

УДК 616.9: 612-083: 577.152.351: 616-078

Сравнительная оценка эффективности иммунологического уреазного теста для диагностики инфекции *H. Pylori* в организме человека

Т.В. Коваленко*, И.И. Генералов**, В.М. Семенов**

*Витебский областной клинический онкологический диспансер, Витебск, Беларусь

**Витебский государственный медицинский университет, Витебск, Беларусь

Comparative evaluation of efficiency of immunological urease test for diagnostics of *H. Pylori* infection in humans

T.V. Kovalenko*, I.I. Generalov**, V.M. Semenov**

*Vitebsk regional clinical oncological centre, Vitebsk, Byelorussia

**Vitebsk State Medical University, Vitebsk, Byelorussia

Аннотация

Оценена эффективность использования иммунологического уреазного теста с препаратами IgG для диагностики инфекции *Helicobacter pylori* (Hp) в организме человека. Диагностика Hp проведена у 68 человек с синдромом диспепсии. Отбор больных осуществлялся рандомизированным методом. Препараты IgG выделяли из сыворотки крови, степень очистки IgG определяли с помощью электрофореза в диссоциирующих условиях с последующей окраской Coomassie blue R-250 и нитратом серебра. Контроль стерильности препаратов иммуноглобулинов при инкубации при 37°C в течение 120 и 168 часов роста бактерий не выявил. Уреазную активность фракции IgG сыворотки крови определяли, смешивая 0,1 мл IgG (1,5 мг/мл) и 0,1 мл субстрата (20 г/л мочевины (Serva) и 2 г/л NaN_3 в 0,1 мл ФБР 0,1М, pH 8,2). Инкубировали при 37°C до появления достоверных различий между опытными и контрольными пробами (120 часов). Результат оценивали по степени распада мочевины (ммоль/л) с помощью набора реагентов BUN Reagent, ECO-MED-POLL (Австрия) и спектрофотометра «Spectrum II» ($\lambda=340$ нм, Abbott, США). Перевод в международные единицы активности (Катал) осуществляли по формуле $Y=4,6X$ пикоКатал (пКат), где X - количество распавшейся мочевины (ммоль/л). Верхняя граница отрицательных результатов иммунологического уреазного теста у группы Hp-негативных пациентов с неизменной слизистой оболочкой желудка и двенадцатиперстной кишки оказалась равной 0,067 (диапазон 0,001-0,067) пКат. Иммунологический уреазный тест с препаратами IgG и быстрый уреазный тест Jatrox-H.p.-Test (Rohm Pharma, Germany) с биоптатами слизистой оболочки использовались для определения уреазной активности у этих пациентов. В качестве метода сравнения применяли обнаружение бактерии Hp в слизистой оболочке желудка и ДПК. Сравнительная оценка эффективности иммунологического уреазного теста и быстрого уреазного теста (n=68) показала следующий результат: чувствительность (Se) - 0,84 и 0,96 соответственно; специфичность (Sp) - 0,93 и 0,98; распростра-

Summary

To assess the capacity of immunological urease test with IgG preparations for diagnosis of *H. pylori* (Hp) infection in humans. Randomly selected 68 patients with dyspeptic syndrome were examined. IgG were purified from sera of patients according to Paul et al. The control of IgG purity was performed by size-exclusion Toyopearl HW 55 chromatography or Diasorb Diol 400 HPLC in acid glycine-HCl buffer, 0.05M, pH 2.8 and by SDS-polyacrylamide gradient gel electrophoresis. Sterility control of IgG preparations didn't reveal any bacterial contamination. Determination of urease-like IgG activity: briefly, 0.1 ml IgG (1.5 mg/ml) and 0.1 ml substrate solution (20 g/L urea (Serva) with 2 g/L NaN_3 in 0.1 ml FBB 0.1M, pH 8.2) were incubated at $t=37^\circ\text{C}$ for 120 hours. The results were further assessed by enzymatic urea reagent (BUN Reagent, ECO-MED-POLL, Austria) with spectrophotometer "Spectrum II" detection (Abbott, USA; $\lambda=340$ nm). Conversion of data into international units of activity (pikoCatal) was carried out according to regression equation $Y=4.6X$ (in pCat), where X is the quantity of hydrolyzed urea (mM). The upper cut-off value for the reaction of healthy controls group results appeared equal to 0.067 (the range 0.001-0.067) pCat. Immunological urease test with IgG preparations and rapid urease test Jatrox-H.p.-Test (Rohm Pharma, Germany) with mucous biopsy was used for determination of urease activity in these patients. Morphological detection of Hp cells in gastric and duodenal mucosal tissues was used as reference test. Results of the performance assessment of immunological urease test and rapid urease test: sensitivity (Se) - 0,84 and 0,96, respectively; specificity (Sp) - 0,93 and 0,98; prevalence (P) - 0,37 and 0,37; test accuracy (TA) - 0,90 and 0,97; negative predictive value (-PV) - 0,91 and 0,98; positive predictive value (+PV) - 0,88 and 0,96;

ненность (P) - 0,37 и 0,37; точность теста (TA) - 0,90 и 0,97; прогностическая ценность при отрицательном результате (-PV) - 0,91 и 0,98; и при положительном результате (+PV) теста - 0,88 и 0,96; отношение правдоподобия положительно-го результата (LR+) - 12,00 и 48,00; и отрицательного результата (LR-) теста - 0,17 и 0,04. Впервые установлена клиническая эффективность иммунологического уреазного теста с использованием препаратов поликлональных IgG (чувствительность теста - 84%, специфичность - 93%, точность - 90%) для диагностики *H. pylori* в организме человека. Иммунологический уреазный тест по ряду показателей (Sp, P, TA, -PV, LR+) был сопоставим ($p < 0,05$) быстрому уреазному тесту с гастро- и дуоденобиоптатом для диагностики Hp в гастродуоденальной слизистой оболочке.

Ключевые слова

H. pylori, желудок, двенадцатиперстная кишка, уреазная активность, IgG.

В настоящее время *Helicobacter pylori* (Hp) является наиболее распространенной хронической бактериальной инфекцией у человека, колонизируя приблизительно 60% мирового населения [1, 2]. Этим бактериям удалось занять «экологическую нишу» не только под слоем слизи, но и на слизистой оболочке желудка и существовать в условиях кислой среды, в которых ни одни другие бактерии не смогли выжить. *Helicobacter pylori* относится к так называемым «медленным инфекциям» [3]. Существуют различные клинические формы данной инфекции, ассоциированные прежде всего с патологией желудка и двенадцатиперстной кишки (хронический гастрит, гастродуоденальная язва, мальтома желудка). Кроме этого *H. pylori* ассоциирован с заболеваниями, прямо не связанными с «экологической нишей» обитания данного возбудителя (болезни сосудов, аутоиммунные заболевания, заболевания кожи и т.д.) [4]. Все это дает основание считать Hp значимой инфекцией для человеческого организма в целом.

В последние два десятилетия появились данные о том, что основной мишенью для гуморального иммунного ответа среди различных антигенов *Helicobacter pylori* является бактериальная уреазы [5, 6]. В связи с этим, данный фермент стали использовать в качестве основного антигена-мишени для создания человеческой вакцины против инфекции Hp [7, 8]. Установлено, что введение уреазы *per os* приводит в выработку специфического гуморального и клеточного иммунного ответа с последующей защитой организма мышей [9, 10] и обезьян [11] от геликобактерной инфекции. С другой стороны показано [12], что персистенция

positive likelihood ratio (LR+) - 12,00 and 48,00; negative likelihood ratio (LR-) - 0,17 and 0,04. Clinical efficacy of immunological urease test with IgG preparations (Se - 84%, Sp - 93%, TA - 90%) for laboratory diagnosis of *H. pylori* in humans was proved. Immunological urease test by number of parameters (Sp, P, TA, -PV, LR+) is comparable ($p < 0,05$) with rapid urease test of mucous biopsy for detection of Hp in gastric and duodenal mucosa.

Key words

H. pylori, a stomach, a duodenum, urease activity, and IgG.

Helicobacter pylori в желудке приводит к появлению в крови фракции поликлональных IgG антител к *H. pylori* обладающей способностью ускорять распад мочевины. Это открывает новые перспективы в разработке иммунологического уреазного теста для неинвазивной диагностики данной инфекции. Оценка клинической эффективности иммунологического уреазного теста с использованием препаратов поликлональных IgG, обладающих уреазной активностью, для диагностики инфекции Hp в организме человека не проводилась.

Материал и методы

Проведено рандомизированное, слепое, диагностическое исследование. Диагностика инфекции Hp в желудке и двенадцатиперстной кишке проведена у 70 пациентов с наличием боли или дискомфорта в эпигастральной области по срединной линии на момент осмотра или в анамнезе. Отбор осуществлялся рандомизированным методом случайных чисел (равномерное распределение) [13] из 5218 пациентов проходивших стационарное или амбулаторное обследование в Витебской областной клинической больнице (стационарное обследование), клинике Витебского государственного медицинского университета (стационарное и амбулаторное обследование), центральной районной поликлинике Витебского района (амбулаторное обследование). Критерии включения пациентов в группу: наличие жалоб на боли или дискомфорт в верхней части живота ближе к срединной линии на момент осмотра или в анамнезе, гистологическое исследование слизистой оболочки желудка (5 гастробиоптатов) и двенадцатиперстной кишки (3 дуоденобиопта-

та) с использованием Хьюстонской модификации Сиднейской классификации хронического гастрита. Закончили исследование 68 пациентов. Два человека (2,8%) были исключены из общей группы по критериям исключения (отсутствие данных гистологического исследования слизистой оболочки желудка и ДПК с оценкой по критериям и градациям Хьюстонской модификации Сиднейской классификации хронического гастрита). Средний возраст пациентов составил $42,8 \pm 12,3$ года (минимальный возраст 18, максимальный - 63 года), соотношение мужчин и женщин 39/29.

Всем пациентам (n=68) при эндоскопическом исследовании проведена биопсия слизистой из 8 участков антрального отдела, тела желудка и луковицы ДПК. Полученные биоптаты использовались для проведения гистологического исследования и быстрого уреазного теста. Эндоскопическая оценка слизистой оболочки гастродуоденальной зоны проводилась визуально в соответствии с эндоскопическим разделом Хьюстонской модификации Сиднейской классификации хронического гастрита (отек, гиперемия, ранимость слизистой оболочки, экссудат, плоские эрозии, приподнятые эрозии, гиперплазия складок, атрофия складок, видимость сосудистого рисунка, подслизистые кровоизлияния) [14]. Оценка морфологических изменений слизистой оболочки желудка и ДПК проведена по визуально-аналоговой шкале с использованием морфологических критериев и градаций Хьюстонской модификации Сиднейской классификации хронического гастрита (активность, воспаление, атрофия, кишечная метаплазия, *H. pylori*) [15]. Участки желудочной метаплазии ДПК выявлялись окраской ШИК - альциановым синим при морфологическом исследовании. Площадь распространения желудочной метаплазии (ЖМ) слизистой оболочки ДПК определена по классификации Chang C. et al. [16] (I степень - в поле зрения ЖМ занимает до 5% площади дуоденальной слизистой оболочки, II степень - 5-25%, III степень - 26-50% и IV степень - более 50%). Диагностика *H. pylori* осуществлялась морфологическим методом (окраска методом Гимзы с использованием стандартной визуально-аналоговой шкалы) и с помощью стандартного набора быстрого уреазного теста Jatrox-H.p.-Test (Rohm Pharma, Германия).

Для получения IgG, которые использовались в иммунологическом уреазном тесте, у всех пациентов проводился забор крови утром натощак из локтевой вены на следующий день пос-

ле поступления больного в стационар. Все иммуноглобулины выделялись из сывороток в день забора крови. Полученные образцы хранились в жидком азоте. Выделение препаратов IgG (подклассы IgG₁, IgG₂, IgG₄) из сыворотки крови осуществлялось комбинированным методом (риванолсульфатноаффинно-хроматографический метод [17] в комбинации с ионообменной хроматографией на DEAE-молселекте А-50). Степень очистки IgG определялась с помощью электрофореза в диссоциирующих условиях с последующей окраской Coomassie blue R-250 и нитратом серебра [18]. На основании полученных данных был сделан вывод о том, что исследуемая фракция ИГ была гомогенной и принадлежала к IgG.

Уреазную активность фракции IgG сыворотки крови определяли по методу Конорева М.Р. и соавт. [12]. Смешивали 0,1 мл IgG (1,5 мг/мл) и 0,1 мл субстрата (20 г/л мочевины и 2 г/л NaN₃ в 0,1 мл ФБР 0,1М, рН 8,2). Инкубировали при 37°C до появления достоверных различий между опытными и контрольными пробами (120 часов). Результат оценивали по степени распада мочевины (ммоль/л) с помощью набора реагентов BUN Reagent, ЕСО-MED-POLL (Австрия) и спектрофотометра «Spectrum II» ($\lambda=340$ нм, Abbott, США). Перевод в международные единицы активности (Катал) осуществляли по формуле $Y=4,6X$ пикоКатал (пКат), где X - количество распавшейся мочевины (ммоль/л). Контроль стерильности препаратов иммуноглобулинов с ферментативной активностью при инкубации при 37°C в течение 120 и 168 часов роста бактерий не выявил.

Морфологическое исследование проводилось в патологоанатомическом бюро Витебской областной клинической больницы. Эндоскопическое исследование желудка и ДПК, с забором материала для исследования (биопсия слизистой оболочки желудка и ДПК) и определением уреазной активности в гастробиоптате проводилось в эндоскопическом отделении ВОКБ и клиники ВГМУ. Биохимический анализ, с определением уреазной активности в биоптате слизистой оболочке ДПК и уреазной активности препаратов IgG, проводился на кафедре микробиологии Витебского государственного медицинского университета. Все специалисты, проводившие оценку результатов различных методов диагностики, не знали результатов других анализов и тестов у одних и тех же пациентов.

Исследование проводилось с учетом рекомендаций по проведению статистического анализа, основанных на принципах доказательной

медицины [19, 20, 21, 22, 23]. Оценку эффективности иммунологического уреазного теста с препаратами поликлональных IgG для диагностики *H. pylori* в организме человека проводили у одних и тех же больных (n=68) по методу Griner P.F. et al. [24] с заполнением всех четырех полей (a,b,c,d) таблицы латинского квадрата (таблица 1 [20, с.50, таблица 2]) [22]. В качестве метода сравнения использовали обнаружение *H. pylori* морфологическим методом в слизистой оболочке желудка и ДПК.

При оценке эффективности иммунологического уреазного теста для диагностики *H. pylori* в желудке и ДПК учитывались следующие показатели: чувствительность (sensitivity; $Se=a/a+c$), специфичность (specificity; $Sp=d/b+d$), распространенность (prevalence; $P=a+c/a+b+c+d$), точность теста (test accuracy; $TA=a+d/a+b+c+d$), прогностическая ценность отрицательного результата теста (negative predictive value; $-PV=d/c+d$), прогностическая ценность положительного результата теста (positive predictive value; $+PV=a/a+b$), отношение правдоподобия положительного результата теста (positive likelihood ratio; $LR+=a/a+c / b/b+d$), отношение правдоподобия отрицательного результата теста (negative likelihood ratio; $LR-=c/a+c / d/b+d$), где, a - истинно положительные, b - ложноположительные, c - ложноотрицательные, d - истинно отрицательные результаты теста.

Обработка данных проводилась на персональном компьютере с использованием пакета прикладных программ Statistica 6.0. При получении результатов подчиняющихся нормальному распределению, использовался t-тест. Для распределений, не являющихся нормальными, применялись непараметрические методы статистического анализа (метод ранговых корреляций Спирмана). Возраст пациентов и длительность заболевания (в годах) были представ-

лены как среднее \pm стандартное отклонение (SD). Р уровни $<0,05$ считались достоверными. Для оценки размера выборки и различий между группами использованы тесты расхождения между двумя размерами (Difference tests) [25]. Также был проведен корреляционный анализ изучаемых признаков (*H.pylori*, быстрый уреазный тест, иммунологический уреазный тест).

Результаты и их обсуждение

В общей группе обследованных (n=68), лиц с неизменной слизистой оболочкой желудка и ДПК оказалось 19 (27,9%) человек, пациентов с хроническим гастродуоденитом – 20 (29,4%), с неосложненным течением язвы желудка и ДПК – 20 (29,4%), с осложненным течением язвы желудка и ДПК – 9 (13,3%) человек. Общая группа пациентов была однородна по полу, возрасту, спектру гастродуоденальной патологии и длительности заболевания (Табл. 2).

Проведена оценка уреазной активности препаратов IgG у 19 пациентов с не измененной слизистой оболочкой желудка и двенадцатиперстной кишки и отсутствием инфекции *Hp* по данным морфологического метода и быстрого уреазного теста с гастро- и дуоденобиоптатом. Так как распределение показателей уреазной активности IgG в данной группе пациентов не являлось нормальными, были применены непараметрические методы статистического анализа (порядковая описательная статистика).

Среднее значение показателей уреазной активности препаратов IgG в этой группе пациентов оказалось равным 0,03 (диапазон 0,001 - 0,067) пКат. В связи с отсутствием достоверных различий между опытными и контрольными пробами ($p>0,05$) был сделан вывод о том, что группа *Hp*-негативных пациентов без морфологических изменений слизистой

Таблица 1

Стандартная таблица для определения операционных характеристик диагностического теста [16, с.50, таблица 2]

Результат теста	Бактерия		Всего
	имеется	отсутствует	
Положительный	a	b	a + b
Отрицательный	c	d	c + d
Всего	a + c	b + d	a + b + c + d

Примечание - a – истинно положительные результаты теста (ИП); b – ложноположительные результаты теста (ЛП); c – ложноотрицательные результаты теста (ЛО); d - истинно отрицательные результаты теста (ИО).

оболочки гастродуоденальной зоны не имела уреазной активности препаратов IgG. Верхняя граница отрицательных результатов иммунологического уреазного теста оказалась равной $0,067$ пКат ($M \pm (t \times m)$ или $0,032 + (2,9 \times 0,012) = 0,067$; диапазон $0,001 - 0,067$ пКат). Выше этого значения иммунологический уреазный тест считался положительным.

В исследуемой группе пациентов ($n=68$) *H. pylori* в желудке и/или ДПК обнаружен морфологическим методом у 25 (36,8%) человек, бы-

стрый уреазный тест оказался положительным в желудке (гастробиоптат) и/или ДПК (дуоденобиоптат) у 25 (36,8%) человек, уреазная активность препаратов поликлональных IgG была выявлена у 24 (35,3%) человек (таблица 3). У больных с неосложненным течением язвы желудка и ДПК отмечалось совпадение частоты выявления *H. pylori* биохимическим и морфологическим методом с наличием уреазной активности поликлональных IgG у одних и тех же пациентов.

Таблица 2

Характеристика группы обследованных лиц для оценки эффективности иммунологического уреазного теста по полу, возрасту, гастродуоденальной патологии и длительности заболевания ($n=68$)

Диагноз	Всего n (%)	Пол		Возраст (годы)	Длительность заболевания (годы)
		муж	жен		
Неизменная слизистая оболочка желудка и ДПК	19 (27,9)	10	9	$43,6 \pm 15,6$	-
Хронический гастродуоденит	20 (29,4)	12	8	$41,2 \pm 11,5$	$6,3 \pm 4,3$
Язва желудка и ДПК (неосложненная)	20 (29,4)	11	9	$42,9 \pm 10,4$	$8,5 \pm 3,8$
Язва желудка и ДПК (осложненная кровотечением, пенетрацией, перфорацией)	9 (13,3)	6	3	$44,0 \pm 13,0$	$6,3 \pm 4,0$
Всего	68 (100)	39	29	$42,8 \pm 12,3$	$6,0 \pm 4,8$

Таблица 3

Частота выявления *H. pylori* биохимическим, морфологическим методом и наличие уреазной активности поликлональных IgG в исследуемой группе пациентов ($n=68$)

Диагноз обследованных лиц	Всего	Уреазная активность препаратов поликлональных IgG n(%)	Уреазный тест с биоптатом СО желудка и ДПК n(%)	<i>H. pylori</i> в биоптате СО желудка и ДПК n(%)
Норма	19	-	-	-
Хр. гастродуоденит	20	6 (30)	10 (50)	10 (50)
Язва желудка и ДПК (неосложненная)	20	13 (65)	13 (65)	13 (65)
Язва желудка и ДПК (осложненная кровотечением, пенетрацией, перфорацией)	9	5 (55,5)	2 (22,2)	2 (22,2)
Всего	68	24 (35,3)	25 (36,8)	25 (36,8)

Примечание - СО – слизистая оболочка

Средние значения уреазной активности препаратов IgG у больных с различной гастродуоденальной патологией представлены в таблице 4. Как видно из представленной таблицы 4, не было выявлено достоверных различий ($p > 0,05$) между средними значениями уреазной активности препаратов IgG у больных с различной гастродуоденальной патологией. Среднее значение уреазной активности препаратов IgG у обследованных больных ($n=49$) оказалось равным 2,12 пКат (диапазон 0,001-4,22).

В исследуемой группе пациентов ($n=68$) иммунологический уреазный тест с использованием препаратов IgG оказался положительным у 24 (35,3%) человек. При определении уреазной активности препаратов поликлональных IgG (в качестве метода сравнения использован морфологический метод диагностики *H.pylori* с использованием гастро- и дуоденобиоптатов) ис-

тинно положительные (а) и ложноположительные (b) результаты иммунологического уреазного теста оказались соответственно в 21 и 3 случаях, истинно отрицательные (d) и ложноотрицательные (c) результаты теста – соответственно в 40 и 4 случаях (таблица 5).

В исследуемой группе пациентов ($n=68$) быстрый уреазный тест с биоптатами слизистой оболочки желудка и ДПК оказался положительным у 25 (36,8%) человек. В биоптатах слизистой оболочки желудка и ДПК (в качестве метода сравнения использован морфологический метод диагностики *H.pylori* с использованием гастро- и дуоденобиоптатов) истинно положительные (а) и ложноположительные (b) результаты уреазного теста оказались соответственно в 24 и 1 случаях, истинно отрицательные (d) и ложноотрицательные (c) результаты теста – соответственно в 42 и 1 случае (таблица 6).

Таблица 4

Средние значения уреазной активности препаратов IgG у больных с различной гастродуоденальной патологией

Диагноз обследованных лиц	n	Уреазная активность препаратов IgG (пКат)	Диапазон (пКат)
Хр. гастродуоденит	20	1,47	0,001-2,94
Язва желудка и ДПК (неосложненная)	20	2,71	0,001-5,40
Язва желудка и ДПК (осложненная кровотечением, пенетрацией, перфорацией)	9	1,24	0,001-2,48
Всего	49	2,12	0,001-4,22

Таблица 5

Определение операционных характеристик иммунологического уреазного теста для диагностики *H.pylori* в организме человека (субстрат – препараты поликлональных IgG; метод сравнения – морфологический; $n=68$)

Результат иммунологического уреазного теста	Бактерия (<i>H.pylori</i>)		Всего
	имеется	отсутствует	
Положительный	21	3	24
	a	b	a + b
Отрицательный	4	40	44
	c	d	c + d
Всего	25	43	68
	a + c	b + d	a + b + c + d

Примечание - a – истинно положительные результаты теста (ИП); b – ложноположительные результаты теста (ЛП); c – ложноотрицательные результаты теста (ЛО); d - истинно отрицательные результаты теста (ИО).

Результаты оценки эффективности иммунологического уреазного теста и быстрого уреазного теста для диагностики Нр в слизистой оболочке желудка (гастробиоптат) и ДПК (дуоденобиоптат) в группе обследованных лиц (n=68) приведены в таблице 7.

Как видно из представленной таблицы 7 претестовая вероятность наличия Нр в желудке и ДПК (P) равна 37%. Доля правильных результатов теста (ТА) - 90%. Вероятность положительного результата иммунологического уреаз-

ного теста при наличии Нр в слизистой оболочке желудка и ДПК (Se) - 84%. Вероятность наличия Нр в слизистой оболочке желудка и ДПК при положительном результате иммунологического уреазного теста с поликлональными IgG (+PV) - 88%. Отношение вероятности положительного результата иммунологического уреазного теста у Нр-положительных пациентов к вероятности положительного результата иммунологического уреазного теста у Нр-негативных пациентов (LR+) 12:1. Вероятность отри-

Таблица 6

Определение операционных характеристик быстрого уреазного теста для диагностики *H. pylori* в слизистой оболочке желудка и ДПК (субстрат – гастробиоптат и дуоденобиоптат; метод сравнения – морфологический; n=68)

Результат быстрого уреазного теста	Бактерия (<i>H.pylori</i>)		Всего
	имеется	отсутствует	
Положительный	24	1	25
	a	b	a + b
Отрицательный	1	42	43
	c	d	c + d
Всего	25	43	68
	a + c	b + d	a + b + c + d

Примечание - a – истинно положительные результаты теста (ИП); b – ложноположительные результаты теста (ЛП); c – ложноотрицательные результаты теста (ЛО); d - истинно отрицательные результаты теста (ИО).

Таблица 7

Сравнительная оценка эффективности иммунологического уреазного теста и быстрого уреазного теста для диагностики *H. pylori* в слизистой оболочке желудка и двенадцатиперстной кишки (метод сравнения – морфологический, n=68)

Оценка эффективности	Иммунологический уреазный тест (препараты поликлональных IgG)	Быстрый уреазный тест (биоптаты слизистой оболочки желудка и ДПК)
Чувствительность (Se)	0,84*	0,96
Специфичность (Sp)	0,93	0,98
Распространенность (P)	0,37	0,37
Точность теста (ТА)	0,90	0,97
Прогностическая ценность при отрицательном результате (-PV)	0,91	0,98
Прогностическая ценность при положительном результате (+PV)	0,88	0,96
Отношение правдоподобия положительного результата (LR+)	12,0*	48,0
Отношение правдоподобия отрицательного результата (LR-)	0,17*	0,04

Примечание - *достоверность различий с результатами оценки эффективности быстрого уреазного теста ($p < 0,05$).

цательного результата иммунологического уреазного теста при отсутствии Нр в слизистой оболочке желудка и ДПК (Sp) - 93%. Вероятность отсутствия Нр в слизистой оболочке желудка и ДПК при отрицательном результате иммунологического уреазного теста с поликлональными IgG (-PV) - 91%. Отношение вероятности отрицательного результата иммунологического уреазного теста у Нр-положительных пациентов к вероятности отрицательного результата иммунологического уреазного теста у Нр-негативных пациентов (LR-) 1:6 (0,17). Наличие показателя LR+ > 10 дает для диагностики инфекции Нр в слизистой оболочке желудка и ДПК почти окончательное решение. Наличие показателя LR- от 0,1 до 0,2 дает для диагностики инфекции Нр в организме человека умеренные основания для диагностического решения. Иммунологический уреазный тест по ряду показателей (чувствительность теста, отношение правдоподобия положительного и отрицательного результата теста) уступал ($p < 0,05$) быстрому уреазному тесту с гастро- и дуоденобиоптатом для диагностики Нр в гастродуоденальной слизистой оболочке. Тем не менее, следует отметить достаточно высокие показатели эффективности (специфичность, точность теста, прогностическая ценность при отрицательном и положительном результате теста) иммунологического уреазного теста для диагностики Нр в организме человека.

Так же нами был проведен корреляционный анализ изучаемых признаков. В связи с отсутствием нормального распределения в данной группе пациентов ($n=68$) при статистической обработке полученных результатов использовались непараметрические методы статистического анализа (метод ранговых корреляций Спирмана).

Иммунологический уреазный тест с использованием препаратов IgG

В исследуемой группе пациентов ($n=68$) установлена прямая сильная корреляционная зависимость между уровнем уреазной активности препаратов IgG и результатами уреазного теста с гастробиоптатом ($r=0,78$; $p < 0,05$), степенью обсемененности Нр слизистой оболочки тела и антрального отдела желудка ($r=0,76$; $p < 0,05$). Выявлена прямая корреляционная зависимость средней силы между уровнем уреазной активности препаратов IgG и результатами уреазного теста с дуоденобиоптатом, степенью обсемененности Нр метаплазированной слизистой оболочки двенадцатиперстной кишки ($r=0,47$; $p < 0,05$).

Выводы

1. Впервые установлена клиническая эффективность иммунологического уреазного теста с использованием препаратов поликлональных IgG (чувствительность теста - 84%, специфичность - 93%, точность - 90%) для диагностики *H.pylori* в организме человека.

2. Иммунологический уреазный тест по ряду показателей (чувствительность теста, отношение правдоподобия положительного и отрицательного результата теста) уступал ($p < 0,05$) быстрому уреазному тесту с гастро- и дуоденобиоптатом для диагностики Нр в гастродуоденальной слизистой оболочке.

3. Группа Нр-негативных пациентов без морфологических изменений слизистой оболочки гастродуоденальной зоны не имела уреазной активности препаратов IgG.

4. Не было выявлено достоверных различий ($p > 0,05$) между средними значениями уреазной активности препаратов IgG у больных с различной гастродуоденальной патологией. Среднее значение уреазной активности препаратов IgG у обследованных больных оказалось равным 2,12 пКат (диапазон 0,001-4,22; $n=49$).

Литература

1. Руководство по инфекционному контролю в стационаре. Пер. с англ./Под. Ред. Р. Венцеля, Т. Бревера, Ж-П. Бутцлера. Смоленск: МАКМАХ, 2003: 232-238.
2. Blaser M.J. The bacteria behind ulcers. J. Scientific American., 1996; 274(2): 92-97.
3. Blaser M.J. *Helicobacter pylori*: microbiology of a "slow" bacterial infection. Trends Microbiol., 1993; 1(7): 255-260.
4. Исаков В.А., Домарадский И.В. Хеликобактериоз. М.: ИД Медпрактика-М, 2003: 79-204.

5. Grabtree J.E. Immune and inflammatory responses to *Helicobacter pylori* infection. Scand. J. Gastroenterol., 1996; 215: 3-10.
6. Futagami S., Takahashi H., Norose Y., Kobayashi M. Systemic and local immune responses against *H.pylori* urease in patients with chronic gastritis. Gut, 1998; 43(2): 168-175.
7. Lee A. Prevention of *Helicobacter pylori* infection. Scand. J. Gastroenterol., 1996; 215 (Suppl): 11-15.
8. Lee A. Vaccination against *Helicobacter pylori*. J. Gastroenterol., 1996; 31(Suppl.9): 69-74.

9. Ermak T.H., Giannasca P.J., Nichols R., et al. Immunization of mice with urease vaccine affords protection against *Helicobacter pylori* infection in the absence of antibodies and is mediated by MHC class II-restricted responses. *J. Exp. Med.*, 1998; 188(12): 2277-2288.
10. Michetti P. Oral immunization against *Helicobacter pylori* - a future concept. *J. Gastroenterol.*, 1998; 33(Suppl.10): 66-68.
11. Dubois A., Lee C.K., Fiala N., et al. Immunization against natural *Helicobacter pylori* infection in nonhuman primates. *Infect. Immun.*, 1998; 66(9): 4340-4346.
12. Конорев М.Р., Окулич В.К., Генералов И.И., и др. Уреазная активность препаратов IgG антител у *Helicobacter pylori* – позитивных пациентов. *Имунопатология, аллергология, инфектология*, 2000; 1: 110-113.
13. Box G.E., Hunter W.G., Hunter J.S. *Statistics for Experimenters: An Introduction to Design, Data Analysis, and Model Building*. New York: John Wiley and Sons, 1978.
14. Tytgat G.N.T. The Sydney system: Endoscopic division. Endoscopic appearances in gastritis/duodenitis. *J. Gastroenterol. Hepatol.*, 1991; 6(3): 223-234.
15. Price A.B. The Sydney system: histological division. *J. Gastroenterol. Hepatol.*, 1991; 6(3): 209-222.
16. Chang C., Pan S., Lien Gi., et al. Investigation of the extent of gastric metaplasia in the duodenal bulb by using methylene blue staining. *J. Gastroenterol. Hepatol.*, 2001; 16(7): 729-739.
17. Пат. №3205 ВУ, 6G 01N 33/48. Способ очистки иммуноглобулинов класса G из сыворотки крови и устройство для его осуществления. М.Р. Конорев, И.И. Генералов, И.В. Жильцов, А.Г. Генералова. Заявл. 29.07.99.; опубл. 14.04.99.
18. Остерман Л.А. Методы исследования белков и нуклеиновых кислот. Электрофорез и ультрацентрифугирование (практическое пособие). М., 1981: 3-286.
19. Гланц С. Медико-биологическая статистика. М.: Практика, 1999: 3-512.
20. Ланг Т. Двадцать ошибок статистического анализа, которые вы сами можете обнаружить в биомедицинских статьях. *Новости анестезиологии и реаниматологии*, 2005; 3: 44-54.
21. Платонов А.Е. Статистический анализ в медицине и биологии: задачи, терминология, логика, компьютерные методы. М.: Издательство РАМН, 2000: 5-52.
22. Флетчер Р., Флетчер С., Вагнер Э. Клиническая эпидемиология. Основы доказательной медицины, пер. с англ. М.: Медиа Сфера, 1998: 3-352.
23. Lang T. Twenty Statistical Errors Even You Can Find in Biomedical Research Articles. *Croatian Medical Journal*, 2004; 45(4): 361-370.
24. Griner P.F., Mayewski R.J., Mushlin A.J., Greenland P. Selection and interpretation of diagnostic tests and procedures. *Ann. Intern. Med.*, 1981; 94(4Pt2): 553-600.
25. Betty R. *Essential medical statistics*. 2nd ed. Kirkwood and Jonathan A. C. Sterne: Blackwell Science Ltd., 2003: 414-425.