

3(59) `2017

YAKUT MEDICAL JOURNAL



ЯКУТСКИЙ МЕДИЦИНСКИЙ ЖУРНАЛ

Учредитель
ФГБНУ «Якутский научный центр
комплексных медицинских проблем»

Главный редактор
Томский М.И., д.м.н., профессор

Редакционная коллегия:
зам. гл. редактора Николаев В.П., д.м.н.
науч. редактор Платонов Ф.А., д.м.н.
ответств. секретарь Николаев В.П., д.м.н.

Редакционный совет:
Афтанас Л.И., д.м.н., профессор,
акад. РАН (Новосибирск)
Воевода М.И., д.м.н., профессор,
член-корр. РАН (Новосибирск)
Иванов П.М., д.м.н., профессор (Якутск)
Крюбези Эрик, MD, профессор (Франция)
Максимова Н.Р., д.м.н. (Якутск)
Миринова Г.Е., д.б.н., профессор (Якутск)
Михайлова Е.И., д.пед.н., профессор (Якутск)
Нельсон Дебора, MD, профессор (США)
Никитин Ю.П., д.м.н., профессор,
акад. РАН (Новосибирск)
Одланд Джон, MD, профессор (Норвегия)
Пузырев В.П., д.м.н., профессор,
акад. РАН (Томск)
Рёутио Арья, MD, PhD, профессор (Финляндия)
Федорова С.А., д.б.н. (Якутск)
Хусебек Анне, MD, профессор (Норвегия)
Хуснутдинова Э.К., д.б.н., профессор (Уфа)

Редакторы
Чувашова И.И.,
Кононова С.И.,
(англ.яз.) Семенова Т.Ф.

Обложка Игнатъева В.Н.

Компьютерная верстка
Николашкиной А.А.

Адрес издательства, редакции:
677010, г. Якутск, Сергеляхское шоссе, 4,
ЦОМид НЦМ, корпус С1-01,
тел./факс (4112) 32-19-81;
тел. 39-55-52
e-mail: ynckmp@yandex.ru
yscredactor@mail.ru
http: // www.ymj.ykt.ru

НАУЧНО – ПРАКТИЧЕСКИЙ ЖУРНАЛ
ЯКУТСКОГО НАУЧНОГО ЦЕНТРА
КОМПЛЕКСНЫХ МЕДИЦИНСКИХ ПРОБЛЕМ

Выходит 4 раза в год

*Зарегистрирован Управлением Федеральной службы
по надзору в сфере связи, информационных технологий
и массовых коммуникаций по Республике Саха (Якутия)
от 13.12.2016 г.*

Регистрационный номер ПИ №ТУ14-00475

Подписной индекс: 78781

Цена свободная

*«Якутский медицинский журнал» включен в утвержденный ВАК РФ
Перечень ведущих рецензируемых научных журналов и изданий,
в которых должны быть опубликованы основные научные результаты
диссертаций на соискание ученых степеней доктора и кандидата наук
по биологическим наукам и медицине*

*Журнал включен в международную справочную систему
по периодическим и продолжающимся изданиям
«Ulrich's International Periodicals Directory»*

[et al.] // Chinese journal of tuberculosis and respiratory diseases. – 2010. – V. 33. – №. 11. – P. 831-836.

16. No association of cytokine gene polymorphisms in Chinese patients with atopic dermatitis / Y.T. Chang, W.R. Lee, C.W. Yu [et al.] // Clin. Exp. Dermatol. – 2006. – V.31. – P.419-423.

17. Oiso, N. Interleukin 4 receptor alpha chain polymorphism Gln551Arg is associated with adult atopic dermatitis in Japan / N. Oiso, K. Fukai, M. Ishii // Br. J. Dermatol. – 2000. – V.142. – P.1003-1006.

18. Prevalence of tumor necrosis factor-alpha and angiotensin converting enzyme polymorphisms in mild/moderate and fatal/near-

fatal asthma / T. Chagani, P.D. Paré, S. Zhu, [et al.] // Am. J. Respir. Crit. Care Med. – 1999. – V.160. – No.1. – P. 278-282.

19. Stavric, K. Gene polymorphisms of 22 cytokines in macedonian children with atopic dermatitis / K. Stavric, S. Peova, D. Trajkov // Iran J. Allergy Asthma Immunol. – 2012. – V.11. – No.1. – P.37-50.

Н.Н. Готовцев, Н.А. Барашков, Т.В. Борисова, М.В. Пак, М.П. Алексеева, Н.Н. Иннокентьева, К.С. Лоскутова, В.Г. Пшенникова, А.М. Рафаилов, С.Н. Леханова, С.А. Федорова

АПРОБАЦИЯ МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКОГО МЕТОДА ДИАГНОСТИКИ ИНФЕКЦИИ *HELICOBACTER PYLORI* В ЯКУТИИ

УДК 616.34 (571.56)

В настоящей работе впервые представлены результаты апробации молекулярно-генетического метода диагностики инфекции *H. pylori*, основанной на амплификации маркерного гена *16S rRNA* бактериальной ДНК, выделенной из образцов ткани слизистой оболочки желудка пациентов с гастродуоденальными заболеваниями в Якутии.

Ключевые слова: *Helicobacter pylori*, гастродуоденальные заболевания, ПЦР, ген *16S rRNA*, гистология, Якутия.

In this paper we presented the results of approbation of the PCR method for the diagnosis of *Helicobacter pylori* infection based on the amplification of the *16S rRNA* marker gene of bacterial DNA isolated from samples of gastric mucosa tissue from patients with gastroduodenal diseases in Yakutia.

Keywords: *Helicobacter pylori*, gastroduodenal diseases, PCR, *16S rRNA* gene, histology, Yakutia.

Введение. *Helicobacter pylori* (*H. pylori*) считается основной причиной развития различных гастродуоденальных заболеваний, таких как хронический гастрит, эрозии и язвенная болезнь желудка у человека [1, 3, 5, 23]. В 1994 г. Международное агентство по изучению рака классифицировало инфекцию *H. pylori* в группу канцерогенов I порядка (явные канцерогены), наравне с радионуклидами, излучениями и некоторыми химическими веществами [23]. В связи с тем, что в настоящее время бактерия *H. pylori* ассоциирова-

на не только с некоторыми гастродуоденальными заболеваниями, но и с тяжелыми, онкологическими патологиями, возникает необходимость специфической диагностики этой инфекции.

В настоящее время в клинической практике появилось множество различных методов диагностики *H. pylori* [7, 11-13], которые можно разделить на инвазивные (требуют проведения фиброгастродуоденоскопии) и неинвазивные. Основные и наиболее часто используемые методы диагностики инфекции *H. pylori* представлены в

табл.1. При этом каждый из методов имеет свои преимущества и недостатки [11-13]. Недостатком многих неинвазивных методов является их неточность, а инвазивных методов – риски осложнений, а также их длительность и трудоемкость. В клинической практике широкое распространение получил гистологический метод исследования, который позволяет одновременно с обнаружением *H. pylori* проводить морфологическую оценку состояния слизистой оболочки желудка [17]. Гистологический метод выявления *H. pylori*

Таблица 1

Основные методы диагностики *H. pylori*

Инвазивные методы*	Неинвазивные методы**
Гистологический метод: исследование образца ткани слизистой оболочки желудка на наличие <i>H. pylori</i>	Иммуноферментный анализ: исследование кала на наличие антигенов <i>H. pylori</i> (с применением моноклональных антител)
Микробиологический метод: культивирование <i>H. pylori</i> на питательных средах из образца ткани слизистой оболочки желудка	Иммуноферментный анализ: выявление антител IgG к <i>H. pylori</i> в сыворотке крови
Молекулярно-генетический метод: исследование с помощью полимеразной цепной реакции на наличие ДНК <i>H. pylori</i> из образца ткани слизистой оболочки желудка	Быстрый уреазный тест (CLO-тест, англ. Campylobacter-like organism test)
	Уреазный дыхательный тест (13C, 14C мочевины)
	Молекулярно-генетический метод: исследование с помощью полимеразной цепной реакции на наличие ДНК <i>H. pylori</i> в слюне или кале

* Требуют проведения эндоскопического исследования с прицельной биопсией и дальнейшим изучением гастробиоптатов. ** Эндоскопическое исследование не требуется.

ЯНЦ КМП: ГОТОВЦЕВ Ньургун Наумович – н.с., Donzcrew@mail.ru, БАРАШКОВ Николай Алексеевич – к.б.н., вед.н.с.-руковод. лаб., barashkov2004@mail.ru, ПШЕННИКОВА Вера Геннадиевна – н.с., pshennikovavera@mail.ru; СВФУ им. М.К. Аммосова: БОРИСОВА Туяра Валерьевна – студент ИЕН, borisovatv96@gmail.com, ИННОКЕНТЬЕВА Наталья Николаевна – аспирант МИ, natalia_inn@mail.ru, РАФАИЛОВ Адюм Михайлович – к.б.н., доцент ИЕН, archinay@mail.ru, ЛЕХАНОВА Саргылана Николаевна – к.м.н., доцент МИ, lehanovash@mail.ru, ФЕДОРОВА Сардана Аркадьевна – д.б.н., зав. лаб., с.н.с. ЯНЦ КМП; РБ№1-ИЦМ: ПАК Мария Владимировна – врач эндоскопист, raktmv@mail.ru, АЛЕКСЕЕВА Мавра Павловна – врач эндоскопист, ЛОСКУТОВА Кюнная Саввична – к.м.н., зав. патологоанатомич. отд., loskutovaks@mail.ru.

считают «золотым стандартом» диагностики инфекции [8, 17], так как его чувствительность составляет от 72 до 100%, а специфичность – от 81 до 97% [18].

В настоящее время появились новые подходы к диагностике инфекции *H. pylori*, включающие молекулярно-генетические методы исследования с помощью ПЦР, которые основаны на амплификации маркерного гена *16S rRNA* [10, 21]. Данный способ исключает возможность амплификации гомологичных участков гена *16S rRNA* ближайших родственных видов и штаммов *H. pylori* (*Campylobacter jejuni*, *Helicobacter cinaedi*, *Helicobacter mustelae* и *Wolinella succinogenes*) [10]. По данным некоторых авторов, диагностическая чувствительность ПЦР для выявления *H. pylori* в биоптатах слизистой оболочки желудка составляет 88-95,4%, а специфичность – 100% [13, 14].

Диагностика инфекции *H. pylori* методами ПЦР ранее в Якутии не проводилась. В более ранних исследованиях детекция данной инфекции осуществлялась гистологическим и цитологическим методами на гастробиоптатах, полученных при эндоскопии [1, 4-6]. В связи с этим целью настоящей работы является апробация метода ПЦР при диагностике инфекции *H. pylori* в Якутии.

Материалы и методы исследования. Выборку исследования составили 156 пациентов якутов (от 6 до 70 лет, средний возраст $36,2 \pm 17,5$ лет) с предварительным диагнозом хронический гастрит, которые были направлены на фиброгастродуоденоскопию (ФГДС) в эндоскопическое отделение Республиканской больницы №1 – Национального центра медицины Министерства здравоохранения Республики Саха (Якутия) (РБ №1-НЦМ). Из них 40 чел. были детьми и подростками от 6 до 17 лет (средний возраст $13,6 \pm 2,6$ лет), остальные 116 чел. – взрослыми от 19 до 70 лет (средний возраст $44,22 \pm 13,84$ лет).

ФГДС была проведена утром, натощак. Забор кусочков был осуществлен из антрального отдела желудка в количестве 2-3 биоптатов при эндоскопическом исследовании с помощью фиброскопа GIF-P3 фирмы «Olympus» (Япония). Полученные биоптаты слизистой оболочки желудка были зафиксированы в 10%-ном растворе формалина. Депарафинирование срезов и окрашивание гематоксилином и эозином осуществлены по стандартной методике. Для прицельной бактери-

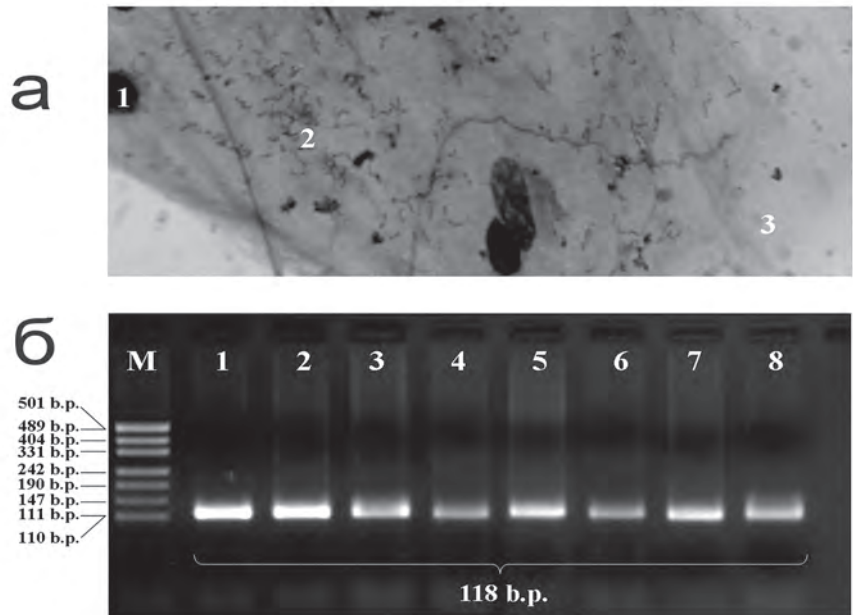


Рис.1. Примеры детекции *H. pylori* с помощью гистологического и молекулярно-генетического исследований. а – цитологический микропрепарат (окраска по Грамму) слизистой оболочки желудка пациента с III степенью обсемененности (в одном зрительном поле более 50 микробных тел): 1 – клетки эпителия желудка, 2 – скопление *H. pylori*, 3 – слизистая оболочка; б – электрофореграмма результатов ПЦР-анализа участка гена *16S rRNA* *H. pylori*. Дорожка 1-8 – образцы с положительным результатом на наличие маркерного гена *16S rRNA* *H. pylori* (118 п.н.); М – маркер молекулярного веса pUC19/MspI

скопии срезы окрашены по способу Романовского-Гимзы. Исследование проведено под увеличением $\times 100$, $\times 400$ и $\times 1000$ на микроскопах «Axioskop» фирмы «Opton» (рис.1, а). Морфологические критерии хронического гастрита оценены в соответствии с визуальной аналоговой шкалой по модифицированной Сиднейской системе (Хьюстон, США, 1996).

Геномная ДНК *H. pylori* была выделена из замороженных гастробиоптатов обследованных пациентов с помощью фенольно-хлороформной экстракции. Амплификация искомого фрагмента ДНК *H. pylori* была выполнена с помощью олигонуклеотидных праймеров, предложенных ранее (табл.2), которые фланкируют область, содержащую маркерный ген *16S rRNA* [16]. Полимеразная цепная реакция проведена на амплификаторе фирмы «Bio-Rad». Разделение продуктов амплификации осуществлено в горизонтальных электрофорезных камерах в 3%-ном агарозном геле

(рис.1, б). Визуализация продуктов ПЦР осуществлена при помощи гелевидеодокументационного устройства фирмы «Bio-Rad» с использованием программного обеспечения Image Lab™ Software.

Для того чтобы провести анализ информативности метода ПЦР, мы сравнили результаты ПЦР с результатами гистологического метода и выполнили расчеты таких параметров информативности, как чувствительность (Se – sensitivity) и специфичность (Sp – specificity) [2]. При этом гистологический метод исследования был использован в качестве эталонного метода, поскольку именно этот метод обладает высокими показателями чувствительности и специфичности [18] и считается «золотым стандартом» диагностики *H. pylori* [8]. Результаты гистологических исследований условно были приняты нами за 100% как по чувствительности, так и по специфичности.

Чувствительность была рассчитана по формуле:

Таблица 2

Дизайн олигонуклеотидных праймеров для детекции маркерного гена *16S rRNA* *H. pylori*

Ген, фрагмент	Название олигонуклеотидного праймера	Последовательность от 5' → 3' конца	Размер амплифицируемого фрагмента
<i>16S rRNA</i>	<i>16S rRNA</i>	F5'-TGCGAAGTGGAGCCAATCTT-3' R5'-GGAACGTATTCACCGCAACA-3'	118 п.н.

$$Se = (TP/D) \times 100\%$$

где TP – истинно положительные результаты; D – количество инфицированных пациентов.

Специфичность была определена по формуле:

$$Sp = (TN/D) \times 100\%$$

где TN – истинно отрицательные результаты; D – количество неинфицированных пациентов.

Обследования, предусмотренные рамками научно-исследовательской работы, проводились строго после информированного согласия участников и их родителей (законных представителей) без нарушений этических норм. Данная научно-исследовательская работа была одобрена локальным комитетом по биомедицинской этике.

Результаты и обсуждение. Перекрестный способ детекции *H. pylori* методами ПЦР и гистологии показал, что у 104 из 156 обследованных пациентов (66,6%) результаты ПЦР полностью совпадают с результатами гистологии. Так, у 74 пациентов и ПЦР, и гистологический метод показали положительный результат, у 30 – отрицательный. У 52 из 156 (33,3%) обследованных были выявлены микс-значения (результаты ПЦР не совпали с результатами гистологии). Результаты перекрестного исследования ПЦР и гистологии приведены в табл. 3.

В нашем исследовании была показана высокая чувствительность ПЦР-метода (86,0%), которая почти не уступала гистологическому методу (100%, $p > 0,05$). Специфичность метода ПЦР была существенно ниже (42,8%) по сравнению с гистологическим методом (100%, $p < 0,05$) (рис. 2).

Для оценки полученных данных по чувствительности и специфичности метода ПЦР детекции *H. pylori* нами был проведен сравнительный анализ с данными исследований других авторов. Чувствительность метода ПЦР в разных исследованиях составляет от 55 до 100% (табл. 4). Значение чувствительности метода ПЦР в нашем исследовании (86,0%) занимает промежуточное значение в сравнении с показателями ранее проведенных работ (табл. 4). Специфичность метода ПЦР, по данным других авторов, составляет от 80 до 100% (табл. 4), в нашем исследовании она была существенно ниже – 42,8%.

Низкая специфичность метода ПЦР относительно гистологии, очевидно, обусловлена большим числом ложноположительных результатов (40 ложноположительных результатов против 12). Это наблюдение подтверждается

Таблица 3

Перекрестный метод детекции *H. pylori* с помощью методов ПЦР и гистологии

Полученные результаты	Перекрестные совпадения*		Микс-значения**		Всего
	ПЦР (+)/Г(+)	ПЦР (-)/Г(-)	ПЦР (+)/Г(-)	ПЦР(-)/Г(+)	
Количество образцов (%)	74 (47,4%)	30 (19,2%)	40 (25,6%)	12 (7,7%)	156 (100%)
Итого	104 (66,6%)		52 (33,3%)		

Примечание. * – количество совпадений с гистологией; ** – количество несовпадений с гистологией; ПЦР (+) – положительные результаты ПЦР; ПЦР (-) – отрицательные результаты ПЦР; Г (+) – положительные результаты гистологии; Г (-) – отрицательные результаты гистологии.

ранее проведенными исследованиями, в которых была показана высокая чувствительность метода ПЦР [21]. Так, в работе Ramírez-Lázaro et al. [21] были исследованы биоптаты пациентов, у которых результаты гистологического анализа на наличие *H. pylori* были отрицательными (n=52). У 25 из 52

пациентов ПЦР в режиме реального времени дал положительные результаты на наличие *H. pylori* (48%). Данный результат свидетельствует о том, что гистологический метод исследования не всегда выявляет наличие данной инфекции. Такое явление, вероятно, может объясняться тем, что метод ПЦР, основанный на детектировании ДНК, в отличие от гистологии не требует присутствия жизнеспособных бак-

терий и может давать положительные результаты при отрицательных результатах гистологии.

Таким образом, в настоящее время все еще не существует единого метода идентификации *H. pylori* со 100%-ной чувствительностью и специфичностью. Для достижения высоких уровней операционных характеристик и эффективного определения наличия или отсутствия инфекции необходимо

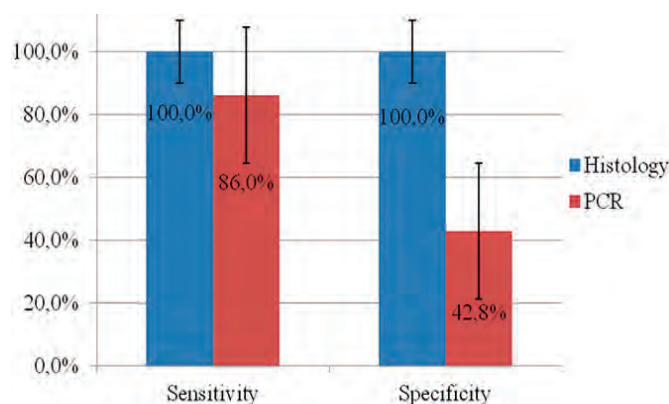


Рис.2. Объективные параметры информативности метода ПЦР по сравнению с гистологическим методом исследования

Таблица 4

Сравнительный анализ чувствительности и специфичности метода ПЦР для детекции *H. pylori*

Исследованные гастроудоденальные заболевания	Количество больных	Показатели информативности	Молекулярно-генетический анализ (гастробиоптат), %	Литература
Хронический гастрит, язва желудка, аденокарцинома желудка	78	Чувствительность	100,0	[12]
		Специфичность	90,0	
Поверхностный гастрит, хронический гастрит, лимфоидные фолликулы, атрофия, метаплазия	52	Чувствительность	55,0	[18]
		Специфичность	80,0	
Диспепсия, заболевания верхних отделов желудочно-кишечного тракта	328	Чувствительность	98,	[19]
		Специфичность	-	
Диспепсия, хронический активный гастрит	95	Чувствительность	94,0	[11]
		Специфичность	100,0	
Хронический гастрит, эрозии и язвы желудка	156	Чувствительность	86,0	Данное исследование
		Специфичность	42,8	

применение не одного, а нескольких методов диагностики *H. pylori* [12]. В связи с этим для успешной диагностики *H. pylori* в Якутии рекомендуется использование нескольких перекрестных методов исследования.

Работа выполнена в рамках Государственного задания Министерства образования и науки РФ №6.1766.2017/ПЧ, при финансовой поддержке гранта «Научно-образовательный фонд поддержки молодых учёных Республики Саха (Якутия)» 201502010121, гранта Главы Республики Саха (Якутия) молодым учёным, специалистам и студентам (№ 105-РГ от 8 февраля 2016 г.).

Литература

1. Александрова С.Л. Гастроуденальная патология, ассоциированная *Helicobacter pylori*, у детей в регионе Якутии / С.Л. Александрова, Н.Н. Барашкова, Е.А. Корниенко // Сибирский медицинский журнал. – 2007. – С. 86-88.
2. Alexandrova S.L. *Helicobacter pylori* associated gastroduodenal pathology in children in the region of Yakutia / S.L. Alexandrova, N.N. Barashkova, E.A. Kornienko // Siberian Journal of Medicine. – 2007. – P. 86-88.
3. Васильев А.Ю. Анализ данных лучевых методов исследования на основе принципов доказательной медицины / А.Ю. Васильев, А.Ю. Малый, Н.С. Серов: учебное пособие. – 2008. – С. 25.
4. Vasilev A.Yu. Analysis of the data of radiation research methods based on the principles of evidence-based medicine / A.Yu. Vasilev, A.Yu. Maliy, N.S. Serov: manual. – 2008. – P. 25.
5. Ильчишина Т.А. Особенности лабораторной диагностики *Helicobacter pylori* и клинического течения хронического гастрита и язвенной болезни при бациллярно-кокковом дисморфизме бактерии / Т.А. Ильчишина: Дис.... канд.мед.наук: 14.00.46, 14.00.47. – СПб., 2008. – С. 136.
6. Ilchishina T.A. Features of laboratory diagnostics of *Helicobacter pylori* and clinical course of chronic gastritis and peptic ulcer in case of bacillary-coccal dysmorphism of bacteria / T.A. Ilchishina: PhD thesis: 14.00.46, 14.00.47. – St. Petersburg, 2008. – P. 136.
7. Кривошапкин В.Г. Особенности морфологической картины, кислотности желудочного сока и обсемененности *H. pylori* в зависимости от клинического течения язвенной болезни желудка и двенадцатиперстной кишки / В.Г. Кривошапкин, Т.Н. Курбатова // Дальневосточный медицинский журнал. – 2007. – №4. – С. 35-37.
8. Features of morphological picture, gastric acidity and contamination of *H. pylori* depending on the clinical course of gastric ulcer and duodenal ulcer / V.G. Krivoschapkin, T.N. Kurbatova // Far East Medical Journal. – 2007. – №4. – P. 35-37.
9. Леханова С.Н. Морфологическая характеристика НР-ассоциированных гастритов у детей и подростков Якутии / С.Н. Леханова, В.А. Аргунов // Вестник НГУ. Серия: Биология, клиническая медицина. – 2009. – Т. 7, вып. 1. – С. 72-76.
10. Lekhanova S.N. Morphological characteristics of HP-associated gastritis in children and adolescents of Yakutia / S.N. Lekhanova, V.A. Argunov // Herald of NSU. Series: biology, clinical medicine. – 2009. – Vol. 7, №. 1. – P. 72-76.
11. Лоскутова К.С. Изменения слизистой оболочки антрального отдела желудка при *Helicobacter pylori*-ассоциированном гастрите у населения Якутии / К.С. Лоскутова // Вестник Северо-Восточного федерального университета им. М.К. Аммосова. – 2006. – Т.3, №2. – С.22-26.
12. Loskutova K.S. Changes in the mucous membrane of the antrum with *Helicobacter pylori*-associated gastritis in the population of Yakutia / K.S. Loskutova // Herald of the North-Eastern Federal University M.K. Ammosov. – 2006. – Vol.3, №2. – P.22-26.
13. Методы диагностики инфекции *Helicobacter pylori*: современное состояние вопроса / С. С. Бунова, Л. Б. Рыбкина, И. А. Бакалов [и др.] // Молодой ученый. – 2012. – №12. – С. 540-543.
14. Diagnostics methods of *Helicobacter pylori* infection: modern condition of issue / S.S. Bunova, L.B. Rybkina, I.A. Bakalov [et al.] // Young scientist. – 2012. – №12. – P. 540-543.
15. Развитие идей академика В. Х. Василенко в современной гастроэнтерологии / О.А. Склянская, Т.Л. Лапина, Л.П. Мягкова [и др.] // К 96-летию со дня рождения. – М., 1993. – Т. 2. – С. 85-87.
16. Development of the ideas of Academician V. Kh. Vasilenko in modern gastroenterology / O.A. Sklyanskaya, T.L. Lapina, L.P. Myagkova [et al.] // To the 96-th anniversary. – M., 1993. – Vol. 2. – P. 85-87.
17. Хронический гастрит / Л.И. Аруин, П.Я. Григорьев, В. А. Исаков [и др.]. – Амстердам, 1993. – С. 362.
18. Chronic gastritis / L.I. Aruin, P. Ya Grigorev, V.A. Isacov [et al.]. – Amsterdam, 1993. – P. 362.
19. A comparison of 16S ribosomal DNA sequences from five isolates of *Helicobacter pylori* / B.W. Eckloff, R.P. Podzorski, B.C. Kline [et al.] // Int J Syst Bacteriol. – 1994. – Apr. – Vol. 44. – № 2. – P. 320-323.
20. Comparison of PCR and other diagnostic techniques for detection of *Helicobacter pylori* infection in dyspeptic patients / J. Weiss, J. Mecca, E. da Silva [et al.] // J Clin Microbiol. – 1994. – Jul. – Vol. 32. – №7. – 1663-1668.
21. Efficacy of four widely used techniques of the diagnosis of *Helicobacter pylori* infection in gastric ulcer disease / S.J.F. Bermejo, M.D. Boixeda de, J. Gisbert [et al.] // Rev. Clin. Esp. – 2000. – Vol. 200. – P. 475-479.
22. Evaluation of CLO test and polymerase chain reaction for biopsy-dependent diagnosis of *Helicobacter pylori* infection / C.W. Lin, H.H. Wang, Y.F. Chang [et al.] // Zhonghua Min Guo Wei Sheng Wu Ji Mian Yi Xue Za Zhi. 1997. – Nov. – Vol. 30. – №4. – P. 219-227.
23. *Helicobacter pylori* factors involved in the development of gastroduodenal mucosal damage and ulceration / Y. Germani, C. Dauga, P. Duvat [et al.] // Res. Microbiol. – 1997. – Vol.148. – №4. – P. 315-326.
24. *Helicobacter pylori* strains are simultaneously present in the stomach of most patients with non-ulcer dyspepsia: relevance to histological damage / H. Cohen, L. Laine // Aliment. Pharmacol. Ther. – 1997. – Vol. 11. – Suppl. 1. – P. 3-9.
25. Identification of *Helicobacter pylori* and the *cagA* genotype in gastric biopsies using highly sensitive real-time PCR as a new diagnostic tool / S. Yamazaki, S. Kato, N. Matsukura [et al.] // FEMS Immunol Med Microbiol. 2005. – Jun 1; 44(3): 261–268.
26. Lee J. Y. Diagnosis of *Helicobacter pylori* by invasive test: histology / J. Y. Lee, N. Kim // Annals of Translational Medicine. – 2015. – Jan. – Vol. 3. – №1. – 10. doi.org/10.3978/j.issn.2305-5839.2014.11.03
27. Montgomery E.A. Rapid diagnosis of *Campylobacter pylori* by Gram's stain / E.A. Montgomery, D.F. Martin, D.A. Peura // Am J Clin Pathol 1988. – V. 90. – P. 606-609.
28. PCR-based diagnosis of *Helicobacter pylori* infection in Polish children and adults / Gzyl A., Dzierzanowska D., Rozynek E. [et al.] // J Med Microbiol. 1999. – Apr. – Vol. 48. – №4. – P. 349-56.
29. Performance of Routine *Helicobacter pylori* Invasive Tests in Patients with Dyspepsia / H. – C. Lee, T. – C. Huang, C. – L. Lin [et al.] // Gastroenterology Research and Practice. – 2013. – 184806. doi.org/10.1155/2013/184806
30. Real-Time PCR Improves *Helicobacter pylori* Detection in Patients with Peptic Ulcer Bleeding / M.J. Ramirez-Lázaro, S. Lario, A. Casalots [et al.] // PLoS ONE. – 2011. – Vol. 6. – №5:e20009. – doi:10.1371/journal.pone.0020009.
31. Reliability of biopsy-based diagnostic tests for *Helicobacter pylori* after treatment aimed at its eradication / E.J. van der Wouden, J.C. Thijs, A. A. van Zwet [et al.] // Eur J Gastroenterol Hepatol. – 1999. – Vol. 11. – P. 1255–1258.
32. Schistosomes, liver flukes and *Helicobacter pylori*: views and expert opinions of an IARC Working Group on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans. IARC Working Group on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans. Lyon, France. – 1994.