

УДК 616–71

ОСНОВНЫЕ БИОХИМИЧЕСКИЕ И КЛИНИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ НЕИНВАЗИВНОГО ТЕСТА ХЕЛИК

Дмитриенко М. А.¹, Дмитриенко В. С.¹, Корниенко Е. А.², Паролова Н. И.², Коломина Е. О.¹, Аронова Е. Б.¹

¹ ООО «Ассоциация Медицины и Аналитики» (ООО «АМА»)

² ФГБОУВО «Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет»

BASIC BIOCHEMICAL AND CLINICAL ASPECTS OF NONINVASIVE TESTS HELIC

Dmitrienko M. A.¹, Dmitrienko V. S.¹, Kornienko E. A.², Parolova N. I.², Colomina E. O.¹, Aronov E. B.¹

¹ ООО "Association of Medicine and Analysts"

² FGBOUVO "Saint Petersburg State Pediatric Medical University"

Резюме

Показан биохимический процесс, лежащий в основе неинвазивного определения инфекции *Helicobacter pylori* с помощью ХЕЛИК-теста (производство компании ООО «АМА», Санкт-Петербург). Проведен обзор патентов, полученных в разных странах и посвященных аммиаку как диагностическому маркеру хеликобактерной инфекции. Рассмотрены подходы к оценке эффективности тест-системы, приведены данные по валидации и верификации. Высокие диагностические характеристики подтверждаются результатами сопоставительных исследований на разных возрастных группах пациентов и достигают 97% чувствительности и 96% специфичности.

Ключевые слова: диагностика, *Helicobacter pylori*, тест-система

Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология 2016; 132 (8): 75–81

Summary

Biochemical process that lay in the core of non-invasive detection of *Helicobacter pylori* with the help of HELIC Ammonia breath test, manufactured by AMA Co Ltd., St.Petersburg, is shown. Patents from various countries, describing ammonia as H.pylori diagnostic marker, are reviewed. Approaches for evaluation of efficacy of the test-system are analyzed, validation and verification data is provided. High diagnostic characteristics are confirmed by the results of comparative studies on patients of different age groups, reaching 97% sensitivity and 96% specificity.

Keywords: diagnostic, *Helicobacter pylori*, test-system

Expsperimental'naya i klinicheskaya Gastroenterologiya 2016; 132 (8): 75–81

Дмитриенко
Марина Александровна
Dmitrienko Marina A.
da@amamed.ru

Введение

Инфекция *Helicobacter pylori* (НР) в настоящее время рассматривается как одна из ведущих причин язвенной болезни и хронического гастрита. Поэтому своевременное выявление и лечение НР-инфекции лежит в основе ведения пациентов с гастроуденальной патологией.

Одной из главных особенностей НР является его высокая уреазная активность, которая позволяет микроорганизму адаптироваться к кислой среде желудка. В процессе гидролиза мочевины образуются два конечных продукта: углекислый газ и аммиак, которые могут быть основой биохимической идентификации НР. Углекислый газ, а точнее — меченый углерод, является предметом выявления в дыхательном ¹³С тесте. Этот углеродный дыхательный тест (UBT) — наиболее распространенный в мире метод неинвазивной диагностики НР *in vivo*, который широко используется за рубежом и признан «золотым стандартом» среди неинвазивных методов. Метод имеет высокую специфичность

и чувствительность, однако его информативность зависит от возраста пациента, демонстрируя более высокую точность у взрослых и меньшую у детей до 5 лет. Уреазный ¹³С тест прост в исполнении, но его существенными минусами являются необходимость приема меченого изотопа мочевины, высокая стоимость и отсутствие возможности проведения диагностики непосредственно у постели больного.

В течение 30 лет, прошедших с момента открытия НР, неоднократно предлагались также варианты диагностических методов для выявления другого метаболита биохимической реакции гидролиза мочевины — аммиака.

За период с 1995 по 2009 год было защищено 45 патентов по методам выявления НР в организме человека на основе изотопного теста: по изотопам ¹²С (то есть по аммиаку в качестве маркера НР) опубликовано 20 патентов, ¹³С — 10 патентов, ¹⁴С — 4 патента в разных странах мира, в том числе 11 — в России [1–4].

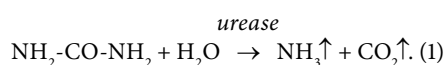
Нами в 1996г был разработан ХЕЛИК-тест, основанный на кинетической оценке концентрации паров аммиака в воздухе ротовой полости после приема пациентом мочевины неизотопного состава. Это позволило, снизив стоимость диагностического исследования в десятки раз, предложить надежный способ диагностики, который может быть использован как для первичного обследования и скрининга, так и для контроля эффективности эрадикационной терапии. За прошедшие 20 лет почти 2,5 миллиона человек было обследовано с помощью ХЕЛИК-теста производства ООО «АМА».

Активное выявление и лечение НР-инфекции в мире привело к снижению частоты рака желудка и язвенной болезни во многих странах, эта тенденция прослеживается и в России, однако распространенность НР-инфекции в нашей стране остается по-прежнему высокой [5]. По данным ряда исследований, НР-инфекция встречается у 85% взрослого населения и у 60% детей [6]. Поэтому своевременная диагностика и лечение НР остаются по-прежнему актуальными, что нашло отражение в принятии положений Глобального Киотского Консенсуса в 2015г [7].

Биохимические основы ХЕЛИК-теста

Бактерия НР способна синтезировать уреазу высокой активности, которая принимает участие в формировании практически всех стадий патогенеза бактерии [8]. Это фермент из класса гидролаз,

обладающий высокой специфичностью в отношении единственного субстрата — мочевины, которую он расщепляет гидролитическим путем до аммиака и углекислого газа (1) [9].

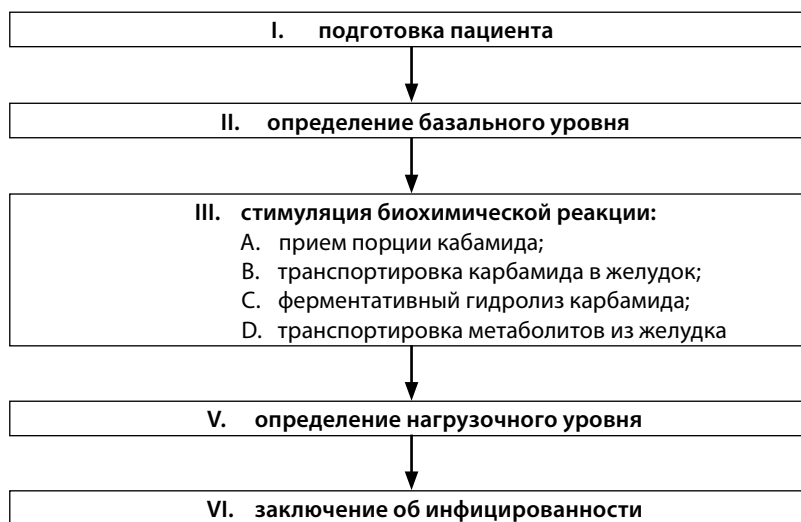


Диагностика инфекции НР с помощью ХЕЛИК-теста основана на определении одного из продуктов данной реакции — аммиака. Аммиак как газообразное вещество, образующееся в организме человека во множестве биохимических реакций (193 фермента катализируют биохимические реакции с его участием) [10], может присутствовать в выдыхаемом воздухе здоровых людей в незначительном количестве, а при патологии печени и почек увеличиваться до 2–3 ppm [11].

При проведении ХЕЛИК-теста регистрируется аммиак, образующийся в ходе каталитического гидролиза мочевины в присутствии уреазы НР. После приема мочевины равновесие химической реакции смещается в сторону образования её продуктов, а скорость реакции определяется активностью бактериальной уреазы [12].

Диагностика НР с помощью ХЕЛИК-теста состоит из следующих стадий (рисунки 1):

Рисунок 1.
Стадии ХЕЛИК-теста



В желудке при наличии НР поступающий карбамид быстро гидролизуетсся с образованием аммиака, а в его отсутствие этого не происходит. В связи с этим, у НР-инфицированного пациента образующийся после приема раствора карбамида аммиак, который легче воздуха, поступает из желудка в ротовую полость и концентрация его

там повышается, у неинфицированного пациента уровень аммиака в ротовой полости остается неизменным [13]. У пациентов с высоким исходным уровнем аммиака в ротовой полости, что может быть обусловлено патологией печени или почек, но неинфицированных НР, повышения уровня аммиака также не наблюдается.

Диагностическая и аналитическая чувствительность ХЕЛИК-теста

Факторы, влияющие на результаты ХЕЛИК-теста, можно разделить на две группы: 1) влияющие на чувствительность диагностики и 2) влияющие на ее специфичность. При совпадении терминов суть понятия чувствительности и специфичности может отличаться, что зафиксировано в Европейских стандартах BS EN ISO 18153:2003, ISO/TS17822-1:2014(en) и рекомендовано Российскими Методическими рекомендациями по порядку проведения экспертизы качества, эффективности и безопасности медицинских изделий.

Согласно европейским документам, *аналитическая чувствительность* — это предел определения, т.е. минимальное количество целевого маркера, которое может быть точно и постоянно отличимо от фона [14], а *диагностическая чувствительность ХЕЛИК-теста* — это доля больных, которые выявляются этим тестом как больные.

На чувствительность диагностики НР влияют: чувствительность приборов, используемых для определения аммиака детектирующей системы; место отбора пробы воздуха из ротовой полости; количество принятого карбамида; его форма (таблетка, капсула, раствор, а также объем, величина pH и минерализация раствора для разведения); температура окружающей среды; глубина и характер (через нос или рот) дыхания обследуемого.

Специфичность определения также должна быть оценена с двух точек зрения. *Аналитическая специфичность* — «способность анализа отличить целевой анализ от нецелевых анализов, включая компоненты матрицы» (европейское определение) [15].

Диагностическая специфичность ХЕЛИК-теста — это доля здоровых, которые определяются тестом как здоровые.

Специфичность диагностики в данном случае заключается в том, чтобы обнаружить, во-первых, именно НР, а не какой-либо другой микроб-уреазопродукт, а во-вторых — НР, локализованный

именно в желудке и луковице 12-перстной кишки, а не в других отделах ЖКТ.

На диагностическую специфичность влияют уреазопродукты той части ЖКТ, которая контактирует с принимаемым раствором мочевины (полость рта, фаринголарингеальная область, пищевод), а также уреазонегативные штаммы НР.

Поскольку уреазная активность (УА) НР в сотни раз превышает таковую у других уреазопродуктов, она определяется, в первую очередь, уреазой НР, но некоторый вклад в суммарную УА могут вносить и другие уреалитические ферменты. Во всех отделах ЖКТ могут присутствовать другие микроорганизмы, обладающие уреазной активностью (*Corynebacterium spp.*, *Staphylococcus spp.*, *Brevibacterium spp.*, обитающие на коже, *Streptococcus spp.*, *Ureaplasma urealyticum*, *Proteus spp.*, *Candida spp.*) [16]. Большая часть их обитает в кишечнике, куда мочевина поступает уже после прохождения желудка. Значит, и аммиак, продуцированный микрофлорой кишечника, будет появляться существенно позже аммиака из желудка [17]. Ограничение времени контроля содержания образовавшегося аммиака десятью минутами позволяет ограничить дополнительное влияние уреазопродуктов кишечника.

Для уменьшения влияния уреазопродуктов полости рта на результат обследования нами были разработаны рекомендации по правильному проведению процедуры тестирования, изложенные в действующей инструкции к тест-системам.

Чувствительность и специфичность являются операционными характеристиками теста, которые оцениваются в диагностическом эксперименте, и их расчет осуществляется с помощью метода «латинского квадрата» [18].

Для достоверной оценки этих параметров были проведены доклинические (лабораторные) испытания, предклинические и мультицентровые клинические исследования.

Верификация ХЕЛИК-теста

Верификация ХЕЛИК-теста включала оценку сходимости результатов анализа, а также

обеспечение контроля качества выпускаемых тест-систем.

Оценка сходимости результатов тест-системы ХЕЛИК

Сходимость показывает, что данные, полученные в разное время в одинаковых условиях и при одинаковой постановке эксперимента, совпадают. Поэтому мы провели ряд исследований, подтверждающих сходимость результатов измерений концентрации аммиака ХЕЛИК-аппаратом в лабораторных и клинических условиях.

В ходе лабораторного исследования, проведенного на базе производственной компании ООО «АМА», аттестованная ВНИИМ им. Д.И. Менделеева газовая смесь аммиака 3,4 ppm подавалась на ХЕЛИК-аппарат

и его текущие показания регистрировались на шестой, седьмой, восьмой, девятой минутах исследования при контроле показаний расходомера (таблица 1).

Стандартное отклонение полученных результатов составило 1.65 (опыт ставился в 13-ти повторностях).

Далее, в ходе предклинического исследования, в котором приняли участие 5 добровольцев, проводили измерения у одних и тех же пациентов в течение нескольких дней дважды. Перед исследованием каждый из обследуемых тщательно придерживался правил подготовки к тестированию

Таблица 1.
Данные для оценки сходимости лабораторных результатов измерений

№ п/п	Текущие показания, у.е.				Время отклика, t 90, с
	6 мин	7 мин	8 мин	9 мин	
1	135	138	140	141	105
2	138	141	143	144	90
3	138	141	143	144	90
4	140	143	144	145	75
5	140	142	144	145	75
6	141	144	146	147	80
7	136	139	141	143	90
8	138	141	143	144	85
9	138	141	143	144	75
10	141	144	145	146	75
11	137	143	144	145	75
12	135	144	146	147	80
13	137	144	145	146	75

Таблица 2.
Данные для оценки сходимости результатов тестирования добровольцев

Номер пациента	Базальный уровень, у.е.	Нагрузочный уровень, у.е.	Разность у.е.
1	33	36	3
	40	48	8
2	40	93	53
	47	100	53
3	32	43	11
	30	41	11
4	28	39	11
	29	44	15
5	40	71	31
	42	69	27

согласно действующих инструкций на данную тест-систему. Тестирование с помощью индикатора компьютеризированного ХЕЛИК-аппарат также происходило согласно действующей инструкции (таблица 2).

Как видно из таблицы 2, в течение времени проведения исследования уровень аммиака в воздухе ротовой полости как на базальном, так и нагрузочном уровне оставался практически неизменным.

Валидация ХЕЛИК-теста

I. Оценка воспроизводимости результатов ХЕЛИК-теста

Воспроизводимость результатов является важным показателем качества при валидации тест-систем. Она подтверждает близость данных, полученных у одного пациента, с помощью разных диагностических устройств. Для этого нами было проведено исследование по определению концентрации аммиака разными способами — индикаторной трубкой совместно с устройством комбинированным ХЕЛИК-скан-М и индикатором компьютеризированным ХЕЛИК-аппаратом.

В исследовании приняли участие 10 добровольцев в возрасте 21–55 лет (2 мужчин и 8 женщин) с неизвестным НР-статусом.

Все исследуемые соблюдали правила подготовки к тестированию.

Полученные на обоих устройствах данные были пересчитаны в концентрацию аммиака в мг/м³. Для сравнения были приведены разности концентраций аммиака между базальным и нагрузочным уровнями (таблица 3).

Как видно из таблицы 3, разности концентраций, полученные на ХЕЛИК-аппарате и на устройстве комбинированном ХЕЛИК-скан-М, близки для каждого пациента в пределах допустимых погрешностей.

II. Сопоставление результатов ХЕЛИК-теста с гистологическим методом у взрослых пациентов

Параллельно с предыдущим исследованием было проведено сравнение показаний ХЕЛИК-теста и результатов гистологического исследования при взятии 5 образцов биопатов СОЖ каждого пациента [19].

В данном исследовании принял участие 31 пациент в возрасте от 20 до 66 лет, из них 8 мужчин и 23 женщины.

Исследование проводилось по следующей схеме — во время ФГДС у пациента брали пять

Номер пациента	Разность концентрации аммиака при исследовании с помощью ХЕЛИК-скан-М, мг/м ³	Разность концентрации аммиака при исследовании ХЕЛИК-аппаратом, мг/м ³
1	0	0,01
2	0,06	0,04
3	4,45	3,43
4	0,38	0,67
5	1,10	1,40
6	0,80	0,73
7	3,69	3,09
8	2,16	1,91
9	0,19	0,22
10	1,78	1,1

Таблица 3.
Данные для оценки воспроизводимости результатов

биоптатов СОЖ (2 из антрального отдела, 2 из тела, 1 из угла желудка), которые исследованы гистологически.

Результаты исследования показали, что ХЕЛИК-тест имеет высокую клиническую

эффективность (чувствительность — 93% и специфичность 90%), которые определялись методом латинского квадрата при применении стандартного протокола морфологической диагностики НР в желудке на основании пяти биоптатов.

III. Сопоставление результатов ХЕЛИК-теста с гистологическим методом у детей

Еще одной важной характеристикой надежной тест-системы является ее универсальность. Тест-система ХЕЛИК показывает высокие диагностические характеристики как у детей, так и у взрослых пациентов.

На базе Детской городской клинической больницы № 5 им. Филатова в 2016 году было проведено исследование по сопоставлению результатов ХЕЛИК-теста с индикаторной трубкой у 32 детей в возрасте от 10 до 17 лет в сравнении с гистологическим методом.

Из 32 включенных в исследование пациентов были исключены 7, так как гистологическое исследование биоптатов СОЖ у них показало наличие 100% кокковых форм бактерии, что могло повлиять на уреазную активность.

Из 25 оставшихся вошедших в исследование пациентов 13 оказались НР-положительными и по гистологии, и по ХЕЛИК-тесту, отрицательных результатов, подтвержденных гистологией, оказалось 9, при положительном результате гистологии у 3 был отрицательный результат ХЕЛИК-теста.

Таким образом, диагностическая чувствительность в данном исследовании составила 100%, а специфичность — 87%. Положительные результаты гистологии при отрицательном дыхательном тесте можно объяснить снижением уреазной активности бактерии на фоне приема различных препаратов.

№	Место проведения сопоставления	Количество пациентов, особенности	Возраст	Методы сравнения	Чувствительность Se, специфичность Sp, совпадение C%
1	СПбГПМА, Санкт-Петербург	124	Дети	Гистология и БУТ, сравнение с СИД	Se=97, Sp=96
2	Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова, Москва	200	Взрослые	ПЦР, жидкий уреазный тест (среда Нестерко)	Se=91, Sp=90
3	Украина, Киев, НМАПО	50	37,5±2,9	¹³ C-UBT (Украинско-немецкий центр ВУК-Киев)	Se=91,2 Sp=87,5
4	Научный центр здоровья детей, Москва, Россия	200	Дети	Гистология, серология, бактериология, уреазный тест	Se=92, Sp=90
5	Государственный медицинский университет, Витебск, Белоруссия	47 Ревмат. артрит, прием NSAIDs	54,2±12,5	Гистология по 5 биоптатам, окрашивание по Гимзе	Se=94, Sp=90
6	ГМА Павлова, СЗГМУ им. Мечникова, СПб	171	Взрослые	Гистология по 2 биоптатам	Se=92, Sp=93, C=87,5

Таблица 4.
Диагностическая эффективность ХЕЛИК-теста

Таблица 4.
Окончание

№	Место проведения сопоставления	Количество пациентов, особенности	Возраст	Методы сравнения	Чувствительность Se, специфичность Sp, совпадение C, %
7	ГМА Павлова, Елизаветинская ГБ, СЗГМУ им Мечникова, СПб, Россия	134	17–72	БУТ, гистология (4 биоптата), ПЦР, бактериология	C=85
8	УГМАДО, Челябинск, ФГУЗ ЦМСЧ № 15, Снежинск	145 ЯБДПК 80 ЯБЖ	Взрослые	ИФА	C=88,2 C=92
9	БГМУ, Минск, Белоруссия	37	17–67	Гистология	Se=94,7, Sp=94,4
10	МНИИЭМ Габричевского, Москва	168	Взрослые	Гистобактериоскопия, Гастропанель	C=89,3
11	Государственный медицинский университет, областной клинический специализированный центр, Витебск, Белоруссия	42	18–70	Морфология 5 биоптатов СО тела и антрума	Se=94, Sp=92, C=93

IV. Сопоставление информативности разработанных методов диагностики

Высокая информативность разработанных нами методов диагностики НР была подтверждена в клинических исследованиях в различных ЛПУ России, Украины, Белоруссии. Результаты этих исследований приведены в Таблице 4 [17].

Диагностические характеристики могут несколько отличаться в зависимости от места проведения, количества и возраста пациентов, сопутствующих заболеваний, а также методов сравнения. Поскольку

ни один из существующих ныне методов диагностики НР не обладает абсолютной точностью, в качестве референтного метода подтверждения хеликобактериоза использовались сочетания различных методов: гистологического, бактериологического, гистобактериоскопического, серологического, быстрого уреазного теста, ПЦР, дыхательного теста ^{13}C -UBT; для сравнения концентрации аммиака использовали также спектрометр ионного дрейфа.

Обсуждение полученных результатов

В проведенных исследованиях ХЕЛИК-тест показал достаточно высокую воспроизводимость и сходимость полученных результатов.

Поскольку Хелик-тест является по сути биохимическим методом определения продукта гидролиза мочевины, его точность целесообразно сопоставлять прежде всего с другими биохимическими методами определения НР (уреазный тест, ^{13}C — UBT).

Необходимо отметить, что важным условием получения достоверного результата Хелик-теста является правильная подготовка пациента

к исследованию, соблюдение требований Памятки производителя, входящей в комплект поставки данного изделия [21]. Пациент не должен употреблять бобовые и крепкий алкоголь в течение 3 дней перед исследованием, не курить, не принимать антибиотики и антациды перед тестированием, почистить зубы, исследование проводится натощак. Медицинскому персоналу, проводившему диагностику, важно неукоснительно соблюдать последовательность действий, которые описаны в инструкции, а также соблюдать точность при приготовлении раствора карбамида.

Выводы

1. Чувствительность ХЕЛИК-теста, установленная в клинических исследованиях, проведенных в России и других странах, составляет от 91 до 97%, специфичность — от 86,5 до 96%.
2. Высокие показатели чувствительности и специфичности подтверждают, что аммиак может служить специфическим маркером НР-инфекции, а ХЕЛИК-тест производства компании «Ассоциация Медицины и Аналитики»

может быть рекомендован как один из неинвазивных методов диагностики данной инфекции.

3. Надежность работы ХЕЛИК-теста подтверждена верификацией и валидацией разработанной тест-системы.
4. Достичь высокой точности диагностики с помощью данного метода возможно, соблюдая все рекомендации, указанные производителем.

Литература

1. Шейман В. Л. Композиция для диагностики желудочно-кишечного заболевания и способ диагностики этого заболевания//Патент РФ 2124725 G01N33/50. — Оpubл. 10.01.1999.
2. Kimberly C. Visual indicating device for bad breath // Patent UA7413550 G01N31/22. — Оpubл. 01.09.2009.
3. Kharkiv Med Acad Postgraduate. Method for diagnosing infection induced by *Helicobacter pylori* microorganism in preschool and school age// Patent UA 17631 G01N33/00. — Оpubл. 16.10.2006
4. Kimberly C. Method and device for detecting ammonia odors and *Helicobacter pylori* urease infection// Patent UA 7582485 G01N31/22. — Оpubл. 01.09.2009.
5. Hunt R., Xiao S., Megraud F., Vakil N. and others. *Helicobacter Pylori* in Developing Countries. World Gastroenterology Organization, 2010; 3–5.
6. Корниенко Е. А. Инфекция *Helicobacter pylori* у детей: руководство. — М.: ГЭОТАР-Медиа, 2011. — 272 с.
7. Sugano K., Tack J., Kuipers E., Graham D., El-Omar E., Miura S., Haruma K., Asaka M., Uemura N., Malfertheiner P.; faculty members of Kyoto Global Consensus Conference. Kyoto global consensus report on *Helicobacter pylori* gastritis. Gut. 2015 Sep; 64(9):1353–67. Hu LT, Mobley HLT. Purification and N-terminal analysis of urease from *Helicobacter pylori*. Infect Immun 1990; 58: 992–8.
8. Holton J., Figura N., Vaira B. *Helicobacter pylori*. An Atlas of Investigation and Management. Oxford: Clinical Publishing, 2012. 152 p.
9. Косенко Е. А., Каминский Ю. Г. Клеточные механизмы токсичности аммиака. — М.: Издательство ЛКИ, 2008. — 288 с.
10. Hibbard T, Crowley K, Kelly F, Ward F, Holian J, Watson A, Killard AJ. Point of care monitoring of hemodialysis patients with a breath ammonia measurement device based on printed polyaniline nanoparticle sensors. Anal Chem. 2013 Dec 17;85(24):12158–65.
11. Vogt K, Harm H. Urease production by *Helicobacter* (*Campylobacter*) *pylori*. Zbl Bakt 1991; 275: 63–72.
12. Mobley HLT, Cortesia MJ, Rosenthal LE, Jones BD. Characterization of urease from *Campylobacter pylori*. J Clin Microbiol 1988; 26:831–6.
13. Корниенко Е. А., Дмитриенко М. А., Паролова Н. И., Григорьев С. В. Неинвазивная диагностика инфекции *Helicobacter pylori* по аммиаку. Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. — 2006. — № 1. — С. 47–53.
14. Recommendation NB-MED/2.5.5/Rec4 — Assessment of the sensitivity of In Vitro Diagnostic Medical Devices — guidance on the application of the CTS http://www.team-nb.org/documents/2010/Recommendation-NB-MED-2_5_5-4_rev2_Assessment_of_the_sensitivity_of_In_Vitro_Diagnostic_Medical.pdf.
15. Ekins RI, Edwards P On the meaning of “sensitivity”. Clin Chem. 1997 Oct;43(10):1824–31.
16. Wilson M. Bacteriology of Humans. An ecological perspective. — London: Blackwell Publishing, 2008. — 351p.
17. Дмитриенко М. А., Гинак А. И. Аммиак как газообразный биомаркер инфекции *Helicobacter pylori* // Известия СПбГТИ(ТУ), 2016. — № 33(59), с. 56–63.
18. Флетчер Р., Флетчер С., Вагнер Э. Клиническая эпидемиология: Основы доказательной медицины: пер. с англ. / М.: МедиаСфера, 1998. 352 с.
19. Конорев М. Р., Тышевский Е. Н., Матвеев М. Е. Некоторые ошибки при проведении протокола исследования с расчетом оценки эффективности дыхательного аммиачного теста ХЕЛИК для диагностики *H. Pylori* в желудке//Международный форум «Санкт-Петербург-Гастро-2016», Санкт-Петербург, 16–18.05.2016.
20. Holton J., Figura N., Vaira B. *Helicobacter pylori*. An Atlas of Investigation and Management. Oxford: Clinical Publishing, 2012. 152 p.
21. Коломина Е. О., Дмитриенко М. А., Корчиго А. С. — Влияние соблюдения правил подготовки перед обследованием на точность диагностики *Helicobacter pylori* с помощью тест-системы ХЕЛИК / Гастроэнтерология Санкт-Петербурга. — 2016. — № 1–2. — С. 15.