



Н.С. Гаврилюк, Н.Г. Вірстюк, І.В. Цимбаліста
ДВНЗ «Івано-Франківський національний медичний
університет»

Ефективність інвазивних методів виявлення *Helicobacter pylori* у хворих на хронічний ерозивний антральний гастрит з урахуванням функціонального стану печінки

Ключові слова

H. pylori, методи виявлення, ступінь гелікобактерного обсіменіння, слизова оболонка шлунка, хронічний ерозивний антральний гастрит, функціональний стан печінки.

Інфекція *Helicobacter pylori* є найбільш поширеною у світі — нею інфікована понад половина населення планети. В Україні інфікованість населення *H. pylori* становить понад 80 %. У всіх інфікованих розвивається хронічний антральний гастрит типу В, який є тлом для розвитку ерозій, виразкової хвороби і некардіального раку шлунка. Україна посідає третє місце в Європі за захворюваністю на рак шлунка. Захворюваність на ерозивно-виразкові ураження гастродуоденальної зони за 5 років зросла на 24,3 % (2006) і має тенденцію до зростання, особливо в старших вікових категоріях [3, 5, 7]. Поліморбідність сучасного пацієнта і часте поєднання хронічного ерозивного антрального гастриту (ХЕАГ) з ураженням печінки (до 75 % випадків) підвищує вимоги до діагностики та ерадикації *H. pylori*. Даних щодо залежності ступеня *H. pylori*-обсіменіння від функціонального стану печінки у хворих на ХЕАГ у доступній літературі нами не знайдено.

Підходи до визначення інфекції *H. pylori* передбачають виконання певного діагностичного мінімуму. Золотим стандартом діагностики *H. pylori* вважають морфогістологічний метод дослідження зафарбованих зрізів біоптату, який належить до інвазивних методів. Відомо, що *H. pylori* володіє високою уреазною активністю. Згідно з рекомендаціями Маастрихтського консенсусу діаг-

ностика *H. pylori*-залежних захворювань ґрунтується на результатах неінвазивних методів: ¹³С-урезного дихального тесту (¹³С-УДТ) або тесту на виявлення антигенів *H. pylori* у калі (stool-test) [9, 10]. З урахуванням епідеміологічної та економічної ситуації згідно з вітчизняними рекомендаціями до лікування діагностику *H. pylori* проводять досліджуючи біоптат, за даними швидкого уреазного тесту або визначення антитіл імунологічним методом, тоді як після лікування рекомендується застосування одного із зазначених неінвазивних тестів [2]. Можливе також виявлення *H. pylori* у мазках-відбитках отриманого біоптату цитологічним методом, який не передбачений згаданими протоколами. Таким чином, для більшості лікувальних закладів України залишається актуальним впровадження відносно дешевих, інформативних і зручних методів діагностики *H. pylori* [1].

Відомо, що для вірогідної діагностики *H. pylori* необхідне використання як мінімум двох різних методів [9].

Мета роботи — вивчити ступінь гелікобактерного обсіменіння слизової оболонки шлунка (СОШ) у хворих на хронічний антральний ерозивний гастрит (тип В) залежно від функціонального стану печінки з використанням гістоморфологічних та уреазних тестів і порівняти їхню ефективність.

Матеріали та методи

Обстежено 70 хворих на хронічний *H. pylori*-асоційований ерозивний антральний гастрит без ураження печінки (1-ша група) і 59 хворих на хронічний *H. pylori*-асоційований ерозивний антральний гастрит з мінімальною активністю цитолітичного і мезенхімально-запального синдромів (2-га група). В усіх хворих 2-ї групи виключено вірусну етіологію гепатиту.

Діагностику *H. pylori* у біопсійному матеріалі СОШ проводили напівкількісно цитологічно (морфометричний метод Л.І. Аруїна, 1998) і швидким уреазним тестом з використанням набору ureHP-тест (Lachema, Чехія). Відбір хворих для дослідження здійснювали за позитивними результатами напівкількісних методів (ureHP-тест і цитологічне дослідження) після проведення ендоскопічного обстеження. У 40 хворих проведено зіставлення результатів ureHP-тесту і цитологічного дослідження з даними морфологічного обстеження біоптатів (золотий стандарт) та результатами кількісного ^{13}C -УДТ з використанням газового аналізатора IRIS (Wagner, Німеччина).

Щільність колонізації *H. pylori* (ступінь обсіменіння СОШ) оцінювали в балах за цитогістоморфологічним методом Л.І. Аруїна (1998): І (низький) ступінь — до 20 мікробних тіл у полі зору, ІІ (помірний) — 20–50 мікробних тіл у полі зору, ІІІ (високий) — понад 50 мікробних тіл у полі зору. Цитологічні мазки-відбитки і парафінові зрізи біоптату зафарбовували за методом Романовського—Гімзи. Для фарбування використовували фабричний стандартизований розчин Гімзи, до складу якого входять: азур 1 (3,772 г), еозин (2,165 г), метиленова синька медична (1,563 г), метанол чистий (750,0 мл), гліцерин чистий (256,0 мл).

При застосуванні стандартизованого розчину Гімзи якість і тон кольору значною мірою залежать від тривалості зафарбовування, рН середовища і титру розведення фарби (так званий робочий розчин), а також від давності препарату. В нашому дослідженні давність препарату для цитологічного дослідження не перевищувала 6 год (максимально припустима — 3 дні). Оскільки описано кілька модифікацій методу щодо зазначених параметрів, які при практичному застосуванні не завжди давали задовільний результат, то нами використана така методика.

Фарбування цитологічних препаратів. Сухі мазки фіксують у 96° спиртї 5 хв. Далі на них наносять робочий розчин готової фарби Романовського—Гімзи у розведенні 1:4 (на 5 мл стандартного розчину Гімзи додають 20 мл дистильованої води з рН 6,8–7,2) на 15–20 хв, після чого

їх промивають дистильованою водою і висушують на повітрі. Для фарбування одного мазка необхідно близько 3–4 мл розведеної фарби Романовського—Гімзи.

Приготування гістологічних препаратів. Депарафіновані зрізи поміщають у дистильовану воду на 15 хв, потім на 25–30 хв занурюють у робочий розчин (до візуальної появи в препараті світло-блакитного кольору). Препарати промивають дистильованою водою. Наступними етапами є їхнє зневоднення, просвітлення. Потім їх поміщали в канадський бальзам за стандартними методиками.

Швидкий уреазний тест оцінювали за часом зміни кольору згідно із заводською інструкцією. Зміну кольору на 10-й хвилині розцінювали як високий ступінь обсіменіння (3 бали), до 60-ї хвилини — як середній ступінь (2 бали), у термін до 4 год — як низький ступінь (1 бал). Відсутність зміни забарвлення на малинове або більш пізнє зафарбовування середовища з біоптатом зараховували до негативних результатів. У разі дослідження кількох біоптатів для запобігання хибнопозитивним результатам ureHP-тесту за рахунок впливу на сусідні лунки аміаку, який виділяється при гідролізі сечовини в лунках з позитивною реакцією на *H. pylori*, до них додавали краплю стерильного парафінового масла.

Результат дихального тесту із ^{13}C -сечовиною визнавали негативним при надлишку ізотопу ^{13}C у пробі повітря менше ніж 3,5‰. Принцип методу полягає в тому, що після прийому всередину міченої ^{13}C -уреазою сечовини (у складі пробного сніданку в розчині апельсинового соку) *H. pylori* метаболізує сечовину і звільнює мічений ізотопом вуглекислий газ, який з током крові надходить у легені і видихається. Вміст ^{13}C у пробі повітря визначали за допомогою газового аналізатора IRIS (Wagner, Німеччина). Кількісний ^{13}C -УДТ був контролем при оцінці вірогідності результатів напівкількісних методів.

Показник чутливості інвазивних методів визначали як відношення суми позитивних результатів з помірним і низьким ступенем *H. pylori*-обсіменіння за даними цитологічного, гістологічного і ureHP-тесту до суми встановлених випадків інфікування, визначених кількісним ^{13}C -УДТ, як еталонного (умовно прийнятого за 100 %) у відсотках.

Порівняльний статистичний аналіз отриманих результатів проводили за допомогою параметричних і непараметричних методів з вирахуванням середньої арифметичної величини, стандартної похибки, критеріїв Стюдента, Манна—Уїтні, кутового відхилення Фішера.

Результати та обговорення

Візуальне виявлення *H. pylori* у більшості цитологічних мазків-відбитків (рис. 1, 2) та в гістологічних препаратах (рис. 3) відповідало високому та помірному ступеню обсіменіння СОШ. Під впливом барвника грамнегативна бактерія зафарбовується в різні відтінки — від фіолетово-червоного (пурпурового) до темно-синього, добре візуалізується як на поверхні епітелію, так і в глибині ямок у вигляді галочок, хвильок, гілочок хмизу.

За результатами уреНР-тесту високий (3 бали) ступінь *H. pylori*-обсіменіння антральної СОШ встановлено у 36 (51,43 %) хворих 1-ї групи і у 41 (69,49 %) — 2-ї, помірний (2 бали) — відповідно у 23 (32,86 %) і 14 (23,73 %), слабкий (1 бал) — у 11 (15,71 %) і 4 (6,78 %) ($p < 0,05$). Середній бал ступеня *H. pylori*-обсіменіння СОШ за результатами уреНР-тесту становив у 1-й гру-

пі ($2,36 \pm 0,09$) бала, у 2-й — ($2,61 \pm 0,08$) бала ($p < 0,05$).

За результатами цитологічного дослідження середній бал ступеня *H. pylori*-обсіменіння СОШ становив у хворих 1-ї групи — ($2,33 \pm 0,09$) бала, 2-ї — ($2,59 \pm 0,08$) бала ($p < 0,05$). Ступінь *H. pylori*-обсіменіння відповідав 3 балам у 34 (48,57 %) хворих 1-ї групи і у 39 (66,10 %) — 2-ї, 2 балам — у 25 (35,72 %) і 16 (27,12 %), 1 балу — у 11 (15,71 %) і 4 (6,78 %) хворих відповідно ($p < 0,05$).

Аналогічні дані отримано за результатами гістологічного дослідження біоптатів — середній бал ступеня *H. pylori*-обсіменіння СОШ у хворих 1-ї групи становив ($2,20 \pm 0,17$) бала, 2-ї — ($2,65 \pm 0,11$) бала ($p < 0,05$). Ступінь *H. pylori*-обсіменіння відповідав 3 балам у 8 (40,00 %) хворих 1-ї групи і у 13 (65,00 %) — 2-ї, 2 балам — у 8 (40,00 %) і 7 (35,00 %) хворих відповідно ($p < 0,05$).

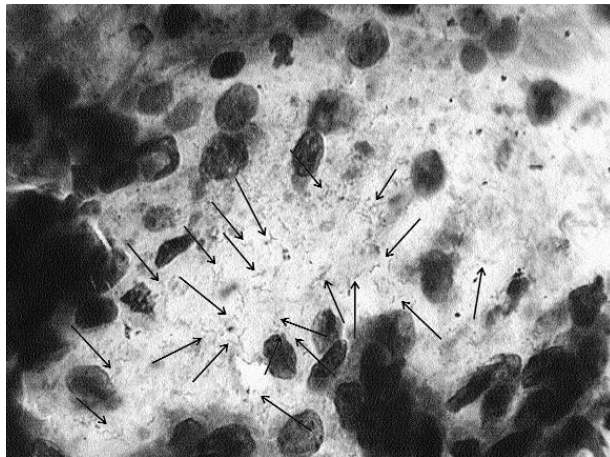


Рис. 1. Масивне обсіменіння поверхневого епітелію шлунка вегетативними і коковими формами *H. pylori* (вказано стрілками) у хворого Д., 55 років, 2-га група. Забарвлення за Романовським — Гімзою. $\times 100$

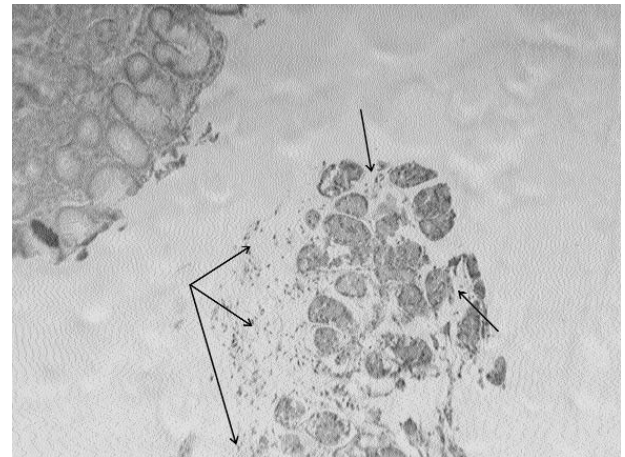


Рис. 3. Високий ступінь обсіменіння слизової оболонки шлунка *H. pylori* (вказано стрілками) у хворої Ф., 65 років, 2-га група. Мікрофотографія. Забарвлення за Романовським — Гімзою. $\times 100$



Рис. 2. Помірне обсіменіння поверхневого епітелію шлунка *H. pylori* (вказано стрілками) у хворого А., 25 років, 1-ша група. Забарвлення за Романовським — Гімзою. $\times 100$

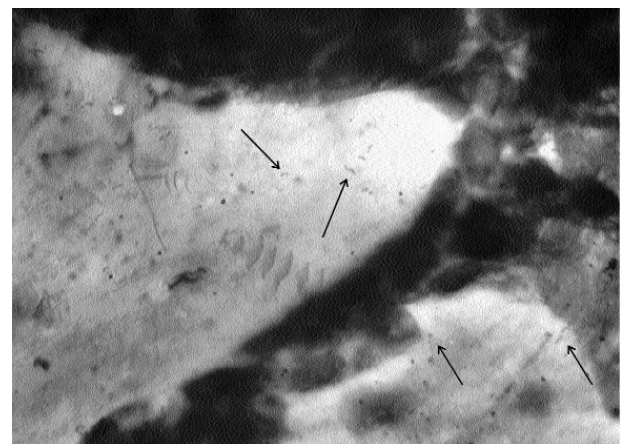


Рис. 4. Слабке обсіменіння поверхневого епітелію шлунка *H. pylori* (вказано стрілками) у хворого С., 46 років, 1-ша група. Забарвлення за Романовським — Гімзою. $\times 100$

Таблиця. Порівняльна характеристика різних методів оцінки ступеня *H. pylori*-обсіменіння слизової оболонки шлунка

Показник	Інвазивні методи			Неінвазивні методи	
	Цитологічні	ureHP-тест	Гістологічні	¹³ C-УДТ	Stool-test
Чутливість					
за даними літератури	65,3–78,9 %	70,8–89,6 %	85,3–100 %	90,0–100 %	98,6–100 %
за результатами дослідження	80,95 %	90,48 %	90,48 %	100 %	—
Тривалість виконання	30–40 хв	10 хв — 4 год	5–7 днів	1 год	
Складність	Помірна	Низька	Висока	Помірна	Низька
Можливість подальшого гістологічного дослідження біоптату	Так	Так	Можливо ¹	—	—
Вартість	Низька	Низька	Середня	Висока	Середня
Ціна одного визначення, грн	3	3 ²	60	100	58

Примітка. ¹ При одночасному застосуванні частин парафінових зрізів біоптату для зафарбовування гематоксиліном-еозином для оцінки ступеня та активності гастриту.

² Від ціни набору на 288 визначень (3 пластинки по 96 лунок) і ціни флакона парафінового масла.

За результатами ¹³C-УДТ ступінь *H. pylori*-обсіменіння хворих 2-ї групи становив ($23,41 \pm 1,41$) %, що було на 17,13 % ($p < 0,05$) вище, ніж у 1-й групі ($(19,40 \pm 1,08)$ %).

Таким чином, ступінь гелікобактерного обсіменіння СОШ у хворих на ХЕАГ з ураженням печінки, визначений напівкількісними методами, є вірогідно вищим, ніж у хворих на ХЕАГ без супутнього ураження печінки, що підтверджується результатами кількісного ¹³C-УДТ, який вважають стандартом для неінвазивних методів діагностики *H. pylori* [9, 11].

За даними літератури, всі методи діагностики *H. pylori* володіють високою специфічністю, але різною чутливістю. Жоден з них не є повністю захищеним від діагностичних помилок, похибок і невдач. Інвазивні методики вважаються більш вірогідними. Висока чутливість ureHP-тесту підтверджується даними літератури. Щодо цитологічного методу, то деякі автори вказують на його недостатню чутливість, вважаючи, що *H. pylori* у цитологічних препаратах можна виявити лише у разі максимального обсіменіння СОШ [4, 8]. Нами зафіксовано випадки як помірного (див. рис. 2), так і низького ступеня обсіменіння СОШ (рис. 4).

На нашу думку, цитологічний метод є простим у виконанні, досить швидким і чутливим, дає змогу визначити не лише наявність або відсутність *H. pylori* у препаратах, а й ступінь обсіменіння, наявність кокових форм мікроорганізму і може бути додатковим методом верифікації гелікобактеріозу. З іншого боку, виявлення *H. pylori* у пристінковому слизі СОШ при цитологічному дослідженні є достатнім для призначення антигелікобактерного лікування і рекомендується

низкою протоколів з діагностики гелікобактерної інфекції [6].

Вірогідної різниці щодо чутливості між застосованими напівкількісними інвазивними методами діагностики *H. pylori* не виявлено ($p < 0,05$). У таблиці наведено результати порівняльного аналізу клінічної ефективності застосованих діагностичних тестів, а також мінімальну вартість різних методів діагностики інфекції *H. pylori* згідно із закупівельною ціною тест-системи станом на 2011 р. без урахування часу проведення і вартості ендоскопічного обстеження.

Висновки

Ступінь *H. pylori*-обсіменіння СОШ, визначений кількісним і напівкількісними методами, у хворих на ХЕАГ із порушенням функціонального стану печінки був вірогідно вищим, ніж у хворих на ХЕАГ без її ураження.

Вірогідної відмінності в чутливості між застосованими інвазивними методами не виявлено.

Методи виявлення *H. pylori* в біопсійному матеріалі відзначаються високою чутливістю (80,95–90,48 %), прості у виконанні, доступні за ціною і дають змогу провести як верифікацію гелікобактеріозу щонайменше двома методами, так і дослідження біоптату для оцінки ступеня і глибини запальних змін у СОШ.

Застосовані інвазивні методи є інформативними і доступними для виконання в практичній охороні здоров'я.

Перспектива подальших досліджень полягає в оцінці ступеня ерадикації *H. pylori* у хворих на хронічний ерозивний гастрит залежно від схем лікування.

Список літератури

1. Агибалов А.Н. Результаты использования схем тройной терапии. Дыхательный тест как контроль эффективности эрадикации *Helicobacter pylori* // Сучасна гастроентерол.— 2006.— № 1 (27).— С. 68—70.
2. Клінічний протокол надання медичної допомоги хворим на хронічний гастрит: Наказ МОЗ України № 271 від 13.06.2005 р.
3. Нейко Є.М., Бабенко О.І. Патогенетична роль хелікобактерної інфекції у формуванні хронічного гастриту та виразкової хвороби // Галицьк. лік. вісн.— 2001.— № 2.— С. 155—157.
4. Няньковський С.Л., Івахненко О.С. Діагностика гелікобактеріозу: від ендоскопії та біопсії до імунохроматографічного аналізу // Клін. імунол. Алергол. Інфектол.— 2007.— № 3 (08).— С. 1—3.
5. Передерий В.Г., Ткач С.М., Марусанич Б.Н. От Маастрихта 1—1996 до Маастрихта 3—2005: десятилетний путь революционных преобразований в лечении желудочно-кишечных заболеваний // Сучасна гастроентерол.— 2005.— № 6 (26).— С. 4—9.
6. Стандарты диагностики и лечения кислотозависимых и ассоциированных с *Helicobacter pylori* заболеваний (4-е Московское соглашение). Приняты X съездом НОГР 5 марта 2010 г. // Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология.— 2010.— № 5.— С. 113—118.
7. Харченко Н.В., Радонежская Е.В., Токарь Д.В. и др. Современные подходы к лечению больных язвенной болезнью. Применение β-клатинола в схемах антихеликобактерной терапии // Сучасна гастроентерол.— 2007.— № 2 (34).— С. 69—74.
8. Швець О.В. Оцінка діагностичної ефективності різних методів визначення *Helicobacter pylori* у хворих на хронічний гастрит та виразкову хворобу дванадцятипалої кишки: Автореф. дис. ...канд. мед. наук.— К., 2003.— 18 с.
9. Malfertheiner P., Megraud F., O'Morain C. The Maastricht 3—2005 Consensus Report: guidelines for the management of *Helicobacter pylori* infection // Eur. Gastroenterol. Rev.— 2005.— Vol. 59, N 62.— P. 1—4. Режим доступу до журн.: www.helicobacter.org.
10. Malfertheiner P., Megraud F., O'Morain C. et al. The European *Helicobacter pylori* Study Group (EHPG). Current concept in the management of *Helicobacter pylori* infection. The Maastricht 2—2000 Consensus Report // Aliment. Pharmacol. Ther.— 2002.— Vol. 16.— P. 167—180.
11. McColl K.E.L., Murray L.S., Gillen D. Randomised trial of endoscopy with testing for *Helicobacter pylori* compared with noninvasive *H. pylori* testing alone in the management of dyspepsia // BMJ.— 2002.— Vol. 324.— P. 999—1002.

Н.С. Гаврилюк, Н.Г. Вирстюк, І.В. Цимбалиста

Эффективность инвазивных методов выявления *Helicobacter pylori* у больных хроническим эрозивным антральным гастритом с учетом функционального состояния печени

Изучена степень хеликобактерного обсеменения биоптатов слизистой оболочки желудка у 129 пациентов с хроническим эрозивным *H. pylori*-ассоциированным гастритом (ХЭГ), из них у 59 с нарушением функционального состояния печени. Установлена достоверно более высокая степень обсеменения при первичном обследовании больных ХЭГ при наличии сопутствующего поражения печени. Показано, что между результатами быстрого уреазного теста (ureHP-test), цитологического и гистологического методов определения *H. pylori* в биопсийном материале имеется высокая степень соответствия, что подтверждено количественным неинвазивным ¹³C-уреазным дыхательным тестом. Установлены высокая чувствительность (80,95—90,48 %), простота выполнения и доступность инвазивных тестов. Проведенный анализ клинико-экономической эффективности разных диагностических методов определения *H. pylori* с учетом клинико-эпидемиологической ситуации в Украине дает основания считать инвазивные методы диагностики *H. pylori* наиболее целесообразными для широкого практического использования при гастрите как морфологическом диагнозе.

N.S. Havrylyuk, N.H. Virstyuk, I.V. Tsymbalista

The efficiency of invasive methods for *H. pylori* detection in patients with chronic erosive antral gastritis, taking into account of functional liver state

The study has been held to investigate the degree of *Helicobacter* semination of the gastric mucus biopsic samples from 129 patients with chronic erosive *H. pylori*-associated gastritis (CEG), from them 59 subjects have had liver dysfunction. The significantly higher semination degree has been established at the primary investigation of CEG with concomitant hepatic impairment. The high correlation degree between the results of rapid urease test (ureHP-test), cytological and histological methods of *H. pylori* detection in biopsy material has been shown. This was confirmed by the quantitative non-invasive ¹³C-urease breath test. The high sensitivity (80.95—90.48 %), performance simplicity and availability of invasive tests has been established. The carried out analysis of the clinical and economic efficacy of different diagnosis methods for *H. pylori* detection with account of the clinical and epidemiological situation in Ukraine makes the ground to consider the invasive *H. pylori* diagnostic tests as the most advisable for the intensive practical use at gastritis as morphological diagnosis.

Контактна інформація

Гаврилюк Наталія Степанівна, лікар, асистент кафедри
76018, м. Івано-Франківськ, вул. Галицька, 2. E-mail: gavryluk1963@rambler.ru

Стаття надійшла до редакції 15 травня 2011 р.