

ОСОБЛИВОСТІ МЕТОДІВ ДІАГНОСТИКИ ІНФЕКЦІЇ *HELICOBACTER PYLORI* У ШЛУНКУ І ПОРОЖНИНІ РОТА У ПАЦІЄНТІВ З ХРОНІЧНИМ ГАСТРИТОМ

Одеський національний медичний університет (м. Одеса)

alenazoloto2@gmail.com

Зв'язок публікації з плановими науково-дослідними роботами. Робота є фрагментом НДР кафедри терапевтичної стоматології ОНМедУ на тему: «Розробка методів діагностики, лікування та профілактики захворювань тканин пародонту та слизової оболонки порожнини рота у хворих із системними порушеннями гомеостазу» (№ державної реєстрації 0115U006642) та держбюджетної теми ОНМедУ: «Розробка нових лікувально-профілактичних засобів та обґрунтування їх застосування у комплексному лікуванні уражень слизової оболонки порожнини рота за умов екзогенних та ендогенних факторів ризику», (№ державної реєстрації 0116U008934).

Вступ. Вперше роль *Helicobacter pylori* (*H. pylori*, *Hp*) в етіопатогенезі захворювань шлунку і дванадцятипалої кишки вказали австралійські вчені В. Marshall і І. Warren у 1983 році, також вони поділяли думку наявності даної інфекції у порожнині рота. На сьогоднішній день інфекція *Hp* являє собою найпоширенішу інфекцію у світі. В даний час понад половини населення світу колонізовано *Helicobacter pylori*, що є основною причиною хронічного гастриту та виразкової хвороби шлунку і дванадцятипалої кишки [1].

Хелікобактерній інфекції властива тривала персистенція на слизовій оболонці шлунку з розвитком інфільтрації власної пластинки клітинами запалення [2]. Ротова порожнина є початковим відділом травного тракту та має анатомо-гістологічну схожість будови тканин, фізіологічну спільність та єдність нейрогуморальної регуляції з тканинами шлунково-кишкового тракту (ШКТ). Порожнина рота розглядається як потенціальний резервуар для гастральної інфекції та реінфекції [3]. Питання щодо реінфікування слизової шлунку та дванадцятипалої кишки оральним *Hp* бурхливо обговорюються у науковій літературі. Вірогідність повторного інфікування шлунку і дванадцятипалої кишки бактеріями *Hp* ротової порожнини після ерадикаційної терапії має високий процент. Дослідники пояснюють це недостатньою концентрацією анти-*Hp* засобів у порожнині рота при проведенні ерадикаційної терапії [4]. Деякі автори стверджують, що бактерії *Hp*, які знаходяться в порожнині рота не пов'язані зі штамами *Hp* біоптатів шлунку, тобто непатогенні [5]. Однак завдяки дослідженням полімеразно-ланцюгової реакції (ПЛР-діагностики) доведена ідентичність ДНК штамів *Hp* денทัลної біоплівки і слизової оболонки шлунку [6].

Літературні джерела свідчать про те, що у хворих на захворювання шлунку, асоційовані з *Hp*-інфекцією, у вмісті пародонтальних кишень і зубному нальоті виявляються бактерії *Hp* [7]. Вже не вперше встановлено присутність *Hp* у біотопах ротової порожнини, а саме у дентальній біоплівці, слині, вмісті

пародонтальних кишень, спинці язика, на поверхнях ортопедичних конструкцій [8].

Останні дослідження не тільки доказують, що мікроорганізм можна виявляти в ротовій порожнині, але також, що шанси рецидиву інфекції *H. pylori* є вищими серед пацієнтів, які мають оральну форму *Hp* [9]. Поширеність коінфекції шлунка та *H. pylori* зубної біоплівки становить 49,7%, а відсоток співвідношення між оральним *H. pylori*, *H. pylori*-статусом і шлунковим *H. pylori* оцінюється в 82% [10]. Мета-аналіз, опублікований в 2011 році, показав, що поширеність інфекції *H. pylori* у порожнині рота гастральних *H. pylori*-позитивних пацієнтів була значно вищою, ніж у *H. pylori*-негативних пацієнтів (45,0% проти 23,9%) [11].

Helicobacter pylori – грамнегативний, мікроаерофільний, ацидофільний, умовно-патогенний мікроорганізм, має S- або спіралеподібну форму, вкритий гладкою оболонкою. На одному з полюсів має від 2 до 6 мономерних джгутиків, за допомогою яких адгезується до слизової оболонки та рухається в шарі слизу впродовж градієнту рН. Це виступає фактором вірулентності [12].

Helicobacter pylori має широкий комплекс факторів патогенності, незважаючи на колонізацію в екстремальних умовах кислого середовища, а саме ферменти уреазу, каталазу, лужну фосфатазу, протеазу, муциназу, фосфоліпазу, γ -глтамілтрансферазу, оксидазу, гемолізину, білок-інгібітор соляної кислоти, адгезини, цитотоксини. Розумно припустити, що *H. pylori* виживає в умовах зубних біоплівок, оскільки текстура та мікросередовище останніх сприяють життєдіяльності мікроаерофільних та анаеробних мікроорганізмів. Оскільки зубні біоплівки можуть забезпечувати уреазо-продукуючі бактерії сечовиною, таких як *H. pylori*, що в свою чергу може поліпшити умови життєдіяльності останніх у пародонтальних кишнях. [13]. Уреаза – це внутрішньоклітинний фермент, який зв'язується з зовнішньою мембраною інших бактерій при лізисі. Функція уреазу полягає у підвищенні рН у мікросередовищі шляхом утворення аміаку з сечовини та у забезпеченні постачання азоту для продукування бактеріальних білків. Біохімічні методи діагностики хелікобактерної інфекції засновані саме на визначенні уреазної активності останньої.

Щодо діагностики *Helicobacter pylori* – інфекції в даний час використовують широкий спектр різноманітних методів, які засновані на різних принципах [14]. Вони поділяються на інвазивні і неінвазивні методи дослідження. До інвазивних відносять методи, для проведення яких необхідна езофагогастродуоденоскопія, матеріалом для дослідження служать біоптати слизової оболонки шлунку і дванадцятипалої

кишки. Неінвазивні методи не потребують ендоскопічного втручання [15].

Усі методи діагностики інфекції *Hp* можна поділити на наступні види:

1. Бактеріологічні (культуральні, посів на диференціально-діагностичні середовища);
2. Цитологічні (виявлення *Hp* в мазках-відбитках, забарвлених за методом Гімзи);
3. Гістологічні («золотий стандарт діагностики *Hp*, виготовлення препаратів та їх забарвлення»);
4. Біохімічні (швидкий уреазний тест, уреазний дихальний тест з ^{13}C сечовиною);
5. Серологічні (імуноферментний аналіз, Stool test, експрес-тести на основі реакції імунопреципітації);
6. Молекулярно-генетичні (полімеразна ланцюгова реакція) [16].

Для діагностики орального *Hp* найбільш високочутливим тестом залишається ПЛР, але проведення цієї процедури не дуже зручне у клінічних умовах. Отже, необхідно створити більш зручний спосіб високочутливого і специфічного тесту на виявлення *Hp* у порожнині рота, які набагато простіше провести як клінічні дослідження у великій кількості пацієнтів для отримання більшої кількості даних, щоб знайти позитивну кореляцію між інфекцією *H. pylori* у порожнині рота та шлунку. Покращення чутливості та специфічності методів виявлення *Hp* є однією з основних проблем, що перешкоджають забезпеченню переконливих доказів наявності *Hp* у порожнині рота [17,18].

Метою даної роботи було розглянути особливості методів виявлення колонізації *Helicobacter pylori* як шлунку, так і порожнини рота, а також визначити можливість використання швидкого уреазного тесту (ШУТ) як високочутливого методу діагностики хелікобактерної інфекції порожнини рота.

Об'єкт і методи дослідження. У своїй роботі ми проводили обстеження 125 пацієнтів віком від 25 до 50 років із діагнозом хронічний гастрит, серед яких чоловіків було 71 (56,8%), жінок – 54 (43,2%). Обстеження проводили до лікування. Підтвердження діагнозу хронічного гастриту проводили за допомогою відеофіброгастроскопії (апарат «Olympus» GIF- 160) та біопсії. Усім пацієнтам був проведений швидкий уреазний тест біоптату шлунку (Тест – система AMA RUT 10 (ХЕЛПІЛ)® ТОВ «Асоціація Медицини і Аналітики», С.-Петербург, РФ) для виявлення наявності і ступеня вираженості інфікованості слизової

Таблиця 1.

Результати швидкого уреазного тесту з матеріалом зі шлунку і порожнини рота

Результат реакції ШУТ	ШУТ (біоптат шлунку)	ШУТ (матеріал з порожнини рота)
	кількість пацієнтів абс. (%)	кількість пацієнтів абс. (%)
негативна реакція	23 (18,4%)	48 (38,4%)
слабо виражена позитивна реакція	21 (16,8%)	24 (19,2%)
помірна позитивна реакція	37 (29,6%)	38 (30,4%)
різко виражена позитивна реакція	44 (35,2%)	15 (12%)

оболонки шлунку бактерією *Hp*. Тест-система ХЕЛПІЛ® (ООО «АМА») – це швидкий уреазний тест для експрес-діагностики інфекції *Helicobacter pylori* за уреазною активністю біоптата, отриманого в ході ендоскопічного обстеження слизової оболонки шлунку і дванадцятипалої кишки. Зі швидким уреазним тестом ХЕЛПІЛ® ідентифікація інфекції *Helicobacter pylori* відбувається за допомогою індикаторного диска, на який поміщають біоптат. Поява плями протягом трьох хвилин свідчить про високу уреазну активність біоптата. Розмір біоптата має бути не менше 2 мм. Тестування проводиться при кімнатній температурі і без інкубації.

При дослідженні поверхню тест-планшету звільняли від захисної плівки та розміщували на плоскій, рівній поверхні. Після отримання біоптата зі шлунку, його розміщували на поверхні тесту по центру. Результат оцінювали за зміною кольору індикатора з жовтого на синій через 3 хвилини. Ступінь вираженості інфікованості оцінювали за 4-х бальною шкалою: 1 бал (негативна реакція «-») – тест не змінив колір, 2 бали (слабо виражена позитивна реакція «+») – зміна кольору навколо біоптата шириною до 1 мм, 3 бали (помірна позитивна реакція «++») – зміна кольору навколо біоптата шириною від 1 до 2 мм, 4 бали (різко виражена позитивна реакція «+++») – зміна кольору навколо біоптата шириною більш 2 мм.

На другому етапі дослідження проводили швидкий уреазний тест з матеріалом з порожнини рота даних пацієнтів. Матеріалами для дослідження використовували ясеневу рідину та рідину пародонтальних кишень, зубний наліт з поверхонь молярів. Матеріал збирали натщесерце, до проведення гігієнічних заходів, після полоскання порожнини рота звичайною чистою водою. Методика проведення тесту і система оцінки результату проводилися за вищезазначеною схемою.

Після проведення дослідження матеріал без пошкодження може бути заклеєний «язичком» та відправлений на гістологічне дослідження або утилізацію.

Результати дослідження та їх обговорення. За допомогою швидкого уреазного тесту з біоптатом шлунку ми виявили 23 (18,4%) *Hp*-негативних пацієнтів та 102 (81,6%) *Hp*-позитивних пацієнтів, з яких слабо виражену позитивну реакцію мали 21 (16,8%) пацієнт, помірну позитивну реакцію – 37 (29,6%) пацієнтів, різко виражену позитивну реакцію – 44 (35,2%) пацієнта. Уреазний тест з матеріалом з порожнини рота вказав на наявність оральної колонізації *Hp* у 77 (61,6%) пацієнтів та її відсутність у 48 (38,4%) пацієнтів. При цьому у 24 (19,2%) *Hp*-позитивних пацієнтів виявили слабо виражену позитивну реакцію, 38 (30,4%) – помірну позитивну реакцію та 15 (12%) пацієнтів – різко виражену позитивну реакцію. Всі дані цього дослідження наведені у таблиці 1.

У ході проведення дослідження було виявлено взаємовідношення між позитивною реакцією тесту з біоптатом шлунку та матеріалом з порожнини рота. Серед 102 *Hp*-позитивних пацієнтів за результатами швидкого уреазного тесту з біоптатом шлунку виявили *Hp*-позитивну реакцію з матеріалом з порожнини рота лише у 65 (63,7%) пацієнта, а серед 23 *Hp*-негативних пацієнтів за результатами швидкого уреазного тесту з біоптатом шлунку виявили *Hp*-

Взаємовідношення між позитивною реакцією ШУТ з біоптатом шлунку та реакцією ШУТ з матеріалом з порожнини рота

ШУТ (біоптат шлунку)	ШУТ (матеріал з порожнини рота)	
	Нр-позитивні пацієнти абс. (%)	Нр-негативні пацієнти абс. (%)
Нр-позитивні пацієнти n=102	65 (63,7%)	37 (36,3%)
Нр-негативні пацієнти n=23	12 (52%)	11 (48%)

позитивну реакцію з матеріалом з порожнини рота у 12 (52,2%) пацієнтів. Всі дані цього дослідження наведені у таблиці 2.

Отже, з огляду на отримані дані, більше половини Нр-позитивних пацієнтів за результатами швидкого уреазного тесту з біоптатом шлунку мають Нр-позитивну реакцію ШУТ з матеріалом з порожнини рота, а також половина Нр-негативних пацієнтів мають позитивну реакцію ШУТ з матеріалом з порожнини рота, що може свідчити про стоматогенне інфікування слизової оболонки шлунку оральною інфекцією *H. pylori*. Очевидно, що якщо інфекція *H.*

pylori існує у ротовій порожнині до чи після ерадикаційної терапії щодо хронічного гастриту, асоційованого з Нр-інфекцією, це створює серйозні проблеми щодо протоколів лікування.

Висновки. Проведенні дослідження сприяли визначенню особливостей методів діагностики *Helicobacter pylori*-інфекції як шлунку, так і порожнини рота. Також це дослідження показало значення швидкого уреазного тесту ХЕЛПІЛ® (ООО «АМА») як високочутливого діагностичного методу визначення наявності і ступеня інфікування Нр слизової оболонки шлунку й порожнини рота. ШУТ можливо використовувати у клінічних умовах як зручний, специфічний та високочутливий тест на виявлення Нр в матеріалі з порожнини рота на стоматологічному прийомі.

Перспективи подальших досліджень. В подальшому планується розробка нових методів лікування та профілактики *Helicobacter pylori*-інфекції у порожнині рота та моніторинг їх ефективності за допомогою швидкого уреазного тесту та ПЛР діагностики.

Література

- Osipova YuL, Bulkina NV. Techenie vospalitel'nyh zabolevanij parodonta u bol'nyh hronicheskim gelikobakternym gastritom. *Sovremennye naukoemkie tekhnologii*. 2007;5:36. [in Russian].
- Afanasenkova TE, Dukova VS, Yankovaya TN. Nado li provodit eradikatsiyu Helicobacter pylori v rotovoy polosti pri hronicheskom erozivnom gastrite? *Vestnik Smolenskoj gosudarstvennoy meditsinskoj akademii*. 2014;13(3):73-6. [in Russian].
- Oskol'skij GI, Nepomnyashchih LM, Yurkevich AB. Vzaimosvyaz' patologicheskikh proyavlenij v slizistoj obolochke polosti rta i zabolevanij zheludochno-kishechnogo trakta. *Dal'nevostochnyj medicinskij zhurnal*. 2010;3:130-3. [in Russian].
- Lepilin AV, Eremin OV, Kozlova IV, Kargin DV. Komorbidnost' boleznej parodonta i zheludochno-kishechnogo trakta. *Saratovskij nauchno-meditsinskij zhurnal*. 2009;3:393-9. [in Russian].
- Wang XM, Yee KC, Hazeki-Taylor N, Li J, Fu HY, Huang ML, et. al. Oral Helicobacter pylori, its relationship to successful eradication of gastric H. pylori and saliva culture confirmation. *J Physiol Pharmacol*. 2014;65:559-66.
- Nisha KJ, Nandakumar K, Shenoy KT, Janam P. Periodontal disease and Helicobacter pylori infection: a community-based study using serology and rapid urease test. *J Investig Clin Dent*. 2014:Epub ahead of print.
- Savichuk NO. Kolonizacijna rezistentnist' slizovoi obolonki porozhnini rta – suchasni pidhodi do korekcii. *Sovremennaya stomatologiya*. 2011;3:87-91. [in Ukrainian].
- Osipova YuL, Bulkina NV, Tokmakova EV, Bashkova LV. Patogeneticheskaya vzaimosvyaz' vospalitel'nyh zabolevanij parodonta s gastroehzofageal'noj refljukсноj bolezn'yu. *Fundamental'nye issledovaniya*. 2015;1(7):1397-400. [in Russian].
- Anand PS, Kamath KP, Anil S. Role of dental plaque, saliva and periodontal disease in Helicobacter pylori infection. *World J Gastroenterol*. 2014;20:5639-53.
- Navabi N, Aramon M, Mirzazadeh A. Does the presence of the Helicobacter pylori in the dental plaque associate with its gastric infection? A meta-analysis and systematic review. *Dent Res J (Isfahan)*. 2011;8:178-82.
- Zou QH, Li RQ. Helicobacter pylori in the oral cavity and gastric mucosa: a meta-analysis. *J Oral Pathol Med*. 2011;40:317-24.
- Sheptulin AA. Infekcija Helicobacter pylori: chto eshche krome zabolevanij zheludka? *Klinicheskaya medicina*. 2014;92(5):33-9. [in Russian].
- John KC Yee. Helicobacter pylori colonization of the oral cavity: A milestone discovery. *World J Gastroenterol*. 2016 Jan 14;22(2):641-8.
- Bordin DS, Vojnovan IN, Kolbasnikov SV, Ehmbutnieks YuV. Metody diagnostiki infekcii Helicobacter pylori v klinicheskij praktike. *Terapevticheskij arhiv*. 2018;12:133-9. [in Russian].
- Di Mario E, Cavallaro LJ. Non-invasive tests in gastric disease. *Dig. Liver. Dis*. 2008;40(7):523-30.
- Bunova SS, Rybkina LB, Bakalov IA, Kopin EZh, Shamshev YuV. Metody diagnostiki infekcii Helicobacter pylori: sovremennoe sostoyanie voprosa. *Molodoj uchenyj*. 2012;12:540-3. [in Russian].
- Amiri N, Abiri R, Eyvazi M, Zolfaghari MR, Alvandi A. The frequency of Helicobacter pylori in dental plaque is possibly underestimated. *Arch Oral Biol*. 2015;60:782-8.
- Mesquita B, Gonçalves MJ, Pacheco P, Lopes J, Salazar F, Relvas M, et. al. Helicobacter pylori identification: a diagnostic/confirmatory method for evaluation. *Curr Microbiol*. 2014;69:245-51.

ОСОБЛИВОСТІ МЕТОДІВ ДІАГНОСТИКИ ІНФЕКЦІЇ HELICOBACTER PYLORI У ШЛУНКУ І ПОРОЖНИНІ РОТА У ПАЦІЄНТІВ З ХРОНІЧНИМ ГАСТРИТОМ

Золотухіна О. Л.

Резюме. У даній статті наведені дані щодо сучасних методів діагностики *Helicobacter pylori* – інфекції слизової оболонки шлунку та порожнини рота як потенціального резервуара для гастральної інфекції та реінфекції. Проведено дослідження щодо використання швидкого уреазного тесту (ШУТ) як високочутливого діагностичного методу для визначення наявності і ступеня інфікування *Helicobacter pylori* слизової оболонки шлунку й порожнини рота. Також проведений аналіз результатів швидкого уреазного тесту з матеріалом зі шлунку і порожнини рота та встановлено взаємовідношення між позитивною реакцією ШУТ з біоптатом шлунку та реакцією ШУТ з матеріалом з порожнини рота.

Ключові слова: хронічний гастрит, швидкий уреазний тест, *Helicobacter pylori*.

ОСОБЕННОСТИ МЕТОДОВ ДИАГНОСТИКИ ИНФЕКЦИИ *HELICOBACTER PYLORI* В ЖЕЛУДКЕ И ПОЛОСТИ РТА У ПАЦИЕНТОВ С ХРОНИЧЕСКИМ ГАСТРИТОМ

Золотухина Е. Л.

Резюме. В данной статье приведены данные о современных методах диагностики *Helicobacter pylori* – инфекции слизистой оболочки желудка и полости рта как потенциального резервуара для гастральной инфекции и реинфекции. Проведено исследование по использованию быстрого уреазного теста (БУТ) как высокочувствительного диагностического метода для определения наличия и степени инфицирования *Helicobacter pylori* слизистой оболочки желудка и полости рта. Также проведен анализ результатов быстрого уреазного теста с материалом из желудка и полости рта и установлено взаимоотношение между положительной реакцией БУТ с биоптатом желудка и реакцией БУТ с материалом из полости рта.

Ключевые слова: хронический гастрит, быстрый уреазный тест, *Helicobacter pylori*.

THE PROPERTIES OF METHODS FOR DIAGNOSTICS OF *HELICOBACTER PYLORI* INFECTION IN THE STOMACH AND ORAL CAVITY IN PATIENTS WITH CHRONIC GASTRITIS

Zolotukhina O. L.

Abstract. This article provides data on the modern methods of *Helicobacter pylori* diagnostics, an infection of the gastric mucosa and oral mucosa as a potential reservoir of gastric infection and reinfection. A study of the rapid urease test (RUT) usage as a highly sensitive diagnostic method for determining the presence and *Helicobacter pylori* degree of the gastric mucosa and oral mucosa has been made. Invasive and non-invasive techniques are used for diagnostics *H. pylori* infection. Invasive methods require endoscopy and are also known as biopsy-based tests. Non-invasive tests are made without endoscopy technic. Diagnostic methods of *Hp*-infection include bacteriological, cytological, histological, biochemical, serological, molecular genetic bacteriological (microbiological culture), cytological, histological, biochemical (rapid urease test, urea breath test), serological (stool antigen test, ELISA), molecular genetic (polymerase chain reaction) methods.

Rapid urease test is a rapid diagnostic test for *Helicobacter pylori* diagnosis. The basis of the test is the ability of *Helicobacter pylori* to secrete the urease enzyme, which catalyzes the conversion of urea to ammonia and carbon dioxide.

Helicobacter pylori is one of the most successful human pathogens. Over half of the world's population is colonized with this bacterium. *Helicobacter pylori* is a microaerophilic spiral shaped gram-negative bacterium which colonizes the human gastric mucosa. *Helicobacter pylori* can be found in the oral liquid and in the plaque, so it is fair to say that the oral cavity represents a permanent reservoir of this bacterium.

The aim of this work was to consider the properties of methods for detecting the *Helicobacter pylori* colonization in both the stomach and oral cavity and also to determine the possibility of the rapid urease test usage as a highly sensitive diagnostic method for oral *Hp*-infection.

Object and methods. 125 patients aged 25 to 50 years old with a diagnosis of chronic gastritis were studied. The study has been made prior to treatment. The rapid urease test of the stomach biopsy was performed for all patients (Test System AMA RUT 10 (HELPIIL)[®], Russia) to detect the presence and severity of *Hp*-infection of the gastric mucosa. After receiving the biopsy from the stomach it was placed on the central test surface. The result was evaluated by changing the color of the indicator from yellow to blue in 3 minutes. At the second stage of the study, the rapid urease test was performed on the patient's oral material. Investigated patient's oral cavity material included gingival fluid, periodontal fluid, plaque from the surfaces of molars.

Results and discussion. The results of the rapid urease test with the material from the stomach and oral cavity were also analyzed and the relationship between the positive reaction of RUT with gastric biopsy specimens and the reaction of RUT with material from the oral cavity was established. The rapid urease test with a stomach biopsy revealed 23 (18.4%) *Hp*-negative patients and 102 (81.6%) *Hp*-positive patients. The rapid urease test with the patient's oral material revealed 48 (38,4%) *Hp*-negative patients and 77 (61,6%) *Hp*-positive patients. Taking into account the obtained data, more than half of the gastric *Hp*-positive patients have an *Hp*-positive reaction of RUT of the material from the oral cavity and also half of the gastric *Hp*-negative patients have a positive response of the RUT of the material from the oral cavity, which can be indicated like stomatological way of the gastric *H. pylori* infection.

Conclusion. Our studies helped to determine the properties of the diagnostic methods of *Helicobacter pylori* infection both in the stomach and in the oral cavity. The RUT can be used in clinical condition as a convenient, specific and highly sensitive test for the detection of *Hp* in the material from the oral cavity on the dental treatment.

Key words: chronic gastritis, rapid urease test, *Helicobacter pylori*.

Рецензент – проф. Дудченко М. О.

Стаття надійшла 25.03.2019 року