

## ГАСТРОЭНТЕРОЛОГИЯ

### СОПОСТАВЛЕНИЕ ДИАГНОСТИЧЕСКИХ ХАРАКТЕРИСТИК ИНДИКАТОРНОЙ БУМАГИ И СЕЛЕКТИВНОГО УРЕАЗНОГО ТЕСТА ДЛЯ КАЧЕСТВЕННОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ *HELICOBACTER PYLORI*

**Старостин Борис Давидович**  
заведующий гастроэнтерологическим отделением (МГЭЦ № 1), СПб ГБУЗ «Городская поликлиника № 38»,  
РФ, г. Санкт-Петербург  
E-mail: [borstar56@yandex.ru](mailto:borstar56@yandex.ru)

### COMPARISON OF DIAGNOSTIC CHARACTERISTICS OF INDICATOR PAPER AND SELECTIVE UREASE TEST FOR THE QUALITATIVE DETERMINATION OF *HELICOBACTER PYLORI*

**Boris Starostin**  
Head of the Gastroenterological Department, City Polyclinic No. 38,  
Russian Federation, Saint Petersburg

#### АННОТАЦИЯ

Статья посвящена проблеме диагностики инфекции *Helicobacter pylori*. До появления уреазных тестов в России в рутинной практике использовалась индикаторная бумага для выявления микроорганизмов. Мировой опыт показывает, что селективные уреазные тесты с разделением слоев обладают более высокой специфичностью. В работе сравнивается диагностическая эффективность селективного уреазного теста AMA RUT Pro и «Индикаторной бумаги для выявления микроорганизмов «Геликобактер тест»». В ходе исследования было выявлено, что чувствительность и специфичность селективного уреазного теста составили 95,5% и 97,6% соответственно, в то время как специфичность индикаторной бумаги для выявления микроорганизмов «Геликобактер тест» составила 10,6%.

#### ABSTRACT

The article focuses on the problem of *Helicobacter pylori* detection. Before the urease tests became available, the indicator paper for the detection of microorganisms was routinely used in Russia. International practices acclaim selective urease tests as having higher specificity thanks to the separation of the enzymatic and indicator reactions in the layers of the test. The aim of the study was to compare the diagnostic efficiency of the selective urease test AMA RUT Pro against the indicator paper for the detection of microorganisms «Gelicobacter test». The research data shows the sensitivity and specificity of the selective urease test to be 95,5% and 97,6% respectively, while the specificity of the indicator paper for detecting microorganisms «Gelicobacter test» was 10,6%.

**Ключевые слова:** *Helicobacter pylori*, селективный уреазный тест, индикаторная бумага для выявления микроорганизмов, диагностика *Helicobacter pylori*.

**Keywords:** *Helicobacter pylori*, selective urease test, indicator paper for the detection of microorganisms, *Helicobacter pylori* detection.

#### Введение

*Helicobacter pylori* играет решающую роль в возникновении и рецидивировании язвенной болезни с локализацией дефекта в двенадцатиперстной кишке или желудке, а также в возникновении *H. pylori*-индуцированного гастрита, МАЛТ-лимфомы желудка. Эрадикация *H. pylori* приводит к существенному снижению уровня рецидивирования язвенной болезни, улучшению состояния слизистой при хроническом гастрите, прерывая цепь событий в канцерогенезе желудка, способствует гистологической ремиссии на ранних стадиях МАЛТ-лимфомы желудка. Доказана

роль *H. pylori* при необъяснимой железодефицитной анемии и тромбоцитопенической пурпуре.

Согласно положениям консенсуса Маастрихт V (Флоренция, 2015 г.), посвященным вопросам диагностики и лечения инфекции *H. pylori*, пациентам, которым показана фиброгастроудоденоскопия (ФГДС), рекомендуется дополнять исследование быстрым уреазным тестом для определения наличия инфекции *H. pylori* [15]. При этом отмечается, что важна именно точность положительного результата, так как именно в этом случае должно быть лечение назначено, а отрицательный результат должен быть

подтвержден другими методами. Давая эти рекомендации, авторы говорят о высоких показателях чувствительности и специфичности, ссылаясь на работы, посвященные гелевым тестам, в том числе самому известному – CLO-test [18, 10, 21]. Специфичность определения в гелевых тестах обеспечивается использованием консервантов и буферов [9], которые, повышая точность определения, замедляют реакцию. Однако при хороших диагностических показателях этот тест характеризуется долгим временем срабатывания – до 24 часов, что ограничивает его использование в качестве экспресс-теста. На смену медленным гелевым тестам на мировом рынке появились более быстрые сухие селективные тесты [22, 17]. В таких тестах высокая специфичность обеспечивается механическим разделением слоев с карбамидом и индикатором [20, 24, 19]. Это разделение необходимо для защиты от нецелевых срабатываний и обеспечения достоверности положительного результата.

Переход от гелевой формы к сухой позволил уменьшить время проведения быстрого уреазного теста при одновременном повышении диагностической специфичности и сохранении высокой чувствительности определения инфекции. В исследовании [12] сравнили диагностические характеристики четырех тестов: гелевых CLO-test (США) и HelicotecUT (Тайвань) с селективными HelicotecUTPlus (Тайвань) и ProntoDry (Франция), показатели диагностической эффективности составили: чувствительность (97,0%; 95,5% и 98,5%; 97,0%), специфичность (94,0%; 94,7% и 92,5%; 91,7%). В другом исследовании при сравнении селективного ProntoDry и гелевого CLO-test селективный тест имел преимущество по чувствительности: 93% против 86,2% у CLO-test [22].

В России селективные уреазные тесты долгое время не были доступны, а в рутинной практике использовалась индикаторная бумага [1]. Несмотря на распространенность, некоторые исследователи были обеспокоены низкой специфичностью данного метода. Одним из таких средств диагностики является «Геликобактер тест», который представляет собой гигроскопичный носитель, содержащий субстрат (мочевину) и один из кислотно-основных индикаторов [7]. С появлением AMA RUT Pro стало возможно применить мировой опыт быстрого определения бактерии *H. pylori* без потери специфичности. Учитывая вышеописанное, целесообразным было определить диагностическую эффективность данных тестов на практике в лечебно-профилактическом учреждении.

**Цель исследования:** сравнить диагностическую эффективность селективного уреазного экспресс-теста AMA RUT Pro с используемой рутинной индикаторной бумагой для выявления микроорганизмов «Геликобактер тест», используя в качестве референсного метода гистологическое исследование биологических образцов (биоптатов) слизистой оболочки желудка.

#### **Материалы и методы**

Исследование проводилось в гастроэнтерологическом отделении Санкт-Петербургского бюджет-

ного учреждения здравоохранения (СПб ГБУЗ) «Городская поликлиника № 38». Все пациенты подписывали информированное согласие до начала исследования в соответствии с Good Clinical Practice (GCP).

Критериями включения в исследование были: возраст старше 18 лет, мужчина или женщина с диспептическими жалобами (неисследованная диспепсия) или с ранее установленным диагнозом «хронический гастрит», язвенная болезнь с локализацией дефекта в луковице двенадцатиперстной кишки или желудке, гастроэзофагеальная рефлюксная болезнь, функциональная диспепсия (эпигастральный болевой синдром или постпрандиальный дистресс-синдром), согласие пройти все исследования, в том числе эндоскопию верхних отделов желудочно-кишечного тракта.

Критериями исключения были: прием ингибиторов протонной помпы, антибактериальных препаратов, висмут-содержащих препаратов в течение 4 недель до тестирования на *H. pylori*; отказ от выполнения любой из процедур исследования.

Для определения диагностической эффективности рассматриваемых методов определения уреазной активности пациентам, включенным в исследование, проводили процедуру с забором двух биоптатов антрального отдела и двух биоптатов из тела желудка, далее проводили определение уреазной активности индикаторной бумагой и селективным тестом, после чего биологический материал помещали в пробирки, кодированные специальной маркировкой XXXYZ, где XXX – номер пациента, Y – обозначение отдела, откуда был взят биоптат, каждая пробирка содержала 10%-ный формалин. Препараты подвергали окраске с гематоксилином и эозином с оценкой наличия *Helicobacter pylori* квалифицированным патоморфологом.

#### Определение уреазной активности с помощью индикаторной бумаги «Геликобактер тест»

Для определения уреазной активности в биологических образцах (биоптатах) использовалась индикаторная бумага для выявления микроорганизмов «Геликобактер тест» (ООО «Инновационный исследовательский институт», Россия). Анализ в соответствии с инструкцией [2] проводил врач-эндоскопист: биоптат из щипцов помещали на поверхность индикаторного диска, запускали таймер, отсчитывающий 4 минуты. Оценка результатов исследования: отсутствие изменений цвета в течение 4 минут – результат отрицательный, изменение цвета на синий в течение 4 минут – результат положительный.

В качестве положительного результата фиксировались все синие окрашивания вне зависимости от того, в какой временной интервал от 0 до 4 минут появилось изменение цвета.

#### Определение уреазной активности *Helicobacter pylori* экспресс-тестом AMA RUT

Для качественного определения уреазной активности *Helicobacter pylori* экспресс-тестом AMA RUT было использовано исполнение AMA RUT Pro (ООО «Ассоциация медицины и аналитики», Россия). Анализ проводился в соответствии с инструкцией: биоптат был помещен на чувствительный элемент, затем

тест надлежащим образом был закрыт, после чего по истечении 5 минут была проведена оценка изменения цвета экспресс-теста. Появление красного или малинового пятна на индикаторной стороне чувствительного элемента свидетельствовало о наличии уреазной активности биоптата.

#### *Оценка диагностической эффективности*

Показатели диагностической эффективности были получены с использованием Open Source Epidemiologic Statistics for Public Health v 3.1, модуль: Diagnostic or Screening Test Evaluation [11]. Статус, определенный по результатам индикаторной бумаги «Геликобактер тест», сопоставляли со статусом, определенным по результатам селективного уреазного теста AMA RUT Pro; при расхождении результатов статус определяли по гистологическому исследованию. Он считался положительным, если было подтверждено присутствие в микробиологическом препарате бациллярных форм более 10%, отрицательной – при полном отсутствии микроорганизмов. Результаты с кокковыми формами более 90% исключались из исследования. Это связано с тем, что при преобладании кокковых форм уреазная активность может быть существенно снижена или отсутствовать [23].

#### *Результаты и обсуждение*

В исследовании принял участие 101 пациент в возрасте от 18 до 88 лет, из них 54 женщины и 47 мужчины. Средний возраст пациентов составил  $53,1 \pm 12,7$  года. По результатам исследования у паци-

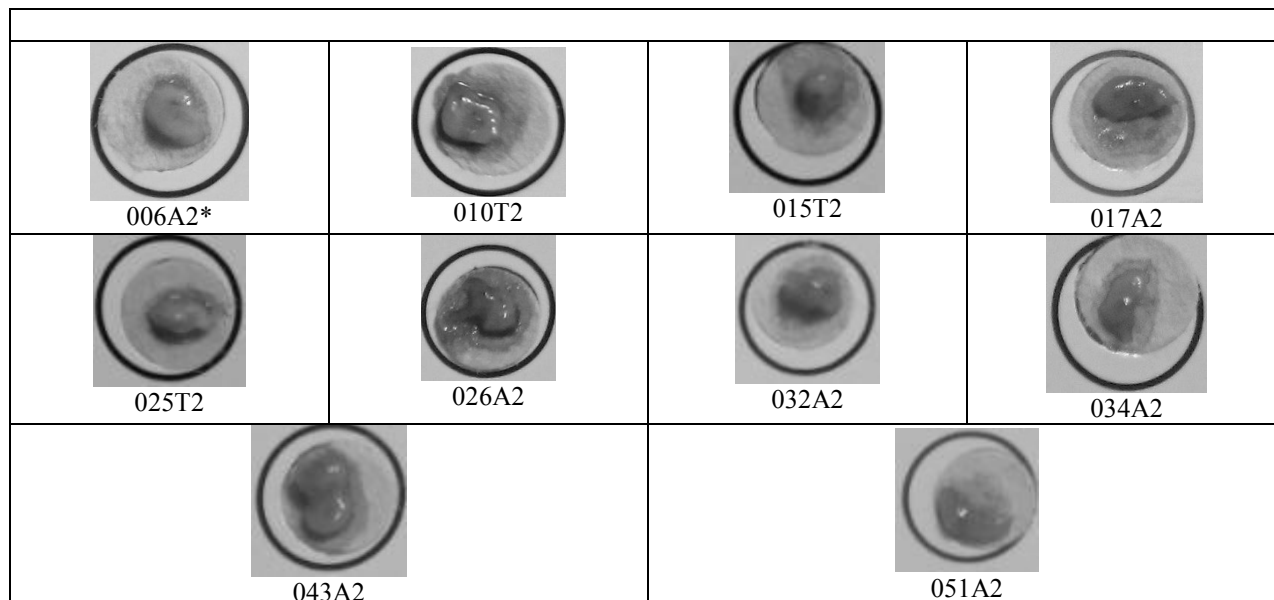
ентов были выявлены следующие заболевания: хронический гастрит – 47 человек, язвенная болезнь двенадцатиперстной кишки – 6 человек, язвенная болезнь желудка – 2 человека, функциональная диспепсия – 31 человек, гастроэзофагеальная рефлюксная болезнь – 15 человек.

Показатели диагностической эффективности AMA RUT Pro составили: чувствительность – 95,5% и специфичность – 97,6%. По данным гистологического исследования и AMA RUT Pro, распространенность инфекции составила 47,5%, близость к статистическим данным для г. Санкт-Петербурга говорит о корректности полученных данных [6]. Расчет чувствительности индикаторной бумаги «Геликобактер тест» сложен, так как наблюдалось большое количество положительных результатов: только 5 случаев из 101 были отрицательными, распространенность *Helicobacter pylori* в этом случае составила бы 95%, что значительно превышает уровень инфицированности в 50% *H. pylori*, зафиксированный в г. Санкт-Петербурге в 2016 г. При этом специфичность определения составила 10,6%.

Избыточное количество положительных результатов индикаторной бумаги могло бы быть объяснено некорректной оценкой результата, однако по фотографиям, представленным в табл. 1 и табл. 2, видно, что изменения цвета индикаторной бумаги при отрицательной гистологии внешне не отличались от срабатываний на фоне гистологически подтвержденного присутствия бактерии в биоптате.

**Таблица 1.**

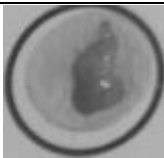
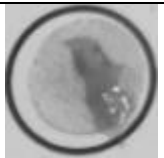
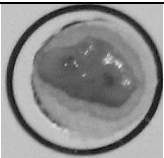
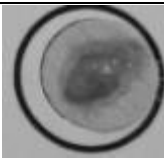
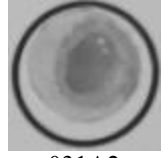
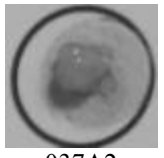
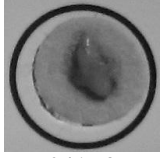
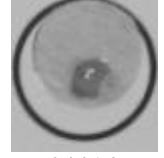
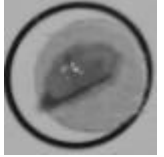
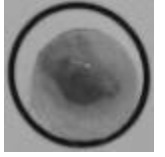
**Пример окрашиваний индикаторной бумаги: последующее гистологическое исследование подтвердило отсутствие *Helicobacter pylori* в биоптатах**



\* – код биоптата для передачи на гистологическое исследование.

Таблица 2.

Пример окрашиваний индикаторной бумаги: последующее гистологическое исследование подтвердило наличие бациллярных форм *Helicobacter pylori* в биоптатах

 003A2*	 004A2	 016A2	 030T2
 031A2	 037A2	 041T2	 044A2
 048A2		 052A2	

\* – код биоптата для передачи на гистологическое исследование.

Известно, что срабатывание уреазного теста без уреазы *H. pylori* может происходить, если в биоптате присутствуют другие продуцирующие уреазу организмы, такие как *Proteus mirabilis*, *Citrobacter freundii*, *Klebsiella pneumoniae* и другие, если указанные микроорганизмы присутствуют в достаточном количестве или если один из них контактирует с образцом и средой в течение длительного периода, обычно более 24 часов [4]. Индикаторная бумага «Геликобактер тест», согласно инструкции производителя, предназначена для определения уреазной активности микроорганизмов в общем, без акцента на специфичное определение *Helicobacter pylori*, поэтому можно допустить ее срабатывание на уреазу флоры, отличной от целевой. По утверждению производителя, «Индикаторная бумага для выявления микроорганизмов “Геликобактер тест”» предназначена для быстрого определения уреазной активности пробы (*in vitro*). Может применяться в микробиологических, экологических, ветеринарных, научных и прочих исследованиях, определение *Helicobacter pylori* – частный случай возможного использования этого изделия. В то время как в инструкции к AMA RUT Pro указано, что селективный уреазный тест предназначен для определения уреазной активности именно бактерии *H. pylori* [3].

Изменение окраски индикатора в щелочную форму в случае, если биоптат непосредственно контактирует с индикатором, может быть вызвано с физиологическими причинами в самом биоптате: на фоне различных факторов pH слизистого эпителия желудка *in vitro* в среднем варьируется от 6,0 до 7,2, при этом граница перехода окраски бромтимолового синего, по документам производителя, использующегося в тестах, начинается с 6,5. Кроме того, на ложность результата могут повлиять щелочные

агенты, попавшие на биоптат: желчь (pH > 7) [16], продукты реакции автолиза клеток тканей желудка [13], лидокаин, широко применяющийся в форме спрея для местной анестезии, а также подкравливание биоптата (кровь в норме имеет щелочную реакцию) [5, 14].

Специфичность теста особенно важна для выбора правильной стратегии лечения в будущем, так как согласно рекомендациям после положительного быстрого уреазного теста необходимо назначить лечение, которое будет включать в себя антимикробные препараты. Избыточное назначение антибиотиков и связанный с ним рост антибиотикорезистентности является проблемой, которая, по мнению Всемирной организации здравоохранения, достигла мирового масштаба [8]. Актуальность кларитромициновой резистентности *H. pylori* настолько высока, что *H. pylori* была внесена в список приоритетных патогенов для изучения и развития новых антибиотиков [26].

Медицина XXI века – это точная медицина (Precision medicine) [25]. В такое понятие для проведения антихеликобактерной терапии входит соответствие правилу 5П: правильный пациент, правильный препарат, правильная доза, правильное время приема препаратов и правильная диагностика. Для выполнения последнего пункта необходимо использовать точные методы диагностики. Селективность AMA RUT Pro к уреазе *Helicobacter pylori* позволяет проводить определение бактерии с высокой специфичностью – 95% при сохранении чувствительности. Отсутствие реакции на уреазу других микроорганизмов, согласно инструкции, подтверждено микробиологической проверкой, специальная мембрана в кон-

струкции теста предотвращает изменение цвета индикаторного элемента из-за щелочных агентов, не связанных с протеканием целевой реакции [3].

#### Вывод

Диагностику *Helicobacter pylori* необходимо проводить тестами, предназначенными для определения уреазы именно этой бактерии. Селективные тесты АМА RUT Pro показали высокие диагностические

характеристики: специфичность – 95,5% и чувствительность – 97,6%, что приближается к данным, представленным в инструкции к тестам. Индикаторная бумага, предназначенная для быстрого определения уреазолитических факторов, при выявлении *Helicobacter pylori* в биоптатах продемонстрировала специфичность в 10,6%.

#### Список литературы:

1. Арямкина О.Л., Мартышева Л.Н., Тарарак Т.Я. Клинические аспекты хеликобактериоза в сочетанной патологии // ВНМТ. – 2007. – № 3. – С. 111–114.
2. Инструкция по применению. Индикаторная бумага для выявления микроорганизмов «Геликобактер тест» по ТУ 9398-003-90814321-2012.
3. Инструкция по применению. Экспресс-тест АМА RUT для качественного определения уреазы *Helicobacter pylori* хромогенным методом ин витро по ТУ 20.59.52-008-59483502-2017. 2019.
4. Методы диагностики инфекции *Helicobacter pylori*. Методические рекомендации / Д.С. Бордин [и др.]. – М. : ГБУЗ «Московский клинический научно-практический центр им. А.С. Логинова ДЗМ», 2019. – 12 с.
5. Продуктовая линейка – Лидокаин / Официальный сайт АО Фармстандарт / [Электронный ресурс]. – Режим доступа: URL: <https://pharmstd.ru/index.php?page=129&lid=153> (дата обращения: 21.02.2020).
6. Распространенность хеликобактерной инфекции у пациентов гастроэнтерологического профиля в Санкт-Петербурге / Н.В. Захарова [и др.] // Фарматека. – 2016. – № S5. – С. 33–39.
7. Способ выявления уреазопroduцирующих микроорганизмов «Быстрый уреазный тест Геликобактер тест» и устройство для его применения // Патент России № RU 2013 125 371 А. 2014. № 34 / Плисс М.Г.
8. Antibiotic resistance / World Health Organization / [Электронный ресурс]. – Режим доступа: URL <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/antibiotic-resistance> (дата обращения: 25.02.2020).
9. Compositions and methods for the diagnosis of gastrointestinal disorders involving urease // United States Patent № 4,748,113. 1988. / Barry J. Marshall.
10. Confirmation of successful therapy of *Helicobacter pylori* infection: number and site of biopsies or a rapid urease test / H.M. el-Zimaity [et al.] // Am J Gastroenterol. – 1995. – Vol. 90. – № 11. – P. 1962–1964.
11. Diagnostic or Screening Test Evaluation 1.0 / Open Source Statistics for Public Health / [Электронный ресурс]. – Режим доступа: URL: <http://www.openepi.com/DiagnosticTest/DiagnosticTest.htm> (дата обращения: 21.02.2020).
12. Dual specimens increase the diagnostic accuracy and reduce the reaction duration of rapid urease test / W.H. Hsu [et al.] // World J Gastroenterol. – 2010. – Vol. 16. – № 23. – P. 2926–2930.
13. Evaluation of a rapid urease test to detect *Campylobacter pylori* infection / T. Ulf Westblom [et al.] // Journal of clinical microbiology. – 1988. – Vol. 26. – №7. – P. 1393–1394.
14. Hopkins E. Physiology, acid base balance / E. Hopkins, S. Sharma. – Treasure Island (FL): StatPearls Publishing, 2019.
15. Management of *Helicobacter pylori* infection – the Maastricht V/Florence Consensus Report / P. Malfertheiner [et al.] // Gut. – 2017. – Vol. 66. – P. 6–30.
16. Midolo P., Marshall B.J. Accurate Diagnosis of *Helicobacter pylori*: Urease Tests // Gastroenterology Clinics of North America. – 2000. – Vol. 29. – № 4. – P. 871–878.
17. Prospective comparison of commercially available rapid urease tests for the diagnosis of *Helicobacter pylori* / L. Laine [et al.] // Gastrointest Endosc. – 1996. – Vol. 44. – № 5. – P. 523–526.
18. Prospective, multivariate evaluation of CLOtest performance / A.P. Weston [et al.] // Am J Gastroenterol. – 1997. – Vol. 92. – № 8. – P. 1310–1315.
19. Test strip for detecting gastric problems and detecting method thereof // United States Patent № US 2010/0028937 A1. 2010. / Liu et al.
20. Test strip for H. pylori detection // World International Property Organization International Publication Number WO 2012/054545 A1. 2012. / Gulf Coast Medical, Inc.
21. The best gastric site for obtaining a positive rapid urease test / J.S. Woo [et al.] // Helicobacter. – 1996. – Vol. 1. – № 4. – P. 256–259.
22. Tseng C.A., Wang W.M., Wu D.C. Comparison of the Clinical Feasibility of Three Rapid Urease Tests in the Diagnosis of *Helicobacter pylori* Infection // Digestive Diseases and Sciences. – 2005. – Vol. 50. – № 3. – P. 449–452.

23. Urease activity and urea gene sequencing of coccoid forms of *H. pylori* induced by different factors / F. Can [et al.] // *Curr Microbiol.* – 2008. – № 56. – P. 150–155.
24. Urease test for detecting *Helicobacter pylori* bacteria // World International Property Organization International Publication Number WO 2011/112106 A2. 2011 / Stanisław Kafel.
25. What is precision medicine? / U.S. National Library of Medicine / [Электронный ресурс]. – Режим доступа: URL: <https://ghr.nlm.nih.gov/primer/precisionmedicine/definition> (дата обращения: 26.02.2020).
26. WHO publishes list of bacteria for which new antibiotics are urgently needed / World Health Organization / [Электронный ресурс]. – Режим доступа: URL: <https://www.who.int/news-room/detail/27-02-2017-who-publishes-list-of-bacteria-for-which-new-antibiotics-are-urgently-needed> (дата обращения: 25.02.2020).