

# РАЗВИТИЕ НЕИНВАЗИВНЫХ УВТ- $\text{NH}_3$ МЕТОДИК ДИАГНОСТИКИ *HELICOBACTER PYLORI*

Милейко В.Е.

ООО «Синтана СМ», Санкт-Петербург, Россия

В 1992 г в С-Петербурге возникло самостоятельное направление «дыхательной» диагностики (УВТ- $\text{NH}_3$ ) для подтверждения *Helicobacter pylori* (НР) зависимых заболеваний. Его родоначальником была неоправданно забытая методика «Аэротест» [1]. Метод (методика «Аэротест») был разработан НИИ Эпидемиологии и микробиологии им. Пастера совместно с СТ «Синтана Прозум» с целью неинвазивной диагностики язвенной болезни ассоциированной НР [2]. Метод основан на измерение равновесного содержания аммиака в воздухе ротовой полости **индикаторными трубками** (ИТ). В методике «Аэротест» применялись индикаторные трубки ИТМ-12, ранее использовавшиеся только для контроля содержания воздуха в отсеках обитания объектов ВМФ. Они позволяют достоверно оценить концентрацию аммиака в интервале 0,04 до 4,0 мг/м<sup>3</sup> в условиях высокой влажности при температуре около 36°C.

Для того, чтобы предотвратить попадание слюны при выполнении измерений по методике «Аэротест», ИТ помещается в рот открытым концом близко к мягкому нёбу, а рот остается приоткрытым. Контакт с нёбом не допустим. Дыхание обследуемого человека должно быть равномерным и спокойным. Дуть в трубку и закрывать рот нельзя. Воздух просасывается через ИТМ-12, ИТМ-12м или ИТМ-12эо (СТ «Синтана Прозум») диаметром  $2,0 \pm 0,1$  мм, заполненную твердым кремниевым адсорбентом кислой природы (силикагель КСК) с нанесенным на него кислотнo-основным индикатором в качестве хромогенного вещества с цветовым переходом в кислой области. Равновесную (базальную) концентрацию аммиака  $C_1$  оценивают по длине отличающегося от первоначального по цвету слоя адсорбента индикаторной трубки. При этом 1 мм слоя адсорбента, изменившего цвет, соответствует в пересчете на аммиак концентрации 0,3 мг/м<sup>3</sup> при аспирации 2 литров воздуха со скоростью 0,4 литра в минуту. Диагностическим критерием при работе с индикаторной трубкой ИТМ-12эо была принята концентрация аммиака  $C_1 > 0,6$  мг/м<sup>3</sup>. Содержание аммиака в воздухе ротовой полости выше этой величины свидетель-

ИЗМЕРЕНИЯ ПОЛУЧЕНЫ В 1995 ГОДУ Е.А. КОРНИЕНКО С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ИТМ-12

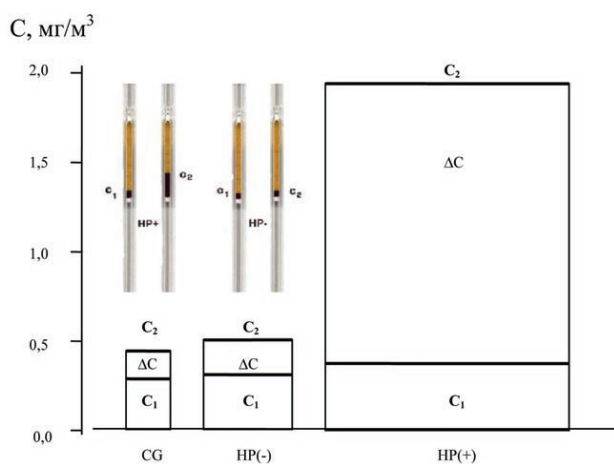


Рис. 1. Средняя концентрация аммиака в воздухе ротовой полости обследуемых детей, где CG - контрольная группа (n=21 человек), NR(-) - группа НР-отрицательных больных (n=46 человек), NR(+) - группа НР-положительных больных (n=157 человек),  $C_1$  - средняя концентрация до приема мочевины,  $C_2$  - средняя концентрация после приема мочевины,  $\Delta C$  - средняя величина прироста концентрации после приема мочевины.

ИЗМЕРЕНИЯ ПОЛУЧЕНЫ В 1995 ГОДУ Е.А. КОРНИЕНКО С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ИТМ-12

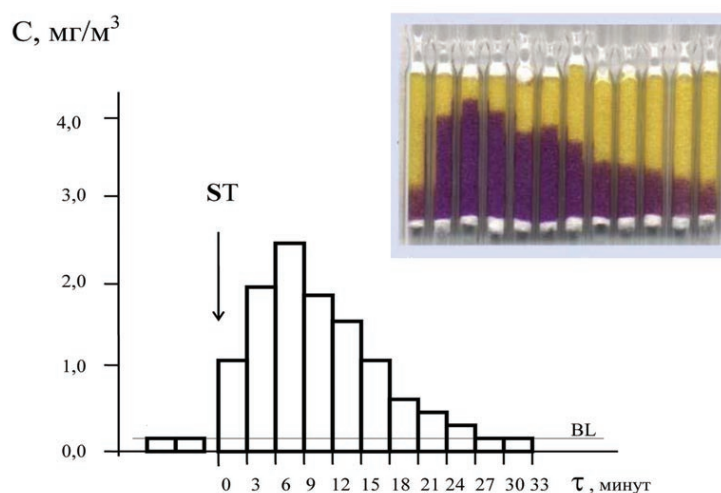


Рис. 2. Изменение содержания аммиака в воздухе ротовой полости у НР-положительного больного после приема 500 мг мочевины, где  $C$  - средневзвешенная концентрация аммиака за 3 минуты пробоотбора, BL - базальный уровень, ST - момент завершения приема мочевины.

ствовало о эрозивно-язвенных процессах в активной фазе, причём в абсолютном большинстве своём, ассоциированных с НР по данным бактериологического анализа.

Следует заметить, что ИТ - это надёжный одноразовый высокочувствительный линейный газоанализатор. Конструкция ИТ и природа адсорбента определяют, какой состав анализируемых веществ контролируется и как он измеряется. Исходя из характеристик и назначения ИТМ-12, этот одноразовый газоанализатор оказался полностью пригодным для анализа выдыхаемого человеком воздуха или воздуха его ротовой полости. Его недостатками для широкого применения в диагностической методике был стеклянный корпус изделия и большой объём (от 4 до 4,5 литров), отбираемой через ИТ, пробы анализируемого воздуха. Поэтому развитие метода состояло в улучшении конструкции ИТ и совершенствовании методик медицинского применения. Уже к началу века была создана группа кинетических методик диагностики НР с нагрузкой карбамидом [3,4]. Эти родственные методики в качестве основной диагностической задачи имели другую цель: определение наличия в организме инфекции НР и оценка степени её инвазии. Аналитическим откликом в методике UBT-NH<sub>3</sub> является средняя концентрация аммиака и родственных ему веществ (С) за время Δt (рис. 1,2) [4]. Кинетическая методика UBT-NH<sub>3</sub> предполагает оценку изменения концентрации аммиака в воздухе ротовой полости после приема мочевины <sup>12</sup>C<sup>1</sup>H<sub>4</sub><sup>14</sup>N<sub>2</sub><sup>16</sup>O нормального изотопного состава, обозначаемого (С<sub>2</sub>). Детектирование концентрации аммиака после «нагрузки» карбамидом выполняется аналогично измерению С<sub>1</sub>. Для изучения кинетической зависимости она может быть выполнена многократно в течение 30–40 минут (рис. 3) [4]. Прирост ΔС = С<sub>2</sub> – С<sub>1</sub> зависит от дозы принятой мочевины: чем больше доза, тем больше увеличение [5]. Именно поэтому при рутинных анализах требуется точная дозировка карбамида. Доза в 500 мг оказалась той минимальной, которая уверенно фиксировалась ИТ, т.е. как доза влияющая на размер индикационного эффекта в ИТ, но не вызывающая существенных последствий у пациента.

Из отечественных UBT-NH<sub>3</sub> методик можно выделить три основные варианта.

**Первый** из них это «Гелик-тест» (название методики по одной из первых публикаций [5] авторов метода) или **ХЕЛИК-тест** (авторское название методики, предложенное теми же авторами). В первоначальном варианте разработчиков «Гелик-тест» (ХЕЛИК-тест) предполагает измерение трубкой ИТМ-12 (адсорбент желтого цвета, стеклянный корпус), а в дальнейшем трубкой ИТМ-12эо (адсорбент желтого цвета, полипропиленовый корпус; разработчик ИТ и производитель до 1997 года СТ «Синтана Прозум», производитель с 1998 г по 2000 г ООО «АМА», с 1999 года по настоящее время ООО «Синтана СМ») базальной концентрации аммиака в воздухе ротовой полости (С<sub>1</sub>) за время 500 ± 200 с, дальнейший прием 0,5 г карбамида в виде 5 % водного раствора и измерение через 400 ±

ИЗМЕРЕНИЯ ПОЛУЧЕНЫ В 1995 ГОДУ Е.А. КОРНИЕНКО С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ИТМ-12

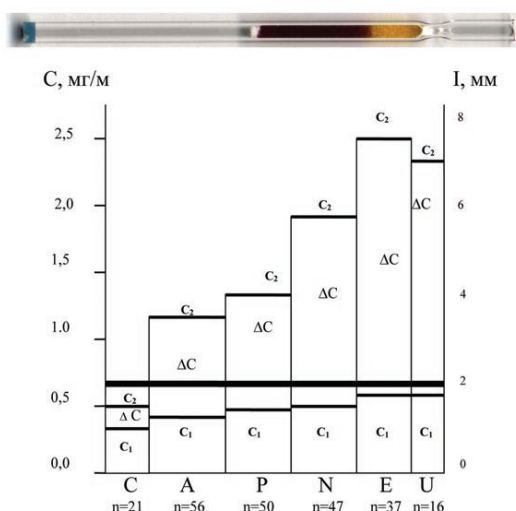


Рис. 3. Среднее значение концентрации аммиака в воздухе ротовой полости детей с гастродуоденальной патологией:

С - контрольная группа (n=21 человек), А - антральный гастрит (n=56 человек), Р - распространенный гастрит (n=50 человек), N - нодулярный гастрит (n=47 человек), Е - эрозивный гастрит (n=37 человек), U - язвенная болезнь двенадцатиперстной кишки (n=16 человек), где С<sub>1</sub> - базальная концентрация, С<sub>2</sub> - концентрация после приема мочевины, ΔС - средний прирост концентрации после приема мочевины, — - норматив "Аэротест" [2], I - линейный размер индикационного.

ИЗМЕРЕНИЯ ПОЛУЧЕНЫ В 1995 ГОДУ Е.А. КОРНИЕНКО С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ИТМ-12

### ДИАГНОСТИЧЕСКАЯ НОМОГРАММА

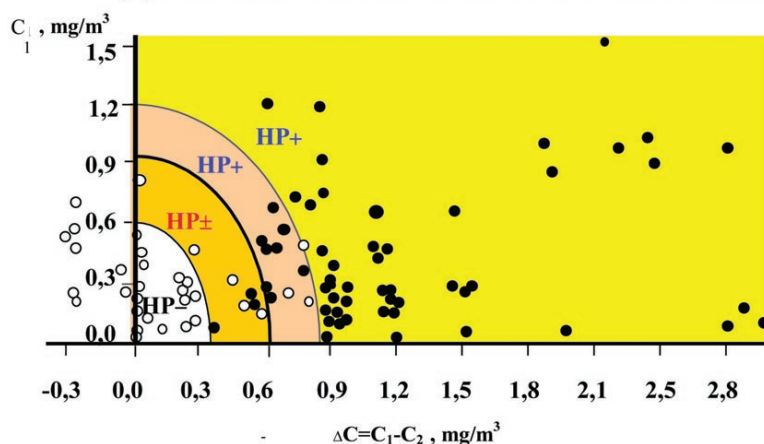
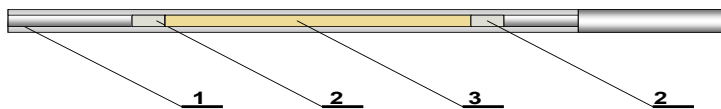


Рис. 4. Номограмма диагностической оценки результатов анализа содержания аммиака в воздухе ротовой полости выполненных ИТМ-12эо по методике Гелик-тест (ХЕЛИК-тест) [4,5].

### Конструкция индикаторной трубки ИТ- $\text{NH}_3$ – второе поколение



- 1 – корпус (полипропилен высокого давления экструдированный);
- 2 – фильтрующие ограничители (флокированная нить);
- 3 – хемосорбент (розовый крупнокристаллический гидротермальный низкотемпературный крупнопористый кварц с размером сферических зерен 0,20–0,25 мм кислотной обработки с нанесенным на поверхность сфер Бромфеноловым синим).

Рис. 2. Схема индикаторной трубки.

время экспозиции после приёма карбамида и время отбора пробы при использовании индикаторных трубок типа ИТМ-12эо удалось сократить до  $180 \pm 10$  с и  $300 \pm 60$  с, соответственно.

Начиная с 1999 года, и по 2002 год ООО «АМА» выпускала аналог ИТМ-12эо под названием ХЕЛИК-тест, то есть с названием одноименным с диагностической методикой. Трубка ХЕЛИК-АМА по своим характеристикам несколько уступала варианту ИТМ-12эо из-за конструкции ограничителей. По адсорбенту, она, как и ИТМ-12эо, была полным аналогом стеклянной ИТМ-12. В 2002 г ООО «АМА» прекратила свою деятельность. Организованная в 2002 году ООО «Ассоциация медицины и аналитики» (сокращенно ООО «АМА») выпускает улучшенный аналог трубки ИТМ-12эо – индикаторную трубку ХЕЛИК, ориентированную на выполнение методики ХЕЛИК-тест (Гелик-тест) [3-5] в усовершенствованном варианте с укороченной экспозицией после приёма мочевины (карбамида). Трубки выпускавшиеся до 2010 года ООО «Ассоциация медицины и аналитики» имели в качестве наполнителя адсорбент на основе силикагеля, окрашенного в желтый цвет хромогенным индикатором Бромфеноловым синим, а в качестве ограничителей использовались «звездочки» из полиэтилена высокого давления ПВД. В силу чего, корпус ИТ должен быть запаян для хранения. С 2010 года ООО «Ассоциация медицины и аналитики» выпускает ИТ для методики ХЕЛИК-тест в одноименном варианте, но с новым адсорбентом на основе того же хромогенного индикатора. Однако, теперь в качестве ограничителей используется слой из волокнистого материала, закрепленного деформированными кольцами изготовленными из ПВД. Трубки выпускаются в запаянном варианте отличии от аналога ИТМ-12эо (производитель ООО «Синтана СМ»), где запайка для хранения не требуется из-за использования в качестве ограничителей диффузионных фильтров из пространственно ориентированного волокнистого материала.

**Второй** по времени разработки является усовершенствованная методика  $\text{UBT-NH}_3$  с использованием ИТ- $\text{NH}_3$  (ООО «Синтана СМ»): измерение  $C_1$  за  $60 \pm 10$  с, нагрузка карбамидом (0,5 г 5% раствора), измерение через 150–180 с  $C_2$  за  $60 \pm 10$  с.



Рис. 5. Номограмма оценки результатов, где -HP – негативные, +HP – позитивные, +L – позитивные (совместное присутствие HP и Лямблий);  $\Delta C$  – прирост концентрации аммиака в воздухе ротовой полости пациента,  $C_1$  – базальная концентрации аммиака в воздухе в миллиметрах столба адсорбента изменившего окраску.

100 с концентрации содержания аммиака в воздухе ротовой полости после «нагрузки карбамидом» ( $C_2$ ) за время  $500 \pm 200$  с. Для лучшей оценки диагностических результатов авторами методики была предложена **номограмма** (рис. 4)[5].

В дальнейшем с накоплением диагностических результатов, полученных И.Ю. Мельниковой, и анализом экспериментального материала в 1999 году вре-

Для ИТ- $\text{NH}_3$  образца 1999 г (кварцевый песок в качестве адсорбента) 1 мм слоя сорбента соответствует концентрации аммиака ( $C_1$ ) равной 0,1 мг/м<sup>3</sup> при аспирации 0,2 литров воздуха со скоростью 0,2 литра в минуту. В дальнейшем характеристики ИТ- $\text{NH}_3$  были улучшены. Трубка выпускается ООО «Синтана СМ» с диффузионными фильтрами в качестве ограничителей, и храниться три года без изменения характеристик при НКУ в не запаянном варианте.



Последняя, третья методика, это способ оценки уреазной активности ротовой полости: предполагает только ополаскивание ротовой полости 5 %, а лучше 20 %, раствором карбамида (10-15 мл), и измерение  $C_2$  через 30-120 с за время  $60 \pm 10$  с трубками ИТ- $NH_3$ .

Промежуточной является методика с использованием жевательной резинки содержащей карбамид [6].

Результаты первоначальных исследований, полученные при обследовании более двух тысяч человек в возрасте от 3,5 до 18 лет, свидетельствуют о высокой чувствительности и селективности всех методик (96-97 %) по сравнению с другими методами, в частности гистологическими исследованиями.

Дальнейшее совершенствование ИТ- $NH_3$  позволило сократить время отбора пробы через ИТ электро-механическим аспиратором до 30 с, а затем 15-20 с. На сегодня существует вариант методики, где отбор пробы воздуха (аспирация) осуществляется через ИТ- $NH_3$  медицинским шприцем. При этом объём пробы составляет всего 20 мл. Дальнейшее усовершенствование ИТ позволяет сократить объём отбираемой пробы до минимально оправданного количества равного 5 мл.

**Например, усовершенствованная методика в последнем варианте выглядит следующим образом:**

Индикаторную трубку ИТ<sup>20</sup>- $NH_3^{06}$  вставить в соединительный шланг и соединить со шприцем на 5 мл. Поместить свободный конец индикаторной трубки в ротовую полость обследуемого пациента (ближе к нёбу). Отобрать шприцем через индикаторную трубку  $5 \pm 1$  мл воздуха из ротовой полости. При этом следить, чтобы слюна не попала в индикаторную трубку. После отбора пробы воздуха оценить индикационный эффект (размер синего столба) по шкале или измерить его линейкой в мм. Затем дать пациенту 10 мл 5 % водного раствора карбамида (0,5 г) и 10 мл воды - запить. Через 3 минуты повторить процедуру измерения другой стороной индикаторной трубки или другой трубкой. Оценить индикационный эффект, как изложено выше, и оценить прирост содержания аммиака.

Если прирост будет превышать один мм линейного размера столба адсорбента, то есть  $0,3 \text{ mg/m}^3$ , то тест на *Helicobacter pylori* считается положительным.

Для более точной оценки состояний, близких по показателям к величине оценочного критерия, следует пользоваться номограммой с учетом величины базальной концентрации.

Аналитическая процедура может быть выполнена повторно через 45-50 минут.

При попадании слюны в тест-трубку процедуру отбора воздуха следует прекратить незамедлительно, тест заменить и выполнить повторный анализ безотлагательно.

Метод «Аэротест» также не утратил своего значения и сегодня потому, что измерение  $C_1$  органически входит в состав всех методик. Именно по  $C_1$  целесообразно контролировать течение эрозивно-язвенного (ЭЯ) процесса. Измеренная ИТМ-12эо,  $C_1 > 0,3 \text{ mg/m}^3$  всегда указывает на наличие ЭЯ состояния в активной фазе воспалительного процесса. Кроме того, высокие значения  $C_2$  указывают на совместное инфицирование лямблиями (L) и НР (рис. 5).

**Дифференцированное применение методик позволяет надежно выявлять НР, сочетанное инфицирование L, верифицировать эрозивно-язвенное состояние, и контролировать эффективность терапии.**

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Сафонова Н.В., Жебрун А.Б. Гастрит, язвенная болезнь и хеликобактериоз. Рекомендации для врачей.- СПб, 1993. 40 с.
2. Жебрун А.Б., Сафонова Н.В., Довгаль С.Г., Милейко В.Е., Фаловский М.В. Патент РФ № 2091796 от 27.05.1993 «Способ диагностики хеликобактериоза».
3. Корниенко Е.А., Милейко В.Е. «Новый метод неинвазивной диагностики хеликобактериоза», Диагностика и лечение:-Архангельск, 1996, II(12), с 31-33.
4. Корниенко Е.А., Милейко В.Е. Патент РФ № 2100010, А 61 В 10/00, С 12 Q 1/58, «Способ неинвазивной хеликобактериозадиагностики ин виво», опубл. 27.12.97 Бюл.№ 36.
5. Корниенко Е.А., Милейко В.Е. «ГЕЛИК-ТЕСТ - НЕИНВАЗИЙНЫЙ МЕТОД ДИАГНОСТИКИ ГЕЛИКОБАКТЕРИОЗА» - Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колонопроктологии, № 6, 1998, с 34-37.
6. Корниенко Е.А., Григорян Т.М., Милейко В.Е. Комплекс методик для диагностики инвазии *Helicobacter pylori* – Сборник докладов и тезисов докладов Всероссийской конференции с международным участием «Новое в экологии и безопасности жизнедеятельности» под ред. проф. Н.И. Иванова, СПб, 1997, т.III, с 432-438.