ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ ДИАГНОСТИКИ ХЕЛИКОБАКТЕРИОЗА С ПОМОЩЬЮ ГАЗОАНАЛИЗАТОРА АММИАКА НА ОСНОВЕ МДП-СЕНСОРА В СРАВНЕНИИ С МЕТОДАМИ ИНВАЗИВНОЙ ДИАГНОСТИКИ

Лазебник Л. Б.[1], Михайлов А. А.[2], Николаев И. Н.[2], Ноздря Д. А.[2], Чурикова А. А.[1]

[1] Центральный научно-исследовательский институт гастроэнтерологии, Москва

[2] Московский инженерно-физический институт (Государственный университет)

РЕЗЮМЕ

Проведены успешные клинические испытания макета прибора на основе МДП-сенсора для диагностики инфекции *Helicobacter pylori* методом дыхательного теста. Анализ результатов показал, что такой прибор может быть рекомендован для внедрения в медицинскую практику и способен составить конкуренцию медицинским диагностическим аппаратам, существующим в настоящее время.
Ключевые слова: дыхательный тест, *Helicobacter pylori*, неинвазивная диагностика, МДП-сенсор

SUMMARY

Successful clinical trials of MIS-sensor based device prototype for *Helicobacter pylori* infection diagnostics by means of breath test has been carried out. Results analysis has revealed that such a device can be recommended to be adopted to a medical practice and can be competitive to up-to-date medical diagnostic equipment.
Key words: breath test, *Helicobacter pylori*, noninvasive diagnostic, MIS-sensor

На сегодняшний день установлено, что около 60% населения земного шара инфицировано бактерией *Helicobacter pylori* (*Hp*) [1]. Существуют однозначные подтверждения связи *Hp*-инфекции с заболеваниями желудочно-кишечного тракта, такими как язвенная болезнь желудка и 12-перстной кишки, хронический гастрит, рак желудка. Это свидетельствует о важности и необходимости разработки новых высокочувствительных и легкодоступных методов обнаружения *Hp* в организме человека.

Существующие в настоящее время методы диагностики *Hp*-инфекции можно разделить на инвазивные, требующие эндоскопии и биопсии слизистой оболочки желудка, и неинвазивные, не требующие эндоскопического исследования. К неинвазивным методам относится, в частности, дыхательный тест, с помощью которого можно проводить не только первичное обследование пациента, но и вести наблюдение за эффективностью проводимой терапии. Этот вид диагностики основан на определении продукта гидролиза мочевины, меченной стабильным изотопом ^{13}C, и на оценке прироста концентрации меченого диоксида углерода в выдыхаемом воздухе после приема пациентом мочевины (CH_4N_2O). Для тестов с использованием мочевины, в составе которой находится изотоп углерода ^{13}C, применяют масс- и инфракрасные спектрометры, а для определения концентрации аммиака необходимы весьма сложные лазерные газоанализаторы. Такие приборы не только обладают высокой стоимостью, но и сложны в обслуживании и эксплуатации. По этим причинам подобные приборы не получили широкого распространения в медицинских учреждениях нашей страны.

В связи с этим непрерывно ведутся работы в области поиска более простых, альтернативных методов регистрации малых концентраций газов. Одним из них является использование сенсорных газоанализаторов.

Метод диагностики, основанный на оценке прироста концентрации аммиака в воздухе ротовой полости пациента с помощью сенсорного газоанализатора аммиака, был впервые применен в разработке ОАО «АМА» из Санкт-Петербурга [2]. В качестве чувствительного элемента газоанализатора использовался электрохимический сенсор. Однако следует отметить, что сенсоры такого типа обладают весьма малым ресурсом работы. Кроме того, чувствительность таких сенсоров к измеряе-

мому газу с течением времени изменяется, поэтому возникает необходимость довольно часто проводить калибровку газоанализатора, а затем и заменять сенсор. Эти обстоятельства создают неудобства для обслуживающего медицинского персонала.

Недавно в Московском инженерно-физическом институте были разработаны так называемые МДП (металл — диэлектрик — полупроводник) — сенсоры, способные измерять очень малые концентрации аммиака. Срок их службы достигает нескольких лет [3, 4]. Такие характеристики дают возможность использовать эти сенсоры в качестве чувствительных элементов в диагностических приборах для проведения дыхательных тестов на водород, аммиак и сероводород [3]. С целью создания прибора для неинвазивной диагностики *Hp*-инфекции в желудке на основе МДП-сенсора был разработан лабораторный макет газоанализатора. Для того чтобы оценить принципиальную возможность его использования в реальной клинической практике, необходимо было провести апробацию путем сопоставления получаемых результатов с традиционными методами инвазивной диагностики. В Центральном научно-исследовательском институте гастроэнтерологии были проведены клинические испытания макета газоанализатора на основе МДП-сенсора для диагностики инфекции *Helicobacter pylori* методом дыхательного теста. Для оценки эффективности прибора проведено сравнение результатов инвазивных методов диагностики и дыхательного теста. Анализ результатов показал, что в 95% случаев результаты совпадают. Это открывает возможность применения газоанализаторов такого типа для диагностики инфекции *Helicobacter pylori*.

УСТРОЙСТВО ПРИБОРА

Прибор для диагностики *Hp*-инфекции состоит из двух основных блоков: газоанализатора на основе МДП-сенсора и системы отбора газовой пробы. Внешний вид прибора показан на *рис. 1*.

Принцип действия МДП-сенсора (чувствительного элемента) заключается в изменении его электроемкости *C* под действием измеряемого газа на величину ΔC. Эта величина однозначно связана с концентрацией газа в окружающей атмосфере. Измеряя величину ΔC, можно определить концентрацию газа, в частности аммиака.

Электронная часть прибора выполняет следующие функции: преобразует величину ΔC в аналоговый сигнал, оцифровывает его, передает на дисплей и одновременно на экран монитора компьютера. Режимом работы прибора управляет микропроцессор, программа которого позволяет также обрабатывать полученные данные для выработки заключения о результатах анализа.

Измерение концентрации аммиака в ходе анализа проводится на фоне сопутствующих газов, содержащихся в выдыхаемом воздухе пациента, таких как водород, кислород, углекислый газ и др., концентрации которых могут неконтролируемым образом изменяться во времени. Поэтому такой газоанализатор должен обладать селективностью по отношению к аммиаку. Селективность достигается применением специального режима отбора газовой пробы [5], принцип работы которого заключается в попеременном пропускании газовой пробы через два канала. Один канал содержит фильтр, практически полностью поглощающий аммиак, но пропускающий другие газы, а другой не содержит фильтра, то есть пропускает газовую пробу без изменения ее состава. Таким образом, измеряя разность показаний прибора по каналам, можно определить концентрацию аммиака в газовой пробе.

В проведенных ранее лабораторных исследованиях [3] было установлено, что при помощи такого прибора можно измерять концентрации аммиака на уровне 0,2–3,0 ppm на фоне выдыхаемого человеком воздуха, чего вполне достаточно для проведения дыхательного теста.

Вторым блоком диагностического прибора является система отбора газовой пробы у пациента (*рис. 2*), она была специально разработана для про-

Рис. 1. *Внешний вид прибора для диагностики инфекции Helicobacter pylori*

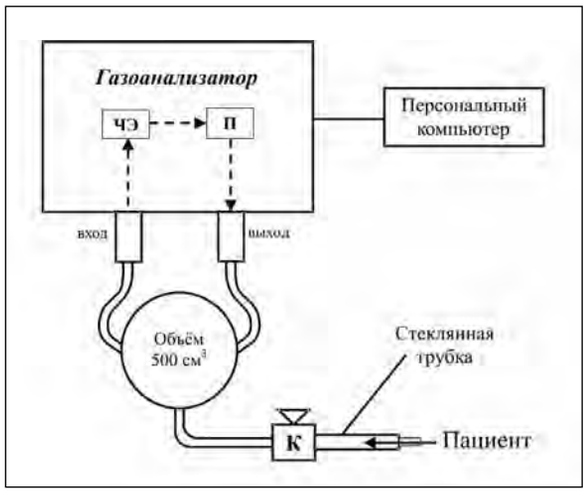

Рис. 2. *Схема присоединения системы отбора газовой пробы к газоанализатору, (К – клапан, ЧЭ – чувствительный элемент газоанализатора (сенсор), П – побудитель потока газа.*

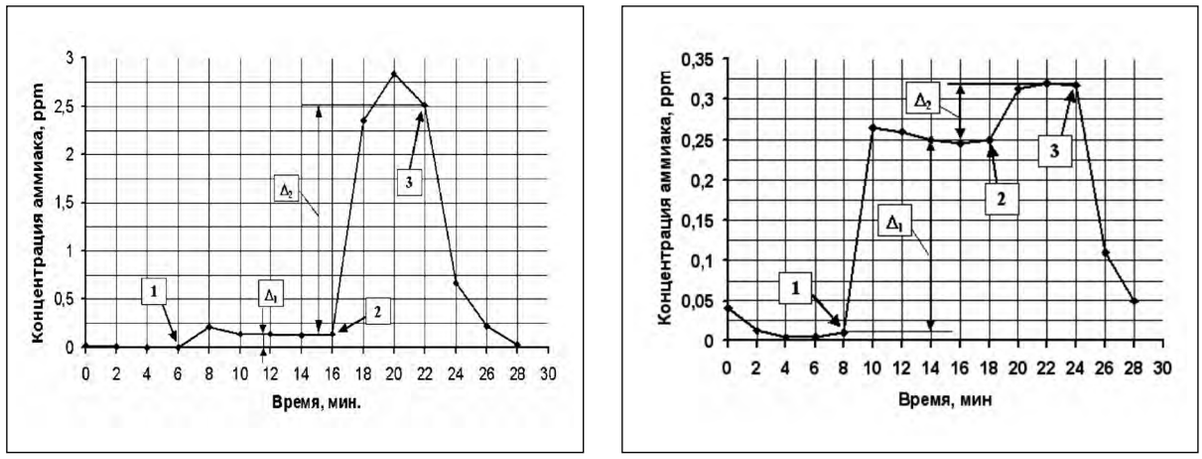

Рис. 3. *Зависимость концентрации аммиака от времени в выдыхаемом воздухе пациента при проведении дыхательного теста.*
а) пациент, инфицированный бактерией HP ($\Delta_2 > 0,5$ ppm);
б) пациент, не инфицированный бактерией HP ($\Delta_2 < 0,5$ ppm).
1 — момент времени, когда у пациента производится отбор газовой пробы, отображающей базальный уровень дыхания. После этого он принимает раствор мочевины. Δ_1 — величина базального уровня дыхания.
2 — момент времени, когда у пациента производится вторичный отбор пробы. Δ_2 — разность величин нагрузочного и базального уровней дыхания.
3 — момент времени, когда газовая проба удаляется с входа прибора и из отборной ёмкости.

ведения дыхательного теста по аммиаку. Система состоит из емкости, изготовленной из материала, который слабо сорбирует аммиак. В эту емкость через стеклянную трубку отбирается газовая проба выдыхаемого пациентом воздуха. Стеклянная трубка предназначена для частичного задержания конденсата из газовой пробы, поскольку конденсат сильно увеличивает сорбцию аммиака на внутренней поверхности емкости и влияет на результаты анализа. Клапан К предназначен для предотвращения утечки газовой пробы из емкости во время проведения анализа. Вход и выход газоанализатора соединены гибкими шлангами с пробоотборной емкостью. При использовании такой схемы сенсор постоянно находится в атмосфере газовой пробы, отобранной у пациента. При этом отбор пробы производится **только дважды:** до и после приема мочевины. Такая система отбора пробы весьма комфортна и удобна для обследуемого.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Основной целью испытаний являлось сопоставление данных, полученных с помощью прибора, с данными, полученными с помощью традиционных методов инвазивной диагностики.

Для исследований отбирались больные с хроническим гастритом, язвенной болезнью желудка и 12-перстной кишки и неосложненной ГЭРБ вне зависимости от наличия или отсутствия инфекции *Hp*, выявленной ранее. Главным критерием исключения больных из исследования являлись любые заболевания, сопровождающиеся нарушением азотистого обмена.

В ходе исследований были использованы три метода диагностики инфекции *Hp*:

1. быстрый уреазный тест по биоптату слизистой оболочки антрального отдела желудка;
2. цитологическое исследование препарата, приготовленного из биоптата антрального отдела желудка;
3. дыхательный тест с помощью разработанного нами прибора.

Методика проведения дыхательного теста с использованием газоанализатора состояла в следующем. Вначале у пациента натощак производился отбор газовой пробы, она соответствовала «базальному» (начальному) уровню. После этого пациент принимал внутрь 500 мг мочевины естественного изотопного состава, растворенной в 20–30 мл дистиллированной воды, и ополаскивал рот водой. Поскольку известно, что концентрация аммиака в выдыхаемом воздухе достигает максимума через 8–10 минут после приема мочевины, отбор второй газовой пробы производился спустя 10 минут. Газовый состав этой пробы соответствует «нагрузочному» уровню. Из сравнения базального и нагрузочного уровней делался вывод об инфицированности пациента. Величины базального и нагрузочного уровней определялись на 6-й и 16-й минуте соответственно с момента начала проведения анализа (см. *рис. 3*). Таким образом, на проведение анализа пациент затрачивает всего 10 минут, а результат анализа становится известен уже через 16 минут с начала диагностической процедуры. Время подготовки прибора для обследования следующего пациента составляет 12 минут. Оно включает в себя время релаксации сенсора и время подготовки следующей пробоотборной емкости.

Таблица 1

РЕЗУЛЬТАТЫ ПО ТРЕМ МЕТОДАМ ДИАГНОСТИКИ *HP*-ИНФЕКЦИИ

Тип заболевания	№	Быстрый уреазный тест	Цитологическое исследование	Дыхательный тест
Хронический гастрит	1	+	-	+
	2	+	+	+
	3	+	+	+
	4	+	-	-
	5	+	+	+
Хронический гастродуоденит	6	-	+	+
	7	-	-	-
	8	+	+	+
	9	+	-	-
Язвенная болезнь двенадцатиперстной кишки	10	-	+	+
	11	+	-	-
	12	-	-	-
	13	+	-	-
	14	-	-	-
	15	+	+	+
	16	-	-	-
ГЭРБ	17	+	+	+
	18	-	-	-
	19	-	-	-
Пищевод Баррета	20	+	-	-

Обозначения: «+» - пациент инфицирован бактерией Hp; «-» - пациент не инфицирован бактерией Hp

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Было обследовано 20 больных с различными заболеваниями желудочно-кишечного тракта (ЖКТ), среди которых было 9 женщин в возрасте от 22 до 69 лет и 11 мужчин в возрасте от 26 до 81 года. Все пациенты наблюдались у гастроэнтеролога по поводу заболеваний ЖКТ. Из 20 больных у 5 был поставлен диагноз — хронический гастрит, у 4 — хронический гастродуоденит, у 7 — язвенная болезнь двенадцатиперстной кишки, у 3 — гастроэзофагеальная рефлюксная болезнь (ГЭРБ) и у 1 пациента — пищевод Барретта.

По данным газоанализатора, пациент считался инфицированным при повышении уровня аммиака в выдыхаемом воздухе после приема мочевины более чем на 0,5 ppm и неинфицированным — если повышение уровня аммиака составляло менее 0,5 ppm. На *рис. 3 а* представлена зависимость концентрации аммиака от времени у инфицированного пациента. На *рис. 3 б* показана аналогичная зависимость для неинфицированного пациента. Подписи к *рис. 3* поясняют ход проведения анализов.

Для оценки эффективности диагностики сравнивались результаты дыхательного теста, цитологического исследования и быстрого уреазного теста. В ходе исследования все пациенты были разделены на группы в соответствии с поставленными диагнозами. Результаты проведенных исследований по трем тестам представлены в *табл. 1.* Из нее следует, что корреляция результатов дыхательного теста и результатов других исследований, определенная как отношение числа совпадающих результатов к общему числу обследованных пациентов, дает для дыхательного и быстрого уреазного теста 65%, а для дыхательного теста и цитологического исследования — 95%.

Анализ также показал, что после приема мочевины разность концентраций аммиака «до» и «после» у больных разных групп существенно не различалась. Скорее всего, это связанно с малым количеством обследованных больных. Однако в группах больных с хроническим гастродуоденитом, язвенной болезнью двенадцатиперстной кишки и ГЭРБ у некоторых пациентов

Таблица 2

РЕЗУЛЬТАТЫ ДЫХАТЕЛЬНОГО ТЕСТА ДО И ПОСЛЕ ПРОВЕДЕНИЯ АНТИХЕЛИКОБАКТЕРНОЙ ТЕРАПИИ

	Тип заболевания	«До» терапии	«После» терапии
1	Язвенная болезнь двенадцатиперстной кишки	Положительный (Δ_2=2,0 ppm)	Отрицательный (Δ_2=0,25 ppm)
2	Язвенная болезнь двенадцатиперстной кишки	Положительный (Δ_2=1,5 ppm)	Положительный (Δ_2=1,5 ppm)
3	Хронический гастрит	Положительный (Δ_2=1,2 ppm)	Отрицательный (Δ_2=0,3 ppm)
4	Хронический гастродуоденит	Положительный (Δ_2=3,25 ppm)	Положительный (Δ_2=6,0 ppm)
5	ГЭРБ	Положительный (Δ_2=5,0 ppm)	Положительный (Δ_2=1,25 ppm)

отмечены высокие значения прироста концентрации аммиака после приема мочевины.

Следует отметить, что наиболее достоверным из морфологических методов является цитологическое исследование, которое при окраске материала по Грамму не дает ложноположительных результатов. Существенно, что корреляция результатов дыхательного теста и цитологического исследования оказалась значительно большей, чем в случае дыхательного и быстрого уреазного тестов. Примечательно, что из пяти случаев несовпадения с уреазным тестом в четырех отмечался ложноположительный результат, свидетельствующий о низкой надежности уреазного теста.

В ходе исследований была сформирована группа из пяти человек, в которой дыхательный тест проводился как до курса антихеликобактерной терапии, так и после. Это было сделано для оценки эффективности проводимой терапии. Результаты приведены в *табл. 2*.

В зависимости от заболевания пациента использовались различные схемы терапии. Через три недели после окончания лечения понижение уровня аммиака в выдыхаемом воздухе после приема мочевины наблюдалось у двух больных из пяти. У остальных трех не наблюдалось понижения уровня аммиака, что свидетельствует о неэффективности примененной схемы антихеликобактерной терапии.

Таким образом, проведенные исследования продемонстрировали принципиальную возможность применения прибора-газоанализатора и для проведения контроля эффективности терапии.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведенные исследования показали, что результаты дыхательного теста, полученные при помощи прибора — газоанализатора аммиака, совпадают с результатами цитологического исследования в 95% случаев и в 65% случаев — с результатами быстрого уреазного теста. Полученные данные свидетельствуют о том, что газоанализатор нового типа может составить серьезную конкуренцию сложным, дорогостоящим приборам, применяемым в настоящее время для проведения диагностики *Hp*. Достоверность показаний и простота эксплуатации такого газоанализатора медицинским персоналом дают основание для рекомендации его внедрения в широкую медицинскую практику после проведения мультицентровых испытаний промышленных вариантов прибора.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Кишкун, А. А.* Современные методы диагностики и оценки эффективности лечения инфекции, вызванной *Helicobacter pylori*/А. А. Кишкун//Клиническая и лабораторная диагностика. — 2002. — № 8. — С. 41–46.

2. *Корниенко, Е. А.* Сравнительная оценка методов регистрации концентрации аммиака в воздухе ротовой полости в диагностике инфекции *Helicobacter pylori*/Е. А. Корниенко, М. А. Дмитриенко, С. Н. Дроздова и др.//Терра-Медика, Лабораторная диагностика. — 2004. — № 2 (4). — С. 14–17.

3. *Николаев, И. Н.* О возможности использования сенсорных газоанализаторов для диагностики заболеваний методом дыхательных тестов/И. Н. Николаев, Д. А. Ноздря//Физическая медицина. — 2006. — Т. 16. № 2,— С. 15–20.

4. *Николаев, И. Н.* Возможности использования МДП-сенсоров в качестве чувствительных элементов газоанализаторов/И. Н. Николаев, А. В. Литвинов, Е. В. Емелин//Датчики и системы. — 2007. — № 5. — С. 66–74.

5. *Николаев, И. Н.* Сенсорный селективный газоанализатор малых концентраций сероводорода/И. Н. Николаев, Р. Р. Галиев, А. В. Литвинов и др.//Измерительная техника. — 2004. — № 6. — С. 67–69.