

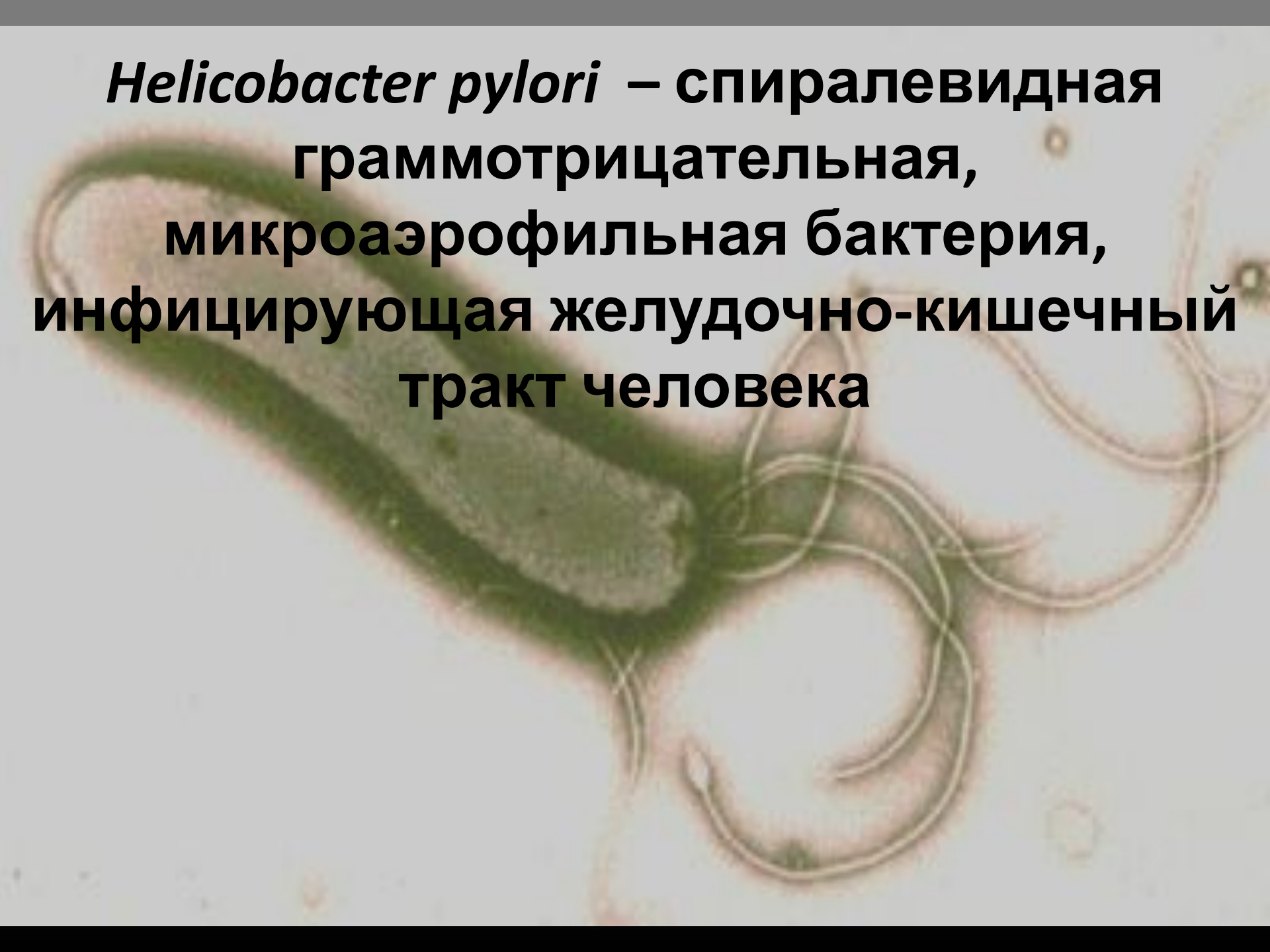
ВЫПУСКНАЯ КВАЛИФИКАЦИОННАЯ РАБОТА НА ПОЛУЧЕНИЕ СТЕПЕНИ БАКАЛАВРА

Тема ИЗУЧЕНИЕ СЕЗОННОГО БИОРИТМА БАЦИЛЛЯРНО-КОККОВОЙ ТРАНСФОРМАЦИИ БАКТЕРИИ HELICOBACTER PYLORI

Поттер А.Я.

на базе лаборатории цитологических, гематологических и
общеклинических методов исследований ВЦЕРМ им. А.М.
Никифорова МЧС России

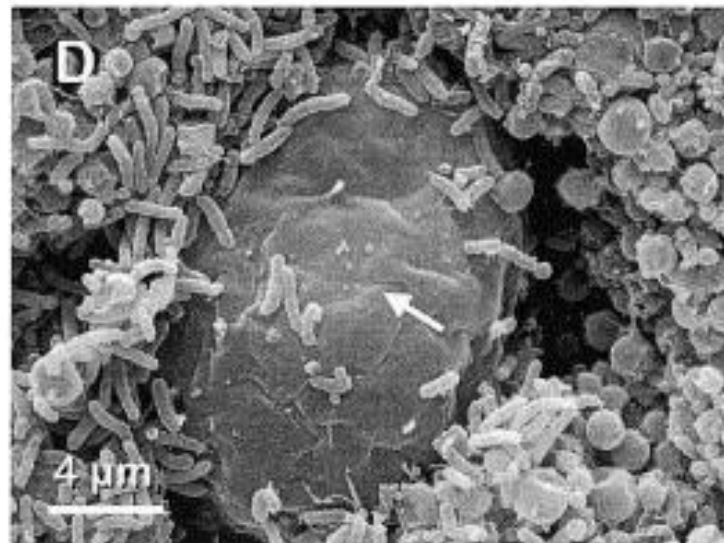
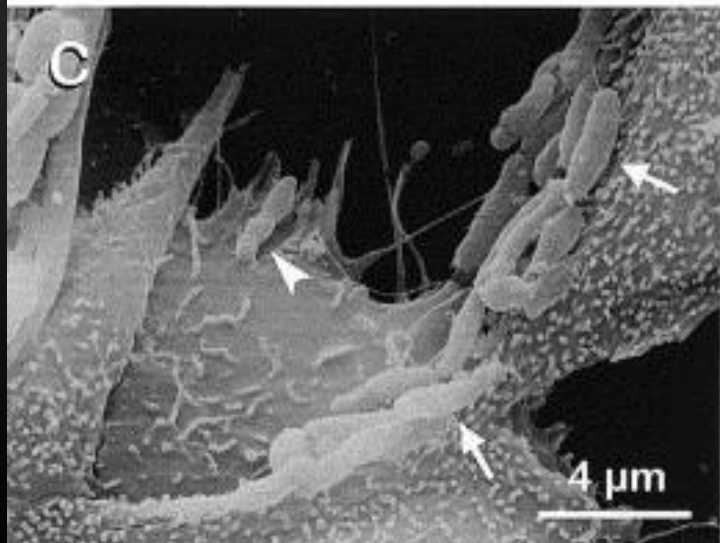
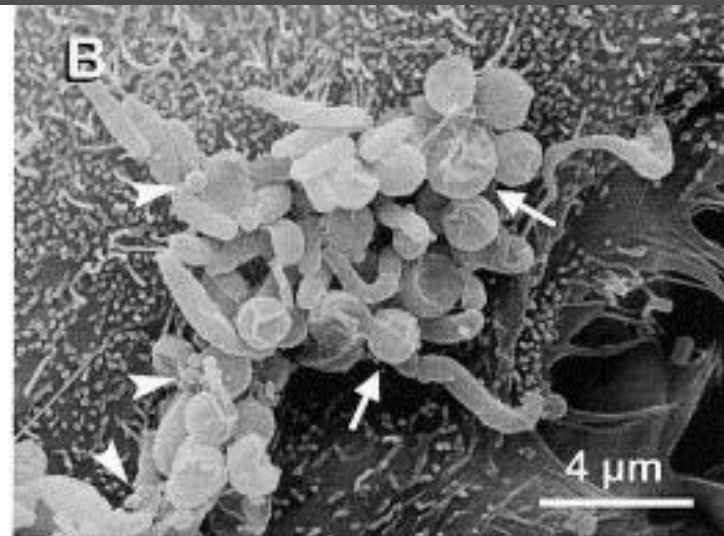
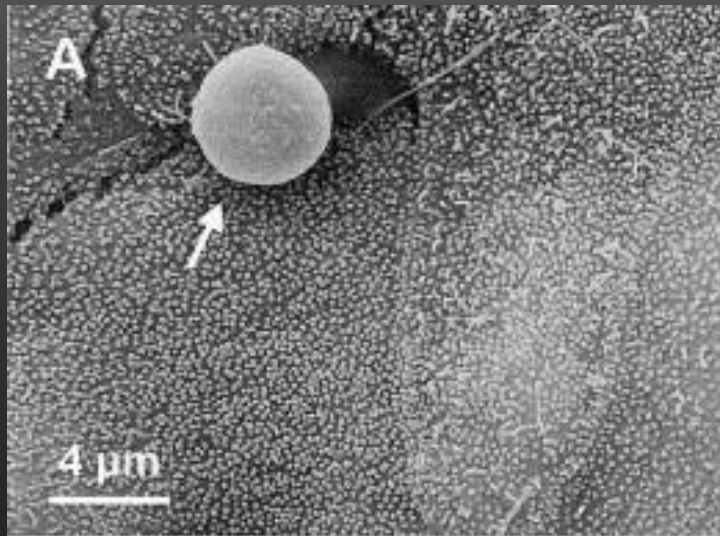
Helicobacter pylori – спиралевидная
граммотрицательная,
микроаэрофильная бактерия,
инфицирующая желудочно-кишечный
тракт человека



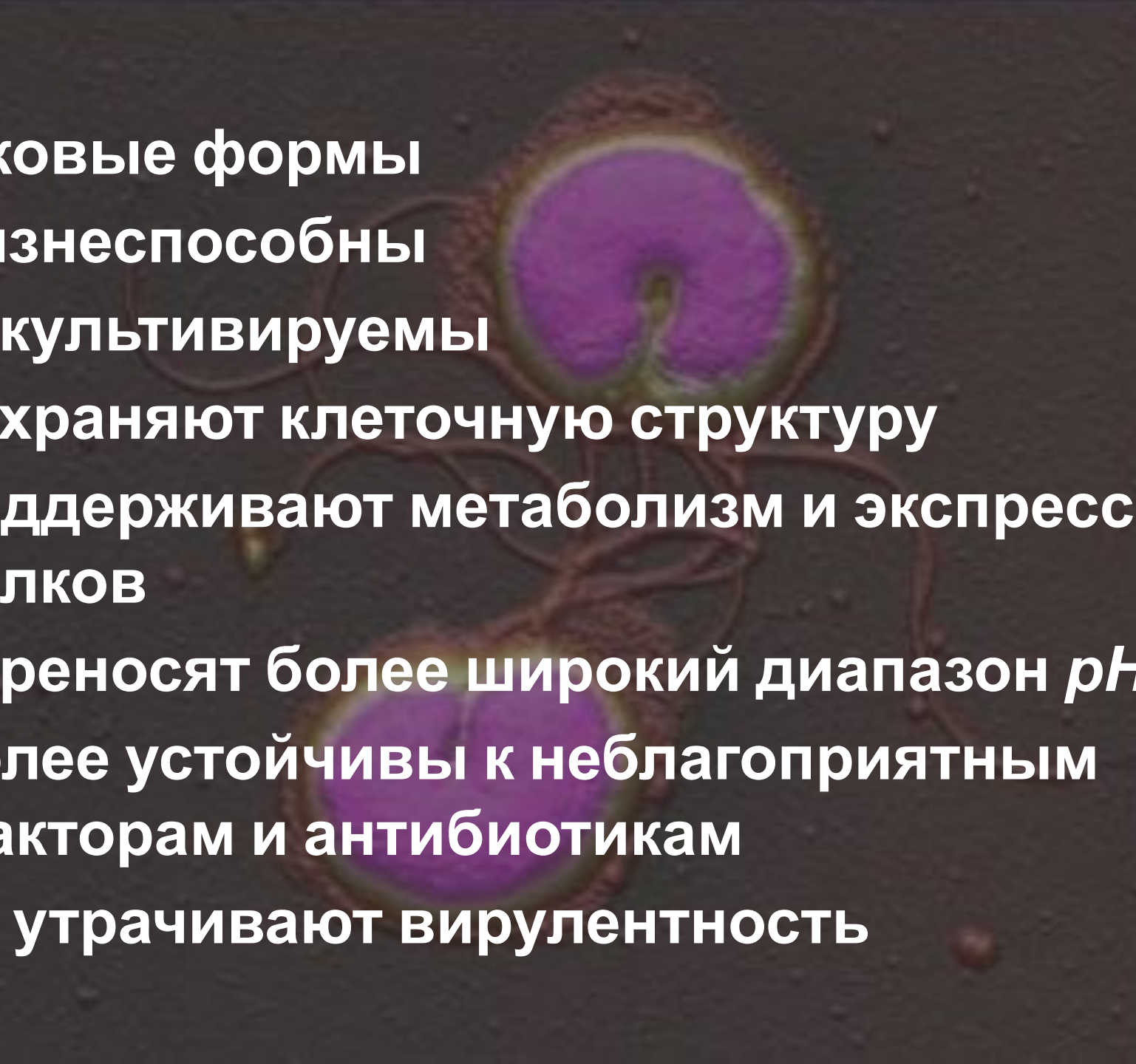
Нобелевская премия 2005 г по
физиологии и медицине
«За открытие бактерии *Helicobacter
pylori* и ее роли в развитии гастрита
и язвы желудка»



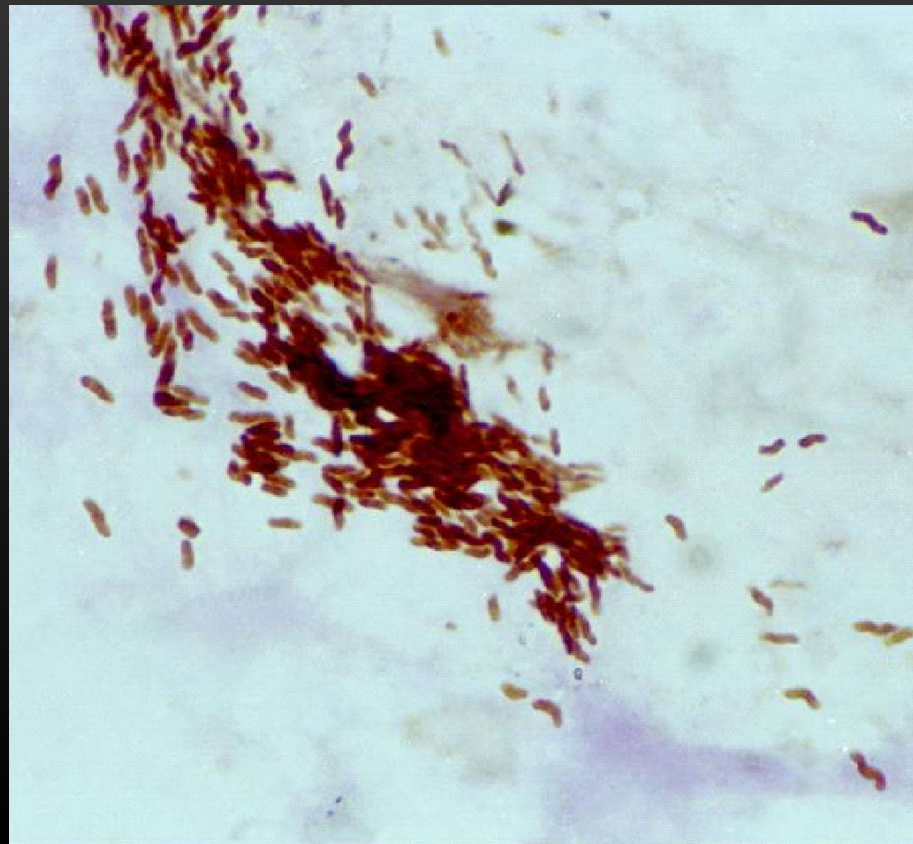
H. pylori проявляет бациллярно-кокковый диморфизм



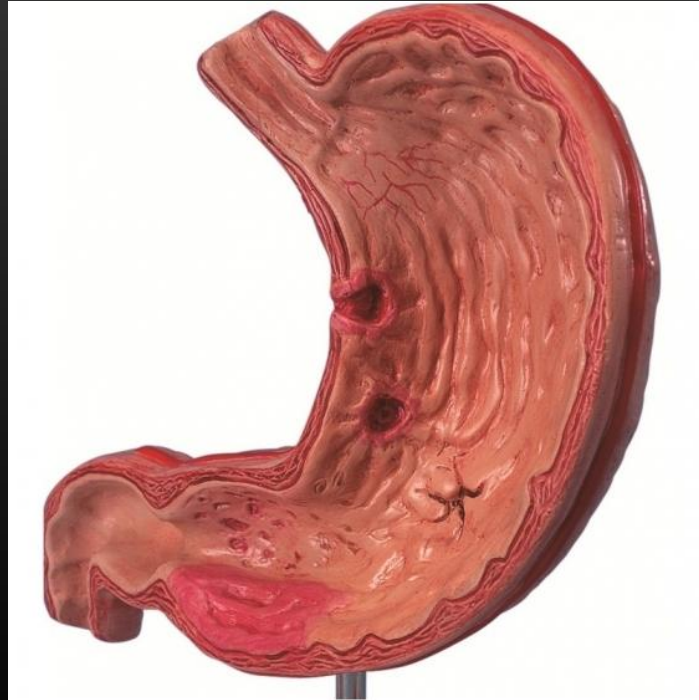
Кокковые формы

- жизнеспособны
 - некультивируемы
 - сохраняют клеточную структуру
 - поддерживают метаболизм и экспрессию белков
 - переносят более широкий диапазон pH
 - более устойчивы к неблагоприятным факторам и антибиотикам
 - не утрачивают вирулентность
- 

Наиболее адекватный метод изучения
кокковых форм *in vivo* -
иммуноцитохимический,
слишком дорогой и трудоемкий, чтобы войти в
повседневную практику



Сезонный характер обострений язвенной
болезни может быть связан с
активностью бактериальных клеток
H.pylori



Цель:

Изучить особенности сезонного колебания показателя «степень обсемененности СОЖ кокковыми формами», и изучение сезонного биоритма бациллярно-кокковой трансформации *H.pylori* в антральном отделе желудка.

Задачи:

1. Создать базу данных эндоскопических диагнозов и результатов иммуноцитохимических анализов, пригодную для последующей аналитической обработки.
2. Определить характер распределения пациентов по показателю «частота встречаемости кокковых форм в СОЖ».
3. Провести контрольное ИЦХ исследование гастробиоптатов методом ЖЦ на предмет присутствия в них истинных кокковых форм, а так же определить частоту их встречаемости среди всех бактериальных клеток *H.pylori*.
4. Изучить и представить графически сезонные колебания показателя «степень обсемененности СОЖ кокковыми формами».

5422 пациента, обследованных ИЦХ-методом на хеликобактериоз, 2002-2009 гг

П/№	№ эпизода	ФИО	Диагноз	Диагноз	Спирали	Кокки	Число	Месяц	Год
1	3293	Бабкин Д.Г.	хр.гастр.	1	0	0	13	2	2002
2	3294	Иванов В.А.	хр.гастр.	1	3	1	13	2	2002
3	3335	Дмитриева А.Д.	хр.гастр. дуоденит	1	3	1	18	2	2002
4	3381	Гулятьева А.Г.			0	0	20	2	2002
5	3382	Полянский М.В.	гастродуоденит	1	1	0	20	2	2002
6	3383	Бачурин Б.А.			0	0	20	2	2002
7	3384	Дмитриева А.Д.	хр.гастр.	1	3	1	20	2	2002
8	3459	Бекетова И.А.	хр.гастр.	1	1	2	27	2	2002
9	3485	Креер М.Я.	хр.гастр.	1	3	2	28	2	2002
10	3488	Большакова Н.В.	хр.гастр.	1	0	0	1	3	2002
11	3511	Николаев В.П.	гастродуоденит	1	3	2	4	3	2002
12	3536	Козлов Ю.А.	полип желудка	1	3	1	6	3	2002
13	3537	Николаева Е.М.	бульбит	2	0	0	6	3	2002
14	3563	Коллер Р.И.	хр.гастр.	1	3	0	11	3	2002
15	3565	Орлова Т.Н.	гастродуоденит	1	0	0	11	3	2002
16	3566	Мятлюк А.В.	хр.гастр.	1	3	1	11	3	2002
17	3587	Козлова Т.И.	антр.гастр.	1	2	1	13	3	2002
18	3615	Корнеев М.В.	эроз.бульбит	3	0	0	14	3	2002
19	3629	Нохрин С.Л.	хр.язв. лук. 12 п.к.	4	3	0	15	3	2002
20	3658	Хотина л.В.	хр.гастр.	1	0	0	18	3	2002
21	3680	Филиппов Е.В.	хр.гастр.	1	0	2	19	3	2002
22	3683	Громов А.Г.	хр.гастродуоденит	1	3	1	19	3	2002

Эндоскопические диагнозы

Хронические состояния (1): хронический гастрит, хронический диффузный гастрит, поверхностный диффузный гастрит, хронический антральный гастрит, очаговый гастрит, поверхностный гастрит, хронический дуоденит, хронический бульбит, культы желудка, полипы желудка и пищевода, хронический атрофический диффузный гастрит, зарубцевавшаяся язва, рубцевая деформация ЛДПК

Уже не хронические, но еще и не эрозивные (2): катаральный бульбит, очаговый бульбит, поверхностный бульбит, рефлюкс-эзофагит, катаральный эзофагит, острый эзофагит, пищевод Баррета, ГЭРБ, хронический рефлюкс-гастрит, хронические эрозии.

Эрозивные состояния (3): эрозии желудка, эрозивный бульбит, эрозивный гастрит, эрозивный дуоденит, эрозивный эзофагит, эрозии 12-перстной кишки, острые эрозии желудка, острые эрозии 12-перстной кишки.

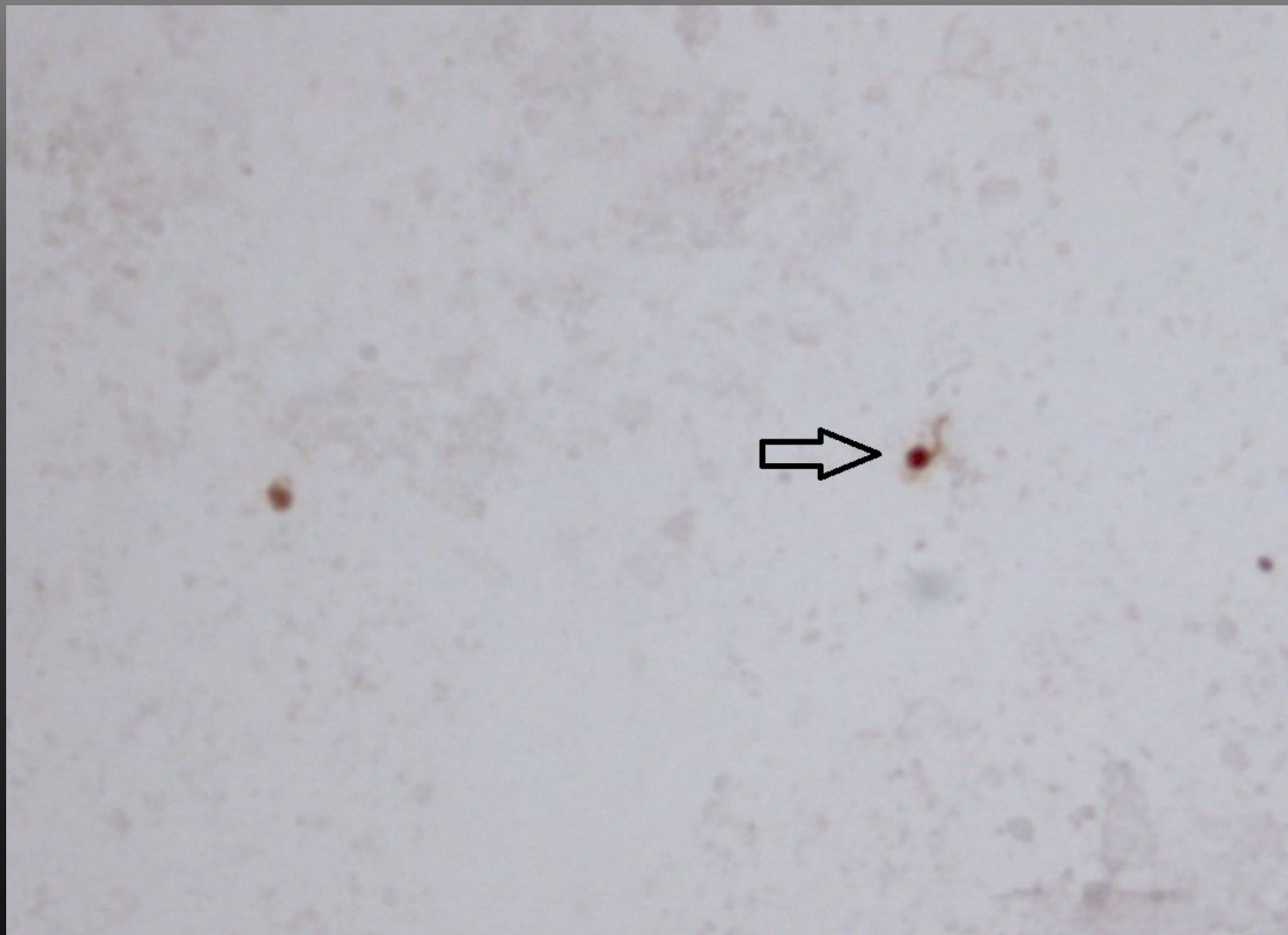
Язвенные состояния (4): язва желудка, язва 12-перстной кишки, язва ЛДПК, язва пилорического канала, язвы пищевода, острые язвы, рубцующиеся язвы.

Полуколичественная шкала оценки степени обсемененности СОЖ бактериальными клетками:

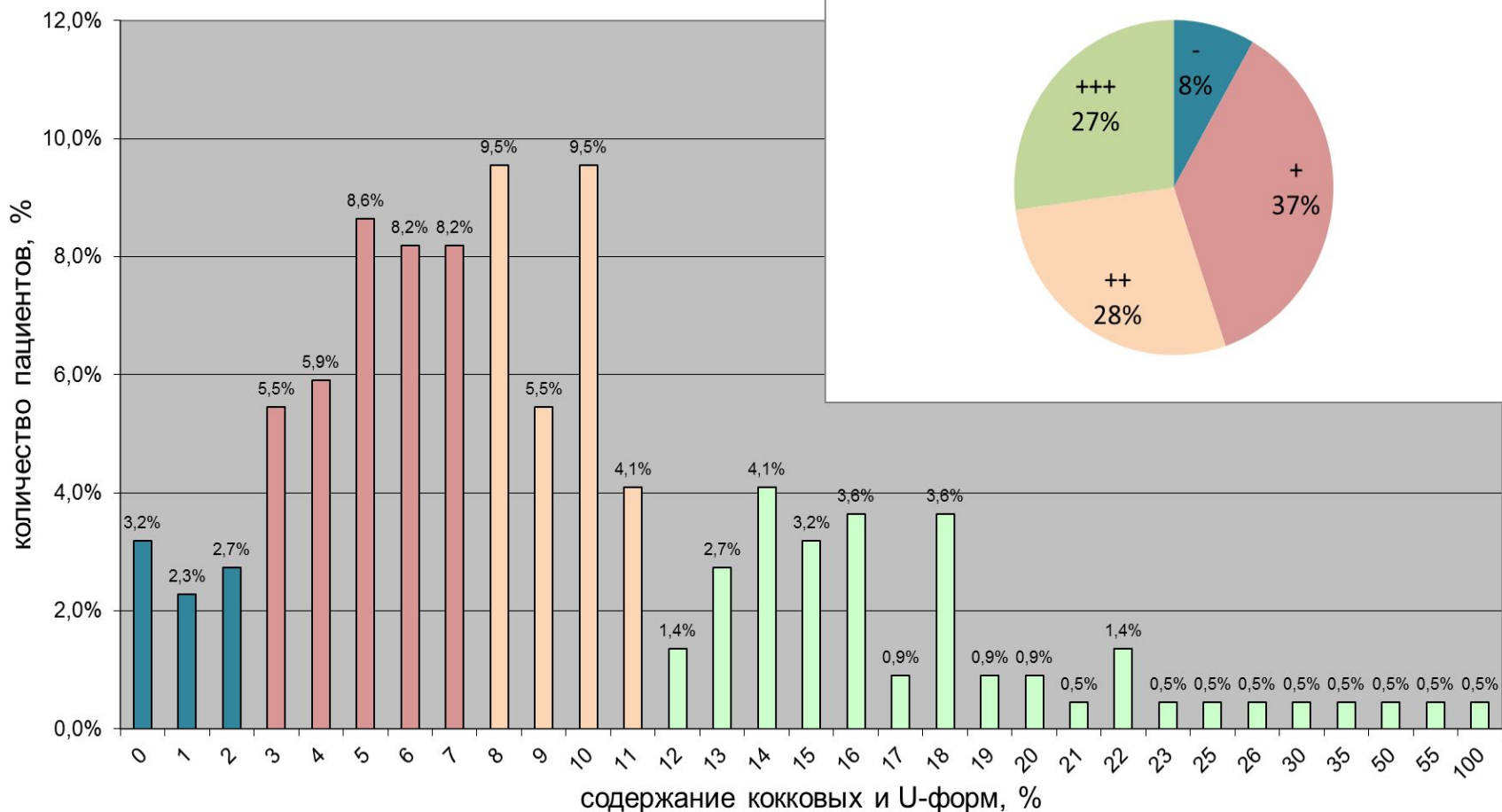
- (-) Кокковые формы НР не выявлены (не встречаются ни в одном из полей зрения).
- (+) Встречаются единичные кокковые формы (не реже, чем в одном из пяти полей зрения).
- (++) Присутствуют кокковые НР (не превышает 10% от всех наблюдаемых форм НР).
- (+++) Кокковые формы НР обнаруживаются в значительном количестве (более 10% от всех форм НР)

Метод жидкостной цитологии

- Приготовление клеточной суспензии
 - Цитоцентрифугирование на предметное стекло
 - ИЦХ окрашивание



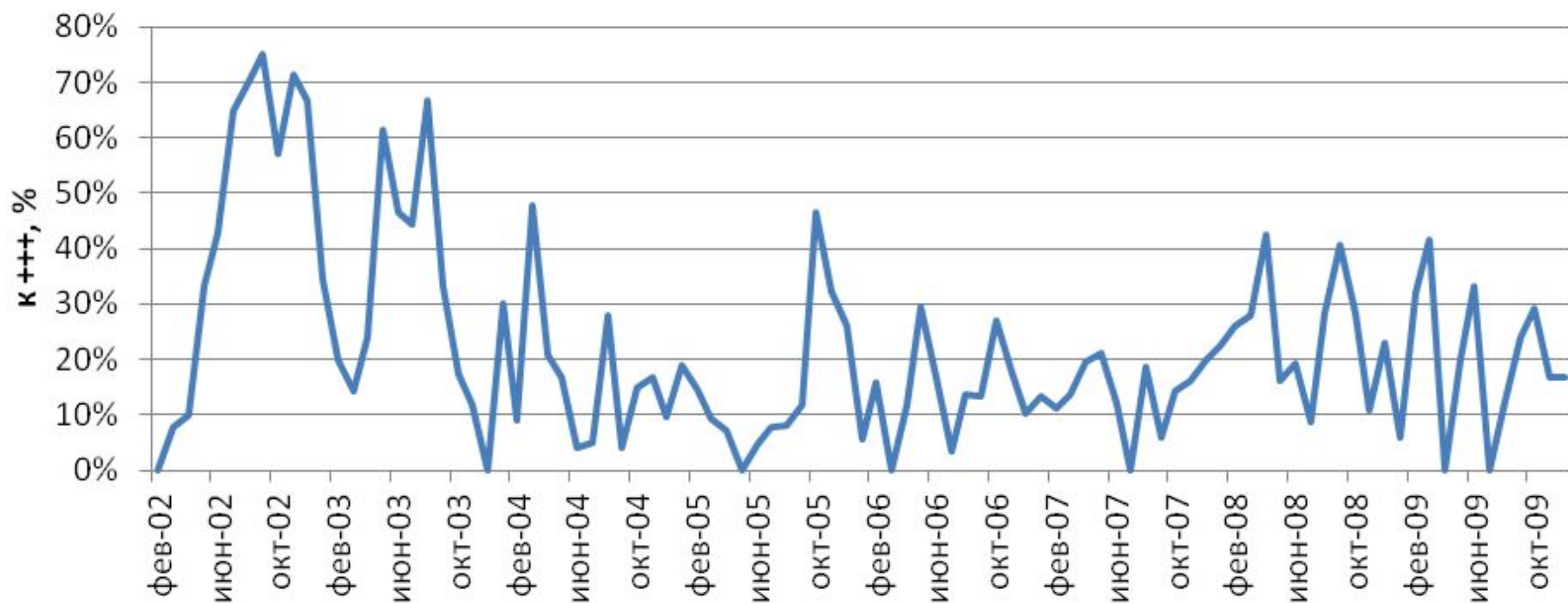
Кокковая форма *Helicobacter pylori*, выявленная иммуноцитохимическим методом, в препарате, приготовленном из гомогенизированного биоптата слизистой оболочки желудка методом ЖЦ. Увеличение 1000 \times



Распределение *H.pylori*-инфицированных пациентов с диагнозом хронический гастрит по признаку «частота встречаемости кокковых и U-форм в СОЖ». На круговой диаграмме изображено полуколичественное распределение пациентов по степени обсемененности СОЖ кокковыми и U-формами НР

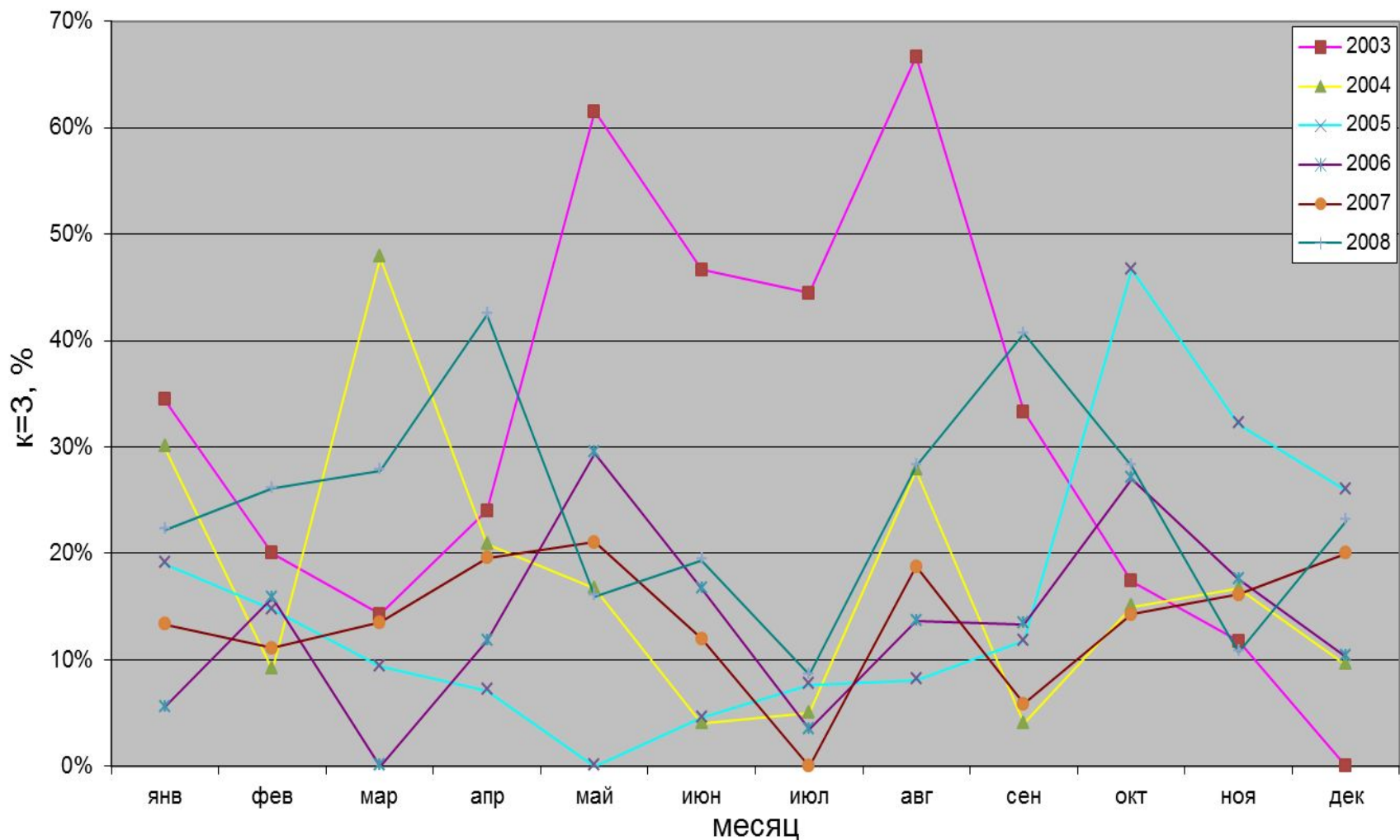
Полуколичественная шкала оценки степени обсемененности СОЖ кокковыми формами *H.pylori*

Количество кокковых форм среди всех клеток <i>H.pylori</i> , %	Заключение
0-1	К -
2-5	К +
6-9	К ++
>10	К ++++



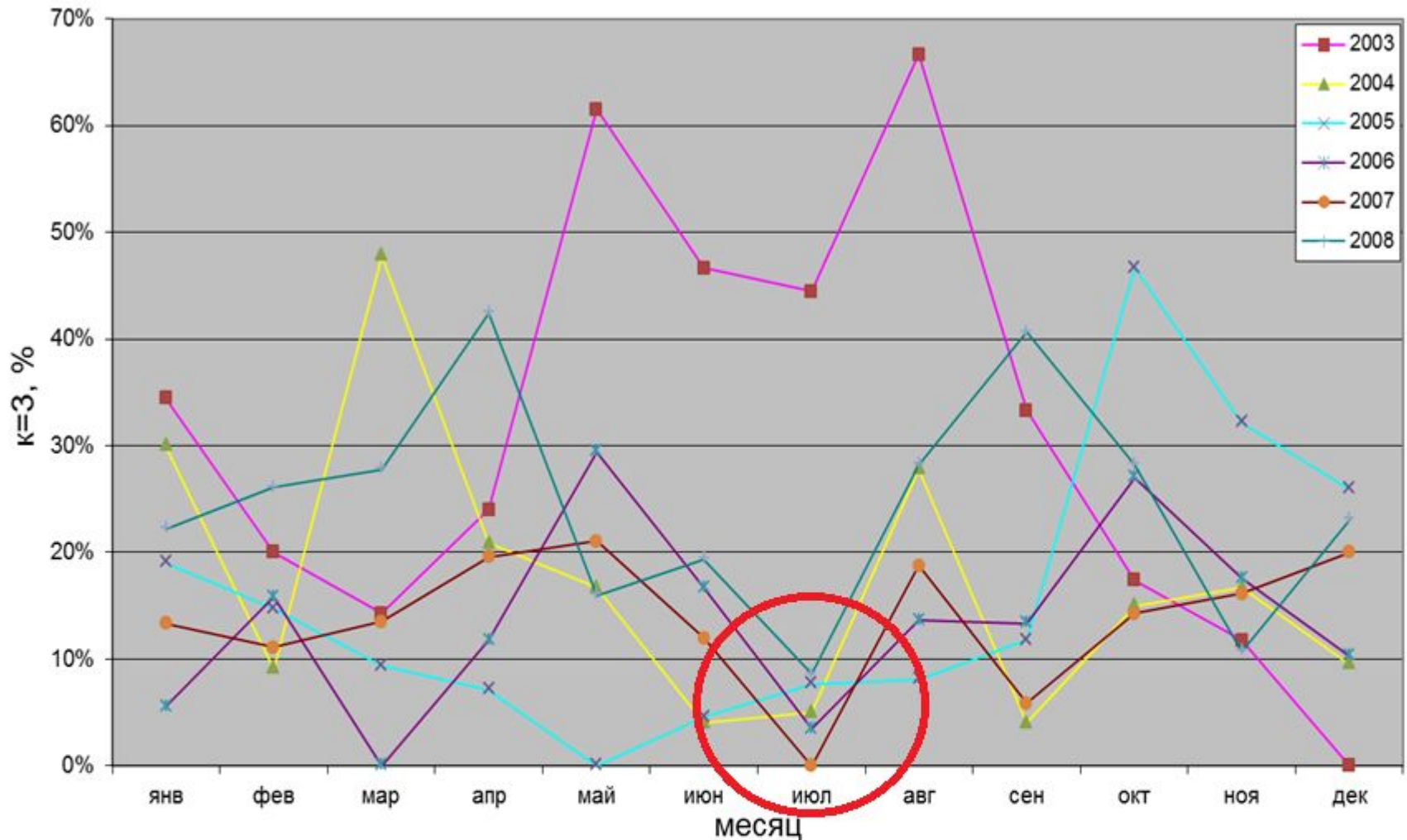
Помесячное распределение данных иммуноцитохимических исследований, соответствующих степени обсемененности СОЖ кокковыми формами к +++ (%) в 2002-2009 годах

Динамика интенсивной степени обсемененности кокковыми формами (к = 3)



Динамика интенсивной обсемененности СОЖ
кокковыми формами *H. pylori* (кокки = 3, %)

Динамика интенсивной степени обсемененности кокковыми формами ($\kappa = 3$)



Динамика интенсивной обсемененности СОЖ
кокковыми формами *H.pylori* (кокки = 3, %)

Критерий Фишера

(угловое преобразование Фишера) -
оценивает достоверность различий
между процентными долями двух
выборок, в которых
зарегистрирован интересующий нас
эффект.

месяц	хр НР	к=3	р3	месяц	всего	к=3	р3	ФЭМП, к=3	дост, к=3
июл.03	9	4	44,4%	сен.03	9	3	33,3%	0,484713	5
июл.04	20	1	5,0%	сен.04	25	1	4,0%	0,161037	5
июл.05	26	2	7,7%	сен.05	17	2	11,8%	0,442896	5
июл.06	29	1	3,4%	сен.06	15	2	13,3%	1,176033	5
июл.07	17	0	0,0%	сен.07	34	2	5,9%	1,649442	95
июл.08	35	3	8,6%	сен.08	32	13	40,6%	3,221528	95
июл.03	9	4	44,4%	окт.03	23	4	17,4%	1,523755	5
июл.04	20	1	5,0%	окт.04	20	3	15,0%	1,089	5
июл.05	26	2	7,7%	окт.05	30	14	46,7%	3,515677	95
июл.06	29	1	3,4%	окт.06	37	10	27,0%	2,902488	95
июл.07	17	0	0,0%	окт.07	35	5	14,3%	2,622206	95
июл.08	35	3	8,6%	окт.08	39	11	28,2%	2,257026	95
июл.03	9	4	44,4%	ноя.03	17	2	12%	1,841791	95
июл.04	20	1	5,0%	ноя.04	24	4	17%	1,288266	5
июл.05	26	2	7,7%	ноя.05	28	9	32%	2,362819	95
июл.06	29	1	3,4%	ноя.06	57	10	18%	2,151779	95
июл.07	17	0	0,0%	ноя.07	31	5	16%	2,738751	95
июл.08	35	3	8,6%	ноя.08	28	3	11%	0,286738	5
июл.03	9	4	44,4%	дек.03	20	0	0%	3,636035	95
июл.04	20	1	5,0%	дек.04	21	2	10%	0,56468	5
июл.05	26	2	7,7%	дек.05	27	7	26%	1,842931	95
июл.06	29	1	3,4%	дек.06	68	7	10%	1,261054	5
июл.07	17	0	0,0%	дек.07	20	4	20%	2,810973	95
июл.08	35	3	8,6%	дек.08	26	6	23%	1,575626	5
июл.03	9	4	44,4%	янв.03	29	10	34%	0,535199	5
июл.04	20	1	5,0%	янв.04	20	6	30%	2,239692	95
июл.05	26	2	7,7%	янв.05	21	4	19%	1,162928	5
июл.06	29	1	3,4%	янв.06	18	1	6%	0,341005	5
июл.07	17	0	0,0%	янв.07	30	4	13%	2,462614	95

Сравнение данных пациентов, обследованных в июле с данными пациентов, обследованных в остальные месяцы, по статистическому критерию Фишера.

Красным выделены данные за месяцы, удовлетворяющие условию «достоверность различия по статистическому критерию Фишера 95% минимум в 4 из 5 лет»

Выводы по работе

1. В когорте пациентов с хроническим гастритом (без выраженных клинических проявлений) выявлен субмодальный класс пациентов с активной бациллярно-кокковой трансформацией, соответствующей значительной степени обсемененности кокковыми формами НР (к +++).
2. Методами жидкостной цитологии и ИЦХ окрашивания определено присутствие переходных У форм и кокковых форм НР при абсолютном преобладании спиралевидных вегетативных форм в СОЖ антрального отдела. Частоты встречаемости кокковых форм НР в цитоцентрифугатах после ЖЦ совпадают с частотами встречаемости кокковых форм в прямых цитологических препаратах – мазках-отпечатках СОЖ.
3. Выявлен сезонный колебательный характер бациллярно-кокковой трансформации НР, главной отличительной особенностью которого является снижение степени обсемененности кокковыми формами НР в середине лета.