

В.Е. Милейко, И.Ю. Мельникова, Т.М. Григорян, С.Ю. Иванова
ООО «Синтана СМ», СЗГМУ им. И.И. Мечникова, ЛОГБУЗ «Детская клиническая больница»,
СПГУТД, Санкт-Петербург

Диагностика хеликобактериоза по уреазной активности *Helicobacter pylori*

Развитие представлений о роли *Helicobacter pylori* (HP) тесно связано с развитием аналитических методов, пригодных для диагностических исследований, и уровнем аналитического приборостроения. Не только прозорливый ум, но и доступность электронной микроскопии для рутинных исследований позволила в 1983 году австралийцам J.R. Warren и B.J. Marshall описать короткие спиралевидные бактерии длиной около 2,5 мкм и связать их присутствие с развитием антрального гастрита и язвенной болезни желудка. Сегодня B.J. Marshall и J.R. Warren лауреаты Нобелевской премии в области медицины и физиологии. А их открытие – этиопатогенная роль *Helicobacter pylori* в развитии ряда гастродуоденальных патологий – общепризнанна. Об этом открытии знают каждый патоморфолог, гастроэнтеролог и эндоскопист. На сегодня эти представления не только закреплены в образовательных программах, но и служат развитию смежных направлений медицинской науки. Основы терапии и диагностики были заложены, а в дальнейшем и реализованы самим первооткрывателем HP. Понимая характер ферментативной активности HP и роль уреазы, B.J. Marshall патентует группу уреазных тестов: инвазивный (на наличие высокоактивной уреазы в биопсионных образцах слизистой оболочки органов пищеварительного тракта) CLO-test в 1987 году и неинвазивный (для оценки уреазной активности желудка по изменению химических свойств выдыхаемого воздуха) «breath test» (PY-test) в 1988 году. Эти тесты или их аналоги незаменимы при контроле эффективности терапии (эрадикации) инфекции HP.

Не остались в стороне и отечественные исследователи. В 1988 г. Григорьев и сотр. [1] запатентовали жидкий уреазный тест на три года позже, чем B.J. Marshall запатентовал свой гелевый CLO-test. А первый наиболее простой из всех газоаналитических уреазных тестов «Аэротест» был разработан в Санкт-Петербурге неформальной научно-исследовательской

группой специалистов в 1992 году и запатентован [2]. С первых дней существования неинвазивного отечественного метода он был внедрен в диагностическую практику лечебных учреждений Санкт-Петербурга, например в ЛОГБУЗ «Детская клиническая больница». Метод используется и совершенствуется уже 20 лет. О первых результатах его использования было широко доложено. Фактически к 1996 г. для надежной диагностики HP в России уже сформировался необходимый комплекс диагностических средств, включая бактериологические и серологические методики и тест-системы отечественного производства [3-5], причем в качестве опорного метода диагностики в России всегда использовались гистолого-морфологические исследования биоптатов слизистой оболочки антрального отдела желудка и двенадцатиперстной кишки [4, 5].

Признание в 1994 г. Международным агентством по изучению рака (IARC) инфекции HP в качестве канцерогена и принятие Маастрихтских рекомендаций по ее диагностике и лечению явилось новым толчком к развитию диагностических методов, разделив их на методики первичной диагностики и методики контроля эрадикации: бактериологические; морфологические (окраска по Гимзе или Вартину – Старри, Генте), биохимические.

Особое место в ряду диагностических методических подходов занимает уреазный «дыхательный тест» с нерадиоактивным изотопным углеродным маркером, например, тест Meretek UBT®, который благодаря развитию приборостроения успешно прогрессирует [5]. К настоящему моменту широко используется большая группа надежных неинвазивных высокочувствительных методик, конкурирующих между собой на альтернативной основе [13-15, 18, 19, 26, 28, 29, 48, 67-69]. Они не только неинвазивны, но и атравматичны. Предлагаемые диагностические методики, опустив физико-химические аспекты и характер отбора пробы анализируемого биологического материала,

можно действительно разделить на две большие группы: Методики, изучающие непосредственно микроорганизм, его внешний вид, адсорбционные, биохимические свойства, жизнеспособность и ответные реакции бактерии [3] (первая группа), и методики, изучающие ответные реакции макроорганизма, то есть организма человека: клиническую картину течения болезни, изменения в организме или иммунный ответ [5] (вторая группа).

Наиболее надежные методы относятся сразу к двум группам. Например, гистологический метод выявляет как наличие бактерий, так и их дистрофическое воздействие на клетки слизистой желудка. Антропометрические характеристики, равно как и накопление никеля в волосах [6] хотя явно и не используется в качестве метода диагностики, но может быть отнесено ко второй группе. Варианты «дыхательной» (UBT) диагностики также включают элементы первой и второй группы, так как эвакуация продуктов гидролиза осуществляется макроорганизмом [7]. А вот вариант истинной дыхательной диагностики (изменение частоты дыхания и объема выдыхаемого воздуха в результате нагрузки, временно создаваемой у обследуемого в результате приема внутрь порции карбамида) [8], скорее, относится ко второй. Повышение содержания углекислого газа, который и регулирует (изменяет) характеристики дыхания, в выдыхаемом (альвеолярном) воздухе относится только к первой группе. Серологические тесты явно относятся ко второй группе, как и эндоскопическое обследование, которое даже при визуальном осмотре позволяет судить по изменениям слизистой о ее состоянии и, следовательно, характеризовать развитие болезни. Изучение кислотопродуцирующей функции желудка в большинстве случаев также является косвенным методом диагностики инвазии HP, так как очевидно, что гиперацидное состояние, не связанное с синдромом Золлингера – Эллисона, можно расценивать как ответ организма человека на инвазию HP.

Несмотря на наличие неинвазивных методов диагностики, для контроля эрадикации обычно проводят эндоскопическое обследование с биопсией последующее гистологическое исследование биоптата [9] и уреазный тест с биоптатом.

Иммуноферментный анализ может быть широко использован для первичной или скрининговой диагностики [3-5, 10], но при этом не следует забывать, что коммерческие иммуноферментные тесты на основе иммунопреципитации в принципе непригодны для контроля эрадикации [5].

Для совершенствования высокоэффективных и надежных тестов в своей работе мы опирались на одно из основных свойств НР, которое выделяет его из других микроаэрофилов по ферментативной активности: синтез высокоактивной микробной уреазы и соответствующего ей промотора. Этот фермент является жизненно важным для НР. Уреазу НР обычно продуцирует в огромных количествах для того, чтобы гидролизовать карбамид, присутствующий в биологических жидкостях человека, в противоположность макроорганизму человека, который этот карбамид синтезирует. При этом следует отметить, что макроорганизм не синтезирует ферментов, подобных уреазе. Более того, эти ферменты, и в особенности микробные, весьма токсичны для млекопитающих, и, в частности, для человека. Для НР как для «бактерии аммиачной жизни» совершенно необходимо наличие процесса гидролиза карбамида, благодаря которому колония микроорганизмов строит свою среду обитания (рН 7,4-8,4) в прямом контакте с кислой средой желудочного содержимого. Кроме того, следует отметить, что уреазой называется любая группа ферментов, селективно гидролизующих мочевины (карбамид), и только мочевины. Эта ферментативная реакция является классической. Ее кинетика детально изучена еще в начале прошлого века Сямнером для уреазы различного происхождения. Хорошо изучено влияние рН среды и различных ингибиторов уреазы (солей металлов, таких как висмут, серебро, золото; соединений мышьяка; органических ингибиторов), как *in vitro*, так и *in vivo*. Уреаз растительного происхождения выпускается в товарном виде, а способы оценки уреазной активности стандартизованы.

Классический уреазный тест построен на оценке скорости реакции ферментативного гидролиза карбамида в растворе. При этом тест обычно проводится в стандартных условиях в термостатированном режиме и занима-

ет много времени. Но он достаточно надежен и достоверен. Надежность диагностического подхода по оценке уреазной активности не могло не привлечь внимания исследователей. В первую очередь следовало сократить время анализа и улучшить хранимость. С этой целью для практических лабораторных диагностических исследований, связанных с оценкой уреазной активности биоптатов, были созданы тест-системы хемосорбционного типа, которые являются довольно сложными топомимическими реагентами [11] на основе волокнистых и кристаллических материалов. При этом следует отметить, что промежуточным вариантом были жидкие высокоточные растворы карбамида в фосфатном буфере малой емкости и большой ионной силы (за счет солевых добавок) с Феноловым красным в качестве индикатора кислотно-основного перехода и Юглоном в качестве консерванта, расфасованные в микро ампулы [12]. Применение таких растворов в микроампулах было весьма эффективно в диагностических исследованиях, так как не только позволило стандартизировать методику, но и сократило время анализа до трех минут, приблизив чувствительность и селективность метода к 100%. Однако фасовка растворов в микроампулы является весьма дорогостоящей технологической процедурой и существенно влияет на стоимость анализа. Из разработанных наиболее простым и эффективным в эксплуатации, недорогим и, соответственно, наиболее популярным можно считать «сухой» тест, выполняемый по патенту РФ № 2184781 и называемый ХЕЛПИЛ-тест. Методика ХЕЛПИЛ-тест выполняется с помощью тест-системы HelPil-test (производитель ООО «Синтана СМ», Санкт-Петербург), HelPil-tests (производитель SIA «MED PRO», Латвия), или тест-системы ХЕЛПИЛ (производитель ООО «Ассоциация Медицины и Аналитики», Санкт-Петербург). Этот тест, несмотря на кажущуюся конструктивную простоту, одновременно является, как ни парадоксально, гелевым тестом и одновременно с этим газоаналитической тест-системой (рис. 1).

При работе над УВТ-диагностикой, начатой нами инициативно в 1992 году, мы, естественно, располагали результатами предшественников [13]. Нам было известно, что аммиак присутствует в выдыхаемом через нос и рот воздухе, а его содержание существенно различаются у людей в соответствии с их возрастом и состоянием здоровья. В дальнейшем нам удалось найти связь между заражением НР и содержанием аммиака в воздухе ротовой полости пациента. В выдыхаемом через

нос воздухе аммиак в существенных количествах определяется только у пациентов с язвой желудка в стадии обострения. Результаты исследования были доложены в Праге [14]. Тест под названием «Аэротест» получил ограниченное распространение в качестве метода диагностики. Авторы теста вопреки распространенному мнению, не предполагали его широкого использования в педиатрической практике, так как тест основан на гидролизе трансудируемой из биологических жидкостей эндогенной мочевины, а ее содержание у детей раннего и младшего школьного возраста существенно ниже, чем у взрослых. Попытки внедрить его в педиатрическую практику были неоднозначны. Тем не менее тест достаточно достоверно позволял констатировать эрозивно-язвенные состояния в активной фазе (как связанные, так и не связанные с присутствием НР) у подростков и взрослых. То есть он являлся тестом в первую очередь на язвенную болезнь и эрозивный гастрит, а потом уже тестом на НР-инфекцию.

Необходимость диагностики инфекции НР как таковой, в том числе и бессимптомной патологии, а не только связанной с наличием эрозивно-язвенных состояний в активной фазе, заставило нас применить «нагрузочный дыхательный» тест, предполагающий прием пациентом раствора карбамида нормального изотопного состава [15]. Контроль за изменением содержания аммиака в воздухе ротовой полости после нагрузки карбамидом нормального изотопного состава (рис. 2) и оценка характера этого изменения с учетом базальной концентрации (рис. 3), является вполне надежной высокочувствительной и селективной методикой (методика УВТ-ННЗ). Широко применяются и упрощенная методика (методика ХЕЛИК-тест, ГЕЛИК-тест), построенная на измерении прироста содержания аммиака в ротовой полости в начальный момент его выделения (рис. 4). В этом случае аналитическая процедура обычно выполняется в два измерения, но одной индикаторной трубкой (рис. 5). Первоначально ею измеряется базальное содержание аммиака в воздухе ротовой полости. Затем трубка переворачивается другой стороной и ею повторно измеряется концентрация аммиака через 2-3 минуты после приема раствора карбамида. В зависимости от типа индикаторной трубки время аналитической процедуры существенно отличается. Для индикаторных трубок ITNH3 и ИТ-ННЗ (производитель ООО «Синтана СМ», Санкт-Петербург) время пробоотбора стандартным компрессором составляет 20 секунд и 30 се-

кунд, соответственно, а для трубки ИТМ-12эо (производитель ООО «Синтана СМ», Санкт-Петербург), как и для индикаторной трубки — «Тест-система ХЕЛИК® с индикаторной трубкой» (производитель ООО «Ассоциация Медицины и Аналитики», Санкт-Петербург) оно составляет 5-6 минут. Кроме того, аналитическая процедура с индикаторными трубками может проводиться с использованием одноразового медицинского шприца на 20 мл в качестве прокачивающего устройства, так как объём газовой пробы, необходимой для анализа, составляет 20-25 см³. Это делает методику более удобной и пригодной для индивидуального пользования. Группа методик ХЕЛИК-тест, проводимая несколькими типами индикаторных трубок одновременно, позволяет не только установить факт инфицирования НР [15], но и оценить активность воспалительного процесса, а также вероятность сопутствующей инвазии Лямблиями (рис. 6). Методика может быть выполнена не только различными индикаторными трубками, но и на любой другой приборной базе, позволяющей измерять содержание аммиака и сопутствующих веществ при температуре 25-37°С в присутствии водного аэрозоля на уровне от 0,3 мг/м³. Для этой цели весьма пригоден, например ион-дрейфовый спектрометр высокого разрешения [16-17]. Однако следует помнить, что применение одноразовых тест-систем в медицине не только снимает ряд вопросов связанных с санацией и дезинфекцией оборудования, но и повышает надежность и достоверность полученных данных, упрощая аналитическую процедуру до требований, приемлемых пользователем. Именно поэтому в медицинской практике применение одноразовых приборов, каковыми являются линейные газоанализаторы — индикаторные трубки, и других одноразовых химических и физико-химических сенсоров достаточно актуально.

С развитием CCD-датчиков, цифровой фотографии, доступностью сканеров и персональных компьютеров, позволяющих свободно работать с цифровым изображением, появилась возможность автоматизировать и сделать количественной и объективной оценку результатов измерений индикаторными трубками и другими химическими сенсорами [18].

Другим интересным вариантом уреазного теста является инвазивная методика с Конго красным. Это один из вариантов эндоскопического обследования, где традиционная хромокопия с Конго красным [19] позволя-

ет не только оценить кислотопродуцирующую функцию желудка и откорректировать степень применения антацидных препаратов в терапии, но и провести предварительную диагностику инфекции НР.

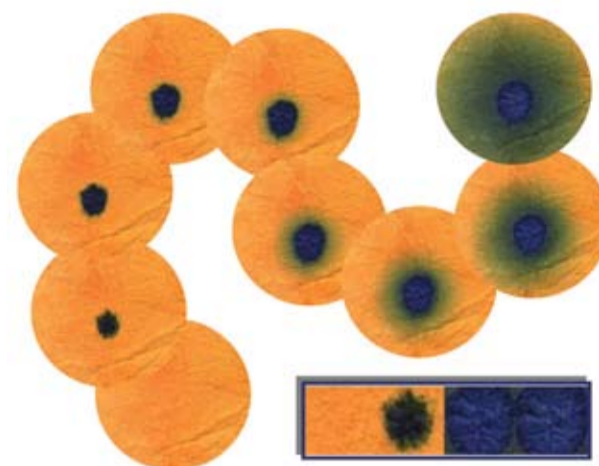
Как известно, цветовые переходы индикатора (красителя) Конго красного происходят только в сильно кислой среде. В то же время при оценке уреазной активности по содержанию аммиака в воздухе используются существенные количества карбамида, который гидролизуется уреазой НР в желудке. Понятно, что в ходе этого процесса в желудке создается газоздушная среда, обогащенная существенным количеством аммиака. Он реагирует с соляной кислотой непосредственно на слизистой желудка, и часть непрерывно продуцируемой кислоты в зоне реакции нейтрализуется. Причем этот процесс протекает во времени.

Если слизистая покрыта Конго красным и в ней превалирует кислотопродуцирование, то она остается окрашенной в синий цвет. А те зоны слизистой, где гидролиз аммиака идет особенно интенсивно, обесцвечиваются в первую очередь, тем более что места инвазии НР имеют нейтральную среду и до воздействия порции карбамида. Именно эти зоны и выступают в качестве мишеней для прицельной биопсии для последующего исследования биоптата.

Если для хромогастроскопии использовали 0,2%-ный раствор Конго красного, содержащий дополнительно и карбамид в концентрации 5%, то характер и скорость изменения цвета (из сине-черного в красный) Конго красного на слизистой желудка у инфицированных и неинфицированных НР пациентов будет отличаться существенно. Изменения цвета индикаторного раствора, нанесенного на слизистую, у пациентов, не инфицированных НР, почти не наблюдаются за первые 5 минут. У пациентов с незначительной инвазией НР изменение цвета происходило медленно (2-3 минуты). У пациентов с существенной инвазией НР быстро (меньше одной минуты) происходило зональное изменение цвета индикатора на слизистой желудка, которое затем быстро распространялось на весь антральный отдел желудка.

Таким образом, методика оценки обсемененности НР по скорости изменения окраски солянокислого комплекса Конго красного (рН перехода от 3,0 до 5,2) *in vivo* интегрально и зонально позволяет оценить инвазию НР. Причем наличие следов Конго красного в биоптате, как и в случае использования

Рисунок 1.



Развитие индикационного эффекта на поверхности тест-системы после контакта тест-системы ХЕЛПИЛ и биоптата, прицельно изъятого у сильно инфицированного хеликобактером пациента в ходе эндоскопического исследования: на рисунке представлены цифровые фотографии, выполненные с интервалом 3-4 секунды. Для демонстрации быстродействия методики ХЕЛПИЛ-тест использована тест-система HelPil-test, изготовленная ООО «Синтана СМ»

Рисунок 2.

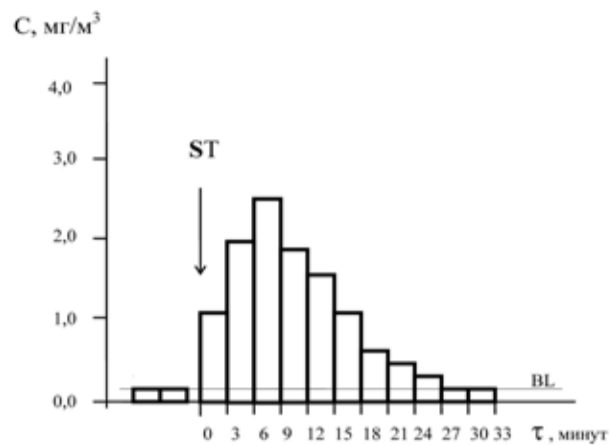


Характер изменения содержания аммиака в воздухе ротовой полости. Измерения выполнены капиллярными индикаторными трубками последовательно во времени. Время отбора пробы одной трубкой — 30 секунд

двух индикаторов совместно [5], не мешает использованию в уреазном тесте (ХЕЛПИЛ-тест) в качестве индикатора Бромтимолового синего.

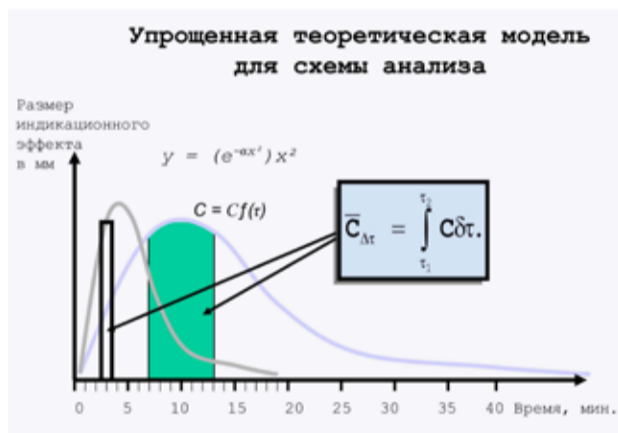
Поскольку ложноположительные результаты выявления НР влекут за собой неоправдан-

Рисунок 3.



Характер изменения содержания аммиака в воздухе ротовой полости у НР-положительного больного после приема 500 мг мочевины: прямоугольник характеризует усредненную концентрация аммиака за 3 минуты; BL — базальный уровень, S — момент приема мочевины

Рисунок 4.



Теоретическая модель изменения содержания аммиака и основных газовых выделений (кривая справа) в воздухе ротовой полости после приема карбамида и измерения «средневзвешенной» концентрации аммиака индикаторными трубками различных типов: кривая слева — сильно инфицированные пациенты, кривая справа — умеренно инфицированные пациенты; квадрат слева — зона интегрирования для высокочувствительных к аммиаку индикаторных трубок ИТНЗ и ИТ-НЗ, квадрат справа — зона интегрирования для индикаторных трубок ИТМ-12 и ИТМ-12Эо.

ное назначение дорогостоящего лечения, оказывающего и сопутствующее неблагоприятное влияние на различные функции организма, актуальность повышения надежности диагностических результатов несомненна. Кроме того, значительную проблему составляет и резистентность отдельных штаммов НР к со-

Рисунок 5.

Номограмма для оценки результатов анализа полученных с помощью ИТМ-12 по методике ХЕЛИК-тест

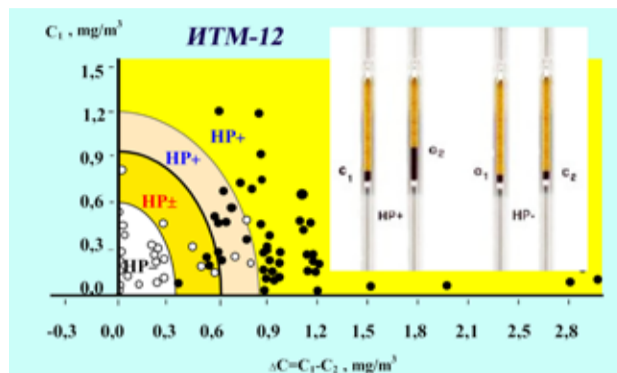
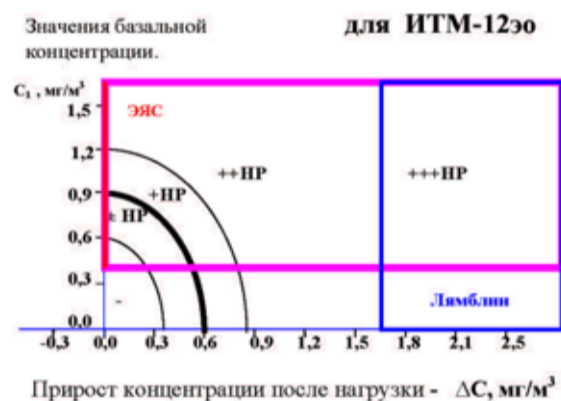


Рисунок 6.

Оценка результатов анализа индикаторной трубкой типа ИТМ-12: НР+ — инфицированность хеликобактером (зона внутри дуг соответствует отсутствию заражения — НР-); наличие эрозивно-язвенных состояний в активной фазе (ЭЯС — верхний квадрат); наличие других сопутствующих патологий, например, инвазия Лямблий (правый квадрат)



ставным элементам комплексной антихеликобактерной терапии. Именно с этой проблемой связывают низкую эффективность медикаментозного воздействия некоторых схем эрадикации НР на эти бактерии у части пациентов [5]. Определение чувствительности НР к различным медикаментам в соответствии с имеющимися на настоящий момент методиками сопряжено с взятием образцов биологического материала, например, слизистой оболочки желудка, то есть с инвазивной процедурой. При этом само изучение устойчивости НР к медикаментам выполняется в культуре *in vitro*, что дает весьма отдаленные представления об эффективности терапии этими медикаментами *in vivo*.

Поэтому дальнейшее совершенствование методик, и в первую очередь неинвазивного диагностического подхода, было направлено на снижение уровня гипераммониемии, свя-

занное с приемом карбамида у пациентов с высоким уровнем инвазии НР. Проводилось улучшение контрольной и нагрузочной схем с целью еще большего повышения селективности и чувствительности методик [20]. В рамках этих подходов в методиках использовались различные формы для принимаемого перорально карбамида (жевательная резинка [8, 12], растворы или быстрорастворимые гранулы и тому подобное). Но главным было использование «дыхательной» методики для прогнозирования терапии и контроля за эффективностью лечения непосредственно в ходе его проведения с целью адекватной корректировки схемы терапии. Такая возможность логически вытекает из неинвазивности и атравматичности. Эта диагностическая процедура может быть без ущерба для пациента проведена многократно, как в период, предшествующий лечению, так и в ходе самой терапии и/или по ее завершении. Именно проведение неинвазивной «дыхательной» диагностики *in vivo* позволяет реально оценить конкретное воздействие препаратов, назначенных для лечения, уже через 5-6 дней с начала приема медикаментов и при необходимости усилить или изменить схему, не дожидаясь окончания приема неэффективных медикаментов. Это направление, примыкающее к традиционной диагностике, является весьма перспективным для улучшения качества терапии хеликобактериоза.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Григорьев П.Я., Исаков В.А., Розенталь В.М. и др. Авторское свидетельство СССР №1564192 от 18.04.88 «Способ определения *Campylobacter pyloridis* при язвенной болезни желудка и двенадцатиперстной кишки».
2. Жебрун А.Б., Сафонова Н.В., Довгаль С.Г., Милейко В.Е., Фаловский М.В. РФ Пат. № 2091796 от 27.05.1993 «Способ диагностики хеликобактериоза».
3. Сафонова Н.В., Жебрун А.Б. Гастрит, язвенная болезнь и хеликобактериоз. Рекомендации для врачей. - СПб, 1993. - 40 с.
4. Аруин Л.И., Григорьев П.Я., Исаков В.А., Яковенко Э.П. Хронический гастрит. - Амстердам, 1993. - 362 с.
5. *Helicobacter pylori*: революция в гастроэнтерологии / под редакцией акад. РАМН В.Т. Ивашкина, проф. Ф. Мегро, Т.Л. Лапиной. - М.: Триада-Х. - 1999. - 255 с.
6. Иванов А.В., Шилов В.А. Концентрация микроэлементов волос у детей с хроническим гастродуоденитом // Российский журнал га-

- строэнтерологии, гепатологии, колонопроктологии. - 1998. - Т. 8, № 5 (Приложение). - С. 69-70.
7. Корниенко Е.А., Милейко В.Е. Гелик-тест - неинвазивный метод диагностики геликобактериоза. - Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии и колопроктологии. - 1998. - № 6. - С. 34-38.
8. Иванов А.В., Милейко В.Е. РФ Пат. № 2176792 от 15.05.1998 «Способ исследования уреазной активности».
9. Стандарты диагностики и лечения болезней органов пищеварения. - МЗ РФ, 1998.
10. Dent J.C., Mc Nulty C.F.M., Uff J.S. et. al. *Campylobacter pylori* urease: a new serological test // *Lancet*. - 1988. - P. 1002.
11. Корниенко Е.А., Гольбиц С.В., Милейко В.Е. и др. О диагностике инфекции *Helicobacter pylori* у детей // Российский вестник перинатологии и педиатрии. - 1998. - № 5. - С. 34.
12. Корниенко Е.А., Милейко В.Е., Григорян Т.М. 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. 3. - С. 432-438.
13. Lyle H. Hamilton; August 14, 1990 US Pat. 4947861: Noninvasive diagnosis of gastritis and duodenitis. May 1, 1989.
14. Safonova N.V., Meelaiko V.E., Zhebrun A.B. et al. «The respiratory test for detection *Helicobacteriosis*» in *Helicobacter pylori* and the new concepts in gastro-duodenal diseases. - Abstract. book, Carles University, Prague, Chechoslovakia, 1992. - P. 3.
15. Корниенко Е.А., Милейко В.Е., RU 2100010 С 01. 27.12.1997. Способ неинвазивной диагностики хеликобактериоза ин виво. 20.02.1996.
16. Kornienko E., Vashkevich O., Mileiko V., Samokish V. «Simple Express Urea Breath Test Offers Diagnosis of *Helicobacter pylori* Infection» in Abstracts of Internnational Congress on Analytical Chemistry. - Moscow, Russia, June 15-21, 1997. - V. 2. - P. 37.
17. Корниенко Е.А., Милейко В.Е., Самокиш В.А. и др. Неинвазивные методы диагностики инфекции, вызванной *Helicobacter pylori* // Педиатрия. - 1999. - № 1. - С. 37-41.
18. Денисова Е.В., Курбатова Э.А., Милейко В.Е. Оценка диагностических результатов методами визуализации с последующей автоматизированной компьютерной верификацией. - С. 95-97 // в сб. «Школа-семинар «Актуальные проблемы современной хирургии». - СПб, НИИХимии СПбГУ, 2000. - 152 с.
19. Григорян Т.М., Милейко В.Е. Оценка возможности использования хромоскопии с Конго красным для диагностики инвазии *Helicobacter pylori* (HP). - С. 50-53. // в сб. «Школа-семинар «Актуальные проблемы современной хирургии» СПб, НИИХимии СПбГУ, 2000. - 152 с.
20. Mileiko V., Melnikova I., Ivanova S. et al. Gas Analysis in Medical Diagnostics. P109 // Book of Abstracts - Seventh International Symposium on Hyphenated Techniques in Chromatography and Hyphehated Chromatographic Analyzers (HTC-7), Brugge, February 6-8, 2002. - Royal Flemish Chemical Society (KVCV), 2002, 410 p. - ISBN 90-74870-05-8.