

ТЕСТ-СИСТЕМЫ HelPil-test ДЛЯ ДИАГНОСТИКИ ИНФЕКЦИИ HELICOBACTER PYLORI

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

Способ диагностики по патенту РФ 2184781 (mileiko.name/4.html), известный сегодня под названием методика ХЕЛПИЛ-тест (рис. 1), изобретен в начале 1997 года инициативной группой разработчиков (Дмитриенко М.А., Корниенко Е.А. и Милейко В.Е., сайт helpil.info). Быстрый «сухой» уреазный тест для анализа уреазной активности биоптата HELPIL-test (сайт helpil.name) для осуществления этого способа диагностики выпускается в Российской Федерации с 1997 года. Этот «сухой» уреазный тест на основе впитывающего волокнистого материала, субстрата и Бромгимолового 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 (сайт хелпил-тест.рф) 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 рН и содержанию уреазы. Для биопсийного материала, характеризующегося инвазией *Helicobacter pylori*, рН этой жидкости выше, чем её рН 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 рН. Таким образом, его растворение в водной среде начинается только после стартового 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 рН-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 непригодным для оценки. Это «плата» за скорость анализа. Поэтому некоторые пользователи «с непривычки» умудрились 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 микросалфетки 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» (сайт sintana.ru), так как упаковки по 50, 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, сайт ама.орг.рф), ООО «Синтана СМ» (с 1999 года по настоящий момент, сайт синтана.рф) и ООО «Ассоциация Медицины и Аналитики» (с 2003 года по настоящий момент, сайт амамед.ру) 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 (сайт helpil.com). С 2009 года ООО «Ассоциация Медицины и Аналитики» приступила к выпуску теста под названием ХЕЛПИЛ®лента, где группа дисков закреплена на нейтральную по

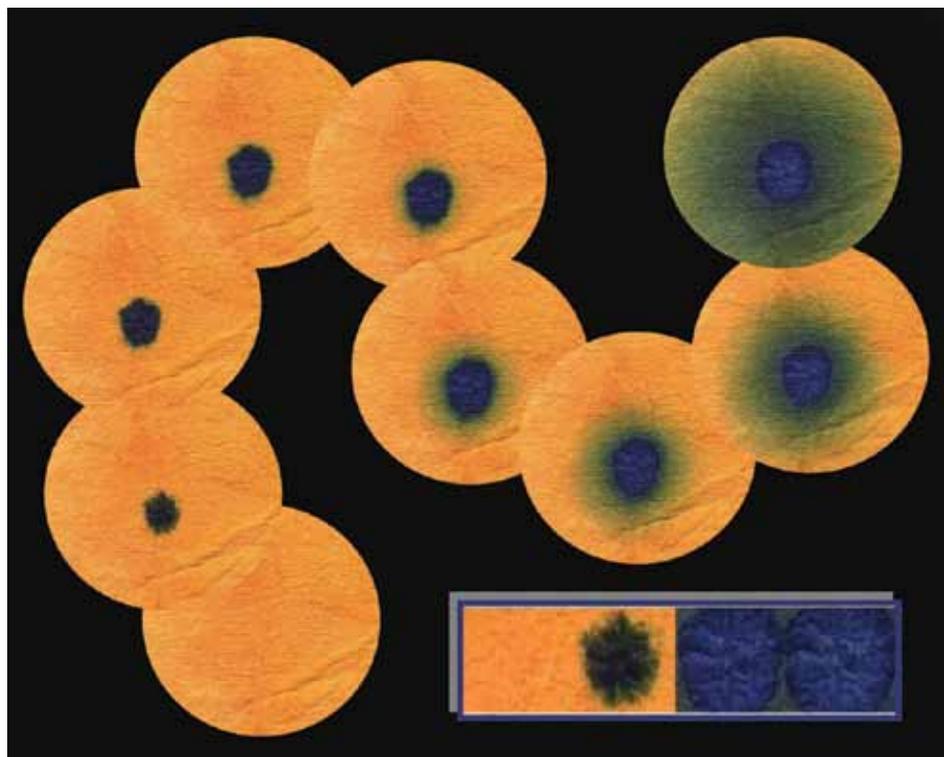


Рис. 1. Индикационный эффект на тест-системе HelPil-test

(впитывающий диск импрегнированный индикаторной рецептурой для контроля уреазной активности биологического образца – биоптата), возникающий в ходе выполнения анализа, в случае наличия уреазной активности.

отношению к тест-системе ХЕЛПИЛ® клеевую основу.

Инструкция в варианте «Методика ХЕЛПИЛ—тест (быстрый сухой уреазный тест, патент РФ 2184781). Работа с тест-системой HelPil-test», предлагаемом специалистами ООО «Синтана СМ», выглядит следующим образом: «Тест поместить на предметное стекло или чашку Петри. Биоптат поместить на поверхность теста (можно накрыть биоптат тестом, поместив его на предметное стекло). Зафиксировать время различного изменения цвета с желтого на синий в зоне контакта с биоптатом. Если время изменения окраски меньше 3 минут, то тест положительный (НР+), если от 3 до 5 минут, то НР (±). Во всех других случаях тест отрицателен (НР-). Контролировать окраску более чем через 5 минут недопустимо». В реальной практике, част эндоскопистов прикладывает тест к биоптату не вынимая его из щипцов и оценивает окраску, возникшую за 15-30 секунд с момента контакта. Это измене-

ние методики фактически не влияет на оценку инвазии НР.

Недостатком методики является то, что тест-системы HELPIL-тест, будучи смоченными или влажными, чувствительны к аммиаку. Он может оказаться в газовой среде помещения в результате применения дезинфекантов 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. Следовательно прямой контакт с ними может привести к ложно-положительному результату анализа. Поэтому при закреплении дисков HelPil-test на картонном носителе в тест-системах под названиями HELPIL-тест 1 (рис. 3),



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



Рис. 3. Тест-система HELPIL-тест 1, где впитывающий диск закреплен на держателе из ламинированного картона.



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

HELPIЛ-тест 3 (рис. 4), HELPIЛ-тест 12 (рис. 5) 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 ламини-



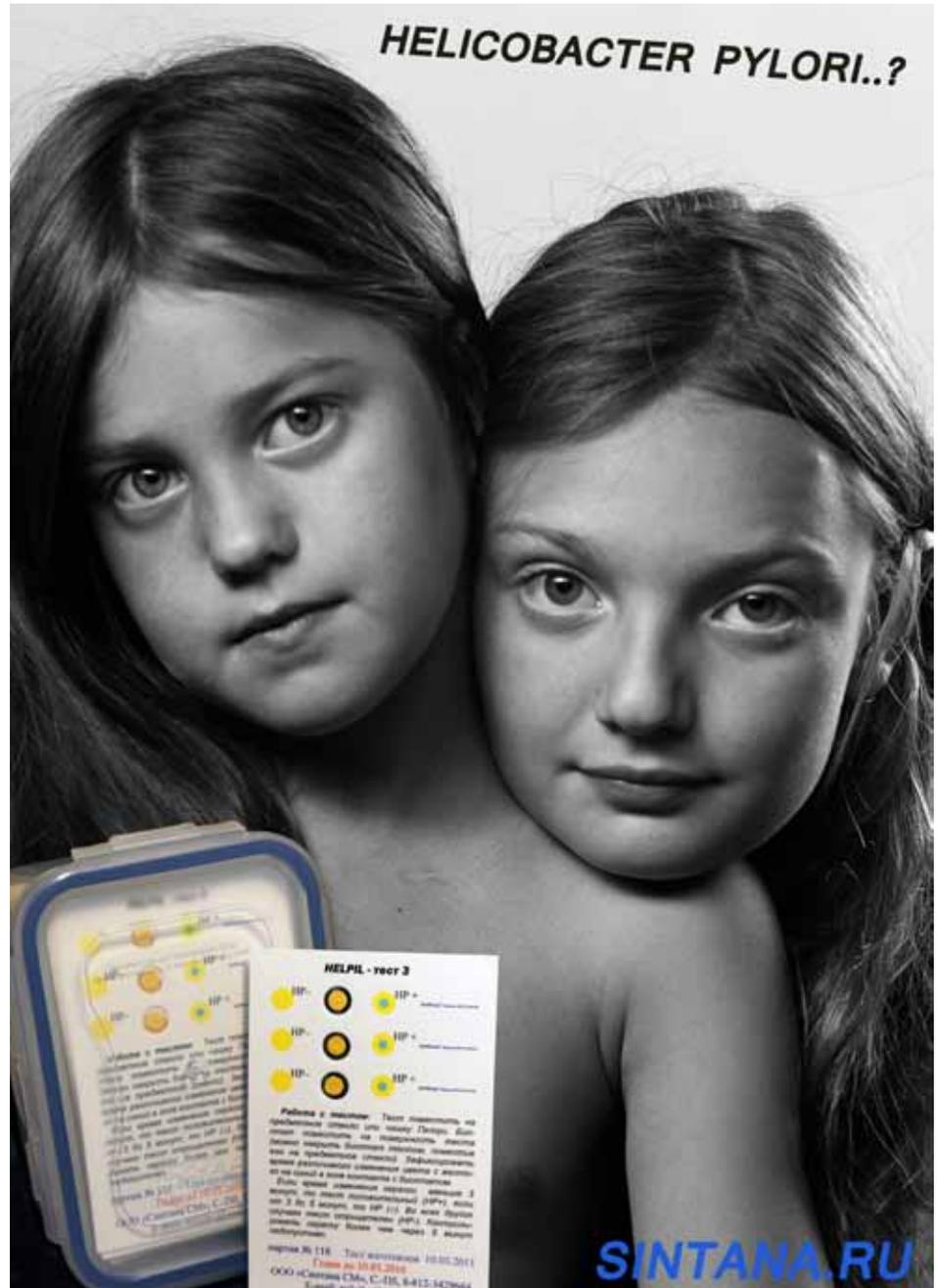
Рис. 5. Тест-система HELPiL-тест12
в его стандартной упаковке
(контейнер, содержащий
100 бланков).



Рис. 6. Тест-система HELPiL-тест12
без упаковки.

рованного картона (рис. 6). 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 HelPil-test 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 HelPil-test и непритязатель-



тельность 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.