

ВЛИЯНИЕ ОТКРЫТИЯ HELICOBACTER PYLORI НА РАЗВИТИЕ ДИАГНО-СТИЧЕСКИХ МЕТОДОВ

Часть первая: Исторические аспекты — прошлый век

В.Е.Милейко

ООО «Синтана СМ», Санкт-Петербург, viktor_mileiko@inbox.ru

Развитие представлений о роли *Helicobacter pylori* (HP) тесно связано с развитием аналитических методов, пригодных для диагностических исследований, и уровнем аналитического приборостроения. Именно доступность электронной микроскопии для рутинных исследований позволила опытному патологоанатому и молодому интернисту в начале 1980-ых описать короткие спиралевидные бактерии длиной около 2,5 мкм с пятью униполярными жгутиками, которые находились в тесной связи с желудочным эпителием непосредственно под слоем слизи [1-3]. Сегодня их имена (Robin Warren, Barry Marshall <http://vianet.net.au/~bjmrshll>, *Helicobacter pylori* [4-6] <http://www.hpylori.com.au>) знает каждый патоморфолог, гастроэнтеролог и эндоскопист. Наличие уровня экспериментальной техники никак не умаляет роли самих исследователей в открытии этиопатогенной роли HP [1-9].

Не секрет, что попытки создать инфекционную теорию этиологии и патогенеза язвенной болезни многократно и безуспешно предпринимались на протяжении последнего столетия. Это только усилило негативное восприятие первой, да и последующих публикаций [1-3]. Несмотря на скепсис дальнейшие клинические исследования, как самого В.В. Маршалла, так и его сторонников, послужили мощным толчком в развитии целых направлений научных исследований: новых медицинских и промышленных технологий, реализованных в массовое производство медицинских препаратов и диагностических средств. На сегодня эти представления не только закреплены в образовательных программах (<http://www.helico.com>; <http://ecoli.microbiol.uwa.edu.au>), но и служат развитию смежных направлений медицинской науки. Уникально и то, что основы терапии и диагностики были заложены, а в дальнейшем и реализованы самим первооткрывателем. Так, понимая роль уреазы в жизни и деятельности HP, В.В. Маршалл патентует группу уреазных тестов: инвазивный CLO-test в 1987 году [10,11] <http://trimed.com/clotest.html> и неинвазивный «breath test» (PY-test) в 1988 году [12,13] <http://trimed.com/pytest.html>. Эти тесты или их аналоги <http://www.meretek.com/phyn.htm> сегодня незаменимы при контроле за эффективностью терапии (эрадикацией) [14-19]. Тест по продуктам жизнедеятельности микроорганизма *in vivo* - «дыхательный тест» не только повернул газовую аналитику лицом к медицине, но и способствовал развитию самих газоаналитических технологий.

Следует заметить, что Российские исследователи здесь шли в ногу со временем. Григорьев и соавт. [20] запатентовали жидкий уреазный тест на три года позже В.В. Маршалла, а первый наиболее простой из всех газоаналитических уреазных тестов «Аэротест» был разработан в 1992 году [21] и запатентован [22]. О первых результатах его использования широко доложено [23-25]. То есть уже в 1993 году наши исследователи получили возможность применить на практике весь комплекс диагностических средств, включая бактериологические и серологические методики и тест-системы отечественного производства [26-27]. Тем не менее, особое значение в среде Российских исследователей всегда придавалось гистолого-морфологическим исследованиям биоптатов слизистой оболочки антрального отдела желудка и двенадцатиперстной кишки [14,28-31].

Признание в 1994 году Международным агентством по изучению рака (IARC) инфекции HP в качестве канцерогена первого порядка [32] и принятие Маастрихтских рекомендаций по диагностике и лечению инфекции HP явилось новым толчком к развитию диагностических методов [33,34], разделив их на методики первичной диагностики и методики контроля эрадикации: бактериологические; морфологические (окраска по Гимзе или Вартину-Старри, Генте), биохимические.

В конце XX века усилиями независимых исследований в различных странах создано большое число инвазивных [35-44] и неинвазивных методик на основе различных химических, биохимических и физико-химических методов и аналитического оборудования самого последнего поколения [44-54]. Благодаря тому, что инвазия HP является массовым хроническим инфекционным заболеванием (встречается у 60-70 % населения) в ее изучение, диагностику и лечение вкладываются огромные частные и государственные средства. Благодаря этому возникли даже группы компаний (Tri-Med Specialties Inc. <http://trimed.com>, Ballard Medical Products <http://www.bmed.com>, Meretek Diagnostics <http://www.meretek.com>, ООО «АМА») специализирующиеся исключительно на новых методах диагностики. Особое место в ряду диагностических методических подходов занимает уреазный «дыхательный тест» с нерадиоактивным изотопным углеродным маркером Meretek UBT [14,29,55x], который благодаря развитию приборостроения успешно прогрессирует [56]. Доступность радиоуглеродного, изотопного и газового анализа и газоаналитических тестов позволила использовать аналогичные подходы в диагностике фенилкетонурии [57,58], ацетонимии и сахарного диабета [58-60], раннего рака [61] и других бактериальных инфекций [58,62,63], метаболизма химических веществ [64], панкреатита [65], углеводного обмена [66].

Анализируя ситуацию по созданию системы неинвазивной диагностики в целом, можно сделать вывод, что популярное мнение: «Создание высокочувствительных и надежных неинвазивных диагностических тестов — дело будущего» [29] — уже в прошлом. Сегодня уже создана большая группа надежных неинвазивных высокочувствительных методик конкурирующих между собой на альтернативной основе [13,18,19,48,67-69]. Они не только неинвазивны, но и атравматичны. Осознание этого факта дело сегодняшнего дня, а вот их широкое внедрение в медицинскую практику действительно дело будущего. Причем российские практикующие врачи здесь даже опережают своих зарубежных коллег благодаря ценовой доступности и простоте эксплуатации отечественных неинвазивных методик и тесному контакту в работе с разработчиками средств диагностики.

Для лучшего осознания ситуации с развитием диагностики HP хотелось бы хоть в какой-то мере систематизировать диагностические подходы и методики. Однако попытка что-либо классифицировать или систематизировать, за редким исключением, заранее обречена на провал. Поэтому в этой статье я остановлюсь только на перечислении относительно доступных публикаций, в которых все это уже делалось [14,15,26,28,29] и попытаюсь хоть как-то охарактеризовать, то что ускользнуло от внимания их авторов.

Тем не менее, предлагаемые диагностические методики, опустив физико-химические аспекты и характер отбора пробы анализируемого биологического материала, можно действительно разделить на две большие группы:

Первая группа - методики, изучающие непосредственно микроорганизм, его внешний вид, адсорбционные, биохимические свойства, жизнеспособность и ответные реакции [1-3,10,26,70].

Вторая группа - методики, изучающие ответные реакции макро-организма (то есть пациента), клиническую картину течения болезни, изменения в организме, иммунный ответ [71-73].

Например, гистологический метод относится сразу к двум: он выявляет наличие бактерий и их дистрофическое воздействие на клетки слизистой желудка. А вот антро-пометрические характеристики, равно как и накопление никеля в волосах [74-76], хотя явно и не используется в качестве метода диагностики, но может быть отнесено ко второй группе. Вариант дыхательной диагностики UBT включают элементы первой и второй группы, так как эвакуация продуктов гидролиза осуществляется макро-организмом. 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) [77] скорее относится ко второй. Ну а 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 НР, так как уже давно очевидно, что гиперацидное состояние не связанное с синдромом Золлингера-Эллисона можно расценивать как один из иммунных ответов человека на инвазию НР.

Однако хотелось бы рассмотреть все это в другом аспекте. Что сегодня предлагается рядовому практикующему врачу? Что ему действительно понятно и доступно? Для этого хотелось бы рассмотреть развитие в России различных методов диагностики именно в этом ключе. Что же происходит у нас, когда UBT шагает по планете [78], вы-являя НР. Так вот, по мнению независимой исследовательской группы, которую я имею честь представлять, у нас все есть и все свое. Тем более что для контроля эрадикации, все равно следует проводить эндоскопию с последующей биопсией и гистоло-гоморфологическим исследованием биоптата [79] и делать уреазный тест. О серологических тестах, как и в работах [14,33,80-82], лучше сказать отдельно. Они есть и весьма неплохого качества.

Однако, иммуноферментный анализ может быть широко использован для первичной или скрининговой диагностики. Следует отметить, что до использования количественных серологических методик в широкой практике еще весьма далеко. Поэтому наличие специфических IgG антител является поводом для дальнейшего обследования, а не для курса жесткой антимикробной терапии. Причем, следует отметить, что коммерческие иммуноферментные тесты на основе иммунопреципитации в принципе не пригодны для контроля эрадикации [33].

Все вышеизложенное прекрасно понимали многие специалисты. Именно поэтому в мире интенсивно развивается неинвазивная диагностика построенная на уникальной способности НР продуцировать большое количество уреазы, да еще высокоэффективной, да еще с промотормом. Это свойство НР просто глупо не использовать для высоко-эффективной и селективной диагностики этого микроорганизма, тем более, что сам человек не способен продуцировать уреазу или каталазу, гидролизующую карбамид. Хотя слабый фон может быть обусловлен другими уреазопродуцентами, но им всегда можно пренебречь. Разговоры о коковой форме НР, не обладающей уреазной активностью, можно оставить без внимания, так как она самостоятельно не встречается. Поэтому методики первой группы, которые являются более предпочтительными с точки зрения диагностики инфекции НР, построены именно на этом свойстве.

Следует отметить, что уреазой называется фермент селективно гидролизующий мочевины и только мочевины. Эта ферментативная реакция является классической. Ее кинетика детально изучена для ферментов различного происхождения. Хорошо изучено влияние рН среды и различных ингибиторов уреазы (солей металлов, таких как вис-мут, серебро, золото; органических ингибиторов), как *in vitro*, так и *in vivo*.

Другим фактором, который мы хотели учесть при создании отечественных методик и тест систем для классической диагностики НР, то есть направлений выбранных Бари Маршаллом, эта малая зависимость от уровня техники. Мы понимали, что решаемая задача является не сиюминутной. Поэтому в силу специфики личного опыта аналитического приборостроения мы изначально понимали тщетность создания простого и надежного высокочувствительного хроматомасспектрометра, диодно-лазерного спектрометра или подобных им электрохимических систем. Поэтому мы пошли более прогрессивным и простым путем — путем создания одноразовых адсорбционных тест-систем. При существующей высокой технологии изготовления их аналитическая чувствительность существенно превышает чувствительность первичных датчиков большинства физико-химических методов, за исключением ион-дрейфовой спектрометрии. При этом их стоимость ниже стоимости восстановления (дезинфекции) первичного датчика многоцветных устройств. Для анализа воздуха, выдыхаемого человеком (воздуха ротовой полости), который является весьма непростым объектом для газового анализа по сравнению с воздухом атмосферы и воздухом рабочей зоны, мы изначально применили сенсоры на основе хемосорбентов. Наиболее простые из них: линейно-колористические индикаторные трубки для анализа аммиака или двуокиси углерода вполне удовлетворяли решаемой задаче и требовали только целевой модернизации. Таким образом, нами было выбрано лучшее из того, что есть, а не как может показаться на первый взгляд, из того, что по-проще. Правильность выбранного направления показывают малоуспешные результаты параллельных разработок, конкуренция со стороны японских коллег [46] и аналогичное направление военной газоаналитической техники для анализа наноконцентраций су-пертоксикантов [83,84].

Тест-системы для работы с биоплатом хемосорбционного типа пришлось создавать «с нуля», ну или почти «с нуля». Промежуточным вариантом были жидкие высокоточные растворы в фосфатном буфере малой емкости и большой ионной силы за счет со-левых добавок с юглоном в качестве консерванта, расфасованные в микроампулы [44]. В результате работы был создан оригинальный тест являющийся сложной топомими-ческой системой [43,44,82,85] на основе волокнистого материала. Он одновременно является гелевым тестом и газоаналитической системой. Реакция на этом тесте идет очень быстро и без видимого участия жидкой фазы. Биоплат после него пригоден для дальнейших исследований.

В силу такой специфики в России разработка высокоэффективной UBT диагности-ки опередила на несколько лет разработку уреазного теста аналогичного качества.

При работе над UBT, начатой инициативно в 1992 году мы естественно располагали результатами предшественников [86].

Их рассуждения просты, даже проще школьного учебника химии. Карбамид плюс вода, плюс уреазы дает аммиак и углекислый газ. Это все происходит в желудке, где есть в избытке соляная кислота. Значит, аммиак взаимодействует с соляной кислотой, дает хлорид аммония. Углекислый газ улетает. Будем его измерять. Но измерять приходится на фоне выдыхаемого углекислого газа. Как их различить? А вот возьмем дру-гой изотоп, и будем различать.

Применение радиоизотопных маркеров после аварии в Чернобыле нам казалось просто кошунственным, и не из-за обследуемых, а из-за экологической вредности и производственной вредности для персонала лабораторий. А применение 13-С изотопа выглядит весьма дорогой и глупой затеей, так как этот изотоп содержится везде и в достаточном количестве, причем его эвакуа-

ция идет медленно и на достаточном фоне, существующем и без введения карбамида с изотопным маркером пациенту. Компенсировать слабый аналитический отклик (повышение в 1-2 раза по сравнению с фоном) точностью аналитического прибора при его тиражировании всегда удается с трудом. Поэтому этот метод изначально предназначен для крупных исследовательских центров, где окупаемость вложений можно компенсировать интенсивностью обследования. Однако, перевозка проб, а тем более пациентов не такая простая и дешевая затея, как она кажется на первый взгляд.

Оценив успехи зарубежных коллег, мы решили пойти по пути повышения чувствительности в отсутствии фона определяемого нерадиоактивного компонента. Сведения о константах гидролиза аммонийных солей, как и сам принцип Ле-Шателье, пред-полагали наличие аммиака в газовой фазе даже над растворами с pH 3-4. Проживание HP колониями изменяет pH в зоне проживания до 7,8 — 8,4, в чем мы убедились про-крашивая биоплаты слизистой оболочки антрального отдела pH-индикаторами, анало-гично тому, как это в последствии было запатентовано В. Marshall [35]. Кроме того мы знали, что аммиак присутствует в выдыхаемом через нос и рот воздухе и знали, что эти параметры различаются у людей в соответствии с их возрастом и состоянием здоровья. Знали и среднестатистические концентрации. Поэтому довольно быстро удалось найти связь между инфицированностью HP 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. Связь содержания аммиака с содержанием аммонийных солей в желудке подтверждалась к тому же приемом антацидов, например бикарбоната натрия — питьевой соды, но наводила на мысль о зависимости от pH желудочного содержимого. Прослеживалось снижения содержания аммиака после приема алкоголя, антисептиков или терапевтического воздействия по принятым на тот момент схемам лечения. Результаты исследования были доложены в Праге, запатентованы. Тест под названием «Аэротест» получил ограниченное распространение в качестве метода диагностики. Тем не менее, в период с 1992 по 1996 год им было обследовано не менее 25 тысяч человек с весьма удовлетворительным результатом. Подлинные авторы теста, вопреки распространенному мнению, не предполагали его использование 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. Им была известна и возрастная зависимость, причем именно возрастная, а не на килограмм веса. Попытки внедрить его в педиатрическую практику были неоднозначны [87-89].

Именно это заставило разработать нагрузочный тест, предполагающий прием пациентом раствора карбамида нормального изотопного состава [49,90]. Контроль за изменением содержания аммиака в воздухе ротовой полости с учетом базальной концентрации, является вполне надежной высокочувствительной и селективной методикой. Методика может быть выполнена не только индикаторными трубками, но и на любой другой приборной базе, позволяющей измерять содержание аммиака при температуре 25-37 °C в присутствии водного аэрозоля на уровне от 0,3 мг/м³. Для этой цели весьма пригоден, например ион-дрейфовый спектрометр высокого разрешения [91]. Сравнение результатов анализа отсекаемого альвеолярного воздуха и усредненной пробы «вдох-выдох» показывает бессмысленность усложнения конструкции приборов и методики.

Дальнейшее совершенствование методики направлено на снижение уровня гипе-раммонимии, связанное с приемом карбамида пациентами с высоким уровнем инвазии HP, усложнением контрольной и нагрузочной схемы с целью еще большего повышения селективности и чувствительности методик [92]. Предлагаются и различные формы приема карбамида (жевательная резинка [44], быстро растворимые гранулы).

Уреазный тест с биоплатом всегда был построен на реакции приведенной выше и на фиксации аммиака в растворе. Мы ушли от раствора, по двум причинам. Так удобней врачу и так надежней дифференцировать биоплаты по наличию в них HP на основе их уреазной активности. Первое понятно. Второе попробуем объяснить ниже.

Обычно для сравнения, чего-либо с чем-либо, это нечто помещают в аналогичные условия и смотрят наличие отличий. Это не всегда верно. Например, если поместить два блестящих предмета на яркий свет, их сравнить будет трудно и не только по отражающей способности.

Для сравнения уреазной активности двух биоплатов их обычно помещают в много большее по сравнению с биоплатом пространство, заполненное жидкостью. Жидкость обычно содержит компоненты, реагирующие с аммиаком, один из которых индикатор. Если раствор не содержит буфера (например, фосфатного буфера), то раствор все равно должен насытиться аммиаком и сам растворитель выполняет функции буфера. Но вода необходима для гидролиза и для растворения индикатора? Необходима. Но не в таком же количестве. Кроме того, попав в одинаковые условия, оптимальные в стартовом варианте для течения реакции, мы устраним ряд отличий в биоплатах, сами того не замечая.

В случае «сухого» уреазного теста контакт теста с биоплатом дифференцирует тесты по наличию жидкой фазы в биоплате. В зоне инвазии HP клеточная структура биоплата обычно нарушена и биоплат в таком случае более влажен по сравнению с образцом здоровой ткани. Поэтому из него поступает больше межклеточной жидкости. Контакт жидкой фазы с кристаллами карбамида затруднен пленкой из индикатора. Пленка гид-рофобна при pH 7 и ниже и гидрофильна при pH 7 и выше. То есть там где HP изменил pH межклеточной жидкости индикатор изменит цвет и раствориться, а межклеточная жидкость, содержащая уреазу, растворит карбамид и инициирует гидролиз. Таким образом, происходит дифференциация по pH межклеточной жидкости биоплата, которая изменяется *in vivo* в ходе развития инвазии HP. Кроме того, межклеточная жидкость, там, где присутствует HP и имеет оптимальные условия для ферментативного гидролиза и содержит уже продукты этого гидролиза. В силу последнего происходит дифференциация по стартовым условиям гидролиза. Аммиак в виду отсутствия избытка растворителя им не удерживается и легко удаляется из реакционной среды, но улавливается селективным микропористым, волокнистым адсорбентом. Это приводит к изменению pH на его поверхности и к изменению цвета индикатора. Зона окрашивания распространяется далеко за зону смачивания, но имеет меньшую по сравнению с ней интенсивность изменения изначального цвета. Применение Бромтимолового синего в таких тест системах весьма успешно, чего не скажешь о Феноловом красном и даже о нейтральном красном.

С развитием CCD датчиков, цифровой фотографии, доступностью сканеров и персональных компьютеров, позволяющих свободно работать с цифровым изображением, появилась возможность автоматизировать и сделать весьма количественной и объективной оценку результатов измерений индикаторными трубками и другими химическими сенсорами. Это может быть вполне успешно выполнено обычным дешевым настольным офисным сканером и персональным компьютером класса Pentium с использованием программного обеспечения с элементами цветометрии и в случае описанных выше тест-систем, применяемых для диагностического анализа на присутствие HP[93].

При этом эндоскопическое обследование, дополненное хромоскопией с Конго красным [94], позволяет не только оценить кислотопродуцирующую функцию желудка и откорректировать степень применения антацидных препаратов в терапии, но и провести предварительную диагностику инфекции HP. Во-первых, по самой секреции кислоты. А во-вторых, по времени и характеру изменения окраски с красного на синий в пилорическом отделе желудка в том случае, когда в раствор индикатора добавлен

карбамид в количествах сопоставимых с нагрузкой в аммиачном UBT [44,46]. Последнее к тому же позволяет выявить места преимущественного изменения окраски, а, следовательно, зоны для прицельной биопсии. Конго красный не мешает работе тестов на ос-нове Бромтимолового или Тимолового синего.

Впрочем если вы не желаете делать эзофагогастродуоденоскопию, или все это вам кажется сложным, трудным или бессмысленным, купите пачку жевательной резинки Dirol Carbamide [95] или возьмите 1 грамм мочевины (карбамида), возьмите часы посчитайте среднюю частоту дыхания минут за пять. Затем разжуйте эту жевательную резинку или растворите в небольшом количестве воды карбамид и выпейте этот раствор «залпом». Подождите минут десять-пятнадцать и посчитайте среднюю частоту дыхания. Если у вас во рту появилась неприятная сладость, а частота дыхания увеличилась в полтора два раза, результат анализа HP+.

И поверьте диагностика инфекции HP+ при ее широкой распространенности, дело не сложное и не главное. Важней не «пролечить» тройной или четверной антихелико-бактерной терапией [96] пациента, у которого антральный гастрит, язвенная болезнь двенадцатиперстной кишки или язва желудка не связана с HP. Именно для этого я участвовал, и буду участвовать в разработке отечественных средств диагностики, несмотря на иные тенденции закрепленные в Мاستриксских соглашениях.

1. Marshall, B.J., Warren, J.R., Unidentified curved bacilli on gastric epithelium in active chronic gastritis // Lancet 1983, June 4; p. 1273-1275.
2. Marshall B.J., Warren J.R. Unidentified Curved Bacilli in the Stomach of Patients with Gastritis and Peptic Ulceration. // Lancet 1984; p. 1311-1315.
3. Marshall BJ, Royce H., Anner d.I. et al. Original isolation of Campylobacter pyloridis from human gastric mucosa. // Microbios. Lett.-1984, vol. 25, p. 83-88.
4. Marshall BJ. History of the discovery of C pylori. In "Campylobacter pylori in gastritis and peptic ulcer disease" (Blaser MJ, ed) New York, Igaku-Shoin, 1989, p. 7-24.
5. Marshall B.J. Peptic Ulcer: An Infectious Disease? // Hospital Practice. Aug. 15, 1987, p. 97.
6. Marshall B.J. Helicobacter pylori // American Journal of Gastroenterology Vol. 89, No. 81, Aug. Supplement 1994, p. S-116.
7. Е.К. Баранская. История открытия Helicobacter pylori. // в кн.: Helicobacter pylori: революция в гастроэнтерологии. Под редакцией акад. РАМН В.Т. Ивашкина, проф. Ф. Мерго, Т.Л. Лапиной.- М., «Триада-Х», 1999, 255 с.
8. Marshall B.J., McGechie D.B. Rogers P.A.R., Glancy R.G Pyloric Campylobacter infection and gastroduodenal disease. Med. J. Aust 149, (1985) 434-444.
9. Marshall B.J., Dye K.R., Plankey M. et al. Eradication of Campylobacter pylori Infection with Bismuth Subsalicylate and Antibiotic Combinations. American Journal of Gastroenterology, Sept. 1988, Vol 83, p. 1035.
10. Marshall B.J., US Pat.4748113 May 31, 1988. Compositions and methods for the diagnosis of gastrointestinal disorders involving urease. Filed June 13, 1985.
11. Hala M, El-Zimaity T, Al-Assi MT, Genta RM, Graham DY. Confirmation of Successful Therapy for Helicobacter pylori Infection: Number and Site of Biopsies for a Rapid Urease Test. The American Journal of Gastroenterology 1995, vol.90, p.1962-1964.
12. Marshall B.J., US Pat. 4830010 May 16, 1989. Method for the diagnosis of gastrointestinal disorders. Filed January 22, 1988.
13. Graham D.Y., Klein P.D., Evans D.J. Jr. Campylobacter pylori detected noninvasively by the 13C-urea breath test. Lancet 1987, n.1, 1174-1177.
14. Аруин Л.И., Григорьев П.Я., Исаков В.А., Яковенко Э.П. Хронический гастрит, Амстердам, 1993, 362с.
15. Walsh J.H., Peterson W.L. «The Treatment of Helicobacter pylori Infection in the Management of Peptic Ulcer Disease», The New England Journal of Medicine, 1995, v.333, № 15, p. 984-991.
16. Jackson F.W. US Pat. 5439801. Test composition for detection of helicobacter pylori in gastric biopsy tissue. Filed 14.02.1994.
17. Логинов А.С., Ильченко А.А., Мукамолова Г.В. и др. Сравнительная эффективность различных методов обнаружения Helicobacter pylori (HP) у больных язвенной болезнью // Российский гастроэнтерологический журнал, 1998, № 3, с 3-11.
18. Marshall B.J., Plankey M.W., Hoffman S.R., et al. A 20-minute breath test for helicobacter pylori. Am. J. Gastroenterol. 1991, v. 86, p 438-435.
19. Peura D.A., Pambianko D.J., Dye K.R., et al. Microdose urea breath test offers diagnosis of Helicobacter pylori in 10 minutes. Am. J. Gastro. 1996, v.91, N. 2, p. 233-238.
20. 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».
21. 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.
22. Жебрун А.Б., Сафонова Н.В., Довгаль С.Г., Милейко В.Е., Фаловский М.В. RU Pat. 2091796 27.05.1993 Способ диагностики хеликобактериоза. Filed 28.05.1993.
23. Милейко В. Е., Сафонова Н.В., Жебрун А.Б. и др." Новый метод для диагностики хеликобактериоза" - Актуальные проблемы инфекционной патологии, часть 1 : Кишечные и респираторные инфекции, СПб, 1993, с 45.
24. Zhebrun A.B., Safonova N.V., Mileiko V.E. et al. "AEROTEST for Helicobacter pylori diagnosis" - Acta Gastroenterologica Belgica, 1993, v. 56, p. 84.
25. Сафонова Н.В., Милейко В.Е., Довгаль С.Г., Пайков В.Л., Быкова О.И. «АЭРО-ТЕСТ-НЕИНВАЗИВНЫЙ ЭКСПРЕСС МЕТОД ДЛЯ ДИАГНОСТИКИ ХЕЛИКОБАКТЕРИОЗА» № 397 в сб. «Первый национальный конгресс по профилактической медицине. 17-21 мая 1994 года. г. Санкт-Петербург, Россия»-1994, СПб, НИИ Профилактической медицины, т. 3, с 44-45.
26. Сафонова Н.В., Жебрун А.Б. Гастрит, язвенная болезнь и хеликобактериоз. Рекомендации для врачей. - СПб, 1993. 40 с.
27. Жебрун А.Б. Сафонова Н.В., Довгаль С.Г., Гончарова Л.Б. «ДИАГНОСТИКА ХЕЛИКОБАКТЕРИОЗА – ИНФЕКЦИОННОЙ ФОРМЫ ГАСТРОДУОДЕНАЛЬНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ» № 171 в сб. «Первый национальный конгресс по профилактической медицине. 17-21 мая 1994 года. г. Санкт-Петербург, Россия» -1994, СПб, НИИ Профилактической медицины, 1т, с 57-58.
28. Т.Л. Лапина. Основные принципы диагностики H. Pylori. // в кн.: Helicobacter pylori: революция в гастроэнтерологии. Под редакцией акад. РАМН В.Т. Ивашкина, проф. Ф. Мерго, Т.Л. Лапиной.- М., «Триада-Х», 1999, 255 с.
29. И.А. Морозов Проблемы морфологической диагностики инфекции Helicobacter pylori в желудке. // в кн.: Helicobacter pylori: революция в гастроэнтерологии. Под редакцией акад. РАМН В.Т. Ивашкина, проф. Ф. Мерго, Т.Л. Лапиной.- М., «Триада-Х», 1999, 255 с.
30. Е.А. Корниенко, П.В. Антонов. Особенности дуоденальной слизистой оболочки при Helicobacter pylori-ассоциированных га-

стродуоденальных заболеваниях у детей. // Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии и колонопроктологии. 1998, № 5 (VIII), приложение № 5, с. 226-227.

31. Хеликобактериоз в хирургической гастроэнтерологии. // Л.В.Поташов, В.П. Мо-розов, В.М. Савранский и др. - СПб:Судостроение, 1999.-143 с.
32. M. Deltenre, C. Clicque, R Ntounda, J.F. Nyst, V. Cjulich, D.T.Koster. MALT-тома и Helicobacter pylori: Что нам известно? // в кн.: Helicobacter pylori: революция в гастроэнтерологии. Под редакцией акад. РАМН В.Т. Ивашкина, проф. Ф. Мерго, Т.Л. Лапиной.- М., «Триада-Х», 1999, 255 с.
33. Т.Л. Лапина. Российские рекомендации по диагностике и лечению инфекции Helicobacter pylori. // в кн.: Helicobacter pylori: революция в гастроэнтерологии. Под редакцией акад. РАМН В.Т. Ивашкина, проф. Ф. Мерго, Т.Л. Лапиной.- М., «Триада-Х», 1999, 255 с.
34. M. Quina. Мастрихские рекомендации о лечении неязвенной диспепсии: Применимы ли они в странах с высокой частотой распространения инфекции H. pylori? // в кн.: Helicobacter pylori: революция в гастроэнтерологии. Под редакцией акад. РАМН В.Т. Ивашкина, проф. Ф. Мерго, Т.Л. Лапиной.- М., «Триада-Х», 1999, 255 с.
35. Marshall, Barry J. Patent Application: CA 2174933 May 4, 1995 DETECTION OF H. PYLORI IN THE STOMACH. Filed Oct. 25, 1994 (WO95/11672 Apr. 24, 1996; PCT/US94/12332, Oct. 28, 1993).
36. CHOE, Tae-Boo. Oct. 14, 1999 WO9951769A1: COMPOSITION, KIT, AND ME-THOD FOR DETECTING HELICOBACTER PYLORI IN BIOPSY. April 2, 1999. Priority April 3, 1998 KR1998000011909.
37. Wilhelmus QUINT; Leendert-Jan. VAN DOORN, April 23, 1998. WO9816658A2: PROBES, METHODS AND KITS FOR DETECTION AND TYPING OF HELICO-BACTER PYLORI NUCLEIC ACIDS IN BIOLOGICAL SAMPLES. Oct. 10, 1997.
38. Barry Berkowitz; George Sachs; Chris Blackburn; Jan. 25, 2000 US6017950: Me-thods for controlling gram negative bacteria in mammals. Aug. 5, 1997.
39. INAMOTO YOSHITO Sept. 6, 1994. JP6245793A: METHOD FOR DETECTING HELICOBACTER PYLORI. Feb. 25, 1993.
40. Geraldine G. Miller; Richard M. Peek, Jr.; Stuart A. Thompson; Martin J. Blaser; Dec. 21, 1999. US6004354: IceA gene and related methods. April 15, 1998
41. Wing King; March 12, 1996. US Pat. 5498528: Detection of helicobacter pylori. June 10, 1994.
42. Логинов А.С., Ильченко А.А., Мукамолова Г.В. и др. Сравнительная эффективность различных методов обнаружения Helicobacter pylori (HP) у больных язвенной болезнью // Российский гастроэнтерологический журнал, 1998, № 3, с 3-11.
43. 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.
44. Корниенко Е.А., Милейко В.Е., Григорян Т.М. Комплекс методик для диагностики инвазии Helicobacter pylori. // Сборник докладов и тезисов докладов Все-российской конференции с международным участием «Новое в экологии и безопасности жизнедеятельности» под ред. проф. Н.И.Иванова, СПб, 1997, т. 3, с.432-438.
45. Walsh; Fraser M. Nov. 3, 1981 US Pat. 4298347: 13CO2 Breath test. Feb. 25, 1980.
46. Ito Masaharu, Matsunobu kunitoshi, Uno Masanori, Kanemaki Susumu, Kobashi Kyoichi. US Pat. 5719052 11.01.1996 // Simple examination method of infection with Helicobacter pylori and device therefor. 17.02.1998. - Japan Pat. 07289289 pub. 07.11.1995. Appl. 06089515, filing 27.04.1994.
47. Todd B. Sauke, Becker Joseph. F., de la Torre-Bueno J., 06.08.1996 US Pat. 5543621. Laser diode spectrometer for analyzing the ratio of isotopic species in a substance. Pr. 15.05.1995.
48. Toth J.J., Sharpe S.W., Thrall K.D., 31.07.1997 Pat.WO9726827A1 Optical non-radioactive breath analysis. Pr. 26.01.1996 US 19996008592103.
49. Корниенко Е.А., Милейко В.Е., RU 2100010 С 01. 27.12.1997. Способ неинвазивной диагностики хеликобактериоза in vivo. 20.02.1996.
50. Peter D. Klein; (Meretek Diagnostics) Jan. 13, 1998. US Pat. 5707602: Measurement of gastric emptying. March 25, 1996.
51. Peter D. Klein; (Meretek Diagnostics) July 28, 1998 US Pat. 5785949: Measurement of liquid phase gastric emptying. Sept. 5, 1996.
52. Nishi Isao, Ishii Hitoshi at al., Jap. Pat. 10087512, Method for real-time inspection of Helicobacter pylori infection through urea reagent labeled with 13C. Filing 18.09.1996.
53. Katzman D., Carlebacil E. Pat. WO09912471A2, Breath test analyzer. Sept. 10, 1998. Pr. 11.09.1997.
54. Корниенко Е.А., Милейко В.Е., Самокиш В.А. и др. Неинвазивные методы диагностики инфекции, вызванной Helicobacter pylori. // Педиатрия, 1999, №1, с.37-41.
55. Robert C. Boguslaski; Robert J. Carrico; US Pat.5314804: May 24, 1994 Test for Helicobacter pylori. March 24, 1992
56. В.Е. Ивашкин, Е.И., Никитина Е.В., Е.В. Степанов и др. Основы лазерного 13С-уреазного дыхательного теста и практика клинического применения. — с 131-160. // Helicobacter pylori: революция в гастроэнтерологии. Под редакцией акад. РАМН В.Т. Ивашкина, проф. Ф. Мерго, Т.Л. Лапиной.- М., «Триада-Х», 1999, 255 с.
57. Masahiro Kajiwara; Tsuyoshi Hirose; Nobuhiro Ikei; June 29, 1999 US Pat. 5916537: Diagnostic and diagnosis method for central nervous abnormality and phenylketonuria April 1, 1997.
58. Милейко В.Е., Михайленко В.С. «ИСПОЛЬЗОВАНИЕ МЕТОДОВ ГАЗОВОГО АНАЛИЗА ДЛЯ РАННЕЙ ДИАГНОСТИКИ ХЕЛИКОБАКТЕРИОЗА, ФЕНИЛ-КЕТОНУРИИ, САХАРНОГО ДИАБЕТА ПО КОНТРОЛЮ МЕТАБОЛИТОВ В ВЫДЫХАЕМОМ ВОЗДУХЕ» № 310 в сб. «Первый национальный конгресс по профилактической медицине. 17-21 мая 1994 года. г. Санкт-Петербург, Россия»- 1994, СПб, НИИ Профилактической медицины, т. 2, с 16.
59. Ю.В. Крыжановская, В.Е. Милейко, Г.К. Ивахнюк. Высококчувствительный газо-вый анализатор для медицинского контроля содержания ацетона в выдыхаемом воздухе / Науч.-технич. конф. Санкт-Петербург, 22-23 сентября 1997 г. Тез. докл. - СПб: МЦЭНТ, 1997. - Т.2. - С.105.
60. Randall W. YATSCOFF, Robert T. FOSTER, Launa J. ASPESLET, Richard LE-WANCZUK. Nov. 11, 1999 WO9956790A2: 13C GLUCOSE BREATH TEST FOR THE DIAGNOSIS OFDIABETIC INDICATIONS AND MONITORING GLYCEMIC CONTROL. May 6, 1999.
61. Michael Phillips; Dec. 7, 1999 US Pat.5996586: Breath test for detection of lung can-cer ,Oct. 16, 1997.
62. Daniel E Katzman Aug. 31, 1999 US Pat. 5944670:Breath test for the diagnosis of bacterial infection. Dec. 2, 1996.
63. Daniel E. KATZMAN, Mark M. FRIEDMAN, June 11, 1998 WO9824362A1: A BREATH TEST FOR THE DIAGNOSIS OF BACTERIAL INFECTION. Dec. 1, 1997.
64. Daniel E. Katzman; Oct. 5, 1999 US Pat. 5962335: Breath test for detection of drug metabolism. Jan. 3, 1997 (July 9, 1998 WO9829728A1: BREATH TEST FOR DETECTION OF DRUG METABOLISM Dec. 31, 1997)

65. Alan F. Hofmann; June 30, 1987 US4676974: Breath test for pancreatic exocrine function May 17, 1984.
66. Горбенко П.П., Усова А.А., Михайленко В.С. и др. 15.03.92 Авт. св. СССР № 1720002: Способ исследования состояния больных при нарушении жирового или углеводного обмена и устройство для контроля состава выдыхаемого воздуха. Приоритет от 18.01.89.
67. Ивашкин В.Т., Никитина Е.И., Селиванов Ю.Г. и др. 13С уреазный дыхательный тест на основе лазерной спектроскопии: клиническая апробация.- Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колонопроктологии.-1999.- т. 9, № 2, с 53-60.
68. Michael Philips December 15, 1998. US Pat. 5848975: Breath test for helicobacter pylori. September 29, 1997.
69. Корниенко Е.А., Милейко В.Е. Гелик-тест — неинвазивный метод диагностики геликобактериоза. — «Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии и ко-лопроктологии», 1998, №6, с.34-38.
70. AMAL AL-GARAWI, HAROLD KLEANTHOUS, RAYMOND P. OOMEN, CHARLES MILLER, JEAN-FRANCOIS TOMB, Apr. 1, 1998 CA Pat. 2286306: IDENTIFICATION OF POLYNUCLEOTIDES ENCODING NOVEL HE-LICOBACTER POLYPEPTIDES IN THE HELICOBACTER GENOME. Oct. 8, 1998.
71. А.В. Кононов Местный иммунный ответ на инфекцию Helicobacter pylori, с.29-44. // Helicobacter pylori: революция в гастроэнтерологии. Под редакцией акад. РАМН В.Т. Ивашкина, проф. Ф. Мерго, Т.Л. Лапиной.- М., «Триада-Х», 1999, 255 с.
72. L. Andersen, A. Norgaard, M. Benntdsen Клеточный иммунный ответ на инфекцию Helicobacter pylori. с. 46-61.// Helicobacter pylori: революция в гастроэнтерологии. Под редакцией акад. РАМН В.Т. Ивашкина, проф. Ф. Мерго, Т.Л. Лапиной.- М., «Триада-Х», 1999, 255 с.
73. P.Sipponen, R. Seppala Последовательность «гастрит — атрофический гастрит —кишечная метаплазия — рак желудка». Обратима ли она? с. 62-73.// Helicobacter pylori: революция в гастроэнтерологии. Под редакцией акад. РАМН В.Т. Ивашкина, проф. Ф. Мерго, Т.Л. Лапиной.- М., «Триада-Х», 1999, 255 с.
74. Andrew G. Plaut, Joanne V. Gilbert-Rothstein, Andrew Wright. July 14, 1998. US Pat.5780040: Helicobacter pylori nickel binding protein. June 8, 1994.
75. 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.
76. Конституционные особенности детей, инфицированных Helicobacter pylori // Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колонопроктологии.-1998.- т. 8.№ 5 (Приложение).-с.70.
77. Иванов А.В., Милейко В.Е. Новые подходы в неинвазивной диагностике Helicobacter pylori. — с. 63// в сб. под редакцией проф. Горбенко П.П. «Материалы на-учного форума V национальный конгресс по профилактической медицине и ва-леологии 16-20 июня 1999 г», Санкт-Петербург, 1999,-с 152.
78. Уреазный дыхательный тест с мочевиной меченой 13С. Испанский опыт.-с 122-130. // Helicobacter pylori: революция в гастроэнтерологии. Под редакцией акад. РАМН В.Т. Ивашкина, проф. Ф. Мерго, Т.Л. Лапиной.- М., «Триада-Х», 1999, 255 с.
79. Стандарты диагностики и лечения болезней органов пищеварения, МЗ РФ, 1998.
80. Dent J.C., Mc Nulty C.F.M., Uff J.S. et. al. Campylobacter pylori urease: a new sero-logical test.// Lancet- 1988, p.1002.
81. Жебрун А.Б., Корниенко Е.А., Гончарова Л.Б. и др. - Специфическая диагностика H. pylori-инфекции у детей и взрослых, больных гастродуоденальными заболеваниями.//Материалы международной конференции «Идеи Пастера в борьбе с инфекциями» СПб, 1998, с 132.
82. Корниенко Е.А. - Диагностика инфекции Helicobacter pylori у детей.- Методические рекомендации, СПб, НИИХ СПбГУ, 1999, 18 с.
83. Kirolos S. Riolos, Gueorgui M. Mihaylov, Kevin L. Lockerby, Roman A. Stobnicri, Nov. 21, 1995 US Pat.: Method for real-time colorimetric measurement of exposure to airborne pollutants. Jul. 26, 1993.
84. Холстов В.И., Кучинский Е.В., Маханьков Ю.Д. 10.05.99 Пат. РФ № 2130171 способ фотометрического определения количества анализируемого вещества с использованием видеоизмерительного комплекса. Приоритет от 14.05.95.
85. Корниенко Е.А., Милейко В.Е., М.А., Самокиш В.А. - Комплекс биохимических методов диагностики Helicobacter pylori. - «Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии и колопроктологии», 1998, №5(VIII), приложение №5, с.280-228.
86. Lyle H. Hamilton; August 14, 1990 US Pat. 4947861: Noninvasive diagnosis of gastritis and duodenitis. May 1, 1989. Simple express urea breath test offers diagnosis of Helicobacter pylori infection.- International Congress on Analytical Chemistry, Moscow, 1997, Abstracts, v.2, P 37 (with O.Vashkevich, E. Kornienko, V.Samokish).
87. В.С. Смирнов, Т.М. Григорян. Диагностика хеликобактериозов у детей.-с 82-89 // в сб. Областная детская клиническая больница: Клинико-диагностические и организационные проблемы, т. 2. под редакцией доцента В.И. Пурина.ППМИ. СПб. 216 с.
88. Г.П. Смирнова, В.Л. Пайков К вопросу о диагностической значимости отечественного метода определения хеликобактер пилори — инфицированности «Аэро-теста» в детском возрасте.// В сборнике: «Диагностика и лечение», Архангельск, 1996, II(12),с 73-74.
89. В.Л. Пайков, О.И. Беляева Возможности Аэротеста, отечественного метода диагностики хеликобактер пилори инфекции в детской практике Санкт-Петербурга.-с 39-43.// в сб. под редакцией проф. В.Л. Пайкова Практические вопросы детской гастроэнтерологии Санкт-Петербурга, выпю 2, «Дизайн», СПб, 1999. 159 с.
90. Корниенко Е.А., Милейко В.Е. Новый метод неинвазивной диагностики хелико-бактериоза.- В сборнике: «Диагностика и лечение», Архангельск, 1996, II(12), с 31-33.
91. 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.
92. А.В. Иванов Аммиак в воздухе полости рта, как свидетель инфицирования Helicobacter pylori (HP).- с 43-47. // в сб. под редакцией проф. В.Л. Пайкова Практические вопросы детской гастроэнтерологии Санкт-Петербурга, выпю 2, «Дизайн», СПб, 1999. 159 с.
93. 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.
94. 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.
95. Claude E. Lutzen; November 28, 1995 US Pat. 5470566 Solid oral anticaiogenic composition. March 9, 1995.
96. Корниенко Е.А., Фаина С.А., Нажиганов О.Н. и др. Сравнительная оценка различных схем антихеликобактерной терапии у детей.- «Фарминдекс», 1997, №20 (36), с.А29-А30.