

4. Bartolome J.A., Khalloub P., de la Sota R.L., Drillich M., Melendez P.G. Strategies for the treatment of dairy cows at high risk for postpartum metritis and for the treatment of clinical endometritis in Argentina. *Trop. Anim. Health Prod.* 2014;46(1):79-85.
5. Melcher Y., Prunner I., Drillich M. Degree of variation and reproducibility of different methods for the diagnosis of subclinical endometritis. *Theriogenology.* 2014;82(1): 57-63.
6. Sukhikh G.T., Shurshalina A.V., Veryasov V.N. Immunomorphological characteristics of endometrium in women with chronic endometritis. *Bulleten' Experimental'noy Biologii i Meditsiny.* 2006; 141(1): 104-6. (in Russian)
7. Tortorella C., Piazzolla G., Matteo M., Pinto V., Tinelli R., Sabbà C., et al. Interleukin6, interleukin1β, and tumor necrosis factor α in menstrual effluents as biomarkers of chronic endometritis. *Fertil Steril.* 2014; 101(1): 242-7.
8. Belokrinickaja T.E., Bitkovskij Ju.A., Anohova L.I., Frolova N.I. Cytokines, lymphocyte subpopulations and phagocytic activity of leukocytes in postpartum endometritis in patients of young age. *Bulleten' Vostochno-Sibirskogo nauchnogo tsentra SO RAMN.* 2012; 3: 71 – 4. (in Russian)
9. Rossieva T.L., Savchenko A.A., Chaj V.B. The peculiarities of the immune status of intracellular metabolism of blood lymphocytes after medical abortion under acute endometritis. *Sibirskij medicinskij zhurnal (g. Irkutsk).* 2007; 1: 48 – 51. (in Russian)
10. Kupert M.A. On the pathogenesis of endometritis after birth. *Sibirskij medicinskij zhurnal (g. Irkutsk).* 2004; 7: 35 – 6.
11. Lebedeva O.P., Samborskaya N.I., Bashmakov V.Ju. Pahomov S.P., Popov V.N., Churnosov M.I. et al. Role of the innate immune system, genetic factors, antioxidant enzymes in the pathogenesis of postpartum endometritis. *Nauchnye vedomosti Belgorodskogo gosudarstvennogo universiteta. Seriya: Meditsina. Farmatsiya.* 2011; 16(111): 95 – 9. (in Russian)

Поступила 02.11.17
Принята к печати 25.01.18

©КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2018

УДК 579.835.12:579.222].083.3:543.544

Смирнова Д.Н., Богачева Н.В., Дармов И.В.

РАЗРАБОТКА ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ОБРАЗЦА ИММУНОХРОМАТОГРАФИЧЕСКОЙ ТЕСТ-СИСТЕМЫ ДЛЯ ВЫЯВЛЕНИЯ БЕЛКА ПАТОГЕННОСТИ CagA *HELICOBACTER PYLORI*

ФГБОУ ВО «Вятский государственный университет», 610000, г. Киров, Россия

Разработана иммунохроматографическая тест-система для детекции белка патогенности CagA Helicobacter pylori в различном биологическом материале (кале, содержимом зубодесневых карманов), а также в культуре H.pylori. Тест-система представляет собой мультимембранный композит на основе мембран фирмы «MDI» (Индия). Основными иммунохимическими компонентами тест-системы являются: конъюгат наночастиц коллоидного золота размером 30 нм с моноклональными антителами (клон HP-387), нанесённый на мембрану для конъюгата; моноклональные антитела (клон HP-1811) и антивидовые антитела козы против Ig мыши, нанесённые на нитроцеллюлозную мембрану соответственно в тестовую и контрольную зоны. Все антитела производства фирмы «Биалекса» (Россия).

Ключевые слова: иммунохроматографическая тест-система; наночастицы коллоидного золота; моноклональные антитела; хеликобактериоз; *Helicobacter pylori*.

Для цитирования: Смирнова Д.Н., Богачёва Н.В., Дармов И.В. Разработка экспериментального образца иммунохроматографической тест-системы для выявления белка патогенности CagA *Helicobacter pylori*. Клиническая лабораторная диагностика. 2018; 63 (4): 242-246. DOI: <http://dx.doi.org/0869-2084-2018-63-4-242-246>

Smirnova D.N., Bogacheva N.V., Darmov I.V.

THE DEVELOPMENT OF EXPERIMENTAL SAMPLE OF IMMUNE CHROMATOGRAPHIC TEST-SYSTEM FOR DETECTING PROTEIN OF PATHOGENICITY OF CagA *HELICOBACTER PYLORI*

The Federal State Budget Educational Institution of Higher Education "The Vyatka State University", 610000, Vyatka, Russia

The immunochromatographic test-system was developed for detecting protein of pathogenicity of CagA Helicobacter pylori in various biological samples (feces, content of dento-gingival recesses) and also in culture of H.pylori. The test-system represents multi-membrane composite on the basis of membranes manufactured by "MDI" (India). The main immunochemical components of test-system are conjugate of nanoparticles of colloid gold with size of 30 nm with monoclonal antibodies (clone HP-387), applied to membrane for conjugate; monoclonal antibodies (clone HP-1811) and anti-species antibodies of goat against Ig of mouse, applied to nitrocellulose membrane correspondingly in test and control zones. All antibodies are produced by the firm "Bialeksa" (Russia).

Keywords: immune chromatographic test-system; nanoparticles of colloid gold; monoclonal antibodies; *Helicobacteriosis*; *Helicobacter pylori*.

For citation: Smirnova D.N., Bogacheva N.V., Darmov I.V. The development of experimental sample of immune chromatographic test-system for detecting protein of pathogenicity of CagA *Helicobacter pylori*. *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika (Russian Clinical Laboratory Diagnostics)* 2018; 63(4): 242-246. (in Russ.). DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0869-2084-2018-63-4-242-246>

For correspondence: Smirnova D.N., post-graduate student of the chair of Microbiology of the Federal State Budget Educational Institution of Higher Education "The Vyatka State University", e-mail: cards1993@mail.ru

Conflict of interests. The authors declare absence of conflict of interests.

Acknowledgment. The study had no sponsor support

Received 25.01.2018
Accepted 30.01.2018

Введение. По состоянию на сегодняшний день инфекция, вызываемая *Helicobacter pylori*, является одной из наиболее распространённых инфекций человека. По данным литературы, хеликобактериоз встречается у 80–90% жителей развивающихся стран Азии и Африки, 40–80% жителей Восточной Европы, Южной Америки и 25–40% населения развитых стран Европы и Северной Америки. Распространённость инфекции *H. pylori* среди взрослого населения в России составляет 84% [1].

Азиатско-Тихоокеанский консенсус по раку желудка рекомендовал стратегию скрининга и лечения хеликобактериоза в популяциях населения с высоким риском рака желудка [2]. На рис. 1 представлены статистические данные о частоте ассоциации заболеваний желудочно-кишечного тракта (ЖКТ) с *H. pylori* и процент малигнизации на фоне соответствующих заболеваний [3].

Сказанное выше определяет целесообразность внедрения стратегии скрининга и эрадикации *H. pylori* у лиц, имеющих в анамнезе заболевания ЖКТ.

Разработка иммунохроматографических тест-систем для экспресс-диагностики инфекционных заболеваний является актуальным направлением исследования. Существует большое количество разработанных иммунохроматографических тест-систем, но нет чёткого алгоритма их изготовления. В каждом конкретном случае необходимо использовать свои комбинации специфических антител, буферных растворов, мембран [4].

В настоящее время на российском рынке существуют несколько иммунохроматографических тест-систем для диагностики хеликобактериоза. Однако они предназначены исключительно для качественного определения антигена в биологическом материале (чаще всего в кале). Примерами таких тест-систем являются «СИТО TEST *H. pylori* Ag» («Certest Biotec», Испания), «ImmunoCard STAT HpSA» («Meridian Bioscience», Италия), «Хелико Стик» и «*H. pylori* тест» («Novamed», Израиль). Недостатком перечисленных иммунохроматографических тест-систем является их направленность на выявление фермента уреазы, который, кроме *H. pylori*, способны вырабатывать некоторые другие возбудители инфекционных заболеваний.

Известно, что наиболее эффективным подходом при лабораторной диагностике инфекций является детекция антигенов патогенности инфекционного агента. У *H. pylori* обнаружено несколько таких антигенов (CagA, VacA, IceA, BabA). Особое место среди них занимает белок CagA. Протеин CagA ассоциирован с язвенной болезнью, раком желудка и лимфомой. Считается, что CagA⁺-штаммы *H. pylori* и особенно CagA⁺VacA⁺-штаммы в значительно большей мере стимулируют пролиферативную активность эпителиоцитов слизистой оболочки желудка, чем CagA-негативные. Поступление в эпителиоциты слизистой оболочки желудка белка CagA вызывает мобилизацию и реорганизацию актина, индукцию ростковых факторов, продукцию различных цитокинов. Считается, что у таких пациентов риск развития кишечной метаплазии в 12 раз и атрофического гастрита в 3 раза выше, чем у инфицированных CagA-негативными штаммами. Генотип CagA⁺VacA⁺ достоверно чаще ассоциируется с гастродуоденальной язвой [5]. В связи с этим, детекция белков патогенности *H. pylori* и, в первую очередь, белка cagA является критерием отбора лиц для назначения эрадикационной терапии.

Отсутствие отечественных иммунохроматографических тест-систем, предназначенных для выявления белков патогенности *H. pylori*, значимых для развития хеликобактерассоциированных заболеваний, определяет актуальность и цель работы.

Цель исследования – разработка экспериментального образца иммунохроматографической тест-системы для выявления белка патогенности cagA *H. pylori*.

Материал и методы. Работа выполнена на базе кафедры

микробиологии Вятского государственного университета» (г. Киров).

В работе использовали моноклональные антитела (МкАТ) к белку CagA *H. pylori*, клоны HP-1811 и HP-387 («Биалекса», Россия); антивидовые антитела козы против IgG мыши («Биалекса», Россия); золотохлористоводородную кислоту $\text{HAuCl}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ (Sigma, США); деионизированную воду (ГОСТ 11.029.003-80); соляную кислоту (ГОСТ 3118-77); азотную кислоту (ГОСТ 4461-77); цитрат натрия 5,5-водный («Реахим», Россия); хлорид натрия («Реахим», Россия); карбонат калия («Реахим», Россия); гидрокарбонат натрия («Реахим», Россия); дигидрофосфат калия (Panreac, Испания); гидрофосфат натрия (Sciphos, Китай); трис(гидроксиэтил)аминометан (Sigma, США); трис гидрохлорид (Panreac, Испания); полиэтиленгликоль 40 000 (Sigma, США); бычий сывороточный альбумин («Диа-М», Германия); Tween-20 (AppliChem, Германия); сахарозу («Реахим», Россия).

Все растворы готовили на деионизированной воде.

Мультимембранный комплекс разработан на основе мембран фирмы MDI (Индия).

При разработке иммунохроматографической тест-системы использовано следующее оборудование: весы электронные аналитические Adventurer (OHAUS, США); электронный трансмиссионный микроскоп JEM-2100 (Jeol, Япония); спектрофотометр сканирующий «СПЕКС ССП-705-4» (ЗАО «Спектроскопические системы», Россия); центрифуга лабораторная Centrifuge 5415 R (Eppendorf, Германия); центрифуга-вортекс «Микроспин» (Biosan, Латвия); термостат «ТСО-1/80» («СПУ», Россия); магнитная мешалка (Heidolph, Германия); резак для бумаги (Rahmenlos® Katze Geschenk Shirt, США); pH-метр «pH-410» («Аквилон», Россия); система для получения деионизированной воды Agium 611 UF (Sartorius, Германия).

Для оценки чувствительности были использованы культуры *H. pylori* из коллекции культур кафедры микробиологии.

Культуры *H. pylori* выращивали на селективной питательной среде – колумбийском кровяном агаре с антибиотиками амфотерицином и ванкомицином в анаэробе при температуре 37°C в течение 3–5 сут. Принадлежность культур к *H. pylori* подтверждена бактериологическим и биохимическим методами, методом ПЦР при использовании коммерческих тест-систем «Хеликопол VA», «Хеликопол SA», «Хеликопол IA», «Хеликопол BA» (Россия), «ДНК-технологии» (Россия), методом иммунохроматографии при использовании коммерческой тест-системы NovaMed (Израиль).

Для оценки специфичности использовали культуру *Proteus vulgaris* из коллекции культур кафедры микробиологии Вятского государственного университета. Культуру выращивали на мясопептонном агаре в термостате при температуре 37°C в течение суток. Принадлежность культуры к *P. vulgaris* была подтверждена биохимическими и микробиологическими методами.

Оптическую концентрацию микробных клеток в суспензиях определяли с использованием отраслевого стандарта мутности ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России (ОСО 42-28-85П).

Биологическую концентрацию клеток в агаровой культуре *H. pylori* определяли, как описано в работе чашечным методом Коха, используя для расчёта формулу (1):

$$M = (a \times 10^n) / V, \quad (1)$$

где M – количество клеток в 1 см^3 исследуемого субстрата, м.к. · см⁻³;

a – среднее число колоний при высеве из данного разведения, шт.;

10 – коэффициент разведения;

n – порядковый номер разведения, из которого сделан высев;

V – объём суспензии, взятой для посева, см³.

Погрешность измерения рассчитывали по формуле (2)

$$I95 = 2a/r, \quad (2)$$

где a – среднее число колоний, выросших на чашках Петри, шт.;

r – число повторностей посева;

2 – постоянный коэффициент.

Результаты и обсуждение. Наночастицы коллоидного золота (НЧКЗ) со средним диаметром 25–30 нм получали цитратным методом Френса с модификациями.

Размеры, дисперсионные свойства, электронную плотность частиц анализировали на электронном трансмиссионном микроскопе.

Определение «золотого числа» проводили по стандартной методике [7], для этого к раствору МкАТ НР-387 (с концентрацией от $100 \text{ мкг} \cdot \text{см}^{-3}$ до $1,5 \text{ мкг} \cdot \text{см}^{-3}$) добавляли в равных объёмах раствор НЧКЗ, перемешивали и инкубировали 15 мин при комнатной температуре. Затем вносили 10% раствор хлорида натрия, перемешивали и через 10 мин измеряли оптическую плотность раствора при длине волны 630 нм (OD_{630}) на спектрофотометре.

Концентрацию антител, используемую при синтезе конъюгатов МкАТ с НЧКЗ, устанавливали на основании флокуляционной кривой, отражающей агрегацию конъюгатов при высокой ионной силе. Была выбрана концентрация антител, на 10–15% превосходящая точку выхода кривой OD_{630} на плато, как рекомендовано в работе [7], а именно $20 \text{ мкг} \cdot \text{см}^{-3}$.

Для приготовления конъюгата МкАТ НР-387, разведённые в 0,025 М трис-буфере, смешивали с равным объёмом раствора НЧКЗ до конечной концентрации МкАТ $20 \text{ мкг} \cdot \text{см}^{-3}$. Конъюгат инкубировали 30 мин при комнатной температуре, периодически перемешивая на вортексе. Для стабилизации добавляли профильтрованный 4% раствор полиэтиленгликоля и инкубировали 15 мин. Конъюгат центрифугировали дважды с ускорением 9000 g в течение 30 мин при температуре 4°C . После второго центрифугирования супернатант удаляли, осадок ресуспендировали в стабилизирующем буфере, содержащем 0,025 М трис, 1% бычий сывороточный альбумин и 1% сахарозу.

Раствор конъюгата методом пропитывания наносили на мембрану для конъюгата с плотностью нанесения 30 мкл на 1 см^2 и высушивали на воздухе при комнатной температуре в течение суток.

Для получения иммунохроматографического композита последовательно проводили склеивание тест-системы: на нитроцеллюлозную мембрану наклеивали мембрану с иммобилизованным конъюгатом, мембрану для образца и мембрану для адсорбента. Затем полученный мультимембранный композит нарезали при помощи резака на отдельные полоски шириной 3,5–4,0 мм.

После этого на нитроцеллюлозную мембрану вручную, используя наконечник и микропипеточный дозатор, наносили МкАТ: в тестовую зону – МкАТ НР-1811 в концентрации $12 \text{ мкг} \cdot \text{см}^{-3}$, в контрольную зону – антивидовые антитела козы против иммуноглобулинов мыши в концентрации $10 \text{ мкг} \cdot \text{см}^{-3}$. Тест-системы высушивали при комнатной температуре в течение суток.

Таким образом был изготовлен экспериментальный образец иммунохроматографической тест-системы, состав мультимембранного композита и основные компоненты которого представлены на рис. 2

Работоспособность тест-системы оценили путём тестирования различного биологического материала на предмет наличия в них белка патогенности CagA *H. pylori*.

На первом этапе оценивали чувствительность тест-системы, используя культуру *H. pylori*, выращенную на селективной питательной среде в чашках Петри. Культуру *H. pylori* смывали с поверхности агара стерильным раствором хлорида натрия. Для осаждения клеток и удаления компонентов от остатков питательной среды суспензию

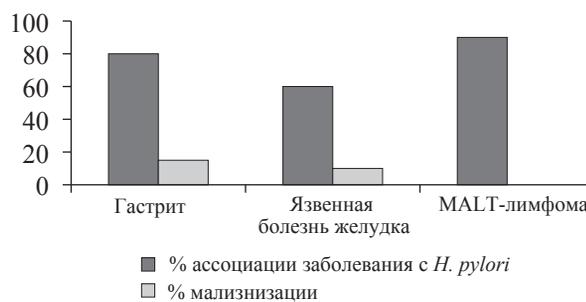


Рис. 1. Частота ассоциации заболеваний ЖКТ с *H. pylori* и процент малигнизации на фоне соответствующих заболеваний.

клеток центрифугировали при 2000 об/мин в течение 10 мин. Надосадочную жидкость удаляли, осадок ресуспендировали в буфере разгона, приготовленном на 0,025 М К/Na фосфатно-солевом буфере, содержащем 0,15 М NaCl и 0,05 % Tween-20. После определения оптической концентрации клеток, используя буфер разгона, делали ряд последовательных разведений суспензии: $1 \cdot 10^{10}$, $5 \cdot 10^9$, $2,5 \cdot 10^9$, $1,25 \cdot 10^9$ м.к. $\cdot \text{см}^{-3}$.

По результатам проведенных исследований порог чувствительности тест-системы составил $2,5 \cdot 10^9$ м.к. $\cdot \text{см}^{-3}$, о чём свидетельствовало появление розовой точки в аналитической зоне. Появление окрашенной (розовой) точки в контрольной зоне указывало на корректность проведенного исследования.

Был определен также порог чувствительности тест-системы по биологической концентрации, т.е. по отношению к живым микробным клеткам, содержащимся в агаровой суспензии. Его значение составило $(1,7 \pm 4,8) \cdot 10^8$ КОЕ $\cdot \text{см}^{-3}$. Более высокая чувствительность анализа, рассчитанная по биологической концентрации в сравнении с таковой, определенной по оптической концентрации микроорганизмов, возможно, связана с тем, что белок CagA имеет внутриклеточную локализацию. Для подтверждения этой гипотезы нужны дополнительные исследования.

Для оценки специфичности использовали буфер разгона и культуру *P.vulgaris*.

Данный микроорганизм также является этиологическим агентом заболеваний ЖКТ и присутствует в кишечнике здорового человека и многих животных. Культуру *P.vulgaris* для исследования готовили, как описано выше. После определения в полученной суспензии оптической концентрации клеток, используя буфер разгона, делали ряд последовательных разведений: $1 \cdot 10^{10}$, $5 \cdot 10^9$, $2,5 \cdot 10^9$ м.к. $\cdot \text{см}^{-3}$.

При тестировании гетерологичной культуры *P.vulgaris* в исследуемых концентрациях, а также при тестировании буфера разгона окрашивания аналитической зоны не наблюдалось

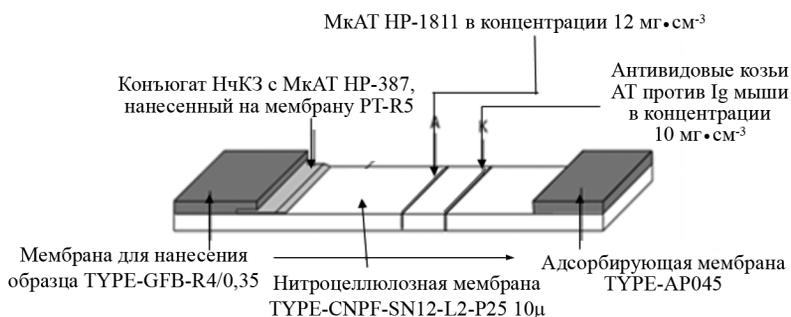


Рис.2. Внешний вид и основные компоненты разработанного экспериментального образца иммунохроматографической тест-системы, предназначенной для выявления белка патогенности CagA *H. pylori*.

Конт- роль	Культура <i>Helicobacter pylori</i> в концентрации ..., м.к. × см ⁻³				Культура <i>Proteus vulgaris</i> в концентрации ..., м.к. × см ⁻³	
	1 × 10 ¹⁰	5 × 10 ⁹	2,5 × 10 ⁹	1,25 × 10 ⁹	1 × 10 ¹⁰	1,25 × 10 ⁹
-	++	++	+	-	-	-
						

Примечание:
1. «++», «+» – степень интенсивности окраски аналитической зоны;
2. «-» – отсутствие окраски аналитической зоны.

Рис. 3. Проверка чувствительности и специфичности экспериментального образца иммунохроматографической тест-системы.

Контроль	Серонегативный донор	Донор № ...				
		1	7	13	15	20
-	-	-	++	-	+	-
						

Примечание:
1. «++», «+» – степень интенсивности окраски аналитической зоны;
2. «-» – отсутствие окраски аналитической зоны.

Рис.4. Оценка работоспособности иммунохроматографической тест-системы при исследовании биологического материала (кала) на наличие антигена *H.pylori*.

(рис. 3), что свидетельствовало о специфичности разработанного образца иммунохроматографической тест-системы.

На втором этапе оценили возможность использования тест-системы для качественного исследования биологического материала (кала и содержимого зубодесневых карманов), взятого от серопозитивных по отношению к *H.pylori* доноров, на наличие белка CagA *H.pylori*.

Для этого провели забор крови из локтевой вены у 20 добровольцев, с которыми заранее было подписано добровольное соглашение на участие в исследовании. Сыворотку крови добровольцев протестировали на наличие антител к белку CagA *H.pylori* с помощью коммерческого набора для ДОТ-анализа «Хелико-экспресс» («ВЕКТОР-БЕСТ», Россия).

По результатам исследования были выбраны 5 серопозитивных доноров, образцы кала которых протестировали на наличие белка CagA *H.pylori*. В качестве отрицательного контроля использовали буфер разгона.

По результатам тестирования в двух из пяти исследованных образцов (донор № 7 и донор № 15) обнаружен белок CagA *H.pylori*, о чём свидетельствовало появление розовой точки в аналитической зоне, а окрашивание контрольной зоны подтверждало корректность проведенного исследования (рис. 4).

Ротовая полость является входными воротами *H. pylori*-инфекции. В ротовой полости инфицированных людей возбудитель обнаруживается в слюне, на слизистой оболочке, на дентальных бляшках, в зубном налёте, в зубодесневых карманах. В последних создаются микроаэрофильные условия, благоприятные для *H. pylori* [8–10]. В связи с этим представляется целесообразным изучить содержимое зубодесневых карманов на наличие белка CagA *H.pylori*.

Поэтому параллельно с тестированием кала у серопозитивных по белку cagA лиц проводили тестирование содержимого зубодесневых карманов. Забор биологического материала из зубодесневых карманов маляров и резцов осуществляли стерильными шпигами. Отобранный материал ресуспендировали в 1,5 см³ буфера разгона, полученную суспензию центрифугировали при 2000 об/мин в течение 20 мин для осаждения биологического материала, а затем полученный осадок ресуспендировали в 0,15 см³ буфера разгона. Подготовленный таким образом материал тестировали на наличие белка CagA *H.pylori*, используя разработанную иммунохроматографическую тест-систему. Параллельно проводили посев биологического материала на селективную питательную среду.

По результатам исследования пяти образцов содержимого зубодесневых карманов положительная реакция выявлена всеми указанными методами у добровольцев № 7 и № 15, у которых положительный результат был получен также и при тестировании кала.

Таким образом, результаты исследования различного биологического материала (образцов кала, содержимого зубодесневых карманов) показали, что только двое из пяти серопозитивных пациентов, у которых выявлено наличие патогенных штаммов *H.pylori*, продуцирующих белок CagA, нуждаются в назначении эрадикационной терапии. Трое серопозитивных лиц имели в анамнезе хеликобактериоз, однако на момент обследования не являлись носителями патогенных штаммов *H.pylori*, содержащих белок CagA, и не нуждались в назначении многокомпонентной антибактериальной терапии.

Выводы

Разработан экспериментальный образец иммунохроматографической тест-системы, предназначенной для детекции белка патогенности CagA *H.pylori*, основными иммунохимическими компонентами которого являются наночастицы коллоидного золота и моноклональные антитела отечественного производства.

Экспериментально доказана способность иммуно-

ромотографической тест-системы выявлять белок СаgА *H. pylori* в культуре *H. pylori* и в различном биологическом материале – в кале и содержимом зубодесневых карманов у лиц, имеющих в анамнезе гастрит или язвенную болезнь желудка.

Показана возможность использования разработанной тест-системы для подтверждения полноты эрадикации *H. pylori* после проведения курса антибактериальной терапии у пациентов с хеликобактериозами по результатам исследования кала и содержимого зубодесневых карманов.

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Маев И.В., Самсонов А.А., Андреев Д.Н., Гречушников В.Б., Коровина Т.И. Клиническое значение инфекции *Helicobacter pylori*. *Клиническая медицина*. 2013; 8: 4-12.
2. Лазебник Л.Б., Васильев Ю.В., Щербак П.Л., Хомерики С.Г., Машарова А.А., Бордин Д.С. и др. *Helicobacter pylori*: распространенность, диагностика, лечение. *Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология*. 2010; 2: 3-7.
3. Статистика рака желудка. URL: <http://www.oncoforum.ru/o-rake/statistika-raka/statistika-raka-zheludka.html> (дата просмотра 24.05.2016).
4. Смирнова Д.Н., Крупина К.А., Богачева Н.В., Дармов И.В. Сравнительная оценка компонентов иммунохроматографических тест-систем, используемых для их разработки. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2017; 62 (1): 30-4.
5. Ашмарин И.П., Воробьев А.А. *Статистические методы в микробиологических исследованиях*. Л.: МЕДГИЗ, 1962.
6. Угольник Т.С. Сравнительный анализ выявления *Helicobacter pylori* в ротовой полости с помощью тест-зонда и полимеразной цепной реакции. *Медицинские новости*. 2006; 1(8): 90-2.
7. Чобанов Р.Э., Мамедов Р.М. Пародонтальные карманы как биотопы накопления и жизнедеятельности *Helicobacter pylori*. *Сибирский медицинский журнал*. 2008; 7: 72-3.

10. Булкина Н.В. Патогенетическая взаимосвязь и взаимовлияние воспалительных заболеваний пародонта с патологией сердечно-сосудистой системы и желудочно-кишечного тракта. *Клиническая стоматология*. 2010; 2: 12-5.

REFERENCES

1. Maev I.V., Samsonov A.A., Andreev D.N., Grechushnikov V.B., Korovina T.I. Clinical significance of *Helicobacter pylori* infection. *Klinicheskaya meditsina*. 2013; 8: 4-12. (in Russian)
2. Lazebnik L.B., Vasil'ev Yu.V., Shcherbakov P.L., Homeriki S.G., Masharova A.A., Bordin D.S. et al. *Helicobacter pylori*: prevalence, diagnosis, treatment. *Jeksperimental'naja i klinicheskaya gastrojenterologiya*. 2010; 2: 3-7. (in Russian)
3. Stomach cancer statistics [Statistika raka zheludka]. Available at: <http://www.oncoforum.ru/o-rake/statistika-raka/statistika-raka-zheludka.html> (accessed 24.05.2016). (in Russian)
4. Smirnova D.N., Krupina K.A., Bogacheva N.V., Darmov I.V. Comparative evaluation of components of immunochromatographic test systems used for their development. *Klinicheskaya laboratornaya diagnostika*. 2017; 62 (1): 30-4. (in Russian)
5. Cittely D.M., Huertas M.G., Martinez J.D. Helicobacter pylori genotypes in non atrophic gastritis are different of the found in peptic ulcer, premalignant lesions and gastric cancer in Colombia. *Rev. Med. Chil*. 2002; 130 (2): 143-51.
6. Ashmarin I.P., Vorob'ev A.A. Statistical methods in microbiological studies [Statisticheskiye metody v mikrobiologicheskikh issledovaniyakh]. Leningrad: MEDGIZ; 1962. (in Russian)
7. Hermanson, G.T. Bioconjugate Techniques. Amsterdam: Acad. Press, Elsevier; 2008.
8. Ugol'nik T.S. Comparative analysis of the detection of *Helicobacter pylori* in the oral cavity using a test probe and a polymerase chain reaction. *Meditsinskie novosti*. 2006; 1(8): 90-2. (in Russian)
9. Chobanov R.E., Mamedov R.M. Parodontal pockets as biotopes of accumulation and vital activity of *Helicobacter pylori*. *Sibirskiy meditsinskiy zhurnal*. 2008; 7: 72-3. (in Russian)
10. Pathogenetic interrelation and mutual influence of inflammatory periodontal diseases with the pathology of the cardiovascular system and the gastrointestinal tract. *Klinicheskaya stomatologiya*. 2010; 2: 12-5. (in Russian)

Поступила 25.01.18

Принята к печати 30.01.18

©КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2018

УДК 617.7-007.681-037-078.33

Сахнов С.Н.¹, Харченко В.В.²

ДИАГНОСТИКА И ПРОГНОЗИРОВАНИЕ ГЛАУКОМЫ

¹Краснодарский филиал ФГАУ «МНТК «Микрохирургия глаза» им. акад. С.Н. Федорова» Минздрава РФ, 350012, Краснодар, Россия;

²ФГБОУ ВО «Курский государственный медицинский университет», 305041, Курск, Россия

Глаукома является ведущей причиной необратимой слепоты во всех странах и в ближайшие годы прогнозируется увеличение больных с данной патологией. В настоящее время развитие заболевания связывают с изменением интерлейкинового профиля в слезной жидкости, но диагностическая значимость интерлейкинов (IL) изучена недостаточно. Цель работы – определение диагностической значимости IL на местном уровне для улучшения диагностики и прогнозирования развития глаукомы. Содержание IL в слезной жидкости изучено у 80 больных глаукомой II стадии и 45 практически здоровых лиц методом сэндвич-варианта твердофазного иммуноферментного анализа с расчетом информативности показателей иммунитета. Результаты. Установлена высокая диагностическая значимость для верификации глаукомы IL-2, IL-17, IL-8, которые предлагается использовать при лабораторной диагностике и прогнозировании заболевания. Созданная регрессионная модель обеспечивает с высокой точностью прогнозирование развития глаукомы при повышении уровня IL-2, IL-17, IL-8.

Ключевые слова: глаукома; интерлейкины; лабораторная диагностика; прогнозирование.

Для цитирования: Сахнов С.Н., Харченко В.В. Диагностика и прогнозирование глаукомы. *Клиническая лабораторная диагностика* 2018; 63 (4): 246-249. DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0869-2084-2018-63-4-246-249>

Sakhnov S.N.¹, Kharchenko V.V.²

THE DIAGNOSTIC AND PROGNOSTICATION OF GLAUCOMA

Для корреспонденции: Сахнов Сергей Николаевич, канд. мед. наук; e-mail: office@okocentr.ru