС ISO 9000:2005. Системы менеджмента качества. Основные положения и словарь;**
7. **МС ISO 9001:2008. Системы менеджмента качества. Требования;**
8. **МС ISO 27001:2005. Системы менеджмента информационной безопасности. Требования;**
9. **МС ISO 26000:2010. Руководство по социальной ответственности;**
10. **СУ-МУА-01. Стандарт университета. Общие требования к содержанию, изложению и оформлению документации интегрированной системы менеджмента;**
11. **СУ-МУА-02. Стандарт университета. Управление документацией;**
12. **СУ-МУА-03. Стандарт университета. Управление записями;**
13. **СУ-МУА-04. Стандарт университета. Термины и определения.**

ОБОЗНАЧЕНИЯ И СОКРАЩЕНИЯ

H. pylori - *Helicobacter pylori*

ХГ - хронический гастрит

ЯБ - язвенная болезнь

ДПК - двенадцатиперстная кишка

РЖ - рак желудка

СОЖ – слизистая оболочка желудка

РКИ - рандомизированные контролируемые исследования

ГЭРБ - гастроэзофагеальная рефлюксная болезнь

ИПП – ингибиторы протонной помпы

ИФА – иммуноферментный анализ

ПЦР – полимеразная цепная реакция

ДНК – дезоксирибонуклеиновая кислота

ДТ - дыхательный тест

ЭГДС - Эзофагогастродуоденоскопия

СПИСОК ТАБЛИЦ И РИСУНКОВ

Таблица 1 Классы рекомендаций и уровни доказательности согласно консенсусу Маастрихт IV (Флоренция, 2010)	12
Таблица 2 Сравнение диагностических тестов выявления инфекции <i>H. pylori</i>	14
Таблица 3 Количество биопсийных образцов для диагностики <i>H. pylori</i>	17
Таблица 4 Классы рекомендаций и уровни доказательности методов диагностики инфекции <i>H. pylori</i>	28
Таблица 5 Характеристики пациентов, участвовавших в исследовании	30
Таблица 6 – Сравнительная характеристика экспресс-теста ИХА и Хелик теста по результатам двух групп,	42
Таблица 7 Показатели корреляционного анализа результатов трех методов диагностики <i>H. Pylori</i>	43
Таблица 8 Критерии оценки значимости различий	43
Таблица 9 Критерии оценки силы связи	44
Рисунок 1 Дизайн исследования	31
Рисунок 2 Распределение пациентов согласно результатам эндоскопического обследования	32
Рисунок 3 Иммунохроматографическая тест-система PreventID для определения антигенов <i>H. pylori</i> в кале	32
Рисунок 4 Интерпретация результатов по экспресс stool-тесту определения антигенов <i>H. pylori</i> в кале	33
Рисунок 5 Дыхательный Хелик тест	34
Рисунок 6 Положительный результат по экспресс stool-тесту определения антигенов <i>H. pylori</i> в кале	38
Рисунок 7 Результаты сравнения диагностической значимости экспресс stool-теста определения антигена <i>H.pylori</i> в кале и Хелик теста относительно результатов гистологического метода определения <i>H.pylori</i> (золотого стандарта)	39
Рисунок 8 Сравнение чувствительности неинвазивных методов экспресс stool-теста определения антигена <i>H.pylori</i> в кале и Хелик – теста	40
Рисунок 9 Сравнение специфичности неинвазивных методов экспресс stool-теста определения антигена <i>H.pylori</i> в кале и Хелик–теста	41
Рисунок 10 Сравнение точности неинвазивных методов экспресс stool-теста определения антигена <i>H.pylori</i> в кале и Хелик–теста	41
Рисунок 11 Количество НР+ и НР- пациентов по экспресс stool-тесту определения антигена <i>H.pylori</i> в кале и Хелик–тесту после эрадикации	45

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы

Впервые открытие и изучение бактерии *Helicobacter pylori* (*H. pylori*), а также исследования по его роли в развитии хронического гастрита (ХГ) и язвенной болезни (ЯБ) было сделано в 1981 году австралийскими учеными В. Marshall и I. Warren. Эти открытия совершили переворот во взглядах мировой медицинской общественности на механизмы развития заболеваний верхних отделов пищеварительного тракта. Благодаря этим открытиям были пересмотрены ряд положений по патологии гастродуоденальной зоны и выделена целая группа *H. pylori* - ассоциированных заболеваний таких, как ХГ, ЯБ желудка и двенадцатиперстной кишки (ДПК), MALT-лимфома и некардиальный рака желудка [1, 2, 3, 4].

К настоящему времени установлено, что *H. pylori* является одной из самых распространенных хронических инфекций человека. Так на начало XXI века *H. pylori* встречается у 80-90% жителей развивающихся стран Азии и Африки, у 40-70% жителей Восточной Европы, Южной Америки и у 25-30% населения развитых стран Европы и Северной Америки [6]. Общественно-медицинскую актуальность проблемы подтверждает также тот факт, что в 1994 г. экспертами Международного Агентства по изучению рака (The International Agency for Research on Cancer, IARC) *H. pylori* был отнесен к канцерогенам 1-й группы риска, и в 2009 году IARC вновь подтвердило эту же классификацию [7,10]. В последнем мета-анализе 12 проспективных исследований относительный риск рака желудка (РЖ) у *H. pylori* – позитивных пациентов составил 2.4 (95% доверительный интервал [СІ], 2.0–2.8) [7, 37, 41, 42]. Более того, согласно мировой статистике РЖ стоит на третьем месте среди причин смерти от онкологических заболеваний [32, 35, 38]. Также и для Казахстана РЖ является очень серьезной проблемой, занимая ведущие позиции по заболеваемости и смертности, стандартизованный по возрасту коэффициент смертности составляет 20 на 100 000 человек населения [8].

Известно, что источником инфекции является человек, при этом у людей с активным гастритом и ЯБ были обнаружены штаммы *H. pylori* в содержимом желудка, ДПК, пищевода, кале. Наиболее изученным является механизм передачи возбудителя от больного или бактерионосителя орально-оральным или фекально-оральным путем, также изучен механизм передачи бактерии и через предметы личной гигиены. Существуют неопровержимые доказательства и ятрогенной передачи *H. pylori* от пациента к пациенту через медицинские инструменты при инвазивных методах исследования желудка и ДПК, особенно, когда не соблюдаются все необходимые меры обработки по обеззараживанию инструментов (эндоскопическое оборудование, зонды) [39]. Это, в свою очередь, может повысить риск реинфицирования *H. pylori*, например, у пациентов, которым необходимо провести оценку эффективности эрадикационной терапии [9, 31].

Учитывая ведущее место инфекции *H. pylori* среди этиологических факторов развития гастродуоденальной патологии, диагностика хеликобактериоза является одной из самых актуальных задач в рутинной практике гастроэнтеролога и терапевта. Сегодня, в эпоху современных технологий для выявления *H. pylori* используется большое количество инвазивных (с проведением фиброгастродуоденоскопии) и неинвазивных методов (без проведения фиброгастродуоденоскопии). Однако многолетний и обширный опыт показал, что ни один из них не является универсальным, у каждого метода есть свои преимущества и недостатки, кроме того они могут отличаться по чувствительности и специфичности. Также установлено, что результаты различных диагностических методов исследования не всегда совпадают. Следовательно, с целью получения более достоверных результатов диагностики наличия *H. pylori* желательно применить несколько различных тестов, как минимум два, при этом результат рассматривать положительным или отрицательным при идентичности показателей обоих методов [11]. Ряд авторов рекомендуют даже использовать три разных метода исследования для того, чтобы полностью исключить или подтвердить наличие инфекции [10].

Наличие доступных диагностических методов достоверного выявления *H. pylori* может позволить не только выявлять и контролировать инфицированных, но и избежать необоснованного назначения фармакотерапевтических препаратов, а также адекватно проводить оценку эрадикации. В настоящее время в Казахстане применяют не все доказанные методы диагностики *H. pylori*, которые рекомендуют международные гастроэнтерологические ассоциации и использует мировое медицинское сообщество. В связи с недостаточным освещением ряда вопросов, таких, например, как преимущества и недостатки того или иного метода, какой лучше метод выбрать из доступных диктует необходимость изучения и внедрения новых неинвазивных методов в ежедневную практику гастроэнтеролога и терапевта. Сегодня в Казахстане появилась иммунохроматографическая тест-система для определения антигенов *H. pylori* в кале. Отличительными особенностями данного экспресс-теста являются такие преимущества, как неинвазивность, доступность, быстрота исполнения, доказанность точного контроля эрадикации *H. pylori*.

Вышеуказанные положения и перечисленные возможности нового для РК диагностического метода, безусловно, диктуют актуальность работы по изучению его эффективности и сравнению с имеющимся в арсенале врача другим неинвазивным методом диагностики *H. pylori*, а именно с Хелик-тестом (экспресс-тест по кинетической оценке концентрации аммиака в воздухе ротовой полости).

Цель исследования

Изучить диагностическую ценность неинвазивного метода определения антигена *H. pylori* в кале (экспресс stool-тест) при первичной диагностике *H. pylori* - инфекции и в оценке эффективности эрадикационной терапии при *H. pylori* -ассоциированных заболеваниях.

Предмет исследования

Наличие антигенов *H. pylori* в кале, подтвержденное с помощью иммунохроматографического экспресс теста с моноклональными антителами (экспресс stool-тест).

Объекты исследования

Пациенты с синдромом диспепсии (в период с апреля 2015 по ноябрь 2015) при первичной диагностике *H. pylori* и при контроле эффективности эрадикационной терапии.

Задачи исследования

1. Изучить диагностические характеристики (чувствительность, специфичность и точность) неинвазивных методов - экспресс теста определения антигенов *H. pylori* в кале с помощью моноклональных антител (экспресс stool-тест) и дыхательного Хелик-теста относительно "золотого" стандарта – гистологического метода.

2. Провести сравнительную оценку диагностической значимости двух неинвазивных методов диагностики *H. pylori* экспресс теста определения антигенов *H. pylori* в кале с помощью моноклональных антител (экспресс stool-тест) и дыхательного Хелик теста.

3. Оценить диагностические возможности применения нового неинвазивного экспресс теста определения антигенов *H. pylori* с помощью моноклональных антител в кале (экспресс stool-тест) как метода контроля эффективности эрадикационной терапии.

Материалы исследования

Пациенты (n=64) с гастродуоденальными заболеваниями, обратившиеся первично с жалобами на боль в эпигастральной области и диспепсические явления:

1. Первично обратившимся пациентам проводилось одновременное определение *H. pylori* гистологическим методом, экспресс stool-тестом на наличие антигена *H. pylori* с помощью моноклональных антител в кале и дыхательным Хелик-тестом.

2. Пациентам с *H. pylori* позитивным результатом по гистологическому тесту после проведенной эрадикации (через 4 недели после ее окончания) проводилось одновременное определение *H. pylori* двумя неинвазивными методами: stool-тестом на наличие антигена *H. pylori* в кале с помощью моноклональных антител и Хелик-тестом.

Методы исследования

1. Клиническое обследование пациентов с патологией верхних отделов пищеварительного тракта (расспрос, осмотр, установление диагноза в соответствии с современными классификационными и диагностическими критериями).

2. Эзофагогастродуоденоскопия с проведением биопсии СОЖ - гистологическое исследование биоптата слизистой желудка на определение *H. pylori*.

3. Экспресс определение антигенов *H. pylori* в кале с использованием иммунохроматографической тест-системы с моноклональными антителами (экспресс stool-тест).

4. Экспресс тест по кинетической оценке концентрации аммиака в воздухе ротовой полости - дыхательный Хелик-тест.

5. Статистический анализ.

Научная новизна результатов исследования

1. Впервые установлена высокая диагностическая значимость неинвазивного метода обнаружения инфекции *H. pylori* с помощью экспресс stool-теста определения антигена *H. pylori* в кале, чувствительность, специфичность и точность которого достигала 83%, 82% и 83% соответственно.

2. Установлена высокая корреляция показателей stool-теста определения антигена *H. pylori* с помощью моноклональных антител в кале, с окончательным результатом, сопоставимость с результатами дыхательного Хелик теста.

3. Впервые экспресс stool-тест определения антигена *H. pylori* в кале с помощью моноклональных антител предложен как высокоспецифичный и чувствительный метод неинвазивной диагностики *H. pylori* инфекции и оценки эффективности эрадикационной терапии.

Теоретическая и практическая значимость

1. Установлено, что тестируемый экспресс stool-тест определения антигена *H. pylori* с помощью моноклональных антител в кале является оптимальным методом диагностики хеликобактериоза до и после эрадикационной терапии, обладает высокими диагностическими характеристиками (чувствительность, специфичность и точность). Метод безопасен, не имеет противопоказаний, легко воспроизводим, не требует высококвалифицированных медицинских специалистов, позволяет получить ответ в течение 10 минут, исключает риск реинфекции, тест удобен как для врача, так и для пациента.

2. Неинвазивность и высокая информативность экспресс stool-теста определения антигена *H. pylori* с помощью моноклональных антител в кале позволили обосновать его диагностическую значимость, и, следовательно, внедрить его для диагностики и динамического наблюдения в амбулаторно-

поликлинических условиях, а также рекомендовать для масштабных эпидемиологических исследований.

3. Результаты исследования могут дополнить базу теоретических знаний о возможностях различных методов диагностики *H. pylori*, имеющихся в Казахстане.

Основные положения, выносимые на защиту

1. Экспресс stool-тест определения антигена *H. pylori* в кале является оптимальными неинвазивным методом обнаружения инфекции *H. pylori*, характеризующийся высокой чувствительностью (83%), специфичностью (82%) и точностью (83%).

2. Высокая корреляция показателей stool-теста определения антигена *H. pylori* с помощью моноклональных антител в кале с окончательным результатом, сопоставимость с результатами Хелик-теста обосновывают его высокую клинико-диагностическую значимость в первичной диагностике *H. pylori*-инфекции и оценке эффективности лечения.

3. Экспресс stool-тест определения антигена *H. pylori* в кале с помощью моноклональных антител может быть методом выбора в неинвазивной диагностике *H. pylori*-инфекции и оценке эффективности эрадикационной терапии

Объем и структура диссертации

Диссертация изложена на 57 страницах компьютерного текста, написана на русском языке, состоит из введения, основной части, заключения, выводов, практических рекомендаций, списка использованных источников литературы. Список литературы составляет 73 источника, из них 22 на иностранном языке. Диссертация иллюстрирована 9 таблицами и 11 рисунками.

Апробация работы

Основные положения диссертации изложены в тезисе к докладу на международной научно-практической конференции (Галиева А.Ж. «Определение антигена *Helicobacter pylori* в кале на этапе диагностики НР-инфекции и оценки эффективности эрадикационной терапии»), на XI юбилейном Международном научном форуме «Астана Гастро-2015» (г. Астана, 2015). Материалы доложены на расширенном заседании кафедры гастроэнтерологии (21.04.2016), на заседании Научного семинара по терапевтическим и смежным дисциплинам АО «Медицинский университет Астана», 3 мая 2016г, г. Астана

Публикации по теме диссертации

По материалам диссертационной работы опубликованы 4 печатные работы: из них 1 учебное пособие, 2 статьи, 1 тезис:

1. Галиева А.Ж., Бектаева Р.Р., Адрисова К.С. Методы диагностики инфекции *Helicobacter pylori*: учебное пособие. АО «Медицинский университет Астана». – Астана, 2016г. – 38 с.

2. Галиева А.Ж. «Актуальные вопросы диагностики *H.pylori*-ассоциированных заболеваний» (Обзор литературы). «Валеология: здоровье – болезнь - выздоровление», № 3, 2015 год.

3. Галиева А.Ж. «Определение антигена *Helicobacter pylori* в кале на этапе диагностики НР-инфекции и оценки эффективности эрадикационной терапии». Сборник тезисов международной научно-практической конференции молодых ученых и студентов, г. Астана, 9 - 10 апреля 2015, стр.462

4. Галиева А.Ж., Бектаева Р.Р. «Современные методы диагностики инфекции *Helicobacter pylori* и оценки эффективности ее эрадикации». «Клиническая медицина Казахстана», № 4, 2016

Получены авторские права на «Диагностический алгоритм инфекции *H. pylori*» и Акт внедрения.

ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1. Диагностика *H. pylori* инфекции

Аспекты диагностики и лечения *H. pylori* - ассоциированных заболеваний постоянно совершенствуются с позиций доказательной медицины, находя свое отражение в международных рекомендациях. Так, Европейская рабочая группа по изучению *H. pylori* (European Helicobacter pylori Study Group - EHSg) одной из главных своих задач считает разработку и утверждение согласительных рекомендаций, в которых практическим врачам даются конкретные алгоритмы по диагностике и лечению инфекции *H. pylori*.

Первые рекомендации были разработаны в городе Маастрихт в 1996 г., в связи с чем, получили свое название – «Первый Маастрихтский консенсус». По мере изучения этой проблемы и получения новых данных, каждые пять лет проводится пересмотр документов, регламентирующих тактику ведения пациентов с *H. pylori* - ассоциированными заболеваниями. По традиции, все согласительные совещания не зависимо от места их проведения стали носить название Маастрихтских консенсусов. Под эгидой EHSg были проведены ряд конференций и выработаны международные рекомендации Маастрихт-II (2000 г.) и Маастрихт-III (2005 г.). Рекомендации основаны на современных и достоверных данных (согласно утвержденным классам и уровням доказательной медицины, которые были приняты на согласительных конференциях, таблица 1) [4, 13, 15, 16, 17].

Таблица 1 - Классы рекомендаций и уровни доказательности, сформулированные в рамках консенсуса Маастрихт IV (Флоренция, 2010) [14]

Класс рекомендаций	Уровень доказательности	Тип исследований	
А	1	1a	Систематический обзор рандомизированных контролируемых исследований (РКИ), хорошего методологического качества и однородности
		1b	Отдельные РКИ с узким доверительным интервалом
		1c	Отдельные РКИ с вероятностью систематической ошибки
В	2	2a	Систематический обзор однородных когортных исследований
		2b	Отдельные когортные исследования (включая РКИ низкого качества, например, с периодом наблюдения < 80%)
		2c	Неконтролируемые когортные исследования

	3	3a	Систематический обзор однородных исследований «случай – контроль»
		3b	Отдельные исследования «случай – контроль»
C	4	/	Серии клинических случаев/когортные исследования или исследования «случай – контроль» низкого качества
D	5	/	Мнение экспертов без четкой клинической оценки или основанное на физиологических, фундаментальных исследованиях по изучению «основных принципов»
н/о	н/о	/	Не оценивалось

Последний пересмотр рекомендаций прошел в городе Флоренция в 2010 г. (Маастрихт-IV), где в работе IV согласительной конференции приняли участие 44 эксперта из 24 стран [12]. Маастрихтский консенсус-IV рекомендует для принятия решения о назначении антибактериальных и антисекреторных средств в качестве диагностических методов уреазный экспресс-тест, серологический тест определения антител к *H. pylori* (IgG); уреазный дыхательный тест с ¹³C-мочевинной (¹³C-УДТ) и метод определения антигена *H. pylori* в кале (stool-тест), отдавая предпочтение двум последним. ¹³C-УДТ и stool-тест отличаются высоким уровнем доказательности - 1a и классом рекомендаций - A [12,13]. Серологический метод – третий среди неинвазивных диагностических тестов для диагностики инфекции *H. pylori*. IV Маастрихтское соглашение подчеркивает большую вариабельность антигенов, используемых в коммерческих серологических тест-системах, и рекомендует только стандартизированные тесты для определения Ig-G антител. Уровень доказательности - 1b, класс рекомендаций – B.

В отечественной гастроэнтерологии, к сожалению, два рекомендованных метода (¹³C-УДТ и stool-тест) отсутствуют, вследствие чего они остаются недоступными для использования в клинической практике. Наиболее часто для диагностики *H. pylori* инфекции, применяется морфологическое исследование, уреазный тест на определение кинетической оценки аммиака (Хелик-тест) и серологический метод. Таким образом, в РК используется только два неинвазивных метода. Один из них серологический метод обладает ограниченной чувствительностью, а другой (Хелик-тест) пока не является рекомендованным доказанным методом диагностики *H. pylori*.

1.2. Общая характеристика диагностических методов

Все методы верификации *H. pylori* подразделяют на:

- инвазивные (с проведением фиброгастродуоденоскопии) и неинвазивные (без проведения фиброгастродуоденоскопии) методы;
- прямые (обнаруживающие непосредственно сам микроорганизм или

фрагменты его ДНК) и непрямые (определяющие продукты его жизнедеятельности или антитела к нему) методы;

- *in vitro* проводимые в различных биологических материалах (биоптатах, крови, секретах) и *in vivo* после приема внутрь мочевины (таблица 2) [20].

Таблица 2 - Сравнение диагностических тестов выявления инфекции *H. pylori*

Метод исследования	Характеристика метода	Показания к применению	Чувствительность, %	Специфичность, %
Быстрый уреазный тест	Инвазивный косвенный	Первичная диагностика инфекции <i>H. pylori</i> у больных ЯБ	95	85-96
Бактериологический	Инвазивный прямой	Определение чувствительности <i>H. pylori</i> к антибиотикам	56-81	100
Гистологический	Инвазивный прямой	Первичная диагностика инфекции <i>H. pylori</i> у больных ЯБ	80-95	>97
Серологический иммуноферментный анализ (ИФА): крови	Неинвазивный косвенный	Скрининговая диагностика инфекции <i>H. pylori</i>	70-96	93-96
кала	Неинвазивный косвенный		95	95
Молекулярно-генетический - полимеразная цепная реакция (ПЦР): биоптата	Инвазивный прямой		81-91	> 95

кала	Неинвазивный косвенный	Для первичной диагностики и контроля терапии	61-96	> 95
Дыхательные тесты (ДТ): радиоизотопный (¹³ C/ ¹⁴ C моче-вина) уреазный тест	Неинвазивный косвенный	Контроль полноты эрадикации	> 95	> 95
тест с кинетической оценкой аммиака	Неинвазивный косвенный	для первичной диагностики, результаты которой требуют проведения дополнительных методов диагностики	78	38

Выбор теста зависит в большой степени от его доступности и стоимости, и включает различие между методами в возможности определения заболевания и использования результатов для подтверждения эрадикации [21, 61].

1.2.1 Бактериологический метод

Наибольшую информативность о *H. pylori* возможно получить только путем выделения бактерии из прижизненных биопсийных материалов. Бактериологический (культуральный) метод является одним из наиболее высокоинформативных и специфичных методов. Чувствительность его составляет более 90%, а специфичность практически равна 100%, [2, 4]. В основе метода лежит культивирование микроорганизма на специальных питательных средах при определенных температурных условиях. Преимуществом методики является его возможность обеспечить выделение чистой культуры *H. pylori*, изучить морфологические, биохимические и биологические свойства микроорганизма, определить чувствительность возбудителя к антибиотикам [2]. Учитывая общеизвестный факт того, что основной причиной, снижающей успех эрадикационной терапии, является антибиотикорезистентность *H. pylori*, без результатов бактериологического исследования наметать дальнейший ход терапии нельзя [22].

Однако у бактериологического метода, как у всех других методов существуют свои недостатки. К ним относятся:

- трудность транспортировки материала для сохранения бактерии в жизнеспособном состоянии;

- высокие требования к условиям культивирования (питательные среды, ограничение доступа кислорода);

- снижение эффективности выделения *H. pylori* в случае низкой обсемененности, при отсутствии обострения инфекции и визуальных признаков воспаления;

- отсроченное получение результатов, его результатов приходится ждать, как правило, в течение 10-14 дней.

- неспособность определять кокковые формы *H. pylori*, тогда как в настоящее время в достаточно высоком проценте случаев у *H. pylori* - позитивных пациентов в слизистой оболочке желудка (СОЖ) преобладают именно кокковые формы микроорганизма [5];

- более того этот метод достаточно дорогой, требующий специальных условий культивирования и дорогостоящего оборудования.

В клинической практике он применяется в основном для определения антибиотикорезистентности в случае отсутствия эффективности терапии первой линии при планировании дальнейшего хода лечения. В основном он используется в научных целях, когда бактериологический метод крайне важен в изучении факторов патогенности *H. pylori*, изготовлении препаратов для серологической диагностики, создании банка штаммов для эпидемиологических и других исследований, так как штаммы бактерии в замороженном виде при температуре -70°C могут храниться в течение 5-7 лет. Без бактериологического метода глубокое научное изучение возбудителя невозможно [22, 40, 46, 61].

1.2.2 Морфологические методы

Гистологический метод

«Гистологический» метод верификации *H. pylori* является «золотым стандартом» диагностики инфекции. Используя именно этот метод, Warren и Marshall впервые обнаружили спиралевидную бактерию в СОЖ больных активным хроническим гастритом [23]. Гистологический метод позволяет идентифицировать возбудителя в гистологических препаратах СОЖ, определить степень обсемененности и расположение микробных тел (поверхностное или внутриэпителиальное), форму бактерии (вегетативную или кокковую), а также пути взаимодействия *H. pylori* с тканями организма человека и морфологические изменения СОЖ, которые связаны с инвазией микроорганизма (воспаление, атрофия, метаплазия, дисплазия). Метод основан на микроскопическом морфологическом и морфометрическом

исследовании парафиновых срезов, окрашенных различными способами: гематоксилин-эозином, по Романовскому — Гимзе, генцианвиолетом, по Генту, толуидиновым синим, а также использование иммуногистохимического метода [23].

Забор биопсийного материала производится из мест с максимально выраженными признаками гиперемии и отёка. Является неправильным взятие материала из дна язв, эрозий и из их краев, так как в них отсутствуют эпителиальные клетки, которые обладают необходимыми свойствами для адгезии *H. pylori* и колонизации этого микроорганизма. Для повышения чувствительности метода биологический материал следует брать из разных частей желудка, так как бактерии *H. pylori* могут быть разбросаны по всей слизистой в виде очагов (таблица 3).

Таблица 3 - Количество биопсийных образцов для диагностики *H. pylori*

Вид исследования	Количество биоптатов
Первичное исследование	антральный отдел, вдоль большой кривизны – 2 средняя часть желудка – 1
Контроль лечения	антральный отдел, вдоль большой кривизны – 1 средняя часть желудка – 2

Морфологическое исследование позволяет обнаружить в клетках слизистой оболочки пролиферативные процессы, степень их выраженности, метаплазию (кишечную в желудке и желудочную в ДПК), малигнизацию. Признаком начальной атрофии является уменьшение высоты желез, выраженной атрофии – обнаружение в поле зрения менее 3-4 поперечно срезанных желез. При определении кишечной метаплазии необходимо оценить ее тип. I тип - полная тонкокишечная - характеризуется присутствием бокаловидных клеток, которые расположены среди абсорбтивных, характеризующиеся выраженной щеточной каемкой. При II типе бокаловидные клетки разбросаны среди эпителиоцитов. Для III типа - неполная, толстокишечная - характерны ветвящиеся крипты, выстланные клетками, которые напоминают колоноциты и содержат сульфомуцины [24,26,].

Об активности и выраженности воспаления свидетельствует преобладание тех или иных клеточных элементов. Наличие нейтрофилов в собственной пластинке СОЖ определяет активность фонового гастрита. Степень лимфоплазмочитарной инфильтрации собственной пластинки СОЖ, поверхностного и ямочного эпителия определяет выраженность воспаления. Согласно критериям Аруин Л.И. (1993) выделяют три степени воспаления:

- легкая – слабая инфильтрация собственной пластинки СОЖ;

- средняя – умеренная инфильтрация собственной пластинки, поверхностного и ямочного эпителия;
- тяжелая – наряду с выраженной инфильтрацией собственной пластинки СОЖ, поверхностного и ямочного эпителия имеются внутриямочные крипт-абсцессы.

К преимуществам этого метода диагностики относятся:

- удобство хранения и транспортировки образцов;
- возможность проведения ретроспективного анализа;
- проведения оценки взаимосвязи между степенью обсемененности *H. pylori* и состоянием СОЖ.

Недостатками метода являются:

- длительное приготовление парафиновых срезов
- наличие субъективности в определении степени изменения СОЖ
- невозможность провести дифференцировку всех видов *H. pylori* и тем более определить их генотип,
- риск ложнонегативных результатов в связи с неправильным забором биопсийного материала (биопсия только из антрального отдела желудка, скудные биоптаты, не содержащие эпителия и слизи),
- наличие участков кишечной метаплазии, погрешностей окраски [22, 26, 28, 30, 33, 62].

Цитологический метод

В основе цитологического метода лежит выявление микроорганизма в мазках-отпечатках биоптатов СОЖ. В зависимости от способа получения биоматериала из желудка для дальнейшего цитологического исследования выделяют несколько вариантов метода:

- crush cytology – раздавливание биоптата (недостаток метода – присутствие в препарате чрезвычайно большого количества клеточных элементов в виде отдельных клеток и эпителиальных пластов, перекрывающих слизистые наложения, что затрудняет идентификацию *H. pylori*);

- imprint, или touch cytology – прикосновение и отпечаток люминальной поверхности биоптата к предметному стеклу недостаток метода – недостаточное количество материала в препарате;

- brush cytology – получение пристеночной слизи, взятой не менее чем из 4 участков обоих отделов желудка с помощью специальной щеточки, входящей в комплект современных эндоскопов.

- Мазки окрашиваются по методу Романовского-Гимзы. Возбудитель располагается в слизи, имеет спиралевидную или S-образную формы. Помимо *H. pylori* обнаруживается также клеточная инфильтрация в виде лимфоцитов, нейтрофилов, плазматических клеток и эозинофилов. По

преобладанию тех или иных клеток можно приблизительно судить об активности и выраженности воспаления. Цитологическое исследование позволяет верифицировать наличие пролиферативных процессов, метаплазии и дисплазии, а также определить степень их выраженности. Кроме того, возможно обнаружение неопластических процессов, но данный метод малоинформативен в отношении структурных изменений слизистой оболочки. При изучении цитологических препаратов выделяются три степени обсеменённости слизистой оболочки: слабая {+} — до 20, средняя (++) — до 40, высокая (+++) — более 40 микробных тел в поле зрения при увеличении x360 [29,33, 34, 36, 47].

Фазово-контрастная микроскопия

С точки зрения надежности диагностики *H. pylori*, наиболее приемлем метод фазовоконтрастной микроскопии. Данный метод позволяет обнаружить *H. pylori* в биоптате слизистой оболочки до проведения микробиологического или гистологического исследования. Этот метод является достаточно удобным для верификации *H. pylori* при условии высокой степени обсеменения. Однако главным условием для проведения данного исследования является наличие фазовоконтрастного микроскопа.

Выделяют следующие преимущества фазово-контрастной микроскопии:

- нет необходимости проводить фиксацию материала и дополнительных окрасок ткани;
 - исследование не требует специальных лабораторных условий;
 - результат может быть получен быстро, в течение 1-2 мин.
- Микроскопия проводится с увеличением в 100 раз с использованием иммерсионного масла. В препарате видны типичные изогнутые бактерии в хаотичном движении [40, 46].

Иммуногистохимический метод

Биопсийный материал, фиксированный в формалине и залитый в парафин, обрабатывается моноклональными антителами против *H. pylori*. Готовые к применению коммерческие наборы с моноклональными антителами работают при разведении 1:200000 и избирательно окрашивают только *H. pylori*. Этот метод хорошо зарекомендовал себя при исключительно низкой степени обсеменённости СОЖ *H. pylori*, когда морфологический метод и уреазный тест дают ложноотрицательные или сомнительные результаты. Он также используется для выявления морфологически изменённых (кокковых форм) *H. pylori*.

1.2.3 Методы, основанные на уреазной активности *H. pylori*

Уреазный дыхательный тест

В высокоразвитых странах стандартным методом оценки эффективности эрадикационной терапии является уреазный дыхательный тест (УДТ), в основе которого лежит способность уреазы расщеплять мочевины до HCO_3^- и NH_4^+ . Из HCO_3^- образуется CO_2 , который, попадая в кровоток, затем переносится в легкие. Для выполнения УДТ требуется мочевины, которая мечена радиоактивным углеродом ^{13}C или ^{14}C . В основном в клинической практике используют нерадиоактивный стабильный углерод ^{13}C . ^{14}C применяется нечасто, так как является источником излучения низкоэнергетических β -частиц, которые могут быть обнаружены сцинтилляционным счетчиком. Количественно изотоп определяют с помощью газового хроматомакс-спектрометра или инфракрасного и лазерного оборудования.

В начале теста необходимо взять 2 фоновые пробы выдыхаемого воздуха. Далее обследуемому дают легкий завтрак и тестовый субстрат. После этого в течение одного часа с интервалами в 15 минут берутся 4 пробы выдыхаемого воздуха. Уровень радиоактивного изотопа в выдыхаемом воздухе определяют в течение 10-30 минут, после чего пробы отправляются на масс-спектрометрию. Результат выражается как приращение $^{13}\text{CO}_2 - \delta^{13}\text{CO}_2$, его экскреция (‰) и оценивается как положительный при значениях выше 5‰.

- В некоторых странах определяют следующее отношение концентраций $^{13}\text{CO}_2/^{12}\text{CO}_2$, что помогает минимизировать влияние инструментальных погрешностей на конечный результат. При применении УДТ ложноположительные результаты встречаются редко, примерно в 4-10% случаев, ложноотрицательные результаты возможны при приеме антисекреторных препаратов до исследования, это связано с тем, что данные препараты ингибируют уреазу микроорганизма, поэтому необходимо строго выдерживать временной интервал после окончания эрадикационной терапии прежде чем провести УДТ. Обычно рекомендуется проводить оценку эрадикации не раньше чем через месяц после окончания приема этих препаратов [56, 64, 70].

Существуют следующие показаниями для проведения УДТ:

- эпидемиологические исследования
- скрининг перед эндоскопией
- и контроль эффективности лечения.

Метод отличается быстротой, удобством, но ограничен в применении из-за необходимости использовать дорогостоящее оборудование. В связи с этим были разработаны масс-спектрометры на основе лазерного и инфракрасного излучения, что позволило снизить стоимость обследования. Также использование микрокапсул для упаковки мочевины, меченой радиоактивным изотопом минимизировало проблемы, связанные с их

хранением, утилизацией и безопасностью изотопов. Свидетельством полной безопасности изотопа для пациентов и окружающей среды является тот факт, что в США продажа микрокапсул с мочевиной, меченной углеродом разрешена FDA также как и обычных лекарственных средств через аптеки. Появление такой формы меченной мочевины существенно снижает стоимость и самого изотопа, и оборудования для его проведения по сравнению с масс-спектрометром [27,50, 52, 54, 57, 60, 62].

Быстрый уреазный тест (оценка местной уреазной активности)

В основу определения уровня желудочной уреазной активности положен следующий принцип: уреазы катализируют быстрый гидролиз мочевины, которая находится в содержимом желудка. В результате этой реакции образуется аммиак и углекислый газ, при этом pH среды сдвигается в щелочную сторону, что фиксируется индикатором. Скорость изменения окраски индикатора зависит от уреазной активности, которая напрямую обусловлена количеством бактерий. В определенных ситуациях уреазный тест дает положительный результат через несколько минут, а например, при незначительном количестве возбудителя изменение окраски в уреазном тесте может наблюдаться через несколько часов, возможен также и ложноотрицательный результат.

Известно, что *H. heilmanii* имеет близкое сродство с *H. pylori*, поэтому при проведении уреазного теста нужно учитывать, что у ряда пациентов желудок может быть колонизирован *H. heilmanii*, вследствие чего тест покажет положительный результат. В настоящее время доступно большое количество уреазных тестов различных производителей. Коммерческий CLO-тест - это гелеобразная таблетка, которая содержит мочевины, феноловый красный (индикатор pH) и бактериостатический агент. Биоптат необходимо положить на поверхность таблетки. При наличии фермента уреазы индикатор будет менять ее окраску от желтой до малиновой. Через 20 минут этот тест положителен в 75% случаев, а через 24 часа в 95% случаев у больных с *H. pylori*, подтвержденным бактериологическим методом. По времени появления малинового тона косвенно можно судить о количестве бактерий:

- (+) - незначительная инфицированность - малиновое окрашивание появляется к концу суток;
- (++) - умеренная инфицированность - малиновое окрашивание появляется в течение 2 часов;
- (+++) - значительная инфицированность - малиновое окрашивание появляется в течение первого часа);
- (-) - отрицательный результат - малиновое окрашивание не появляется.

Более современные модификации этого теста дали возможность ускорить получение результата. При использовании незабуферного раствора мочевины положительный результат регистрируют в течение 1 мин у 90% больных с *H. pylori*, подтвержденным бактериологическим методом. Следует учитывать,

что этот тест может давать положительные результаты, если результат рассматривается позже 1 минуты, В связи с чем, было предложено применять 6% раствор мочевины. В этом случае результаты теста оцениваются в течение 15 мин. Определены следующие недостатки теста:

- инвазивность;
- получение ложноотрицательных (при малом количестве бактерий) или ложноположительных (контаминирование материала другими микроорганизмами, продуцирующими уреазу) результатов;
- невозможность оценить состояние СОЖ.

Этот тест не используется для выявления других возможных очагов локализации *H. pylori* в желудочно-кишечном тракте - в ротовой полости и толстой кишке из-за нейтральной среды и из-за присутствия там большого количества других микроорганизмов, продуцирующих уреазу. К таким уреазопродуцентам относятся: *Proteus mirabilis*, *Proteus vulgaris*, *Morganella Morganii*, *Providencia rettgeri*, *Providencia stuartii*, *Klebsiella pneumoniae*, *Klebsiella oxitoca*. Также было обнаружено, что невозможность использования уреазного теста для выявления во внешней среде связана не только из-за его недостаточной чувствительности, но и потому, что *H. pylori* принимают кокковую форму, которая не проявляет уреазной ферментативной активности.

- Несмотря на указанные недостатки БУТ, данный метод вполне отвечает требованиям диагностики, так как ни один другой микроорганизм не заселяет СОЖ в таком большом количестве и не обладает столь мощной уреазной активностью. Безусловными преимуществами уреазных тестов является простота их выполнения и быстрота получения результата в течение нескольких минут или часов [55, 57, 60, 73].

Дыхательный Хелик-тест (тест по кинетической оценке концентрации аммиака в воздухе ротовой полости)

Неинвазивный экспресс-метод, основанный на уреазной активности *H. pylori*. Данный метод разработан учеными Санкт-Петербурга и называется "Хелик-тест". В основе метода лежит кинетическая оценка концентрации аммиака в воздухе полости рта после того, как пациент примет 500 мл карбамида обычного углеродного состава.

Пациент должен выдохнуть в индикаторную трубку 2 литра воздуха. Проводят оценку индикационного эффекта (размер темно-синего столба) по шкале или коэффициенту пересчета $C \text{ (mg/m}^3\text{)} = K(0,1) \times L(\text{mm})$. Так, например, один миллиметр соответствует $0,1 \text{ мг/м}^3$. Далее пациент выпивает 10 мл 5% водного раствора карбамида (0,5г) и запивает 10 мл воды. Через 5 минут необходимо повторить процедуру измерения, но с другой стороны той же индикаторной трубки. Затем проводят оценку прироста концентрации

аммиака. В случае, если прирост выше $0,5 \text{ mg/m}^3$, то тест на *H. pylori* считается положительным.

Результаты последних сравнительных исследований продемонстрировали, что NH_3 -уреазные тесты определения *H. pylori* в желудке с помощью Хелик-теста, обладают меньшей чувствительностью по сравнению с ^{13}C -УДТ, вследствие чего могут применяться при первичной диагностике, когда требуются проведение нескольких диагностических методов. Низкая специфичность данных тестов может привести к высокой частоте ложноположительных результатов, что ограничивает их использование в оценке эффективности эрадикационной терапии [27].

1.2.4 Иммунологические методы

ИФА-метод выявления антител к *H. pylori* в сыворотке крови

Известно, что в ответ на инвазию слизистых оболочек *H. pylori* запускается В-клеточное звено иммунитета и начинают синтезироваться антитела классов IgG и IgA против *H. pylori*. Ig M как как ранний иммунный ответ не был найден ни в одном исследовании. Данный факт может доказывать длительность течения *H. pylori*-инфекции до проявления ее клинической картины. IgA синтезируются в слизистой оболочке ЖКТ, а также секретируются в слизистые оболочки из плазмы крови. IgG поступают из плазмы, где сохраняются очень длительное время в течение всей жизни.

Иммунологические методики основаны на выявлении антител классов IgG, IgA в крови и секреторных sIgA в слюне и желудочном соке. Колонизация *H. pylori* вызывает системный иммунный ответ. Через 3-4 недели после инфицирования в слизистой оболочке и в крови больных появляются антитела к *H. pylori*, которые определяются путем иммуноферментного анализа (ИФА). Принимая во внимание тот факт, что инфекция *H. pylori* является хронической, положительные результаты серологического обследования у пациентов без терапии говорят о текущей инфекции. Несмотря на снижение уровня антител вследствие успешной эрадикационной терапии, серологическая реакция сохраняется положительной в течение длительного времени, нескольких лет. Этот так называемый «серологический рубец» ограничивает применение этого исследования для контроля эффективности терапии и даже в некоторых случаях для выявления у пациентов *H. pylori*. Однако быстрое снижение уровня антител опосредованно может указывать на санацию СОЖ. Существует несколько модификаций данного теста: ELISA - это ферментный иммуносорбентный метод, реакции фиксации комплемента, бактериальной и пассивной гемагглютинации.

Классический ИФА с количественным определением в сыворотке или плазме крови больных антител к *H. pylori* разных классов отличается Совершенствование технологии позволило повысить чувствительности и специфичности методики, и как следствие применить его для оценки

эффективности эрадикационной терапии. Несколько лет назад контроль эрадикации с помощью ИФА был возможен только через 8, а порой и 12 месяцев после окончания терапии, то для современных наборов ИФА этот срок сократился до 3 месяцев.

- высокой чувствительностью и специфичностью. Данный метод приемлем и для первичной диагностики, так как при высокой чувствительности и специфичности он на сегодняшний день самый доступный [69].

ИФА-метод выявления антител к *H. pylori* в капиллярной крови

В последнее десятилетие наблюдается активное развитие иммунологических методик. Так, например, насчитывается более 20 видов экспресс-тестов для определения в капиллярной крови пациентов антихеликобактерных антител. Быстрота, удобство и простота их выполнения в течение 15 минут, отсутствие потребности в высококвалифицированном персонале и дорогостоящем оборудовании, все это является неоспоримыми преимуществами данных тестов. Однако цена одного такого анализа почти в два раза превышает стоимость теста, выполненного обычным иммуноферментным методом.

Экспресс-тесты наиболее удобны в использовании в поликлинических условиях на амбулаторном приеме, когда врачу требуется быстрый результат исследования на наличие инфекции, чтобы определить тактику лечения незамедлительно. У данных тестов существуют и недостатки, главным из которых является отсутствие возможности их использования в оценке эффективности эрадикационной терапии. По-видимому это связано с технологией метода [65, 71].

ИФА-метод выявления антигена *H. pylori* в кале (stool-тест)

Неинвазивный метод определения фекального антигена *H. pylori* с помощью ИФА впервые был предложен в 1998 г. Данный тест рассматривался для оценки эффективности эрадикационной терапии. Многочисленные многоцентровые исследования продемонстрировали его высокую чувствительность и специфичность как при первичной диагностике *H. pylori*-инфекции, так и при наблюдении за эффективностью эрадикации. Согласно отчету согласительной конференции Маастрихт-IV в части № 2 «Диагностика и лечение инфекции *H. pylori*» имеется следующее положение: «в клинической практике для выявления *H. pylori* используются несколько неинвазивных диагностических тестов. Уреазный дыхательный тест, основанный на определении [¹³C] мочевины (¹³C-УДТ), является лучшим тестом для диагностики инфекции *H. pylori*, он представляет собой быстрый и высокоточный метод. В последние годы была разработана новая методика определения антигенов *H. pylori* в кале (stool-тест), в которой вместо поликлональных антител используются моноклональные. Мета-анализ 22 исследований с участием 2499 пациентов показал, что лабораторное

определение антигенов в кале с применением моноклональных антител является высокоточным методом как для первичной диагностики *H. pylori*, так и для контроля результата лечения. Диагностическая точность анализа кала на наличие антигенов с применением моноклональных антител сравнима с ¹³C-УДТ при использовании валидированной лабораторной методики. Уровень доказательности - 1a, класс рекомендаций - А. Полученные данные были подтверждены в дальнейших исследованиях» [12,13]. Рекомендации разработаны с учетом современных и доказанных результатов клинических исследований (согласно классам и уровням доказательной медицины, которые были утверждены на согласительных конференциях) [5,7, 48].

Таким образом, метод определения фекального антигена *H. pylori* (stool-тест) высокоэффективен и используется как на этапе первичной диагностики, так в оценке эффективности эрадикационной терапии. Данный диагностический метод сейчас рассматривается как "золотой стандарт" в диагностике *H. pylori*. Недостатком теста является его высокая стоимость, что ограничивает его широкое применение в рутинной клинической практике [49, 53, 59].

Экспресс-тест определения антигена *H. pylori* в кале (экспресс stool-test)

Сегодня в Казахстане появилась экспресс тест-система PreventID для определения антигенов *H. pylori* в кале с использованием моноклональных антител методом иммунохроматографического анализа (ИХА). Это качественный экспресс тест применяется как для первичной диагностики при подозрении на *H. pylori* инфекцию, так и для контроля эрадикационной терапии (после 4-6 недель после ее окончания). Учитывая возможности неинвазивных методов (определение антител в сыворотке и антигена в кале) возникает вопрос, в каких же случаях определять антитела, а в каких антиген. Как уже было отмечено ранее, инфекция *H. pylori* приводит к системному иммунному ответу: антитела можно определять и применять для диагностики. В результате успешной эрадикационной терапии бактерия уничтожена, но антитела циркулируют месяцы и даже годы. Поэтому определение антител имеет смысл при первичной диагностике. Для контроля эрадикационной терапии показано определение антигена, так как после терапии вместе с бактерией он выводится из организма и далее не определяется диагностическими методами [58].

С помощью экспресс-теста PreventID можно просто и быстро определить *H. pylori*. Пациенты получают специальную пробирку для сбора кала, дома собирают кал и доставляют пробирку с калом врачу. Обработка теста очень проста, в течение нескольких минут пациенты получают от врача результаты анализа. Специфичность данного теста составляет 95%, чувствительность 100%.

Принцип теста: тестовая кассета содержит нанесенные окрашенные антитела к *H. pylori*, которые связываются с присутствующим возбудителем, образуется антиген-антитело комплекс, который в области тестовой полоски проявляется штрихом фиолетово-красного цвета. Антиген в кале определяется быстро в течение 10 минут. Внутренним контролем служит контрольная полоска: после прохода жидкой пробы в области контрольной полоски наблюдается фиолетово-красный штрих. Наличие этой полоски служит подтверждением тому, что было взято достаточное количество пробы, что проба правильно прошла по кассете и реагенты сработали корректно.

Специфичность и перекрестные реакции. Для подтверждения специфичности были исследованы 10 штаммов НР с помощью Prevent ID® *H. pylori* Antigen наборов (43504,49503,51653, 43629,51110,51111, 43526, 43579, 51407, 51652). Все 10 штаммов дали положительные результаты. Кроме того были исследованы перекрестные реакции с другими организмами. Для этого суспензии бактерий в концентрации 10⁸ CFU/ml были проанализированы с помощью теста и показали отрицательные результаты. Следующие организмы показали отсутствие перекрестной реакции:

<i>Campylobacter jejuni</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Morganella morganii</i>
<i>Staphylococcus aureus</i> (MRSA)	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>Providencia rettgeri</i>
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	<i>Klebsiella oxytoca</i>	<i>Acinetobacter baumannii</i>
<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	<i>Enterobacter cloacae</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
<i>Enterococcus faecium</i>	<i>Enterobacter aerogenes</i>	<i>Shigella sonnei</i>
<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Serratia marcescens</i>	<i>Salmonella enteritidis</i>
<i>Enterococcus allinarum</i>	<i>Citrobacter kosei</i>	<i>Vibrio parahaemolyticus</i>
	<i>Proteus mirabilis</i>	<i>Vibrio cholerae</i>

Таким образом, данный метод отличается такими важными преимуществами, как неинвазивность, доступность, быстрота исполнения, доказанность точного контроля эрадикации *H. pylori*, что, безусловно, диктует необходимость внедрения этих возможностей теста в рутинную практику гастроэнтеролога и терапевта для подтверждения или исключения инфекции у пациентов с *H. pylori*-ассоциированными заболеваниями.

1.2.5 Молекулярно-биологические методы

Полимеразная цепная реакция

Данный метод используется с целью качественного выявления ДНК *H. pylori* в биоматериале (биоптаты антрального отдела желудка, ДПК, десен,

мазки из зубодесневого кармана, слюна). Позволяет провести оценку генотипических и фенотипических свойств микроорганизма. Каждый носитель инфекции имеет свой уникальный штамм *H. pylori*. Доказано, что клинические проявления обусловлены вирулентностью бактерии. Изучены гены, ответственные за синтез ряда белков таких, как Cag A, Vac A, Ice A, Bab A, которые и являются факторами патогенности. Эти белки и определяют тип штаммов *H. pylori*. Первый тип синтезируют Cag A- и Vac A-токсин, второй тип штаммов не обладают экспрессией выше указанных генов, поэтому являются менее вирулентными. Среди огромного количества методов анализа дезоксирибонуклеиновой кислоты, метод ПЦР зарекомендовал себя как наиболее часто применяемый в лабораторной диагностике. Впервые данный метод полимеразной цепной реакции (ПЦР) был предложен американским ученым Кэри Мюллисом в 1983 году. В основе метода ПЦР лежит комплементарное достраивание матрицы дезоксирибонуклеиновой кислоты, которое происходит посредством фермента ДНК-полимеразы. Этот процесс называется репликация ДНК [66, 68, 69].

Естественная репликация ДНК состоит из следующих этапов:

- денатурация ДНК - расплетение двойной спирали и расхождение нитей;
- образование коротких двухцепочечных участков ДНК;
- синтез новой цепи ДНК (комплементарное достраивание обеих нитей).

Комплементарное достраивание цепи начинается в коротких участках, которые состоят из двух нитей. Во время присоединения этих фрагментов к специфическим участкам ДНК возможно направление процесса образования новой цепи только в этом участке, но не по всей длине ДНК цепи. Обобщая вышеуказанное, можно сделать вывод, что ПЦР – это процесс многократного увеличения числа копий (амплификация) определенного участка ДНК запускаемое ферментом ДНК-полимеразой.

Метод ПЦР состоит из трех этапов:

1. выделение ДНК (РНК) из биоматериала
2. амплификация специфических фрагментов ДНК
3. определение продуктов амплификации

ПЦР в кале

Были неоднократные попытки разработки создания более доступного неинвазивного метода определения *H. pylori* - инфекции на основе ПЦР, но в связи с большим количеством ложноположительных тестов, эти поиски не приводили к существенным результатам. Несмотря на это, в итоге был создан новый метод обнаружения *H. pylori* в кале с помощью ПЦР

Чувствительность данного метода оказалась достаточно высокой (91,1%). Однако, при проведении первых исследований чувствительность его была значительно ниже и составила 75,6%. Предположили, что снижение диагностической эффективности теста на этапе первичной диагностики *H.*

pylori связано по-видимому с более длительным временем транзитом каловых масс, что возможно способствовало деструкции ДНК *H. pylori*. По этой причине с целью повышения скорости транзита кала, взрослым пациентам накануне диагностики назначалась лактулоза по 30 мл 2 раза в день. После приема слабительного и следовательно уменьшения времени эвакуации кала чувствительность теста на этапе первичной диагностики у взрослых была сопоставима с показателем у пациентов детского возраста (91,1%).

Применение метода ПЦР через 4 недели после эрадикационной терапии показало его низкую специфичность, которая была на уровне 75,7%. При оценке эффективности эрадикации через 6 недель наблюдалось снижение числа ложноположительных случаев, специфичность при этом составила 93,9%. 100% специфичность методики отмечалась через 8 недель [68, 69, 72].

1.3 Классы рекомендаций и уровни доказательности методов диагностики инфекции *H. pylori*

В последних рекомендациях Европейской рабочей группы по изучению *H. pylori* Маастрихт-IV во второй части «Диагностика и лечение инфекции *H. pylori*» указаны все рекомендованные методы диагностики, их уровень доказательности и класс рекомендаций (Таблица 4). [4, 13, 15, 16, 17, 18].

Таблица 4 - IV Маастрихтское соглашение , 2-я рабочая группа

Утверждения	Уровень доказательности	Класс рекомендаций
Неинвазивные методы диагностики		
1. Диагностическая точность фекального антигенного теста (ФАТ) (в случае применения валидированного лабораторного теста с моноклональными антителами) эквивалентна точности уреазного дыхательного теста.	1a	A
2. Не все серологические тесты эквивалентны друг другу. Поскольку разные коммерческие методики обладают разным уровнем точности, на практике рекомендуется применять только утвержденные (валидированные) серологические методы, основанные на обнаружении антигеликобактерных антител класса IgG.	1b	B
3. Утвержденные (валидированные) серологические тесты, основанные на обнаружении	1b	B

<p>антигеликобактерных антител класса IgG, могут использоваться после недавнего применения антимикробных или антисекреторных препаратов, а также в случае кровотечения, атрофии и рака желудка.</p> <p>4. У пациентов, получающих ИПП:</p> <p>1. По возможности прием ИПП следует прекратить за 2 нед. до бактериологического, гистологического исследований, быстрого уреазного теста, уреазного дыхательного теста или ФАТ.</p> <p>2. В случае невозможности отмены ИПП может использоваться утвержденный серологический тест с определением антигеликобактерных антител класса IgG.</p>	<p>1b</p> <p>2b</p>	<p>A</p> <p>B</p>
<p>Методы диагностики <i>H. pylori</i>, связанные с эндоскопическим исследованием</p>		
<p>5. В регионах с высокой резистентностью к кларитромицину перед назначением терапии первой линии, если планируется применение трехкомпонентной схемы с кларитромицином, следует обязательно проводить посев со стандартным определением чувствительности <i>H. pylori</i> к антибиотикам. Посев и стандартный тест чувствительности к антибиотикам необходимо выполнять во всех регионах перед назначением терапии второй линии при проведении эндоскопического исследования по любому поводу, а также во всех случаях неэффективности терапии второй линии.</p> <p>(2) Если стандартное определение чувствительности к антибиотикам невозможно, следует использовать молекулярные методы выявления резистентности <i>H. pylori</i> к кларитромицину и фторхинолонам непосредственно в биопсийных препаратах слизистой желудка.</p> <p>6. Если для посева <i>H. pylori</i> используется биоптат слизистой желудка, то анализ на чувствительность к антибиотикам должен включать определение чувствительности к метронидазолу.</p> <p>(2) Если чувствительность к кларитромицину оценивается с помощью молекулярного теста, то дополнительный посев для определения чувствительности к метронидазолу не оправдан.</p>	<p>5</p> <p>1b</p> <p>1b</p> <p>5</p>	<p>D</p> <p>A</p> <p>A</p> <p>D</p>

ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1 Клиническая характеристика пациентов

Набор пациентов проводился на базе на базе АО «Центральная дорожная больница» г.Астаны. Все пациенты подписывали информированное согласие на участие в клиническом исследовании.

Нами было обследовано 64 пациента в возрасте от 21 года до 69 лет. Средний возраст больных составил $42,8 \pm 1,7$, из них 38 (59,3%) женщин и 26 мужчин (40,7%) (таблица 5).

Исследование наличия *H. pylori* было проведено у 64 больных с гастродуоденальными заболеваниями, обратившихся первично с жалобами на боль в эпигастральной области и диспепсические явления. Первично обратившимся пациентам проводилось одновременное определение *H. pylori* гистологическим методом и экспресс stool-тестом на наличие антигена *H. pylori* в кале и дыхательным Хелик-тестом. Пациентам с *H. pylori* позитивным результатом по гистологическому тесту была назначена эрадикационная терапия. Через 4 недели после ее окончания пациенты вновь были обследованы на *H. pylori* с целью контроля эффективности эрадикации. Для этого проводилось одновременное определение *H. pylori* stool-тестом на наличие антигена *H. pylori* в кале и Хелик-тестом (рисунок 1).

Определение антигена *H. pylori* в кале проводилось с помощью экспресс stool-теста PreventID (Германия), измерение концентрации аммиака выполняли с помощью газоанализатора «Helico-Sense» («НТП «ТКА», Санкт-Петербург). Исследования проводились амбулаторно. У больных тщательно собирался анамнез, детально изучались жалобы. У пациентов, впервые обратившихся к врачу, диагноз устанавливали в ходе комплексного клинического, инструментального и лабораторного обследования, включая морфологическое подтверждение диагноза. Среди всех 64 участников после полного обследования были выявлены следующие пациенты: 24 с ЯБ ДПК и эрозивным дуоденитом, 4 с ЯБ желудка, 11 с атрофическим гастритом, у 25 обследуемых — поверхностный гастрит (рисунок 2).

Таблица 5 - Характеристики пациентов, участвовавших в исследовании

Характеристики	n	%
Пол		
• Женский	38	59,3%
• Мужской	26	40,7%
Возраст, средний возраст $\pm m$	42,8 \pm 1,7	

Основные требования при включении пациентов:

- на этапе первичной диагностики – это отсутствие лечения ингибиторами желудочной секреции (ингибиторы протонной помпы, H2-блокаторы) менее чем за 2 недели и антибактериальными препаратами в течение 1 месяца перед проведением теста.

- на этапе контроля эрадикации - контрольное исследование должно проводиться не ранее, чем через 4 недели после окончания лечения антибиотиками, препаратами висмута и ингибиторами протонной помпы.

Критерии для исключения:

- Это прием ингибиторов желудочной секреции (ингибиторы протонной помпы, H2-блокаторы) и антибактериальных препаратов перед проведением теста.

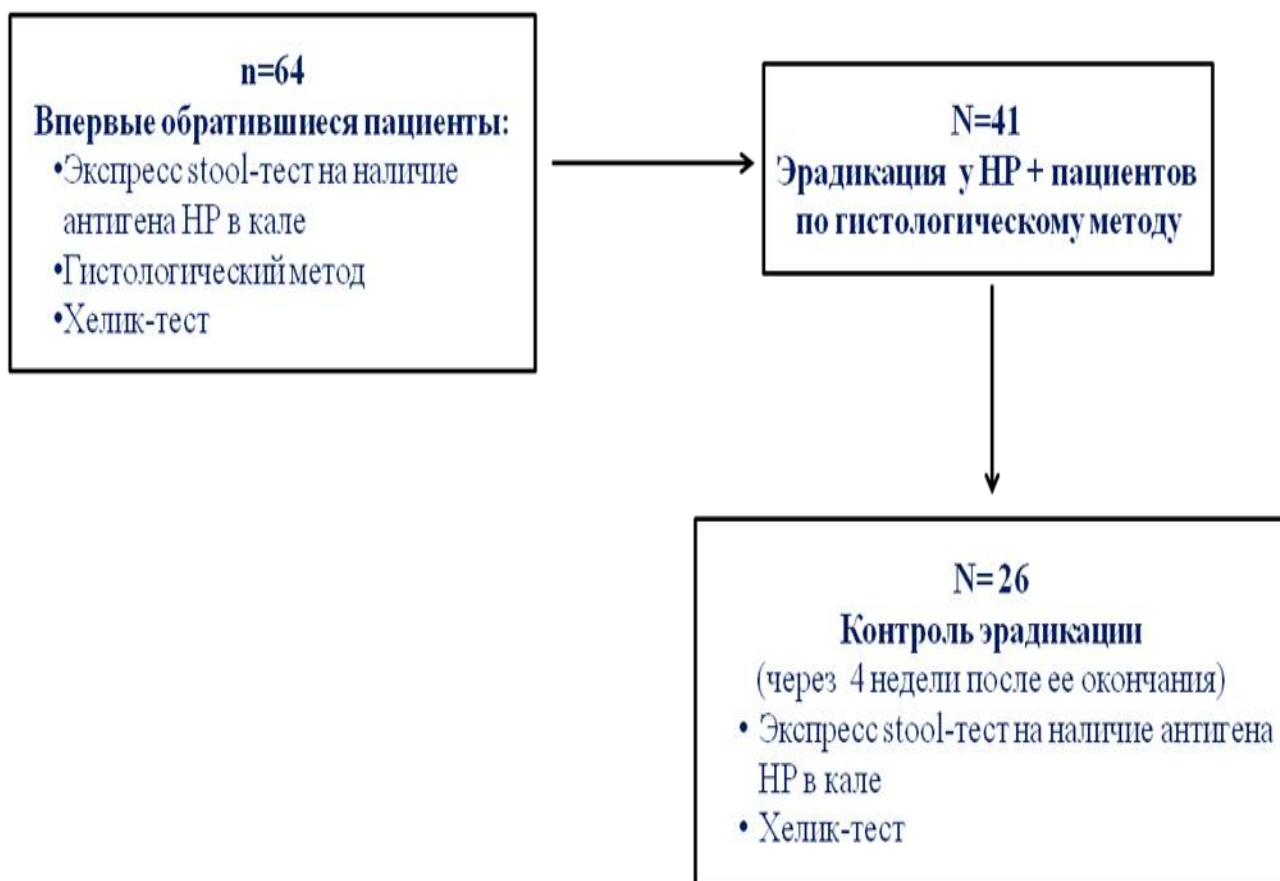


Рисунок 1 – Дизайн исследования

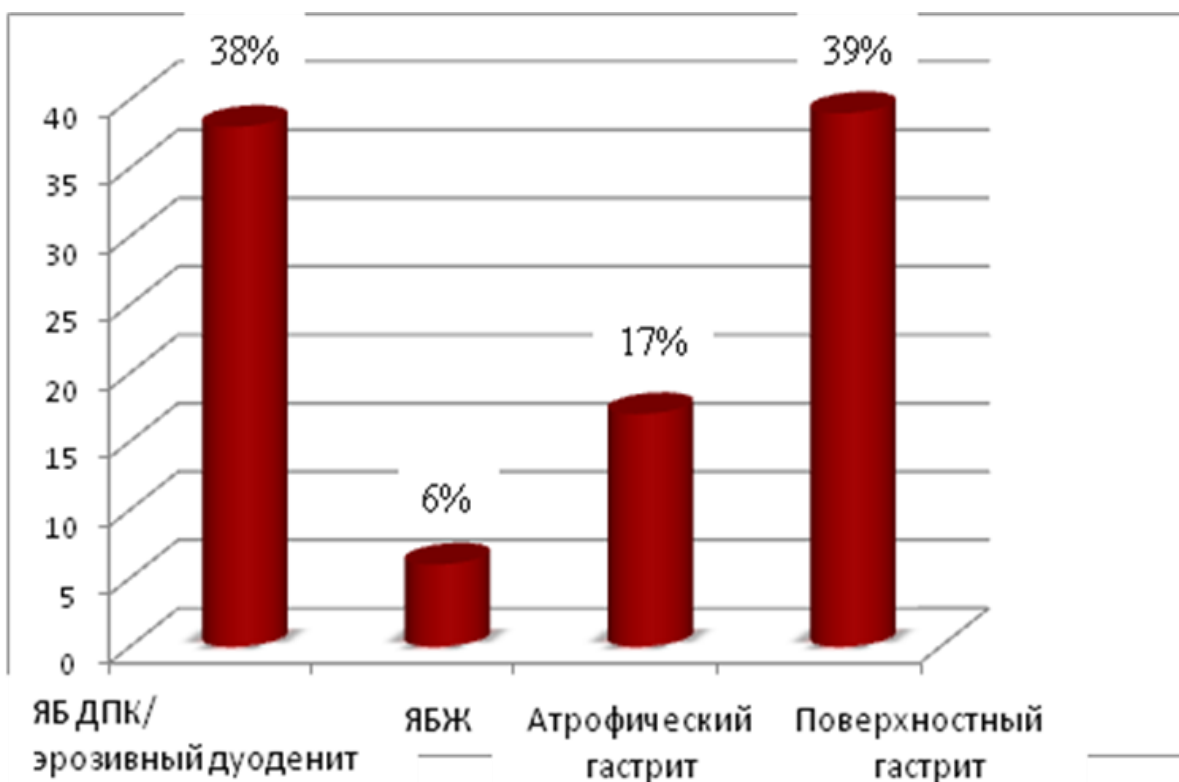


Рисунок 2 - Распределение пациентов согласно результатам эндоскопического обследования

2.2 Методы исследования

2.2.1 ИХА экспресс-тест определения антигена *H. pylori* с помощью моноклональных антител в кале (экспресс stool-тест)

Неинвазивную диагностику проводили с помощью иммунохроматографической тест-системы PreventID для определения антигенов *H. pylori* в кале (экспресс stool-тест) (Рисунок 3). Это качественный экспресс тест применяется как для первичной диагностики при подозрении на *H. pylori* инфекцию, так и для контроля эрадикационной терапии (после 4-6 недель после ее окончания).



Рисунок 3 - Иммунохроматографическая тест-система PreventID для определения антигенов *H. pylori* в кале

Для этого пациенты получали специальную пробирку для сбора кала, дома собирали кал и доставляли пробирку с калом врачу. Обработка теста очень проста, в течение нескольких минут пациенты получали от врача результаты анализа.

Принцип теста: тестовая кассета содержит нанесенные окрашенные моноклональные антитела против *H. pylori*, которые связываются с присутствующей бактерией, образуется антиген-антитело комплекс, который в области тестовой полоски проявляется штрихом фиолетово-красного цвета. Наличие антигена в кале определяется в течение 10 минут. Внутренним контролем служит контрольная полоска: после прохода жидкой пробы в области контрольной полоски наблюдается фиолетово-красный штрих. Наличие этой полоски служит подтверждением тому, что было взято достаточное количество пробы, что проба правильно прошла по кассете и реагенты сработали корректно (Рисунок 4).

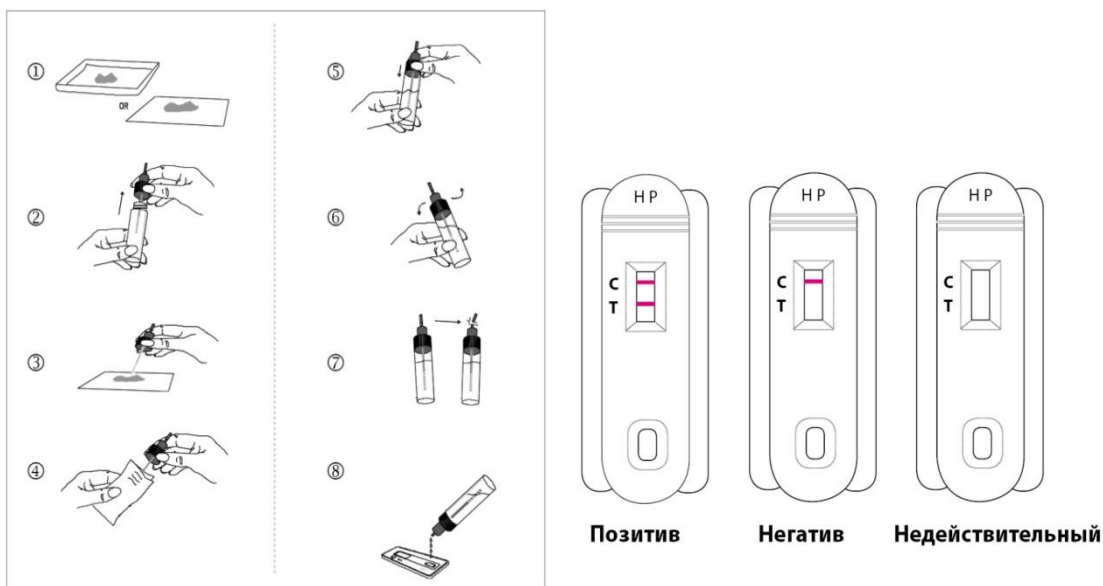


Рисунок 4 – Интерпретация результатов по экспресс stool-тесту определения антигенов *H. pylori* в кале

Если результат отрицательный, то в окошке результата появляется в области контрольной полоски (С) розово-красный штрих. При положительном результате: дополнительно к красной контрольной полоске (С) в поле тестовой полоски (Т) виден розово-красный штрих. В случае если контрольный штрих не виден, независимо от появления тестовой полоски, тест считается не действительным. Причинами могут быть недостаточный объем пробы, ошибка в проведении анализа, истечение срока действия препарата. Важно отметить, что интенсивность тестовой полоски «Т» может меняться и зависит от концентрации определяемого антигена в пробе. С помощью этого теста не могут быть определены ни абсолютная концентрация, ни увеличение антигена.

2.2.2 Экспресс тест по кинетической оценке концентрации аммиака в воздухе ротовой полости (дыхательный Хелик-тест)

Также неинвазивную диагностику НР-инфекции осуществляли с использованием неизотопного дыхательного Хелик-теста, который представляет собой экспресс тест по кинетической оценке концентрации аммиака в воздухе ротовой полости («НТП «ТКА», Санкт-Петербург). Исследование проводили одновременно в двух модификациях с индикаторными трубками, заполненными селективным хемосорбентом, и с применением «Хелик»-аппарата. Концентрацию аммиака в воздухе ротовой полости обследованных пациентов определяли после алиментарной нагрузки стандартным раствором, приготовленным из 500 мг мочевины, и оценивали по длине окрашенного столбика в индикаторной трубке, а также по гистограмме значений концентрации аммиака во времени, которая отражалась на экране компьютера, соединенного с «Хелик»-аппаратом.

Длина окрашенного столбика в трубке в 1мм соответствует концентрации аммиака 0,3 мг/м³ аммиака. Увеличение концентрации аммиака после приема мочевины более чем на 0,6 мг/м³ считалось положительным результатом.



Рисунок 5 – дыхательный Хелик тест

2.2.3 ЭГДС и гистологический метод

Фиброгастродуоденоскопию выполняли на аппарате «Pentax EG-2990i» (Япония) с забором 4 биоптатов из антрального отдела и тела желудка для последующего гистологического исследования на определение *Helicobacter pylori*. 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.

2.2.4 Статистический анализ

При обработке данных применялась программа прикладной статистики STATISTICA. В работе использовались следующие параметрические методы: описательная статистика - среднее значение, стандартное отклонение. Все данные внесены в персональный компьютер и обработаны с помощью статистической программы STATISTICA 6.1.

Определялись следующие показатели:

1. **Чувствительность (Se)** - способность диагностического метода давать правильный результат, который определяется как доля истинно положительных результатов среди всех проведенных тестов. Чувствительность рассчитывалась по формуле:

$$Se = \frac{TP}{TP + FN} \times 100$$

где TP – истинно положительные результаты исследования

FN – ложно отрицательные результаты

2. **Специфичность (Sp)** - способность диагностического метода не давать при отсутствии заболевания ложноположительных результатов, который определяется как доля истинно отрицательных результатов среди здоровых лиц в группе исследуемых. Данный показатель определяется по формуле:

$$Sp = \frac{TN}{TN + FP} \times 100$$

где TN – количество истинно отрицательных результатов исследования

FP – количество ложно положительных результатов

3. **Точность (Ac)** - это доля правильных результатов теста (т.е. сумма истинно положительных и истинно отрицательных результатов) среди всех обследованных пациентов.

$$Ac = \frac{TP + TN}{TP + TN + FP + FN} \times 100$$

где TP – истинно положительные результаты исследования

TN – количество истинно отрицательных результатов исследования

FP– количество ложно положительных результатов

FN – ложно отрицательные результаты

4. **Коэффициент ранговой корреляции Спирмена.** Расчет коэффициента ранговой корреляции Спирмена [43, 44, 45]:

$$r = 1 - \frac{6 \cdot \sum d^2}{n(n^2 - 1)}$$

5. **t-критерий Стьюдента**, рассчитанный по формуле:

$$t = \frac{M_1 - M_2}{\sqrt{\frac{s_1^2}{m_1} + \frac{s_2^2}{m_2}}}$$

6. **критерий χ^2 Пирсона** [44, 45]:

$$\chi^2 = \sum_{i=1}^r \sum_{j=1}^c \frac{(O_{ij} - E_{ij})^2}{E_{ij}}$$

ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

3.1 Диагностическая эффективность экспресс stool-теста определения антигена *H.pylori* с помощью моноклональных антител в кале

Результаты, полученные при проведении экспресс stool-теста сопоставлялись с результатами дыхательного Хелик-теста и с гистологическим методом обнаружения *H.pylori*. Анализ диагностической информативности методов проводился по таким характеристикам, как чувствительность, специфичность, диагностическая точность. Чувствительность рассчитывалась как отношение истинно положительных результатов к сумме истинно положительных и ложноотрицательных результатов. Этот параметр в исследовании характеризовал процент выявления с помощью тестируемой методики (экспресс stool-тест) инфицированных среди лиц, инфицированность которых была установлена при гистологическом методе определения, являющегося «золотым стандартом» определения *H.pylori*. Специфичность определялась как отношение истинно отрицательных результатов к сумме истинно отрицательных и ложноположительных результатов. Этот показатель отражал процент выявления неинфицированных лиц среди обследуемых участников, определяемого как «неинфицированные» с помощью гистологического метода. Точность - процент совпадений - это отношение суммы истинно положительных и отрицательных результатов ко всем вариантам.

3.1.1 Результаты диагностики *H.pylori* при одновременном проведении тестируемого экспресс stool-теста определения антигена *H.pylori* с помощью моноклональных антител в кале, Хелик теста и гистологического метода

При первичной диагностике оценку методики экспресс stool-теста определения антигена *H.pylori* с помощью моноклональных антител в кале и Хелик-теста проводили относительно гистологического метода определения *H.pylori* в биоптате слизистой желудка. Гистологическое исследование *H.pylori* в биопсийном материале слизистой желудка, полученном при ЭГДС, экспресс stool-тест определения антигена *H.pylori* с помощью моноклональных антител в кале и Хелик-тест были проведены одновременно у 64 пациентов.

Наличие *H.pylori* при гистологическом исследовании выявлено у 41 больного из 64 обследованных. У 23 пациентов получены отрицательные результаты. При использовании у этих же пациентов методики экспресс stool-теста определения антигена *H.pylori* с помощью моноклональных антител в кале у 39 из 64 пациентов был выявлен положительный результат: в тестовой кассете дополнительно к красной контрольной полоске (С) в поле

тестовой полоски (Т) проявился розово-красный штрих, что указывало на наличие антигенов *H.pylori* в кале (рисунок 6).

Из 39 положительных результатов экспресс stool-теста определения антигена *H.pylori* с помощью моноклональных антител в кале совпадение с положительными результатами гистологических исследований отмечено у 35 человек — количество, отражающее истинно положительные результаты относительно результатов, полученных при проведении гистологического метода. У 4 человек совпадения не выявлено: экспресс stool-тест определения антигена *H.pylori* с помощью моноклональных антител в кале дал положительный результат, гистологическое исследование отрицательный, т.е. ложноположительный результат по экспресс stool-тесту определения антигена *H.pylori* с помощью моноклональных антител в кале.

Из 25 пациентов с отрицательными значениями экспресс stool-теста определения антигена *H.pylori* с помощью моноклональных антител в кале у 18 отмечалось совпадение с отрицательными результатами при гистологическом исследовании, что рассматривалось как истинно отрицательные результаты. У 7 совпадений не выявлено: экспресс stool-тест определения антигена *H.pylori* с помощью моноклональных антител в кале дал отрицательный результат, гистологическое исследование положительный, т.е. ложноотрицательный результат по экспресс stool-тесту определения антигена *H.pylori* с помощью моноклональных антител в кале (рисунок 7).

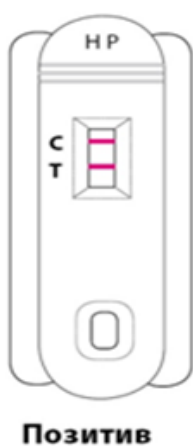


Рисунок 6 - Положительный результат по экспресс stool-тесту определения антигенов *H. pylori* в кале

Аналогичные сравнительные исследования относительно гистологического метода были проведены и для методики дыхательного Хелик-теста. Из 37 положительных результатов Хелик-теста совпадение с положительными результатами гистологического метода было получено у 29 человек, что отражает истинно положительные результаты по Хелик-тесту относительно показателей гистологического исследования. У 8 же участников совпадения не достигались, т.е. Хелик-тест показал положительный результат, а гистологический метод отрицательный, т.е. у 8 обследуемых наблюдался ложноположительный результат по Хелик-тесту.

Из 27 пациентов с отрицательными значениями по Хелик-тесту 16 показали совпадение с отрицательными результатами гистологического метода, т.е. у них были получены истинно отрицательные результаты по Хелик-тесту. А у 11 человек совпадений не выявлено: Хелик-тест дал отрицательный результат, гистологический метод положительный, т.е. ложноотрицательный результат по Хелик-тесту (рисунок 7).

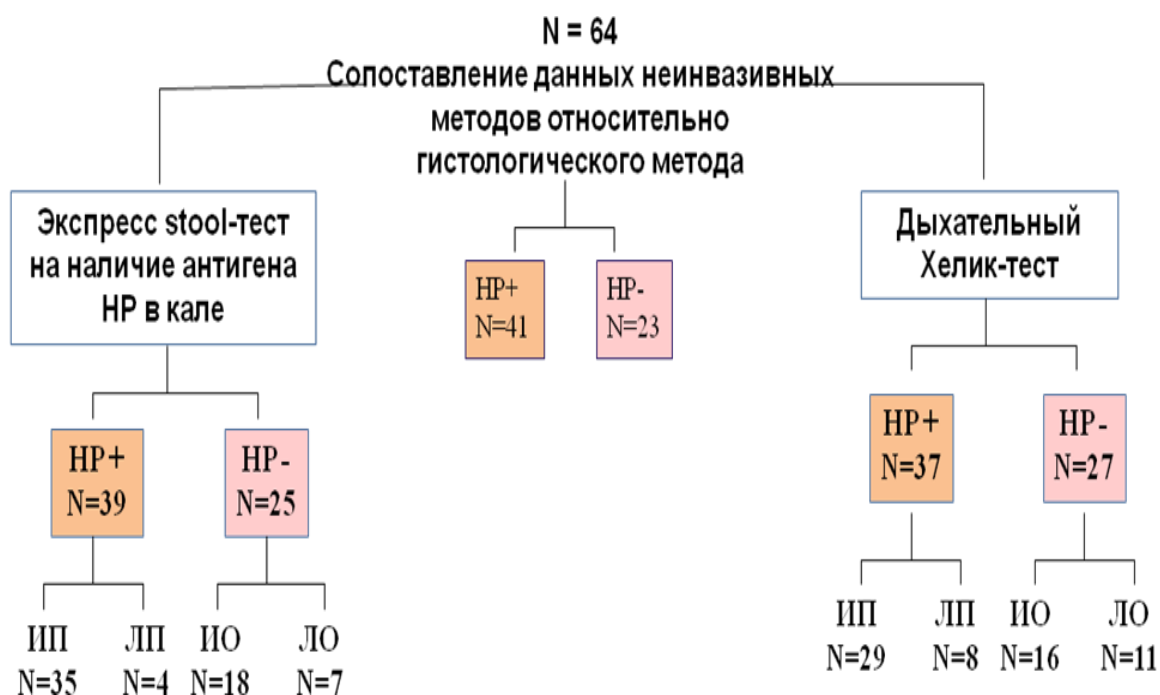


Рисунок 7 – Результаты сравнения диагностической значимости экспресс stool-теста определения антигена *H.pylori* с помощью моноклональных антител в кале и Хелик теста относительно результатов гистологического метода определения *H.pylori* (золотого стандарта).

ИП – истинно положительные
ЛП – ложно положительные
ИО – истинно отрицательные
ЛО – ложно отрицательные

Чувствительность методики определения антигена *H.pylori* с помощью моноклональных антител в кале определялась на уровне 83%, а Хелик-теста на уровне – 72% (рисунок 8). При использовании диагностики *H.pylori* по аммиаку методикой Хелик-теста у 28 человек из 100 инфицированных *H.pylori* может быть не диагностирована. При использовании stool-теста определения антигена *H.pylori* с помощью моноклональных антител в кале вероятность отрицательных результатов снижалась до 17%.

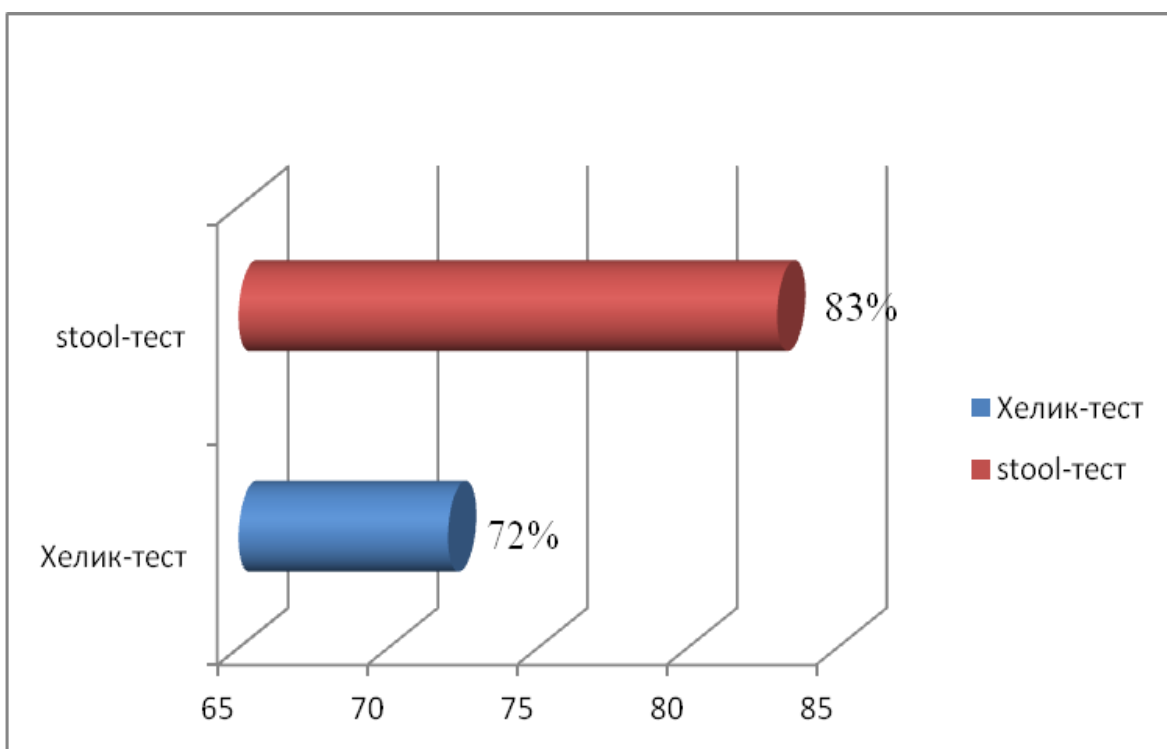


Рисунок 8 - Сравнение чувствительности неинвазивных методов экспресс stool-теста определения антигена *H.pylori* с помощью моноклональных антител в кале и Хелик-теста

Специфичность для методики определения антигена *H.pylori* с помощью моноклональных антител в кале составила 82%. Специфичность же Хелик-теста такова, что в 34% случаев могут быть получены ложноположительные результаты у неинфицированных пациентов, т.е. согласно этим результатам эрадикационная терапия *H.pylori* с приемом антибактериальных препаратов будет проводиться примерно у 1/3 неинфицированных пациентов (рисунок 9).

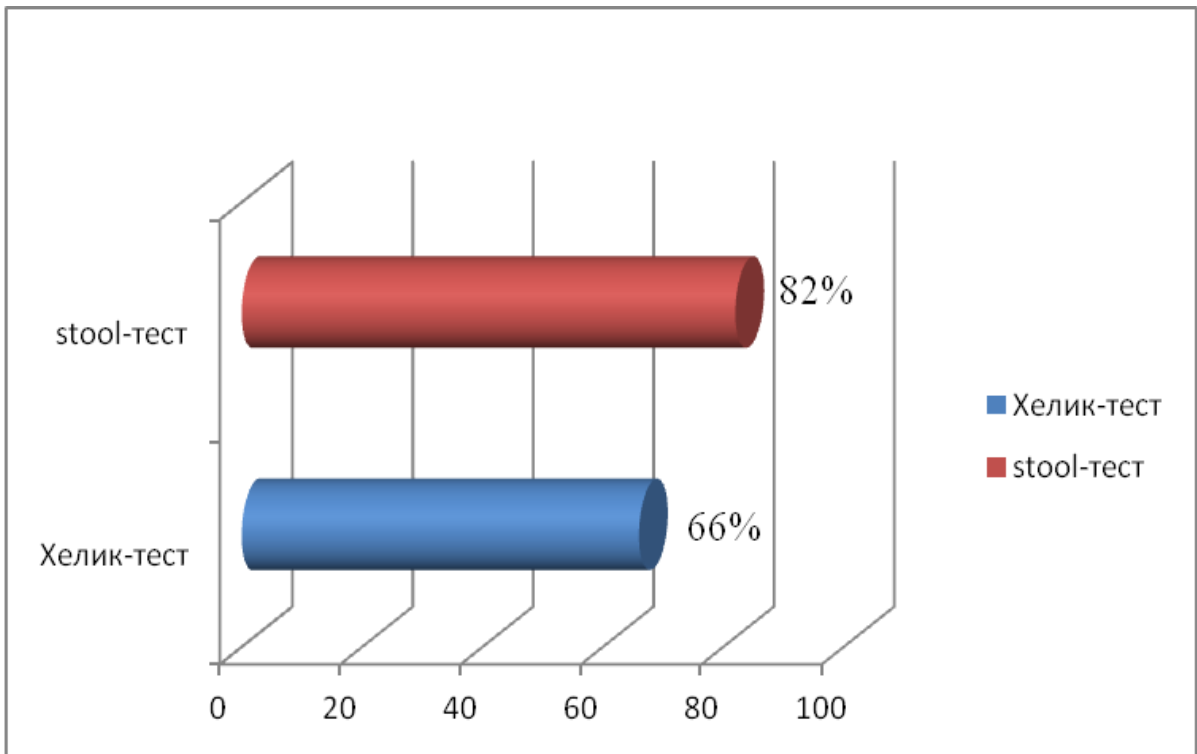


Рисунок 9 - Сравнение специфичности неинвазивных методов экспресс stool-теста определения антигена *H.pylori* с помощью моноклональных антител в кале и Хелик - теста

При диагностике инфекции *H.pylori* методикой stool-теста определения антигена *H.pylori* с помощью моноклональных антител в кале по отношению с результатами гистологических исследований совпадение результатов (точность) отмечалось в 83% случаев, а для методики Хелик-тест в 70% (рисунок 10).

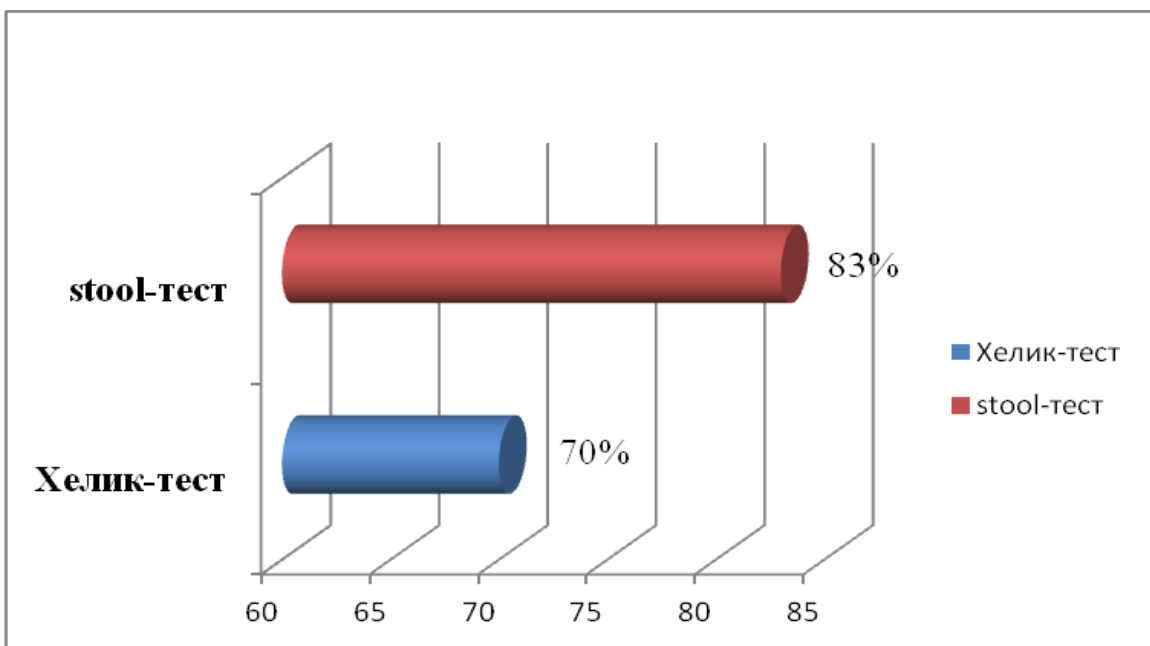


Рисунок 10 - Сравнение точности неинвазивных методов экспресс stool-теста определения антигена *H.pylori* с помощью моноклональных антител в кале и Хелик - теста

Анализ чувствительности, специфичности и точности при выявлении инфицированных *H.pylori* новым неинвазивным методом stool-тестом определения антигена *H.pylori* с помощью моноклональных антител в кале и Хелик-теста представлен в таблице 6.

Таблица 6 – Сравнительная характеристика экспресс-теста ИХА и Хелик теста по результатам двух групп, %

Методики	Методы исследования		
	Чувствительность	Специфичность	Точность
stool-тест определения антигена <i>H.pylori</i> с помощью моноклональных антител в кале	83	82	83
Хелик-тест	72	66	70

3.1.2 Корреляционный анализ результатов неинвазивных методов диагностики НР (экспресс stool-теста определения антигена *H.pylori* в кале и дыхательного Хелик-теста)

Результаты тестирования при сравнении трех методов гистологического, stool-теста и дыхательного Хелик-теста представлены в таблице 9. Исход тестирования оценивался исходя из общепринятого подхода интерпретации результатов, когда хотя бы 2 тестируемые методики должны дать одинаковый результат, который и рассматривается в качестве окончательного (ОР). С целью статистической оценки степени соответствия результатов всех методик был проведен корреляционный анализ. При балльной оценке тестирования (0;1), относящейся к порядковой шкале показателей, использовали непараметрический ранговый коэффициент Спирмена [16].

Корреляция показателей stool-теста с ОР была максимально возможной с обеспечением надежной статистической значимости (таблица 7). Коэффициент ранговой корреляции 0,878. Связь между исследуемыми признаками - прямая, теснота (сила) связи по шкале Чеддока – высокая. Число степеней свободы (f) составляет 14, t-критерий Стьюдента равен 6.874,

Критическое значение t-критерия Стьюдента при данном числе степеней свободы составляет 2.145. $t_{\text{набл}} > t_{\text{крит}}$, зависимость признаков статистически значима ($p < 0,05$). Коэффициент детерминации R^2 указывает на то, что взаимосвязь этих показателей обусловлена примерно 77% их вариабельности.

В отношении Хелик теста наблюдается следующая картина: коэффициент корреляции равен 0.618. Связь между исследуемыми признаками - прямая, теснота (сила) связи по шкале Чеддока – заметная. Число степеней свободы (f) составляет 14, t-критерий Стьюдента равен 2.942. Критическое значение t-критерия Стьюдента при данном числе степеней свободы составляет 2.145. $t_{\text{набл}} > t_{\text{крит}}$, зависимость признаков статистически значима ($p < 0,05$) при коэффициенте детерминации R^2 38%.

Таким образом, результаты корреляционного анализа (по Спирмену) тестируемых методик с ОР показали, для диагностики НР следует рекомендовать неинвазивный экспресс stool-тест определения антигена НР в кале и дыхательный Хелик тест.

Таблица 7 - Показатели корреляционного анализа результатов двух методов диагностики *H. pylori*

Метод диагностики	Коэффициент ранговой корреляции	Коэффициент детерминации R, %	Уровень значимости нулевой гипотезы, P
Экспресс stool-тест	0.878	77,1	$p < 0,05$
Хелик тест	0.618	38,2	$p < 0,05$

Дополнительно к вышеуказанным расчетам с целью оценки достоверности различий в сравниваемых группах (stool-тест и Хелик) мы провели корреляцию с использованием Критерий хи-квадрата Пирсона. Оценивалась статистическая значимость различий истинно положительных результатов обоих тестов и значимость различий истинно отрицательных результатов. Полученное значение критерия хи-квадрат 0,046, меньше критического 3.841, сила связи не существенная, следовательно, достоверность различий в сравниваемых группах отсутствует (таблица 8, 9).

Таблица 8 - Критерии оценки значимости различий

Наименование критерия	Значение критерия	Уровень значимости
Критерий Хи-квадрат	0.046	$p > 0,05$

Критерий Хи-квадрат с поправкой на правдоподобие	0.046	p>0,05
Точный критерий Фишера (двусторонний)	1.00000	p>0,05

Таблица 9 - Критерии оценки силы связи

Наименование критерия	Значение критерия	Сила связи*
Коэффициент сопряженности Пирсона (C)	0.042	несущественная
Нормированное значение коэффициента Пирсона (C')	0.060	несущественная

Таким образом, результаты двух корреляционных анализов (непараметрический ранговый коэффициент Спирмена и Критерий хи-квадрата Пирсона) тестируемых методик показали, что, несмотря на разницу в показателях диагностической эффективности (чувствительность, специфичность и точность), для обнаружения инфекции НР диагностические свойства тестов достаточно высоки и весьма сходны между собой.

Обобщая полученные результаты исследования тестов, можно сделать следующий вывод: для диагностики *H. pylori* следует рекомендовать неинвазивный экспресс stool-тест определения антигена *H. pylori* в кале и дыхательный Хелик тест.

3.1.3 Оценка диагностических возможностей экспресс stool-теста определения антигенов *H. pylori* с помощью моноклональных антител в кале в контроле эффективности эрадикации

Согласно результатам обследования при первичной диагностике у 41 из 64 пациентов была диагностирована *H. pylori* инфекция гистологическим методом. Данным больным была назначена трехкомпонентная эрадикационная терапия первой линии, включавшая в себя ИПП+амоксициллин+имидазол / ИПП+амоксициллин+кларитромицин. Эффективность проводимой терапии оценивалась на основании данных одновременного выявления *H. pylori* с помощью экспресс stool-теста определения антигенов *H. pylori* в кале и Хелик-теста через 4 и 6 недель после завершения лечения. При использовании методики определения антигенов *H. pylori* с помощью моноклональных антител в кале количество пациентов с успешной эрадикацией составило 21 человек, при использовании Хелик-теста – 15 человек. Число пациентов с положительным *H. pylori* по Хелик-тесту после эрадикации было 11, что в 2 раза больше числа положительных *H. pylori* по экспресс stool-тесту определения антигена

H.pylori с помощью моноклональных антител в кале. Количество *H. pylori*-позитивных и *H. pylori*-негативных пациентов по экспресс stool-тесту определения антигена *H.pylori* с помощью моноклональных антител в кале и Хелик – тесту представлены на рисунке 11. Таким образом, эффективность эрадикации по результатам экспресс stool-теста определения антигена *H.pylori* с помощью моноклональных антител в кале составила 81%, а при контроле с помощью Хелик-теста – 58%.

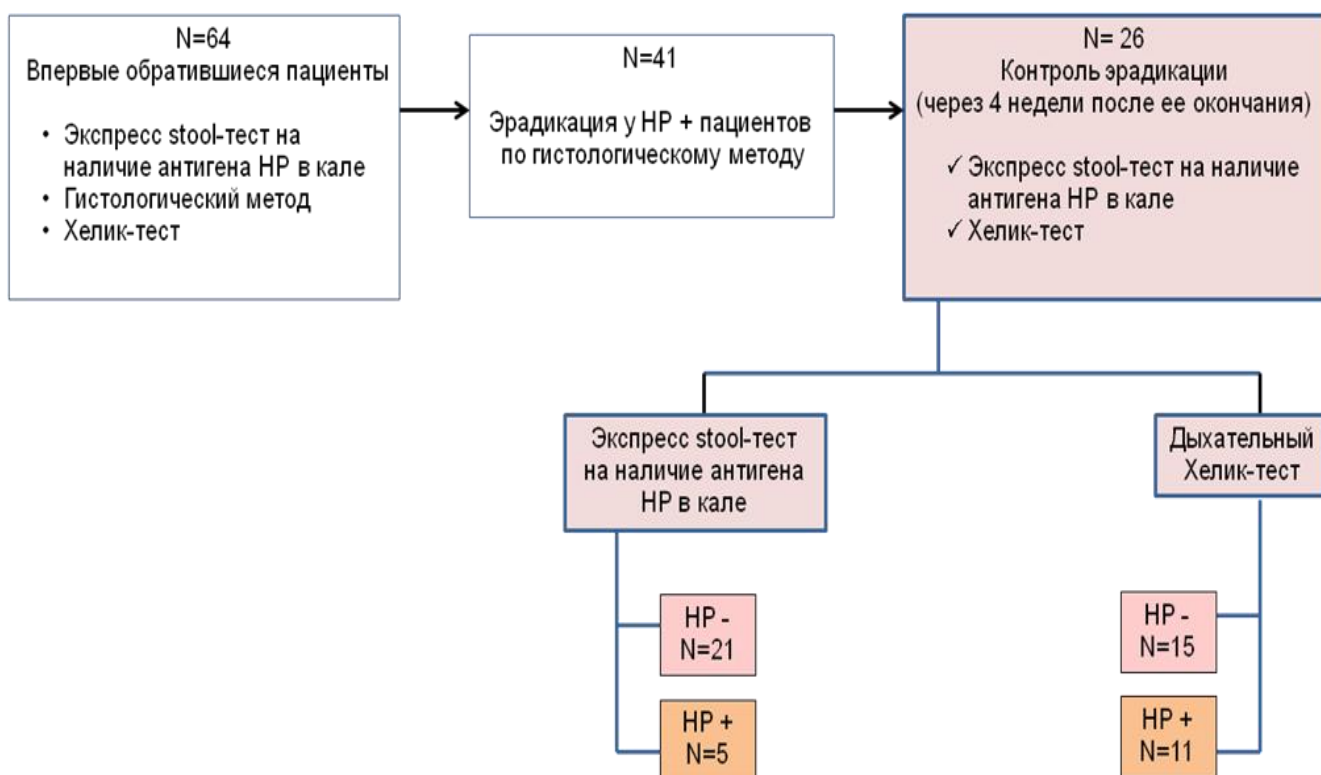


Рисунок 11 – Количество HP+ и HP- пациентов по экспресс stool-тесту определения антигена *H.pylori* с помощью моноклональных антител в кале и Хелик – тесту после эрадикации

При проведении корреляционного анализа значение критерия χ^2 составляет 3,250, критическое значение χ^2 при уровне значимости $p < 0,05$ составляет 3,841 при числе степеней свободы равно 1. Следовательно связь между тестируемыми методиками отсутствует, уровень значимости $p > 0,05$. Таким образом, достоверность различий в сравниваемых методиках отсутствует, и для определения инфекции *H.pylori* диагностические свойства тестов достаточно высоки и сопоставимы между собой.

Исходя из полученных результатов, можно сделать вывод, что экспресс stool-тест определения антигена *H. pylori* в кале с помощью моноклональных антител может быть методом выбора в неинвазивной диагностике *H. pylori*-инфекции и оценке эффективности эрадикационной терапии.

На основе вышеизложенного материала, нами разработан «Диагностический алгоритм *H. pylori* инфекции».



ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Хронические воспалительные заболевания верхних отделов пищеварительного тракта остаются актуальной проблемой клинической медицины. Ведущее место среди этиологических факторов развития гастродуоденальной патологии занимает инфекция *H. pylori*, без учета которой на сегодняшний день невозможна адекватная диагностика и терапия заболеваний желудка и ДПК. В настоящее время установлено, что *H. pylori* является одной из самых распространенных хронических инфекций человека, при этом частота инфицирования *H. pylori* прогрессивно возрастает и повышается с возрастом во всех изученных группах.

Общепринятый подход борьбы с *H. pylori* - инфекцией при лечении патологии верхних отделов желудочно-кишечного тракта заключается в ее эрадикации. С этой целью назначается комплекс специальных антибактериальных препаратов, контроль эффективности которых при эрадикации *H.pylori* также требует наличия в арсенале точных и, главное, специфичных методов его определения. Наличие доступных диагностических средств достоверного выявления *H. pylori*- инфекции в желудке может позволить не только выявлять и контролировать инфицированных, но и избежать необоснованного назначения химиотерапевтических препаратов, а также адекватно проводить оценку эрадикации.

Согласно рекомендациям Американской коллегии гастроэнтерологов 2005 г. и рекомендациям IV конференции Европейской группы по изучению *H. pylori* 2010 г. для определения инфицированности *H.pylori* следует использовать пероральный дыхательный тест с мочевиной — уреазный дыхательный тест, как наиболее специфичный метод, а при его недоступности проводят определение антигена *H.pylori* в фекалиях (stool-тест) [7, 27]. В настоящее время разработано большое количество методов, позволяющих выявлять инфицированных *H. pylori*, однако ни один из методов не обладает 100% чувствительностью и специфичностью [8]. Более того, в РК представлены не все рекомендуемые методики определения *H. pylori* и недостаточно освещены все доступные методы диагностики, а именно их преимущества и недостатки, какой лучше метод выбрать из имеющихся.

Все вышеуказанное явилось предпосылкой для освещения данной проблемы и изучения нового для Казахстана неинвазивного метода диагностики инфекции с помощью экспресс stool-теста определения антигена *H. pylori* с помощью моноклональных антител в кале с целью внедрения этой методики в ежедневную практику гастроэнтеролога и терапевта. Исходя из этого, целью нашей работы явилось изучение диагностической ценности неинвазивного метода определения антигена *H. pylori* в кале (экспресс stool-тест) при первичной диагностике *H. pylori* - инфекции и в оценке эффективности эрадикационной терапии при *H. pylori* - ассоциированных заболеваниях.

Задачами исследования послужило следующее:

1. Изучить диагностические характеристики (чувствительность, специфичность и точность) неинвазивных методов - экспресс теста определения антигенов *H. pylori* в кале с помощью моноклональных антител (экспресс stool-тест) и дыхательного Хелик-теста относительно "золотого" стандарта – гистологического метода.

2. Провести сравнительную оценку диагностической значимости двух неинвазивных методов диагностики *H. pylori* экспресс теста определения антигенов *H. pylori* в кале с помощью моноклональных антител (экспресс stool-тест) и дыхательного Хелик теста.

3. Оценить диагностические возможности применения нового неинвазивного экспресс теста определения антигенов *H. pylori* с помощью моноклональных антител в кале (экспресс stool-тест) как метода контроля эффективности эрадикационной терапии

Единицами наблюдения послужили пациенты с синдромом диспепсии (в период с апреля 2015 по ноябрь 2015) при первичной диагностике *H. pylori* и при контроле эффективности эрадикационной терапии. Пациенты прошли полное клиническое обследование пациентов (расспрос, осмотр, установление диагноза в соответствии с современными классификационными и диагностическими критериями). Всем пациентам была проведена ЭГДС с проведением биопсии СОЖ - морфологическое исследование биоптата слизистой желудка (гистологическое исследование) на определение *H. pylori*, экспресс тест по кинетической оценке концентрации аммиака в воздухе ротовой полости (дыхательный Хелик-тест) и тестируемый метод - экспресс определение антигенов *H. pylori* в кале с использованием иммунохроматографической тест-системы с моноклональными антителами (экспресс stool-тест).

Экспресс stool-тест определения антигена *H. pylori* в кале показал высокую диагностическую эффективность, чувствительностью определялась на уровне 83%, специфичность 82% и точностью 83% как при первичной диагностике *H. pylori*, так и при контроле ее эрадикации. При этом у дыхательного Хелик-теста чувствительность составила 72%, специфичность 66% и точность 70%.

Подробный сравнительный анализ (непараметрический ранговый коэффициент Спирмена и Критерий хи-квадрата Пирсона) эффективности двух неинвазивных методов диагностики *H. pylori* показал, что, несмотря на разницу в показателях диагностической эффективности (чувствительность, специфичность и точность), для обнаружения инфекции *H. pylori* диагностические свойства тестов достаточно высоки и весьма сходны между собой.

Обобщая полученные результаты исследования тестов, можно сделать следующий вывод: для диагностики *H. pylori* следует рекомендовать неинвазивный экспресс stool-тест определения антигена НР в кале с помощью моноклональных антител и дыхательный Хелик-тест.

Впервые в отечественной гастроэнтерологии исследованы диагностические возможности неинвазивных методов диагностики *H. pylori*

инфекции (экспресс тест определения фекального антигена *H. pylori* и экспресс тест по кинетической оценке аммиака - Хелик тест). Впервые проведена сравнительная оценка неинвазивных методов диагностики хеликобактерной инфекции: экспресс теста определения антигена *H. pylori* с помощью моноклональных антител в кале и экспресс теста по кинетической оценке концентрации аммиака Хелик-теста.

Установлено, что указанный экспресс stool-тест определения антигена *H. pylori* с помощью моноклональных антител в кале является оптимальным методом диагностики хеликобактериоза до и после эрадикационной терапии, обладает высокими диагностическими характеристиками (чувствительность, специфичность и точность). Метод безопасен, не имеет противопоказаний, легко воспроизводим, исключают риск реинфекции, прост в исполнении, и удобен как для врача, так и для пациента. Неинвазивность и высокая информативность экспресс stool-теста диктует необходимость внедрения этих возможностей теста в ежедневную практику гастроэнтеролога и терапевта для подтверждения или исключения инфекции у пациентов с *H. pylori* -ассоциированными заболеваниями, а также позволяет рекомендовать его для масштабных эпидемиологических исследований.

ВЫВОДЫ

1. Экспресс stool-тест определения антигена *H. pylori* с помощью моноклональных антител в кале является оптимальными неинвазивным методом обнаружения инфекции *H. pylori* до и после курса эрадикационной терапии, т.к. обладают высокой чувствительностью(83%), специфичностью (82%) и точностью (83%).

2. Корреляционный анализ показал, что для обнаружения *H. pylori* диагностические свойства экспресс stool-теста определения антигена *H. pylori* с помощью моноклональных антител в кале и Хелик теста достаточно высоки и весьма сопоставимы между собой ($\chi^2 = 0,046$, $p > 0,05$).

3. Эффективность эрадикации по результатам экспресс stool-теста определения антигена *H.pylori* в кале составила 81%, а по Хелик-тесту – 58% ($\chi^2 = 3,250$, $p > 0,05$), что подтвердило его высокую диагностическую ценность в контроле эффективности эрадикационной терапии.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

В результате проведенного исследования можно определить следующие практические рекомендации по применению экспресс stool-теста определения антигена *H. pylori* с помощью моноклональных антител в кале:

1. Тестируемый экспресс stool-тест определения антигена *H. pylori* с помощью моноклональных антител в кале является оптимальным методом диагностики *H. pylori* инфекции как до, так и после эрадикационной терапии, а также обладает высокими диагностическими характеристиками (чувствительность, специфичность и точность). Метод безопасен, не имеет противопоказаний, легко воспроизводим, не требует высококвалифицированных медицинских специалистов, позволяет получить ответ в течение 10 минут, исключает риск реинфекции, тест удобен как для врача, так и для пациента.

2. Неинвазивность и высокая информативность теста позволили обосновать его диагностическую значимость, и, следовательно, внедрить для диагностики и динамического наблюдения в амбулаторно-поликлинических условиях, а также рекомендовать для масштабных эпидемиологических исследований.

3. Результаты исследования могут дополнить базу теоретических знаний о возможностях различных методов диагностики *H. pylori*, имеющихся в Казахстане.

СПИСОК ИСПОЛЬЗУЕМЫХ ИСТОЧНИКОВ

1. Маев И. И. Инфекция *Helicobacter pylori* / И. И. Маев, А. А. Самсонов, Д. Н. Андреев. – Москва: ГЭОТАР-Медиа, 2016.- 256 с.
2. Маев И. В. Принципы диагностики и рациональной фармакотерапии хронического гастрита / И. В. Маев, Н. Н. Голубев // РМЖ. Болезни органов пищеварения. – 2010. – Режим доступа: http://www.rmj.ru/articles/bolezni_organov_pishchevareniya/Principy_diagnostiki_i_racionalnoy_farmakoterapii_hronicheskogo_gastrita/.
3. Маев И. В. Эволюция представлений о диагностике и лечении инфекции *Helicobacter pylori*: по материалам консенсуса Маастрихт IV. (Флоренция, 2010) / И. В. Маев, А. А. Самсонов, Д. Н. Андреев, С. А. Кочетов // Вестник практического врача.- 2012.- Спецвыпуск № 1.- С. 19-26.
4. Профилактика и лечение хронических заболеваний верхних отделов желудочно-кишечного тракта / Е. К. Баранская, В. Т. Ивашкин, А. А. Шептулин; под ред. В.Т. Ивашкина.- 2-е изд., перераб. и доп.- Москва, МЕДпресс-Информ, 2013.- 152 с.: ил.
5. Щербаков П. Л. Болезни органов пищеварения у детей при хеликобактериозе / П. Л. Щербаков, А. А. Корсунский.- Москва: МИА, 2011.- 224 с.
6. Lassen A.T. Acid-related disorders and use of antisecretory medication. Dan Med Bull. 2007.- Режим доступа: http://dadlnet.dk/dmb/DMB_2007/0107/0107-disputatser/DMB3897.pdf
7. Wang Yao-Kuang. Diagnosis of *Helicobacter pylori* infection: Current options and developments / Yao-Kuang Wang, Fu-Chen Kuo et al. // World Journal Gastroenterology. - 2015.- October 28.- Режим доступа: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4616200/>.
8. Yamaoka Y. Mechanisms of disease: *Helicobacter pylori* virulence factors. Nat Rev Gastroenterol Hepatol. 2010. – Режим доступа: <http://www.nature.com/nrgastro/journal/v7/n11/full/nrgastro.2010.154.html>
9. Бунова С. С. Методы диагностики инфекции *Helicobacter pylori*: современное состояние вопроса // Молодой ученый. - 2012. - №12. - С. 540-543.
10. Диагностика и лечение инфекции *Helicobacter pylori* – отчет согласительной конференции Маастрихт IV (Флоренция) / Malfertheiner Peter, Francis Megraud, и др.; Европейская группа по изучению *Helicobacter pylori*, EHSG // Вестник практического врача.- 2012.- Спецвыпуск (№1).- С.3-18.
11. Исаков В.А. Диагностика и лечение инфекции, вызванной *Helicobacter pylori*: IV Маастрихтское соглашение / Новые рекомендации по диагностике и лечению инфекции *H.pylori* – Маастрихт IV (Флоренция) // Best Clinical Practice. Русское издание.- 2012.- Вып.2.- С.4-23.
12. Калинин А. В. Гастроэнтерология и гепатология: диагностика и лечение / А. В. Калинин.- Москва: Миклош, 2007.- С. 59-92.
13. Маев И. В. Клиническое значение инфекции *Helicobacter pylori* / И. В. Маев, Д. Н. Самсонов. А. А. Андреев // Клиническая медицина. - № 8. - 2013.- С. 4-13.

14. Мубаракшина О.А. Современные подходы к лечению заболеваний, ассоциированных с *Helicobacter pylori* / О. А. Мубаракшина, З. Р. Щербова // Медицинский вестник.- 2012.- № 27.- С.14.
15. Пиманов С. И. Рекомендации консенсуса Маастрихт-4 по диагностике и лечению хеликобактерной инфекции: обсуждение на Европейской гастроэнтерологической неделе / С. И. Пиманов, М. Лея, Е. В. Макаренко // Consilium medicum.- 2012.- № 8 (14).- С. 11–21.
16. Современное лечение хеликобактер-ассоциированных состояний: в свете IV Маастрихтских соглашений 2010 г. / А. Г. Евдокимова, Л. В. Жуколенко, Г. С. Слободкина, А. В. Томова // Трудный пациент.- 2013.- Т. 11, № 4.- С.11-1
17. Современные аспекты диагностики и лечения инфекции *Helicobacter pylori* по материалам консенсуса. Маастрихт IV (Флоренция, 2010) / И. В. Маев А. А. Самсонов, Д. Н. Андреев и др. // Мед. совет.- 2012.- №8.- С.10–19.
18. Щеголев А. А. *Helicobacter pylori* и хирургия язвенной болезни / А. А. Щеголев, Б. Е. Титков.- Москва, 2004.- Режим доступа: <http://roobinio.ru/item/1121683.html>.
19. Malfertheiner P., Megraud F., O`Morain C. et al. Management of *Helicobacter Pylori* infection – Maastricht IV / Florence Consensus Report Gut. 2012; 61: 646–64.
20. *Helicobacter Pylori* in Developing Countries / R.H. Hunt et al; World Gastroenterology Organization Practice Guideline. August 2010., 2010.
21. Барышникова Н. В. Актуальные проблемы диагностики хеликобактериоза. / Н. В. Барышникова // Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология.- 2009.- № 2.
22. Prevalence of *H. pylori* infection and atrophic gastritis among symptomatic and dyspeptic adults in Kazakhstan. A hospital-based screening study using a panel of serum biomarkers / Valery Benberin, Roza Bektayeva, Raushan Karabayeva, Aleksandr Lebedev, Kenzhekhan Akemeyeva, Lea Paloheimo, Kari Sytjänen // Anticancer Research. – 2013.- Режим доступа: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24123036>.
23. *Helicobacter pylori* – инфекция: современные аспекты диагностики и терапии: пособие для врачей / Л. В. Кудрявцева П. Л. Щербаков, И.О. Иваников, В.М. Говорун; НИИ физико-химической медицины Министерства здравоохранения РФ. - Москва, 2004. С. 3.
24. Song ZQ.. *Helicobacter Pylori* and Gastric Cancer: Clinical Aspects. / ZQ Song, LY. Zhou// Chin Med J (Eng).- 2015.- 20th Nov.- Режим доступа: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26608993>
25. IARC Working Group on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans: Schistosomes, liver flukes and *Helicobacter pylori*, Lyon, June 7–14, 1994. IARC Monogr Eval Carcinog Risks Hum 1994; 61: 1–241.
26. Bermejo San Jose F., Boixeda de Miguel D., Gisbert J. et al. Efficacy of four widely used techniques of the diagnosis of *Helicobacter pylori* infection in gastric ulcer disease // Rev. Clin. Esp. – 2000. – Vol. 200. – P. 475-479.

27. Диагностическая значимость дыхательных тестов в диагностике инфекции *Helicobacter pylori* / И. В. Маев, А. А. Самсонов, Р. А. Айвазова и др. // Саратовский научно-медицинский журнал.- 2013.- Т. 9, № 1.- С. 57–64.
28. 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.
29. Циммерман Я.С. Хронический гастрит и язвенная болезнь. Пермь; 2000.
30. 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.
31. 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.
32. Bytzer P., Taglbiaerd 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.
33. Циммерман Я.С. Этиология, патогенез и лечение язвенной болезни, ассоциированной с *Helicobacter pylori*-инфекцией: состояние проблемы и перспективы. *Клиническая медицина.* 2006; 3: 9—19.
34. Циммерман Я.С. Гастродуоденальные заболевания и *Helicobacter pylori*-инфекция: общее обозрение проблемы. *Клиническая медицина.* 2009; 5: 9—15.
35. Циммерман Я.С. Проблема этиологии и патогенеза язвенной болезни: перечитывая В.Х. Василенко. *Клиническая медицина.* 2011; 1: 14—9.
36. Циммерман Я.С. Гастроэнтерология. М.; 2012.
37. Correa P. Human gastritic cancerogenesis: A multistep and multifactorial process. *First American Cancer Society Lecture on Cancer Epidemiology and Prevention. Cancer Res.* 1992; 52: 6735—40.
38. Роккас Ф. (Rokkas Th.) Инфекция *Helicobacter pylori*, как фактор риска рака желудка: современные доказательства. *Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии.* 2002; 3: 66—77.
39. Макаренко Е.В. Клиническое значение факторов патогенности *Helicobacter pylori* // *Российский журнал Гастроэнтерологии, Гепатологии, Колопроктологии.*- 2005.- №3.- том. №15,- С.22-27.
40. Кудрявцева Л.В., Щербаков П.Л., Иванников И.О. и соавт. *Helicobacter pylori* -инфекция: современные аспекты диагностики и терапии. Пособие для врачей. Москва 2005.С.78.
41. 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.
42. Циммерман Я.С. Рак желудка: современный взгляд на проблему. *Вестник хирургической гастроэнтерологии.* 2011; 2: 77—88.
43. Айвазян С. А., Бухштабер В. М., Енюков И. С., Мешалкин Л. Д. Прикладная статистика: классификация и снижение размерности. М.: Финансы и статистика, 1989. 333 с.

44. Иберла К. Факторный анализ. М.: Статистика, 1980. 367 с.
45. Дрейпер Н., Смит Г. Прикладной регрессионный анализ. Кн. 2. М.: Финансы и статистика, 1987. 351 с.
46. Сопоставление результатов диагностики хеликобактерной инфекции бактериоскопическим и некоторыми экспресс-методами / И. Т. Щербатов, Н. И. Леонтьева, Н. М. Грачева [и др.] // Гастроэнтерология. 2008. № 2–3.
47. Морозов И.А. Цитологическая диагностика инфекции *Helicobacter pylori* в желудке // Российский журнал гастроэнтерол., гепатолог., колопроктол. 2000. - №2. - Т. 10. - С.7-10.
48. Arents N.L., van Zwet A.A., Thijs J.C. et al. The accuracy of the *Helicobacter pylori* stool antigen test in diagnosing *H. pylori* in treated and untreated patients // *Eur.J.Gastroenterol.Hepatol.* -2001-13:383-386.
49. Lakner M., Truee A., Dehnert S et al. A Novel Near-Patient Test for the Direct Detection of *H. pylori* Antigens in Stool // *Gut.*-2000.- Vol. 47(Suppl.1).- A16/1.
50. Agha A., Opekun A.R., Abudayyeh S. et al. Effect of different organic acids (citric, malic and ascorbic) on intragastric urease activity. *Aliment Pharmacol Ther.*-2005- 1;21(9): 1145-8.
51. Al-Assi M.T., Genta R.M. Karttunen T.J. and al. Ulcer site and complications: relation to *Helicobacter pylori* infection and NSAID use // *Endoscopy.* -1996, vol. 28(2). P. 229-233.
52. Ali A, Vaira D., Stanghellini V. 13C vs 14C breath test (UBT) for *Helicobacter pylori* (HP) detection. *Gut* 1998;43(Suppl 2):A5.
53. Arents N.L., van Zwet A.A., Thijs J.C. et al. The accuracy of the *Helicobacter pylori* stool antigen test in diagnosing *H. pylori* in treated and untreated patients // *Eur.J.Gastroenterol.Hepatol.* -2001-13:383-386.
54. Aterton J.C., Washington N., Blackshaw P.E. et al. Effect of a test meal • 14 ♦ » on the distribution and emptying of C urea solution in the urea breath test. // *Gastroenterology.*-1993 .-Vol. 104.-A3 6.
55. Auroux J., Lamarque D., Tankovic J., et al. Comparison of quantifying *Helicobacter pylori* gastric infection by culture, histology and 13C urea breath test (see comments). *Gastroenterology Clin. Biol.* 1998;(4):407-12.
56. Bilardi C, Biagni R, Dulbecco P, et al. Stool antigen assay (HpSA) is less reliable than urea breath test for post-treatment diagnosis of *Helicobacter pylori* infection. *Aliment Pharmacol Ther* 2002; 16:1733-8.
57. Graham D.Y., Opekun A.R., Jogi M., et al. False Negative Urea Breath Tests with H₂-Receptor Antagonists: Interactions Between *Helicobacter pylori* Density and pH // *Helicobacter.* -2004.-V. 9 (Issue 1) P.17. .
58. Leodolter A., Agha-Amiri K., Peitz U. et al. Validity of a *Helicobacter pylori* stool antigen assay for the assessment of *H.pylori* status following eradication therapy. *Eur. J. Gastroenterol. Hepatol.* 2001;13(6):673-6.
59. Leodolter A., Peitz U., Ebert M.P. et al. Comparison of two enzyme immunoassays for the assessment of *Helicobacter pylori* status in stool specimens after eradication therapy. *Am J Gastroenterol* 2002;97:1682-6.

60. Leodolter A., Sauerbrach T., Malferseiner P. A citric acid solution is an optimal test drink in the 13C-urea breath test for the diagnosis of Helicobacter pylori infection. *Gut* 1997 Apr; 40(4) 459-462.
61. Leodolter A., Wolle K. Malfertheiner P. Current Standards in the Diagnosis of Helicobacter pylori infection. -*Dig. Diseases*, 2001. - v.19. -p. 116-122.
62. Logan R.P., Poison R.J., Misiewicz J.J., et al. Simplified single sample 13C Carbon urea breath test for Helicobacter pylori: comparison with histology, culture, and ELISA serology // *Gut*. 1991, Dec. - Vol. 32(12).-P.1461-1464.
63. Logan R.P.H. The 13C urea breath test.// A.Lee and F.Megraud. *Helicobacter pylori: techniques for clinical diagnosis and basic research*. -London: Saunders, 1996.-P.74-82.
64. Logan R.P.H., Dill S., Bauer F.E. The European 13C-urea breath test for the detection of Helicobacter.pylori. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 1991;3:915-21.
65. Loy C.T., Irwing L.M., Katelaris P.H. et al. Do commercial serological kits for Helicobacter pylori infection differ in accuracy? A metaanalysis. *Am. J. Gastroenterol.*, 2000, v. 91, p.1 138-1144.
66. Masoero G., Lombardo L. Delia Monica P. et all. \ Abstr. Xllth Int. Workshop Gastroduodenal Pathl. Helicobacter pylori, abstr. 15/13, *Gut* 45Suppl.3.:A131,1999.
67. Matsuda M., Noda Y., Takemori Y. Utility and limitations of a method for detecting Helicobacter pylori-specific antigens in the stool. *J Gastroenterol* 2003;38:222-8.
68. McNulty C.A., Nair P., Watson B.E. et al. A comparison of six commercial kits for Helicobacter pylori detection // *Commun.Dis.Public. Health*.- 1999. Vol.2, №1. - P.59-63
69. Megraud F. Advantages and disadvantages of current diagnostic tests for the detection of Helicobacter pylori // *Scand J Gastroenterol* -1996,-31 suppl-215:57-62.
70. Minoli G., Prada A., Schuman R., et al. A simplified urea breath test for the diagnosis of Helicobacter pylori using the LARA System. *Laser Assisted Ratio Analyzer. J. Clin. Gastroenterol.* 1998; 26(4):264-6.
71. Misiewicz G., Harris A. *Clinician's Manual on Helicobacter pylori*. 2nd ed. London: Life Science Communications; 1997.
72. Mitchell H.M., Lee A. Bohan T.D. Evidence for person-to-person spread of Campylobacter pylori in: Rathbone B.J., Heatley R.V. (eds) *Campylobacter pylori and gastroduodenal disease*.- Blackwell.- Oxford, 1989.-p. 197-202
73. Moayyedi P., Braunholtz D. Heminbrough E., et al. Do patients need to fast for a 13C urea breath test? *European Journal of Gastroenterology and Hepatology*. - 1997 - 9(3):275-7.