

Т.С. Угольник

## Сравнительный анализ выявления *Helicobacter pylori* в ротовой полости с помощью тест-зонда и полимеразной цепной реакции

Гомельский государственный медицинский университет

**В** настоящее время продолжается поиск неинвазивных методов диагностики *Helicobacter pylori* (Hр). Существует множество методов выявления Hр, применение которых диктуется различными целями: первичная диагностика Hр или контроль за эрадикацией геликобактерной инфекции после проведенного лечения [4]. Имеется большое количество тестов для ускоренной диагностики Hр [2, 4, 6]. В частности, для экспресс-диагностики Hр широко используются тест-методы, представляющие рутинные приемы биологического, химического и биохимического тестирования и индикации веществ и организмов с применением простейших средств и методов. Автоматизированные системы диаг-

ности Hр не пригодны для массового использования из-за дороговизны и трудоемкости. Большинство методов диагностики Hр базируется на однократном его выявлении, что не учитывает процессы взаимодействия микро- и макроорганизма.

Данные ряда исследований подтверждают присутствие Hр в различных отделах ротовой полости: на тканях щек, неба, языка, на дентальных бляшках, в слюне, субгингивальном налете, находящемся в пространстве десневой борозды, на корне зуба, на поверхности соединительного эпителия, в периодонтальных карманах [3, 5, 15].

Ротовая полость — первичное место контакта Hр с организмом человека, поэтому диагностика Hр в данной области представляет не

только научный, но и, безусловно, практический интерес. Основными путями передачи геликобактерной инфекции являются oro-оральный и фекально-оральный [15]. Учитывая широкий круг заболеваний, связанных с Hр-инфекцией, а также персистенцию данного микроорганизма в ротовой полости, первостепенное значение в проблеме Hр-ассоциированных заболеваний приобретают вопросы, связанные с диагностикой Hр в полости рта.

Доказано участие Hр в развитии геликобактерного гастрита, язвенной болезни желудка, дуоденальной язвы, МАIТомы и рака желудка [6, 15]. Активно обсуждается возможность опосредованного участия Hр в развитии ряда заболеваний сердечно-сосудистой, нервной, эн-

докринной и других систем [7—9].

Учитывая связь патологических процессов в периодонте с общесоматической патологией [1, 3, 14, 16—18], необходимо динамическое наблюдение за характером носительства *Hr* в ротовой полости с целью формирования групп риска по *Hr*-ассоциированной патологии периодонта и проведения индивидуальных профилактических мероприятий. Использование для этих целей высоких технологий не всегда целесообразно, так как они предназначены в большей мере для постановки диагноза и контроля за эрадикацией *Hr* после специфического лечения и не могут быть применены многократно в течение длительного времени.

Для экспресс-диагностики *Hr* в ротовой полости нами разработан тест-зонд (ТЗ), представляющий собой деревянное долотце с односторонней заточкой, состоящее из ручки длиной 50—100 мм и рабочей части шириной 2—5 мм, выполненной в виде плоской лопаточки. Рабочая часть ТЗ окрашена в желтый цвет за счет пропитки раствором мочевины и индикатора рН фенолового красного [11]. Если в исследуемом биологическом материале зубной налет, в содержимом зубодесневых карманов (ЗДК) присутствует *Hr*, то под действием фермента уреазы происходит гидролиз мочевины, повышается рН, что сопровождается изменением цвета рабочей части ТЗ с желтого на малиновый. Скорость изменения окраски рабочей части ТЗ и ее интенсивность свидетельствуют о степени инфицированности *Hr*.

Учитывая неоднозначные мнения о диагностических характеристиках уреазных тестов [4—6], мы провели определение уреазы *Hr* в содержимом ЗДК ротовой полости с помощью разработанного ТЗ и сравнение полученных данных с результатами идентификации *Hr* в ротовой полости методом полимеразной цепной реакции (ПЦР).

В качестве стандартного теста использовали выявление видоспецифичной ДНК *Hr* методом ПЦР с

определением фрагмента гена *ureC* на наборах Helicopol II (НПФ "Литех", Москва). Забор биологического материала производили стерильным остроконечным зондом из ЗДК коренных зубов верхней челюсти в стерильные пробирки. Визуализацию продуктов ПЦР осуществляли методом электрофореза в 1% агарозном геле в присутствии бромистого этидия на длине волны 310 нм. На наличие фрагмента ДНК *Hr* в анализируемой пробе указывало появление полосы, соответствующей по электрофоретической подвижности положительному контрольному образцу. Сопоставление результатов ТЗ с результатами ПЦР проведено у 55 обследованных (33% мужчин и 67% женщин). ПЦР диагностику выполняли одновременно с обследованием с помощью ТЗ.

При оценке эффективности ТЗ для диагностики *Hr* в содержимом ЗДК учитывали следующие характеристики тест-системы: чувствительность [sensitivity:  $Se = ИП / (ИП + ЛО)$ ], специфичность [specificity:  $Sp = ИО / (ИО + ЛП)$ ], распространенность (prevalence:  $P = ИП + ЛО / (ИП + ЛО + ИО + ЛП)$ ), точность теста [test accuracy:  $TA = ИП + ИО / (ИП + ЛО + ИО + ЛП)$ ], прогностическая ценность отрицательного результата теста [negative predictive value:  $-PV = ИО / (ЛО + ИО)$ ], прогностическая ценность положительного результата [positive predictive value:  $+PV = ИП / (ИП + ЛП)$ ], отношение правдоподобия положительно-

го результата теста [positive likelihood ratio:  $LR+ = ИП / (ИП + ЛО) / ЛП / (ЛП + ИО)$ ], отношение правдоподобия отрицательного результата теста [negative likelihood ratio:  $LR- = ЛО / (ИП + ЛО) / ИО / (ИО + ЛП)$ ], где ИП – число истинно положительных результатов ТЗ, ЛО – число ложноотрицательных результатов ТЗ, ИО – число истинно отрицательных результатов ТЗ, ЛП – число ложноположительных результатов ТЗ.

Статистическую обработку результатов исследования проводили на компьютере IBM PC с применением пакета статистических программ «Statistica-6.0» (StatSoft, США). Для оценки эффективности ТЗ для диагностики *Hr* в ротовой полости использовали таблицы сопряженности [12, 13].

Установлено наличие статистически значимой корреляционной взаимосвязи между результатами ПЦР с содержимым ЗДК ротовой полости и результатами, полученными с помощью ТЗ ( $P < 0,001$ ). У 18 из 55 обследованных *Hr* в содержимом ЗДК был обнаружен с помощью ПЦР, положительные результаты ТЗ зарегистрированы у 30 чел. По отношению к результатам ПЦР результаты ТЗ распределились следующим образом: ИП результаты выявлены в 17 случаях, ЛП результаты – в 13 случаях, ЛО и ИО результаты – соответственно в 1 и 24 случаях.

При сравнительной оценке результатов ПЦР и данных ТЗ выявлено, что у 14 обследованных полу-

#### Оценка эффективности ТЗ для диагностики *Hr* в содержимом ЗДК ротовой полости

Показатели	Результат
Чувствительность (Se)	0,94
Специфичность (Sp)	0,65
Распространенность (P)	0,33
Точность теста (TA)	0,75
Прогностическая ценность при отрицательном результате (-PV)	0,96
Прогностическая ценность при положительном результате (+PV)	0,57
Отношение правдоподобия положительного результата (LR+)	2,69
Отношение правдоподобия отрицательного результата (LR-)	0,09

ченые данные не совпадают. У 1 чел. результат ТЗ был отрицательным при положительном ПЦР-результате. Появление ложноотрицательных результатов при применении ТЗ связано с тем, что он регистрирует только активные формы Нр, продуцирующие фермент уреазу. С помощью ПЦР регистрируются также кокковые формы Нр и погибшие бактерии. Также известно, что при проведении ПЦР-анализа возможно появление ложноотрицательных результатов за счет наличия ингибиторов реакции в исследуемом биологическом материале [10]. У 13 чел., у которых наличие Нр в содержимом ЗДК не было выявлено с помощью молекулярно-генетического метода, результат ТЗ был оценен как ложноположительный. Ложноположительные результаты могут быть связаны с наличием других уреазопродукторов в ротовой полости.

Полное совпадение результатов ПЦР и ТЗ наблюдалось у 41 из 55 обследованных. Результаты оценки эффективности ТЗ для диагностики Нр в содержимом ЗДК ротовой полости представлены в таблице.

Полученные результаты оценки эффективности разработанного нами ТЗ для диагностики уреазы Нр в ротовой полости свидетельствуют о его достаточно высокой чувствительности – 94%, т.е. практически все истинно положительные результаты регистрируются. Специфичность ТЗ составила 65%, однако ТЗ рекомендуется для скрининговой диагностики Нр в ротовой полости, для которой такая специфичность вполне адекватна. Диагностическая эффективность тест-системы составила 75%,

что достаточно для непрямого метода диагностики Нр-инфекции, особенно в ротовой полости. Прогностическая ценность при отрицательном (96%) и положительном (57%) результатах разработанного ТЗ, в отличие от чувствительности и специфичности, свидетельствует о реальной распространенности Нр-инфекции.

Учитывая, что в норме в ротовой полости, по данным разных авторов, выявляется от 300 до 500 морфологически и биохимически различных групп или видов бактерий [1, 18], полученные характеристики разработанного ТЗ для диагностики Нр в ротовой полости свидетельствуют о достаточной эффективности предлагаемого метода в соответствии с его назначением.

Таким образом, диагностические характеристики разработанного ТЗ достаточно высоки для неинвазивных методов первичной диагностики Нр, особенно в ротовой полости. Несомненным преимуществом ТЗ является возможность использования его для самоанализа. Существующие методы скрининговой диагностики Нр-инфекции по сравнению с ТЗ более дороги, сложны в исполнении, требуют, как правило, дорогостоящих реактивов, привлечения квалифицированного медицинского персонала к проведению исследования и интерпретации результатов. ТЗ можно использовать для определения типа носительства Нр в ротовой полости в динамике.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Артюшкевич А.С., Трофимова Е.К., Латышева С.В. Клиническая периодонтология: Практик. пособие / Под ред. А.С. Артюшкевича. – Мн.: Ураджай, 2002.

2. Белая Ю.А., Вахрамеева М.С., Петрухин В.Г., Белая О.Ф. // Клин. лабор. диагностика. – 2004. – N 9. – С. 30–31.

3. Вахрушев Я.М., Моисеева М.В., Ефремова Л.И., Белова Е.В. // Эксперим. и клин. гастроэнтерология. – 2004. – N 3. – С. 28–30.

4. Кишкун А.А. // Клин. лабор. диагностика. – 2002. – N 8. – С. 41–45.

5. Коваленко Т.В., Канорев М.Р. // Гастроэнтерология 2004: Сборник рецензируемых статей и тезисов к республиканскому семинару «Достижения гастроэнтерологии – в практику», 25–26 февр. 2004 г. – Мн.: ООО «ДокторДизайн», 2004. – С. 71–74.

6. Кажанова М.Г. // Клин. лабор. диагностика. – 1999. – N 11. – С. 52–55.

7. Кратнов А.Е., Павлов О.Н. // Эксперим. и клин. гастроэнтерология. – 2004. – N 5. – С. 4–9.

8. Лазебник Л.Б., Царегородцева Т.М., Парфенов А.И. // Терапевт. архив. – 2004. – N 12. – С. 5–8.

9. Леус Л.И. // Здравоохранение. – 2002. – N 2. – С. 26–29.

10. Мавзютов А.Р., Бондаренко В.М., Латкин А.Т. // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунологии. – 2003. – N 3. – С. 93–98.

11. Пат. U BY МПК А 61 С 3/00. Тест-зонд для диагностики *Helicobacter pylori* в ротовой полости / Угольник Т.С., Острейко Н.Н., Примаченко А.В. – N 731; Заявл. 22.04.2002; Оpubл. 30.12.2002 // Афицыйны бюлетэнь / Дзярж. пат. ведаства Рэсп. Беларусь. – 2002. – N 4. – С. 184.

12. Платонов А.Е. Статистический анализ в медицине и биологии: задачи, терминология, логика, компьютерные методы. – М.: Изд-во РАМН, 2000.

13. Реброва О.Ю. Статистический анализ медицинских данных. Применение пакета прикладных программ STATISTICA. – М.: МедиаСфера, 2003.

14. Современные аспекты клинической пародонтологии / Под ред. Л.А. Дмитриевой. – М.: МЕДпресс, 2001.

15. Шкитин А.В., Шпирна А.И., Старовойтов Г.Н. // Клин. микробиология и антимикробная терапия. – 2002. – Т. 4, N 2. – С. 128–145.

16. Beck J., Garcia R., Heiss G. et al. // J. Periodontology. – 1996. – V. 67, N 10. – P. 1123–1137.

17. Genco R.J. // J. Periodontology. – 1996. – V. 67, N 10. – P. 1041–1049.

18. Kimmel K. // Новое в стоматологии. – 2003. – N 7. – С. 74–75.

19. Straka M. // Новое в стоматологии. – 2003. – N 7. – С. 15–18.

20. Trevisani L., Sartori S., Ruina M. et al. // Gastroenterology, Hepatology update. Abstract from the latest Publications. – 2000. – N 2. – P. 1.