

Изучение диагностической информативности выявления *Helicobacter pylori* у человека иммунохроматографическим методом

С.Г.Марданлы^{1,2}, С.В.Ротанов^{1,3}, Ю.А.Акиншина¹, М.А.Ханина²

¹АО «ЭКОлаб», Электрогорск, Российская Федерация;

²ГОУ ВО МО «Государственный гуманитарно-технологический университет», Орехово-Зуево, Российская Федерация;

³ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора, Оболensk, Московская область, Российская Федерация

Представлены результаты изучения показателей диагностической информативности исследований по выявлению *Helicobacter pylori* в образцах кала у людей с воспалительными заболеваниями желудка и двенадцатиперстной кишки с применением набора реагентов «ИХА-Хелико-антиген», основанном на принципах теста латерального потока (lateral flow test/LFT) или иммунохроматографического анализа. Установлены высокие показатели диагностической информативности разработанной тест-системы.

Ключевые слова: клиническая микробиология, *Helicobacter pylori*, диагностическая информативность, иммунохроматография, образцы кала

Для цитирования: Марданлы С.Г., Ротанов С.В., Акиншина Ю.А., Ханина М.А. Изучение диагностической информативности выявления *Helicobacter pylori* у человека иммунохроматографическим методом. Бактериология. 2024; 9(4): 56–63. DOI: 10.20953/2500-1027-2024-4-56-63

The study the diagnostic informativeness of the detection of *Helicobacter pylori* in humans by immunochromatographic method

S.G.Mardanly^{1,2}, S.V.Rotantov¹, Yu.A.Akinshina¹, M.A.Khanina²

¹JSC «EKOlab», Elektrogorsk, Russian Federation;

²State Humanitarian and Technological University, Orekhovo-Zuyevo, Russian Federation;

³State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology of Rospotrebnadzor, Obolensk, Moscow Region, Russian Federation

The results of studying the indicators of diagnostic information content of studies on the detection of *Helicobacter pylori* in fecal samples from people with inflammatory diseases of the stomach and duodenum using a kit of reagents “IHA-Helico-antigen” based on the principles of lateral flow test (LFT) or immunochromatographic analysis. The high diagnostic information content of the developed test system has been established.

Key words: clinical microbiology, *Helicobacter pylori*, diagnostic informative content, immunochromatography, stool samples

For citation: Mardanly S.G., Rotantov S.V., Akinshina Yu.A., Khanina M.A. The study the diagnostic informativeness of the detection of *Helicobacter pylori* in humans by immunochromatographic method. Bacteriology. 2024; 9(4): 56–63. (In Russian). DOI: 10.20953/2500-1027-2024-4-56-63

Для корреспонденции

Ротанов Сергей Владимирович, доктор медицинских наук, доцент, научный консультант отдела перспективных разработок АО «ЭКОлаб»; ведущий научный сотрудник отдела информационных технологий ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора

Адрес: 111399, Москва, ул. Новогиреевская, 22-52

Статья поступила 22.03.2024, принята к печати 25.12.2024

For correspondence:

Sergey V. Rotantov, MD, PhD, DSc, Associate Professor, scientific consultant of the department of advanced developments JSC “EKOlab”; Leading Researcher, Department of Information Technologies, State Research Center of Applied Microbiology and Biotechnology, Rospotrebnadzor

Address: 22-52 Novogireevskaya str., Moscow, 111399, Russian Federation

The article was received 22.03.2024, accepted for publication 25.12.2024

В соответствии с данными официальной статистической отчетности Роспотребнадзора у населения Российской Федерации в 2022 г. было выявлено 1211 новых случаев заболевания язвенной болезнью (ЯБ) желудка и двенадцатиперстной кишки, что составляет 49,4 случая на 100 000 населения [1]. Указанная патология широко распространена во всех странах мира, она чаще наблюдается у взрослого населения (с частотой 5–10%), максимум заболеваемости приходится на возраст 35–60 лет. Показатели заболеваемости ЯБ выше у жителей городов, нежели чем у сельских жителей; при этом исследователи расходятся в мнении о гендерных различиях в частоте выявлении ЯБ у мужчин и женщин. Отмечается более высокая заболеваемость населения ЯБ в развивающихся странах и социальных группах с низким уровнем материального обеспечения [2, 3].

ЯБ представляет собой хроническое заболевание, протекающее с чередованием периодов обострения (в весенние и осенние месяцы) и ремиссии; основное клиническое проявление болезни – болевой синдром и диспепсии из-за воспалительных изменений и образования язвенных дефектов на слизистой оболочке стенки желудка и/или двенадцатиперстной кишки.

По современным представлениям, в развитии воспалительных изменений слизистой оболочки при ЯБ важную, если не определяющую, роль играет инфицирование человека *Helicobacter pylori*. ~60% взрослого населения в мире (>3 млрд человек) поражено этим патогеном. При проведении эндоскопических исследований у населения в развивающихся странах эта спиралевидная бактерия часто выявляется уже в детском возрасте, а к середине жизни инфицированность достигает 90–95%. В России носительство *H. pylori* составляет от 60,7 до 100% [2, 3].

Учет клинических случаев ЯБ осуществляется в соответствии с Международной статистической классификацией болезней и проблем, связанных со здоровьем (МКБ-X) по рубрикам: K25.0-9 Язва желудка, K26.0-9 Язва двенадцатиперстной кишки; K27.0-9 Пептическая язва неуточненной локализации и дополнительно B98.0 *H. pylori* в качестве причины болезней, классифицированных в других рубриках [4]. Как видим, из приводимой классификации следует, что ЯБ может рассматриваться и как вариант идиопатического течения, где преобладает неинфекционный каузальный фактор, и как вариант, ассоциированный с инфицированием *H. pylori*. Считается, что *H. pylori*-независимые формы ЯБ встречаются с частотой ~10%, в то время как при *H. pylori*-ассоциированных формах ЯБ при локализации поражения в желудке этот патоген выявляются в 70%, а при поражении двенадцатиперстной кишки – в 90% случаев [5].

Основные пути инфицирования человека от больного хеликобактериозом: фекально-оральный, орально-оральный или ятрогенный (с инфицированными стоматологическими или эндоскопическими инструментами). Спектр патологического воздействия *H. pylori* на слизистую оболочку желудочно-кишечного тракта многообразен. Эти спиралевидные бактерии плотно прикрепляются к эпителиоцитам слизистой оболочки пилорического отдела желудка и двенадцатиперстной кишки и в процессе своей жизнедеятельности вырабатывают целый ряд ферментов, таких как уреазы, протеазы и фосфолипазы, каталаза и алкогольдегидрогеназа

(благодаря которым вокруг них образуются перекисные соединения и алкоголь, непосредственно повреждающие клетки слизистой оболочки), а также различные цитотоксины. Питание бактерии происходит за счет энергии расщепления трикарбоновых кислот и аминокислот пищевой массы. Под воздействием фермента уреазы *H. pylori* пристеночно в верхних отделах пищеварительного тракта больного происходит расщеплением мочевины с образованием аммиака, который взаимодействует с соляной кислотой желудочного сока, инактивируя ее и создавая благоприятные условия для жизнедеятельности бактерий.

Спиралевидные бактерии в тканях слизистой оболочки верхних отделов желудочно-кишечного тракта исследователи разных стран периодически выявляли у людей и животных в течение последних 150 лет, но трудности искусственного культивирования выявляемых бактерий не позволяли завершить их детальное изучение. Вопрос об этиологической роли *H. pylori* в развитии воспалительно-язвенных поражений слизистой оболочки желудка и двенадцатиперстной кишки окончательно был решен в 1981–1983 гг. австралийскими исследователями Б.Маршаллом (Barry J. Marshall) и Дж.Уорреном (J. Robin Warren), которые за свои комплексные исследования были удостоены Нобелевской премии 2005 г. по медицине и физиологии [5].

В более поздних научных исследованиях была доказана причинно-следственная связь инфицирования людей *H. pylori* и последующего развития у них аденокарциномы и MALT-лимфомы желудка. Установлено также влияние хеликобактерий на развитие у людей железодефицитной анемии, идиопатической тромбоцитопенической пурпуры, а также дефицита витамина B₁₂ [2, 3, 5, 6].

H. pylori является спиралевидной бактерией, не образующей спор, грамотрицательной, микроаэрофильной; на одном из полюсов имеется от 2 до 6 жгутиков, что обеспечивает ее активную подвижность в слизистой среде. При неблагоприятных внешних условиях возможна трансформация извитых форм бактерии в дормантные формы с обратимой утратой жгутиков [5–7].

Штаммы *H. pylori* неоднородны и отличаются по факторам патогенности и адаптации к жизни в кислой среде. Так, хеликобактерии I типа наиболее патогенны, так как имеют в своем геноме ген *cagA*, кодирующий экспрессию цитокин-ассоциированного белка (CagA), и ген *vacA*, отвечающий за образование вакуолизирующего цитотоксина (VacA). >40 генов вирулентности у хеликобактерий I типа сгруппированы в одном из сегментов хромосомы, который обозначается как «островок патогенности» (pathogenicity island/PAI). Штаммы I типа обладают более выраженной адгезией к эпителиоцитам и вызывают наиболее выраженное повреждающее действие на структуры слизистой оболочки макроорганизма. Штаммы хеликобактерий II типа не имеют гена *cagA*, что приводит к утере способности синтеза цитотоксинов CagA и VacA; эти штаммы не имеют PAI, они быстро поглощаются и перевариваются макрофагами. Таким образом, ген *cagA* является маркером штаммов с цитотоксическими свойствами и ассоциируется с развитием ЯБ, аденокарциномы и лимфомы [6, 7].

В процессе жизнедеятельности хеликобактер стимулирует адаптивный иммунитет макроорганизма, что приводит к

выработке защитных иммуноглобулинов разных классов. Эти факторы иммунитета не обеспечивают полного уничтожения *H. pylori*, и воспалительный процесс становится хроническим.

Клиническое течение ЯБ может сопровождаться тяжелыми осложнениями в виде кровотечений из поврежденных сосудов или даже прободения стенки желудка или двенадцатиперстной кишки с развитием перитонита. Появлению тяжелых осложнений способствуют такие факторы, как нарушение диеты, курение, физические нагрузки, прием ряда медикаментов (аспирин или нестероидные противовоспалительные препараты), тип колонизирующего макроорганизм штамма хеликобактера.

Для успешной терапии больного ЯБ необходимо своевременное проведение комплекса диагностических исследований. Действующими международными и национальными клиническими рекомендациями научных сообществ гастроэнтерологов регламентируется применение современных методов обследования больных для выявления *H. pylori*, выявления у бактерий молекулярно-генетических факторов патогенности и маркеров чувствительности к лекарственным средствам (антибиотикам), назначаемым с целью эрадикации патогена [8–10].

Среди диагностических технологий определения у больного *H. pylori* с неинвазивным получением образцов биоматериала следует относить:

- дыхательный тест с мочевиной, меченой ^{13}C (как для первичной диагностики, так и для контроля успешности проводимой терапии);
- исследование образца кала для определения антигена *H. pylori* в тесте бокового потока (иммунохроматографическом анализе);
- выявление антигенов *H. pylori* или маркеров его патогенности (генов *sagA* или *vacA*) в кале методом полимеразной цепной реакции (ПЦР).

Инвазивными являются методы диагностики *H. pylori* в биоптатах слизистой оболочки желудка, полученных при эзофагогастродуоденоскопии:

- быстрый уреазный тест с биоптатом,
- гистологическое исследование,
- выявление антигенов *H. pylori* или маркеров его патогенности (генов *sagA* или *vacA*) в ПЦР с биоптатом слизистой оболочки.

Инвазивными являются также и технологии иммунохимического определения в крови иммуноглобулинов разных классов к *H. pylori* (иммуноферментный, иммунохемилюминесцентный анализ и др.).

Разработаны условия и селективные плотные питательные среды для культивирования этого патогена и определения чувствительности выделенных штаммов к антимикробным препаратам, но они трудоемки, носят в большей мере исследовательский характер и в практическом здравоохранении не применяются.

Оптимальным по способу получения и времени выполнения неинвазивным методом обследования пациента является выявление антигена *H. pylori* в образцах кала, чему и посвящено это исследование.

Цель работы: оценка показателей диагностической информативности (клинической чувствительности и специфич-

ности, воспроизводимости, предсказательной ценности положительных и отрицательных результатов исследования) разработанного нами набора реагентов для одноэтапного качественного выявления *H. pylori* в образцах кала человека, основанном на технологии иммунохроматографического анализа [11].

Материалы и методы

Показатели диагностической информативности рассчитывали в соответствии с указаниями Национального стандарта РФ ГОСТ Р 53022.3-2008 «Технологии лабораторные клинические. Требования к качеству клинических лабораторных исследований. Часть 3. Правила оценки клинической информативности лабораторных тестов» [12, 13].

Применялись наборы реагентов медицинского изделия «Тест-система иммунохроматографическая для качественного выявления *Helicobacter pylori* в образцах кала человека «ИХА-Хелико-антиген» производства АО «ЭКОлаб», РУ № РЗН 2019/9188 от 07.11.2019 (производственные серии 3/1236 от 2022 г., 1/2544 и 2/2736 от 2023 г.). Все исследования осуществляли в соответствии с прилагаемой к набору утвержденной инструкцией по его применению [11].

Основу указанного набора составляют реакционные пластиковые кассеты [11, 14–17], содержащие тестовые полоски, которые представляют собой уложенные в определенном порядке мембраны разной природы на твердой подложке из поливинилхлорида (рис. 1).

Подготовка проб для исследования

Для исследования получали свежие образцы кала обследуемых лиц, собранные в маркированные транспортные контейнеры или чашки Петри, не содержащие консерванты.

Аккуратно отвинчивали крышку одноразового пластикового флакона-капельницы с 2,0 мл буферного раствора для разведения пробы кала (входит в состав набора реагентов «ИХА-Хелико-антиген»). Используя аппликатор, закрепленный изнутри на крышке флакона, из разных локаций транспортного контейнера или чашки Петри отбирали небольшое

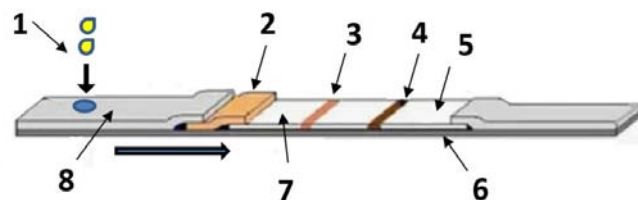


Рис. 1. Композиционная схема тест-полосок в составе набора реагентов «ИХА-Хелико-антиген»: 1 – образец; 2 – мембрана с конъюгатами мышиных антител и антител к *H. pylori* с коллоидным золотом; 3 – тестовая линия с антителами к *H. pylori*; 4 – контрольная линия с антивидами антителами; 5 – адсорбционная мембрана; 6 – твердая подложка из поливинилхлорида; 7 – иммуносорбент (нитроцеллюлозная мембрана); 8 – мембрана для образца.

Fig. 1. Compositional diagram of test strips in the IHA-Helico-antigen reagent kit: 1 – sample; 2 – membrane with conjugates of mouse antibodies and antibodies to *H. pylori* with colloidal gold; 3 – test line with antibodies to *H. pylori*; 4 – control line with anti-species antibodies; 5 – adsorption membrane; 6 – solid support made of polyvinyl chloride; 7 – immunosorbent (nitrocellulose membrane); 8 – membrane for sample.



Рис. 2. Рекомендуемая схема сбора и разведения исследуемых проб кала.

Fig. 2. Recommended scheme for collecting and diluting stool samples for testing.

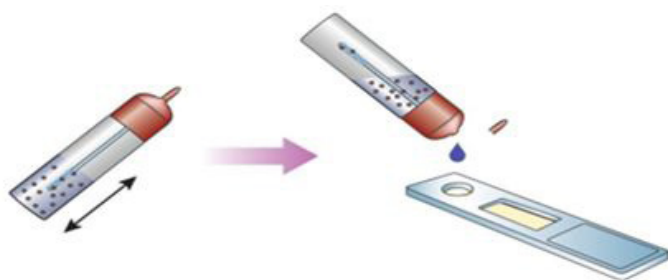


Рис. 3. Подготовка флакона-капельницы для внесения пробы на тест-кассету.

Fig. 3. Preparing a dropper bottle for adding a sample to the test cassette.

количество кала (200–250 мкг), переносили во флакон-капельницу. Крышку флакона завинчивали и несколько раз осторожно встряхивали для растворения пробы (рис. 2). Проба готова к исследованию. Для каждого образца кала использовали отдельный флакон-капельницу.

До исследования образцы кала хранили при температуре 2–8°C не более 2 суток; для более длительного хранения их замораживали при температуре -20°C и ниже. Перед исследованием образцы кала полностью размораживали и доводили до комнатной температуры; допускали только однократный цикл замораживания и оттаивания.

Порядок проведения исследования.

Все компоненты набора и подготовленные к исследованию образцы доводили до комнатной температуры (18–25°C).

Надев медицинские перчатки, извлекали тест-кассету из индивидуальной упаковки, не касаясь пальцами окна для внесения образца, маркировали ее кодовым номером пациента и размещали на ровной горизонтальной поверхности рабочего стола.

Встряхивали подготовленный флакон-капельницу с пробой, отламывали выступающий кончик на крышке и вносили по 3 капли суспензии исследуемого образца (100 мкл) в круглое отверстие тест-кассеты (рис. 3). Исследование проводили при комнатной температуре. Через 5–10 мин визуально оценивали результат исследования.

Принцип работы теста «ИХА-Хелико-антиген»

При наличии в исследуемой пробе антигенов *H. pylori* они связываются на мембране со специфичным конъюгатом (моноклональные антитела к антигенам *H. pylori*, меченные коллоидным золотом); в результате чего образуются иммунные комплексы «антиген исследуемой пробы + антитело конъюгата», которые мигрируют с током жидкости вдоль мембраны. В тестовой зоне мембраны (Т-зона) происходит взаимодействие этого иммунного комплекса с иммобилизованными на указанном участке моноклональными антителами к антигенам *H. pylori* с образованием более сложного комплекса «антитело подложки + антиген исследуемой пробы + антитело конъюгата». Накопление этих сложных иммунных комплексов в тестовой зоне формирует окрашенную розовую линию (положительный результат); интенсивность цвета линии пропорциональна количеству антигена *H. pylori*, содержащемуся в исследуемой пробе.

При отсутствии в исследуемой пробе искомого анализата не происходит образование сложных иммунных комплексов и их накопление в Т-зоне мембраны; окрашенная линия не формируется – отрицательный результат.

При любом сценарии не вступившие в реакцию в Т-зоне конъюгаты, продвигаясь вдоль мембраны, взаимодействуют с антителами, иммобилизованными в области контрольной зоны (С), с образованием окрашенного иммунного комплекса. Цветная контрольная С-линия должна формироваться всегда, независимо от наличия антигенов *H. pylori* в образце, что является внутренним контролем валидации рабочей мембраны и соблюдения условий проведения исследования. Отсутствие окрашенной контрольной полосы по завершении теста (через 10 мин наблюдения) свидетельствует о нарушении свойств использованной мембраны, результат определения считается недействительным, необходимо повторное исследование пробы с валидной кассетой (рис. 4).

Отрицательный результат исследования указывает на отсутствие антигенов *H. pylori* в исследуемой пробе или их наличие в концентрации ниже порога детекции. Положительный результат анализа указывает на выявление *H. pylori* в исследуемой пробе.

Избыточное количество образца кала во флаконе-капельнице может приводить к появлению некорректных результатов (появлению нечетких линий темного цвета); необходимо повторно приготовить разведение образца кала с меньшим количеством твердого образца и повторить исследование с новой тест-кассетой «ИХА-Хелико-антиген».

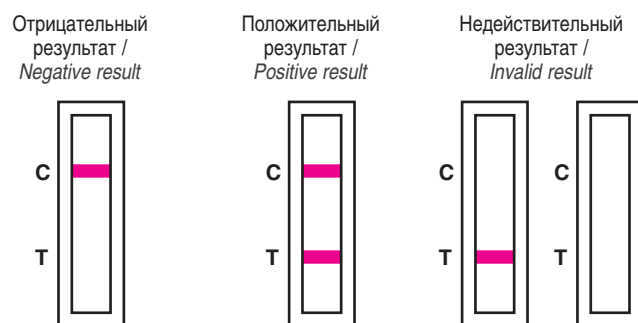


Рис. 4. Критерии интерпретации полученного результата в иммунохроматографическом исследовании.

Fig. 4. Criteria for interpreting the results obtained in an immunochromatographic study.

Таблица 1. Результаты исследований с «ИХА-Хелико-антиген» образцов кала, предварительно характеризованных по содержанию возможных интерферирующих факторов
Table 1. Results of studies with the «IHA-Helico-antigen» of stool samples, previously characterized by the content of possible interfering factors

Образцы кала / Stool samples	Кол-во / Quantity	Результаты исследований с «ИХА-Хелико-антиген» / Results of studies with «IHA-Helico-antigen»					
		серия 3/1236 от 2022 г. / series 3/1236 from 2022		серия 1/2544 от 2023 г. / series 1/2544 from 2023		серия 2/2736 от 2023 г. / series 2/2736 from 2023	
		+	-	+	-	+	-
с <i>H. pylori</i> и повышенным содержанием билирубина / with <i>H. pylori</i> and elevated bilirubin levels	42	42 (100%)	0 (0%)	42 (100%)	0 (0%)	42 (100%)	0 (0%)
с <i>H. pylori</i> и повышенным содержанием аскорбиновой кислоты / with <i>H. pylori</i> and high levels of ascorbic acid	38	38 (100%)	0 (0%)	38 (100%)	0 (0%)	38 (100%)	0 (0%)
с <i>H. pylori</i> и повышенным содержанием триглицеридов / with <i>H. pylori</i> and elevated triglycerides	39	39 (100%)	0 (0%)	39 (100%)	0 (0%)	39 (100%)	0 (0%)
без <i>H. pylori</i> , с повышенным содержанием билирубина / without <i>H. pylori</i> , with elevated bilirubin	35	0 (0%)	35 (100%)	0 (0%)	35 (100%)	0 (0%)	35 (100%)
без <i>H. pylori</i> , с повышенным содержанием аскорбиновой кислоты / without <i>H. pylori</i> , with increased ascorbic acid content	34	0 (0%)	34 (100%)	0 (0%)	34 (100%)	0 (0%)	34 (100%)
без <i>H. pylori</i> , с повышенным содержанием триглицеридов / without <i>H. pylori</i> , with elevated triglyceride levels	32	0 (0%)	32 (100%)	0 (0%)	32 (100%)	0 (0%)	32 (100%)

+ – положительный результат, – – отрицательный результат.

В качестве контрольного материала для оценки параметров качества разработанного теста применяли стандартные образцы предприятия (СОП-275), содержащие и не содержащие рекомбинантные белки, являющиеся полными аналогами антигенов *H. pylori*.

В качестве референс-системы был использован «Тест иммунохроматографический «РЭД *Helicobacter pylori*» для *in vitro* одноэтапного быстрого качественного выявления *Helicobacter pylori* в кале» (выпуска ООО «РЭД», Москва, по РУ № ФСР 2012/13624 от 29.06.2012); серии 180805-01 и 210376-01.

При изучении показателей диагностической информативности разработанного набора реагентов были проанализированы результаты исследований с образцами кала, содержащими ($n = 274$) и не содержащими ($n = 261$) *H. pylori*, полученными от больных и проходивших диспансерное обследование здоровых лиц из:

- МУЗ «Павлово-Посадская ЦРБ» (лицензия на осуществление медицинской деятельности №ЛО-50-01-004916 от 18.12.2013);
- ГБУЗ МО «Электрогорская городская больница» (лицензия №ЛО-50-01-006444 от 19.02.2015);
- диагностического центра «El'Clinic» АО «ЭКОлаб» (лицензия №ЛО-50-01-006551 от 08.04.2015).

Пациенты указанных клинических учреждений имели разные диагнозы в соответствии с МКБ-Х из разделов K25–K30 [4]; все они подписывали информированное согласие на проведение клинических лабораторных исследований.

С целью изучения факторов потенциальной интерференции на результаты иммунохроматографических исследований и выявления возможных перекрестных реакций из общего числа предоставленных для исследования образцов кала дополнительно были выделены пробы (как содержавшие, так и не содержавшие *H. pylori*) с учетом следующих показателей: повышенное содержание билирубина (соответственно $n = 24$ и $n = 35$), аскорбиновой кислоты (соответ-

ственно $n = 25$ и $n = 32$) или триглицеридов (соответственно $n = 26$ и $n = 32$).

Результаты исследования и их обсуждение

1. На начальном этапе работы была проведена оценка рабочих свойств трех последовательных серий набора «ИХА-Хелико-антиген» (по ТУ 21.20.23-275-70423725-2019) с контрольными материалами СОП-275 (образцы №1 и №2 – не содержавшие *H. pylori*, образцы №3 и №4 – содержавшие *H. pylori*) в трех повторах с каждым образцом.

Результаты испытаний установили развитие окраски на тест-полосках через 6–7,5 мин наблюдения в зоне контроля для образцов №1 и №2 СОП-275 и в тест-зонах и зонах контроля для образцов №3 и №4 СОП-275, что позволило оценить полное соответствие реакционных кассет рабочих серий набора «ИХА-Хелико-антиген» нормативной документации по показателям чувствительности, специфичности, воспроизводимости и времени достижения устойчивых результатов.

2. Продолжением исследования явилась оценка влияния на результаты определения с набором «ИХА-Хелико-антиген» возможных интерферирующих факторов, таких как повышенное содержание билирубина, аскорбиновой кислоты или триглицеридов в образцах кала с *H. pylori* (соответственно $n = 42$, 38 и 39) или без *H. pylori* (соответственно $n = 35$, 34 и 32) (табл. 1).

Таким образом, результатами испытаний показано отсутствие интерференции изученных факторов на результаты определения антигенов *H. pylori* в образцах кала и, как следствие, получения ложных положительных или ложноотрицательных результатов исследования.

3. Изучение показателей диагностической информативности в соответствии с указаниями Национального стандарта Российской Федерации ГОСТ Р 53022.3-2008 [12] было проведено с использованием 535 образцов кала, содержавших и не содержавших *H. pylori*.

Таблица 2. Результаты исследований с «ИХА-Хелико-антиген» и набором реагентов сравнения
Table 2. Results of studies with "IHA-Helico-antigen" and a set of comparison reagents

Образцы кала / Stool samples	n	Результаты исследования с «ИХА-Хелико-антиген» / Results of studies with «IHA-Helico-antigen»						Результаты исследования с «РЭД <i>H. pylori</i> » / Results of the study with «RED <i>H. pylori</i> »	
		серия 3/1236 от 2022 г. / series 3/1236 from 2022		серия 1/2544 от 2023 г. / series 1/2544 from 2023		серия 1/2544 от 2023 г. / series 1/2544 from 2023		+	–
		+	–	+	–	+	–		
Содержавшие <i>H. pylori</i> / containing <i>H. pylori</i>	274	274 (100%)	0 (0%)	272 (99,27%)	2 (0,73%)	273 (99,64%)	1 (0,036%)	124 (100%)	0 (0%)
Не содержавшие <i>H. pylori</i> / did not contain <i>H. pylori</i>	261	3 (1,15%)	258 (98,85%)	1 (0,38%)	260 (99,62%)	0 (0%)	261 (100%)	0 (0%)	261 (100%)

+ – положительный результат, – – отрицательный результат.

Образцы кала, содержавшие *H. pylori* ($n = 274$), были получены от больных, проходивших обследование и лечение по поводу гастрита или ЯБ в лечебно-профилактических учреждениях Московской области с разными диагнозами по МКБ-X (2003 г.): K25.3 – язва желудка острая без кровотечения и прободения ($n = 23$), K25.7 – язва желудка хроническая без кровотечения и прободения ($n = 21$), K26.7 – язва двенадцатиперстной кишки острая без кровотечения и прободения ($n = 54$), K27.7 – язва хроническая пептическая неуточненной локализации без кровотечения или прободения ($n = 21$), K29.1 – другие острые гастриты ($n = 16$); K29.3 – хронический поверхностный гастрит ($n = 96$), K29.4 – хронический атрофический гастрит ($n = 27$), K30 – функциональная диспепсия ($n = 16$).

По результатам лабораторного обследования образцов кала с наборами реагентов сравнения «РЭД *Helicobacter pylori*» все пациенты дополнительно были отнесены к рубрике: B98.0 – *H. pylori* в качестве причины болезней, классифицированных в других рубриках. Распределение обследованных пациентов по полу и возрасту: 155 мужчин и 119 женщин в возрасте от 18 до 65 лет.

Образцы кала, не содержавшие *H. pylori* ($n = 261$), были получены от лиц, не предъявлявших жалобы на заболевание желудка или двенадцатиперстной кишки, проходивших плановое диспансерное обследование. В этой группе были представлены 159 женщин и 102 мужчины в возрасте от 25 до 62 лет.

Результаты проведенных исследований представлены в табл. 2; при этом были применены следующие критерии оценки [12]:

- истинно положительные результаты – положительные результаты, полученные в группе больных;
- ложноотрицательные результаты – отрицательные результаты, полученные при обследовании больных лиц;
- ложноположительные результаты – положительные результаты, полученные при обследовании лиц без заболевания (у «здоровых лиц»);
- истинно отрицательные результаты – отрицательные результаты, полученные при обследовании лиц без заболевания.

На основании изучения и анализа полученных данных были рассчитаны показатели диагностической информативности результатов обследования с использованием набора реагентов «ИХА-Хелико-антиген», разработанного АО «ЭКОлаб» [12, 13, 18]:

1) априорная вероятность болезни = $(a + c) / (a + b + c + d)$ – доля больных в обследуемой группе; показатель составил 51,21%;

2) клиническая чувствительность = $a / (a + c)$ – доля истинно положительных результатов в группе больных; для каждой серии набора соответственно 100; 99,27 и 99,64%; средний показатель – 99,64%;

3) клиническая специфичность = $d / (b + d)$ – доля истинно отрицательных результатов в группе здоровых лиц; соответственно 99,85; 99,62 и 100%; средний показатель – 99,49%;

4) предсказательная ценность положительного результата = $a / (a + b)$ – доля истинно положительных результатов среди всех положительных результатов; соответственно 98,92; 99,63 и 100%; средний показатель – 99,52%;

5) предсказательная ценность отрицательного результата = $d / (c + d)$ – доля истинно отрицательных результатов среди всех отрицательных результатов; соответственно 100; 99,29 и 99,62%; средний показатель – 99,62%;

6) диагностическая эффективность теста, или индекс точности = $(a + d) / (a + b + c + d)$ – доля истинных результатов среди всех результатов теста; соответственно 99,44; 99,44 и 99,81%; средний показатель – 99,56%;

7) отношение правдоподобия положительного результата теста = $a / (a + c) / b / (b + d)$ [12] или = чувствительность / $(1 - \text{специфичность})$ [13, 18] – вероятность обнаружения признака у больного по отношению к вероятности такого же обнаружения у пациента без заболевания или показатель, во сколько раз вероятность получения положительного результата у больного выше, чем у здорового лица; средний показатель – 195,37;

8) отношение правдоподобия отрицательного результата теста = $c / (a + c) / d / (b + d)$ или = $(1 - \text{чувствительность} / \text{специфичность})$ [13, 18] – вероятность обнаружения признака у пациента без заболевания по отношению к вероятности такого же обнаружения у больного или показатель, во сколько раз вероятность получения отрицательного у больного ниже, чем у здорового лица; средний показатель – 0,0036.

Таким образом, в результате проведенных клинических лабораторных испытаний была показана высокая клиническая чувствительность (99,64%) и клиническая специфичность (99,49%) результатов лабораторных иммунохроматографических исследований, высокие уровни предсказательной ценности положительных и отрицательных результатов (соответственно 99,52 и 99,62%), что характеризует общую диагностическую эффективность теста на уровне 99,56%. Показатели правдоподобия полученных положительных (195,37) и отрицательных результатов (0,0036) позволяют с высокой долей уверенности применять получаемые при ис-

пользовании набора реагентов «ИХА-Хелико-антиген» данные для установления или подтверждения клинических диагнозов у обследуемых лиц, а также в процессе проведения этиотропной терапии.

Заключение

На предприятии АО «ЭКОлаб» (г. Электрогорск) был разработан и зарегистрирован в Российской Федерации набор реагентов «ИХА-Хелико-антиген» для одноэтапного быстрого качественного выявления антигенов *H. pylori* в образцах кала человека методом иммунохроматографического анализа с целью первичной диагностики инфекции *H. pylori* (ПУ № РЗН 2019/9188 от 07.11.2019) и с 2020 г. организован его серийный производственный выпуск.

Изучение трех производственных серий набора позволило установить его полное соответствие нормативной документации (ТУ 21.20.23-275-70423725-2019) по показателям чувствительности, специфичности, воспроизводимости результатов исследования и времени достижения устойчивых результатов. Не выявлено ложноположительных или ложноотрицательных результатов в иммунохроматографических исследованиях с повышенным содержанием возможных интерферирующих факторов (билирубина, аскорбиновой кислоты или триглицеридов).

Анализ результатов клинического изучения 535 образцов кала, в т.ч. содержащих ($n = 274$) и не содержащих ($n = 261$) *H. pylori*, с реагентами набора «ИХА-Хелико-антиген» позволил рассчитать показатели диагностической информативности теста: высокие по клинической чувствительности (99,64%), клинической специфичности (99,49%) и воспроизводимости результатов, общей диагностической эффективности (99,56%), предсказательной ценности положительных (99,52%) и отрицательных (99,62%) результатов. Показатели правдоподобия полученных положительных (195,37) и отрицательных (0,0036) результатов позволяют с высокой долей уверенности рекомендовать применение набора реагентов «ИХА-Хелико-антиген» в лечебно-диагностических учреждениях здравоохранения для установления клинических диагнозов при оказании медицинской помощи населению.

Информация о финансировании

Исследование выполнено при спонсорской поддержке АО «ЭКОлаб».

Financial support

The study was carried out with the sponsorship of JSC "EKOlab".

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of interests

The authors declare the absence of conflict of interests.

Литература

1. Язвенная болезнь и ее профилактика [Электронный ресурс]. Режим доступа: <https://34.rospotrebnadzor.ru/content/281/14093/> (дата обращения: 28.02.2024).

2. Руссиянов ВВ, Афанасенкова ТЕ, Никитин ГА, Ильющенов ПА. Обсемененность слизистой оболочки желудка *Helicobacter pylori* при язвенной болезни и хроническом гастрите в разные сезоны года. Журнал экспериментальной, клинической и профилактической медицины (Врач-аспирант). 2013;56(1.2):281-285.
3. Пахомова АЛ. Антисекреторная терапия язвенной болезни. Бюллетень медицинских интернет-конференций. 2012;2(5):269-293.
4. МКБ-10 – Бактериальные, вирусные и другие инфекционные агенты (B95-B98). [Электронный ресурс]. Режим доступа: <https://mkb-10.com/index.php?pid=918> (дата обращения: 28.02.2024).
5. Бордин ДС, Шенгелия МИ, Иванова ВА, Войнован ИН. История открытия бактерии *Helicobacter pylori*. Терапевтический архив. 2022;94(2):283-288. DOI: 10.26442/00403660.2022.02.201377
6. Исаева ГШ, Валиева РИ. Биологические свойства и вирулентность *Helicobacter pylori*. Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. 2018;20(1):14-23. DOI: 10.36488/cmac.2018.1.14-23
7. Голубкина ЕВ, Камнева ЕВ, Умерова АР. Роль *cagA* гена в диагностике ассоциированных с *Helicobacter pylori* заболеваний желудка и двенадцатиперстной кишки. Астраханский медицинский журнал. 2017;12(2):8-14.
8. Ивашкин ВТ, Маев ИВ, Лапина ТЛ, Шептулин АА, Трухманов АС, Баранская ЕК, и др. Клинические рекомендации Российской гастроэнтерологической ассоциации по диагностике и лечению инфекции *Helicobacter pylori* у взрослых. Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии. 2018;28(1):55-70. DOI: 10.22416/1382-4376-2018-28-1-55-70
9. Лазебник ЛБ, Бордин ДС, Дехнич НН, и др. VII Национальные рекомендации по диагностике и лечению заболеваний, ассоциированных с *Helicobacter pylori* (VII Московские соглашения): Методические рекомендации. Рос. научн. мед. об-во терапевтов; Научн. об-во гастроэнтерол. России. 2021.
10. Пиманов СИ, Макаренко ЕВ. Обновленные рекомендации: Маастрихт VI. Флорентийского консенсуса по лечению инфекции *Helicobacter pylori*. Consilium Medicum. 2022;24(12):851-859. DOI: 10.26442/20751753.2022.12.20 2045
11. Акиншина ЮА, Марданлы СГ, Ротанов СВ, Ханина МА. Об иммунохроматографическом выявлении *Helicobacter pylori* у человека. Клиническая лабораторная диагностика. 2024;69(4):123-130. DOI: 10.51620/0869-2084-2024-69-4-123-130
12. Национальный стандарт РФ ГОСТ Р 53022.3-2008 «Технологии лабораторные клинические. Требования к качеству клинических лабораторных исследований. Часть 3. Правила оценки клинической информативности лабораторных тестов» (утв. Приказом Росстандарт №557-ст от 18.12.2008).
13. Гринхальх Т. Гл. 7: Статьи, посвященные исследованиям диагностических и скрининговых тестов. В кн.: Основы доказательной медицины (пер. с англ. под ред. Денисова ИН и Сайткулова КИ. 3-е изд. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2009). Мед. образование и профессиональное развитие. 2012;7(1):67-77.
14. Акиншина ЮА, Марданлы СГ, Ротанов СВ, Помазанов ВВ, Киселева ВА. О количественном определении D-димера в крови иммунохроматографическим методом. Клиническая лабораторная диагностика. 2022;67(2):91-96. DOI: 10.51620/0869-2084-2022-67-2-91-96
15. Серякова ПВ, Марданлы СГ. Разработка иммунохроматографической тест-системы для качественного определения миоглобина. Известия ГГТУ. Медицина, фармация. 2022;13(1):53-54. DOI: 10.51620/2687-1521-2022-1-13-53-54
16. Акиншина ЮА, Марданлы СГ. Иммунохроматографический тест для количественного определения простатспецифического антигена (ПСА) в сыворотке, плазме или цельной крови человека «ИХА-ПСА». Известия ГГТУ. Медицина, фармация. 2023;14(2):9-14. DOI: 10.51620/2687-1521-2023-2-14-9-14
17. Акиншина ЮА, Марданлы СГ, Ротанов СВ, Малышев ВВ, Змеева ТА, Гумилевский БЮ, и др. Разработка иммунохроматографического набора

реагентов для выявления ротавирусов. Клиническая лабораторная диагностика. 2023;68(11):672-679. DOI: 10.51620/0869-2084-2023-68-11-672-679

18. McGee S. Simplifying likelihood ratios. J Gen Intern Med. 2002 Aug;17(8):646-9. DOI: 10.1046/j.1525-1497.2002.10750.x

References

1. Peptic ulcer and its prevention [Electronic resource]. Website of the Rospotrebnadzor Office at 04.09.2023. Available at: <https://34.rospotrebnadzor.ru/content/281/14093/> (accessed 28.02.2024). (In Russian).
2. Russiyanov VV, Afanasenkova TE, Nikitin GA, Il'yushchenov PA. Dissemination of a mucous membrane of stomach *Helicobacter pylori* at peptic ulcer and chronic gastritis during different seasons of year. Postgraduate Doctor. 2013;56(1.2):281-285.
3. Pakhomova AL. Antisecretory therapy for peptic ulcer. Bulletin of Medical Internet Conferences. 2012;2(5):269-293. (In Russian).
4. International Classification of Diseases, 10th revision (ICD-10). [Electronic resource]. Available at: <https://mkb-10.com/index.php?pid=918> (accessed 28.02.2024). (In Russian).
5. Bordin DS, Shengelia MI, Ivanova VA, Voynovan IN. The history of the discovery of the *Helicobacter pylori*. Terapevticheskii arkhiv. 2022;94(2):283-288. DOI: 10.26442/00403660.2022.02.201377 (In Russian).
6. Isaeva GSh, Valieva RI. Biological properties and virulence *Helicobacter pylori*. Clinical Microbiology and Antimicrobial Chemotherapy. 2018;20(1):14-23. DOI: 10.36488/cmac.2018.1.14-23 (In Russian).
7. Golubkina EV, Kamneva NV, Umerova AR. Role of the *cagA* gene in diagnostics of *Helicobacter pylori* associated diseases of stomach and duodenum. Astrakhan Medical Journal. 2017;12(2):8-14. (In Russian).
8. Ivashkin VT, Mayev IV, Lapina TL, Sheptulin AA, Trukhmanov AS, Baranskaya YeK, et al. Diagnostics and treatment of *Helicobacter pylori* infection in adults: clinical guidelines of the Russian gastroenterological association. Russian Journal of Gastroenterology, Hepatology, Coloproctology. 2018;28(1):55-70. DOI: 10.22416/1382-4376-2018-28-1-55-70 (In Russian).
9. Lazebnik LB, Bordin DS, Dekhnich NN, et al. VII National recommendations for the diagnosis and treatment of diseases associated with *Helicobacter pylori* (VII Moscow Agreements): Methodological recommendations. Rossiiskoe nauchnoe meditsinskoe obshchestvo terapevtov, Nauchnoe obshchestvo gastroenterologov Rossii. 2021. (In Russian).
10. Пиманов СИ, Макаренко ЕВ. Обновленные рекомендации: Маастрихт VI. Флорентийского консенсуса по лечению инфекции *Helicobacter pylori*. Consilium Medicum. 2022;24(12):851-859. DOI: 10.26442/20751753.2022.12.20 2045 (In Russian).
11. Akinshina YuA, Mardany SG, Rotanov SV, Khanina MA. On immunochromatographic detection of *Helicobacter pylori*. Russian Clinical Laboratory Diagnostics. 2024;69(4):123-130. DOI: 10.51620/0869-2084-2024-69-4-123-130 (In Russian).

12. National standard of the Russian Federation GOST R 53022.3-2008 "Clinical laboratory technologies. Requirements for the quality of clinical laboratory research. Part 3. Rules for assessing the clinical informativeness of laboratory tests" (approved by Order of Rosstandart No 557st, dated December 18, 2008). (In Russian).
13. Greenhalgh T. Glava 7: Stati posviashchennye issledovaniyam diagnosticheskikh i skringirovnykh testov. In In the book: Fundamentals of evidence-based medicine (transl. from English, ed. by Denisov IN and Saitkulov KI. 3rd ed. M.: GEOTAR-Media Publ., 2009). Med obrazovanie i professionalnoe razvitiye. 2012;7(1):67-77. (In Russian).
14. Akinshina YuA, Mardany SG, Rotanov SV, Pomazanov VV, Kiseleva VA. About quantitative determination of the D-dimer in the blood by immunochromatographic method. Russian Clinical Laboratory Diagnostics. 2022;67(2):91-96. DOI: 10.51620/0869-2084-2022-67-2-91-96 (In Russian).
15. Serikova PV, Mardany SG. Development of an immunochromatographic test system for the qualitative determination of myoglobin. Izvestia GGTU. Meditsina, Farmatsiya. 2022;13(1):53-54. DOI: 10.51620/2687-1521-2022-1-13-53-54 (In Russian).
16. Akinshina YuA, Mardany SG. Immunochromatographic test for semi-quantitative determination of prostate-specific antigen (PSA) in human serum, plasma or whole blood "IHA-PSA". Izvestia GGTU. Meditsina, Farmatsiya. 2023;14(2):9-14. DOI: 10.51620/2687-1521-2023-2-14-9-14 (In Russian).
17. Akinshina YuA, Mardany SG, Rotanov SV, Malyshev VV, Zmeeva TA, Gumilevsky BYu, et al. Development of a immunochromatographic test kit for the detection of rotaviruses. Russian Clinical Laboratory Diagnostics. 2023;68(11):672-679. DOI: 10.51620/0869-2084-2023-68-11-672-679 (In Russian).
18. McGee S. Simplifying likelihood ratios. J Gen Intern Med. 2002 Aug;17(8):646-9. DOI: 10.1046/j.1525-1497.2002.10750.x

Информация о соавторах:

Марданлы Сейфаддин Гашимович, доктор медицинских наук, профессор, президент и директор по науке АО «ЭКОлаб», профессор кафедры фармакологии и фармацевтических дисциплин ГОУ ВО Московской области «Государственный гуманитарно-технологический университет»

Акиншина Юлия Александровна, руководитель научно-производственного отдела иммунохроматографических тест-систем АО «ЭКОлаб»

Ханина Миниса Абдуллаевна, доктор фармацевтических наук, заведующая кафедрой фармацевтической химии и фармакогнозии ГОУ ВО Московской области «Государственный гуманитарно-технологический университет»

Information about co-authors:

Seyfaddin G. Mardany, MD, PhD, DSc, Professor, President and Director of Science of JSC "ECOLab", Professor of the Department of Pharmacology and Pharmaceutical Disciplines, State Humanitarian and Technological University

Yulia A. Akinshina, Head of the Scientific and Production Department of Immunochromatographic Test Systems of JSC "ECOLab"

Minisa A. Khanina, DSc in Pharmaceutical Sciences Head of the Department of Pharmaceutical Chemistry and Pharmacognosy, State Humanitarian and Technological University