

ПРАКТИКУМ ЛАБОРАТОРНОЙ АНАЛИТИКИ

© С. Д. ЗАЙКО, 2011

УДК 616.98:579.835.12]-078

С. Д. Зайко

ЛАБОРАТОРНАЯ ДИАГНОСТИКА ХЕЛИКОБАКТЕРИОЗА:
ЭКСПРЕСС-ОПРЕДЕЛЕНИЕ АНТИГЕНА *H. PYLORI* В КАЛЕ

ЗАО "Аналитика", Москва

*В работе кратко рассмотрены методы диагностики хеликобактерной инфекции и приведена информация об использовании иммунохроматографического экспресс-теста для выявления антигена *H. pylori* в кале. Изложен принцип работы теста, обсуждается сфера его применения.*

Ключевые слова: антиген *H. pylori*, экспресс-тест

S.D. Zaiko

THE LABORATORY DIAGNOSTICS OF CHELICOBACTERIOSIS:
EXPRESS-TEST OF ANTIGEN *H. PYLORI* IN FECES

*The article briefly discusses methods of diagnostic of the helicobacterial infection. The information is presented concerning the implementation of immunochromatographic express-test in detecting the antigen *H. pylori*. The mode of test functioning is explained. The area of test application is discussed.*

Key words: antigen *H. pylori*, express-test

Helicobacter pylori — грамотрицательная бактерия, обнаруженная в 1983 г. Робинном Уорреном и Барри Маршаллом при исследовании материала, полученного при эндоскопии желудка больных гастритом и язвой желудка. В настоящее время твердо установлено, что *H. pylori* является основной причиной возникновения большинства гастритов, до 80% случаев язвенной болезни желудка и до 90% — двенадцатиперстной кишки.

Считается, что во всем мире инфицировано более половины населения. Инфекция преобладает в развивающихся странах. В странах Западной Европы и в США инфицированность в последние годы снизилась, но все еще составляет 30—50%. В Российской Федерации инфицировано более 80% населения.

Как правило, заражение происходит в детском возрасте, чаще всего инфекция передается от матери к ребенку и распространяется внутри семьи. Если не проводится лечение, бактерии сохраняются в желудке в течение всей жизни, в большинстве случаев ничем не проявляя себя. Возникновение клинической картины обусловлено сочетанием действия нескольких факторов: вирулентности бактерий, генетической предрасположенности организма хозяина, особенностями иммунного ответа.

Бактерия обитает в слизистом слое, покрывающем эпителий. Ее присутствие в нем практически всегда сопровождается инфильтрацией лимфоцитов в слизистую оболочку, создающей гистологическую картину воспаления. Симптомы гастрита у большинства инфицированных лиц не появляются, тем не менее инфекция *H. pylori* является фактором риска язвенной болезни (возникает, по разным данным, у 1—10% инфицированных лиц), рака желудка (0,1—3%) и MALT-лимфомы желудка (менее 0,01%). В связи с этим возникает вопрос, какие группы населения следует обследовать для выявления возбудителя и дальнейшей терапии.

Несмотря на широкую распространенность инфекции, диагностическое обследование всего населения не рекомендуется. Прежде всего выявление *H. pylori* и последующая эрадикационная терапия должны проводиться у больных с язвой желудка и двенадцатиперст-

ной кишки, а также с раком и лимфомой желудка. Согласно Европейским рекомендациям 2005 г., диагностическое обследование также рекомендуется:

— больным атрофическим гастритом, железодефицитной анемией неясной этиологии, хронической идиопатической тромбоцитопенической пурпурой;

— больным после резекции желудка по поводу рака;

— близким родственникам больных раком желудка.

Кроме того, при использовании неинвазивных методов можно обследовать более широкий круг больных с жалобами на диспепсические расстройства. При положительном результате теста может быть назначена эрадикационная терапия. Поскольку наличие бактерий далеко не всегда приводит к развитию опасных осложнений, целесообразность и эффективность такой стратегии "test and treat" активно обсуждается. Возможно, в странах с высокой распространенностью хеликобактерной инфекции, в том числе в Российской Федерации, такой подход является эффективным.

Для диагностики инфекции *H. pylori* и контроля эффективности эрадикационной терапии используют различные методы, которые можно разделить на инвазивные и неинвазивные.

К инвазивным методам относятся: гистологическое изучение образцов ткани; культивирование бактерий *in vitro*; определение уреазной активности с помощью быстрого уреазного теста. Гистологический метод является "золотым стандартом" диагностики, однако требует наличия квалифицированного персонала и значительного времени для проведения исследования. Чувствительность бактериологических методов значительно ниже, однако они обеспечивают высокую специфичность теста, близкую к 100%, а также позволяют выявить устойчивость бактерий к применяемым для лечения антибиотикам. Эти методы также требуют наличия высококвалифицированного персонала, а также специализированной лаборатории. Быстрый уреазный тест широко используется ввиду его простоты и быстроты выполнения; чувствительность теста обычно составляет выше 90%, специфичность — около 95%.

Ограничение всех инвазивных методов — способ получения исследуемых образцов. Для них необходим биопсический материал слизистой оболочки, полученный при эндоскопическом обследовании желудка. Эта процедура ограничивает сферу применения этих методов.

К неинвазивным методам относятся:

— серологические тесты — выявление антител классов IgG и IgA к *H. pylori*;

Для корреспонденции:

Зайко Сергей Дмитриевич, вед. специалист отдела продукции

Адрес: 129343, Москва, а/я 93

Телефон: (495) 737-03-63

E-mail: zaiko@analytica.ru

Процедура

1 Стерильным тампоном соберите образец кала (около 50 мг)

2 Поместите тампон с образцом в пробирку и сделайте не менее 10 вращательных движений

3

4 Наденьте на пробирку крышку-капельницу

5 Внесите 3 капли образца в окно для образца

10-15 мин

Интерпретация

Отрицательный

Положительный

Неправильный

Экспресс-тест для выявления *H. pylori* (Standard Diagnostics, Корея).

- дыхательные тесты, основанные на выявлении уреазной активности;
- определение специфических последовательностей нуклеиновых кислот (ПЦР);
- определение антигенов возбудителя в кале (иммуоферментный анализ, иммунохроматографические экспресс-тесты).

Серологические методы диагностики хеликобактерной инфекции применяются достаточно широко. Наличие в сыворотке крови антител к *H. pylori* указывает на контакт организма с бактериями. Однако, поскольку эти антитела персистируют в течение длительного времени, их наличие не позволяет сделать вывод о том, является ли именно текущая инфекция причиной наблюдаемых симптомов или речь идет об инфекции в прошлом, возможно, уже вылеченной.

Для проведения дыхательного теста больному дают проглотить определенную дозу мочевины, содержащей изотоп ^{13}C или ^{14}C . В результате уреазной реакции образуется меченый углекислый газ, количество которого пропорционально активности уреазы *H. pylori*. Содержание изотопов в выдыхаемом воздухе определяют масс-спектрометрическими (^{13}C) и сцинтилляционными (^{14}C) методами. Чувствительность и специфичность метода составляет примерно 95%. Основным недостатком теста является необходимость использования дорогостоящего оборудования.

Экспресс-определение антигенов *H. pylori* в кале методом иммунохроматографии позволяет выявлять инфекцию примерно с такой же чувствительностью и специфичностью (примерно 95%), что и дыхательный тест. Таких высоких показателей удастся достигнуть за счет использования высокоаффинных моноклональных антител. Экстракт образца вносят в тест-кассету, где он смешивается с конъюгатом (моноклональные антитела к антигенам *H. pylori*, меченные частицами коллоидного золота). Если в исследуемом образце содержатся антигены бактерий, они связываются с конъюгатом, и образовавшийся комплекс движется вдоль стрипа из нитроцеллюлозной мембраны, на определенном участке которой (тестовая зона) иммобилизованы моноклональные антитела к *H. pylori*. Связывание комплекса в тестовой зоне приводит к образованию окрашенной поло-

сы. Окрашивание контрольной полосы (в зоне, где иммобилизованы антитела к IgG мыши) свидетельствует о правильности выполнения анализа.

Схема анализа с использованием одного из коммерческих наборов (SD BIOLINE *H. pylori* Ag производства Standard Diagnostics, Корея) приведена на рисунке. В состав набора входит все необходимое для приготовления экстракта образца и проведения анализа. Метод очень прост в постановке, не требует участия высококвалифицированного персонала, результат анализа доступен через 10—15 мин. Установлена высокая степень корреляции между результатами, полученными с помощью иммунохроматографических экспресс-тестов и уреазных дыхательных тестов. Это относится как к диагностике острой инфекции, так и к контролю эффективности эрадикационной терапии.

Использование экспресс-тестов, не требующее непосредственного участия пациентов, особенно удобно в педиатрии. При обследовании маленьких детей с помощью уреазного дыхательного теста сбор выдыхаемого воздуха не просто осуществить технически. Это является потенциальным источником ошибок. Показано, что при использовании экспресс-тестов исследуемый материал может транспортироваться при комнатной температуре в течение значительного времени (до пяти дней) без ущерба для качества исследования, что позволяет избежать излишних визитов ребенка к врачу. Материал может также храниться в замороженном состоянии в течение многих месяцев, что удобно при проведении разнесенных по времени сравнительных исследований, в частности, при оценке эффективности терапии.

Экспресс-тесты для определения антигена *H. pylori* в кале, содержащие моноклональные антитела, рекомендованы как альтернатива уреазным дыхательным тестам в материалах 3-й Европейской консенсусной конференции (Маастрихт, 2005). Простота, удобство и невысокая стоимость анализа делает возможным расширение круга обследуемых лиц, что позволяет своевременно выявлять группу риска возникновения опасных осложнений, обоснованно назначать эрадикационную терапию и контролировать ее эффективность.