

of various future materials may pave the way for a breakthrough, leading to improved surgical outcomes and reduced postoperative complications. In addition, improving the selection and use of suture materials in renal surgery is of paramount importance, as it directly affects surgical success, patient recovery, and the overall relevance of renal surgery in modern medicine.

Key words: kidney, suture material, kidney surgery.

ORCID and contributionship / ORCID кожного автора та їх внесок до статті:

Vihtenko V. O.: [0009-0009-6128-3597](https://orcid.org/0009-0009-6128-3597)^{BCD}

Pronina O. M.: [0000-0002-8242-6798](https://orcid.org/0000-0002-8242-6798)^{AEF}

Conflict of interest / Конфлікт інтересів:

The authors declare no conflict of interest. / Автори заявляють про відсутність конфлікту інтересів.

Corresponding author / Адреса для кореспонденції

Vihtenko Vitaliy Oleksandrovych / Віхтенко Віталій Олександрович

Poltava State Medical University / Полтавський державний медичний університет

Ukraine, 36011, Poltava, 23 Shevchenko str. / Адреса: Україна, 36011, м. Полтава, вул. Шевченка 23

Tel.: +380990374822 / Тел.: +380990374822

E-mail: vitaliyvihtenko@gmail.com

A – Work concept and design, B – Data collection and analysis, C – Responsibility for statistical analysis, D – Writing the article, E – Critical review, F – Final approval of the article / A – концепція роботи та дизайн, B – збір та аналіз даних, C – відповідальність за статистичний аналіз, D – написання статті, E – критичний огляд, F – остаточне затвердження статті.

Received 26.11.2022 / Стаття надійшла 26.11.2022 року

Accepted 05.05.2023 / Стаття прийнята до друку 05.05.2023 року

DOI 10.29254/2077-4214-2023-2-169-44-55

UDC 616.12-005.4-074

Govorukha O. Yu., Shevchenko T. M.

METHODS OF STUDYING *HELICOBACTER PYLORI* IN GASTROENTEROLOGICAL PRACTICE

Oles Honchar Dnipro National University (Dnipro, Ukraine)

elenagovorukha2411@gmail.com

Helicobacter pylori (*H. pylori*) infection is widespread in humans and can lead to severe gastrointestinal pathology, including gastric and duodenal ulcers and mucosa-associated lymphoma. It is a unique bacterium that is considered a carcinogenic agent. *H. pylori* remains a significant human health problem, responsible for ~90% of gastric cancers. In 2015 around four billion people worldwide were diagnosed with *H. pylori* infection.

In recent years, worldwide and in many European countries, there has been an alarming increase in antimicrobial resistance and, as a result, the failure of empiric *H. pylori* treatments. Therefore, rapidly and accurately determining *H. pylori* susceptibility to antibiotics before eradication regimens is becoming increasingly important. Traditionally, the detection of *H. pylori* and its antimicrobial resistance is determined by cultural and phenotypic drug susceptibility testing, which is cumbersome and time-consuming. Recent advances in diagnostics provide new tools, such as real-time polymerase chain reaction (PCR) and linear probe assays, to diagnose *H. pylori* infection and antimicrobial resistance to certain antibiotics directly from clinical specimens. In addition, high-throughput whole-genome sequencing technologies allow rapid analysis of the pathogen's genome, thereby enabling the identification of resistance mutations and associated antibiotic resistance.

The scientific novelty consists in bridging the gap between existing clinical and diagnostic practice (histology, rapid urease test, *H. pylori* culture, PCR, and linear probe assays) and the latest technologies (for example, high-throughput technologies for sequencing the entire *H. pylori* genome) with the aim of potential implementation in diagnostic laboratory conditions to improve public health.

Key words: *H. pylori*, invasive and non-invasive research methods, stomach, duodenum.

Connection of the publication with planned research works.

The study was conducted as part of the research work of the Department of General Medicine with a Physical Therapy course on the topic: "Modern methods of *Helicobacter pylori* research in gastroenterological practice", state registration number 0122U001470.

Introduction.

Helicobacter pylori infection is widespread in humans and can lead to severe gastrointestinal pathology, including gastric and duodenal ulcers and mucosa-asso-

ciated lymphoma [1, 2]. It is a unique bacterium considered a carcinogenic agent [2]. *Helicobacter pylori* remains a significant human health problem, responsible for ~90% of gastric cancers. In 2015, about four billion people worldwide were diagnosed with *Helicobacter pylori* infection [3].

In recent years, worldwide and in many European countries, there has been an alarming increase in resistance to antimicrobial drugs and, as a result, the failure of empirical methods of treatment of *Helicobacter pylori* [4]. Therefore, rapidly and accurately determining

Helicobacter pylori's sensitivity to antibiotics before eradication regimens is becoming increasingly important. Traditionally, the detection of *Helicobacter pylori* and its antimicrobial resistance is determined by cultural and phenotypic drug susceptibility testing, which is cumbersome and time-consuming. Recent advances in diagnostics provide new tools, such as real-time polymerase chain reaction (PCR) and linear probe assays, to diagnose *Helicobacter pylori* infection and antimicrobial resistance to certain antibiotics directly from clinical specimens. In addition, high-throughput whole-genome sequencing technologies allow rapid analysis of the pathogen's genome, thereby enabling the identification of resistance mutations and associated antibiotic resistance.

The bridging of the gap between existing clinical and diagnostic practice (histology, rapid urease test, *Helicobacter pylori* culture, PCR and linear probe assays) and new technologies (e.g. high-throughput whole-genome sequencing of *Helicobacter pylori*) with the aim of potential implementation in diagnostic laboratory settings will improve public health.

The aim of the study.

Review of currently available modern diagnostic methods for detecting *Helicobacter pylori*, its drug resistance and their application in monitoring and regulating *Helicobacter pylori*.

Object and research methods.

In order to achieve the set tasks, we were guided by the principles and requirements for selecting research methods. Scientific research made it possible to use a set of the following theoretical methods: self-analysis of scientific and educational-methodical sources made it possible to formulate the purpose of the study and identify problems, identify contradictions using induction and deduction methods, and confirm or refute scientific theory with existing practical data.

To qualitatively ensure the completeness and objectivity of the obtained data, theoretical analysis and generalization of modern scientific literature of leading scientists were carried out in the scientometric databases CAS, PubMed, Google Scholar, PubMed Central, Medline, Embase, Springer Nature, Wiley Online Library, Cochranelibrary, where there were issues of aetiology and pathogenesis of *Helicobacter pylori* are highlighted, modern methods of diagnosis of *Helicobacter pylori* in global gastroenterological practice, practical recommendations for the use of clinical diagnostic markers in the verification of *Helicobacter pylori*. While working on the research, 149 foreign sources of scientific literature were studied without any time limitations.

Inclusion criteria:

1. Original research manuscripts;
2. Characteristics of the aetiology and pathogenesis of *Helicobacter pylori* in the human population;
3. Use modern laboratory and diagnostic technologies to identify *Helicobacter pylori*.

Exclusion criteria:

1. Incident reports, comments, letters;
2. Characteristics of *Helicobacter pylori* isolates different from humans;
3. Original research manuscripts that did not meet the research goals.

The analysis of scientific and methodological, and professional specialized literature made it possible to

identify problems and perspectives in the diagnosis of *Helicobacter pylori*, to determine relevance, to specify the goal and task, to determine methods, to identify the novelty of the work, to generalize and justify the results of this study. In order to study the theoretical material and solve the set practical tasks, the following methods of analysis were used, which were based on setting the goal of the research and the analysis itself, on understanding the specifics of the material being studied, which made it possible to form the structure of the research, etc.

Research results and their discussion.

Certain microorganisms are involved in many malignancies worldwide, and conservative estimates suggest that >15% of all cancers are associated with infectious agents.

Helicobacter pylori (HP) infection is one of humans' most common chronic bacterial infections, affecting approximately 4.4 billion people worldwide [5]. Reported prevalence rates vary widely in different geographic regions, reaching the highest levels in developing countries and showing a well-established relationship with socioeconomic status and hygiene conditions [5, 6]. *Helicobacter pylori* infection causes chronic, progressive stomach inflammation and various diseases, including gastric and duodenal ulcers and gastric cancer.

Helicobacter pylori is of low virulence for many people, causing only mild inflammation and generating few, if any, symptoms of dyspepsia. For those with more severe inflammation, *Helicobacter pylori* infection may be the cause of dyspeptic symptoms. *Helicobacter pylori* infection is the dominant factor in peptic ulcer disease. Events that are considered important are the violation of gastritis homeostasis and the development of gastric metaplasia in the bulb [7].

It is long-term exposure to *Helicobacter pylori* that causes a markedly increased risk of gastric adenocarcinoma, the second leading cause of cancer death in the world, prompting the World Health Organization to recognize *Helicobacter pylori* as a Class I carcinogen. Approximately 660,000 new cases of gastric cancer per year are associated with *Helicobacter pylori*, making this pathogen the most common infectious agent associated with malignancy.

Helicobacter pylori is a gram-negative microaerophilic bacterium that infects the epithelial lining of the stomach. The discovery of *Helicobacter pylori* as a cause of peptic ulcer disease in 1983 led to a shift in the understanding of what was once a difficult and debilitating disease to one that could be reliably cured with a course of antibiotics, although concern is growing over the rise of antibiotic resistance [8, 9]. In many countries, the incidence rate of *Helicobacter pylori* is decreasing due to an increased standard of living [10, 11]. However, the distribution of this bacterium is still quite widespread, especially in the Far East. It is the main prerequisite for chronic gastritis and the primary etiological agent of gastric cancer and peptic ulcer disease [12, 13]. In most regions, the main mechanism of *Helicobacter pylori* spread is intrafamilial transmission [14]. Prevalence remains high in most developing countries and is generally related to socioeconomic status and level of hygiene. Currently, there is no data on *Helicobacter pylori*'s global and regional distribution.

Helicobacter pylori is known as one of the most common infectious pathogens, with high infection and recurrence rates worldwide. The prevalence of *Helicobacter pylori* is up to 90% in developing countries.

Helicobacter pylori is a gram-negative, flagellated bacterium. The causative organism belongs to several different genetic populations with high genetic diversity [15, 16]. The bacterium can survive in the presence of low oxygen levels.

Helicobacter pylori uses flagella-mediated motility to move to gastric epithelial cells and penetrate the mucosa [17]. After that, the organism crosses the acidic environment in a zone with appropriate conditions. The coccoid form enabled its colonization in the mucus layers [18, 19]. Attachment to the epithelial cells of the host occurs with the help of adhesin production [17, 20]. So far, several studies have shown that *Helicobacter pylori* colonization can be negatively and positively associated with the induction and progression of several diseases [5, 18, 21, 22]. *Helicobacter pylori* has been reported to be associated with gastric and duodenal ulcers, gastric carcinoma, and gastric mucosa-associated lymphoid tissue (MALT) lymphoma [23, 24, 25]. Several other studies report a positive correlation between gastrointestinal diseases and *Helicobacter pylori*. For example, a positive association between *Helicobacter pylori* and duodenal and gastric ulcers [26], gastritis [27] and oesophageal cancer [28] has been reported. In addition, there is evidence of a positive association between *Helicobacter pylori* and non-gastrointestinal diseases such as diabetes [29], coronary heart disease [30] and anaemia [31].

Most infections occur in childhood, when patients remain healthy carriers, showing symptoms later in adulthood. However, the vast majority of the infected population does not develop symptoms associated with *Helicobacter pylori* infection [18]. Unfortunately, there is no exact information about the transmission route of *Helicobacter pylori*. However, it has been suggested that the infection is transmitted by oral-oral and faecal-oral routes.

And although the pathogenic potential of *Helicobacter pylori* was evaluated several decades ago since its discovery in 1983, unfortunately, the resistance of *Helicobacter pylori* to antibiotic treatment is increasing every day, which complicates the treatment itself.

Eradication of *Helicobacter pylori* significantly reduces the risk of gastric adenocarcinoma in infected individuals; however, only a percentage of colonized individuals ever develop neoplasia. Disease risk involves well-tuned pathogen–host interactions that depend on strain-specific bacterial factors, host genotypic traits, and/or environmental conditions.

Universal testing and treatment strategies for *Helicobacter pylori* are not feasible due to the high prevalence of infection, as well as the costs and side effects of antibiotic therapy, and eradication rates are often less than 80% in regions of the world where gastric cancer is most common.

Helicobacter pylori is a human-specific pathogen that causes stomach pathologies, including stomach cancer. Both invasive and non-invasive methods can diagnose *Helicobacter pylori*. Urea breath test and determination of stool antigens are among the most commonly used non-invasive methods. Although the transmission route of *Helicobacter pylori* is still not fully understood, the

level of contamination is highly dependent on the family and environmental context, with a dramatic effect on living conditions with poor hygiene and sanitation. However, family socioeconomic status is the main risk factor for *Helicobacter pylori* infection among children. In addition, food and water have a significant influence on the prevalence of *Helicobacter pylori* infection worldwide.

Helicobacter pylori is a microaerophilic fastidious pathogen that can be detected in people of all ages worldwide, and its prevalence ranges from 20–80% [32, 33]. The accidental discovery of this bacterium by Marshall and Warren in 1983 led to dramatic changes in our understanding of acid-peptic diseases. They were later awarded the “Nobel Prize in Medicine and Physiology” in 2005 for discovering *Helicobacter pylori*. It has been reported that approximately 80% and 95% of gastric and duodenal ulcers, respectively, are caused by *Helicobacter pylori* [34]. Of the several diagnostic tests available for detecting *Helicobacter pylori* infection, each has certain advantages and disadvantages.

During the first years of *Helicobacter pylori* infection, endoscopy without biopsy remained highly unsatisfactory in establishing the diagnosis [35]. Today, the detection of *Helicobacter pylori* in biopsy specimens depends on histology, rapid urease test (RUT), culture, and PCR tests. Gastric juice testing, although not widely used, can also be used to evaluate *Helicobacter pylori* infection.

Histology. The presence of typical bacteria, along with an inflammatory reaction on slides, is considered a diagnostic test for *Helicobacter pylori* infection. Staining of smears such as Giemsa, acridine orange, Warthin Starry, Hp silver stain, Dieterle, Gimenez, McMullen, and immunostaining are used to detect *Helicobacter pylori*. Giemsa staining is usually used to detect *Helicobacter pylori*. Staining with hematoxylin and eosin helps to assess the severity of inflammation along with the detection of bacteria.

Urease test. *Helicobacter pylori* is known for producing large amounts of urease. The enzyme urease hydrolyzes urea with the release of CO₂ and NH₃. Detection of urease production was used as a surrogate marker for detecting bacteria in antral biopsies. The release of ammonia increases the test medium's pH, which is shown by a colour change using a pH indicator.

Cultural methods. *Helicobacter pylori* can be routinely isolated by culture from human gastric biopsy specimens. This bacterium needs a microaerophilic environment and complex environments [36].

Helicobacter pylori grows best in freshly prepared moist media incubated in a warm (37°C) atmosphere with 5%–10% CO₂, 80%–90% N₂, and 5%–10% O₂. A humid atmosphere enriched with H₂ (5%–8%) improves the yield of *Helicobacter pylori*. Primary isolation of the organism from gastric biopsies takes 5–7 days in a microaerobic atmosphere created by a variable-atmosphere incubator, partially evacuated anaerobic jars with certain gas-forming gas mixtures.

Stool culture. It is complicated to isolate *Helicobacter pylori* from stool samples. The explanation for this poor isolation is that *Helicobacter pylori* is sensitive to bile salts. Dore et al. [37] successfully isolated *Helicobacter pylori* after treatment with the bile-sequestrant cholestyramine before inoculation on a culture medium. However, similar *Helicobacter pylori* colonies must

be tested by molecular methods to confirm that they are indeed *Helicobacter pylori*.

Polymerase chain reaction (PCR). Conserved genes used to detect *Helicobacter pylori* are the urease operon: *ureA* and *glmM*, also known as *ureC*, or 16S rRNA, 23S rRNA and *Hsp60* [38] gene. It is necessary to know the DNA sequence of the target gene in strains of *Helicobacter pylori* and other related bacterial species as much as possible to create specific primers. The highly conserved 16S rRNA gene in bacteria shows sequences common to different *Helicobacter* species. A 109 bp amplicon is specific for *Helicobacter pylori* 16S rRNA which has also been observed to occasionally amplify in human tissues, compromising the appropriate diagnosis of *Helicobacter pylori*.

Urea breath test. The urea breath test (UBT) is often considered the gold standard in diagnosing *Helicobacter pylori* infection [38]. UBT consistently outperforms many other available tests. In this test, ^{13}C – or ^{14}C -labeled urea is given to the patient, where it is broken down in the stomach by the enzyme urease, produced by *Helicobacter pylori* if it is present. Radioactive $^{13}\text{CO}_2$ or $^{14}\text{CO}_2$ is released by diffusing in the blood, released in the lungs. Here, exhaled air is collected to measure the activity of labelled carbon.

Serological/immunological/antigen-antibody determination test. Detection of antibodies. Immunoblot analysis of the serum of patients infected with *Helicobacter pylori* has shown several antigens capable of inducing an immune response. Basically, *Helicobacter pylori* infection is a chronic condition, and therefore the IgG reaction predominates.

Studies have shown that the sensitivity and specificity of serological methods for detecting *Helicobacter pylori* ranges from 80 to 90%. But these observations must be considered in the light of the fact that the host immune response varies from individual to individual, as well as the duration of exposure, nutritional status, cross-antigenicity with other common antigenically related bacteria (e.g., *Campylobacter*, etc.) in the endemic area.

Saliva. Saliva is another sample that can be collected non-invasively, and the excretion of IgG and IgA is known. Studies have shown that although *Helicobacter pylori*-specific IgA cannot differentiate between infected and uninfected individuals, the detection of IgG can aid in the diagnosis [38]. Although the specificity of detecting IgG against *Helicobacter pylori* can be improved by immunoblotting, the sensitivity is relatively low and rarely reaches 90%. However, better results were reported in cases of high serum titers and in children older than five years.

Detection of antigen. *Helicobacter pylori* antigen was successfully detected in stool samples for the first time in 1997. Using polyclonal antibodies, sensitivity and specificity were found to be 88.8% and 94.5%, respectively [38]. In another study by Vaira et al. [39], a sensitivity of 94.1% and a specificity of 91.8% could be observed. The advantage of the antigen detection test is to assess the eradication of *Helicobacter pylori* infection. However, a false negative may also be reported if the antigen concentration becomes low. Later, a new generation of stool antigen kits using monoclonal antibodies was developed, giving comparable accuracy to UBTs.

Detection of *Helicobacter pylori* in the oral cavity. It has been reported that the oral cavity may only be a temporary reservoir, as *Helicobacter pylori* enters here by belching or vomiting.

PCR-based studies for the detection of *Helicobacter pylori* in the oral cavity (saliva/plaque) have given a mixed report, as many uncharacterized bacteria closely related to *Helicobacter pylori* are present in the oral cavity and gastrointestinal tract, results should be considered positive if at least two target conserved genes specific for *Helicobacter pylori* give the expected amplification.

Antibiotic resistance in *Helicobacter pylori*. The only currently effective treatment against *Helicobacter pylori* infection involves antibiotics. The main mechanisms of antibiotic resistance in *Helicobacter pylori* include mutations that impair the ability of antibiotics to bind ribosomes and interfere with protein synthesis, mutations affecting DNA replication and transcription, mutations that modify penicillin-binding proteins involved in peptidoglycan biosynthesis [40]. If *Helicobacter pylori* easily develops drug resistance to particular antibiotics, combined therapy of several antibiotics is recommended.

Next generation sequencing and *Helicobacter pylori*. Assessment of the human gut microbiome in health and disease is a hot topic in the medical sciences. Changes in the intestinal microbial composition after *Helicobacter pylori* infection can cause pathogenesis and various disorders.

One of the limitations of using DNA-based methods to quantify the bacterial abundance and calculate the dysbacteriosis index is that all microorganisms present in the human gut have been shown to include dead bacteria and DNA contamination (e.g., from careless sampling, unsterile laboratory procedures, or chemicals for extraction and sequencing). In contrast, the use of meta-transcriptomics allows the investigation of only the viable and transcriptionally active part of the microbial community of the human gut.

Any of the tests can be used for the initial diagnosis of *Helicobacter pylori*. At the same time, the urease breath test is the “gold standard” in diagnosing *Helicobacter pylori* infection [41].

Non-invasive tests provide high reliability in detecting *Helicobacter pylori* due to their high sensitivity and specificity. However, all these methods have limitations. The choice of a specific test will depend on its sensitivity, specificity and clinical circumstances [42].

According to the recommendations of the Maas-tricht V international consensus (2016) and the Kyoto consensus (2015), three – or four-component variants of *Helicobacter pylori* eradication therapy are used. An essential element of eradication therapy is effective acid suppression – the use of agents that suppress the acid-producing function of the stomach.

In predicting the effectiveness of anti-helicobacter therapy in a specific patient, it is necessary to take into account, on the one hand, the situation with resistance to antibiotics (clarithromycin and metronidazole) in a given geographic region and, on the other hand, the history of previous use of antibiotics.

Since therapy containing 2 or 3 antibiotics, depending on the clinical case, lasts 10 or 14 days, the patient may develop dysbiosis of the cavity contents of the large intestine. This therapy should be carried out only under

the close supervision of a doctor. The most common consequence of the uncontrolled use of antibiotics is antibiotic-associated diarrhoea and other manifestations of dysbiosis, which require additional, long-term treatment. For the prevention of dysbiosis of the large intestine during eradication of *Helicobacter pylori* and other cases of antibiotic use, it is recommended to use probiotics – preparations containing lacto – and bifidobacteria or saccharomycetes Boulardi from the first day of antibiotic therapy throughout the course [43, 44, 45].

The high prevalence and etiopathogenetic relationship of *H. pylori* with the most significant stomach diseases emphasizes the need to optimize the diagnosis of this infection, taking into account the sensitivity and specificity of the tests and the conditions of their use. The infection must be detected before therapy is prescribed, and its success must be confirmed after treatment.

The development of modern diagnostic methods allows more accurate and reliable diagnosis of *H. pylori* infections. The choice of method will depend on availability, their advantages and disadvantages, sensitivity and specificity, and the different clinical circumstances of each patient.

Conclusions.

The choice of diagnostic tests to determine the status of *Helicobacter pylori* infection depends on sensitivity, specificity, reproducibility, cost, availability, and speed of results. There is a need to use a reference method as a “gold standard” to identify patients truly infected with this bacterium. Unfortunately, none of the currently used methods can improve this criterion.

One solution is to combine the results of two or more techniques and compare them with the results of each evaluated method. PCR may be a slightly better diagnostic marker than other methods to detect *Helicobacter pylori* infection and confirm the eradication of *Helicobacter pylori* after treatment. As mentioned above, PCR is considered a highly sensitive method for detecting *Helicobacter pylori* DNA from various clinical samples and provides valuable information about the presence of genes encoding specific virulence factors and antibiotic resistance. In contrast, the sensitivities and specificities of serological tests, breath urea, faecal antigen, rapid urease tests, histology, PCR, and culture were found to be 85% and 79%, 75%–100%, and 77%–100%, 67%–100% and 61%–100%, 75%–100% and 84%–100%, 66%–100% and 94%–100%, 75%–100% and 84%–100% and 55%–56% and 100%, respectively.

PCR sensitivity can be increased by performing inserted or semi-inserted approaches. However, such approaches may increase the likelihood of false-positive results caused by cross-contamination and the detection of DNA from dead bacteria. The low culture positivity rate (69%) may be due to the small number of organisms, the presence of uncultivable coccoid forms, the absence of microorganisms in the stomach biopsy, loss of viability during transport, stringent growth requirements, or contamination with other bacteria that inhibit the growth of *Helicobacter pylori* or taking antibiotics. For these reasons, the percentage of agreement/disagreement was preferred for comparing culture results with those of corresponding samples by other diagnostic methods. So-called false-positive results from real-time PCR or inserted PCR may not be true false-positives; rather, results obtained with a relatively less sensitive culture method may be false-negative.

Although PCR can be used as the gold standard, provided that the possibility of contamination is excluded, the method should be suggested based on the level of diagnostic tools available. If endoscopic facilities are unavailable in peripheral or underdeveloped regions, diagnosis by SAT using monoclonal antibody-based kits can be applied to stool samples. When a UBT system is available but endoscopic equipment is not available, this test should be considered the best option. Although serology is often misleading, it may be best for children where sanitation is satisfactory, and the prevalence of infection is low, especially in the pediatric age group. Therefore, the usefulness of each invasive and noninvasive test is almost equally important depending on the given clinical situation.

Prospects for further research.

Future studies should aim to detect *Helicobacter pylori* and associated resistance mutations directly from clinical samples (gastric or stool biopsies) using metagenomic and/or metatranscriptomic sequencing.

There has been tremendous scientific progress in this area, and commercial protocols (e.g., RiboZero (Illumina), RiboGold (Illumina), MIC-ROBExpress (Ambion, Invitrogen)) are becoming available to deplete human DNA or enrich bacterial DNA before performing WGS, thereby increasing the efficiency and cost-effectiveness of NGS due to less background human DNA in clinical samples. The prospect of culture-independent approaches to detecting *Helicobacter pylori* and assessing antibiotic resistance is particularly interesting.

DOI 10.29254/2077-4214-2023-2-169-44-55

УДК 616.12-005.4-074

Говоруха О. Ю., Шевченко Т. М.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ *HELICOBACTER PYLORI* В ГАСТРОЕНТЕРОЛОГІЧНІЙ ПРАКТИЦІ

Дніпровський національний університет ім. О. Гончара (м. Дніпро, Україна)

elenagovorukha2411@gmail.com

Інфекція Helicobacter pylori (H. pylori) широко поширена серед людей і може призвести до важкої шлунково-кишкової патології, включаючи виразку шлунку та дванадцятипалої кишки, лімфому, пов'язану зі слизовою оболонкою. Це надзвичайно унікальна бактерія, яка вважається канцерогенним агентом. H. pylori залишається основною проблемою здоров'я людини, що відповідає за ~90 % випадків раку шлунку. У 2015 році в усьому світі було виявлено близько чотирьох мільярдів людей на інфекцію H. pylori.

Останніми роками у всьому світі, а також у багатьох європейських країнах, було відмічено тривожне зростання резистентності до антимікробних препаратів і, як наслідок, невдач емпіричних методів лікування *H. pylori*. Тому швидке та точне визначення чутливості *H. pylori* до антибіотиків перед застосуванням схем ерадикації стає все більш важливим. Традиційно виявлення *H. pylori* та її антимікробна резистентність визначається шляхом культурального та фенотипового тестування чутливості до лікарських засобів, які є громіздкими та займають багато часу. Останні досягнення в діагностиці надають нові інструменти, такі як полімеразна ланцюгова реакція (ПЛР) у режимі реального часу та аналізи лінійного зонда, для діагностики інфекції *H. pylori* та антимікробної стійкості до певних антибіотиків безпосередньо з клінічних зразків. Крім того, високопродуктивні технології секвенування всього геному дозволяють швидко аналізувати геном збудника, тим самим даючи можливість ідентифікувати мутації резистентності та пов'язану резистентність до антибіотиків.

Наукова новизна полягає у подоланні розриву між існуючою клініко-діагностичною практикою (гістологія, швидкий тест на уреазу, культура *H. pylori*, ПЛР та аналізи лінійним зондом) та новітніми технологіями (на прикладі високопродуктивних технологій секвенування всього геному *H. pylori*) з метою потенційного впровадження у діагностичні лабораторні умови для покращення здоров'я населення.

Ключові слова: *H. pylori*, інвазивні та неінвазивні методи дослідження, шлунок, дванадцятипала кишка.

Зв'язок публікації з плановими науково-дослідними роботами.

Дослідження проводилось в рамках науково-дослідної роботи кафедри загальної медицини з курсом фізичної терапії на тему: «Сучасні методи дослідження *Helicobacter pylori* в гастроентерологічній практиці», державний реєстраційний номер 0122U001470.

Вступ.

Інфекція *Helicobacter pylori* широко поширена серед людей і може призвести до важкої шлунково-кишкової патології, включаючи виразку шлунку та дванадцятипалої кишки, лімфому, пов'язану зі слизовою оболонкою [1, 2]. Це надзвичайно унікальна бактерія, яка вважається канцерогенним агентом [2]. *Helicobacter pylori* залишається основною проблемою здоров'я людини, що відповідає за ~90% випадків раку шлунку. У 2015 році у всьому світі було виявлено близько чотирьох мільярдів людей на інфекцію *Helicobacter pylori* [3].

Останніми роками у всьому світі, а також у багатьох європейських країнах, було відмічено тривожне зростання резистентності до антимікробних препаратів і, як наслідок, невдач емпіричних методів лікування *Helicobacter pylori* [4]. Тому швидке та точне визначення чутливості *Helicobacter pylori* до антибіотиків перед застосуванням схем ерадикації стає все більш важливим. Традиційно виявлення *Helicobacter pylori* та її антимікробна резистентність визначається шляхом культурального та фенотипового тестування чутливості до лікарських засобів, які є громіздкими та займають багато часу. Останні досягнення в діагностиці надають нові інструменти, такі як полімеразна ланцюгова реакція (ПЛР) у режимі реального часу та аналізи лінійного зонда, для діагностики інфекції *Helicobacter pylori* та антимікробної стійкості до певних антибіотиків безпосередньо з клінічних зразків. Крім того, високопродуктивні технології секвенування всього геному дозволяють швидко аналізувати геном збудника, тим самим даючи можливість ідентифікувати мутації резистентності та пов'язану резистентність до антибіотиків.

Подолання розриву між існуючою клініко-діагностичною практикою (гістологія, швидкий тест на уреазу, культура *Helicobacter pylori*, ПЛР та аналізи лінійним зондом) та новітніми технологіями (на прикладі високопродуктивних технологій секвенування всього геному *Helicobacter pylori*) з метою потен-

ційного впровадження у діагностичні лабораторні умови для покращення здоров'я населення.

Мета дослідження.

Огляд доступних на даний момент сучасних діагностичних методів для виявлення *Helicobacter pylori*, його лікарської стійкості та їх застосування в моніторингу й регуляції *Helicobacter pylori*.

Об'єкт і методи дослідження.

З метою досягнення поставлених завдань, ми керувалися принципами та вимогами до підбору методів дослідження. Науковий пошук дозволив використати сукупність таких теоретичних методів: самоаналіз наукових та навчально-методичних джерел дав можливість сформулювати мету дослідження та позначити проблеми (задачі), виявити суперечності за допомогою методів індукції та дедукції, підтвердити чи спростувати наукову теорію існуючими практичними даними.

Для якісного забезпечення повноти та об'єктивності отриманих даних, було проведено теоретичний аналіз та узагальнення сучасної наукової літератури провідних науковців у наукометричних базах CAS, PubMed, Google Scholar, PubMed Central, Medline, Embase, Springer Nature, Wiley Online Library, Cochranlibrary, де були висвітлені питання етіології та патогенезу *Helicobacter pylori*, сучасні методи діагностики *Helicobacter pylori* у світовій гастроентерологічній практиці, практичні рекомендації щодо застосування клініко-діагностичних маркерів у верифікації *Helicobacter pylori*. У процесі роботи над дослідженням було вивчено 149 іноземних джерел наукової літератури без будь-яких обмежень у часі.

Критерії включення:

Оригінальні дослідницькі рукописи;

Характеристика етіології та патогенезу *Helicobacter pylori* у людській популяції;

Використання сучасних лабораторно-діагностичних технологій для ідентифікації *Helicobacter pylori*.

Критерії виключення:

Звіти про випадки, коментарі, листи;

Характеристика ізолятів *Helicobacter pylori*, відмінних від людини;

Оригінальні дослідницькі рукописи, які не відповідали поставленим задачам дослідження.

Проведений аналіз науково-методичної та фахової спеціалізованої літератури дав можливість виявити проблеми та перспективи у діагностиці

Helicobacter pylori, визначити актуальність, конкретизувати мету і завдання, визначити методи, виявити новизну роботи, провести узагальнення й обґрунтування результатів даного дослідження. З метою вивчення теоретичного матеріалу та вирішення поставлених практичних завдань були використані такі методики аналізу, які ґрунтувалися на постановці мети дослідження та самого аналізу, на розумінні специфіки матеріалу, який вивчався, дозволив сформувати структуру дослідження тощо.

Результати дослідження та їх обговорення.

Певні види мікроорганізмів беруть участь у виникненні значної кількості злоякісних новоутворень у всьому світі, і консервативні оцінки показують, що >15% усіх випадків раку пов'язані з інфекційними агентами.

Інфекція *Helicobacter pylori* (HP) є однією з найпоширеніших хронічних бактеріальних інфекцій у людей, яка вражає приблизно 4,4 мільярда людей у всьому світі [5]. Повідомлення про рівень поширеності інфекції в різних географічних регіонах коливаються в широких межах, досягаючи найвищого рівня в країнах, що розвиваються, і показують добре встановлений зв'язок із соціально-економічним статусом та умовами гігієни [5, 6]. Інфекція *Helicobacter pylori* викликає хронічне прогресуюче запалення шлунка та різноманітні захворювання, включаючи виразку шлунка та дванадцятипалої кишки та рак шлунка.

Helicobacter pylori для багатьох людей має низьку вірулентність, спричиняючи лише легке запалення та генеруючи незначні симптоми диспепсії, якщо такі є. Для тих, хто має більш важке запалення, інфекція *Helicobacter pylori* може бути причиною виникнення диспепсичних симптомів. Інфекція *Helicobacter pylori* є домінуючим фактором виразкової хвороби. Подіями, які вважаються важливими, є порушення гомеостазу гастриту та розвиток шлункової метаболізму в цибуліні [7].

Саме довготривале ураження *Helicobacter pylori* спричиняє помітний підвищений ризик до появи аденокарциноми шлунка, другої провідної причини смерті від раку в світі, що спонукало Всесвітню організацію охорони здоров'я визнати *Helicobacter pylori* канцерогеном I класу. Приблизно 660000 нових випадків раку шлунка на рік пов'язані з *Helicobacter pylori*, що робить цей патоген найпоширенішим інфекційним агентом, пов'язаним із злоякісними новоутвореннями.

Helicobacter pylori є грамнегативною мікроаерофільною бактерією, яка вражає епітеліальну оболонку шлунка. Відкриття *Helicobacter pylori* як причини виразкової хвороби в 1983 році призвело до зміни розуміння того, що колись було важким і виснажливим захворюванням, на таке, яке можна було надійно вилікувати за допомогою курсу антибіотиків, хоча занепокоєння нарастає через зростання резистентності до антибіотиків [8, 9]. У багатьох країнах рівень захворюваності на *Helicobacter pylori* зменшується у зв'язку з підвищенням рівня життя [10, 11]. Проте поширеність цієї бактерії все ще є досить розповсюдженою, особливо на Далекому Сході. Це основна передумова виникнення хронічного гастриту та основний етіологічний агент раку шлунка та виразкової хвороби [12, 13]. У більшості регіонів основним механізмом поширення *Helicobacter pylori* є внутріш-

ньосімейна передача [14]. Поширеність залишається високою у більшості країн, що розвиваються, і загалом пов'язана із соціально-економічним статусом та рівнем гігієни. Наразі відсутні дані щодо глобального та регіонального поширення *Helicobacter pylori*.

Helicobacter pylori відомий як один з найпоширеніших інфекційних патогенів з високим рівнем інфекцій та рецидивів у всьому світі. Поширеність *Helicobacter pylori* становить до 90% у країнах, що розвиваються.

Helicobacter pylori – грамнегативна, джгутикова бактерія. Організм збудника належить до кількох різних генетичних популяцій, які демонструють високу генетичну різноманітність [15, 16]. Бактерія може вижити за наявності низького рівня кисню.

Helicobacter pylori використовує рухливість, опосередковану джгутиками, для руху до епітеліальних клітин шлунка та проникнення через слизову оболонку [17]. Після цього організм перетинає кисле середовище в зоні з відповідними умовами. Кокоїдна форма уможливила її колонізацію в шарах слизу [18, 19]. Прикріплення до епітеліальних клітин хазяїна відбувається за допомогою виробництва адгезину [17, 20]. Наразі кілька досліджень показали, що колонізація *Helicobacter pylori* може бути негативною та позитивно пов'язана з індукцією та прогресуванням кількох захворювань [5, 18, 21, 22]. Повідомляється, що *Helicobacter pylori* пов'язаний з виразкою шлунка та дванадцятипалої кишки, карциномою шлунка та лімфомою лімфоїдної тканини, асоційованої зі слизовою оболонкою шлунка (MALT) [23, 24, 25]. Є також кілька інших досліджень, які повідомляють про позитивну кореляцію між шлунково-кишковими захворюваннями та *Helicobacter pylori*. Наприклад, повідомлялося про позитивний зв'язок між *Helicobacter pylori* та виразкою дванадцятипалої кишки та виразкою шлунка [26], гастритом [27] та раком стравоходу [28]. Крім того, є докази позитивного зв'язку між *Helicobacter pylori* та нешлунково-кишковими захворюваннями, такими як цукровий діабет [29], ішемічна хвороба серця [30] та анемія [31].

Здебільшого зараження відбувається у дитинстві, коли пацієнти залишаються здоровими носіями, проявляючи симптоми пізніше в дорослому віці. Однак у переважної більшості інфікованої популяції не розвиваються симптоми, пов'язані з інфекцією *Helicobacter pylori* [18]. На жаль, немає точних відомостей про шлях передачі *Helicobacter pylori*. Проте було припущено, що інфекція передається орально-оральним та фекально-оральним шляхами.

І хоча патогенний потенціал *Helicobacter pylori* був оцінений кілька десятиліть тому з моменту його відкриття у 1983 році, на жаль, стійкість *Helicobacter pylori* до лікування антибіотиками щодня зростає, що ускладнює сам процес лікування.

Ерадикація *Helicobacter pylori* значно знижує ризик розвитку аденокарциноми шлунка у інфікованих осіб; однак лише у відсотка колонізованих людей коли-небудь розвивається неоплазія. Ризик захворювання включає добре відлаштовані взаємодії між патогеном та хазяїном, які залежать від специфічних до штаму бактеріальних факторів, генотипових ознак господаря та/або умов навколишнього середовища.

Універсальні стратегії тестування та лікування *Helicobacter pylori* неможливі через високу пошире-

ність інфекції, а також через витрати та побічні ефекти антибіотикотерапії, до того ж показники ліквідації часто становлять менше 80% у регіонах світу, де рак шлунка найбільш поширений.

Helicobacter pylori є специфічним для людини збудником, який призводить до патологій шлунка, включаючи рак шлунка. *Helicobacter pylori* можна діагностувати як інвазивними, так і неінвазивними методами. Дихальний тест на сечовину та визначення антигенів калу є одними з найбільш часто використовуваних неінвазивних методів. Незважаючи на те, що шлях передачі *Helicobacter pylori* все ще залишається не зовсім зрозумілим, рівень контамінації сильно залежить від сімейного та екологічного контексту з різким впливом умов життя з поганою гігієною та санітарією. Однак сімейний соціально-економічний статус є основним фактором ризику інфікування *Helicobacter pylori* серед дітей. Крім того, їжа та вода мають великий вплив на поширеність інфекції *Helicobacter pylori* у всьому світі.

Helicobacter pylori є мікроаерофільним вибагливим збудником, який може бути виявленим у людей різного віку в усьому світі, і його поширеність коливається в межах 20–80% [32, 33]. Випадкове відкриття цієї бактерії Маршаллом і Уорреном у 1983 році призвело до кардинальних змін у нашому розумінні кислих пептичних захворювань. Пізніше у 2005 році вони були нагороджені «Нобелівською премією з медицини та фізіології» за відкриття *Helicobacter pylori*. Повідомлялося, що приблизно 80% та 95% виразки шлунка і дванадцятипалої кишки відповідно викликані *Helicobacter pylori* [34]. З кількох доступних діагностичних тестів для виявлення інфекції *Helicobacter pylori* кожен окремо має певні переваги та недоліки.

Протягом перших років інфекції *Helicobacter pylori* ендоскопія без біопсії залишалася вкрай незадовільною для встановлення діагнозу [35]. Сьогодні виявлення *Helicobacter pylori* у зразках біопсії залежить від гістології, швидкого уреазного тесту (RUT), культури та ПЛР-тестів. Дослідження шлункового соку, хоча і не широко використовується, але також може бути використане для оцінки інфекції *Helicobacter pylori*.

Гістологія. Наявність типових бактерій поряд із запальною реакцією на предметних скельцях вважається діагностичним тестом на інфекцію *Helicobacter pylori*. Фарбування мазків, таких як Giemsa, акридинний помаранчевий, Warthin Starry, Hp silver stain, Dieterle, Gimenez, McMullen; та імунне фарбування використовуються для виявлення *Helicobacter pylori*. Зазвичай для виявлення *Helicobacter pylori* використовується фарбування за методикою Гімзе. Забарвлення гематоксиліном та еозином допомагає оцінити тяжкість запалення разом із виявленням бактерій.

Тест уреаз. *Helicobacter pylori* відомий тим, що виробляє велику кількість уреаз. Фермент уреаз гідролізує сечовину з виділенням CO_2 та NH_3 . Виявлення продукції уреаз використовувалося як сурогатний маркер для виявлення бактерії в антральних біоптатах. Вивільнення аміаку підвищує pH досліджуваного середовища, і це проявляється зміною кольору за допомогою індикатора pH.

Культуральні методи. *Helicobacter pylori* можна регулярно виділяти за допомогою культури із зразків біопсії шлунка людини. Дана бактерія потребує

мікроаерофільного середовища та складних середовищ [36].

Найкраще *Helicobacter pylori* ростуть у свіжоприготованих вологих середовищах, інкубованих у теплій (37°C) атмосфері з 5%–10% CO_2 , 80%–90% N_2 і 5%–10% O_2 . Волога атмосфера, збагачена H_2 (5%–8%) покращує вихід *Helicobacter pylori*. Первинна ізоляція організму із біоптатів шлунка триває 5–7 днів у мікроаеробній атмосфері, створеній інкубатором зі змінною атмосферою, частково евакуйованими анаеробними баночками з певними газовими сумішами, що утворюють газ.

Культура калу. Виділити *Helicobacter pylori* із зразків калу дуже важко. Пояснення цієї поганої ізоляції: *Helicobacter pylori* чутливий до білярних солей. Dore та інші [37] повідомили про успішне виділення *Helicobacter pylori* після обробки холестираміном, що секвеструє жовч, перед посівом на культуральне середовище. Однак схожі колонії *Helicobacter pylori* повинні бути перевірені молекулярними методами, щоб підтвердити, що це дійсно *Helicobacter pylori*.

Полімеразна ланцюгова реакція (ПЛР). Збережені гени, які використовуються для виявлення *Helicobacter pylori*, це оперон уреаз: *ureA* і *glmM*, також відомий як *ureC*, або 16S рРНК, 23S рРНК та *Hsp60* [38] ген. Необхідно знати послідовність ДНК цільового гена у штамів *Helicobacter pylori* та інші споріднені види бактерій, наскільки це можливо для створення специфічних праймерів. Висококонсервативний ген 16S рРНК у бактеріях демонструє послідовності, спільні для різних видів *Helicobacter*. Також спостерігалось, що амплікон 109 bp, специфічний для 16S рРНК *Helicobacter pylori*, іноді ампліфікується в тканинах людини, що ставить під загрозу відповідний діагноз *Helicobacter pylori*.

Дихальний тест на сечовину. Використання дихального тесту на сечовину (UBT) часто вважається золотим стандартом у діагностиці інфекції *Helicobacter pylori* [38]. UBT постійно дає кращі результати у порівнянні з багатьма іншими доступними тестами. У цьому тесті сечовина, мічена ^{13}C або ^{14}C , подається пацієнту, де в шлунку розщеплюється ферментом уреазою, який виробляє *Helicobacter pylori*, якщо він присутній у шлунку. Виділяється радіоактивний $^{13}\text{CO}_2$ або $^{14}\text{CO}_2$ дифундує в крові, що виділяється в легенях. Тут повітря, що видихається, збирається для вимірювання активності міченого вуглецю.

Серологічний/імунологічний/тест на визначення антигенів-антитіл. Виявлення антитіл. Імуноблот-аналіз сироватки пацієнтів, інфікованих *Helicobacter pylori*, показав, що існує кілька антигенів, здатних викликати імунну відповідь. В основному інфекція *Helicobacter pylori* є хронічним станом, і тому IgG-реакція переважає.

Дослідження показали, що чутливість і специфічність серологічних методів виявлення *Helicobacter pylori* коливається в межах 80–90%. Але ці спостереження слід розглядати у світлі того факту, що імунна відповідь господаря варіюється від індивіда до індивіда, а також тривалість впливу, статус харчування, перехресна антигенність з іншими поширеними антигенно спорідненими бактеріями (наприклад, *Campylobacter* тощо) в ендемічній зоні.

Слина. Слина є іншим зразком, який може бути зібраний неінвазивно, і виведення IgG та IgA відомі. Існують дослідження, які показали, що хоча *Helicobacter pylori* специфічний IgA не в змозі відрізнити інфікованих і неінфікованих осіб, виявлення IgG може допомогти у постановці діагнозу [38]. Хоча специфічність виявлення IgG проти *Helicobacter pylori* можна покращити за допомогою імуноблотингу, чутливість досить низька і рідко досягає 90%. Проте кращі результати були зареєстровані у випадках високого сироваткового титру та у дітей старше 5 років.

Виявлення антигену. Антиген *Helicobacter pylori* у зразках калу було успішно виявлено вперше в 1997 році. Використовуючи поліклональні антитіла, було встановлено, що чутливість і специфічність становлять 88,8% і 94,5% відповідно [38]. В іншому дослідженні, проведеному Вайра та співавторами [39], можна було спостерігати чутливість 94,1% і специфічність 91,8%. Перевага тесту на виявлення антигену полягає в оцінці ерадикації інфекції *Helicobacter pylori*. Однак, якщо концентрація антигену стає низькою, також можуть повідомити про помилковий негатив. Пізніше було розроблено нове покоління наборів антигенів калу з використанням моноклональних антитіл, що дають порівнянну точність з точністю UBT.

Виявлення *Helicobacter pylori* в ротовій порожнині. Повідомлялося, що ротова порожнина може бути лише тимчасовим резервуаром, оскільки *Helicobacter pylori* надходить сюди шляхом відрижки або блювоти.

Дослідження на основі ПЛР щодо виявлення *Helicobacter pylori* в ротовій порожнині (слина/зубний наліт) показали різний звіт, оскільки багато неохарактеризованих бактерій, тісно пов'язаних з *Helicobacter pylori*, присутні в ротовій порожнині та ямці шлунково-кишкового тракту, результати слід враховувати позитивний, якщо принаймні два цільових консервативних гена, специфічних для *Helicobacter pylori*, дають очікувану ампліфікацію.

Стійкість до антибіотиків у *Helicobacter pylori*. Єдине на даний момент ефективне лікування проти інфекції *Helicobacter pylori* включає використання антибіотиків. Основні механізми розвитку резистентності до антибіотиків у *Helicobacter pylori* включають мутації, які погіршують здатність антибіотиків зв'язувати рибосоми та перешкоджають синтезу білка; мутації, що впливають на реплікацію та транскрипцію ДНК; мутації, які модифікують білки, що зв'язують пеніцилін, що беруть участь у біосинтезі пептидогліканів [40]. Якщо у *Helicobacter pylori* легко розвивається лікарська стійкість до окремих антибіотиків, рекомендується комбінована терапія кількох антибіотиків.

Секвенція наступного покоління і *Helicobacter pylori*. Оцінка мікробіому кишечника людини в стані здоров'я та захворювань є гарною темою в медичних науках. Зміни мікробного складу кишечника після інфікування *Helicobacter pylori* можуть спричинити патогенез та різні розлади.

Одним з обмежень використання методів на основі ДНК для визначення чисельності бактерій та розрахунку індексу дисбактеріозу є те, що всі мікроорганізми, які присутні в кишечнику людини, як виявилось, включають мертві бактерії та забруднення ДНК (наприклад, від необережного відбору проб,

нестерильні лабораторні процедури або хімічні речовини для екстракції та секвенування). Навпаки, використання мета-транскриптоміки дозволяє досліджувати лише життєздатну та транскрипційно активну частку мікробної спільноти кишечника людини.

Будь-який із тестів може бути використаний для первинної діагностики *Helicobacter pylori*. При цьому, уреазний дихальний тест є «золотим стандартом» у діагностиці інфекції *Helicobacter pylori* [41].

Неінвазивні тести забезпечують високу надійність у виявленні *Helicobacter pylori* завдяки своїй високій чутливості та специфічності. Проте всі ці методи мають обмеження. Вибір конкретного тесту буде залежати від його чутливості, специфічності та клінічних обставин [42].

Згідно з рекомендаціями міжнародного консенсусу Маастрихт V (2016) та Кіотського консенсусу (2015), використовуються трьох – або чотирьохкомпонентні варіанти ерадикаційної терапії *Helicobacter pylori*. Важливим елементом ерадикаційної терапії є ефективна кислотосупресія – використання засобів, які пригнічують кислототвірну функцію шлунка.

У прогнозуванні ефективності антихелікобактерної терапії у конкретного пацієнта потрібно враховувати, з одного боку, ситуацію з резистентністю до антибіотиків (кларитроміцину та метронідазолу) в даному географічному регіоні, з іншого – анамнез використання раніше антибіотиків.

Оскільки терапія, що містить 2 або 3 антибіотики, залежно від клінічного випадку та триває 10 або 14 днів, у хворого може розвинути дисбіоз порожнинного вмісту товстої кишки. Дана терапія повинна проводитись лише під ретельним наглядом лікаря. Наслідком, який найчастіше виникає внаслідок безконтрольного вживання антибіотиків, є антибіотикасоційована діарея та інші прояви дисбіозу, які потребують додаткового, досить тривалого лікування. Для профілактики дисбіозу товстої кишки при ерадикації *Helicobacter pylori* та інших випадках застосування антибіотиків рекомендують вживання пробіотиків – препаратів, що містять лакто – та біфідобактерії або сахароміцети Буларді з першого дня антибіотикотерапії упродовж усього курсу [43, 44, 45].

Висока поширеність та етіопатогенетичний зв'язок *H. pylori* з найбільш значущими захворюваннями шлунка підкреслює необхідність оптимізації діагностики цієї інфекції з урахуванням чутливості та специфічності тестів, а також умов їх застосування. Інфекцію необхідно виявити до призначення терапії, а її успіх має бути підтверджений після лікування.

Розробки сучасних методів діагностики дозволяють точніше та надійніше діагностувати *H. pylori* інфекції. Вибір методу буде залежати від доступності, їх переваг та недоліків, чутливості та специфічності й різних клінічних обставин кожного пацієнта.

Висновки.

Вибір діагностичних тестів для визначення статусу інфекції *Helicobacter pylori* залежить від чутливості, специфічності, відтворюваності, вартості доступності та швидкості результатів. Існує потреба у використанні референтного методу як «золотого стандарту» для виявлення пацієнтів, справді інфікованих даною бактерією. На жаль, жоден із застосовуваних на даний момент методів не здатний удосконалити цей критерій.

Одним з рішень є об'єднання результатів двох або більше методик та порівняння з результатами кожного методу, що оцінюється. ПЛР може бути дещо кращим діагностичним маркером, порівняно з іншими методами для виявлення інфекції *Helicobacter pylori* та для підтвердження ерадикації *Helicobacter pylori* після лікування. Як зазначалося вище, ПЛР вважається високочутливим методом виявлення ДНК *Helicobacter pylori* з різних клінічних зразків і надає корисну інформацію про наявність генів, що кодують специфічні фактори вірулентності та стійкість до антибіотиків. На відміну від цього, виявлено, що чутливість та специфічність серологічних аналізів, сечовини дихання, фекального антигену, експрес-тестів на уреазу, гістології, ПЛР і посіву становлять 85% і 79%, 75%–100% і 77%–100%, 67%–100% і 61%–100%, 75%–100% і 84%–100%, 66%–100% і 94%–100%, 75%–100% і 84%–100% і 55%–56% і 100% відповідно.

Чутливість ПЛР можна підвищити шляхом виконання вкладених або напіввкладених підходів. Однак такі підходи можуть збільшити ймовірність хибнопозитивних результатів, викликаних перехресним забрудненням, а також виявленням ДНК мертвих бактерій. Низький коефіцієнт позитивності культури (69%) може бути пов'язаний з малою кількістю організмів, наявністю некультурних кокоїдних форм, відсутністю мікроорганізмів у біопатії шлунка, втрата життєздатності під час транспортування, жорсткими вимогами до росту або контамінація іншими бактеріями, які пригнічують ріст *Helicobacter pylori* або прийом антибіотиків. З цих причин для порівняння результатів культури з результатами відповідних зразків іншими методами діагностики віддавали перевагу відсотку згоди/незгоди. Так звані хибнопозитивні результати з ПЛР у реальному часі або вкладеною ПЛР можуть не бути справжніми хибнопозитивними, скоріше результати, отримані за до-

помогою відносно менш чутливого методу культури, можуть бути помилково негативними.

Хоча ПЛР може використовуватися як золотий стандарт, за умови, що ймовірність контамінації виключена, метод, який буде використовуватися, слід запропонувати на основі рівня наявних діагностичних засобів. Якщо ендоскопічні засоби недоступні в периферійних або слаборозвинених регіонах, діагностика за допомогою SAT з використанням наборів на основі моноклональних антитіл може бути застосована до зразків калу. У ситуації, коли система UBT доступна, але ендоскопічне обладнання недоступне, цей тест слід вважати найкращим варіантом. Хоча серологія часто вводиться в оману, але вона може бути найкращою для дітей, де санітарні умови є задовільними, а поширеність інфекції низька, особливо у педіатричній віковій групі. Тому корисність кожного з інвазивних та неінвазивних тестів майже однаково важлива залежно від даної клінічної ситуації.

Перспективи подальших досліджень.

Майбутні дослідження мають бути спрямовані на виявлення *Helicobacter pylori* та пов'язані мутації резистентності безпосередньо з клінічних зразках (біопсія шлунка або кал) за допомогою метагеномного та/або метатранскриптомного секвенування.

У цій сфері науковцями було досягнуто величезного розвитку та були розроблені та комерційні протоколи (наприклад, RiboZero (Illumina), RiboGold (Illumina), MIC-ROBExpress (Ambion, Invitrogen)) стають доступними для виснаження людської ДНК або збагачення ДНК бактерій перед виконанням WGS, тим самим збільшуючи ефективність та рентабельність NGS через менший фон людської ДНК у клінічних зразках. Особливо цікавою є перспектива культурно-незалежних підходів до виявлення *Helicobacter pylori* та оцінки антибіотикорезистентності.

References / Література

- Pohl D, Keller PM, Bordier V, Wagner K. Review of current diagnostic methods and advances in *Helicobacter pylori* diagnostics in the era of next generation sequencing. *World J Gastroenterol*. 2019;25(32):4629-4660. DOI: [10.3748/wjg.v25.i32.4629](https://doi.org/10.3748/wjg.v25.i32.4629).
- Kotilea K, Bontems P, Touati E. Epidemiology, Diagnosis and Risk Factors of *Helicobacter pylori* Infection. *Adv Exp Med Biol*. 2019;1149:17-33. DOI: [10.1007/5584_2019_357](https://doi.org/10.1007/5584_2019_357).
- Zhang T, Chen H, Zhang Y, Yin X, Man J, Yang X, et al. Global changing trends in incidence and mortality of gastric cancer by age and sex, 1990–2019: Findings from Global Burden of Disease Study. *J Cancer*. 2021;12(22):6695-6705. DOI: [10.7150/jca.62734](https://doi.org/10.7150/jca.62734).
- Peek RM. Special issue: *Helicobacter pylori*. *Gut Microbes*. 2013;4(6):425. DOI: [10.4161/gmic.27169](https://doi.org/10.4161/gmic.27169).
- Hooi JKY, Lai WY, Ng WK, Suen MMY, Underwood FE, Tanyingoh D, et al. Global Prevalence of *Helicobacter pylori* Infection: Systematic Review and Meta-Analysis. *Gastroenterology*. 2017;153(2):420-429. DOI: [10.1053/j.gastro.2017.04.022](https://doi.org/10.1053/j.gastro.2017.04.022).
- Pounder RE, Ng D. The prevalence of *Helicobacter pylori* infection in different countries. *Aliment Pharmacol Ther*. 1995;9(2):33-9.
- Tytgat GNJ, Noach L, Rauws EAJ. *Helicobacter Pylori*. *Scandinavian J of Gastroenterology*. 1991;26(187):1-8. DOI: [10.3109/00365529109098219](https://doi.org/10.3109/00365529109098219).
- Marshall BJ, Warren JR. Unidentified curved bacilli in the stomach of patients with gastritis and peptic ulceration. *Lancet*. 1984;1(8390):1311-1315.
- Liou JM, Fang YJ, Chen CC, Ming JB, Chi YC, Yi CL, et al. Concomitant, bismuth quadruple, and 14-day triple therapy in the first-line treatment of *Helicobacter pylori*: a multicentre, open-label, randomised trial. *Lancet*. 2016;388(10058):2355-2365.
- Graham DY. History of *Helicobacter pylori*, duodenal ulcer, gastric ulcer and gastric cancer. *World J Gastroenterol*. 2014;20:5191-5204.
- Nagy P, Johansson S, Molloy-Bland M. Systematic review of time trends in the prevalence of *Helicobacter pylori* infection in China and the USA. *Gut Pathog*. 2016;8:8.
- Malfetherneier P, Megraud F, O'Morain C, Bazzoli F, El-Omar E, Graham D, et al. Current concepts in the management of *Helicobacter pylori* infection: the Maastricht III Consensus Report. *Gut*. 2007;56:772-781.
- Wang C, Yuan Y, Hunt R. *Helicobacter The association between Helicobacter pylori infection and early gastric cancer: a meta-analysis*. *Am J Gastroenterol*. 2007;102:1789-1798.
- Yokota S, Konno M, Fujiwara S, Toita N, Takahashi M, Yamamoto S, et al. Intrafamilial, preferentially mother-to-child and intraspousal, *Helicobacter pylori* infection in Japan determined by multilocus sequence typing and random amplified polymorphic DNA fingerprinting. *Helicobacter*. 2015;20:334-342.
- Waskito LA, Yamaoka Y. The story of *Helicobacter pylori*: depicting human migrations from the phylogeography. *Adv Exp Med Biol*. 2019;1149:1-16.
- Hanafi A, Lopes BS. Genetic diversity and virulence characteristics of *Helicobacter pylori* isolates in different human ethnic group. *Infect Genet Evol*. 2020;78:104-135.

17. Kao C-Y, Sheu B-S, Wu J-J. Helicobacter pylori infection: an overview of bacterial virulence factors and pathogenesis. *Biomedical Journal*. 2016;39(1):14-23.
18. Reshetnyak VI, Burnistrov AI, Maev IV. Helicobacter pylori: commensals, symbiont or pathogens? *World J Gastroenterol*. 2021;27(7):545.
19. Saxena A, Mukhopadhyar AK, Nandi SP. Helicobacter pylori: perturbation and restoration of gut microbiome. *J Biosci*. 2020;45(1):1-15.
20. Huang Y, Wang QL, Cheng DD, Xu WT, Lu NH. Adhesin and invasion of gastric mucosa epithelial cells by Helicobacter pylori. *Front Cell Infect Microbiol*. 2016;6:159.
21. Alexander SM, Retnakumar RJ, Chouhan D, Devi TNB, Dharmaseelan S, Devadas K, et al. Helicobacter pylori in human stomach: the inconsistencies in clinical outcomes and the probable causes. *Front Microbiol*. 2021;12:713955.
22. Goni E, Franceschi F. Helicobacter pylori and extragastric diseases. *Helicobacter*. 2016;1:45-48.
23. Kusters JG, Gerrits MM, Van Strijp JA, Vandenbroucke-Grauls CM. Coccoid forms of Helicobacter pylori are the morphologic manifestation of cell death. *Infect Immun*. 1997;65:3672-3679.
24. McColl KE. Helicobacter pylori infection. *New Eng J Med*. 2010;362(17):1597-1604.
25. Gravina AG, Zagari RM, de Musis C, Romano L, Loguercio C, Romano L, et al. Helicobacter pylori and extragastric diseases: a review. *World J Gastroenterol*. 2018;24(29):3204-3221.
26. Narayanan M, Reddy KM, Marsicano E. Peptic ulcer disease and Helicobacter pylori infection. *Mo Med*. 2018;115:219.
27. Watari J, Chen N, Amenta PS, Fukui H, Oshima T, Tomita T, et al. Helicobacter pylori associated chronic gastritis, clinical syndromes, precancerous lesions, and pathogenesis of gastric cancer development. *World J Gastroenterol*. 2014;20:5461.
28. Polyzos SA, Zeglinas C, Artemaki F, Doulberis M, Kazakos E, Katsinelos P, et al. Helicobacter pylori infection and esophageal adenocarcinoma: a review and a personal view. *Ann Gastroenterol*. 2018;31:8.
29. Chen TP, Hung HF, Chen MK, Lai HH, Hsu WF, Huang KC, et al. Helicobacter pylori infection is positively associated with metabolic syndrome in Taiwanese adults: a cross-sectional study. *Helicobacter*. 2015;20:184-191.
30. Yu XJ, Yang X, Feng L, Wang LL, Dong QJ. Association between Helicobacter pylori infection and angiographically demonstrated coronary artery disease: a meta-analysis. *Exp Ther Med*. 2017;13:787-793.
31. Sato Y, Yoneyama O, Azumaya M, Takeuchi M, Sasaki SY, Yokoyama J, et al. The relationship between iron deficiency in patients with Helicobacter pylori-infected nodular gastritis and the serum prohepcidin level. *Helicobacter*. 2015;20:11-18.
32. Taylor DN, Blaser MJ. The epidemiology of Helicobacter pylori infection. *Epidemiol Rev*. 1991;13:42-59. DOI: [10.1093/oxfordjournals.epirev.a036078](https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.epirev.a036078).
33. Sonnenberg A. Epidemiology of Helicobacter pylori. *Aliment Pharmacol Ther*. 2022;55(1):1-13. DOI: [10.1111/apt.16592](https://doi.org/10.1111/apt.16592).
34. Kuipers EJ. Helicobacter pylori and the risk and management of associated diseases: gastritis, ulcer disease, atrophic gastritis and gastric cancer. *Aliment Pharmacol Ther*. 1997;11(1):71-88. DOI: [10.1046/j.1365-2036.11.s1.5.x](https://doi.org/10.1046/j.1365-2036.11.s1.5.x).
35. Warren JR, Marshall B. Unidentified curved bacilli on gastric epithelium in active chronic gastritis. *Lancet*. 1983;1(8336):1273-1275.
36. Walsh EJ, Moran AP. Influence of medium composition on the growth and antigen expression of Helicobacter pylori. *J Appl Microbiol*. 1997;83(1):67-75. DOI: [10.1046/j.1365-2672.1997.00164.x](https://doi.org/10.1046/j.1365-2672.1997.00164.x).
37. Dore MP, Osato MS, Malaty HM, Graham DY. Characterization of a culture method to recover Helicobacter pylori from the feces of infected patients. *Helicobacter*. 2000;5(3):165-168. DOI: [10.1046/j.1523-5378.2000.00026.x](https://doi.org/10.1046/j.1523-5378.2000.00026.x).
38. Patel SK, Pratap CB, Jain AK, Gulati AK, Nath G. Diagnosis of Helicobacter pylori: What should be the gold standard? *World J Gastroenterol*. 2014;20(36):12847-12859. DOI: [10.3748/wjg.v20.i36.12847](https://doi.org/10.3748/wjg.v20.i36.12847).
39. Vaira D, Malfertheiner P, Mégraud F, Axon AT, Deltenre M, Hirschl AM, et al. Diagnosis of Helicobacter pylori infection with a new non-invasive antigen-based assay. HpSA European study group. *Lancet*. 1999;354(9172):30-33. DOI: [10.1016/S0140-6736\(98\)08103-3](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(98)08103-3).
40. Zanotti G, Cendron L. Structural Aspects of Helicobacter pylori Antibiotic Resistance. *Adv Exp Med Biol*. 2019;1149:227-2241. DOI: [10.1007/5584_2019_368](https://doi.org/10.1007/5584_2019_368).
41. Bordin DS, Voynovan IN, Andreev DN, Maev IV. Current Helicobacter pylori Diagnostics. *Diagnostics*. 2021;11(8):1458. DOI: <https://doi.org/10.3390/diagnostics11081458>.
42. Patel SK, Pratap CB, Jain AK, Gulati AK, Nath G. Diagnosis of Helicobacter pylori: what should be the gold standard? *World J Gastroenterol*. 2014;20(36):12847-59. DOI: [10.3748/wjg.v20.i36.12847](https://doi.org/10.3748/wjg.v20.i36.12847).
43. Bukovyns'kyi zherzhavnyy medychnyy universytet. Likuvannya ta profilaktyky N.pylori-asotsiyovanykh zakhvoryuvan' shlunku ta DPK [Internet]. Chernivtsi: BDMU; 2019. Dostupno: <https://www.bsmu.edu.ua/blog/7279-suchasni-pidhodi-do-diaagnostiki-likuvannya-ta-profilaktiki-npylori-asotsiyovanih-zakhvoryuvan-shlunku-ta-dpk>. [in Ukrainian].
44. Hasan MR, Rawat A, Tang P, Jithesh PV, Thomas E, Tan R, et al. Depletion of Human DNA in Spiked Clinical Specimens for Improvement of Sensitivity of Pathogen Detection by Next-Generation Sequencing. *J Clin Microbiol*. 2016;54(4):919-927. DOI: [10.1128/JCM.03050-15](https://doi.org/10.1128/JCM.03050-15).
45. Pohl D, Keller PM, Bordier V, Wagner K. Review of current diagnostic methods and advances in Helicobacter pylori diagnostics in the era of next generation sequencing. *World J Gastroenterol*. 2019;25(32):4629-4660. DOI: [10.3748/wjg.v25.i32.4629](https://doi.org/10.3748/wjg.v25.i32.4629).

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ Helicobacter PYLORI В ГАСТРОЕНТЕРОЛОГІЧНІЙ ПРАКТИЦІ

Говоруха О. Ю., Шевченко Т. М.

Резюме. Метою роботи був огляд доступних на даний момент діагностичних методів для виявлення Helicobacter pylori, його лікарської стійкості та їх застосування в моніторингу й регуляції Helicobacter pylori.

Враховуючи тему наукового дослідження, перед нами постала мета, яка стосувалась проведення мета-аналізу наукових даних щодо можливостей та перспектив діагностичних методів дослідження для виявлення Helicobacter pylori, його лікарської стійкості та їх застосування в моніторингу й регуляції даної інфекції.

Наукове дослідження мало наступні етапи. На першому проводили пошук наукової літератури щодо етіології і патогенезу Helicobacter pylori та найпоширеніших лабораторних методів його виявлення, які використовують у діагностичній гастроентерологічній практиці. Другий етап складався з описання та аналізу новітніх технологій секвенування та їх потенційного впровадження у діагностичні лабораторні умови. На третьому етапі мали на меті розробити відповідні рекомендації щодо лабораторно-діагностичних методів виявлення Helicobacter pylori та їх застосування в моніторингу й регуляції Helicobacter Pylori. На четвертому етапі проведено аналіз та узагальнення отриманих даних.

Вибір діагностичних тестів для визначення статусу інфекції Helicobacter pylori залежить від чутливості, специфічності, відтворюваності, вартості доступності та швидкості результатів. Існує потреба у використанні референтного методу як «золотого стандарту» для виявлення пацієнтів, справді інфікованих даною бактерією.

Одним з рішень є об'єднання результатів двох або більше методик та порівняння з результатами кожного методу, що оцінюється. ПЛР може бути дещо кращим діагностичним маркером, порівняно з іншими методами для виявлення інфекції Helicobacter pylori та для підтвердження ерадикації Helicobacter pylori після лікування.

Висока поширеність та етіопатогенетичний зв'язок *Helicobacter pylori* з найбільш значущими захворюваннями шлунка підкреслює необхідність оптимізації діагностики цієї інфекції з урахуванням чутливості та специфічності тестів.

Розробки методів діагностики дозволяють точніше та надійніше діагностувати *Helicobacter pylori* інфекції. Вибір методу буде залежати від доступності, їх переваг та недоліків, чутливості та специфічності й різних клінічних обставин кожного пацієнта.

Ключові слова: *Helicobacter pylori*, інвазивні та неінвазивні методи дослідження, шлунок, дванадцятипала кишка.

METHODS OF STUDYING *Helicobacter PYLORI* IN GASTROENTEROLOGICAL PRACTICE

Govoruha O. Yu., Shevchenko T. M.

Abstract. The purpose of the work was to review currently available diagnostic methods for detection of *Helicobacter pylori*, its drug resistance and their use in monitoring and regulation of *Helicobacter pylori*.

Taking into account the topic of scientific research, we faced the goal of conducting a meta-analysis of scientific data on the possibilities and prospects of diagnostic research methods for the detection of *Helicobacter pylori*, its drug resistance, and their use in monitoring and regulating this infection.

Scientific research had the following stages. At the first, scientific literature was searched for the etiology and pathogenesis of *Helicobacter pylori* and the most common laboratory methods of its detection, which are used in diagnostic gastroenterological practice. The second stage consisted of the description and analysis of the latest sequencing technologies and their potential implementation in diagnostic laboratory settings. At the third stage, the aim was to develop appropriate recommendations for laboratory-diagnostic methods of detection of *Helicobacter pylori* and their use in monitoring and regulation of *Helicobacter pylori*. At the fourth stage, the analysis and generalization of the obtained data was carried out.

The choice of diagnostic tests to determine the status of *Helicobacter pylori* infection depends on sensitivity, specificity, reproducibility, cost, availability, and speed of results. There is a need to use a reference method as a «gold standard» to identify patients truly infected with this bacterium.

One solution is to combine the results of two or more techniques and compare them with the results of each method being evaluated. PCR may be a slightly better diagnostic marker compared to other methods to detect *Helicobacter pylori* infection and to confirm eradication of *Helicobacter pylori* after treatment.

The high prevalence and etiopathogenetic relationship of *Helicobacter pylori* with the most significant stomach diseases emphasizes the need to optimize the diagnosis of this infection, taking into account the sensitivity and specificity of the tests.

The development of diagnostic methods allows more accurate and reliable diagnosis of *Helicobacter pylori* infection. The choice of method will depend on availability, their advantages and disadvantages, sensitivity and specificity, and the different clinical circumstances of each patient.

Key words: *Helicobacter pylori*, invasive and non-invasive research methods, stomach, duodenum.

ORCID and contributionship / ORCID кожного автора та їх внесок до статті:

Govoruha O. Yu.: [0000-0002-7238-9997](https://orcid.org/0000-0002-7238-9997) ^{ABCD}

Shevchenko T.M.: [0000-0002-0947-0960](https://orcid.org/0000-0002-0947-0960) ^{AEF}

Conflict of interest / Конфлікт інтересів:

The authors declare no conflict of interest. / Автори заявляють про відсутність конфлікту інтересів.

Corresponding author / Адреса для кореспонденції

Govoruha Olena Yuriyivna / Говоруха Олена Юріївна

Oles Honchar Dnipro National University / Дніпровський національний університет імені Олеся Гончара

Ukraine, 49010, Dnipro, 72 Gagarin ave. / Адреса: Україна, 49010, м. Дніпро, проспект Гагаріна 72

Tel.: +380996368356 / Тел.: +380996368356

E-mail: elenagovorukha2411@gmail.com

A – Work concept and design, **B** – Data collection and analysis, **C** – Responsibility for statistical analysis, **D** – Writing the article, **E** – Critical review, **F** – Final approval of the article / **A** – концепція роботи та дизайн, **B** – збір та аналіз даних, **C** – відповідальність за статичний аналіз, **D** – написання статті, **E** – критичний огляд, **F** – остаточне затвердження статті.

Received 20.11.2022 / Стаття надійшла 20.11.2022 року
Accepted 03.05.2023 / Стаття прийнята до друку 03.05.2023 року