



<https://doi.org/10.34883/PI.2022.11.3.019>
УДК 579.61:616.348-007.64-06-089.168.7



Полуян О.С.✉, Костюк С.А., Воробей А.В., Хаджи Исмаил И.А.
Белорусская медицинская академия последипломного образования,
Минск, Беларусь

Микробиологические критерии риска развития дивертикулярной болезни ободочной кишки, ее осложнений и рецидивов

Конфликт интересов: не заявлен.

Вклад авторов: концепция и дизайн исследования – Полуян О.С., Костюк С.А.; сбор материала – Хаджи Исмаил И.А.; обработка материала, написание текста – Полуян О.С.; редактирование – Костюк С.А., Воробей А.В.

Подана: 04.04.2022

Принята: 05.09.2022

Контакты: olga.poluyan@mail.ru

Резюме

Цель. На основании молекулярно-генетических исследований установить микробиологические факторы риска развития дивертикулярной болезни ободочной кишки, ее осложнений и рецидивов.

Материалы и методы. В исследование включено 180 образцов биологического материала (интраоперационные биоптаты слизистой оболочки патологического участка дивертикула, здоровой стенки кишки, края наружного свища, инфильтратов дивертикулов и лимфоузлов, биологическая жидкость дивертикулов), в которых методом ПЦР в реальном времени проводили выявление ДНК возбудителей бактериальной и вирусной этиологии в качественном и количественном форматах. Статистическая обработка данных проводилась с помощью SPSS 16 (SPSS Inc.). Для относительных показателей определяли 95% доверительный интервал, сравнение независимых групп количественных переменных проводили с использованием критерия Манна – Уитни. Оценку предсказательной ценности предикторов и выбор их пороговых значений проводили с применением ROC-анализа.

Результаты. В неосложненных дивертикулах микробный фактор бактериальной этиологии выявлялся в 100%, вирусной – $5,71 \pm 2,37\%$ случаев. Осложненные дивертикулы в 100% случаев были инфицированы возбудителями бактериально-вирусной этиологии в микст-состоянии. Вирусное инфицирование подтверждено для 24 ($43,64 \pm 5,76\%$) образцов биоптатов лимфоузлов. В биоптатах стенки и биологической жидкости здоровой кишки без дивертикулов патогенные микроорганизмы выявлены не были.

Заключение. Присутствие в стенке кишки ДНК Enterobacteriaceae, Staphylococcus species, Streptococcus species является микробиологическим фактором риска развития дивертикулярной болезни; микст-инфицирование стенки кишки возбудителями бактериальной и вирусной этиологии – развития осложнений; а вирусное поражение лимфоузлов – рецидивов. Относительный риск развития осложнений при микст-инфицировании стенки кишки возбудителями бактериально-вирусной этиологии

составил $OR=15,658$. Относительный риск развития рецидивов при вирусном инфицировании лимфоузлов мезоколона составил $OR=13,200$.

Ключевые слова: дивертикулярная болезнь, осложнения, рецидив, ДНК, условно-патогенная флора, факторы риска

Poluyan O.✉, Kostiuk S., Vorobey A., Haji Ismail I.
Belarusian Medical Academy of Postgraduate Education, Minsk, Belarus

Microbiological Risk Criteria for Diverticular Disease of the Colon, Its Complications and Recurrences

Conflict of interest: nothing to declare.

Authors' contribution: concept and design of the study – Poluyan O., Kostiuk S.; collection of material – Haji Ismail I.; material processing, text writing – Poluyan O.; editing – Kostiuk S., Vorobey A.

Submitted: 04.04.2022

Accepted: 05.09.2022

Contacts: olga.poluyan@mail.ru

Abstract

Purpose. To establish microbiological risk factors for the development of diverticular disease of the colon, its complications and recurrences on the basis of molecular genetic studies.

Materials and methods. The study included 180 samples of biological material (intraoperative biopsies of the mucous membrane of the pathological area of the diverticulum, healthy intestinal wall, the edge of the external fistula, infiltrates of diverticula and lymph nodes, biological fluid of diverticula), in which bacterial and viral etiology pathogens DNA was detected by real-time PCR with qualitative and quantitative formats. Statistical data processing was carried out using SPSS 16 (SPSS Inc.). For relative indicators, a 95% confidence interval was determined, a comparison of independent groups of quantitative variables was performed using the Mann – Whitney test. The predictive value of predictors and the choice of their threshold values were evaluated using ROC analysis.

Results. In uncomplicated diverticula, the microbial factor of bacterial etiology was detected in 100%, viral – in $5.71\pm 2.37\%$ of cases. Complicated diverticula in 100% of cases were infected with pathogens of bacterial-viral etiology in a mixed state. Viral infection was confirmed in 24 ($43.64\pm 5.76\%$) lymph node biopsy specimens. In biopsy specimens of the wall and biological fluid of a healthy intestine without diverticula, pathogenic microorganisms were not detected.

Conclusion. The presence of Enterobacteriaceae, Staphylococcus species, Streptococcus species DNA in the intestinal wall is a microbiological risk factor for the development of diverticular disease; mixed infection of the intestinal wall with pathogens of bacterial and viral etiology is a risk factor for complications; and viral lesion of lymph nodes is a risk factor for recurrences. The relative risk of developing complications in case of mixed infection of the intestinal wall with pathogens of bacterial and viral etiology was $RR=15.658$.

The relative risk of recurrence in case of viral infection of the mesocolon lymph nodes was $RR=13.200$.

Keywords: diverticular disease, complications, recurrence, DNA, opportunistic flora, risk factors

■ ВВЕДЕНИЕ

В основе развития как неосложненной формы дивертикулярной болезни с клиническими проявлениями, так и осложненных ее форм лежат воспалительные изменения в стенке дивертикулов [1]. Задержка эвакуации содержимого из тела дивертикула через его узкую шейку приводит к образованию фекалита. При полной обструкции шейки дивертикула в его теле развиваются процессы воспаления, а в просвете накапливается экссудат [2]. Если в результате размягчения фекалита воспалительным экссудатом не происходит его эвакуации через шейку в просвет кишки, то развивается реактивное воспаление окружающих дивертикул тканей, а затем – пропитывание окружающих тканей воспалительным экссудатом. В зависимости от реактивных свойств организма и вирулентности инфекционного агента, воспаление может варьировать от незначительного отека окружающей кишку жировой клетчатки до перфорации дивертикула с развитием перитонита [3, 4].

Если в острой фазе воспаления произошло разрушение всей стенки дивертикула или ее части, то по стихании процессов острого воспаления полного восстановления структурной целостности стенки дивертикула не происходит. Дефекты стенки при этом заполняются грануляционной тканью, которая находится в постоянном контакте с агрессивным содержимым толстой кишки с высокой концентрацией микроорганизмов [5, 6]. Так как мышечный и подслизистый слои в дивертикуле отсутствуют, при разрушении базальной мембраны и собственной пластинки слизистой содержимое кишки контактирует не со стенкой кишки, а с околокишечной клетчаткой, создавая условия для перехода процесса в хроническую форму и развития рецидивов воспалительного процесса [1, 2].

■ ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

На основании молекулярно-генетических исследований установить микробиологические факторы риска развития дивертикулярной болезни ободочной кишки, ее осложнений и рецидивов.

■ МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Для установления микробиологических факторов риска развития дивертикулярной болезни, ее осложнений и рецидивов в исследование было включено 180 образцов различного биологического материала: 35 образцов интраоперационных биоптатов слизистой оболочки патологических участков неосложненных дивертикулов, 19 образцов интраоперационных биоптатов слизистой оболочки патологических участков осложненных дивертикулов, 1 образец интраоперационного биоптата края наружного свища, 25 образцов интраоперационных биоптатов инфильтратов брыжейки, 55 образцов интраоперационных биоптатов лимфоузлов, 37 образцов

интраоперационных биоптатов слизистой оболочки участков здоровой кишки без дивертикулов, а также 5 образцов интраоперационных биоптатов стенки кишки и 3 образца биологической жидкости стенки кишки пациентов, оперированных по поводу рака ободочной кишки без признаков непроходимости, и долихоколон (контрольный биологический материал).

Выделение ДНК из биологического материала проводили с использованием фенол-хлороформной экстракции (набор реагентов TRIzol (Invitrogen, США)). Предварительно проводили этап гомогенизации образцов биологического материала с использованием гомогенизатора TissueLyser II (Qiagen) в течение 3 минут (частота 10/с).

Оценку качества и количества выделенной ДНК оценивали спектрофотометрически. Для оценки степени чистоты образцов ДНК использовали отношение между оптической плотностью при 260 и 280 нм. Концентрацию нуклеиновых кислот в растворе рассчитывали после измерения его оптической плотности при 260 нм по формуле (1):

$$C \text{ (мкг/мл)} = A_{260} / 0,020, \quad (1)$$

где C (мкг/мл) – концентрация нуклеиновых кислот;

A_{260} – величина оптической плотности при 260 нм.

Молекулярно-генетические исследования с использованием тест-систем «Ампли-Сенс» (РФ) по выявлению ДНК условно-патогенной флоры аэробной этиологии семейства Enterobacteriaceae, рода Staphylococcus species, рода Streptococcus species; ДНК метициллин-чувствительного и метициллин-резистентного Staphylococcus aureus, метициллин-резистентных коагулазонегативных Staphylococcus species проводились как в качественном, так и количественном форматах; ДНК Herpes simplex virus I, II типов, Cytomegalovirus, Epstein – Barr virus; ДНК Human papilloma virus высокого (16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 67-го типов) и низкого (6-го, 11-го типов) канцерогенного риска – в качественном формате. Детекцию результатов проводили в режиме реального времени с использованием программного обеспечения прибора Rotor-Gene-6000 (Corbett research, Австралия). Для качественных исследований результаты интерпретировали на основании наличия (или отсутствия) пересечения кривой флуоресценции с пороговой линией, установленной на уровне экспоненциального подъема кривой, что определяло наличие (или отсутствие) для искомой ДНК-мишени значения порогового цикла C_t в соответствующей графе таблицы результатов программного обеспечения прибора. При проведении количественных исследований определяли концентрации ДНК искоемых возбудителей относительно входящих в состав тест-систем стандартов.

Статистическая обработка данных проводилась с помощью пакета прикладных программ «SPSS версия 16» (SPSS Inc.). Все количественные данные имели непараметрическое распределение (проверку на нормальность проводили с использованием критерия Колмогорова – Смирнова) и представлены в виде значений медианы и квартилей (Me (Q25/75)). Для характеристики частоты изучаемых признаков использовали абсолютные и относительные (%) показатели. Для относительных показателей определяли 95% доверительный интервал (ДИ). Для решения задачи сравнения двух независимых групп количественных переменных применялся критерий Манна – Уитни с целью сравнения величин измерений признака. Для определения степени

сопряженности исследуемых факторов с риском развития дивертикулярной болезни ободочной кишки, ее осложнений и рецидивов использовали критерий χ^2 Пирсона с поправкой Йейтса. Критическим уровнем значимости при проверке статистических гипотез принят уровень $p < 0,05$. Оценку предсказательной ценности предикторов и выбор их пороговых значений проводили с применением ROC-анализа с вычислением площади под кривой – AUC (area under the curve). Для сравнения вероятности развития осложнений и рецидивов дивертикулярной болезни ободочной кишки в зависимости от наличия микробиологического фактора риска использовали расчет относительного риска (ОР). Для сравнения исследуемых подгрупп по частоте выявления факторов риска использовали расчет отношения шансов (ОШ). Данные сводились в таблицу 2х2. Расчет показателей проводили с использованием онлайн-калькулятора medstatistic.ru.

Для оценки диагностической значимости результатов рассчитывали диагностическую чувствительность (ДЧ), диагностическую специфичность (ДС), предсказательную ценность положительного (ПЦ+) и отрицательного (ПЦ–) результатов по формулам 2–5.

$$\text{ДЧ} = [\text{ИП} / (\text{ИП} + \text{ЛО})] \times 100\%, \quad (2)$$

где ИП – истинно положительные результаты теста;
ЛО – ложноотрицательные результаты теста.

$$\text{ДС} = [\text{ИО} / (\text{ИО} + \text{ЛП})] \times 100\%, \quad (3)$$

где ИО – истинно отрицательные результаты теста;
ЛП – ложноположительные результаты теста.

$$\text{ПЦ+} = [\text{ИП} / (\text{ИП} + \text{ЛП})] \times 100\%, \quad (4)$$

где ИП – истинно положительные результаты теста;
ЛП – ложноположительные результаты теста.

$$\text{ПЦ–} = [\text{ИО} / (\text{ИО} + \text{ЛО})] \times 100\%, \quad (5)$$

где ИО – истинно отрицательные результаты теста;
ЛО – ложноотрицательные результаты теста [7].

■ РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

На основании проведенных молекулярно-генетических исследований нами были установлены микробиологические характеристики различного биологического материала пациентов с дивертикулярной болезнью ободочной кишки. В соответствии с концепцией и дизайном исследования статистический анализ и интерпретация полученных результатов проводились отдельно для каждого вида биологического материала.

В биологическом материале из неосложненных дивертикулов ($n=35$) частота выявления микробного фактора (рис. 1) бактериальной этиологии составила 100%, возбудители вирусной этиологии были выявлены в $5,71 \pm 2,37\%$ ($n=2$) случаев.

При изучении видового состава выявленной флоры из неосложненных дивертикулов ($n=35$) было установлено, что частота выявления условно-патогенной флоры аэробной этиологии семейства Enterobacteriaceae составила $54,28 \pm 6,63\%$,

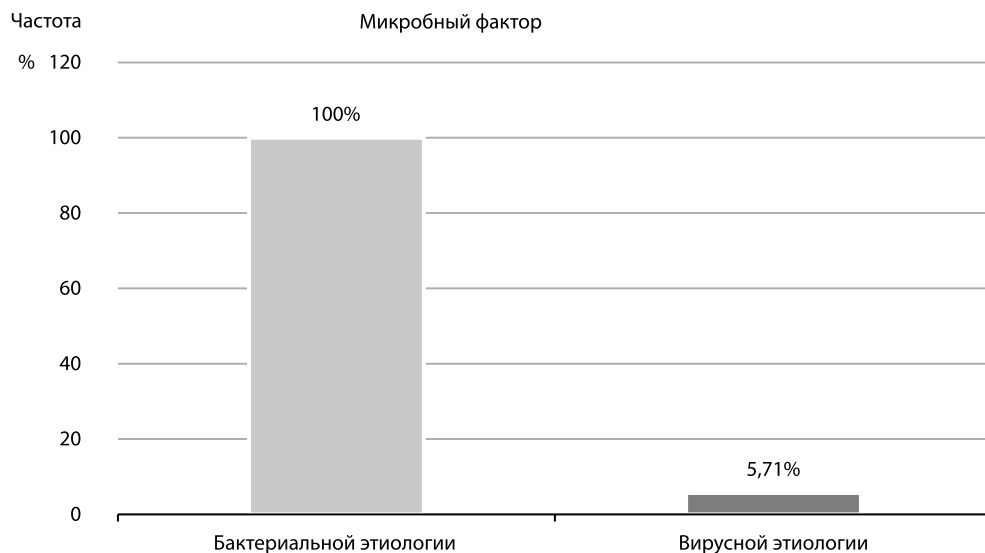


Рис. 1. Частота микробного инфицирования биологического материала неосложненных дивертикулов

Fig. 1. Frequency of microbial infection in uncomplicated diverticula biological material

описывается отдельно каждая группа биологического материала, конкретно в данном случае – из неосложненных дивертикулов ($n=35$) ($n=19$), рода *Streptococcus species* – $48,57 \pm 6,35\%$, в настоящем исследовании при описании частоты встречаемости признака везде указывается 95% доверительный интервал (ДИ) ($n=17$), рода *Staphylococcus species* – $40,00 \pm 5,86\%$ ($n=14$). При этом в 18 образцах указанные возбудители присутствовали в виде моноинфекции: ДНК *Enterobacteriaceae* была выявлена в 6 образцах ($17,14 \pm 4,01\%$), ДНК *Streptococcus species* – в 6 образцах ($17,14 \pm 4,01\%$), ДНК *Staphylococcus species* – в 6 образцах ($17,14 \pm 4,01\%$). Видовая принадлежность выявленных возбудителей рода *Staphylococcus species*: метициллин-чувствительные *Staphylococcus aureus* ($33,33 \pm 5,71\%$, $n=2$) и метициллин-резистентные *Staphylococcus aureus* ($66,67 \pm 8,00\%$, $n=4$). В 1 образце ($2,86 \pm 1,68\%$) была выявлена ассоциация ДНК *Enterobacteriaceae* + *Herpes simplex virus I, II*, еще в 1 ($2,86 \pm 1,68\%$) – ДНК *Streptococcus species* + *Epstein – Barr virus*. ДНК *Human papilloma virus* высокого (16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 67-го типов) и низкого (6-го, 11-го типов) канцерогенного риска не была выявлена ни в одном из образцов исследуемого биологического материала.

В 15 образцах биологического материала из неосложненных дивертикулов выявленные возбудители присутствовали в составе микст-инфекций: ДНК *Enterobacteriaceae* + *Staphylococcus species* была выявлена в 5 образцах ($16,13 \pm 3,91\%$), ДНК *Enterobacteriaceae* + *Streptococcus species* – в 4 образцах ($12,90 \pm 3,51\%$), ДНК *Staphylococcus species* + *Streptococcus species* – в 3 образцах ($9,68 \pm 3,06\%$), ДНК *Enterobacteriaceae* + *Staphylococcus species* + *Streptococcus species* – в 3 образцах



(9,68±3,06%); видовая принадлежность представителей рода *Staphylococcus*: метициллин-резистентные коагулазонегативные *Staphylococcus species* (35,48±5,62%, n=11).

Проведенные молекулярно-генетические исследования позволили установить наличие ассоциаций возбудителей бактериальной и вирусной этиологии в биоптатах осложненных дивертикулов (n=19) во всех (100%) анализируемых образцах, анализируется отдельно каждый вид биологического материала. При этом ДНК Human papilloma virus высокого (16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 67-го типов) и низкого (6-го, 11-го типов) канцерогенного риска не была выявлена ни в одном из образцов исследуемого биологического материала (табл. 1).

При изучении видового состава выявленной флоры установлено, что ДНК условно-патогенных микроорганизмов аэробной этиологии семейства Enterobacteriaceae была выявлена в 13 образцах (68,42±7,71%); рода *Streptococcus species* – в 12 образцах (63,16±7,45%), рода *Staphylococcus species* – в 11 образцах (57,89±7,18%) исследуемого биологического материала. Видовая принадлежность выявленных возбудителей рода *Staphylococcus species* была представлена следующим распределением: метициллин-чувствительные *Staphylococcus aureus* – n=1 (9,09±3,00%), метициллин-резистентные *Staphylococcus aureus* – n=2 (18,18±4,22%), метициллин-резистентные коагулазонегативные *Staphylococcus species* – n=8 (72,73±8,18%).

В 1 образце биоптата края наружного свища была выявлена ассоциация возбудителей ДНК Enterobacteriaceae + *Streptococcus species*.

При проведении молекулярно-генетических исследований в биоптатах инфильтратов брыжейки (n=25) микробный фактор (рис. 2) вирусной этиологии выявлен не был ни в одном из образцов. Бактериальный микробный фактор был выявлен в 20 образцах (80,00±8,00%) исследуемого биологического материала. При этом возбудители выявлялись как в состоянии моноинфекции, так и виде ассоциаций.

Таблица 1
Выявленные микробные ассоциации в биологическом материале из осложненных дивертикулов (n=19)
Table 1

Identified microbial associations in biological material from complicated diverticula (n=19)

Ассоциации возбудителей	Частота встречаемости, n (%±ДИ)
Enterobacteriaceae + <i>Streptococcus species</i> + Cytomegalovirus	1 (5,00±2,22%)
Enterobacteriaceae + <i>Streptococcus species</i> + Epstein – Barr virus	2 (10,00±6,71%)
Enterobacteriaceae + <i>Streptococcus species</i>	2 (10,00±6,71%)
Enterobacteriaceae + <i>Staphylococcus species</i> + Herpes simplex virus I, II	4 (20,00±4,38%)
Enterobacteriaceae + <i>Staphylococcus species</i> + Cytomegalovirus	1 (5,00±2,22%)
Enterobacteriaceae + <i>Staphylococcus species</i> + Epstein – Barr virus	1 (5,00±2,22%)
Enterobacteriaceae + Herpes simplex virus I, II + Cytomegalovirus	1 (5,00±2,22%)
Enterobacteriaceae + Herpes simplex virus I, II	1 (5,00±2,22%)
<i>Streptococcus species</i> + <i>Staphylococcus species</i> + Herpes simplex virus I, II	1 (5,00±2,22%)
<i>Streptococcus species</i> + <i>Staphylococcus species</i> + Cytomegalovirus	2 (10,00±6,71%)
<i>Streptococcus species</i> + <i>Staphylococcus species</i> + Epstein – Barr virus	1 (5,00±2,22%)
<i>Streptococcus species</i> + Herpes simplex virus I, II	1 (5,00±2,22%)
<i>Streptococcus species</i> + Epstein – Barr virus	1 (5,00±2,22%)

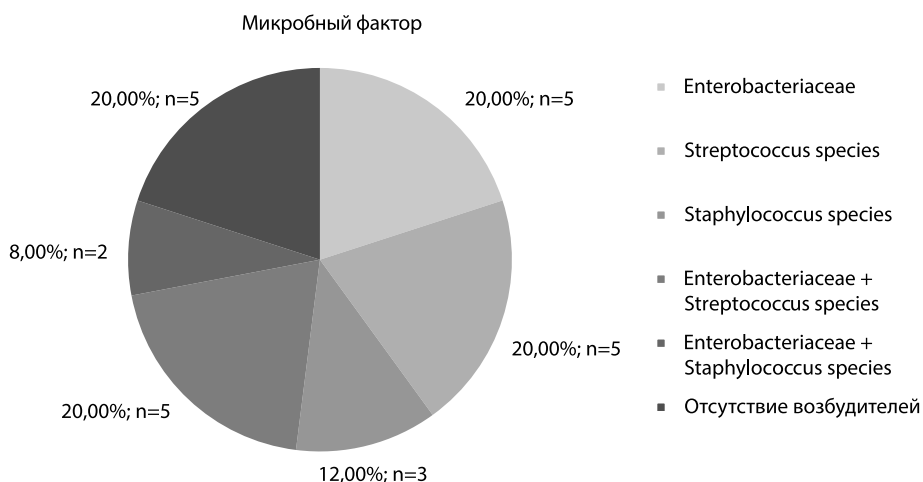


Рис. 2. Спектр микробной обсемененности биоптатов инфильтратов брыжейки
Fig. 2. The spectrum of microbial contamination in mesenteric infiltrates biopsy specimens

При проведении дифференциальной диагностики выявленных возбудителей рода *Staphylococcus species* установлено, что все выявленные микроорганизмы (n=5) принадлежали к метициллин-резистентным коагулазонегативным *Staphylococcus species*.

При исследовании биоптатов лимфоузлов (n=55) было установлено отсутствие микроорганизмов бактериальной этиологии во всех образцах биологического материала. При этом вирусное инфицирование было подтверждено для 24 (43,64±5,76%) образцов, для 20 (36,36±5,39%) образцов было характерно моноинфицирование: ДНК Herpes simplex virus I, II была выявлена в 9 (16,36±3,86%) образцах, ДНК Cytomegalovirus – в 4 (7,27±2,64%) образцах, ДНК Epstein – Barr virus – в 8 (14,55±3,66%) образцах. В 3 образцах (5,45±2,30%) была выявлена ассоциация ДНК Herpes simplex virus I, II + Cytomegalovirus. ДНК Human papilloma virus высокого (16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 67-го типов) и низкого (6-го, 11-го типов) риска не обнаружена ни в одном из образцов исследуемого биологического материала.

При проведении аналогичных исследований в биоптатах слизистой оболочки участков здоровой кишки без дивертикулов (n=37), а также в контрольном биологическом материале (n=8) патогенные микроорганизмы бактериальной и вирусной этиологии выявлены не были.

В ходе проведенных молекулярно-генетических исследований по определению микробного спектра инфицирования тканей ободочной кишки было установлено, что бактериальные возбудители в виде моноинфекции были обнаружены в биологическом материале из неосложненных дивертикулов, тогда как в биоптатах из осложненных дивертикулов выявлялось сочетанное бактериально-вирусное инфицирование.

На основании указанного факта нами было выдвинуто предположение о возможном влиянии микст-инфицирования бактериально-вирусной этиологии стенки кишки на риск развития осложнений дивертикулярной болезни.



Анализ значимости различий по частоте встречаемости признака оценивали с помощью критерия χ^2 в таблице сопряженности 2x2 (табл. 2).

Относительный риск развития осложнений дивертикулярной болезни ободочной кишки составил $OR=15,658$ (нижняя – верхняя границы 95% ДИ 4,041–60,675) при $p<0,05$.

Критерий χ^2 с поправкой Йейтса составил 34,301 при $p<0,001$, что свидетельствует о статистически достоверной значимости различий исходов в зависимости от воздействия фактора риска. Критерий ϕ составил 0,838, что свидетельствует об очень сильной связи между фактором риска и исходом.

Отношение шансов для формирования осложнений дивертикулярной болезни при микст-инфицировании бактериально-вирусными патогенами в виде ассоциаций составило 140,250 (нижняя – верхняя границы 95% ДИ 18,137–1084,535) при $p<0,05$.

Показатель диагностической чувствительности теста составил 89,47%, диагностической специфичности – 94,28%, предсказательной ценности положительного и отрицательного результатов – 89,47% и 94,28% соответственно.

В ходе проведенных молекулярно-генетических исследований также было установлено, что в ряде случаев наблюдается сочетанное инфицирование тканей кишки бактериальными возбудителями и лимфоузлов мезоколона вирусными патогенами; при этом ДНК исследуемых вирусов в тканях кишки не выявляется. На основании указанного факта нами было выдвинуто предположение о возможном влиянии вирусов на риск формирования рецидивов дивертикулярной болезни.

Анализ значимости различий по частоте встречаемости признака оценивали с помощью критерия χ^2 в таблице сопряженности 2x2 (табл. 3).

Относительный риск развития рецидивов дивертикулярной болезни ободочной кишки составил $OR=13,200$ (нижняя – верхняя границы 95% ДИ 3,433–50,752) при $p<0,05$.

Таблица 2

Таблица данных для расчета статистических показателей по признаку «Вид инфицирования ткани кишки»

Table 2

Data table for calculating statistical indicators in terms of Type of intestinal tissue infection

Развитие осложнений	Бактериально-вирусное инфицирование	Бактериальное инфицирование	Всего
Есть	17	2	19
Нет	2	33	35
Всего	19	35	54

Таблица 3

Таблица данных для расчета статистических показателей по признаку «Вирусное инфицирование лимфоузлов мезоколона»

Table 3

Data table for calculating statistical indicators in terms of Viral infection of the mesocolon lymph nodes

Развитие рецидивов	Наличие вирусной ДНК в биоптатах лимфоузлов	Отсутствие вирусной ДНК в биоптатах лимфоузлов	Всего
Есть	22	3	25
Нет	2	28	30
Всего	24	31	55

Критерий χ^2 с поправкой Йейтса составил 33,444 при $p < 0,001$, что свидетельствует о статистически достоверной значимости различий исходов в зависимости от воздействия фактора риска. Критерий ϕ составил 0,817, что свидетельствует об очень сильной связи между фактором риска и исходом.

Отношение шансов для формирования рецидивов дивертикулярной болезни при вирусном инфицировании лимфоузлов мезоколона составило 102,667 (нижняя – верхняя границы 95% ДИ 15,755–669,029) при $p < 0,05$.

Показатель диагностической чувствительности теста составил 91,67%, диагностической специфичности – 90,32%, предсказательной ценности положительного и отрицательного результатов – 88,00% и 93,33% соответственно.

На следующем этапе нами были проведены молекулярно-генетические исследования по определению количественных уровней (концентраций) ДНК семейства Enterobacteriaceae (рис. 3), рода Streptococcus species, рода Staphylococcus species во всех образцах биологического материала, в которых при проведении качественных исследований ДНК указанных возбудителей не была выявлена. Результаты проведенных исследований представлены в табл. 4.

Использование непараметрического критерия Манна – Уитни позволило сделать вывод о наличии статистически достоверных различий для исследуемых групп: $Z = -5,063$ при $p < 0,001$ (для групп «неосложненный дивертикул – осложненный дивертикул»); $Z = -2,332$ при $p = 0,020$ (для групп «неосложненный дивертикул – инфильтрат брыжейки»); $Z = -4,656$ при $p < 0,001$ (для групп «осложненный дивертикул – инфильтрат брыжейки»).

Затем были произведены статистические расчеты по установлению влияния пороговых уровней концентраций ДНК семейства Enterobacteriaceae на риск формирования осложненных дивертикулов ободочной кишки.

Для установления порогового значения количественного предиктора «концентрация ДНК Enterobacteriaceae» был проведен ROC-анализ с определением AUC.

Установлено, что концентрация ДНК Enterobacteriaceae $7,4 \times 10^3$ копий/мл (т. е. точка отсечения) разделяет с чувствительностью 94,7% и специфичностью 74,3% (AUC=0,920 (95% ДИ 0,810–1,031), $p < 0,001$) пациентов с дивертикулярной болезнью на две подгруппы: без осложненных дивертикулов и с осложненными дивертикулами.

Таблица 4
Количественные данные определения концентраций ДНК Enterobacteriaceae, Staphylococcus species, Streptococcus species в биоптатах тканей ободочной кишки
Table 4
Quantitative data for determination of Enterobacteriaceae, Staphylococcus species, Streptococcus species DNA concentrations in colon biopsy specimens

Биологический материал	Концентрация ДНК Enterobacteriaceae Me (Q25/75) копий/мл	Концентрация ДНК Streptococcus species Me (Q25/75) копий/мл	Концентрация ДНК Staphylococcus species Me (Q25/75) копий/мл
Неосложненный дивертикул	9232 (7341/10 761)	9296 (7671/11 159)	8438 (6804/10 908)
Осложненный дивертикул	30 678 (18 996/37 073)	9413 (8460/11 074)	10 601 (9289/11 171)
Инфильтрат брыжейки	11 577 (82 66,5/17 274,5)	10 404 (6995/13 069)	10 999 (7036/12 827)

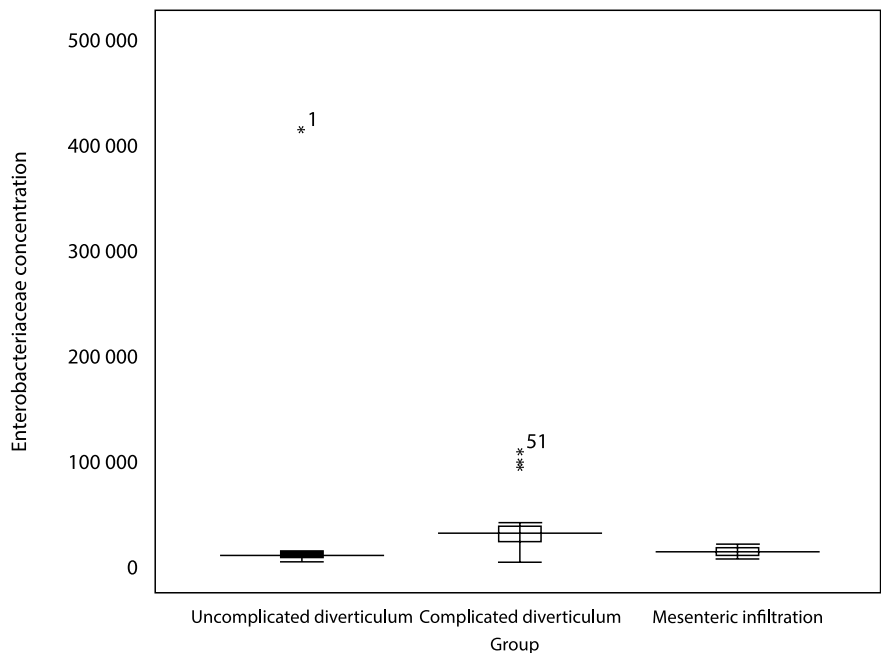


Рис. 3. Значения концентраций ДНК Enterobacteriaceae в различном биологическом материале

Примечания: uncomplicated diverticulum – неосложненный дивертикул; complicated diverticulum – осложненный дивертикул; mesenteric infiltration – инфильтрат брыжейки.

Fig. 3. Enterobacteriaceae DNA concentration values in different biological material

Анализ значимости различий по частоте встречаемости признака оценивали с помощью критерия χ^2 в таблице сопряженности 2×2 (табл. 5).

Относительный риск формирования осложненных дивертикулов составил OR=9,771 (нижняя – верхняя границы 95% ДИ 1,412–67,638) при $p<0,05$.

Критерий χ^2 с поправкой Йейтса составил 9,573 при $p=0,002$, что свидетельствует о статистически достоверной значимости различий исходов в зависимости от

Таблица 5
Таблица данных для расчета статистических показателей по признаку «Концентрация ДНК Enterobacteriaceae»

Table 5
Data table for calculating statistical indicators in terms of Enterobacteriaceae DNA concentration

Формирование осложненного дивертикула	Концентрация ДНК Enterobacteriaceae >7,4×10 ³ копий/мл	Концентрация ДНК Enterobacteriaceae ≤7,4×10 ³ копий/мл	Всего
Есть	18	17	35
Нет	1	18	19
Всего	19	35	54

воздействия фактора риска. Критерий ϕ составил 0,462, что свидетельствует об относительно сильной связи между фактором риска и исходом.

Отношение шансов для формирования осложненных дивертикулов в зависимости от концентрации ДНК Enterobacteriaceae составило 19,059 (нижняя – верхняя границы 95% ДИ 2,288–158,782) при $p < 0,05$.

Затем проведены исследования по определению концентраций ДНК Streptococcus species во всех образцах биологического материала, в которых при проведении качественных исследований ДНК данного возбудителя не была выявлена (рис. 4).

Использование непараметрического критерия Манна – Уитни позволило сделать вывод об отсутствии статистически достоверных различий для исследуемых групп: для групп «неосложненный дивертикул – осложненный дивертикул» $Z = -0,408$, $p = 0,684$; для групп «неосложненный дивертикул – инфильтрат брыжейки» $Z = -0,937$, $p = 0,349$; для групп «осложненный дивертикул – инфильтрат брыжейки» $Z = -0,865$, $p = 0,387$.

Аналогичные данные, свидетельствующие об отсутствии статистически значимых достоверных различий, были получены при определении концентраций ДНК Staphylococcus species в различном биологическом материале (рис. 5).

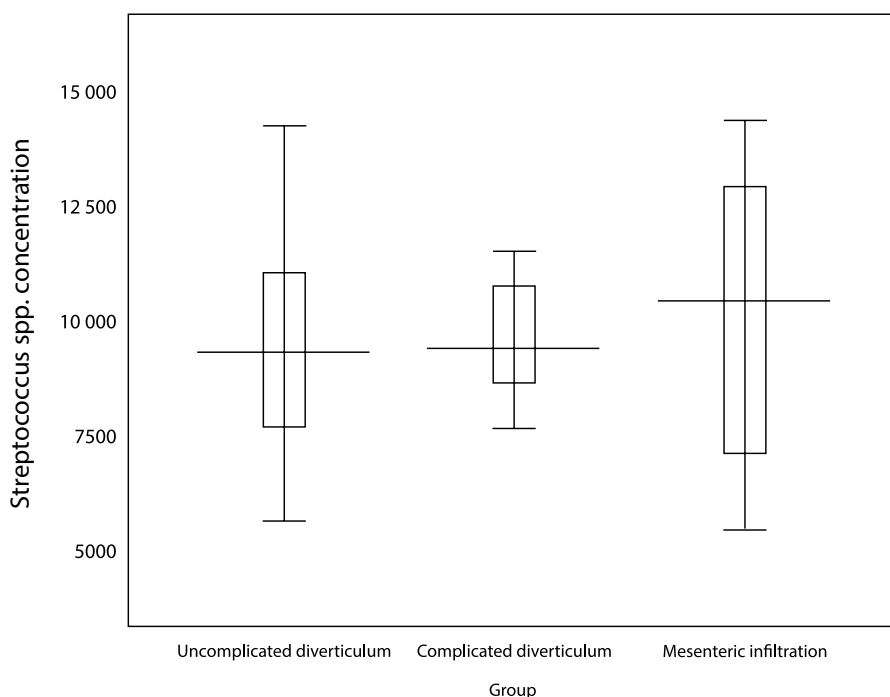


Рис. 4. Значения концентраций ДНК Streptococcus species в различном биологическом материале

Примечания: uncomplicated diverticulum – неосложненный дивертикул; complicated diverticulum – осложненный дивертикул; mesenteric infiltration – инфильтрат брыжейки.

Fig. 4. Streptococcus species DNA concentration values in various biological material

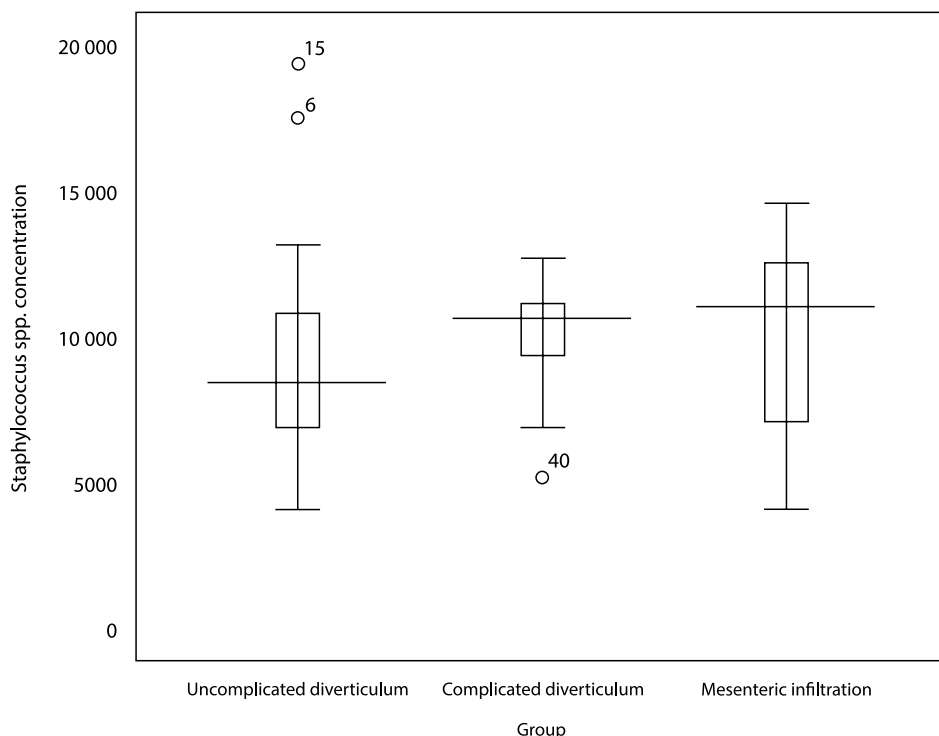


Рис. 5. Значения концентраций ДНК Staphylococcus species в различном биологическом материале

Примечания: uncomplicated diverticulum – неосложненный дивертикул; complicated diverticulum – осложненный дивертикул; mesenteric infiltration – инфильтрат брыжейки.

Fig. 5. Values of DNA concentrations of Staphylococcus species in various biological material

Критерий Манна – Уитни составил: для групп «неосложненный дивертикул – осложненный дивертикул» $Z = -1,784$, $p = 0,074$; для групп «неосложненный дивертикул – инфильтрат брыжейки» $Z = -1,672$, $p = 0,095$; для групп «осложненный дивертикул – инфильтрат брыжейки» $Z = -0,628$, $p = 0,530$.

■ ЗАКЛЮЧЕНИЕ

На основании проведенных молекулярно-генетических исследований установлено, что микробное инфицирование возбудителями бактериальной этиологии характерно в равной степени для осложненных и неосложненных дивертикулов, а также для инфильтратов брыжейки. Тем не менее, для указанных локализаций выявлены некоторые различия: в биоптатах из неосложненных дивертикулов и инфильтратов брыжейки бактериальные агенты выявляются как в моно-, так и в микст-состоянии; тогда как в биоптатах из осложненных дивертикулов возбудители выявляются только в виде ассоциаций. Микробный фактор вирусной этиологии был выявлен в биоптатах лимфоузлов (как в виде моноинфекции, так и в составе ассоциаций), а также

в биоптатах неосложненных дивертикулов в ассоциации с бактериальным микробным фактором.

Таким образом, на основании проведенных молекулярно-генетических исследований по оценке транслокации микрофлоры в слизистую оболочку и лимфоузлы мезоколона установлено, что присутствие в стенке кишки ДНК условно-патогенной флоры аэробной этиологии семейства *Enterobacteriaceae*, рода *Staphylococcus species*, рода *Streptococcus species* является микробиологическим фактором риска развития дивертикулярной болезни; микст-инфицирование стенки кишки возбудителями бактериальной и вирусной (ДНК *Herpes simplex virus I, II* типов, *Cytomegalovirus*, *Epstein – Barr virus*) этиологии является микробиологическим фактором риска развития осложнений дивертикулярной болезни; а вирусной поражение лимфоузлов является микробиологическим фактором риска развития рецидивов дивертикулярной болезни ободочной кишки.

Относительный риск развития осложнений дивертикулярной болезни ободочной кишки при микст-инфицировании стенки кишки возбудителями бактериально-вирусной этиологии составил $OR=15,658$ (нижняя – верхняя границы 95% ДИ 4,041–60,675) при $p<0,05$. Критерий χ^2 с поправкой Йейтса составил 34,301 при $p<0,001$, что свидетельствует о статистически достоверной значимости различий исходов в зависимости от воздействия фактора риска. Критерий ϕ составил 0,838, что свидетельствует об очень сильной связи между фактором риска и исходом. Отношение шансов для формирования осложнений дивертикулярной болезни при микст-инфицировании бактериально-вирусными патогенами в виде ассоциаций составило 140,250 (нижняя – верхняя границы 95% ДИ 18,137–1084,535) при $p<0,05$. Показатель диагностической чувствительности теста составил 89,47%, диагностической специфичности – 94,28%, предсказательной ценности положительного и отрицательного результатов – 89,47% и 94,28% соответственно.

Относительный риск развития рецидивов дивертикулярной болезни ободочной кишки при вирусном инфицировании лимфоузлов мезоколона составил $OR=13,200$ (нижняя – верхняя границы 95% ДИ 3,433–50,752) при $p<0,05$. Критерий χ^2 с поправкой Йейтса составил 33,444 при $p<0,001$, что свидетельствует о статистически достоверной значимости различий исходов в зависимости от воздействия фактора риска. Критерий ϕ составил 0,817, что свидетельствует об очень сильной связи между фактором риска и исходом. Отношение шансов для формирования рецидивов дивертикулярной болезни при вирусном инфицировании лимфоузлов мезоколона составило 102,667 (нижняя – верхняя границы 95% ДИ 15,755–669,029) при $p<0,05$. Показатель диагностической чувствительности теста составил 91,67%, диагностической специфичности – 90,32%, предсказательной ценности положительного и отрицательного результатов – 88,00% и 93,33% соответственно.

С использованием ROC-анализа установлено, что концентрация ДНК *Enterobacteriaceae* $7,4 \times 10^3$ копий/мл (т. е. точка отсечения) разделяет с чувствительностью 94,7% и специфичностью 74,3% ($AUC=0,920$ (95% ДИ 0,810–1,031), $p<0,001$) пациентов с дивертикулярной болезнью на две подгруппы: без осложненных дивертикулов и с осложненными дивертикулами. Относительный риск формирования осложненных дивертикулов при наличии в стенке кишки ДНК *Enterobacteriaceae* в концентрации более $7,4 \times 10^3$ копий/мл составил $OR=9,771$ (нижняя – верхняя границы 95% ДИ 1,412–67,638) при $p<0,05$. Критерий χ^2 с поправкой Йейтса составил 9,573 при

$p=0,002$, что свидетельствует о статистически достоверной значимости различий исходов в зависимости от воздействия фактора риска. Критерий ϕ составил 0,462, что свидетельствует об относительно сильной связи между фактором риска и исходом. Отношение шансов для формирования осложненных дивертикулов в зависимости от концентрации ДНК Enterobacteriaceae составило 19,059 (нижняя – верхняя границы 95% ДИ 2,288–158,782) при $p<0,05$.

Представленные данные молекулярно-генетических исследований по установлению микробиологических факторов риска развития дивертикулярной болезни ободочной кишки, ее осложнений и рецидивов являются предварительными и требуют проведения дальнейших исследований.

■ ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Schieffer K.M., Kline B.P., Yochum G.S. Pathophysiology of diverticular disease. *Expert Review of Gastroenterology & Hepatology*. 2018;12(7):683–692. doi: 10.1080/17474124.2018.1481746
2. Tursi A., Scarpignato C., Lanis A. Colonic diverticular disease. *Nat Rev Dis Primers*. 2020;6(1):20. doi: 10.1038/s41572-020-0153-5
3. Hullar M.A., Sandstrom R., Lampe J.W. The Fecal Microbiome Differentiates Patients with a History of Diverticulitis vs Those with Uncomplicated Diverticulosis. *Gastroenterology*. 2017;152(5):624. doi: 10.1016/S0016-5085(17)32217-5
4. Barbara G., Barbaro M.R., Scafoli E. Gut microbiota, metabolome and immune signatures in patients with uncomplicated diverticular disease. *Gut*. 2016;66(7):1252–1261. doi: 10.1136/gutjnl-2016-312377
5. Kvasnovsky C.L., Leong L.E.X., Choo J.M. Clinical and symptom scores are significantly correlated with fecal microbiota features in patients with symptomatic uncomplicated diverticular disease. *European Journal of Gastroenterology & Hepatology*. 2018;30(1):107–112. doi: 10.1097/MEG.0000000000000995
6. Jones R.B., Peery A., Tsilimigras M. An Aberrant Microbiota is not Strongly Associated with Incidental Colonic Diverticulosis. *Scientific Reports*. 2018;8(1). doi: 10.1038/s41598-018-23023-z
7. Камышников В. (ed.) *Methods of clinical laboratory research*. 8. Minsk: MEDpress-inform, 2016. (in Russian)