

УДК 616.33-008.821.1-078

Сравнение инвазивных и неинвазивных методов выявления *Helicobacter pylori* в желудке и полости рта у больных с кислотозависимыми заболеваниями

Э.А. Базилян, И.В. Маев, Е.Н. Николаева, Г.И. Лукина, Е.В. Мухина
(ГОУ ВПО Московский государственный медико-стоматологический университет Росздрав)

Comparison of invasive and non-invasive methods of *Helicobacter pylori* infection diagnostics in the stomach and oral cavity at patients with acid-related diseases

E.A. Bazikyan, I.V. Mayev, E.N. Nikolayeva, G.I. Lukina, Ye.V. Mukhina

Цель исследования. Сравнение различных методов выявления *H. pylori* в полости рта у пациентов с кислотозависимыми заболеваниями.

Материал и методы. Обследовано 52 больных (36 женщины и 16 мужчин) в возрасте от 18 до 65 лет. Все они были разделены на 3 группы: 1-я группа – 16 пациентов с неэрозивной гастроэзофагеальной рефлюксной болезнью и сопутствующим хроническим активным гастритом (ХАГ). 2-я группа – 17 человек с выявленным эрозивным эзофагитом степени А, ХАГ и язвенной болезнью двенадцатиперстной кишки, 3-я группа – 19 больных с рефлюкс-эзофагитом степени В (10), степени С (9) и гастродуоденитом. Использовались клинические стоматологические методы обследования, гистоморфологический, цитологический и биохимический методы исследования слизистой оболочки желудка (СОЖ) и полости рта (СОПР).

Результаты. Клинические стоматологические симптомы – эрозия эмали, гиперчувствительность зубов, кровоточивость десен, отек слизистой оболочки полости рта, десквамация эпителия, боль или жжение в области языка, сухость в полости рта, сухость губ, образование чешуек на красной кайме губ (экسفолитивный хейлит), ангулярный стоматит, афтозный стоматит – выявлены у больных с кислотозависимыми заболеваниями с инфекцией *H. pylori*. Данные гистоморфологического, цитологического, биохимического и ПЦР-исследований слизистой оболочки желудка показали высокий уровень обсемененности *H. pylori* у всех обследованных пациентов. При применении тех же методов исследования в полости рта установлено наличие

Aim of investigation. To compare various methods of *H. pylori* detection in oral cavity at patients with acid-related diseases.

Stuff and methods. 52 patients (36 women and 16 men) aged 18 to 65 years were investigated. All of them were distributed into 3 groups: 1st group – 16 patients with non-erosive gastroesophageal reflux disease and concomitant chronic active gastritis (CAG). 2nd group – 17 patients with grade A erosive esophagitis, CAG and duodenal peptic ulcer, 3rd group – 19 patients with reflux-esophagitis of a grade B (10), grade C (9) and gastroduodenitis. Clinical stomatological methods of investigation, morphology, cytology and biochemical methods of investigation of stomach mucosa (SM) and oral mucosa (OM) were applied.

Results. Clinical stomatological signs – erosion of enamel, hypersensitivity of teeth, hemorrhagic gingival diathesis, edema of oral mucosa, desquamation of epithelium, pain or burning sensation of the tongue, dryness in the mouth and lips, development of scales on labial mucosa (exfoliative cheilitis), angular stomatitis, aphthous stomatitis – were found in patients with acid-associated diseases and *H. pylori* infection. Data of morphological, cytological, biochemical and PCR studies of stomach mucosa have shown high level of *H. pylori* colonization at all patients. The same methods of investigation for oral cavity revealed presence of *H. pylori* markers in scrapings from root of the tongue, for the first time in mixed saliva.

Conclusion. Results of cytologic, histological methods, PCR -diagnostics were similar to those at application of rapid urease test which has been carried out for

маркеров *H. pylori* в соскобе с корня языка, впервые в смешанной слюне.

Заключение. Результаты цитологического, гистологического методов, ПЦР-диагностики схожи с таковыми при использовании быстрого уреазного теста (Хелпил-теста), проведенного на СОЖ и СОПР, что подтверждает информативность этого экспресс-метода.

Ключевые слова: кислотозависимые заболевания, *H. pylori*, неинвазивные методы исследования, слизистая оболочка полости рта, слизистая оболочка желудка.

SM and OM that confirms high information value of this rapid test.

Key words: acid-related diseases, *H. pylori*, non-invasive methods of diagnostics, mucosa of oral cavity, gastric mucosa.

В ходе исследований установлено, что кислотозависимые заболевания часто ассоциированы с этиопатогенной ролью *Helicobacter pylori* (*H. pylori*) [4, 5]. Для подтверждения этого используют различные методы диагностики *H. pylori*-инфекции: бактериологический, гистологический, биохимический (уреазный тест), которые сопряжены с эндоскопическим исследованием и взятием биоптата. Методы являются инвазивными и не приемлемы для частого повторного использования у больного. Для динамического наблюдения за эффективностью терапии необходимы более простые и удобные неинвазивные методики.

Многие зарубежные и отечественные ученые доказали у *H. pylori*-инфицированных пациентов присутствие возбудителя в зубной бляшке и зарегистрировали тот факт, что полость рта может быть «резервуаром» *H. pylori* [5, 7, 8]. В научной литературе дискутируется также вопрос о том, что полость рта может быть источником реинфекции после уничтожения (эрадикации) *H. pylori* в желудке.

При достаточной определенности положений, касающихся участия возбудителя в этиопатогенезе гастроудоденальных заболеваний, механизмы оральной колонизации *H. pylori* изучены недостаточно, отсутствуют данные о возможной взаимосвязи персистенции микроорганизма в ротовой полости со стоматологическим статусом больных, остается неясной возможность влияния бактерий, присутствующих в полости рта, на рецидивирование язвенной болезни.

Во время рефлюкса происходит заброс желудочного содержимого, а значит и *H. pylori*, из желудка через пищевод в полость рта. Для обнаружения *H. pylori* в полости рта применяются методы диагностики, традиционно используемые для выявления микроорганизма в желудке. Но только некоторые из них являются достаточно адекватными для этой цели.

При определении генов островка патогенности *cag H. pylori* многие исследователи считают ответственными за большую активность и выраженность воспаления в *слизистой оболочке желудка*

(СОЖ) *vacA*- и *cagA*-позитивные штаммы инфекции [3, 4, 6, 7].

Таким образом, применение нетрудоемких методов диагностики *H. pylori* в полости рта помогут в прогнозировании течения заболеваний *желудочно-кишечного тракта* (ЖКТ), ассоциированных с этим возбудителем.

Целью исследования явилось сравнение различных методов выявления *H. pylori* в полости рта у пациентов с кислотозависимыми заболеваниями.

Материал и методы исследования

Обследовано 52 больных в возрасте от 18 до 65 лет, среди них женщин — 36 (69,2%), мужчин — 16 (30,8%). Все они были направлены к гастроэнтерологу с подозрением на *гастроэзофагеальную рефлюксную болезнь* (ГЭРБ), поскольку предъявляли жалобы на изжогу (68%), отрыжку кислым (51%), дисфагию (38%) и одинофагию (5%). Диагноз ГЭРБ поставлен на основании клинико-анамнестических данных, результатов эзофагогастродуоденоскопии и суточной рН-метрии. По результатам исследований все пациенты были разделены на 3 группы. В 1-ю группу вошли 16 (30,8%) пациентов с неэрозивной гастроэзофагеальной рефлюксной болезнью и сопутствующим *хроническим активным гастритом* (ХАГ), 2-ю группу составили 17 (32,7%) человек с эрозивным эзофагитом степени А (по Лос-Анджелесской классификации), ХАГ и язвенной болезнью двенадцатиперстной кишки, в 3-ю группу включены 19 (36,5%) больных с рефлюкс-эзофагитом степени В (10), степени С (9) и гастродуоденитом.

При стоматологическом обследовании обращали внимание на состояние мягких тканей полости рта и языка, а также зубов. Всем пациентам осуществлялась санация полости рта.

Выявление обсемененности *H. pylori* слизистой оболочки ЖКТ проводилось при эндоскопическом исследовании путем взятия биопсийного материала (2 биоптата), один из которых брали для проведения Хелпил-теста (экспресс-диагностики) и дальнейшего гистоморфологического

исследования, другой — для определения ДНК возбудителя с применением *полимеразной цепной реакции* (ПЦР). Экспресс-диагностика фермента уреазы, продуцируемой *H. pylori*, заключается в наличии или отсутствии окраски твердого пористого гигроскопичного волокнистого носителя в синий цвет при исследовании взятого материала. Результат Хелпил-теста на *H. pylori* получают в течение 3 мин. В то же время некоторыми учеными подтверждено, что помимо *H. pylori* в желудке возможно нахождение других продуцентов уреазы: *Proteus*, *Bacillus spp.*, *Staphylococcus spp.*, *Candida*, но они обладают более низким уровнем продукции фермента и проявляют свою уреазную активность в более поздние сроки [2, 3]. Биопсийные образцы служили также объектом дальнейшего исследования, проводимого с помощью гистоморфологического метода и ПЦР.

Высокоспецифичный метод ПЦР-диагностики основан на выявлении в полости рта и желудке ДНК возбудителя. Материалом для этих исследований служили биоптат слизистой оболочки желудка, смешанная слюна, соскоб налета с корня языка. В целях сравнения результатов параллельно проводился Хелпил-тест для определения *H. pylori* в слюне, налете на языке. Статистическую обработку данных осуществляли при помощи компьютерной программы Primer of Biostatistics 4.03 с вычислением 95% *доверительного интервала* (95% CI). Во время экспресс-анализа определяли также *позитивную прогностическую ценность* — PPV (positive predictive value — вероятность наличия заболевания при получении позитивного [патологического] результата исследования) и *негативную прогностическую ценность* — NPV (negative predictive value — вероятность отсутствия заболевания при получении негативного [нормального] результата исследования).

Результаты исследования и их обсуждение

У обследованных выявлены клинические стоматологические симптомы, которые у больных ГЭРБ нарастают по мере повышения степени тяжести основного заболевания. У части пациентов наблюдались с разной степенью выраженности эрозия эмали, гиперчувствительность зубов, кровоточивость десен, отек *слизистой оболочки полости рта* (СОПР), десквамация эпителия, боль или жжение в области языка, сухость в полости рта, сухость губ, образование чешуек на красной кайме губ (экस्фолиативный хейлит), а также ангулярный стоматит, афтозный стоматит (рис. 1–4).

По данным гистоморфологического и биохимического исследований у всех обследованных обнаружены *H. pylori* в слизистой оболочке желудка.

Результаты ПЦР-диагностики в 1-й группе показали наличие маркеров *H. pylori* в биоптатах слизистой оболочки антрального отдела (50%), в соскобах с корня языка (12,5%); в смешанной слюне бактерии не найдены. Во 2-й группе генетические маркеры *H. pylori* определены в смешанной слюне в 8,0% случаев, но не выявлены в биоптате СОЖ и соскобах с корня языка. В 3-й группе ни в одном из собранных материалов не содержалось исследуемых генов *H. pylori* (табл. 1). У больных с геликобактер-ассоциированным активным гастритом обнаруживался *vacA*-позитивный штамм (50%), определяющий цитотоксичность возбудителя.

Результаты гистоморфологического и экспресс-метода исследования биоптата СОЖ показали высокую степень инфицирования *H. pylori* у всех обследованных (табл. 2), особенно в 3-й группе, в которой она выявлена в 84,2% случаев. Остальные случаи приходились на среднюю (10,5%) и легкую (5,3%) степени обсемененности, причем данные обоих методов и в этой группе полностью совпали.

Во 2-й группе выраженная степень обсемененности зарегистрирована у 64,7 и 82,4% больных соответственно, т. е. она была несколько ниже по результатам гистоморфологического метода и такой же, как в 3-й группе по данным экспресс-метода. Средняя степень инфицирования при гистоморфологическом методе отмечена у 29,4% (выше, чем в 3-й группе), при экспресс-тесте — у 5,8% больных (почти вдвое ниже, чем в 3-й группе). Результат гистоморфологического метода показал легкую степень обсемененности у 5,8% обследуемых, а результат экспресс-теста превышал показатели этой группы пациентов вдвое — 11,8% случаев. При сравнении с 3-й группой инфицированность средней и легкой степени была выше, но не имела определенной тенденции при проведении экспресс-теста.

В 1-й группе по данным гистоморфологического исследования и экспресс-метода выраженная степень обсемененности *H. pylori* СОЖ выявлена у 56,2 и 68,7% больных соответственно. Тенденция к уменьшению по сравнению с 3-й и 2-й группами была налицо. Средняя степень инфицирования наблюдалась у четверти обследуемых (гистоморфологический метод) и у 18,7% пациентов (экспресс-метод), что также говорит о росте аналогичных показателей по сравнению с 3-й и 2-й группами. Слабая степень у 18,7% пациентов выявлена гистоморфологическим методом и у 12,5% — экспресс-методом, что превышает показатели такой же низкой обсемененности во 2-й и 3-й группах.

В соскобах с корня языка и в смешанной слюне результаты экспресс-метода полностью совпали (мы сочли необходимым объединить их в табл. 3). Степень обсемененности полости рта

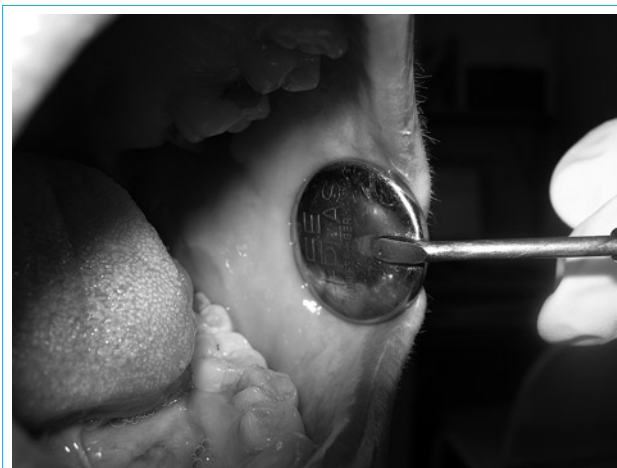


Рис. 1. Пациент А., 63 лет. Отечность слизистой оболочки щек, отпечатки зубов



Рис. 2. Пациент В., 36 лет. Отечность слизистой оболочки языка, отпечатки зубов



Рис. 3. Пациент З., 65 лет. Десквамативный глоссит, обильный налет на всей поверхности языка

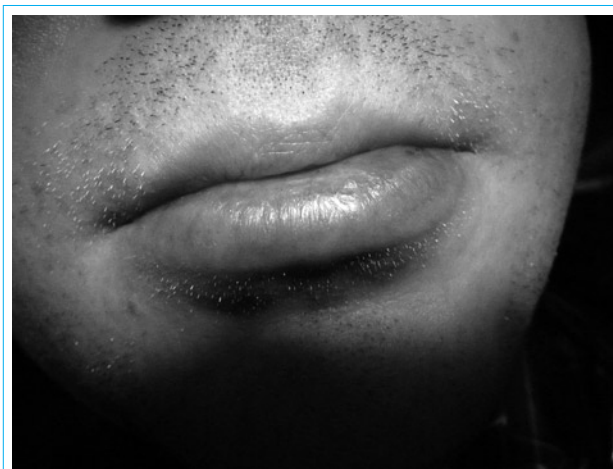


Рис. 4. Пациент Д., 64 лет. Эксфолиативный хейлит

имела также тенденцию к снижению от 3-й группы обследуемых к 1-й.

При анализе результатов исследования с помощью экспресс-теста налета с корня языка, смешанной слюны и биоптатов СОЖ (см. табл. 3) в обследуемых группах наблюдалась примерно одинаковая степень инфицирования их *H. pylori*. В 1-й группе выраженная степень обсемененности СОЖ определялась у 68,7% пациентов, в полости рта — у 62,5%, средняя степень — у 18,7 и 25% соответственно, слабая степень — у 12,5%. По

Таблица 1

Выявляемость *H. pylori* с помощью молекулярно-биологического метода исследования (ПЦР) в материале из полости рта, абс. число (%)

Группа больных	Смешанная слюна	Биоптат СОЖ	Налет с корня языка
1-я (n=16)	—	8 (50,0)	2 (12,5)
2-я (n=17)	2 (8,0)	—	—
3-я (n=19)	—	—	—

данным экспресс-метода во 2-й и 3-й группах наблюдалось совпадение результатов по степени инфицирования *H. pylori* СОЖ и полости рта: во 2-й группе выраженная степень обсемененности отмечена у 82,4% больных, средняя — у 5,8% и слабая — у 11,8%, в 3-й группе — у 84,2, 10,5 и 5,3%. Таким образом, выявление *H. pylori* в полости рта с помощью экспресс-теста позволяет контролировать состояние обсемененности СОЖ.

По материалам нашего исследования, специфичность Хелпил-теста составила 98%, чувствительность — 85% (табл. 4). Но в отличие от гистоморфологического метода по результатам экспресс-метода нельзя сделать заключение о состоянии СОЖ, характере и выраженности воспаления, что необходимо при обследовании больного.

Сравнение данных ПЦР-диагностики *H. pylori* и экспресс-метода вызывает много вопросов. Результаты исследований одинаковых сред и тканей по этим методам очень разнятся. Возможно, это связано с наличием в полости рта и верхних

Таблица 2

Результаты статистического анализа различий между гистологическим исследованием СОЖ и экспресс-диагностикой Хелпил-тестом, абс. число (%)

Группа больных	Метод диагностики	Слабая степень	Средняя степень	Выраженная степень
1-я (n=16)	Гистологический	3 (18,7)	4 (25,0)	9 (56,2)
	Экспресс-тест	2 (12,5)	3 (18,7)	11 (68,7)
2-я (n=17)	Гистологический	1 (5,8)	5 (29,4)	11 (64,7)
	Экспресс-тест	2 (11,8)	1 (5,8)	14 (82,4)
3-я (n=19)	Гистологический	1 (5,3)	2 (10,5)	16 (84,2)
	Экспресс-тест	1 (5,3)	2 (10,5)	16 (84,2)

Таблица 3

Результаты Хелпил-теста при исследовании СОЖ, смешанной слюны и налета с корня языка, абс. число (%)

Группа больных	Слизистая оболочка желудка			Налет с корня языка, смешанная слюна		
	Степень обсемененности <i>H. pylori</i>					
	выраженная	средняя	слабая	выраженная	средняя	слабая
1-я (n=16)	11 (68,7)	3 (18,7)	2 (12,5)	10 (62,5)	4 (25,0)	2 (12,5)
2-я (n=17)	14 (82,4)	1 (5,8)	2 (11,8)	14 (82,4)	1 (5,8)	2 (11,8)
3-я (n=19)	16 (84,2)	2 (10,5)	1 (5,3)	16 (84,2)	2 (10,5)	1 (5,3)

Таблица 4

Чувствительность, специфичность, PPV и NPV Хелпил-теста в диагностике *H. pylori*-ассоциированных кислотозависимых заболеваний (95% CI)

Показатель	Чувствительность	Специфичность	PPV	NPV
Слабая степень	72 (55,7–91,4)	65 (54,3–75,6)	53 (33,4–67,2)	85 (74,0–95,0)
Умеренная степень	44 (31,5–58,6)	87 (74,3–97,4)	76 (60,3–94,5)	57 (47,3–72,4)
Выраженная степень	85 (75,4–95,6)	98 (79,6–100,0)	35 (21,3–54,8)	98 (92,5–100,0)

отделах ЖКТ других уреазопродуцентов. Следует заметить, что *H. pylori* можно выявить методом ПЦР в смешанной слюне. В литературе подобных сообщений мы не обнаружили.

Всем *H. pylori*-инфицированным пациентам была проведена эрадикационная терапия. Спустя 4 нед после окончания лечения у 37 больных зарегистрировано отсутствие жалоб и каких-либо клинических проявлений основного заболевания. Отмечалась положительная динамика эндоскопической картины, сопровождаемая заживлением дуоденальных язв, улучшением морфологической структуры СОЖ и отсутствием *H. pylori* в биоптатах. Улучшилось состояние мягких тканей полости рта, красной каймы губ: уменьшилась отечность СОПР, исчезли заеды, отпечатки зубов и гиперкератоз на внутренней поверхности щек, ощущение жжения языка и сухости в полости рта, уменьшились в размерах очаги десквамации на языке, эпителизовались афты, снизилась кровоточивость десен. Со стороны твердых тканей зубов положительных изменений не установлено, даже после полного курса лечения. При неэф-

фективной эрадикационной терапии желаемой динамики клинических проявлений в полости рта не наблюдалось.

Заключение

Полученные результаты свидетельствуют о том, что у больных с гастродуоденальной патологией при наличии *H. pylori*-инфекции повышается уреазная активность в полости рта. В данном случае можно говорить о том, что быстрый уреазный тест может быть использован в комплексной диагностике *H. pylori* и в качестве неинвазивного скрининг-метода при массовых обследованиях. Выявление микроорганизма в полости рта с помощью экспресс-теста позволяет контролировать состояние обсемененности СОЖ.

Возможность получения результатов экспресс-метода в течение короткого времени, а также одновременного использования двух высокочувствительных методов диагностики (Хелпил-теста и гистологического метода) на одном и том же биоптате значительно повышает диагностическую

информативность без необходимости проведения дополнительных биопсий. Хелпил-тест не только качественно, но и количественно свидетельствует об уровне обсемененности *H. pylori* слизистой оболочки желудка и полости рта. Определить степень инфицирования можно, оценив интенсивность окрашивания взятого для исследования материала: «+» — слабая степень, «++» — средняя, «+++» — выраженная. Метод может быть использован также при динамическом наблюдении за пациентами с кислотозависимыми заболеваниями, получающими эрадикационную терапию.

В результате ПЦР-диагностики нами впервые выявлены *H. pylori* в смешанной слюне. В нашем исследовании мы обнаруживали наличие только *vacA*-позитивного штамма *H. pylori*, однако ранее доказано, что этот ген служит маркером наличия

sagA. Метод ПЦР-диагностики высокочувствительный, но достаточно трудоемкий.

Изучение мазков-отпечатков при цитологическом исследовании СОЖ позволяет регистрировать микроорганизмы, находящиеся не только на поверхности слизистой оболочки, но и располагающиеся в толще слизи. Однако часть геликобактерий в процессе приготовления препаратов может вымываться и теряться, что влияет на определение результатов.

Схожесть результатов цитологического метода и Хелпил-теста, проведенного на СОЖ, подтверждает информативность экспресс-метода. С большой вероятностью можно допустить, что экспресс-метод с такой же достоверностью определяет *H. pylori* в полости рта.

Список литературы

1. Войницкий А.Н., Лебедев Н.Н., Кузьмин-Крутецкий М.И. и др. Диагностика *H. pylori* быстрым уреазным тестом у больных с хроническими заболеваниями желудка и двенадцатиперстной кишки // Рос. журн. гастроэнтерол. гепатол. колопроктол. — 2001. — Т. 11, № 2 (прил. 13). — С. 27.
2. Григорьев П.Я., Жуховицкий В.Г., Яковенко Э.П., Таланова Е.В. Показания и методы исследования больных на *Helicobacter pylori* // Федеральный гастроэнтерологический центр при РКБ № 2 МЗ РФ, ГКБ им. С.П. Боткина. — 2007. — www.medi.ru/doc/6790103.htm.
3. Корниенко Е.А., Милейко В.Е., Дмитриенко М.А. и др. Методы оценки уреазной активности *in vivo* и *in vitro* и их место в диагностике инфекции *Helicobacter pylori* // Рос. журн. гастроэнтерол. гепатол. колопроктол. — 2000. — Т. 10, № 2 (прил. 10). — С. 37.
4. Маев И.В., Самсонов А.А. Применение современных антацидных средств в терапии кислотозависимых заболеваний желудочно-кишечного тракта: Справочник поликлинического врача. — 2005. — № 5. www.gastroscan.ru/batra/print14/maev06p.htm.
5. Цимбалитов А.В., Робакидзе Н.С. Влияние стоматологического статуса больных язвенной болезнью на инфицированность полости рта и слизистой оболочки желудка *Helicobacter pylori* // Клини. стоматология. — 2000. — № 3. — С. 16–18.
6. Чуков В.Д., Пасечников С.З. Определяют ли факторы вирулентности *H. pylori* характер гастродуоденальной патологии? // Рос. журн. гастроэнтерол. гепатол. колопроктол. — 2001. — Т. 11, № 2 (прил. 13). — С. 74.
7. Gebara E.C., Faria C.M., Pannuti C. et al. Persistence of *Helicobacter pylori* in the oral cavity after systemic eradication therapy // J. Clin. Periodontol. — 2006. — Vol. 33, N 5. — P. 329–333.
8. Ozdemir A., Mas M.R., Sahin S. et al. Department of Periodontology, Gülhane Military Medical Academy // Quintessence Int. — 2001. — Vol. 32, N 2. — P. 131–134.