

УРЕАЗНЫЕ ДЫХАТЕЛЬНЫЕ ТЕСТЫ НА HELICOBACTER PYLORI

В.А. Сурков*, **Л.И. Гребеник****

*ОАО «SELMI», г. Сумы;

**Медицинский институт Сумского государственного университета,
г. Сумы

В статье сделан обзор литературных источников, которые оценивают возможности и перспективность применения уреазных дыхательных тестов (УДТ) для диагностики и мониторинга хеликобактериоза. Принцип метода УДТ состоит в детектировании продуктов расщепления мочевины (CO₂ или NH₃) уреазой бактерии Helicobacter pylori. Несмотря на относительную простоту методики проведения тестов, высокая стоимость оборудования и реактивов ограничивает широкое использование метода в практической медицине.

ВВЕДЕНИЕ

С тех пор как в 1983 году будущие нобелевские лауреаты Маршалл (B.J.Marshall) и Уорен (J.R.Warren) указали на бактерию Helicobacter pylori (H. pylori) как на главного виновника язвы и важнейшую причину рака желудка, медицинская информация по лечению гастритов и язв стала приобретать характер сводок с поля боя. И то, что слова «выявить» и «уничтожить» заменены в ней медицинскими эвфемизмами «поставить диагноз» и «подвергнуть эрадикации», лишь усиливает это впечатление.

Как обычно, отношение к новому направлению в медицине у профессионалов и сочувствующей публики охватывает весь спектр от радужных надежд до унылого пессимизма. Истину же определяют не отмеренная от крайностей «золотая» середина, а научный поиск и медицинская практика. Впрочем, последняя тоже все больше напоминает научный поиск, ибо выполняется по схеме «контролируй и лечи», что подразумевает выбор последующего шага лечения в зависимости от результатов предыдущего. Роль диагностики при этом особенно велика.

Особую популярность в качестве метода диагностики хеликобактериоза приобрел уреазный дыхательный тест (УДТ). Его применяют не только для первичной диагностики, но и для контроля эффективности лечения. Несмотря на то, что он далеко не единственный и получил распространение только в экономически развитых странах, метод на слуху не только у специалистов-медиков, но и у их пациентов. Ведь моду на метод задают именно экономически развитые страны – через товары, научные публикации, конференции (в частности, рекомендации авторитетных Маастрихтских Консенсусов [1, 2, 3]), интернет. Несмотря на это, в настоящее время не существует метода диагностики хеликобактериоза, который был бы признан как единственный и универсальный, исключающий необходимость применения других методик[4, 5]¹.

¹ См. также статьи, выложенные в электронном виде:

С.Н.Панчук «Helicobacter pylori (H. pylori) - знакомый незнакомец», Medicus Amicus, 2001.

– №1 <http://www.medicusamicus.com/index.php?action=347-5-7a-10-11-13-14-18-24>.

Паролова Н.И. и др. Сравнительная оценка неинвазивных методов диагностики Helicobacter pylori у детей. Опыт применения дыхательного Хелик-аппарата,

<http://www.amamed.ru/articles/article.php?action=43>.

Щербатов П.Л. Диагностика инфекции H.pylori у детей,

<http://www.amamed.ru/articles/article.php?action=14>.

ЦЕЛЬ РАБОТЫ

Целью написания данной обзорной статьи явилась оценка перспектив одного из методов диагностики хеликобактериоза – уреазного дыхательного теста (УДТ). Авторы искренне надеются на то, что анализ литературных данных окажется весьма полезным специалистам, которые занимаются не только диагностикой и лечением заболевания, но и разработчикам методик и приборов для диагностики².

РЕЗУЛЬТАТЫ

Идея и история изотопного УДТ

Начало диагностики хеликобактериоза с помощью уреазного дыхательного теста (UBT- Urea Breath Test) было положено в 1987 года, когда в английском журнале *Lancet* появилась статья Грэхэма (D. Y. Graham) [6] с коллегами по ¹³C-УДТ (¹³C- УДТ), а затем и Бэлла (G. D. Bell) [7] с коллегами по ¹⁴C-УДТ (¹⁴C-УДТ). Интерес к такой диагностике был обусловлен в первую очередь неинвазивностью метода, что всегда удобно как для пациента, так и для врача.

Поскольку предложенный метод – непрямой, потребовались значительные усилия по уточнению условий, в которых его надежность будет несомненной. Много усилий было потрачено и на то, чтобы сделать метод доступным для пациентов и уяснить его место среди других методов диагностики хеликобактериоза. Возможно поэтому прошло еще целых 10 лет, прежде чем в продаже появились первые тест-наборы для ¹³C-УДТ на *H. pylori* (в 1997 году). Сейчас такие тест-наборы выпускают многие фирмы. Вот только некоторые из них: Meretek Diagnostics, Inc., США (тесты: BreathTek™ и BreathTek-UbiT), Torbet Laboratories Ltd, Англия (тест Pylobactell®), Kibion AB, Швеция (тест Diabact®), Isodiagnostica Inc, Канада (тест Helikit™ и Helikit™IR), INFAL GmbH, ФРГ (тест INFAL®), Oridion BreathID Ltd, Израиль (тест BreathID®. Наиболее известные из производителей тест-наборов для ¹⁴C-УДТ: Kimberly-Clark/Ballard, Австралия (тест PYtest 14C-Urea Breath Test) и Kibion AB (Noster System AB), Швеция (тест Heliprobe™ UBT). Наиболее известные из производителей тест-наборов для ¹⁴C-УДТ: Kimberly-Clark/Ballard, Австралия (тест PYtest 14C-Urea Breath Test) и Kibion AB (Noster System AB), Швеция (тест Heliprobe™ UBT)

Тест-наборы включают: набор необходимых реагентов, контейнеры для хранения и транспортировки продуктов дыхания, инструкцию по методике определения с указанием типа аналитического прибора.

Метод УДТ косвенный, т.к. он определяет не наличие самой бактерии *H. pylori*, а продукты ее жизнедеятельности. Бактерия *H. pylori* выделяет

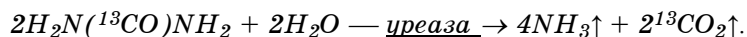
² С дополнительной информацией по затронутой теме можно ознакомиться также на сайтах фирм-производителей:

НПФ "ЛИТЕХ" (Россия) <http://lytech.ru>;
Meretek Diagnostics, Inc. (США) <http://www.meretek.com>;
Torbet Laboratories Ltd (Великобритания) <http://www.breathlab.com>;
Kibion AB (Швеция) <http://www.kibion.com>;
Orexo AB (Англия) <http://www.orexo.com>;
Kimberly-Clark/Ballard (Австралия) <http://www.kchealthcare.com>, <http://www.bmed.com>;
INFAL GmbH (ФРГ) и ее отделений <http://www.infai.co.uk>; <http://www.infai.de>;
<http://www.infai.com>;
Oridion BreathID Ltd (Израиль) <http://www.oridion.com>; <http://www.breathid.com>;
Украинско-немецкого гастроэнтерологического центра «ВУК-Киев» <http://byk.kiev.ua>;
ООО «АМА» (Россия) www.helicotest.com.ua и ее диллера в Украине www.helicotest.com.ua;
НТП «ТКА» (Россия) www.tka.spb.ru;
ООО «Изотопмедсервис» (Россия) <http://www.isotopmedservice.ru>;
Medical House PLC (Великобритания) <http://www.themedicalhouse.com>;
Hyperlyser Ltd (Великобритания) www.hyperlyser.com

в большом количестве фермент уреазу. Этот фермент гидролизует мочевины до CO_2 и NH_3 , при этом облако аммония окружает бактерию и повышает pH до 5, улучшая условия жизнедеятельности *H. Pylori*.

Принцип метода состоит в следующем. Пациент орально получает раствор мочевины, в которой основной изотоп углерода ^{12}C заменен минорным изотопом ^{13}C или ^{14}C .

Мочевину метят либо стабильным изотопом ^{13}C , либо радиоактивным изотопом ^{14}C . После введения меченой мочевины в желудок происходит реакция



Меченая двуокись углерода всасывается в кровь, транспортируется в легкие и выдыхается вместе с другими продуктами дыхания. Природная распространенность изотопов ^{13}C и ^{14}C невелика, поэтому при наличии бактерии в организме пациента в выдыхаемом воздухе будет выявлен CO_2 с аномально высоким содержанием минорного изотопа-метки. Усвоение и распространение двуокиси углерода происходят быстрее уреазной реакции, поэтому определяющим звеном всего процесса является гидролиз мочевины. Больше бактерий – больше уреазы, больше уреазы – большая доля меченого углекислого газа в продуктах выдоха. Вследствие высокой кислотности желудочного сока метаболическая активность других бактерий исключается, и поэтому положительный уреазный тест свидетельствует о наличии в желудке именно *H. pylori*.

Анализ продуктов дыхания производят на изотопочувствительном аналитическом приборе.

Для диагностики хеликобактериоза применяют один из двух методов ^{13}C -УДТ или ^{14}C -УДТ, но чаще первый.

Зависимость методики, аналитических средств и организации диагностирования

Первые ^{13}C -УДТ выполняли на магнитных изотопных масс-спектрометрах. Это дорогие, сложные в обслуживании и довольно громоздкие приборы. Для того чтобы сделать их доступней и проще, производители аналитического оборудования пошли по пути разработки специализированных высокопродуктивных (2 мин на пробу, 5 мин на обработку анализов одного пациента) масс-спектрометрических анализаторов с упрощенной хроматографической подготовкой пробы. С другой стороны, организацию диагностической процедуры постарались оптимизировать в соответствии с принятой в той или иной стране медицинской практикой. И все же диагностика хеликобактериоза с помощью ^{13}C -УДТ остается доступной только для зажиточной части населения экономически развитых стран. Даже появление на рынке более простых и дешевых изотопочувствительных инфракрасных спектрометров, значительно расширив круг потребителей, принципиально не разрешило проблему. Так, в Украине имеется лишь один изотопочувствительный инфракрасный спектрометр, который находится в Украинско-немецком гастроэнтерологическом центре «ВУК-Киев» и нет ни одного масс-спектрометрического.

Контроль дыхательных тестов осуществляют в клиниках, в фирме-производителе тест-наборов или в специализированных лабораториях. При этом выделяют два основных подхода; условно их называют американским и европейским. Для первого характерна централизация аналитических измерений, для второго – выполнение анализов в кабинете врача [8]. В США врачу доставляют диагностический набор со

всеми необходимыми инструкциями и маркировкой в кабинет. После того как у пациента возьмут дыхательные пробы, их отправляют с ночной курьерской почтой в специализированную аналитическую лабораторию. Результаты врач получает факсом в течение 1-2 суток.

Разница в подходах связана с тем, что большинство американских врачей более своих европейских коллег стеснены временными и ценовыми рамками, а также жесткими нормативными требованиями (Clinical Laboratories Improvement Act). На наш взгляд, это связано также с наличием достаточного числа лабораторий, оснащенных высокопроизводительными масс-спектрометрическими системами, и развитой системой курьерской почты. Эта схема выгодна тем, что достигается экономия времени (на калибровку и обслуживание приборов) и облегчается контроль качества анализов. В европейских же странах, где анализ дыхательных проб в кабинете врача может быть существенным источником дохода, предпочитают анализы делать на месте. Здесь чаще используют небольшие и менее производительные инфракрасные спектрометры. Однако в этом случае существует опасность снижения качества, поскольку контролем качества теста могут пожертвовать, если страховые компенсации полностью не будут покрывать затраты.

Деление это, однако, условно. В европейских странах контролем дыхательных проб занимаются также и фирмы-производители тестовых наборов, и специализированные аналитические фирмы, с которыми у фирм-производителей имеются партнерские отношения. Так, тем, кто в Англии приобрел тестовый набор шведской фирмы Kibion AB, нет необходимости обращаться на фирму. Они могут воспользоваться услугами лаборатории департамента биохимии Королевского госпиталя в Глазго (Glasgow Royal Infirmary). Подобные аналитические услуги оказывают также английская фирма Torbet Laboratories Ltd и немецкая фирма INFAI GmbH. В Англии 71 % клиник, выполняющих ^{13}C -УДТ, посылают дыхательные пробы для анализа коммерческим лабораториям.³ Если же анализы дыхательных проб производятся собственными силами, то в 67 % случаев это делают на масс-спектрометрах, а в 33 % – на инфракрасных анализаторах. Таким образом, в европейской Англии большинство УДТ делают не в кабинете лечащего врача, а в хорошо оборудованных лабораториях.

Проведенный аудит качества анализов в Великобритании с интервалом в десять лет показал, что качество ряда анализов, выполняемых в мелких лабораториях, особенно, если их выполняют нечасто, оставляет желать лучшего. Несмотря на то, что результаты анализов УДТ имеют неплохую межлабораторную воспроизводимость, существуют расхождения данных, близких к пороговому значению.

С целью унификации методик и рутинных процедур, поддержания необходимого уровня компетентности персонала, проведения регулярного контроля качества ряд авторов предлагают сократить число субрегиональных лабораторий, т.е. сделать шаг на пути к американскому подходу в организации проведения УДТ. Однако есть и противоположные тенденции. Так, немецкой фирмой Thermo Electron Co прекращено производство специализированного высокопроизводительного масс-спектрометра BreathMAT^{PLUS}, а на сайте фирмы рекомендуют применять «новый прибор для медицинской диагностики на основе ИК-спектрометрии изотопных отношений – IRIS» фирмы Wagner Analysen Technik, Bremen, Germany (<http://www.wagner-bremen.de>). Было прекращено производство многообещающего анализатора LARATM

³ См., например, Andrew Duncan and Peter Hill. Fn Audit of Gastrointestinal investigations performed in UK laboratories. December 2005 (www.acbscot.org.uk/science/documents/GIAuditReport.doc).

американской фирмы Alimenterics Inc, ставшего в 1999 году победителем MDEA (Medical Design & Manufacturing East 1999 Conference and Exposition) в категории Клинического лабораторного оборудования и материалов [Clinical Laboratory Equipment and Supplies], которому, наряду с изотопными масс-спектрометрами, прочили место в гастроэнтерологических центрах с большой аналитической загрузкой.

Наряду с этим, другая американская фирма Meretek Diagnostics, Inc начала предлагать небольшие «офисные» инфракрасные спектрометры ROCone™ и UBiT®.

С нашей точки зрения интересно предложение израильской фирмы Oridion BreathID Ltd, которая предложила прибор BreathID® Multi-Test Platform [9, 10, 11]. Весь тест на хеликобактериоз (BreathID®) на этом приборе отнимает у пациента от 10 мин до 30 мин и выполняется в одно посещение пациентом врача. В этом случае не требуется заполнения контейнеров дыхательной пробой и пересылки их в аналитическую лабораторию – отбор продуктов дыхания производится непрерывно по ходу дыхания пациента.

Такая методика позволяет получать надежные результаты без ограничения в приеме пациентом антисекреторных лекарств. Указанный прибор может быть использован не только для выполнения дыхательного теста на *Helicobacter pylori*, но и для других дыхательных тестов.

Таким образом, спор между централизованным способом аналитического обслуживания ^{13}C -УВТ и обслуживанием собственными силами пока не завершен.

Анализ существующих предложений оборудования для УДТ показал, что фирмы-производители отстаивают в первую очередь свои интересы. Поэтому этот факт следует учитывать, выбирая диагностику в интересах пациента. Так, в рекламах ^{13}C -УВТ всегда настойчиво подчеркивают его нерадиоактивность. Может возникнуть впечатление, что он полностью вытеснил радиоактивный ^{14}C -УВТ, однако это не так. Современные ^{14}C -УВТ тесты содержат в 10 раз меньше активной составляющей, чем первые [7, 12] и безопасны даже для детей [13]. На сайте фирмы Noster System AB отмечено, что доза, получаемая при проведении теста, меньше той дозы, которую пациент получает при рентгеновском обследовании желудка. В то же время для проведения этого теста требуются значительно более простые и дешевые контрольные приборы. Таким образом, он так же надежен, как и ^{13}C -УДТ, но более дешев. Однако основной проблемой в случае ^{14}C -УДТ является сложная организация работ по хранению и транспортировке радиоактивных препаратов, особенно если они скапливаются в большом количестве. Поэтому прибегать к ^{14}C -УДТ рекомендуют в тех случаях, когда годовая нагрузка гастроэнтерологического центра не превышает 2500 анализов в год и анализы могут быть выполнены на месте. Не применяют этот метод также для обследования беременных женщин и при многократном назначении повторения теста.

Высокая стоимость оборудования и тестовых веществ как для ^{13}C -УДТ, так и для ^{14}C -УДТ не позволяет сделать этот метод общедоступным, поэтому постоянно ведется поиск новых подходов к диагностике *Helicobacter pylori*. В этой связи представляет интерес дыхательный тест без использования изотопобогащенной мочевины – аммиачный уреазный дыхательный тест, в котором используют мочевины с природным изотопным составом.

Аммиачный уреазный дыхательный тест

Ранее мы отмечали, что в результате высокой уреазной активности бактерия *Helicobacter pylori* способна расщеплять мочевины с

образованием двуокси углерода и аммиака. Одновременное образование двух продуктов реакции – углекислого газа и аммиака – позволяет определять наличие бактерий в организме как с помощью ^{13}C -УДТ и ^{14}C -УДТ – по углекислому газу, так и применяя биохимический тест (*быстрый уреазный тест*), в котором детектируют количество образующегося аммиака. В отличие от ^{13}C -УДТ и ^{14}C -УДТ, которые являются неинвазивными, быстрый уреазный тест требует отбора биоптата. Попытки контролировать аммиак в выдыхаемом воздухе рассматривались как бесперспективные, т.к. образующийся аммиак активно метаболизируется: после образования он поступает в кровь, далее – в печень, где обезвреживается и выводится с мочой в составе мочевины. У здоровых людей содержание аммиака в крови невелико, достаточно стабильно и не зависит от возраста, массы и поверхности тела. Содержание аммиака в выдыхаемом воздухе соответствует уровню аммония в венозной крови [14], но его концентрация не может служить биомаркером для *Н рylogi*-инфекции. Это связано с тем, что, во-первых, количество аммиака в выдыхаемом воздухе слишком мало, а, во-вторых, его определение затруднено вследствие активного действия механизма аммиачного гомеостаза, поэтому выделить долю исключительно «бактериального» аммиака затруднительно.

Концентрация аммиака в выдыхаемом воздухе зависит не только от уреазной активности *H Pylor*, индивидуального уровня мочевины в желудке, но и от секреции соляной кислоты, тонуса нижнего пищеводного сфинктера, функциональных возможностей печени и наличия в кишечнике других микроорганизмов-уреазопродукторов. Решение было найдено в ООО «АМА», Россия, Санкт-Петербург (патент РФ №2100010, а затем – пат. РФ № 2263468) [15, 16]. В 1997 г. были разработаны метод и аппаратура, а затем и налажено серийное производство приборов для неинвазивной биохимической диагностики, основанной на кинетической оценке концентрации паров аммиака в воздухе ротовой полости после приема пациентом мочевины нормального изотопного состава.

Укажем особенности метода (для краткости назовем этот тест по аналогии с изотопными УДТ NH_3 -УДТ), которые позволили контролировать уреазную активность бактерий именно по аммиаку. Во-первых, в методе используют контроль не *индивидуального физиологического уровня аммиака*, а степени повышения уровня аммиака после приема мочевины относительно базального (индивидуального фонового) уровня (не менее чем на 1 ppm) [17]. Во-вторых, забор продуктов дыхания производят не *выдохом*, а *прокачкой* с помощью побудителя расхода через введенную в ротовую полость трубку. В этом случае анализируют газовую смесь, принудительно отбираемую из желудка через рот, поэтому возможно детектирование аммиака, который не подвергается метаболическим превращениям в организме. Кроме того, вместе с тестовой мочевиной пациенту дают вещество, способствующее «выносу» аммиака. Как правило, используют антациды (сода, альмагель) или газированную воду. И, наконец, имеется немаловажная техническая хитрость – приняты меры к недопущению попадания в датчик слюны.

ООО «АМА»⁴ выпускает два типа приборов для NH_3 -УДТ: прибор с индикаторной трубкой, заполненной хемосорбентом, ХЕЛИК®-тест и ХЕЛИК®-аппарат* с электрохимическим детектором. В случае ХЕЛИК®-теста показателем наличия в организме активных бактерий служит разность в длине окрашенных участков индикаторной трубки от

⁴ *ООО «АМА» (Россия) www.helicotest.com.ua, www.helicotest.com.ua

базальной пробы и пробы, взятой после приема нагрузки (0,5 г мочевины, растворенной в 50 мл воды).

В случае ХЕЛИК®-аппарата результат выводится на дисплей аппарата или компьютера, к которому он может быть подключен.

Это позволяет врачу принимать во внимание не только разность между базальным и нагрузочным уровнем, но и учитывать особенности процесса изменения концентрации аммиака [18]. Кроме того, отпадает необходимость в отдельной регистрации базального уровня, поскольку в первые 2-3 мин после приема раствора мочевины она еще не успевает расщепиться.

Вся процедура анализа занимает 9 мин. Чувствительность дыхательного Хелик-теста составляет 94-95%, специфичность – 93-97%. Метод прекрасно зарекомендовал себя для диагностики *H pylori*-инфекции у взрослых и, что еще более важно, у детей.

Если чувствительность изотопного УДТ для детей раннего возраста снижена вследствие малого объема выдыхаемого воздуха, то NH₃-УДТ таких ограничений не имеет [6, 4]. Важным является также тот факт, что в нем так же, как и в ¹³C-УДТ, не применяются радиоактивные вещества.

Приборы ХЕЛИК® зарегистрированы как средство измерения и уже продаются в Украине. В 2006 году ХЕЛПИЛ-тест, ХЕЛИК-тест и ХЕЛИК-аппарат прошли техническую экспертизу, доклиническую экспертизу в Институте химии высокомолекулярных соединений НАН Украины, клинические испытания в Клинической больнице «ФЕОФАНИЯ». Тест-системы зарегистрированы в Украине и внесены в Государственный реестр медицинской техники и изделий медицинского назначения (Свидетельства о Государственной регистрации DC № 007106, DC №007102, DC №007104) и разрешены для использования в медицинской практике.

Аналогичные приборы разработаны и изготавливаются еще одной российской фирмой в Санкт-Петербурге – НТП «ТКА».⁵

Следует отметить, что NH₃-УДТ имеет ряд экономических преимуществ. Стоимость аппаратов для аммиачного теста значительно меньше, чем масс-спектрометрических анализаторов и инфракрасных изотопочувствительных спектрометров. Кроме того, дешевле обходится тестовое вещество и обслуживание приборов.

Указанные приборы вполне доступны покупателям на рынках России и Украины, но почти совсем не известны в тех странах, где популярны изотопочувствительные приборы. В последнее время в этих странах предпринимаются усилия по разработке и внедрению приборов для NH₃-УДТ [19, 20, 21, 22, 23]. Так, английская фирма Hyperlyser Ltd, которая входит в группу компаний Medical House PLC, проводит активную работу по созданию и внедрению в диагностику *Helicobacter pylori* нового прибора для NH₃-УДТ.⁶

С нашей точки зрения причина странного запаздывания экономически сильных стран кроется в их больших материальных возможностях, что позволило им наладить производство и потребление дорогостоящих приборов для ¹³C-УДТ, идея которых лежала на поверхности. И рынок этой техники уже сформировался в отличие от рынков России и Украины.

⁵ А.В. Буданов и др. Газоанализатор выдыхаемого воздуха для определения инфицирования бактерией *Helicobacter pylori*. «Медтехника и медизделия» №3 (14), июнь 2003; (http://www.farosplus.ru/index.htm?/mtmi/mt_3_14/gazoanalizator.htm)

⁶ Medical House PLC Press releas 02.10.2000 Licence «Agreement and subscription for shares by Medisys PLC» (См. http://www.themedicalhouse.com/group_info/pressroom/021000.html); Medical House PLC Press releas 23.09.2004 Preliminary results for the year ended 30 June 2004 (См. http://www.themedicalhouse.com/group_info/pressroom/2004/20040923.html)

Дополнительные достоинства изотопных УДТ

Несмотря на ряд диагностических и экономических преимуществ, аммиачный УДТ не может полностью исключить изотопный УДТ. Это связано с тем, что изотопный УДТ значительно расширяет возможности диагностики заболеваний ЖКТ, печени и др.

В настоящее время применение различных меченых тестовых веществ позволяет разрабатывать тесты для диагностики состояний организма. Диагностические методики отличаются расписанием отбора проб и выбором тестовых веществ; необходимое оборудование для всех этих тестов практически не меняется. Такая универсальность может быть сильным аргументом в пользу выбора анализатора изотопного соотношения $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$.

Следует отметить, что не все указанные дыхательные тесты стандартизированы, поэтому с нашей точки зрения приведенный перечень можно рассматривать только как принципиальные возможности изотопного УДТ. Так, в Украинско-немецком гастроэнтерологическом центре «ВУК-Киев» предлагают дополнительные ^{13}C -дыхательные тесты (триглицеридный, крахмальный, метацетиновый, лактозный, октаноевый), которые, как отмечают, выполняются в Украине только в этом Центре. Однако информация о правовом статусе подобных тестов отсутствует. Поэтому вопрос о том, насколько можно доверять этим тестам и насколько они могут служить законным основанием для выбора алгоритма лечения, остается открытым.

В США законность использования подобных методик для диагностики заболеваний утверждает Food and Drug Administration (FDA), а в Европе – Agency for Evaluation of Medicinal Products (ЕМЕА). Для того чтобы получить разрешение на применение диагностических тестов, необходимо наличие диагностических «золотых стандартов», более сотни больных и столько же здоровых добровольцев, включая детей, беременных женщин и кормящих матерей, которые бы дали согласие подвергнуть себя процедурам диагностики (не только дыхательным, но и проверочным – а они могут быть и неприятными, и опасными, как, например, в случае взятия биопсии печени). Кроме того, необходимо заручиться действенной поддержкой авторитетного лечебного учреждения и, наконец, найти возможность все это оплатить. По данным Клейна [8], стоимость такой работы по внедрению теста в медицинскую практику составляет не менее \$ 500 тыс. Не случайно, размышляя о судьбе других дыхательных тестов, Клейн не слишком оптимистично заключает: «*The next 10 y will tell us whether the ^{13}C -urea breath test for *H. pylori* was a fluke of circumstances or the forerunner of a flood of applications. At this time, some 25 y after its inception, the ^{13}C -breath test remains a singularity in medical practice*».

Мы отмечали, что проведение дыхательного изотопного теста – это дорогостоящая процедура. Поэтому стандартизированные тесты могут получить широкое применение в медицинской практике в случае, если они будут занесены в перечень услуг, компенсируемых медицинской страховкой. Ярким примером может служить резкий рост популярности ^{13}C -УДТ в Германии после того, как он попал в так называемые списки German diagnosis-related group (DRG), выпускаемые Federal Ministry of Health.⁷ Затраты на диагностику стали компенсировать в сумме от \$26,4 до \$32,68, и дело пошло. (И это в стране с высоким уровнем жизни!).

И, наконец, несмотря на то, что новые тесты с углеродной изотопной меткой могут быть похожи на уреазный дыхательный тест, они, скорее всего, потребуют модификации приборов под новую методику, в

⁷ H. pylori diagnosis and treatment gets attention at European congress – United European Gastroenterology Week. BBC Newsletter, Jan. 1997. (См., например, <http://findarticles.com>)

особенности если этот прибор – специализированный быстродействующий масс-спектрометр.

Ограниченность дыхательных тестов

С начала широкого наступления на *H.pylori* роль диагностики хеликобактериоза как первичной, так и постэрадикационной многократно возросла. Это обусловлено следующим. Применение антибиотиков с целью эрадикации *H.pylori* породило новые проблемы в терапии язвенной болезни. Во-первых, появились штаммы, резистентные к антибиотикам, во-вторых, мощная антибактериальная терапия вызывает побочные эффекты, в том числе и дисбиотические изменения в кишечной микрофлоре. Это заставляет врачей быть осторожными в применении антибиотиков. Наконец, лечение хеликобактериоза слишком дорого, чтобы его проводить без веских на то оснований.⁸

Основными причинами появления резистентных штаммов *H.pylori* являются неполноценные схемы антихеликобактерной терапии, нарушение больными режима приема препаратов. Резистентные штаммы *H.pylori* могут существенно снижать эффективность лечения. В связи с этим в ряде стран ведутся динамические наблюдения за ростом уровней резистентности *H.pylori* к антибактериальным препаратам, которые входят в схемы противохеликобактерной терапии на популяционном уровне и предпринимаются адекватные меры для предотвращения этого роста.

В последние годы установлена еще одна особенность *H.pylori* – под влиянием неблагоприятных условий, в том числе и неадекватной антибактериальной терапии, этот микроорганизм способен переходить из вегетативной формы в кокковую. В результате ферментативная активность бактерии снижается и её трудно обнаружить с помощью уреазных тестов. Наряду с этим установлено, что в слизистой оболочке желудка кокковые формы чаще и в большем количестве наблюдаются у больных раком желудка, чем при язвенной болезни. Это может указывать на большую выраженность канцерогенных свойств кокковых форм *H.pylori* [24].

Кроме того, имеются предварительные данные, свидетельствующие о том, что именно в период трансформации спиралевидных форм *H.pylori* в кокковые наблюдается максимальная активизация продукции ими активных форм кислорода.

В прямой зависимости от эффективности антихеликобактерной терапии находится и снижение частоты рецидивов язвенной болезни. Лишь при полной эрадикации частота рецидивов снижается до минимума и, как правило, не превышает 10% в течение 1 года. На этом основании возрастают требования к чувствительности и специфичности методов, применяемых для обнаружения *H.pylori*.

На рис. 1 показан результат диагностики наличия *H.pylori* различными методами до и после применения одной из схем эрадикационной терапии⁸. Причиной повторного появления *H.pylori* предположительно является активация собственной *H.pylori*-инфекции. Это возможно в том случае если под влиянием антихеликобактерной терапии не наступило полной эрадикации и бактерии могли трансформироваться из вегетативной формы в dormantное (то есть скрытое, спящее) состояние. Как видим, метод ПЦР надежнее фиксирует этот факт и, таким образом, для постэрадикационного контроля он более информативен.

⁸ А.А. Ильченко Язвенная болезнь и *Helicobacter pylori* Проблемы диагностики и лечения: Российский гастроэнтерологический журнал №3, 2000 (<http://medi.ru/doc/6700303.htm>)

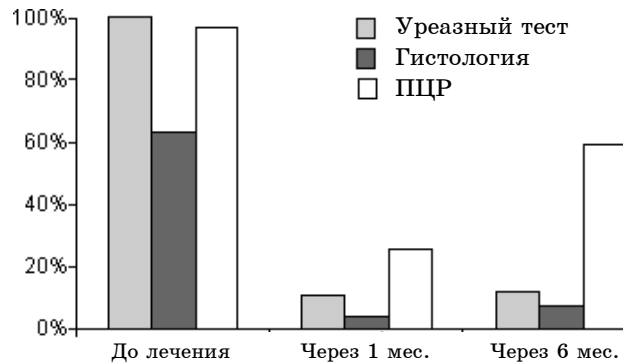


Рисунок 1 – Частота обнаружения НР до и после эрадикационной терапии

Следует обратить внимание также на следующее: точность теста – величина статистическая, то есть какая-то часть результатов «имеет право» быть ложными, а значит и некий частный результат, например, в нашем случае, может оказаться неверным. Прогностическая ценность теста зависит от распространенности заболевания в исследуемой популяции (страна, социальный слой, возраст и т.д.). Ошибки не может быть только при 100 % чувствительности и 100 % специфичности. Если же специфичность меньше 100 %, возможен ложноположительный результат. Это касается в первую очередь тех случаев, когда распространенность заболевания невелика. Поэтому врачу в этом случае следует начинать эрадикационную терапию только после проведения дополнительных исследований. При чувствительности менее 100 % возможен ложноотрицательный результат. Это имеет значение при высокой распространенности заболевания. В этом случае, если бактерия не обнаружена, необходимы дополнительные исследования. [25]. В Украине уровень зараженности *H. Pylori* высокий, именно потому применение исключительно неинвазивного дыхательного теста не может быть оправдано.

Маастрихские рекомендации

Какие существуют рекомендации Маастрихских Консенсусов по диагностике? Прежде всего, диагностика разделена на диагностику при первичном осмотре и постэрадикационную. Врач общей практики [primary-care physician], к которому пациент попадает при первичном посещении, не проводит эндоскопии, поэтому здесь рекомендованы неинвазивные методы диагностики: серологический и ¹³C-УДТ.

Применение этого подхода может иметь местную специфику не только в отношении возрастного порога, но и в понимании термина «диспепсия». В частности, в Украине такой диагноз практически не ставят, предпочитая диагнозы «хронический гастрит» и «хронический холецистит» в тех случаях, когда имеется функциональная диспепсия [26].

По мнению авторов, применение данной схемы позволило значительно сократить число дорогих эндоскопических исследований (ФЭГДС в разных странах стоит от 150 до 800 \$) и повысило их качественный уровень. В этом случае преимущество получают неинвазивные методы диагностики (УДТ, фекальный антигенный тест или, в крайнем случае, серологический). Однако авторы указывают на то, что такой подход оправдан только в странах с низкой распространенностью рака желудка, к которым Украина не относится. В странах с высокой распространенностью рака желудка, например в Японии, первичная

ФЭГДС производится всем без исключения больным с неисследованной диспепсией.

Не входя в суть дискуссии относительно медицинских проблем, отметим, что при первичном осмотре нашему пациенту в Украине эндоскопии, скорее всего, не избежать. При этом может быть взят биоптат для анализа на *Helicobacter pylori*. Поэтому роль неинвазивных методов диагностики в Украине будет не столь велика, как в тех странах, в которых низкая заболеваемость раком желудка и низкая зараженность *H. pylori*.

Для постэрадикационной диагностики серологические методы не могут быть использованы, поскольку антитела еще долго остаются в крови и после эрадикации *H. pylori*. Поэтому в качестве «золотого стандарта» для постэрадикационной терапии рекомендуют метод ^{13}C -УДТ и лабораторный фекальный антигенный тест. Инвазивные методы анализа на этом этапе стараются не применять, опасаясь возможности вторичного заражения.

С нашей точки зрения для диагностики *H. pylori*-инфекции наряду с ^{13}C -УДТ может быть успешно применен и более дешевый аммиачный УДТ.

Особое значение в лечении хеликобактериоза приобрела тактика «изучай и лечи» («диагностируй и лечи») [test and treat], при которой последующий шаг в терапии определяется результатами предыдущего. Таким образом, достоверная диагностика является важным элементом успешного лечения. Кроме того, учитывая упорство, с которым *Helicobacter pylori* отстаивает свое право на традиционное место проживания, а также обычную практику применять наработанные технологии в других областях, следует ожидать дальнейшего распространения и усовершенствования всех наработанных методов диагностики, в том числе дыхательных тестов.

ВЫВОДЫ

1 На сегодняшний день не существует универсального метода для первичной диагностики и контроля в процессе лечения хеликобактериоза, возможности которого исключили бы целесообразность применения других методик.

2 Выбор метода диагностики хеликобактериоза определяется не только наличием необходимой аналитической аппаратуры и кадров, но и материальными возможностями больного, особенностями организации лечебного дела, эпидемиологической обстановкой, резистентностью штаммов к антибиотикам, физиологических особенностей пациента, историей болезни и предысторией процесса лечения.

3 Несмотря на то, что в экономически развитых странах ^{13}C -УДТ признан в качестве эффективного неинвазивного теста для контроля хеликобактериоза в активной фазе, по ряду параметров он уступает другим методам диагностики этого заболевания. В Украине с учетом экономических возможностей наиболее подходящим из всех существующих дыхательных тестов контроля хеликобактериоза является аммиачный дыхательный тест.

SUMMARY

URIASE RESPIRATORY TESTS FOR HELICOBACTER PYLORI

*Surkov V.A., Grebenik L.I.**

Sumy Open Joint-Stock Company «SELMI»;

**Sumy State University, Medical Institute*

The review of the literary sources which value the possibility and the prospects of using the uriaze respiratory test (URT) for diagnostics and monitoring of helicobacteriosis is made in the

article. The principle of the URT method is detecting of products of hydrolysis of urea (CO_2 or NH_3) by urase of *Helicobacter pylori* bacteria. In spite of the relative simplicity of the methods, the high cost of the equipment and reagents limits the broad use of this method in practical medicine.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. European Helicobacter Study Group. European Helicobacter Pylori Study Group. Current European concepts in the management of Helicobacter Pylori infection. The Maastricht Consensus Report // Gut. – 1997. – №41. – P. 8-13.
2. Malfertheiner P., Megraud F., O'Morain C., Hungins R., Jones R., Axon A., Graham D.Y., Tytgat G. & The European Helicobacter pylori Study Group. Current concepts in the management of Helicobacter pylori infection – the Maastricht 2-2000 Consensus Report // Aliment Pharmacol Ther. – 2002. – № 16. – P. 167-180.
3. Malfertheiner P., Megraud F., O'Morain C., Bazzoli F., El-Omar E., Graham D., Hunt R., Rokkas T., Vakil N., Kuipers E.J. & The European Helicobacter pylori Study Group. Current concepts in the management of Helicobacter pylori infection: the Maastricht III Consensus Report // Gut. – 2007. – № 56. – P. 772-781.
4. Корунский А.А., Щербаков П.Л., Исаков В.А. // Хеликобактериоз и болезни органов пищеварения у детей. – М.: Медпрактика-М, 2002. – С. 105-124.
5. Кишкун А.А. Современные методы диагностики и оценки эффективности лечения инфекции, вызванной *Helicobacter pylori* (обзор литературы) // Клиническая лабораторная диагностика. – 2002. – № 8. – С. 41-46.
6. Graham D.Y., Klein P.D., JR. Alpert L.C., Opekun A.R., Boutton T.W. Campylobacter pylori detected noninvasively by the ^{13}C -urea breath test // Lancet. – 1987. – №5. – P. 1174-1177.
7. Bell G.D., Well W., Harrison C., Morden A., Jones P.H., Gant P.W., Trowell J.E., Yoong A.K., Daneshmend T.K., Logan R.F. ^{14}C -urea breath analysis, a non-invasive test for Campylobacter pylori in the stomach // Lancet. – 1987. – №6. – P. 1367-1368.
8. P.D.Klein. ^{13}C breath test: visions and realities // Journal of Nutrition. – 2001. – Vol.131, №5. – P.1637-1642.
9. Israeli E., Iian Y., Meir S.B., Buenavida C., Goldin E. A novel ^{13}C -urea breath test device for the diagnosis of Helicobacter pylori infection: continuous online measurements allow for faster test results with high accuracy // J. Clin. Gastroenterol. – 2003. – Vol. 37, №2. – P. 139-141.
10. Shirin H., Frenkel D., Shevan O., Levine A., Bruck R., Moss S.F., Niv Y., Avni Y. Effect of proton pump inhibitors on the continuous real time (^{13}C)-urea breath test // Am. J. Gastroenterol. – 2003. – Vol.98, №1.-P. 46-50.
11. Shirin H., Kenet G., Shevan O., Wardi Y., Birkenfeld S., Shahmurov M., Bruck R., Niv Y., Moss S.F Avni Y. Evaluation of a novel continuous real time (^{13}C) urea breath analyser for Helicobacter pylori // Aliment Pharmacol Ther. – 2001. – Vol.15, №3.- 389-394.
12. Peura D.A., Pambianco D.J., Dye K.R., Lind C., Frierson H.F., Hoffman S.R., Combs M.J., Guilfoyle E., Marshall B.J. Microdose ^{14}C -urea breath test offers diagnosis of Helicobacter pylori in 10 minutes // Am. J. Gastroenterol. – 1996. – Vol. 91, № 2. – P. 233-238.
13. Gunnarsson M., Leide-Svegborn S., Stenström K., Skog G., Nilsson L-E., Hellborg R., Mattsson S. No radiation protection reasons for restrictions on ^{14}C urea breath tests in children // British Journal of Radiology. – 2002.- Vol.75, №12. – P. 982-986.
14. Бинги В.Н., Степанов Е.В., Чучалин А.Г., Миляев В.А., Москаленко К.Л., Шулагин Ю.А., Янгузарова Л.Р. Высокочувствительный анализ NO , NH_3 и CH_4 в выдыхаемом воздухе с помощью перестраиваемых диодных лазеров // Труды ИОФАН. – 2005. – Т.61. – С.189-210.
15. Патент РФ на изобретение № 2100010 "Способ неинвазивной диагностики хеликобактериоза", приоритет от 20 февраля 1996 г.
16. Патент РФ на изобретение № 2263468 "Способ неинвазивной диагностики инфекции Helicobacter pylori in vivo и устройство для его реализации", приоритет от 11 апреля 2003 г.
17. Корниенко Е.А., Милейко В.Е., Самокиш В.А., Нажиганов О.Н. Неинвазивные методы диагностики инфекции, вызванной Helicobacter pylori // Педиатрия. – 1999. – №1. – С. 37-41.
18. Корниенко Е.А., Дмитриенко М.А., Дроздова С.Н., Григорьев С.В., Мамаев Н.А., Игуменова Е.Л., Лобода Т.Б., Кавлис Т.И. Сравнительная оценка непрерывной регистрации концентрации аммиака в воздухе ротовой полости в диагностике инфекции Helicobacter pylori // Лабораторная диагностика. – 2004. – №2. – С.14-17.
19. Kearney D.J., Hubbard T., Putnam D. Breath ammonia measurement in Helicobacter pylori infection // Digestive diseases and sciences. – 2002. – Vol. 47, №11. – P. 2523-2530.
20. Gatta L., Ricci C., Tampieri A., Vaira D. Non-invasive techniques for the diagnosis of Helicobacter pylori infection// Clinical Microbiology and Infection. – 2003. – Vol. 9, №6. – P.489-496.

21. Pat. U.S. №4947861 (1990) / Hamilton Lyle H Noninvasive diagnosis of gastritis and duodenitis.
22. Pat. U.S. №7014612 (2006) / T. Hubbard, D. Putnam Method for diagnosis of helicobacter pylori infection.
23. Pat. U.S. № 6509169 (2001) / M. Black, N. Ratcliff, C. Teare, C. Dunn, D. Cowell, C. Renault, P. Chambers Detection of Helicobacter Pylori.
24. Хомерики С.Г., Морозов И.А. Роль кокковых форм Helicobacter pylori в патогенетических механизмах и персистенции хеликобактерной инфекции // Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии и колопроктологии. – 2001. – №2, Приложение №13, Т.ХІ. – С.99.
25. Roberts A., Childs S., Rubin G., and de Wit D. Test for Helicobacter pylori: a critical appraisal from primary care // Family Practice. – 2000. – Vol. 17, №.2. – P. 12-20.
26. Передерий В.Г., Чернявский В.В. Диагностический поиск и ведение пациентов при неисследованной диспепсии // Сучасна гастроентерологія. – 2007. – №2. – С. 4-6.

Сурков В.А., ведущий инженер-конструктор,
ОАО «SELMI», г. Сумы;

Гребеник Л.И., доцент, Медицинский институт
СумГУ, г. Сумы.

Поступила в редакцию 3 июня 2008 г.