



УДК 579.61+616-093/-098:57.088.3

## ЕФЕКТИВНІСТЬ ВИКОРИСТАННЯ БАКТЕРІОЛОГІЧНОГО ТА ІМУНОХРОМАТОГРАФІЧНОГО МЕТОДІВ ВІЯВЛЕННЯ БАКТЕРІЙ *HELICOBACTER PYLORI* СЕРЕД ДІТЕЙ ШКІЛЬНОГО ВІКУ

Г. Яворська<sup>1</sup>, Л. Хім'як<sup>2</sup>, О. Кушарська<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Львівський національний університет імені Івана Франка  
вул. Грушевського, 4, Львів 79005, Україна

<sup>2</sup>Західноукраїнський спеціалізований дитячий медичний центр  
вул. Дністерська, 27, Львів 79035, Україна  
e-mail: igor\_javo@mail.ru

Виявлення бактерій *Helicobacter pylori* серед дітей шкільного віку є актуальною проблемою, оскільки жоден із методів діагностики гелікобактерної інфекції не є повністю достовірним. Упродовж 2009–2012 рр. бактерії *H. pylori* виявлено імунохроматографічним, серологічним, бактеріоскопічним і культуральним методами серед 77 дітей з гастродуоденальними захворюваннями. Встановлено, що кількість позитивних випадків щодо бактерій *H. pylori* залежала від використаного методу: імунохроматографічним методом виявлено наявність бактерій у 80,5%, серологічним – 44,1%, бактеріоскопічним – 42,8% і культуральним – 96,1% пацієнтів. Порівняння чутливості та специфічності імунохроматографічного методу дало змогу показати його доволі високу інформативність. Враховуючи обмеження використання усіх методів виявлення бактерій *H. pylori* у дітей, необхідно звертати увагу на мету дослідження і достовірність вибраного методу. За необхідності глибокого аналізу властивостей виділених бактерій варто одночасно використовувати кілька методів, але для первинної діагностики гелікобактерної інфекції у дітей шкільного віку доцільним є імунохроматографічний метод. Він є простим у виконанні, доволі чутливим та специфічним і не потребує проведення фіброгастродуоденоскопії та взяття біоптату, на відміну від інвазивних.

**Ключові слова:** *Helicobacter pylori*, гелікобактерна інфекція, імунохроматографічний і бактеріологічний методи, чутливість, специфічність.

### ВСТУП

Про бактерії *Helicobacter pylori* як збудника інфекційного захворювання відомо з 1979 р. [13]. У літературі дискутують про потенційні ризики та користь, обумовлені інфікуванням *H. pylori*, а також про доцільність широкого проведення ерадикацій-

ної терапії [6]. Бактерії *H. pylori* є основною причиною гастродуоденальних захворювань, що підвищує ризик виникнення дуоденальних і шлункових виразок і раку шлунку. Однак персистенція *H. pylori* у слизовій шлунку супроводжується деякими перевагами, порівняно з неінфікованими пацієнтами [10]. Порушення рівноваги співіснування бактерій *H. pylori* у людському організмі могло бути спричинене багатьма факторами, зокрема розповсюдженням шкідливих звичок, застосуванням консервантів, синтетичних добавок, генетично модифікованих організмів у харчуванні, широким впровадженням імунізації, частим і не завжди обґрунтованим застосуванням антибіотиків, інших медикаментів тощо.

Гелікобактерна інфекція розповсюджена у всіх частинах Земної кулі та практично серед усіх ссавців [6]. Передбачається, що до 70% випадків гелікобактерної інфекції є безсимптомними і що від 1/2 до 2/3 людської популяції у світовому масштабі інфіковано *H. pylori*. Кількість безсимптомних носіїв бактерій змінюється від країни до країни. У розвинених країнах (Західна Європа, США, Канада, Австралія) ця частка становить приблизно 25%, проте вона значно вища в інших країнах, через порівняно низькі санітарні стандарти й умови проживання [9].

Частота гастроентерологічної патології в Україні за останні 10 років збільшилася на 53%. Одним із найрозповсюдженіших збудників захворювань шлунково-кишкового тракту й інших захворювань є саме бактерії *H. pylori* [3, 8]. За даними різних дослідників, інфікованість дитячого населення становить 60–70%, а за ерозивно-виразкових процесів – 82–98% [1, 11]. Така висока контамінація свідчить про те, що найближчим часом буде спостерігатися подальший ріст частоти *H. pylori*-асоційованих захворювань, передусім гастродуоденітів і виразкової хвороби.

Лабораторна діагностика гелікобактерної інфекції у багатьох країнах світу є високоефективною, проте в Україні лише започатковується. У зв'язку з цим важко встановити рівень розповсюдження даної інфекції серед населення. Ефективна діагностика є складною у зв'язку з відсутністю єдиного підходу до виявлення *H. pylori*. Для виявлення бактерій *H. pylori* використовують такі методи: інвазивні (потребують проведення фіброгастродуоденоскопії та взяття біоптату) і неінвазивні (не потребують проведення фіброгастродуоденоскопії), а також: прямі (виділення бактерій *H. pylori*) та непрямі (визначення продуктів життєдіяльності *H. pylori*). Інвазивні методи використовуються під час проходження пацієнтом комплексу первинної діагностики тому, що в даному випадку призначення фіброгастродуоденоскопії є обов'язковим. Однак для обстеження дітей зі скаргами на періодичний абдомінальний біль краще використовувати неінвазивні методи [4].

Оскільки немає універсального методу виявлення *H. pylori*, кожен метод відповідно має свої переваги та недоліки. Методи діагностики розрізняють за чутливістю і специфічністю [5]. Під час проведення багатьох порівняльних досліджень було виявлено, що результати різних методів не завжди ідентичні. Існує думка: щоб уникнути отримання хибно позитивних чи хибно негативних результатів, потрібно використовувати, як мінімум, два методи і результат вважати позитивним чи негативним після збігання обох методів дослідження. Деякі автори навіть рекомендують використання трьох методів, щоб стверджувати про відсутність інфекції [5].

Однак у діагностиці гелікобактерної інфекції залишається ще багато не з'ясованих питань, а методи, які запропоновані, необхідно адаптовувати і апробувати.

Виявлення бактерій *H. pylori* серед дітей шкільного віку є актуальною проблемою, як і загалом дослідження мікрофлори шлункового тракту. Такі дослідження

дають змогу аналізувати властивості збудників, їхній вплив на людський організм і окремі його системи й органи, правильно встановлювати діагнози різних захворювань, простежувати зміни у мікробіоценозі організму людини та функціонуванні імунної системи.

Метою роботи було порівняти ефективність бактеріологічного та імунохроматографічного методів виявлення бактерій *H. pylori* серед дітей шкільного віку Львівської області.

## МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

Виявлення бактерій *H. pylori* серед дітей шкільного віку Львівщини проводили упродовж 2009–2012 рр. бактеріологічним, серологічним та імунохроматографічним методами.

Досліджували біоптати слизової оболонки шлунка, цілну кров і сироватку (відбирали за стандартною процедурою забору) та вміст фекалій.

Для виявлення в біоптатах слизової оболонки шлунка бактерій *H. pylori* бактеріоскопічним методом виготовляли препарати, які зафарбовували за Грамом, фуксином Пфайфера і гематоксилін-еозином або акридином оранжевим. Для виявлення збудників застосовували світлову або фазово-контрастну мікроскопію.

Для посіву патологічного матеріалу використовували такі середовища: кров'яний агар, кров'яний агар з амфотерицином, еритрит-кров'яний агар з амфотерицином. Проводили посів згідно з методичними рекомендаціями [4, 7]. Посіви культивували 5–7 діб, за температури +37°C за мікроаерофільних, аеробних і анаеробних умов. Для створення мікроаерофільних умов використовували анаеростати (GENbox jars, bioMerieux, Франція) і кисеньпоглинаючі генератори (GENbox generators, bioMerieux, Франція). Для визначення наявності уреазу, каталази, оксидази, продукції сірководню, утворення нітратів, індолу, розщеплення глюкози використовували біохімічні тест-системи фірми bioMerieux (Api Campy test).

Приналежність виділених культур визначали: за характерною морфологією клітин і колоній; "гвинтоподібною" рухливістю; здатністю до росту в мікроаерофільних умовах; відсутності росту в аеробних і анаеробних умовах і за температури +25 та +42°C; за наявністю оксидазної, каталазної та уреазної активності.

Використовували імунохроматографічну тест-систему Stool-тест Cito Test *H. pylori* для якісного виявлення антигенів *H. pylori* у зразках фекалій фірми CerTest Biotec. S.L. (Іспанія), компанії "Фармаско".

Принцип методу полягає у взаємодії зафарбованих кон'югатів (у червоний колір), які сформовані моноклональними антитілами й антигенами *H. pylori* та нанесені на тест-смужку зі специфічними антигенами бактерій фекалій. Під час міграції суміші вздовж мембрани під дією капілярної сили й у разі позитивного результату специфічні антитіла, які наявні на тестовій ділянці, будуть взаємодіяти із забарвленим кон'югатом і з'явиться червона лінія. Суміш продовжує переміщення вздовж мембрани до іммобілізованих антитіл, розміщених на контрольній ділянці тесту, і з'являється лінія зеленого кольору. Наявність цієї зеленої лінії є підтвердженням достатньої кількості використаного зразка, заповнення капілярів мембрани, а також внутрішнього контролю якості реагентів.

Для отримання достовірного результату тестування проводили відразу після забору зразка. Інтерпретація результату (рис. 1):

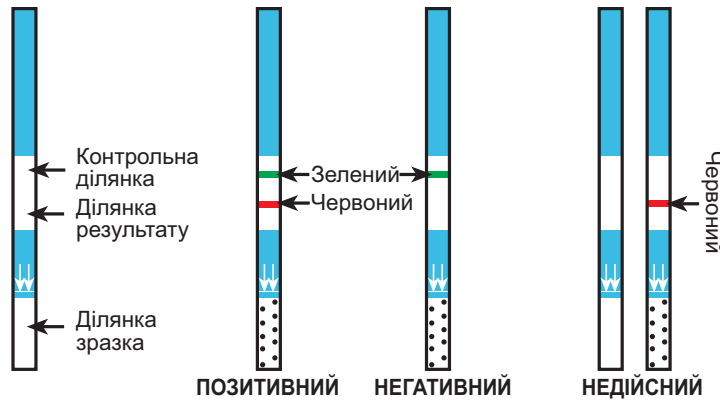


Рис. 1. Інтерпретація результату імунохроматографічного методу виявлення бактерій *H. pylori*

Fig. 1. Interpretation of the results of application of immunochromatographic method for detection of *H. pylori* bacteria

Проводили також швидкий горизонтально поточний серологічний тест для виявлення антитіл класу IgG до антигенів *H. pylori* у цільній крові чи сироватці. Під час визначення відбувається взаємодія антигенів, нанесених на мембрану, з антитілами у зразку. Якщо досліджуваний зразок містить антитіла класу IgG, тестова лінія червоного кольору з'являється на мембрані в результаті такої взаємодії. У разі відсутності їх тестова лінія не з'являється. Контрольна лінія (S) завжди з'являлася на мембрані, незалежно від наявності IgG у зразку, що свідчить про достатню кількість узятого зразка. Використовуючи капілярну трубку, додавали краплю цільної крові з пальця чи сироватки у лунку S на тест-касеті. Через 30 секунд додавали 3 краплі буфера в лунку.

Інтерпретація результату: позитивний результат з'являвся уже через 2–3 хвилини, тоді як слабо позитивний через період часу до 7 хвилин. Після 7-ї хвилини результат тестування був недостовірним.

Отримані значення піддавали статистичному обрахунку, використовуючи критерій Стьюдента [2].

## РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ І ЇХНЕ ОБГОВОРЕННЯ

Порівнянням результатів виявлення бактерій *H. pylori* інвазивними прямими (бактеріоскопічним та культуральним) і неінвазивними непрямими (імунохроматографічним та серологічним) методами встановлено високу інформативність імунохроматографічного методу (див. таблицю). Так, частота виявлення антигенів бактерій *H. pylori* у калі обстежених дітей імунохроматографічним методом була у межах 78,9–85,7%.

Показано, що використання бактеріоскопічного та серологічного методів для виявлення *H. pylori* є інформативним лише у сукупності з іншими методами. Під час бактеріоскопії спеціально зафарбованих препаратів, виготовлених із біопатів шлунка, виявляли дрібні спіралеподібні бактерії у 42,8% обстежених пацієнтів, що обумовлено або невеликою кількістю бактерій, які не завжди переносяться зі слизової оболонки на препарати, або вимиванням бактерій разом зі слизом під час фарбування зразків.

**Порівняння ефективності методів виявлення бактерій *H. pylori* серед дітей**  
**Comparison of effectiveness methods differend used for detecting**  
**of *H. pylori* bacteria in children**

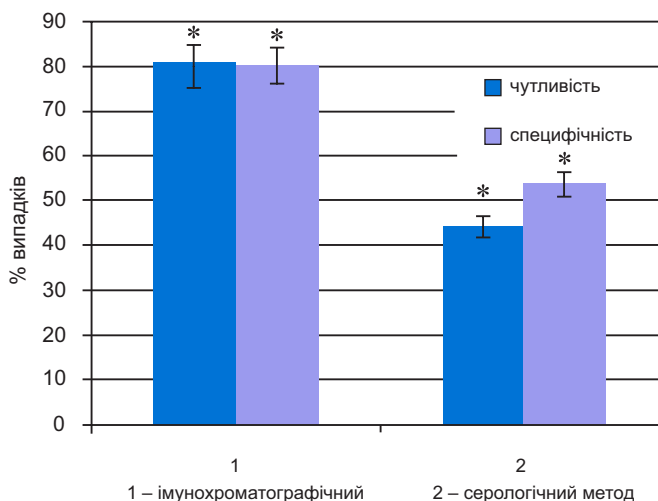
Роки	Кількість обстежених дітей	Кількість позитивних результатів за методами							
		Бактеріо-скопичним		Культуральним		Імуно-хроматографічним		Серологічним	
		абс	%	абс	%	абс	%	абс	%
2009	12	5	41,7±14,2	11	91,7±7,9	10	83,3±10,7	5	41,7±14,2
2010	19	8	42,1±11,3	18	94,7±5,1	15	78,9±9,3	8	42,1±11,3
2011	21	9	42,8±10,8	21	100	18	85,7±7,6	10	47,6±10,9
2012	25	12	48,0±9,9	24	96,0±3,9	20	80,0±8,0	11	44,0±9,9
<b>Разом</b>	<b>77</b>	<b>33</b>	<b>42,8±5,6</b>	<b>74</b>	<b>96,1±2,2</b>	<b>62</b>	<b>80,5±4,5</b>	<b>34</b>	<b>44,1±5,6</b>

**Примітка:** абс – абсолютна кількість дітей, у яких виявлено бактерії *H. pylori*.

**Comment:** абс – absolute number of children in who *H. pylori* bacteria was detected.

Серологічний метод давав змогу виявляти антитіла у сироватці крові лише у 44,1% дітей. Очевидно, такі результати обумовлені слабкою імунною відповіддю організму дітей, ранньою стадією інфікування або варіабельністю антигенної структури різних штамів *H. pylori*. У деяких дослідженнях показано, що результати серологічного методу виявлення *H. pylori* залежать від рівня розповсюдженості інфекції у популяції [12], тому їх варто адаптовувати до того чи іншого регіону і використовувати для обстеження дорослого населення.

Порівняння чутливості (частоти позитивних результатів за наявності захворювання) та специфічності (частоти негативних результатів за відсутності захворювання) імунохроматографічного і серологічного методів дало змогу показати, що дані показники є приблизно на одному рівні для імунохроматографічного та відрізняються для серологічного методів (рис. 2).



**Рис. 2.** Порівняння чутливості та специфічності імунохроматографічного і серологічного методів виявлення *H. pylori*. \* –  $P < 0,05$

**Fig. 2.** Comparison of sensitivity and specificity of immunochromatographic and serological methods of detecting *H. pylori*. \* –  $P < 0.05$

Культуральний метод є специфічним і дає можливість виділяти чисту культуру *H. pylori* та вивчати його властивості, зокрема антибіотикорезистентність, що особливо важливо у разі неефективності терапії. Даний метод є трудомістким і тривалим, а отже, неможливим для отримання швидкого результату (7–10 днів). Крім того, для виділення збудника є необхідним взяття патологічного матеріалу (біоптату), а це потребує інвазивного втручання. Така процедура малоприємна, особливо якщо йдеться про дітей. Тому краще використовувати імунохроматографічний метод виявлення антигенів *H. pylori* в калі. Дослідження підтвердили його високу чутливість, специфічність і ефективність поряд з інвазивними методами. Обмеженням широкого використання імунохроматографічного методу в клінічній практиці залишається висока вартість порівняно з іншими методами.

## ВИСНОВОК

Враховуючи обмеження використання існуючих методів виявлення бактерій *H. pylori* у дітей, необхідно звертати увагу на мету дослідження і достовірність вибраного методу. Від такого вибору залежить своєчасність і правильність діагнозу та призначення раціонального лікування. За необхідності детального аналізу властивостей виділених бактерій варто одночасно використовувати кілька методів, але для первинної діагностики гелікобактерної інфекції у дітей шкільного віку доцільним є імунохроматографічний метод. Він є простим у виконанні, доволі чутливим і специфічним.

1. Гуреев А.Н., Хромова С.С., Цветкова Л.Н. и др. Роль иммунных механизмов в развитии язвенной болезни двенадцатиперстной кишки у детей. **Педиатрия**, 2006; 6: 23–27.
2. Деркач М.П., Гумецкий Р. Я., Чабан М.Є. **Курс варіаційної статистики**. Львів: Вид-во Львівського університету, 1997. 207 с.
3. Панчишин Ю.М., Кушнір Т.Ю. Деякі особливості клінічних проявів та лікування інфекції *Helicobacter pylori*. **Рациональная фармакотерапия**, 2011; 3: 44–47.
4. Сарсенбаева А.С., Игнатов Г.Л., Воротникова С.В. **Методы диагностики Helicobacter pylori**. Челябинск: УГМАДО, 2005. 50 с.
5. Сміян О.І., Мошнич О.П., Бинда Т.П., Сміян К.О. Сучасний погляд на діагностику *Helicobacter pylori* та порівняльний аналіз результатів дослідження. **Вісник СумДУ. Сер. Медицина**, 2011; 2: 101–107.
6. Томків З.В., Коржинський Ю.С. Сучасний погляд на інфекцію *H. pylori*. **Буковинський мед. вісник**, 2011; 15(3–59): 118–123.
7. Циммерман Я.С. Гастродуоденальные заболевания и *Helicobacter pylori*-инфекция: общее обозрение проблемы. **Клинич. медицина**, 2009; 5: 9–15.
8. Фадеенко Г.Д. **Методы диагностики Helicobacter pylori: современные возможности в 2010 году. Здоров'я України. Тематичний номер. Гастроентерологія**, 2010: 8–10.
9. Фадеенко Г. Д. Позашлункові прояви інфекції *Helicobacter pylori*. **Здоров'я України**, 2006; 21(1): 8–9.
10. Andersen L.P. Colonization and infection by *Helicobacter pylori* in humans. **Helicobacter**, 2007; 12(2): 12–15.
11. Gerhard M., Lehn N., Neumayer N. Clinical relevance of the *Helicobacter pylori* gene for blood-group antigen-binding adhesin. **Proc. Natl. Acad. Sci USA**, 2005; 96(14): 254.
12. Loy C.T., Irwig L.M., Katelaris P.H. et al. Do commercial serological kits for *Helicobacter pylori* infection differ in accuracy? A meta-analysis. **Amer. Journ. of Gastroenterology**, 2000; 91: 1138–1144.

13. Marshall B.J. Unidentified curved bacillus on gastric epithelium in active chronic gastritis. *Lancet*, 1983; 1(8336): 1273–1275.

---

## EFFECTIVENESS OF USING BACTERIOLOGIC AND IMMUNOCHROMATOGRAPHIC METHODS FOR DETECTING OF *HELICOBACTER PYLORI* BACTERIA IN SCHOOL AGE CHILDREN

G. Yavorska<sup>1</sup>, L. Chimyak<sup>2</sup>, O. Kusharska<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Ivan Franko National University of Lviv, 4, Hrushevskiyi St., Lviv 79005, Ukraine

<sup>2</sup>West Ukrainian Specialized Children Medical Centre, 27, Dnisterska St., Lviv 79035, Ukraine  
e-mail: igor\_javo@mail.ru

Detection of *Helicobacter pylori* bacteria in school age children is an actual problem. Most methods of *Helicobacter* infection diagnostics are not fully reliable. During 2009–2012, *H. pylori* bacteria was found in 77 children with gastroduodenal diseases by using immunochromatographic, serologic, bacterioscopic, and cultural methods. It was established that positive result of bacteria *H. pylori* detection depends on applied method: bacteria presence was found by the immunochromatographic method in 80.5%, serologic method – 44.1%, bacterioscopic method – 42.8% and cultural method – in 96.1% patients. A comparison of sensitivity and specificity of the immunochromatographic method demonstrated its high informativity. Restrictions of using all methods of detection of *H. pylori* in children are noted. It was shown that it is necessary to focus at the purpose of study and reliability of the method chosen. If depth analysis is necessary, for characteristics of isolated bacteria several methods should be simultaneously used. However, primary diagnosis of *H. pylori* infection in school children, immunochromatographic method is appropriate, since it is simple in execution, sensitive, specific, and does not require fibrogastroduodenoscopy or taking biopsies as opposed to the invasive methods.

**Keywords:** *Helicobacter pylori*, helicobacter infection, immunochromatographic and bacteriologic methods, sensitivity, specificity.

## ЭФФЕКТИВНОСТЬ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ БАКТЕРИОЛОГИЧЕСКОГО И ИМУНОХРОМАТОГРАФИЧЕСКОГО МЕТОДОВ ВЫЯВЛЕНИЯ БАКТЕРИЙ *HELICOBACTER PYLORI* СРЕДИ ДЕТЕЙ ШКОЛЬНОГО ВОЗРАСТА

Г. Яворская<sup>1</sup>, Л. Химяк<sup>2</sup>, О. Кушарская<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Львовский национальный университет имени Ивана Франко  
ул. Грушевского, 4, Львов 79005, Украина

<sup>2</sup>Западноукраинский специализированный детский медицинский центр  
ул. Днистерская, 27, Львов 79035, Украина  
igor\_javo@mail.ru

Актуальной проблемой является выявление бактерий *Helicobacter pylori* среди детей школьного возраста. Ни один из методов диагностики геликобактерной инфекции не является полностью достоверным и защищенным от ошибок и неудач. На протяжении 2009–2012 гг. выявляли бактерии *H. pylori* иммунохроматографическим,

серологическим, бактериоскопическим и культуральным методами среди 77 детей с гастродуоденальными заболеваниями. Установлено, что количество случаев выявления бактерий *H. pylori* зависело от использованного метода: с помощью иммунохроматографического метода выявлено наличие бактерий у 80,5%, серологического – 44,1%, бактериоскопического – 42,8% и культурального – у 96,1% пациентов. При сравнении чувствительности и специфичности иммунохроматографического метода показана его довольно высокая информативность. Учитывая ограничение использования всех методов выявления бактерий *H. pylori* у детей, необходимо обращать внимание на цель исследования и достоверность выбранного метода. В случаях необходимости глубокого анализа особенностей выделенных бактерий целесообразно использовать несколько методов, но для первичной диагностики геликобактерной инфекции у детей школьного возраста достаточно иммунохроматографического метода. Он простой, довольно чувствительный и специфический, а главное – в отличие от инвазивных, не требует проведения фиброгастродуоденоскопии и взятия биоптата.

**Ключевые слова:** *Helicobacter pylori*, геликобактерная инфекция, иммунохроматографический и бактериологический методы, чувствительность, специфичность.

Одержано: 27.06.2013