

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ МЕТОДОВ ЛАБОРАТОРНОЙ ДИАГНОСТИКИ (ИФА И ПЦР) ИНФЕКЦИИ HELICOBACTER PYLORI

К.А. Абылкасымова

Региональный диагностический центр, г. Алматы

HELICOBACTER PYLORI ҰҚСАСТАНДЫРУ ҮШІН ИФА ӘДІСІНІҢ ЖӘНЕ ПТР ӘДІСІНІҢ СЕЗІМТАЛДЫЛЫҒЫН САЛЫСТЫРМАЛЫ ТАЛДАУ

К.А. Абылкасымова

Тұжырым Асқазанның антральды бөлігіндегі биоптатта *Helicobacter pylori* ДНҚ анықтау кезінде полимеразды тізбекті реакция (ПТР) әдісінің сезімталдылығы, HP IgG класының антителін қатты фазалы ИФА әдісі арқылы анықтау кезінен де жоғары болып көрінді.

Бірақ кей жағдайда ИФА-тесті, ПТР-әдісі оң нәтижесін беруімен қоса, материалды жинап-зерттеу барысында жіберілген қателердің салдарынан теріс нәтиже де берді.

Comparative analysis of sensitivity of IFA method and polymerase chain reaction method for identification of Helicobacter pylori

К.А. Абылкасымова

The sensitivity of polymerase chain reaction (PCR) method at determination of *Helicobacter pylori* DNA in biotates of antral part of stomach appeared to be higher in comparison with determination of antibodies of IgG class to HP by solid phase IFA method.

At the same time, in some cases at presence of positive result of IFA-test, PCR-method gave a negative result that may be explained by errors admitted at material take.

В настоящее время считается, что около 50-70% населения земного шара инфицировано бактерией *Helicobacter pylori* (HP) [1,2,3]. В развивающихся странах уровень инфицированности HP среди населения выше, в частности, в странах СНГ, в т.ч. в Казахстане, он достигает 80-90% [4,5].

Helicobacter pylori – это небольших размеров спиралевидная бактерия, обладающая высокой степенью подвижности. Она была впервые обнаружена в слизистой оболочке желудка собак в 1874 г. G.Bottcher. Далее Kreinitz (1906 г.) зафиксировал наличие спиралевидных бактерий в слизистой оболочке желудка человека при аутопсии, он же привел и первые эпидемиологические данные – у 40% людей в слизистой оболочке желудка имеются «спирохеты».

В 2005 году австралийские ученые J.R. Warren и B.J. Marshall были удостоены Нобелевской премии за выдающийся вклад в гастроэнтерологию: они впервые описали неидентифицированные спиралевидные бактерии в биоптатах желудка и доказали их связь с антральным гастритом и пептическими язвами (1983 г.). В 1984 г. B.J. Marshall и S. Goodwin впервые получили культуру спиралевидных бактерий и назвали их *Campylobacter piloridis*, которые в 1989 г. были окончательно идентифицированы и получили название *Helicobacter pylori*. Но ради исторической справедливости надо сказать, что еще в 1913 г. датский ученый J. Fibiger впервые получил экспериментальную модель рака желудка на мышах при кормлении их питательной смесью, содержащей бактерии. Этим бактериям он дал название «*Spiroptera carcinoma*» [6]. За серию этих работ в 1927 г. он был удостоен Нобелевской премии. Через 80 лет – в 1994 г. Международное агентство по изучению рака (IARC) признает бактерию *Helicobacter pylori* канцерогеном первого порядка, т.е. патогеном, имеющим безусловную связь с возникновением рака желудка.

До исследований Warren и Marshall считалось, что в кислой среде желудка микроорганизмы существовать не могут. Но HP синтезирует фермент уреазу, которая расщепляет мочевины желудочного сока на аммиак и бикарбонат, образуя тем самым активную щелочную среду, которая формирует защитную оболочку вокруг бактерии. Дополнительный фактор, обеспечивающий выживание бактерии – ее высокая подвижность, позволяющая ей быстро внедряться в слизистую оболочку желудка, где она затем закрепляется благодаря сродству к антигенам эпителиальных клеток, расположенных на поверхности стенок желудка (Lewis-B-antigen), концентрация которых максимальна у людей с IV группой крови. HP синтезирует цитокины, которые вместе с аммиаком оказывают повреждающее действие на слизистую оболочку желудка (СОЖ) и двенадцатиперстной кишки (ДПК) и ведут к возникновению в них хронического воспалительного процесса. При этом происходит значительное снижение секреции желудочного сока.

Последствия жизнедеятельности бактерии зависят от места ее преимущественной локализации. Если бактерии локализованы в области перехода желудка в двенадцатиперстную кишку, то возникает гастрит с повышенным кислотообразованием, что предотвращает дальнейшее распространение инфекции, но способствует возникновению язвы двенадцатиперстной кишки. Локализация HP в других отделах желудка приводит к снижению кислотности желудочного содержимого и к быстрому размножению бактерий, что вызывает атрофический гастрит и, в

конечном итоге, может привести к раку желудка. Многочисленные исследования подтверждают тот факт, что смертность от рака желудка находится в прямой зависимости от степени заражения СОЖ *Helicobacter pylori* [7].

Первичное инфицирование происходит, как правило, в раннем детском возрасте при контакте с HP-инфицированными лицами в детском саду или в семье.

В настоящее время установлено, что 90% гастритов и практически 100% случаев язвы двенадцатиперстной кишки и 70% язвы желудка вызваны *Helicobacter pylori* [8,9].

В связи с широкой распространенностью инфекции, патогенетической ролью в возникновении заболеланиям гастродуоденальной зоны, онкогенным потенциалом весьма актуальной остается проблема своевременной диагностики инфекции *Helicobacter pylori*.

Основные методы диагностики HP можно разделить на инвазивные и неинвазивные. К инвазивным относятся методы, требующие эзофагогастродуоденоскопии, т.к. материалом для исследования служат биоптаты СОЖ и ДПК.

Неинвазивными являются методы, не требующие эндоскопического обследования, например, серологические методы. Но назвать их неинвазивными можно условно, т.к. они требуют такой «инвазивной» процедуры как забор крови.

Целью нашего исследования явилось сравнение чувствительности метода полимеразной цепной реакции (ПЦР) определения ДНК *Helicobacter pylori* в биоптатах антрального отдела желудка (инвазивный молекулярно-генетический метод) и твердофазного ИФА – метода определения антител класса JgG к *Helicobacter pylori* (неинвазивный серологический метод).

Нами было обследовано 52 больных с хроническими заболеваниями верхних отделов пищеварительного тракта в возрасте от 18 до 46 лет. В 92,8% случаев были выявлены органические заболевания гастродуоденальной зоны, у 7,2% изменения носили функциональный характер. У 36,1% больных были обнаружены эрозивно-язвенные изменения СОЖ и ДПК. В большинстве случаев патология СОЖ и ДПК носила сочетанный характер (гастродуодениты составили 83,4% от общего количества обследованных). У 46,2% больных также зафиксированы моторно-эвакуаторные нарушения верхних отделов пищеварительного тракта.

Всем обследуемым было проведено эндоскопическое обследование методом эзофагогастродуоденоскопии с прицельной биопсией слизистой оболочки антрального отдела желудка и последующим исследованием биоптатов на наличие ДНК *Helicobacter pylori* методом ПЦР («Амплиценс», Россия) и определение антител класса JgG в венозной крови методом твердофазного ИФА («Organics», Израиль).

В результате проведенного исследования пилорический хеликобактериоз, по результатам ПЦР – метода, зафиксирован у 91,7% обследуемых, по данным же ИФА – метода инфицированность HP составила 78,6% от общего количества обследованных лиц.

Высокая специфичность метода полимеразной цепной реакции, за разработку которого Кэрри Муллис (1983 г.) получил Нобелевскую премию, обусловлена тем, что в исследуемом материале выявляется уникальный, характерный только для данного возбудителя, фрагмент ДНК, что исключает возможность ложноположительных результатов, как например, при серологических исследованиях в связи с перекрестно-реагирующими антигенами. Метод ПЦР – высокочувствительный метод, позволяющий обнаруживать даже единичные клетки бактерий в пробе. Чувствительность ПЦР – анализа составляет от 10 до 1000 клеток в пробе.

Единственным недостатком метода можно считать необходимость проведения эндоскопического исследования, на которое соглашаются не все пациенты, и которое само по себе не исключает возможности инфицирования пациентов HP ятрогенным путем при недостаточной дезинфекции эндоскопов. В этом плане, иммуноферментный анализ – наиболее подходящий метод для эпидемиологических исследований и скрининга.

Нами были использованы тест-системы «Иммунокомб» фирмы «Organics» (Израиль) для проведения твердофазного ИФА с целью определения антител класса JgG к HP. Несмотря на более низкую чувствительность метода по сравнению с ПЦР – методом в связи с встречающимися случаями отсутствия антител к HP при наличии возбудителя, ИФА – метод имеет и определенные преимущества: он менее травматичен и исключает возможность ятрогенного заражения пациентов. Помимо вышеперечисленных преимуществ, технологии фирмы «Organics» являются оригинальными разработками, позволяющими осуществлять быструю точную бесприборную диагностику инфекционных заболеваний.

Обращает на себя внимание тот факт, что у 4 обследуемых с отрицательными результатами ПЦР – теста, антитела к НР были обнаружены по результатам ИФА. Ложноотрицательные результаты ПЦР-анализа в данном случае могут быть связаны с тем, что на исследование попадают биоптаты, где нет НР. Так, известно, что НР колонизирует только эпителий желудочного типа, и если в биоптате преобладает кишечная метаплазия, НР обнаружена не будет. НР также не встречается в краях язвы желудка и ДПК. Под влиянием ингибиторов протонных помп, НР может смещаться из антральных отделов в тело желудка. Для избежания ложноотрицательных результатов можно рекомендовать множественную (5-7 биоптатов) биопсию [10]. Но для контроля эффективности эрадикации НР серологическая диагностика инфекции *Helicobacter pylori* неприемлема, т.к. наличие антител НР может носить следовый характер. Количественный ИФА также не может являться критерием эффективности лечения, т.к. известно, что через 6 месяцев после эрадикации возбудителя титр антител уменьшается как при успешном лечении, так и при персистенции инфекции. Таким образом, сравнительный анализ чувствительности ПЦР – метода и твердофазного ИФА для идентификации *Helicobacter pylori* подтвердил высокую диагностическую ценность обоих методов. Наличие ложноотрицательных результатов позволяет рекомендовать дополнительное назначение ПЦР – анализа при отрицательных результатах серологического исследования у больных с клинической симптоматикой.

ЛИТЕРАТУРА

1. Malfertheiner P., Michetti H., Price A. *Helicobacter pylori*. An Atlas – L.: Sci. Press Ltd, 1966.- 48 p.
2. Warren J.R. Unidentified curved bacilli on gastric epithelium in active chronic gastritis.- Lancet.- 1983.- i.- p.1273.
3. John Calam. Clinicians Guide to *Helicobacter pylori*.- L.: Chapman Hall.- 1966.- 182 p.
4. Чуков С.З., Морозов И.А., Пасечников И.Д. Клинико-морфологические и молекулярно-генетические сопоставления при патологии желудка, ассоциированной с *Helicobacter pylori*. – Росс. Журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии.-2001.-№2.-С.21-24.
5. Жангабылов А.К., Есназарова Г.С., Мамирова Т.Н., Курмангалиева С.С., Сулейменова А.С. Проблемы эпидемиологии, диагностики и лечения *Helicobacter pylori* при заболеваниях органов пищеварения в Центральной Азии (Казахстан).- Лабораторная диагностика.- 2006.-№5.- С. 4-6.
6. Баранская Е.К. История открытия *Helicobacter pylori* – Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии.-1999.-№4.-С.61-65.
7. Hauss R. Das Bacterium *Helicobacter pylori*.- Arzt – Zahnarzt Naturheil – verfahren (AZN).-2001.-№1.-С.30.
8. Аруин Л.И., Капуллер Л.Л., Исаков В.А. Морфологическая диагностика болезней желудка и кишечника.- Триада X.- М.- 1998.-483 с.
9. *H. pylori* resistance and management strategies – World Congress of Gastroenterology.- Montreal.-2005.
10. Лапина Г.Л. Основные принципы лабораторной диагностики *Helicobacter pylori* - Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии.- 1999.-№2.-С.41-44.

ПОКАЗАТЕЛИ ИММУНОЛОГИЧЕСКОЙ РЕАКТИВНОСТИ У ЖЕНЩИН С ВОСПАЛИТЕЛЬНЫМИ ЗАБОЛЕВАНИЯМИ ОРГАНОВ МАЛОГО ТАЗА

*С.Б. Калимолдаева, Д.М. Нурадилова, З.Н. Карамендина
Региональный диагностический центр, г. Алматы*

Әйелдердің кіші жамбас мүшесінің ісініп ауыруының иммунологиялық реактивтік көрсеткіші

Д.М. Нурадилова, С.Б. Калимолдаева

Түйін Репродуктивті жастағы 112 әйелді зерттеу кіші жамбас мүшелерінің ісініп ауыруы жыныс жолы арқылы берілетін классикалық індетің этиологиялық факторы негізінде анықтады (хламидиоз, урогенитальдық микоплазмоздар, бактериальдық вагиноз, трихомониаз, кандидоз).

ЖҰАБІ диагностикасы кезінде кешенді зертханалық әдістер қолдану қажет (ИФА, ПЦР, культуралды әдістер).

Бала туу жасындағы 112 әйелдің кіші жамбас мүшесінің ісініп ауыруындағы кешенді иммуналдық зерттеу нәтижесі қарастырылған. Кіші жамбас мүшесінің ісініп ауыруынан азаптанатын көмілеттік жастағы Әйелдердің Т-лимфоциттер сандарының азаюынан және фагоциттарлық реакциясының өзгеруіне байланысты.

Түйінді сөздер кіші жамбас мүшелерінің ісініп ауыруы, иммунологиялық реактивтік көрсеткіш.

Immunological reactivity in the women presenting with Pelvic inflammatory disease

D.M. Nuradilova, S.B. Kalimoldayeva

Abstract The investigation among 112 women of reproductive age with Pelvic inflammatory disease discovered the classic sexually transmitted infections, as a major etiological factor (clamidiosis, mycoplasmosis, gardnerellosis, trichomoniasis, candidosis).

For diagnostics of sexually transmitted infections may be used the complex of laboratory methods (IPHA, PCR, Cultural method).

The results of complex immunological examination among 112 women of reproductive age with Pelvic inflammatory disease are represented in the article. The most valuable were the modifications of phagocytosis reaction and decrease the number of mature T-lymphocytes among women with Pelvic inflammatory disease.

Key words pelvic inflammatory disease, immunological reactivity

Воспалительные заболевания органов малого таза (ВЗОМТ) ввиду чрезвычайно широкого распространения и опасности для репродуктивного здоровья женщин представляют значительную медико-социальную и экономическую проблему. В настоящее время ВЗОМТ определяют как группу самостоятельных нозологических заболеваний верхних отделов репродуктивного тракта, как изолированных, так и включающих в себя любую комбинацию кольпита, эндометрита, сальпингита, оофорита, tuboовариального абсцесса и тазового перитонита

[1,2]. Некоторые исследователи включают в перечень ВЗОМТ также параметрит, пиосальпинкс и даже экстрагенитальные проявления (перигепатит) [3,4].

К наиболее серьезным осложнениям ВЗОМТ, помимо tuboовариального абсцесса и пельвиоперитонита, относятся трубное бесплодие, привычное невынашивание беременности и внематочная беременность.

Отмеченный в последнее время во всем мире, в т.ч. и странах СНГ рост заболеваемости населения воспалительными заболеваниями репродуктивных органов связывают с возросшей миграцией населения, процессами урбанизации, изменением норм морали и проституцией [5,6,7,8].

Многие современные исследователи рассматривают ВЗОМТ как дебют большинства гинекологических заболеваний. Так, по мнению Серова В.Н. [9], хронический воспалительный процесс в половых органах способствует развитию эндометриоза, миомы матки, гиперпластических процессов, бесплодия, привычного невынашивания беременности, неопластических заболеваний шейки матки.

Как известно, в основе развития любого воспалительного процесса лежит взаимодействие этиологического фактора (микроорганизм) и иммунологической реактивности человека (макроорганизм). Инфекционный агент попадает изначально в вульву и влагалище преимущественно половым путем, далее поднимается восходящим путем и поражает матку и ее придатки.

До недавнего времени считалось, что ведущую роль в развитии ВЗОМТ играют представители семейства Enterobacteriaceae (в основном *E.coli*) и стафилококки, реже – бактероиды, клостридии, пептострептококки и др. [10]. Согласно результатам последних исследований, при наличии хронического воспалительного процесса в различных отделах половой системы женщин основным этиологическим фактором являются возбудители инфекций, передаваемых половым путем (ИППП). Так, по данным некоторых авторов, у женщин с ВЗОМТ в 70% случаев были отмечены хламидийная и уреаплазменная инфекции, а в случае бесплодного брака в половых путях супругов практически всегда можно обнаружить хламидии и/или уреаплазмы [11].

Актуальной остается проблема урогенитального трихомониаза, который зачастую представляет собой смешанный протозойно-бактериально-грибковый процесс. Трихомонады способны фагоцитировать, но не всегда переваривать практически все возбудители инфекций, передаваемых половым путем. Таким образом, возникает их интратрихомонадная персистенция,