

# ДИАГНОСТИКА ХЕЛИКОБАКТЕРИОЗА ПО УРЕАЗНОЙ АКТИВНОСТИ *HELICOBACTER PYLORI*

Милейко В.Е., Мельникова И.Ю., Григорян Т.М., Иванова С.Ю.

ООО «Синтана СМ», СЗГМУ им. И.И. Мечникова, ЛОГБУЗ «Детская клиническая больница», СПГУТД

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 м 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 гастроудоденальных патологий общепризнана. Об этом открытии знает 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 году 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<sup>®</sup>, который благодаря развитию приборостроения успешно прогрессирует [5]. К настоящему моменту широко используется большая группа надежных неинвазивных высокочувствительных методик конку-

рирующих между собой на альтернативной основе [перечислить 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, так же 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 гистологоморфологическое 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 не пригодны для контроля эрадикации [5].

Для совершенствования высокоэффективных и надежных тестов в своей работе мы опирались на одно из основных свойств *HP*, которое выделяет его из других микроаэрофилов по ферментативной активности: синтез высокоактивной микробной уреазы и соответствующего ей промотора. Этот фермент является жизненно важным для *HP*. Уреазу *HP* 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 содержания. 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; соединения мышьяка; органических ингибиторов), как *in vitro*, так и *in vivo*. Уреазы растительного происхождения выпускается 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 занимает 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 топомеханическими реагентами [11] на основе волоконистых 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 микро ампулах 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 микро ампулы является весьма дорогостоящей технологической процедурой и существенно влияет на стоимость анализа. Из разработанных наиболее простым и эффективным в эксплуатации, не дорогим 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 Ана-литики», Санкт-Петербург). Этот тест,

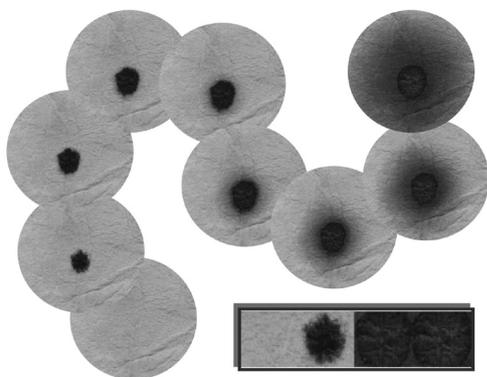


Рис. 1. Развитие индикационного эффекта на поверхности тест-системы после контакта тест-системы ХЕЛПИЛ и биоптата, прицельно взятого у сильно инфицированного хеликобактером пациента в ходе эндоскопического исследования: на рисунке представлены цифровые фотографии, выполненные с интервалом 3-4 секунды; для демонстрации быстродействия методики ХЕЛПИЛ-тест использована тест-система *HelPil-test*, изготовленная ООО «Синтана СМ».

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 распространившемуся 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- NH<sub>3</sub>). Широко применяются и упрощенная методика (методика ХЕЛИК-тест, ГЕЛИК-тест), построенные 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 ей измеряется базальное содержание аммиака в воздухе ротовой полости. Затем трубка переворачивается другой стороной и ей повторно измеряется концентрация аммиака через 2-3 минуты после приема раствора

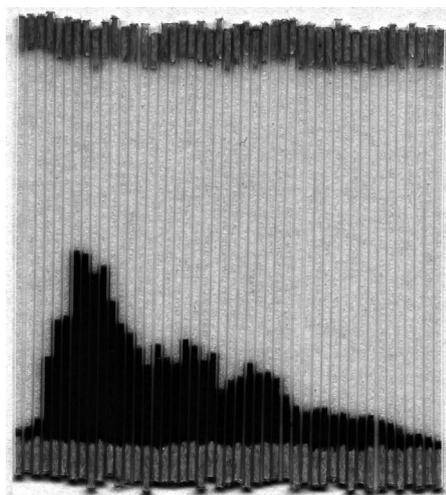


Рис. 2. Характер изменения содержания аммиака в воздухе ротовой полости. Измерения выполнены капиллярными индикаторными трубками последовательно во времени. Время отбора пробы одной трубкой – 30 секунд.

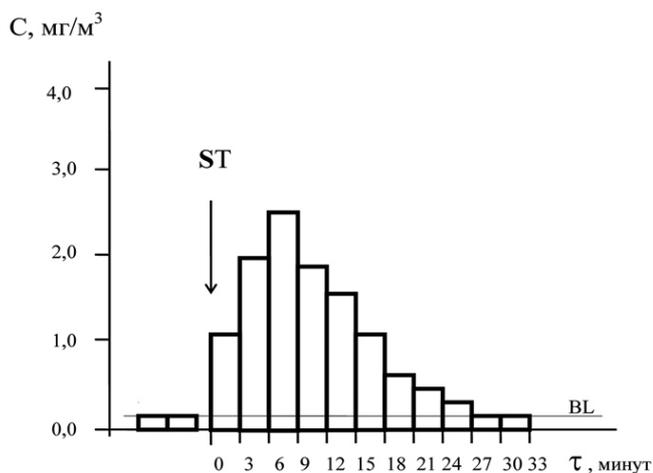


Рис. 3. Характер изменения содержания аммиака в воздухе ротовой полости у *HP*-позитивного больного после приема 500 мг мочевины: прямоугольник характеризует усредненную концентрация аммиака за 3 минуты; *BL* - базальный уровень, *S* - момент приема мочевины.

карбамида. В зависимости от типа индикаторной трубки время аналитической процедуры существенно отличается. Для индикаторных трубок ИТNH<sub>3</sub> и ИТ- NH<sub>3</sub> (производитель ООО «Синтана СМ», Санкт-Петербург) время пробоотбора стандартным компрессором составляет 20 секунд и 30 секунд, 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 объем газовой пробы, необходимой для анализа, составляет 20-25 см<sup>3</sup>. 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 *HP* [15], но и оценить активность воспалительного процесса, а также вероятность сопутствующей инвазии Лямблиями (рис. 6). Методика может быть вы-

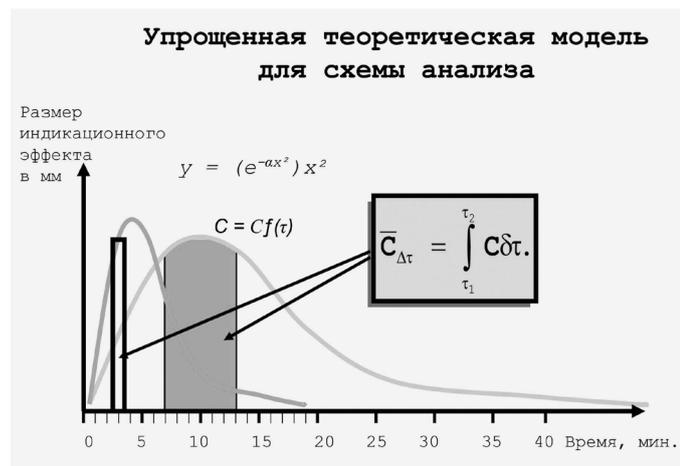


Рис. 4. Теоретическая модель изменения содержания аммиака и основных газовых выделений (кривая справа) в воздухе ротовой полости после приема карбамида и измерения «средневзвешенной» концентрации аммиака индикаторными трубками различных типов: кривая слева – сильно инфицированные пациенты, кривая справа – умеренно инфицированные пациенты; квадрат слева – зона интегрирования для высокочувствительных к аммиаку индикаторных трубок ИТNH<sub>3</sub> и ИТ- NH<sub>3</sub>, квадрат справа – зона интегрирования для индикаторных трубок ИТМ-12 и ИТМ-12эо.

полнена 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/м<sup>3</sup>. Для этой цели весьма пригоден, например ион-дрейфовый спектрометр высокого разрешения [16-17]. Однако, следует напомнить, 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], позволяет не только оценить кислотопродуцирующую функцию желудка и откорректировать степень применения антацидных препаратов в терапии, но и провести предварительную диагностику инфекции *HP*.

Как известно цветные 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 гидролизует уреазой *HP* в желудке. Понятно, что в ходе этого процесса в желудке создается газозвушная 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 *HP* 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% 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 *HP* пациентов будет отличаться существенно. Изменения цвета индикаторного раствора, нанесенного на слизистую, у пациентов, не инфицированных *HP* почти не наблюдаются за первые 5 минут. У пациентов с незначительной инвазией *HP* изменение цвета происходило медленно (2-3 минуты). У пациентов с существенной инвазией *HP* 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 *HP* по скорости изменения окраски солянокислого комплекса Конго красного (рН перехода от 3,0 до 5,2) *in vivo* интегрально и зонально позволяет оценить инвазию *HP*. Причем, наличие следов Конго красного в биоптате, как и в случае использования двух индикаторов совместно [5], не мешает использованию в уреазном тесте (ХЕЛПИЛ-тест) в качестве индикатора Бром-тимолового синего.

Поскольку ложноположительные результаты выявления *HP* влекут за собой неоправданное назначение дорогостоящего лечения, оказывающего и сопутствующее неблагоприятное влияние на раз-

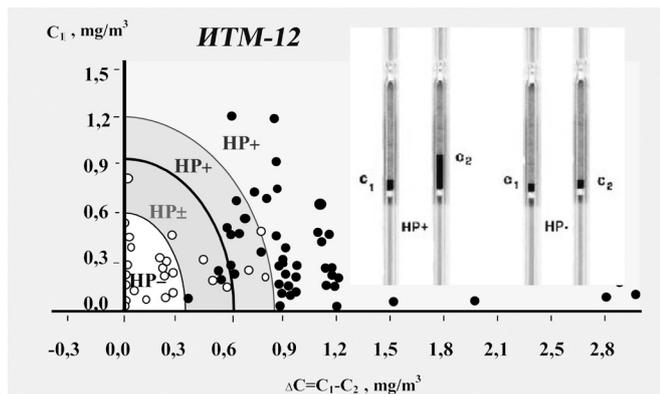


Рис. 5. Номограмма для оценки результатов анализа полученных с помощью ИТМ-12 по методике ХЕЛИК-тест.

Рис. 6. Рис. 5. Оценка результатов анализа индикаторной трубкой типа ИТМ-12: HP+ - инфицированность хеликобактером (зона внутри группы дуг соответствует отсутствию заражения - HP-); наличие эрозивно-язвенных состояний в активной фазе (ЭЯС - верхний квадрат); наличие других сопутствующих патологий, например инвазия Лямблий (правый квадрат).

личные функции организма, актуальность повышения надежности диагностических результатов несомненна. Кроме того, значительную проблему составляет и резистентность отдельных штаммов *HP* к составным элементам комплексной антихеликобактерной терапии. Именно с этой проблемой связывают низкую эффективность медикаментозного воздействия некоторых схем эрадикации *HP* на эти бактерии у части пациентов [5]. Определение чувствительности *HP* 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 *HP* к медикаментам выполняется в культуре *in vitro*, что дает весьма отдаленные представления о эффективности терапии этими медикаментами *in vivo*.

Поэтому дальнейшее совершенствование методик и, в первую очередь неинвазивного диагностического подхода, было направлено на снижение уровня гипераммониемии, связанное с приемом карбамида у пациентов с высоким уровнем инвазии *HP*. Проводилось улучшение контрольной, и нагрузочной схемы, 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 быстро растворимые 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 её завершению. Именно проведение неинвазивной «дыхательной» диагностики *in vivo*, позволяет реально оценить конкретное воздействие препаратов, назначенных для лечения, уже через пять, шесть 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.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Григорьев П.Я., Исаков В.А., Розенталь В.М. и др., Авторское свидетельство-во 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, 362с.

5. *Helicobacter pylori*: революция в гастроэнтерологии. Под редакцией акад. РАМН В.Т. Ивашкина, проф. Ф. Мерго, Т.Л. Лапиной.- М., «Триада-Х», 1999, 255 с.

6. А.В. Иванов, В.А. Шилов. Концентрация микроэлементов волос у детей с хроническим гастродуоденитом.// Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колонопроктологии.-1998.- т. 8.№ 5 (Приложение).- с.69-70.

7. Корниенко Е.А., Милейко В.Е. Гелик-тест – неинвазивный метод диагностики хеликобактериоза. – «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, Czechoslovakia, 1992.- P-3.

15. Корниенко Е.А., Милейко В.Е., RU 2100010 С 01. 27.12.1997. Способ неинвазивной диагностики хеликобактериоза *in vivo*. 20.02.1996.

16. E.Kornienko, O.Vashkevich, V.Mileiko, V.Samokish, «Simple Express Urea Breath Test Offers Diagnosis of *Helicobacter pylori* Infection» in Abstracts of International 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 Hyphenated Chromatographic Analyzers (HTC-7), Brugge, February 6-8, 2002- Royal Flemish Chemical Society (KVCV), 2002, 410 p.- ISBN 90-74870-05-8