

ДЫХАТЕЛЬНЫЕ ТЕСТЫ ДЛЯ ДИАГНОСТИКИ ХЕЛИКОБАКТЕРИОЗА

О. Тагирова, Т. Поликарпова, кандидат медицинских наук,
П. Огурцов, доктор медицинских наук, профессор
РУДН, Москва
E-mail: tagirova1@bk.ru

Представлены возможности применения уреазных дыхательных тестов для диагностики и контроля терапии хеликобактериоза. Метод основан на определении продуктов расщепления мочевины (углекислый газ или аммиак) уреазой бактерии *Helicobacter pylori* в выдыхаемом воздухе.

Ключевые слова: изотопный уреазный дыхательный тест (УДТ), ^{13}C -УДТ, ^{14}C -УДТ, аммиачный УДТ, NH_3 -УДТ, диагностика *Helicobacter pylori*.

Одна из наиболее распространенных на земном шаре инфекций — *Helicobacter pylori* (*H. pylori*). Инфицированность этим микроорганизмом достигает 60%, в России, по данным Российской группы по изучению *H. pylori*, — 80–90%.

Описание инфекции *H. pylori* и выяснение ее роли в развитии заболеваний желудка и двенадцатиперстной кишки стали настолько выдающимся достижением гастроэнтерологии XX века, что в 2005 г. австралийские ученые В. Marshal и Р. Warren были удостоены Нобелевской премии. *H. pylori* — главная причина хронического гастрита, язвенной болезни желудка и двенадцатиперстной кишки, мальтомы желудка — является важнейшим фактором риска развития рака желудка. Известно, что *H. pylori*, поражая желудочно-кишечный тракт (ЖКТ), способна вызывать и ряд патологических изменений других органов и систем, причем поражения эти носят как органный, так и системный характер. Перечень этих изменений довольно обширен (поражения сердечно-сосудистой системы, головного мозга, заболевания легких, заболевания крови, аутоиммунная патология, заболевания печени, кожных покровов и некоторые другие) [6, 7, 9]. В генезе некоторых из этих видов патологии роль *H. pylori* можно считать доказанной (в соответствии с рекомендациями Маастрихт-4 (2011), это относится к идиопатической тромбоцитопенической пурпуре, идиопатической железодефицитной анемии); в генезе других заболеваний роль инфекции предполагается, но имеющиеся научные данные противоречивы, поэтому требуют уточнения.

Приоритетным является вопрос о достоверности способов выявления *H. pylori*. С момента открытия *H. pylori* прошло более 20 лет. За этот период разработано большое число методов диагностики, позволяющих выявить и идентифицировать этот микроорганизм. Однако ни один из методов не универсален, ни один не обладает 100% чувствительностью и специфичностью (под чувствительностью понимают вероятность истинно положительного результата при достоверной инфицированности *H. pylori*; чем чувствительность выше, тем меньше процент ложноположительных результатов; специфичность — вероятность истинно отрицательного результата при отсутствии инфекции; чем специфичность выше, тем меньше процент ложноотрицательных результатов).

Принципиальное значение для практики имеет разделение диагностики *H. pylori* на диагностику до лечения (первичная диаг-

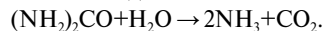
ностика — для обоснования назначения лечения) и на диагностику после эрадикационной терапии (контроль успешности антибактериальной схемы). Согласно рекомендациям 4-й конференции Европейской группы по изучению *H. pylori* (2011), инфекцию необходимо диагностировать по результатам уреазного дыхательного теста (УДТ) с использованием мочевины, меченной ^{13}C , а при его недоступности — путем определения антигена *H. pylori* в фекалиях (stool-test; Маастрихт-4). Контроль эрадикации следует проводить не ранее 4–6 нед после окончания лечения, так как прием антибиотиков, висмутсодержащих препаратов и ингибиторов протонной помпы может приводить к ложноотрицательным результатам. Все существующие методы диагностики *H. pylori* делятся на инвазивные (предусматривают эндоскопическое исследование с последующим взятием биопсийного материала) и неинвазивные (при них эндоскопию и биопсию не производят):

- инвазивные:
 - бактериологический метод;
 - гистологическое исследование;
 - исследование слизистой оболочки желудка с применением полимеразной цепной реакции (ПЦР);
 - цитологический метод;
 - уреазный тест (ХЕЛПИЛ-тест);
- неинвазивные:
 - УДТ: ^{13}C , ^{14}C ; NH_3 ;
 - ПЦР кала, слюны, зубного налета;
 - определение специфических IgG, IgA к *H. pylori* в кале, сыворотке крови, слюне, моче;
 - определение ^{15}N в моче.

Выделяют также прямые методы, непосредственно детектирующие бактерии (бактериология, гистология, ПЦР, цитология), и косвенные, регистрирующие последствия персистенции *H. pylori* в организме человека (УДТ, серология, дыхательные тесты, определение ^{15}N в моче).

Заболеваемость *H. pylori* не снижается, что связано и с поздней диагностикой, и с неэффективностью лечения, и с возможностью заражения *H. pylori* в семье. Таким образом, ранняя диагностика с последующим контролем эрадикации — актуальная мера борьбы с *H. pylori*. Поэтому особое внимание уделяется неинвазивным методам диагностики *H. pylori*, незаменимым при эпидемиологических исследованиях, массовых профилактических осмотрах, обследовании детей и контроле эрадикации.

Неинвазивная дыхательная диагностика основана на высокой уреазной активности *H. pylori*. Под действием уреазы принятый пациентом раствор мочевины/карбамида расщепляется в желудке до аммиака и углекислого газа, при этом облако аммония окружает бактерию, повышая pH до 5, что улучшает условия ее жизнедеятельности:



Углекислый газ и аммиак попадают в кровь и выводятся из организма через легкие. По концентрации углекислого газа или аммиака в выдыхаемом воздухе можно косвенно (так как определяется не наличие самой бактерии *H. pylori*, а продуктов ее жизнедеятельности) судить об инфицированности пациента.

Если *H. pylori* в желудке нет, отсутствует и фермент уреазы, необходимый для гидролиза мочевины. Поэтому принятая мочевина не разлагается, а всасывается в тонкой кишке и выводится с мочой в практически неизменном виде через 2,5 ч.

ИЗОТОПНЫЙ УРЕАЗНЫЙ ДЫХАТЕЛЬНЫЙ ТЕСТ

Начало диагностики хеликобактериоза с помощью УДТ было положено в 1987 г., когда в английском журнале *Lancet* появилась статья D. Graham по ^{13}C -УДТ [11], а затем G. Bell

по ^{14}C -УДТ [8]. Поскольку предложенный метод не прямой, потребовалось много усилий для уточнения условий, в которых его надежность будет несомненной, и для определения его места среди других методов диагностики. Только спустя 10 лет, в 1997 г., появились первые тест-наборы для ^{13}C -УДТ. Проведение УДТ показано при эпидемиологических исследованиях, скрининге перед эндоскопией и наблюдении за больным после лечения.

Для проведения изотопного УДТ необходима мочеви́на, меченная нерадиоактивным (стабильным) изотопом углерода ^{13}C или радиоактивным (нестабильным) ^{14}C . Чаще в клинической практике используют нерадиоактивный стабильный углерод ^{13}C . Преимущества стабильных изотопов перед радиоактивными вполне очевидны — это их полная безопасность [12] и возможность применения у беременных и детей. Кроме того, время жизни радиоактивных изотопов мало по сравнению с длительностью некоторых биологических процессов, протекающих в организме (период полураспада азота — 10 мин, кислорода — 124 с), поэтому использовать их очень сложно. С помощью стабильных изотопов углерода, азота [12] и др. можно изучать длительные процессы, дифференцировать механизмы различных превращений веществ в организме, динамику метаболических процессов, распад и синтез соединений, участвующих в непрерывном химическом взаимодействии. Изотоп ^{13}C количественно определяют газовым масс-спектрометром или с помощью инфракрасного и лазерного спектрометра. Современные масс-спектрометры позволяют измерять изотопное соотношение $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ с точностью 10⁻⁸%. На практике результаты измерения изотопного состава представляют с помощью величины δ , которая измеряется в промилле [3].

^{14}C используется реже, так как является источником излучения β -частиц. Радиационное воздействие недопустимо при диагностических процедурах у беременных и детей и при многократном повторении теста, хотя на сайте фирмы Noster System AB отмечено, что доза, получаемая при проведении теста, меньше дозы, которую пациент получает при рентгенологическом обследовании желудка. Изотоп ^{14}C определяют на сцинтилляционном счетчике. ^{14}C -УДТ так же надежен, как и ^{13}C -УДТ, но дешевле. Однако организовать хранение и транспортировку радиоактивных препаратов сложно, особенно если они скапливаются в большом количестве. Поэтому прибегать к ^{14}C -УДТ рекомендуют в тех случаях, когда годовая нагрузка не превышает 2500 анализов и анализы могут быть выполнены на месте.

Контроль дыхательных тестов осуществляют в клиниках, в фирме-производителе тест-наборов или в специализированных лабораториях. При этом используют 2 подхода: централизацию аналитических измерений с использованием курьерской службы или выполнение анализов в кабинете врача.

Суть тестирования можно описать следующим образом:

$^{13}\text{CO}(\text{NH}_2)$ +уреаза бактерии $\rightarrow \text{NH}_3 + ^{13}\text{CO}_2 \rightarrow ^{13}\text{CO}_2$ — выдох \rightarrow изотопный анализ $\delta ^{13}\text{CO}_2$.

В начале исследования на голодный желудок берут 1-ю фоновую пробу выдыхаемого воздуха в пробирку. Далее пациент выпивает меченую мочеви́ну (^{13}C) 75–100 мг, растворенную в 200 мл воды, и через 30 мин берут 2-ю пробу выдыхаемого воздуха в пробирку. Затем пробирки направляют на масс-спектрометрию. Результат считается положительным, если изотопное отношение $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ (δ) базового значения к контрольному $>5\%$ [3, 12]. Чувствительность метода колеблется от 95 до 97,5%, а специфичность — от 93,2 до 100% [12, 14]. Ложноотрицательный результат может иметь место при применении антибиотиков, висмутосодержащих препаратов, ингибиторов протонной помпы,

поэтому рекомендуется осуществлять контроль эрадикации не ранее чем через 1 мес после окончания приема этих препаратов. Ложноположительные результаты считаются редкими (4–10%) [2] и могут быть связаны с наличием в желудке других уреазопродукторов (протей, стрептококки, псевдомонады, грибы *Candida*). В развитых странах данный тест считается основным для выявления *H. pylori*, однако повсеместное использование этой методики сдерживается стоимостью оборудования (масс-спектрометр) и изотопа.

Предложены варианты масс-спектрометров на основе лазерного и инфракрасного излучения, стоимость которых существенно ниже. Поэтому постоянно ведется поиск новых подходов к диагностике *H. pylori*, в частности разработан аммиачный УДТ.

АММИАЧНЫЙ УРЕАЗНЫЙ ДЫХАТЕЛЬНЫЙ ТЕСТ

Представляет интерес дыхательный тест без использования изотопобогащенной мочеви́ны, т. е. тест с использованием мочеви́ны нормального изотопного состава (^{12}C).

Существуют различные газоаналитические технологии, основанные на определении аммиака в выдыхаемом альвеолярном воздухе (1990), в воздухе, поступающем из желудка (1996), или на оценке суммарной концентрации NH_3 .

В России в 1995 г. учеными из Санкт-Петербурга предложен первый отечественный «Аэротест», использующий для оценки суммарной концентрации NH_3 ион-дрейфовый спектрометр с одноразовыми абсорбирующими трубками.

Сравнение результатов «Аэротеста» с гистологическими и серологическими методами показало его недостаточные чувствительность и специфичность [4].

В 1997 г. ООО «Ассоциация медицины и аналитики» разработала «ХЕЛИК-тест», основанный на кинетической оценке концентрации аммиака в выдыхаемом воздухе после приема порции мочеви́ны обычного изотопного состава. ООО «Ассоциация медицины и аналитики» выпускает 2 типа приборов: с индикаторной трубкой, заполненной хемосорбентом (ХЕЛИК-тест), и ХЕЛИК-аппарат с электрохимическим детектором. В 1-м случае через индикаторную трубку с помощью электромеханического отсоса прокачивают 2 л воздуха из ротовой полости пациента в течение 10 мин и оценивают концентрацию аммиака по длине окрашенного столбика в трубке: 1 мм соответствует концентрации 0,3 мг/м³. Измерение проводят дважды — до и после приема мочеви́ны (500 мг в 30 мл дистиллированной воды). Результат считается положительным при возрастании концентрации аммиака в повторной пробе более чем на 0,6 мм/м³. Недостаток метода — выход трубок из строя при попадании в них слюны/влаги выдыхаемого воздуха. При долгом хранении абсорбент становится нефункциональным.

При использовании ХЕЛИК-аппарата содержание аммиака определяют с помощью высокочувствительного датчика. Длительность тестирования составляет 9 мин и делится на 2 периода: базальный и нагрузочный. Определение содержания аммиака в базальный период осуществляется до начала гидролиза карбамида (пока аммиак не поступил в воздух ротовой полости), а в нагрузочный период — во время активного гидролиза карбамида. Таким образом, на базальный период, отражающий исходный уровень аммиака в ротовой полости пациента, приходится первые 2–3 мин тестирования. Следующие 7–8 мин составляют нагрузочный период и отражают концентрацию аммиака после начала гидролиза карбамида. Результат выводится на дисплей аппарата или компьютера в виде чисел. Это позволяет врачу учитывать не только разность между базальным и нагрузочным уровнями, но и особенности процесса

изменения концентрации аммиака. Кроме того, отпадает необходимость в отдельной регистрации базального уровня, поскольку в первые 2–3 мин после приема раствора мочевины она еще не успевает расщепиться. Чувствительность метода – 95%, специфичность – 92% [5].

Аналогичный прибор разработан и изготовлен еще одной российской фирмой – ООО «Научно-техническое предприятие «ТКА» – HelicaSense. На приборе HelicaSense измеряют концентрацию аммиака в выдыхаемом воздухе после приема пациентом мочевины нормального изотопного состава. В качестве измерительного датчика используется электрохимическая ячейка диффузного типа, выходной электрический сигнал которой пропорционален концентрации аммиака. Химическую реакцию отражает следующая формула [4]: $2\text{NH}_3 + 6\text{OH}^- \rightarrow \text{N}_2 + 6\text{H}_2\text{O} + 6\text{e}^-$.

Аналитический блок прибора представлен цифровым процессором, выполняющим основные функции управления. Высокая избирательность датчика позволяет исключить влияние других газов на результат анализа. Преобразованный в цифровую форму сигнал от датчика проходит математическую обработку, результатом которой является заключение об инфицированности пациента *H. pylori* – показатель инфицированности (ПИ). ПИ показывает отношение концентрации аммиака в выдыхаемом пациентом воздухе после взаимодействия *H. pylori* и мочевины к базальной концентрации аммиака.

Методика измерения аналогична таковой на ХЕЛИК-аппарате. Пациент на голодный желудок выпивает раствор мочевины обычного изотопного состава (500 мг на 30 мл воды), после чего дышит в трубочку, соединенную с прибором HelicoSense, 10 мин. Результат считается положительным при ПИ >1,1. Чувствительность метода – 93%, специфичность – 87% [1].

Все аммиачные дыхательные тесты имеют ряд экономических преимуществ. Стоимость аппаратов для аммиачного теста значительно ниже, чем масс-спектрометра и инфракрасного спектрометра. Кроме того, дешевле обходится тестовое вещество и обслуживание приборов. Время обследования сокращается с 30 до 10 мин (по сравнению с изотопным тестом), и результат исследователь получает сразу после окончания исследования, что очень удобно как для врача, так и для пациента.

Указанные приборы доступны покупателям на рынках России и стран СНГ, но почти совсем неизвестны в тех странах, где популярны изотопочувствительные приборы. В последнее время в Великобритании и Японии предпринимаются усилия по разработке и внедрению приборов для NH₃-ДТ [10]. По-видимому, это связано с большими материальными возможностями экономически развитых стран, что позволило им наладить производство и применение дорогостоящих приборов для ¹³C-УДТ. Рынок этой техники уже сформировался в отличие от рынков России и СНГ.

Несмотря на ряд диагностических и экономических преимуществ, аммиачный УДТ не может полностью исключить изотопный УДТ, поскольку изотопный УДТ значительно расширяет возможности диагностики заболеваний ЖКТ (заболевания поджелудочной железы, печени, тонкой и толстой кишки). Диагностические методики (триглицеридная, метацилиновая, крахмальная, лактозная, октановая) различаются по отбору проб и выбору тестовых веществ. В настоящее время существует более 20 видов изотопов. В качестве метки природные стабильные изотопы имеют разные элементы – водород, углерод, азот, кислород. Применяемые в диагностических целях дозы изотопов безопасны для здоровья. Диагностическое оборудование для всех этих тестов не меняется, что является сильным аргументом в пользу выбора спектрометра. Стандартизированные тесты могут получить широкое приме-

нение в медицинской практике, если они будут включены в перечень услуг, компенсируемых медицинской страховкой.

Таким образом, на сегодня не существует универсального метода для диагностики и контроля лечения *H. pylori*, в связи с чем постоянно ведется поиск новых подходов. Выбор метода диагностики определяется не только наличием необходимой аппаратуры и обученных кадров, но и материальными возможностями больного, особенностями организации лечебного дела, эпидемиологической обстановкой, историей болезни и предысторией процесса лечения. Несмотря на то что в экономически развитых странах ¹³C-УДТ признан эффективным неинвазивным тестом для диагностики и контроля лечения хеликобактериоза, по ряду параметров он уступает другим методам диагностики этого заболевания. В России с учетом экономических возможностей наиболее приемлемым из всех существующих дыхательных тестов диагностики хеликобактериоза признан аммиачный УДТ.

Литература

1. Акопян И. Г. и др. Методы диагностики хеликобактериоза: учеб. пособие. – СПб.: Диалект, 2008. – 88 с.
2. Бугаева О. И., Гречушников В. Б., Дудаева Н. Г. и др. Helicobacter pylori: современная диагностика и терапия. – Саратов: Изд-во Саратовского медицинского университета, 2008. – С. 41.
3. Веливецкая Т. А., Игнатъев А. В. ¹³C-уреазный дыхательный тест на базе прецизионной масс-спектрометрии // Электронный журнал «Исследовано в России». – 2003; 126: 18.
4. Корниенко Е. А. и соавт. Аммиачный дыхательный тест в диагностике инфекции *H. pylori* // Клин. лаб. диагностика. – 2000; 1: 41–43.
5. Корниенко Е. А., Эмануэль В. Л., Дмитриенко М. А. Хелик-тест и Хелик-тест для диагностики хеликобактериоза: пособие для врачей. – 2005. – С. 7.
6. Фадеенко Г. Д. Внежелудочные эффекты инфекции Helicobacter pylori // Здоров'я України. – 2006; 21: 1–5.
7. Циммерман Я. С. Helicobacter pylori-инфекция: внежелудочные эффекты и заболевания (критический анализ) // Клин. мед. – 2006; 4: 63–67.
8. Bell G., Well W., Harrison C. et al. ¹⁴C-urea breath analysis, a non-invasive test for Campylobacter pylori in the stomach // Lancet. – 1987; 6: 1367–1368.
9. Figura N., Franceschi F., Santucci A. et al. Extragastric manifestation of Helicobacter pylori infection // Helicobacter. – 2010; 15: 60–68.
10. Gatta L., Ricci C., Tampieri A. et al. Non-invasive techniques for the diagnosis of Helicobacter pylori infection // Clinical Microbiology and Infection. – 2003; 9 (6): 489–496.
11. Graham D., Klein P., Alpert L. et al. Campylobacter pylori detected noninvasively by the ¹³C-urea breath test // Lancet. – 1987; 5: 1174–1177.
12. Jones P., Leatherdale S. Stable isotope in clinical research: Safety reaffirmed (editorial) // Clin. Sci. – 1991; 80 (4): 277–280.
13. Rautelin H., Lehours P., Megraud F. Diagnosis of Helicobacter pylori infection // Helicobacter. – 2003; 8 (1): 13–20.
14. Dzierzanowska-Fangrat K., Lehours P. Diagnosis of Helicobacter pylori infection // Helicobacter. – 2006; 11 (1): 6–10.

BREATH TESTS FOR THE DIAGNOSIS OF HELICOBACTER PYLORI INFECTION

O. Tagirova; T. Polikarpova, Candidate of Medical Sciences; Professor P. Ogurtsov, MD

Peoples' Friendship University of Russia, Moscow

The paper shows the possibilities of using urea breath tests to diagnose Helicobacter pylori infection and to monitor its therapy. The test is based on the determination of urea cleavage products (carbon dioxide or ammonia) by urease of the bacterium Helicobacter pylori in expired air.

Key words: isotopic urea breath test (UBT); ¹³C-UBT; ¹⁴C-UBT; ammonia UBT; NH₃-UBT; diagnosis of Helicobacter pylori infection.