

ДИАГНОСТИКА ЭРАДИКАЦИИ ПО УРОВНЮ АНТИТЕЛ Ig G К *HELICOBACTER PYLORI* У БОЛЬНЫХ ДУОДЕНАЛЬНОЙ ЯЗВОЙ

МАКАРЕНКО Е.В.

УО «Витебский государственный медицинский университет»

Возможности различных способов диагностики инфекции *Helicobacter pylori* (*H. pylori*) и оценки эффективности лечения после проведения эрадикации этого микроорганизма представляют интерес для исследователей, в связи с тем, что *H. pylori* является причиной развития гастродуоденальных язв, большинства вариантов хронического гастрита, рака желудка и MALT-лимфомы [10].

Для диагностики хеликобактерной инфекции используют инвазивные и неинвазивные методы. Инвазивные методы диагностики осуществляются при обследовании больных с помощью фиброзофагогастроуденоскопии (ФЭГДС). Производится забор биопсийных образцов для проведения быстрого уреазного теста, выделения бактериальной культуры, гистологического исследования и постановки полимеразной цепной реакции (ПЦР). Гистологическое исследование позволяет получить информацию о присутствии *H. pylori*, наличии воспаления, атрофии, метаплазии. Во время эндоскопического исследования может выполняться также быстрый уреазный тест, дающий высокую чувствительность и специфичность. Метод ПЦР используется для идентификации ДНК микроорганизма. Следует учитывать, что, тесты, основанные на биопсии, мало информативны у больных с язвенным кровотечением [7, 12, 13].

Доказательная диагностика *H. pylori*-инфекции обычно основывается на положительных результатах, по меньшей мере, двух из четырех основанных на биопсии методов: быстрого уреазного теста, выделения культуры микроорганизма, морфологического исследования и ПЦР [14].

Проблема диагностики и оценки эрадикации *H. pylori* неинвазивными методами представляется актуальной во многих регионах мира [10]. Неинвазивные методы включают дыхательный уреазный тест и определение *H. pylori* в кале иммуноферментным методом. Дыхательный уреазный тест основан на приеме внутрь меченой ^{14}C или ^{13}C мочевины и обнаружении продуктов распада, как свидетельства присутствия *H. pylori*. Он может быть использован для скрининга пациентов до проведения эндоскопического исследования и как последующий тест для определения эффекта лечения путем эрадикации *H. pylori*. [13, 14]. К сожалению, в Республике

Беларусь до сих пор этот метод не используется из-за относительно высокой стоимости оборудования.

Одним из удобных для пациента, не вызывающих неприятных субъективных ощущений методом, является исследование сыворотки крови. Серологический метод диагностики известен как простой и удобный метод диагностики успешной или неудачной эрадикации *H. pylori*. Проводились исследования уровня антител IgG к *H. pylori* на разных сроках после осуществления эрадикационной терапии [4, 7, 11, 14]. Возможность серологического метода диагностики эрадикации *H. pylori* оценивается в публикациях, посвященных этой проблеме, неоднозначно. Большинство проведенных исследований свидетельствуют о снижении уровня антител IgG в сыворотке крови в течение 3-6 месяцев после лечения. Чувствительность метода варьирует от 42 до 100% [9]. В Республике Беларусь ранее не проводилось определение уровня антител IgG к *H. pylori* после проведения эрадикационной терапии.

Цель работы заключалась в оценке возможности диагностики эффективности эрадикационной терапии у больных дуodenальной язвой по изменению уровня антител IgG к *H. pylori*.

Методы

Нами обследовано 89 больных (67 мужчин и 22 женщины) дуоденальной язвой до лечения и через год после проведения эрадикации *H. pylori*. Средний возраст обследованных составил 42, $28\pm9,83$ года.

Антитела IgG к *H. pylori* определяли в сыворотке крови исследуемых, с помощью тестовой системы «GastroPanel» (Biohit Pic, Финляндия). Тесты основаны на технологии иммуноферментного анализа. Для проведения исследования кровь забирали из локтевой вены объемом 10 мл, центрифугировали в течение 15 минут со скоростью 2000 G. Сыворотку замораживали и хранили до начала работы с образцами при температуре -20°C .

Выявление IgG антител к *H. pylori* основано на технике взаимодействия очищенного антигена *H. pylori* и антител. Для этого используют моноклональные антитела, меченные пероксидазой хрина. Методика определения состоит из следующих этапов.

Очищенный бактериальный антиген *H. pylori*, сорбированный на поверхности 96-луночного полистиролового планшета, связывается с IgG антителами к *H. pylori*, содержащимися в человеческой сыворотке. Затем планшет промывают для удаления не связавшихся антител. Моноклональные антитела конъюгированные с пероксидазой хрина реагируют с IgG антителами, связанными с антигеном *H. pylori*, сорбированным на полистироловом 96-луночном планшете. Планшет повторно промывают для удаления не

связавшихся антител и добавляют раствор тетраметилбензида с перекисью водорода, для получения цветной реакции. Интенсивность окрашивания прямо пропорциональна содержанию IgG антител к *H.pylori* в испытуемых образцах. Реакцию останавливают с помощью 0,1 молярной серной кислоты, и результат реакции учитывают на автоматическом анализаторе.

Титр антител более 38 ЕIU считали положительным в соответствии с инструкцией к наборам для определения антител. Результаты серологического метода сравнивали с данными быстрого уреазного теста и морфологического исследования. Для экспресс-диагностики наличия хеликобактерной инфекции проводился быстрый уреазный тест полуколичественной тест-системой «ProntoDry» (MIC, Швейцария) с биоптатом, полученным из антрального отдела желудка. Для морфологического исследования во время фиброгастроэзофагодуоденоскопии (ФЭГДС) получали 2 биоптата из середины антрального отдела желудка и 2 – из середины тела желудка. Окраска препаратов осуществлялась гематоксилином-эозином, по Гимзе, ШИК-реакцией и альциановым синим (pH=1,0 и pH=2,5).

Эрадикационная терапия основывалась на рекомендациях Маастрихтского Консенсуса. Наряду с классической тройной терапией 1-й линии, включавшей ингибитор протонной помпы, кларитромицин и амоксициллин, часть больных использовала схемы терапии, состоящие из коллоидного субцитрата висмута, амоксициллина, фуразолидона и омепразола (или без последнего) [3]. Повторное определение антител IgG к *H. pylori* и ФЭГДС с забором гастробиоптатов для осуществления быстрого уреазного теста и морфологического исследования осуществляли через год после лечения.

Статистическую обработку полученных данных проводили с использованием U-теста Mann-Whitney с помощью пакета программ Statistica 6,0 (StatSoft Inc., Okla., USA). Отличия считали статистически значимыми при $p<0,05$. Определялись общепринятые диагностические характеристики: чувствительность, специфичность и точность диагностики [1].

Результаты и обсуждение

По результатам уреазного теста и морфологического исследования были сформированы группы больных с полной эрадикацией, частичной элиминацией и отсутствием эрадикации инфекции *H. pylori*. При наличии полной эрадикации оба теста были отрицательными, при ее отсутствии – оба положительными, при частичной элиминации уреазный тест был отрицательным, морфологическое исследование подтверждало наличие *H. pylori* в гастробиоптатах, однако плотность контаминации

этого микроорганизма снижалась. Все три группы не различались по возрасту, длительности заболевания, методам лечения. Исходный уровень антител в группах достоверно не отличался ($p>0,1$).

Полученные нами результаты продемонстрировали статистически значимое снижение уровня антител IgG к *H. pylori* в группе больных с успешной эрадикацией и частичной элиминацией *H. pylori*. В то же время, в группе с отсутствием эрадикации достоверных изменений этого показателя не произошло (табл.).

Таблица

Изменение уровня антител к *Helicobacter pylori* через год после эрадикации

Группы больных	Показатели	Уровень антител IgG к <i>H. pylori</i>		Изменение уровня антител в % к исходному значению
		До лечения	После лечения	
Полная эрадикация n=30	M±σ	94,30±32,43	32,22±18,72	65,00±15,45
	p		<0,001	
Отсутствие эрадикации n=18	M±σ	84,78±38,11	72,82±32,55	10,60±22,95
	p		0,361	<0,001*
Частичная элиминация n=41	M±σ	89,24±34,80	52,90±28,34	39,23±28,68
	p		<0,001	<0,001*

Примечание: * – по отношению к группе больных с успешной эрадикацией.

Такой характер изменений уровня антител связан с тем, что после проведения эрадикационной терапии происходит снижение плотности колонизации *H. pylori* различной степени выраженности. Полное исчезновение микроорганизма в группе больных с успешной эрадикацией привело к значительному снижению титра антител, почти в 3 раза. При частичной элиминации *H. pylori* происходит менее значимое уменьшение количества сывороточных антител, в связи с тем, что сохраняется персистенция уменьшившегося клона микробных тел. В группе с неуспешной эрадикацией также намечается тенденция к уменьшению уровня антител IgG к *H. pylori*. Вероятно, это связано с тем, что проведенная терапия в определенной степени уменьшила колонизацию микроорганизма.

Аналогичные изменения наблюдались и другими авторами. В исследовании, проведенном японскими учеными, было отмечено, что титр антител у пациентов с персистирующей инфекцией снизился почти на 40%, а примерно у 5% пациентов с сохранившейся инфекцией *H. pylori* появились отрицательные результаты серологической диагностики инфекции *H. pylori*. Было установлено, что у больных с постоянной инфекцией *H. pylori* годовой уровень спонтанной сероконверсии составлял около 2%. Количество пациентов с успешной эрадикацией, по результатам

серологической диагностики спустя 1, 2, 3 и 4 года после лечения, составило 23%, 41%, 52% и 61% соответственно. Уровень антител у пациентов этой группы был ниже 50 U/ml. Напротив, у больных с персистирующей *H. pylori*-инфекцией титр антител к *H. pylori* оставался выше 50 U/ml в течение 4 лет, и только у 2-2,5% пациентов этой группы уровень антител к *H. pylori* спонтанно уменьшился ниже 50 U/ml. Известно, что спонтанная сероконверсия чаще наблюдается у пациентов с выраженной атрофией слизистой оболочки желудка [10].

Для оценки наступления эрадикации после проведения лечения в качестве пограничного значения (точка cut-off) нами было выбрано снижение титра антител IgG к *H. pylori* на 50% от исходного уровня. Для расчета показателей точности, специфичности и чувствительности использовались значения уровня сывороточных антител IgG к *H. pylori*, полученные для двух групп больных: с успешной эрадикацией *H. pylori* и отсутствием эрадикации. Число истинноотрицательных значений в двух группах составило 17 случаев, ложноположительных – 1, ложноотрицательных – 5, истинноположительных – 25. Исходя из полученных результатов, точность диагностики эрадикации по уровню антител IgG к *H. pylori* составила 87,5%, чувствительность – 83,3% и специфичность – 94,4%, предсказательная ценность положительного результата – 96,2%, отрицательного – 77,3%.

В группе больных с частичной элиминацией хеликобактерной инфекции наблюдались разнонаправленные изменения уровня антител IgG к *H. pylori*. Снижение уровня антител различной степени выраженности произошло у 38 пациентов (92,7%), в то время как у трех (7,3%) – титр антител повысился. На 50% и больше содержание сывороточных антител уменьшилось у 15 человек (36,6%), у 23 больных (56,1%) уровень антител IgG к *H. pylori* снизился меньше, чем на 50%. Попытки определения антител IgG к *H. pylori* предпринимались различными авторами для оценки результатов эрадикации хеликобактерной инфекции. При обследовании 318 пациентов, проведенном F. Lerang с соавторами, было установлено, что уменьшение титра антител IgG к *H. pylori* на 40% или более через 3-6 месяцев после лечения свидетельствовало об эрадикации *H. pylori* [4]. При этом чувствительность метода составила 93%, а специфичность 100%. В проведенном в Бельгии исследовании с участием 247 пациентов уменьшение в IgG титра антител на 50% и более в течение 3-6 месяцев после лечения подтверждало факт эрадикации *H. pylori*. Чувствительность метода равнялась 44%, а специфичность – 87% [6].

В исследовании, проведенном в России, снижение уровня антител на 20% по сравнению с исходными показателями через 4 недели после лечения расценивалось как

эрадикация *H. pylori*, а отсутствие изменений, повышение или снижение титра антител менее чем на 20% – как неэффективное лечение. Чувствительность и специфичность серологического метода оценки эффективности эрадикации в данном исследовании были около 90% [2]. В сообщении, касающемся изучения серологической диагностики эрадикации хеликобактерной инфекции, у 43 американских пациентов отмечено, что в случае положительного результата спустя 12-21 месяц после лечения происходит снижение концентрации IgG на 20%, чувствительность метода составила 93% [5].

В ряде исследований, проведенных через 3-12 месяцев после лечения, сообщается, что снижение титра IgG антител на 20% и более расценивается как эрадикация *H. pylori*. Чувствительность и специфичность метода составили 80% или выше [4, 11, 14]. В Японии, установлен показатель успешной эрадикации *H. pylori* – снижение титра антител IgG *H. pylori* на 60% по сравнению с исходными значениями через 1 год после эрадикации. Чувствительность метода составила 90% и специфичность – 87%. [10]. Отличия в результатах точности серологической диагностики успешной эрадикации *H. pylori*, полученные рядом исследователей, могут быть связаны с использованием наборов, выпускаемых разными производителями, а также особенностями изучаемой популяции.

Полученные нами результаты исследования свидетельствуют о высокой степени точности, специфичности и чувствительности серологического метода оценки эффективности эрадикации инфекции *H. pylori*, что позволяет его использовать в практике здравоохранения.

Заключение

1. Снижение уровня антител IgG к *H. pylori* на 50% по сравнению с исходным уровнем свидетельствует об эрадикации хеликобактерной инфекции.
2. Точность диагностики эрадикации по уровню антител IgG к *H. pylori* составила 87,5%, чувствительность – 83,3% и специфичность – 94,4%, предсказательная ценность положительного результата – 96,2%, отрицательного – 77,3%.

Литература

1. Власов, В. В. Эффективность диагностических исследований / В. В. Власов. – М.: Медицина, 1988. – 256 с.
2. Исаков, В. А. Хеликобактериоз / В. А. Исаков, И. В. Доморадский. – М.: ИД Медпрактика, 2003. – 412 с.
3. Пиманов, С. И. Анализ эффективности протоколов эрадикации инфекций *Helicobacter pylori* / С. И. Пиманов, Е. В. Макаренко // Рецепт. – 2005. – № 1. – С. 19-23.

4. Accuracy of IgG serology and other tests in confirming *Helicobacter pylori* eradication / F. Lerang [et al.] // Scand. J. Gastroenterol. – 1998. – Vol. 33. – P. 710-715.
5. Cutler, A. F. Long term follow- up of *Helicobacter pylori* serology after successful eradication / A. F. Cutler, V. M. Prasad // Am. J. Gastroenterol. – 1996. – Vol. 91. – P. 85–88.
6. Effect of antimicrobial therapy on the specific serological response to *Helicobacter pylori* infection / Y. Glupczynski [et al]. // Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis. – 1992. – Vol. 11. – P. 583-588.
7. Go, M. F. Review article: natural history and epidemiology of *Helicobacter pylori* infection / M. F. Go // Aliment. Pharmacol. Ther. – 2002. – Vol. 16. – Suppl. 1. – P. 3-15.
8. *Helicobacter pylori* infection and the development of gastric cancer / N. Uemura [et al.] // N. Engl. J. Med. – 2001. – Vol. 345. – P. 784-789.
9. Herbrink, P Serological methods for diagnosis of *Helicobacter pylori* infection and monitoring eradication therapy / P. Herbrink, L. J. van Doorn // Eur. J. Clin. Microbiol. Infec. Dis. – 2000. –Vol. 19. – P. 164-173.
10. Host serological response to *Helicobacter pylori* after successful eradication: long-term follow-up in patients with cured and persistent infection / J. Tanaka [et al.] // Aliment. Pharmacol. Ther. – Vol. 24. – Suppl. 4. – P. 239-248.
11. Longterm follow-up and serologic assessment after triple therapy with omeprazole or lansoprazole of *Helicobacter*-associated duodenal ulcer / L. Fanti [et al.] // J. Clin. Gastroenterol. – 2001. – Vol. 32. – P. 45-48.
12. Review article: *Helicobacter pylori* infection from pathogenesis to treatment – a critical eappraisal / D. Vaira [et al.] // Aliment. Pharmacol. Ther. – 2002. – Vol.16. – Suppl. 4. – P.105–113.
13. The Efficacy of Laboratory Diagnosis of *Helicobacter pylori* Infections in Gastric Biopsy Specimens in Related to Bacterial Density and *vacA*, *cagA*, and *iceA* genotypes / L. J. van Doorn [et al.] // J. Clin. Microbiol. – 2000. – Vol.38, N.1. – P. 13-17.
14. Usefulness of serological IgG antibody determination for confirming eradication of *Helicobacter pylori* infection / P. Marchildon [et al.] // Am. J. Gastroenterol. – 1999. – Vol. 94. – P. 2105-2108.