

# ТЕСТ-СИСТЕМЫ HELPIL-ТЕСТ ДЛЯ ДИАГНОСТИКИ ИНФЕКЦИИ HELICOBACTER PYLORI

Милейко В.Е., ООО «Синтана СМ», Санкт-Петербург, mileiko@mail.ru

Быстрый «сухой» уреазный тест для анализа уреазной активности биоптата, известный сегодня под названием **методика ХЕЛПИЛ-тест** изобретен в начале 1997 года инициативной группой разработчиков в составе Дмитриенко М.А., Корниенко В.Е. и Милейко В.Е. и выпускается в Российской Федерации с 1997 года. Этот «сухой» уреазный тест на основе впитывающего волокнистого материала, субстрата и Бромтимолового синего в качестве хромогенного вещества [1], как показали клинические испытания [2] и широкая длительная практика применения обладает очень высокими диагностическими характеристиками: чувствительность и селективность (специфичность) составляет 96-98%, время анализа 15 – 180 секунд.

В основе превосходства **методики ХЕЛПИЛ-тест** над другими уреазными тестами лежит подход, который принципиально отличает эту методику от других аналогичных. Во-первых, тест-метод использует в качестве реакционной среды не стандартизованный раствор буфера, а различную по свойствам межклеточную жидкость биоптата. Для биоптатов полученных в ходе обследования ЖКТ она отличается между собой по pH и содержанию уреазы. Для биопсийного материала, характеризующегося инвазией *Helicobacter pylori*, pH этой жидкости выше, чем её pH в биоптатах у здоровых людей. Кроме того она содержит эндогенную микробную уреазу. Бактерия сама производит удобную для анализа среду и незачем её усреднять до среды, где активность бактериальной уреазы падает или нивелируется. Во-вторых, пораженная ткань отличается морфологически. Она становится более рыхлой и содержит больше межклеточной жидкости и незачем её (отбираемую жидкую фазу) усреднять по объему. Наоборот, чем больше биоптаты отличаются по содержанию межклеточной жидкости, тем больше её впитывается в адсорбент и, следовательно, больше в количественном отношении поступает фермента для взаимодействия с субстратом. Третьим отличительным качеством теста является то, что индикатор в кислой форме является гидрофильным материалом и начинает растворяться только выше определенного pH. Таким образом, его растворение в водной среде начинается только после начального взаимодействия субстрата и фермента, причём хромогенное вещество в растворенной форме тут же адсорбируется, главным образом, на поверхности волокон одного из компонентов сложного адсорбента и тест-система приобретает интенсивную окраску не в объеме, а на поверхности волокон. При этом сам «отработанный» индикатор выводится из сферы реакции. Эти различия в свойствах биоптата и тест-системы при должном подборе количеств субстрата (карбамида) и pH-индикатора и свойств самого кислотно-основного индикатора позволили удачно дифференцировать анализируемый биологический материал по присутствию *Helicobacter pylori*. «Сухой» уреазный тест **HELPIL** (ХЕЛПИЛ) позволил сократить время аналитической реакции более чем в 10 раз по сравнению с самыми быстрыми вариантами «жидких» тестов. Контрольными точками в **методике ХЕЛПИЛ-тест** стали 30 секунд, 1 минута и три минуты. При этом следует помнить, что уже через 5 минут тест становился не пригодным для оценки. Это «плата» за скорость анализа. Поэтому некоторые пользователи «с непривычки» умудрялись пропускать контрольное время и попадали «под штраф».

Тест-система **HELPIL-test** выпускалась изначально в виде дисков с диаметром 4 или 5 мм и упаковывалась либо в пакеты, либо в пробирки. Анализ предполагалось проводить, либо на чашке Петри, либо контактом микро салфетки **HELPIL** (ХЕЛПИЛ) с биоптатом непосредственно в щипцах для биопсии до изъятия биоптата. В такой форме тест-системы под названием **тест-система HelPil-test** выпускаются и сегодня компанией ООО «Синтана СМ» (sintana.ru), так как упаковки по 50 (рис. 1), 500 и 1000 (рис. 2) аналитических единиц (штук) пользуются достаточным спросом. Одновременно с выпуском дисков «в россыпь» появились различные дизайнерские варианты изделий. Так компания ООО «АМА» (с 1997 года по 2003 год), ООО «Синтана СМ» (с 1999 года по настоящий момент) и ООО «Ассоциация Медицины и Аналитики» (с 2003 года по настоящий момент) выпускали или продолжают выпускать тест-системы с различным закреплением диска **HELPIL-тест** на полимерную пленку в составе держателя из картона. Аналогичную продукцию под наименованием **HelPil-tests**, как и «жидкий» уреазный тест, выпускает SIA «MedPro», Латвия. С 2009 года ООО «Ассоциация Медицины и Аналитики» приступила к выпуску теста под названием **ХЕЛПИЛ@лента**, где группа дисков закреплена на нейтральную по отношению к тест-системе **ХЕЛПИЛ®** клеевую основу.

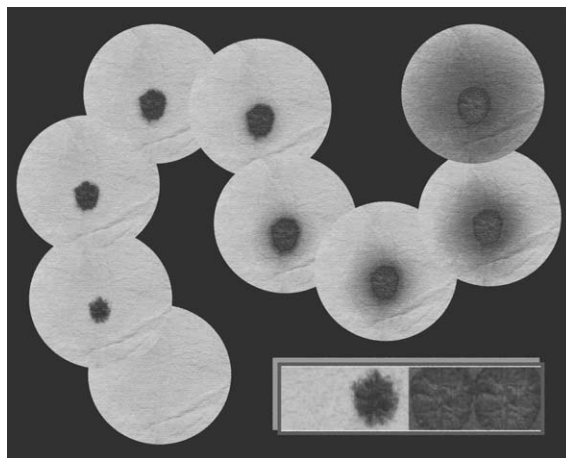


Рис. 1. Тест-система **HelPil-test** : впитывающие диски импрегнированные индикаторной рецептурой для контроля уреазной активности биологического образца (биоптата).



Рис. 2. Тест-система **HelPil-test**, в упаковке 1000 шт.

Недостатком методики является то, что тест-системы **HELPII-test**, будучи смоченными или влажными, чувствительны к аммиаку. Он может оказаться в газовой среде помещения в результате применения дезинфектантов или моющих средств, содержащих летучие амины. Кроме того анализ, проводимый одновременно на близко расположенных тест-системах может привести к ложному срабатыванию одной из них. К «дизайнерским» недостаткам можно отнести и то, что тест в контакте с другими материалами может утратить свои диагностические свойства или изменить аналитические характеристики. Например, картон и многие сорта бумаги обладают уреазной активностью и прямой контакт с ними может привести к ложноположительному результату анализа. Поэтому при закреплении дисков **HelPil-test** на картонном носителе в тест-системах под названиями **HELPII-test 1** (рис. 3), **HELPII-тест 3** (рис. 4), **HELPII-test 12** (рис. 2) их приходится изолировать от картона, так как сам картон не является стерильным материалом и как таковой уже содержит уреазу различного происхождения. В этих тест-системах диск **HelPil-test** закреплен непосредственно на прозрачный полимерный материал в круглом отверстии на краю носителя изготовленного из ламинированного картона. В таком варианте оформления тест-системы прозрачное окно позволяет оценить размеры и характер пятна под исследуемым материалом, не снимая биоптата с поверхности теста. Однако, спрос на эти системы на отечественном рынке не высок из-за их стоимости. Тест-системы, которые производит ООО «Синтана СМ», как в методике их использования, так и в конструктивном решении тест-системы, являются похожими авторскими вариантами оригинального теста для выполнения методики **ХЕЛПИЛ-тест**. В тоже время эти тест-системы, не смотря на их внешнее сходство, не являются идентичными конструктивно и технологически. Каждое из них выпускается с оригинальными технологическими «НОУ ХАУ». Последнее обуславливает их различную себестоимость. Поэтому выбор остается за пользователем!

Кажущаяся простота конструкции тест-системы и неприязнательность аналитической методики **ХЕЛПИЛ-тест** обуславливает не только широкое использование этого диагностического метода в реальном здравоохранении, но и создает условия для изготовления подделок и имитаций не соответствующих по потребительским свойствам авторским вариантам тест-системы. Это негативно влияет на ситуацию с распространением оригинальных тест-систем и вводит пользователей в заблуждение на предмет качества тестов и дееспособности оригинальной методики.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Дмитриенко М.А., Корниенко Е.А., Милейко В.Е. Патент РФ № 2184781, С 12 Q 1/04, 1/00, «Способ диагностики хеликобактериоза по оценке уреазной активности биологического материала и устройство для его осуществления», опубл. 10.07.2002 Бюл. № 19, приоритет от 30.09.1997.

2. 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.



Рис. 3. Тест-система **HELPII-test 1**, где впитывающий диск закреплен на держателе из ламинированного картона.



Рис. 4. Тест-система **HELPII-тест 3** и его стандартная упаковка (контейнер, содержащий 100 бланков).



Рис. 4. Тест-система **HELPII-тест 12** и его стандартная упаковка (контейнер, содержащий 100 бланков).