

Винахід належить до медицини, точніше, до гастроентерології, і може бути використаний для діагностики інфікованості організму *Helicobacter pylori* (Hр) при запальних та ерозивно-виразкових захворюваннях гастродуоденальної зони.

Зростання числа захворювань органів травлення в останні роки робить нагальною необхідність розробки зручного неінвазивного методу діагностики цих захворювань. В Україні частота цих захворювань за останні 10 років збільшилась на 53%. В етіології гастроентерологічної патології інфекція Hр відіграє провідну роль. Інфікованість населення вже в 20-літньому віці досягає в різних країнах 30-90% (Сидоренко С.В. Діагностика и лечение инфекций, вызываемых *Helicobacter pylori*: Лекция // Антибиотики и химиотер. - 2001. - №8. - С.23-31). Hр є доведеним етіологічним фактором хронічного гастриту, пептичних виразок шлункової та дуоденальної локалізації (Домарадский И.В. Вопросы патогенности *Helicobacter pylori* // Эксперим. и клин. гастроэнтерол. - 2001. - №2. - С.45-47), а також розвитку раку шлунку (Бабак О.Я. Нужна ли антихеликобактерная терапия при хронических гастритах и пептических язвах? // Сучасна гастроентерол. - 2001. - №3. С.3-9).

Етіологічне та патогенетичне значення Hр не обмежується захворюваннями гастродуоденальної зони. Доведено, що різноманітні токсини Hр викликають патогенетичні зміни в інших органах травлення (Губергриц Н.Б., Остроухова И.Н. *Helicobacter pylori* при хроническом рецидивирующем панкреатите: Патогенетические, клинические, лабораторно-инструментальные и терапевтические аспекты // Новые мед. технол. - 2001. - № 1. - С.50-59), серцево-судинної системи (Рудык Ю.С., Чернышов В.А., Ченчик Т.А. Связь бактериальной и вирусной инфекции с нарушением липидного обмена у пациентов с ишемической болезнью сердца // Укр. кардиол. журн. - 2001. - №6. - С.14-17), опорно-рухового апарата (Biewer W., Stolte M. *Helicobacter pylori* colonization of the gastric mucosa in reumatic patients // Z. Gastroenterol. - 1991. - Vol. 29, №11. - P.585-9), органів дихання (Caselli M., Zaffoni E., Ruina M. et al. // Scand. J. Gastroenterol. - 1999. - Vol.34, №8. - P.828-30), системи крові (Фадеев Г.Д., Рудык Ю.С. *Helicobacter pylori* и "недигестивные" заболевания: Обзор лит. и собств. исслед. // Журн. АМН України. - 2002. - Т. 8, №1. - С.82-94), шкіри (Бабак О.Я. Нужна ли антихеликобактерная терапия при хронических гастритах и пептических язвах? // Сучасна гастроентерол., гепатол. - 2001. - №3. С.3-9). Hр має значення в розвитку автоімунних захворювань (Collin P., Karsonen A.I., Korpela M. et al. Gastritis classified in accordance with the Sydney system in patients with primary Sjogren's syndrome // Scand. J. Gastroenterol. - 1997. - Vol. 32, №2. - P.108-11), анемії (Corrado G., Luzzi I., Lucarelli S. et al. Positive association between *Helicobacter pylori* infection and food allergy in children // Scand. J. Gastroenterol. - 1998. - Vol.33, №11. - P.1135-39), патології щитоподібної залози (Centanni M., Marignani M., Cargano L. et al. Atrophic body gastritis with autoimmune thyroid disease: An underdiagnosed association // Arch. Intern. Med. - 1999. - Vol.159, №9. - P.1726-30), нервової системи (Leontiadis G.I., Sharma V.K., Howden C.W. Non-gastrointestinal tract associations of *Helicobacter pylori* infection: What is the evidence? // Arch. Intern. Med. - 1999. - Vol.159, №5. - P.925-40) та ін.

Усі ці факти, а також можливість розвитку небажаних ефектів антихеліко-бактерної терапії, її висока вартість, особливо при наявності антибіотикорезистентних штамів, потребує розробки зручного, дешевого, неінвазивного способу діагностики інфекції Hр.

Відомий спосіб діагностики інфікованості організму Hр шляхом ендоскопічного (інвазивного) взяття біоптату гастродуоденальної слизової оболонки та його подальшого аналізування (Лапина Т.Л. Основные принципы диагностики *Helicobacter pylori*: Лекция // Рос. журн. гастроэнтерол., гепатол., колопроктол. - 1999. - Т.9, №2. - С.41-45).

Недоліком відомого способу діагностики є його інвазивність (зайве травмування пацієнта), недостатня точність, оскільки біоптат може бути взятий з малоінформативної зони гастродуоденальної слизової оболонки.

Відомий, обраний за прототип, спосіб неінвазивної діагностики інфікованості організму Hр, шляхом дослідження проб конденсату повітря, що видихає обстежуваний пацієнт (КВП), до і після харчового навантаження розчином сечовини, міченої ізотопом вуглецю C^{13} в апельсиновому соку, та порівняльного оцінювання концентрацій вуглекислого газу з вуглецем C^{12} та вуглекислого газу, міченого ізотопом вуглецю C^{13} (Место дыхательных тестов в диагностике органов пищеварения / В.Г. Передерни, Н.И. Швец, С.М. Ткач и др. // Сучасна гастроентерол., гепатол. - 2000. - №1. С.21-25). Біохімічною основою способу-прототипу є гідроліз C^{13} -сечовини під дією ферменту уреазы, який продукується Hр у інфікованого пацієнта. В результаті реакції гідролізу утворюються аміак та C^{13} -вуглекислий газ, що виділяються легенями при видиху. Для визначення кількості вуглекислого газу, міченого ізотопом вуглецю C^{13} , в КВП застосовують аналізатори, принцип дії яких ґрунтується на методах мас-спектрометрії, фотогальванічної та лазерної спектроскопії. Зміна співвідношення ($\delta, \%$) $^{13}CO_2/^{12}CO_2$ до та після харчового навантаження розчином сечовини, міченої ізотопом вуглецю C^{13} дозволяє зробити висновок про наявність мікроорганізму Hр на слизовій оболонці пацієнта. При значеннях 5 до 3,5% результат вважають негативним, вище 5,0% - позитивним. В разі, коли δ приймає значення в інтервалі 3,5-5,0%, дослідження повторюють або застосовують додаткові методи діагностики Hр.

Недоліками відомого способу є складність методики аналізування та висока собівартість досліджень через необхідність придбання препарату сечовини, міченої вуглецем C^{13} , та специфічного високовартісного приладдя для реєстрації цього ізотопу в конденсаті повітря. Відомий спосіб діагностики призначений для використання в великих дослідницьких центрах, де окупність грошових вкладень можна компенсувати інтенсивністю досліджень.

В основу винаходу поставлено задачу в способі діагностики інфікованості організму Hр шляхом застосування для харчового навантаження розчину C^{12} -сечовини, а для досліджень методу динамічної міжфазної тензіометрії забезпечити спрощення виконання тестування та інтерпретації результатів аналізу, зниження собівартості діагнозу. Спосіб, що заявляється, є безпечним, дешевим, безболісним, зручним для хворого і лікаря.

Поставлена задача вирішується тим, що у заявленому способі діагностики інфікованості організму Hр шляхом дослідження проб конденсату повітря, який видихає обстежуваний пацієнт, до і через 30 хвилин після харчового навантаження розчином сечовини в апельсиновому соку та порівняльного оцінювання одержаних

показників, новим є те, що для харчового навантаження використовують розчин C¹²-сечовини, проби конденсату повітря, що видихає обстежуваний пацієнт, до та після навантаження досліджують методом динамічної міжфазної тензіометрії, одержані показники порівнюють шляхом підрахунку інтегрального показника поверхневого натягу (ПН) $\Delta\sigma_{0-30}$ за формулою:

$$\Delta\sigma_{0-30} = 1/(t_0 - t_{30}) \int_{t_{30}}^{t_0} (\sigma_0 - \sigma_{30}),$$

де t_0 та t_{30} - діапазон часу життя поверхні від 0 до 30 хвилин,

σ_0 та σ_{30} - значення ПН до та після навантаження,

і, коли $\Delta\sigma_{0-30}$ приймає значення нижче 3,23мН/м, діагностують інфікованість організму Нр.

Між сукупністю ознак винаходу і технічним результатом, якого можна досягти при його реалізації, існує причинно - наслідковий зв'язок.

Діагностика інфікованості організму Нр за відомим способом-прототипом характеризується чуттєвістю дихального тесту 96% і специфічністю - 98% (Место дыхательных тестов в диагностике органов пищеварения / В.Г. Передерий, Н.И. Швеца, С.М. Ткач и др. // Сучасна гастроентерол., гепатол. - 2000. - №1. С.21-25), за способом, що заявляється, 99% і 98% відповідно (дослідження авторів).

До недоліків способу-прототипу треба віднести той факт, що препарат C¹³-сечовини ні в Україні ні в країнах колишнього СРСР не виробляється. Його треба замовляти в Німеччині чи в США, що створює певні незручності. А головне - за даними (на 1998 рік) міжнародної корпорації "Sigma" ціна 1г C¹³-сечовини дорівнює 99\$ US (Каталог корпорації "Sigma", 1998. - С.1115).

За способом, що заявляється, застосовується вітчизняний препарат - C¹²-сечовину, 1кг якої коштує 6грн. (марка "чда") або 9грн. (марка "осч") (Каталог фірми "Сінбіас" (Україна), 2002/2003. - С.46).

Відомо, що до складу КВП і здорових і хворих людей, окрім вуглекислого газу, входять також і аміак і сечовина. Отже, за міркуваннями авторів цього винаходу, як підвищення вмісту аміаку в КВП при розщепленні уреазою Нр прийнятої сечовини, так і підвищення виділення при видиху з повітрям сечовини, що не піддавалась інтенсивному катаболізму при відсутності Нр (його уреазу), ймовірно, будуть впливати на фізико-хімічний стан КВП. На цьому і ґрунтується розроблений спосіб діагностики інфікування організму Нр, що заявляється.

Спосіб, що заявляється, дозволяє одержати інтегральну інформацію про склад поверхневих шарів КВП та процеси, що відбуваються в рідкій фазі методом динамічної міжфазної тензіометрії (вимірювання змін ПН з часом). При проведенні тесту з навантаженням сечовиною та без неї при інфікуванні організму Нр в КВП відбуваються зміни рівнів аміаку та сечовини, що проявляють сурфактантні властивості, а тому здатні змінювати ПН цієї біологічної рідини.

Для оцінки причин діагностичної значимості динамічної міжфазної тензіометрії спосіб випробували на 52 хворих хронічними запальними та ерозивно-виразковими захворюваннями гастродуоденальної зони, в тому числі 28 (53,8%) жінок та 24 (46,2%) чоловіків у віці від 18 до 50 років. Для порівняння обстежили також і 30 здорових: 16 (53,3%) жінок і 14 (46,2%) чоловіків у віці від 18 до 48 років. Правильність діагностики, проведеної за способом, що заявляється, було підтверджено шляхом мікроскопічного аналізування біопсійного матеріалу, взятого зі слизової оболонки гастродуоденальної зони при фіброгастроскопії (інвазивний метод) у 100% випадків. Дані дослідження наведені в таблиці.

Показники інтегральної різниці ПН ($\Delta\sigma_{0-30}$) КВП у обстежених хворих і здорових ($M \pm m$)

Таблиця

Обстежені пацієнти	число пацієнтів, чол.	$\Delta\sigma_{0-30}$, мН/м	наявність Нр (Нр +, Нр -)	
			за винаходом	мікроскопічне дослідження біоптату
Хворі	40	3,230±0,730*	Нр+	Нр+
	12	6,123±0,790	Нр-	Нр-
Здорові	17	3,209±0,567*	Нр+	Нр+
	13	6,240±0,757	Нр-	Нр-

Примітки:

* - розходження між групами здорових (Нр +, Нр -) чи між групами хворих достовірні;

Нр+ - інфікування організму Нр виявлено;

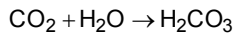
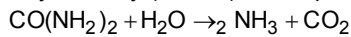
Нр- - інфікування організму Нр не виявлено.

Спосіб діагностики інфікованості організму Нр, що заявляється, здійснюють таким чином.

Процедура збирання КВП така: зранку натщесерце після полоскання рота водою пацієнт спокійно дихає 20 хвилин. Через 20 хвилин КВП пацієнта збирають у скляну посудину, поміщену у лід, що тане. Для виключення носового дихання використовують спеціальні затискачі для носа. Об'єм зібраного КВП складає близько 3мл. Фізико-хімічні показники КВП вивчають двічі - до навантаження сечовиною та через 30 хвилин після нього.

Після першого збору КВП пацієнт випиває 75мг сечовини, розчиненої в 200мл апельсинового соку (завдяки наявності аскорбінової кислоти сік гальмує евакуацію субстрату зі шлунку, а сечовина, в свою чергу, не змінює органолептичні якості соку і не піддається хімічним перетворенням у суміші з ним). Через 30 хвилин після навантаження сечовиною [CO(NH₂)₂] у хворого знову збирають порцію КВП. При наявності Нр

збільшується виділення аміаку (NH_3) та вуглекислого газу (CO_2) (в КВП вуглекислий газ перетворюється у вугільну кислоту (H_2CO_3), що і призводить до зміни фізико-хімічних властивостей КВП після навантаження:



Проби КВП (до та після навантаження) досліджують методом динамічної міжфазної тензіометрії.

Одержані показники порівнюють шляхом підрахунку інтегрального показника ПН $\Delta\delta_{0-30}$ за формулою

$$\Delta\delta_{0-30} = 1/(t_0 - t_{30}) \int_{t_{30}}^{t_0} (\sigma_0 - \sigma_{30}),$$

де t_0 та t_{30} - діапазон часу життя поверхні від 0 до 30 хвилин,

σ_0 та σ_{30} - значення ПН до та після навантаження.

В разі, коли $\Delta\delta_{0-30}$ приймає значення нижче 3,23 мН/м, діагностують інфікованість організму Нр. Як показали дослідження, значення $\Delta\delta_{0-30}$ вище 3,23 мН/м свідчать про відсутність інфікованості організму Нр.

Для досліджень ПН КВП методом динамічної міжфазної тензіометрії використовують тензіометр МРТ-2 (LAUDA, ФРН), робота якого ґрунтується на методі максимального тиску в бульбашці. Для досліджень КВП застосовують мікроковету об'ємом в 1 мл, а також комп'ютерну програму для управління тензіометром та обробки результатів, розроблені та адаптовані авторами винаходу до вивчення біологічних рідин (Динамическое поверхностное натяжение биологических жидкостей в медицине / В.Н. Казаков, О.В. Синяченко, В.Б. Файнерман, Р. Миллер. - Донецк: Изд-во мед. ун-та, 1997. - 296с.). Абсолютна похибка вимірювань не перевищувала 0,1 мН/м.

Приклади реалізації способу, що заявляється.

Приклад 1. Хворий К., 45 років, слюсар, поступив до гастроентерологічної клініки зі скаргами на біль в епігастрії натщесерце або через 1,5-2 години після прийому їжі, печію, блювання, що приносить полегшення. Протягом останніх 5 років лікувався традиційно з приводу виразкової хвороби дванадцятипалої кишки - приймав антисекреторні, спазмолітичні препарати і т. ін. Стан хворого К. після лікування покращувався. Але рецидиви хвороби були досить частими.

В клініці хворому К. провели діагностування на наявність інфікованості організму Нр за способом, що заявляється.

Зранку натщесерце після полоскання рота водою хворий К. спокійно дихав 20 хвилин. Через 20 хвилин КВП хворого збирали у скляну посудину, поміщену у лід, що тане. Для виключення носового дихання використовували затискач для носа. Об'єм зібраного КВП склав близько 2,8 мл. Фізико-хімічні показники КВП вивчали двічі - до навантаження сечовиною та через 30 хвилин після нього.

Після першого збору КВП хворий К. випив 75 мг сечовини, розчиненої в 200 мл апельсинового соку. Через 30 хвилин після навантаження сечовиною у хворого знову збирали порцію КВП (3 мл). Обидві проби КВП (до та після навантаження) досліджували за методом динамічної міжфазної тензіометрії для визначення ПН (метод максимального тиску в бульбашці) з використанням тензіометра МРТ-2 (LAUDA, ФРН), оснащеного комп'ютерною програмою для управління тензіометром та обробки результатів. Одержані показники порівнювали шляхом підрахунку інтегрального показника ПН $\Delta\delta_{0-30}$ за формулою

$$\Delta\delta_{0-30} = 1/(t_0 - t_{30}) \int_{t_{30}}^{t_0} (\sigma_0 - \sigma_{30}),$$

де t_0 та t_{30} - діапазон часу життя поверхні від 0 до 30 хвилин,

σ_0 та σ_{30} - значення ПН до та після навантаження.

Після підрахунків одержали, що $\Delta\delta_{0-30}$ має значення 3,18 мН/м. Згідно з винаходом у хворого К. діагностували інфікованість організму Нр. Правильність діагностики, проведеної за способом, що заявляється, було підтверджено шляхом мікроскопічного аналізування біопсійного матеріалу, взятого зі слизової оболонки дванадцятипалої кишки в зоні виразки при фіброгастродуоденоскопії. Хворому К. провели антихелікобактерне лікування амоксициліном, кларитроміцином, омепразолом за загальноприйнятими методиками протягом 7 днів. Покращання стану хворий відзначав уже в перші дні терапії. На 10-й день перебування в гастроентерологічній клініці хворого К. виписали додому. Через 4 тижні після виписки хворий К. прийшов до клініки для контрольного дослідження. Фіброгастродуоденоскопія виразкового ураження слизової оболонки дванадцятипалої кишки не виявила. Мікроскопічний аналіз біопсійного матеріалу, взятого зі слизової оболонки дванадцятипалої кишки, Нр не виявив. Протягом наступних 2-х років рецидивів загострення виразкової хвороби у пацієнта К. не було.

Приклад 2. Пацієнтка Л., 35 років, здорова, скарг не пред'являла. Звернулась до гастроентерологічної клініки за проханням провести діагностування щодо інфікування її організму Нр, оскільки у її чоловіка, що страждає на виразкову хворобу шлунку, виявлено Нр. Процедуру діагностики проведено за прикладом 1.

Після підрахунків одержали, що $\Delta\delta_{0-30}$ має значення 3,20 мН/м. Згідно з винаходом у пацієнтки Л. діагностували інфікування організму Нр. Правильність діагностики, проведеної за способом, що заявляється, було підтверджено шляхом мікроскопічного аналізування біопсійного матеріалу, взятого зі слизової оболонки гастродуоденальної зони при фіброгастродуоденоскопії. Пацієнтці Л. пояснили, що вона є носієм Нр і існує небезпека розвитку запального чи виразкового процесу гастродуоденальної зони. Пацієнтка Л. забажала пройти профілактичне антихелікобактерне лікування. Їй провели антихелікобактерне лікування: амоксицилін,

кларитроміцин, омепразол протягом 7 днів. Через 4 тижні здійснили контрольне дослідження за способом, що заявляється. Процедуру діагностики проведено за прикладом 1. Після підрахунків одержали, що $\Delta\delta_{0-30}$ має значення 3,40мН/м. Згідно з винаходом діагностували відсутність інфікування організму Нр у пацієнтки Л. В подальшому пацієнтка в гастроентерологічну клініку не зверталась.

Приклад 3. Доброволець І., 22 років, здоровий, скарг не пред'являв, прийняв участь у науковому дослідженні щодо ефективності способу діагностики інфікування організму Нр, який заявляється. Процедуру

діагностики проведено за прикладом 1. Після підрахунків одержали, що $\Delta\delta_{0-30}$ має значення 3,38мН/м. Згідно з винаходом у добровольця І. діагностували відсутність інфікування організму Нр. Правильність діагностики, проведеної за способом, що заявляється, було підтверджено шляхом мікроскопічного аналізування біопсійного матеріалу, взятого зі слизової оболонки гастродуоденальної зони при фіброгастродуоденоскопії.