DOI: 10.33667/2078-5631-2024-34-27-34

# Молекулярно-генетические исследования в диагностике инфекции *Helicobacter pylori*

**Н. В. Барышниковаа[1,2,3], М. Д. Ловчикова[4], И. И. Шишлова[5,6]**

[1] ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет» Минздрава России, Санкт-Петербург
[2] ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И. П. Павлова», Санкт-Петербург
[3] ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины», Санкт-Петербург
[4] БУ Ханты-Мансийского автономного округа – Югры «Сургутская городская клиническая поликлиника № 4», Сургут
[5] ГБУЗ Астраханской области «Александро-Мариинская областная клиническая больница», Астрахань
[6] ЧУЗ «Медико-санитарная часть», Астрахань

***РЕЗЮМЕ***

*Вопросы оптимизации ведения пациентов, инфицированных Helicobacter pylori, остаются актуальными в клинической терапии и гастроэнтерологии вот уже в течение многих лет. Это связано как с высокой распространенностью инфекции H. pylori в России: в зависимости от региона она составляет 35–60 %, так и с потенциальной канцерогенностью микроорганизма в отношении развития рака желудка. Согласно клиническим рекомендациям, при проведении эндоскопического исследования верхних отделов желудочно-кишечного тракта в качестве метода первичной диагностики инфекции могут быть рекомендованы быстрый уреазный тест со взятием биоптата из антрального отдела и тела желудка или полимеразная цепная реакция (ПЦР) с биоптатом желудка. Повысить эффективность диагностики может расширенное молекулярно-генетическое типирование микроба, с определением нескольких генов, кодирующих синтез факторов патогенности H. pylori, а также анализом резистентности микроба к антибиотикам (детекция генов, кодирующих мутации, сопряженные с резистентностью микроорганизма). Благодаря комплексу исследований, включающих не только верификацию возбудителя, но и и молекулярно-генетическое типирование инфекции методом ПЦР, можно существенно оптимизировать тактику ведения пациентов, инфицированных H. pylori и обеспечить персонифицированный подход к проведению антихеликобактерной терапии в зависимости от вирулентности и резистентности штамма возбудителя, которым инфицирован человек. Возрастает актуальность и широта использования полногеномного секвенирования H. pylori, однако это исследование не применяется в рутинной медицинской практике, в том числе из-за высокой стоимости.*

***КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА:*** *Helicobacter pylori, полимеразная цепная реакция, молекулярно-генетическое исследование, диагностика, секвенирование, резистентность.*

***КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ.*** *Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.*

# *Molecular-genetic studies in the diagnosis of Helicobacter pylori infection*

**N. V. Baryshnikova[1,2,3], M. D. Lovchikova[4], I. I. Shishlova[5,6]**

[1] St. Petersburg State Pediatric Medical University, St-Petersburg, Russia
[2] Pavlov First St-Petersburg State Medical University, St-Petersburg, Russia
[3] Institute of Experimental Medicine, St-Petersburg, Russia
[4] Surgut City Clinical Polyclinic No. 4, Surgut, Russia
[5] Alexander-Mariinsky Regional Clinical Hospital, Astrakhan, Russia
[5] Private healthcare institution «Medical and Sanitary Unit», Astrakhan, Russia

***SUMMARY***

*The issues of optimizing the management of patients infected with Helicobacter pylori have remained relevant in clinical therapy and gastroenterology for many years. This is due both to the high prevalence of H. pylori infection in Russia: depending on the region, it is 35–60 %, and to the potential carcinogenicity of the microorganism in relation to the development of stomach cancer. According to clinical recommendations, when conducting an endoscopic examination of the upper gastrointestinal tract, a rapid urease test with a biopsy from the antrum and the body of the stomach or polymerase chain reaction (PCR) with a biopsy of the stomach may be recommended as a method of primary diagnosis of infection. Enhanced molecular genetic typing of the microbe can increase the effectiveness of diagnosis, with the identification of several genes encoding the synthesis of pathogenicity factors H. pylori, as well as the analysis of microbial resistance to antibiotics (detection of genes encoding mutations associated with microbial resistance). Thanks to a set of studies that include not only verification of the pathogen, but also molecular genetic typing of infection by PCR, it is possible to significantly optimize the management tactics of patients infected with H. pylori and provide a personalized approach to antihelicobacter therapy depending on the virulence and resistance of the strain of the pathogen with which a person is infected. The relevance and breadth of the use of full-genome H. pylori sequencing is increasing, however, this study is not used in routine medical practice, including due to the high cost.*

***KEYWORDS:*** *Helicobacter pylori, polymerase chain reaction, molecular genetic research, diagnosis, sequencing, resistance.*

***CONFLICT OF INTEREST.*** *The authors declare no conflict of interest.*

Вопросы оптимизации ведения пациентов, инфицированных *Helicobacter pylori*, остаются актуальными в клинической терапии и гастроэнтерологии вот уже в течение многих лет. Это связано как с высокой распространенностью инфекции *H. pylori* в России: в зависимости от региона она составляет 35–60 % [1, 2], так и с потенциальной канцерогенностью микроорганизма в отношении развития рака желудка [3, 4].

При обращении пациента с жалобами на желудочную диспепсию важно как можно раньше исключить или подтвердить у него инфицирование *H. pylori* для своевременного назначения эрадикационной терапии. Большинству взрослых пациентов с диспепсией при диагностике причины жалоб проводится эндоскопическое исследование верхних отделов желудочно-кишечного тракта (ЖКТ). Согласно клиническим рекомендациям, в этом случае в качестве метода первичной диагностики инфекции могут быть рекомендованы быстрый уреазный тест со взятием биоптата из антрального отдела и тела желудка или полимеразная цепная реакция (ПЦР) с биоптатом желудка [5].

Обращает на себя внимание тот факт, что при проведении скрининга на наличие микроорганизма не у всех *H. pylori*-позитивных лиц присутствуют жалобы со стороны пищеварительной системы. Это может объясняться гетерогенностью штаммов микроорганизма, которую можно проанализировать с помощью методов молекулярно-генетического типирования микроорганизма, к которым относится и вышеупомянутое ПЦР-исследование. Расширенное молекулярно-генетическое типирование с определением нескольких генов, кодирующих синтез факторов патогенности *H. pylori,* в повседневной врачебной практике не проводится, несмотря на то, что его использование смогло бы существенно оптимизировать тактику ведения пациентов, инфицированных этим микроорганизмом, обеспечить персонифицированный подход к проведению антихеликобактерной терапии в зависимости от вирулентности штамма *H. pylori*, которым инфицирован человек, а также прогнозировать развитие той или иной *H. pylori*-ассоциированной патологии и риск развития рака желудка. Также молекулярно-генетическое исследование является альтернативой бактериологическому исследованию для определения резистентности микроба к антибиотикам (детекция генов, кодирующих мутации, сопряженные с резистентностью микроорганизма) [6].

Уже в 90-х годах XX века ученые говорили о разных штаммах *H. pylori*, отличающихся по своему геному, выделяли «ульцерогенные» (вырабатывают цитотоксины, ассоциированы с язвенной болезнью, активным гастритом) и «неульцерогенные» (не вырабатывают цитотоксины, ассоциированы с простым гастритом) штаммы микроорганизма [7]. В литературе уже накоплены данные, что различные по генотипу штаммы *H. pylori* возможно различны и по вирулентности. Важную роль в формировании вирулентности микроба играет ген cagA+, который, как известно, считается маркером острова патогенности и кодирует синтез одного из наиболее агрессивных цитотоксинов – CagA. Присутствие в геноме *H. pylori* гена cagA по данным ряда авторов связано с развитием язвенной болезни, прогрессированием атрофии слизистой оболочки желудка, повышением риска развитии рака желудка, снижением эффективности эрадикационной терапии [8, 9]. Количество генов, обеспечивающих патогенный потенциал *H. pylori*, достаточно велико. Это гены группы *cag* (*cagA, cagC, cagE, cagF, cagH),* гены *vacA, iceA, babA, flaA, flaB, hopQ, hopP, hopZ, hpaA, napA, oipA, sabA, ure A, ureB, ure C, ureI, rdxA, frxA, fdxB, sodB, kat* и др. [10]. Генами, кодирующими синтез наиболее важных, с точки зрения их роли в развитии патологического процесса, факторов патогенности, считаются гены c*agA, vacA, iceA, babA* [11, 12, 13]. Однако в последнее время в связи с выявлением новых генов и их продуктов спектр факторов патогенности *H. pylori* расширяется. Функция многих генов *H. pylori* еще не так подробно изучена. Тем не менее, их роль в развитии патологических изменений в организме человека очевидна, что подтверждает множество различных исследований (*табл.*).

**Полимеразная цепная реакция**

Верификация *H. pylori* проводится в биоптатах слизистой оболочки желудка. Для детекции микроорганизма используются биоптаты из тела и антрального отдела желудка, взятые при проведении фиброэзофагогастродуоденоскопии.

Метод стандартной полимеразной цепной реакции (ПЦР) включает в себя три этапа.

1. Выделение ДНК из клинического образца (биоптата).
2. Амплификация специфических фрагментов ДНК.
3. Детекция продуктов амплификации.

При выделении ДНК каждый биоптат весом от 300 до 500 мг помещается в пластиковую пробирку типа Эппендорф 1,5 мл и измельчается до получения практически гомогенной суспензии. Затем в каждую пробирку добавляется 100 микролитров (мкл) лизирующего раствора из набора, и пробы инкубируются в течение 60 минут при температуре 65 С° в термостате. После этого пробы перемешиваются на вортексе, а затем центрифугируются 5 с при 5 тыс.об./мин на микроцентрифуге. Если проба растворилась не полностью, пробирки с ней центрифугируют на микроцентрифуге 5 мин при максимальных оборотах и используют для выделения ДНК надосадочную жидкость, перенося ее в новую пробирку. Затем в каждую пробирку отдельным наконечником добавляется по 25 мкл предварительно ресуспендированного сорбента из набора, пробы перемешиваются на вортексе дважды с интервалом в две минуты и отстаиваются в штативе в течение пяти минут. Затем пробы центрифугируются при 5 тыс.об./мин в течение 30 с, после чего удаляется надосадочная жидкость с использованием вакуумного отсасывателя и отдельного наконечника для каждой пробы. Затем в пробы добавляют по 300 мкл раствора для отмывки 1 из набора и перемешивают на вортексе до полного ресуспендирования сорбента. После этого пробы центрифугируют при 5 тыс.об./мин в течение 30 с для осаждения сорбента, затем надосадочная жидкость удаляется с использованием вакуумного отсасывателя и отдельного наконечника для каждой пробы. Затем дважды проводится следующая процедура отмывки: в пробы добавляют по 500 мкл раствора для отмывки 2 из набора и перемешивают на вортексе до полного ресуспендирования сорбента, после чего пробы центрифугируют при 10 тыс.об./мин в течение 30 с для осаждения сорбента, затем надосадочная жидкость удаляется полностью с использованием вакуумного отсасывателя и отдельного наконечника для каждой пробы. После этого пробирки с открытыми крышками помещаются в термостат при температуре 65 С° на 5–10 минут для подсушивания сорбента. Затем в пробирки добавляется по 50 мкл ТЕ-буфера из набора для элюции ДНК.

***Таблица***

***Отдельные факторы патогенности H. pylori и их роль в патогенезе H. pylori-ассоциированных заболеваний*** *[10–19]*

| Гены, кодирующий синтез фактора патогенности | Факторы патогенности (белок) | Свойства факторов патогенности |
|---|---|---|
| *babA1, babA2* (blood group antigen-binding adhesion) | BabA1, BabA2 | Фактор адгезии, рецептор клеток Lewis, предположительно связан с более высокой частотой развития язвенной болезни двенадцатиперстной кишки, осложнений инфекции *H. pylori*, а также с аденокарциномой желудка (BabA2) |
| *cagA* (cytotoxin-associated gene) | CagA | Цитотоксин, маркер «острова патогенности» *H. pylori*, способствует повышению активности антрального гастрита участвует в язвообразовании, развитии атрофии, в процессе деградации и разрушения межклеточного матрикса и базальной мембраны, опухолевой инвазии и метастазировании, стимуляции выработки интерлейкина-8, связан со снижением эффективности эрадикации *H. pylori* |
| *cagC* (cytotoxin-associated gene) | CagC | Цитотоксин, стимулирует выработку интерлейкина-8 |
| *cagE* (cytotoxin-associated gene) | CagE | Цитотоксин, стимулирует выработку интерлейкина-8 |
| *cagF* (cytotoxin-associated gene) | CagF | Цитотоксин, вовлечен в процесс распознавания и доставки CagA в каналы T4CC (IV секреторной системы) |
| *cagH* (cytotoxin-associated gene) | CagH | Цитотоксин, маркер интактного острова патогенности, стимулирует выработку интерлейкина-8 |
| *cagL* (cytotoxin-associated gene) | CagL | Действует как белок основного комплекса в T4SS и связывается с интегрином, способствует транслокации CagA, индуцирует экспрессию IL-8 |
| *cagT* (cytotoxin-associated gene) | CagT | Действует как основной комплексный белок в T4SS, помогает в транслокации CagA |
| *cagY* (cytotoxin-associated gene) | CagY | Связывается с интегрином, модулирует иммунный ответ, способствуя персистенции бактерий, изменяет функции T4SS |
| *flaA, fla B* (flagellin A- and B-subunit) | FlaA, FlaB | Обеспечивают подвижность микроорганизма |
| *hopQ, hopP, hopZ* (HP outer membrane protein) | HopQ, HopP, HopZ | Обеспечивают колонизацию и обсемененность слизистой оболочки желудка |
| *hpaA* (adhesion gene of *H. pylori*) | HpaA | Фактор адгезии |
| *iceA1, iceA2* (induced by contact with epithelium) | IceA1, IceA2 | Фактор адгезии |
| *napA* (neutrophil-activating protein) | NapA | Активатор нейтрофилов и окислительного стресса, способен индуцировать процесс освобождения свободных радикалов в нейтрофилах, что приводит к повреждению слизистой оболочки желудка человека |
| *oipA* (outer inflammatory protein) | OipA | Поддерживает воспаление слизистой оболочки желудка, связан с секрецией интерлейкина-8 и интерлейкина-6, со степенью обсемененности *H. pylori* слизистой оболочки желудка, выраженностью нейтрофильной инфильтрацией, с развитием интерстициальной метаплазии |
| *sabA* (sialic acid-binding adhesin) | SabA | Поддерживает воспаление, способствует персистенции инфекции H. pylori |
| ureA, ureB, ureC, ureI | UreA, UreB, UreC, UreI | Уреаза является собственно маркером инфекции *H. pylori* и фактором защиты микроорганизма от действия соляной кислоты, обеспечивает длительное персистирование *H. pylori* в желудке человека, усиливает воспалительные реакции посредством активации моноцитов, нейтрофилов, секреции цитокинов, образования свободных радикалов и окиси азота. Считается, что большая субъединица уреазы – UreB – действует как аттрактант для лейкоцитов |
| *vacA* (vacuolating-associated cytotoxin) | VacA | Цитотоксин, фактор адгезии, достоверно уменьшает скорость реэпителизации экспериментальных язв и пролиферацию эпителиоцитов за счет нарушения целостности цитоскелета, обеспечивает пассивный транспорт мочевины через эпителиальные клетки желудка, влияет на выживание *H. pylori* в клетках хозяина, стимулирует апоптоз клеток |
| *rdxA* (oxygen-insensitive NADPH nitroreductase), *frxA* (NADPH flavin oxidoreductase), *fdxB* (ferredoxin-like protein) | RdxA, FrxA, FdxB | ферменты окислительного метаболизма, участвуют в формировании резистентности к метронидазолу |
| *23S rRNA* | Точечные мутации A2144G, A2143G, A2143C, A2115C, A2142G, C2182T, T2717C | участвуют в формировании резистентности к кларитромицину |
| *HtrA* | Протеаза | Действует как протеаза, разрушающая неправильно свернутые белки, обеспечивает доставку CagA, расщепляет белки плотных контактов (окклюдин, клаудин-8 и E-кадгерин) |
| *kat* | Каталаза | Позволяет *H. pylori* подавлять иммунный ответ организма хозяина, катализируя реакцию превращения бактерицидных соединений кислорода, высвобождаемых активированными в результате инфекции нейтрофилами, в кислород и воду, являющиеся безвредными для микроба |
| *sodB* | Супероксидисмутаза | Позволяет *H. pylori* подавлять иммунный ответ организма хозяина, катализируя реакцию превращения бактерицидных соединений кислорода, высвобождаемых активированными в результате инфекции нейтрофилами, в кислород и воду, являющиеся безвредными для микроба |

Пробы перемешиваются на вортексе и помещаются в термостат при температуре 65 С° на 5 минут. После этого пробы центрифугируют при 12 тыс.об./мин в течение 1 минуты на микроцентрифуге. В результате процесса выделения ДНК надосадочная жидкость содержит очищенную ДНК *H. pylori*.

Для реакции амплификации проводится специальная подготовка образцов. В пробирку для ПЦР (0,6 мл) из расчета на одну пробу добавляется: 14 микролитров дистиллированной воды, 2,5 микролитра буфера для Taq ДНК-полимеразы, 1 микролитр dNTP (дезоксинуклео-

тидтрифосфат), 0,5 микролитра праймера прямого + 0,5 микролитра праймера обратного, 0,25 микролитров Taq-полимеразы. После этого пробирки центрифугируют для перемешивания компонентов смеси и в каждую пробирку отдельным наконечником добавляют 5 мкл ДНК из пробы. Затем пробирки повторно центрифугируют для перемешивания компонентов смеси и наливают в каждую пробирку сверху 50 мкл минерального масла.

Реакция амплификации проводится на специальных аппаратах с использованием программы амплификации, включающей 3 этапа с повторением данного цикла 35 раз:

1. Денатурация ДНК (расплетение двойной спирали) при температуре 94 С° в течение 30 с.
2. Отжиг (присоединение) праймеров при температуре 57 С°–60 с.
3. Достраивание цепей ДНК при температуре 72 С⁰–60 с.

После завершения реакции амплификации проводится электрофорез в 1,5% агарозном геле (1,5 грамма агарозы, 100 мл 1% ТАЕ-буфера, 7 мкл бромистого этидия). Каждая проба смешивается с 2 микролитрами краски с бромфенолом и ксилен цианолом и аккуратно наносится на 1,5% агарозный гель в специальные лунки. Электрофорез проводится в горизонтальной камере в Трис-ацетатном буфере при напряжении 60 вольт и силе тока 50 миллиампер в течение 30–40 минут. Затем ДНК фрагменты наблюдаются в ультрафиолете для определения бендов, свидетельствующих о наличии или отсутствии микроорганизма.

Помимо стандартной методики ПЦР-исследования используют ПЦР с флюоресцентной детекцией (ПЦР-ФД) и ПЦР в реальном времени (ПЦР-РВ). При ПЦР-ФД в реакционную смесь добавляют специфический флуоресцентный зонд и далее через 30–40 циклов определяют уровень флуоресценции. Наиболее информативным считается метод ПЦР-РВ, когда в реакционную смесь также добавляется или специфический флуоресцентный зонд (TaqMan и др.), или интеркалирующий краситель (SYBR GreenI и др.), но в этом случае амплификатор позволяет детектировать флуоресценцию каждый цикл и наблюдать рост количества ПЦР-продукта в каждой пробирке, и далее по имеющейся калибровке определять точное исходное количество образца в пробе. Таким образом, ПЦР-РВ позволяет осуществлять количественную оценку содержания ДНК в исследуемом материале [20, 21].

Меньшей популярностью пользуется ПЦР-диагностика *H. pylori* в слюне, кале, моче в связи с риском получения ложноотртицательных результатов, т.к. забор производится не из типичного места обитания бактерии. Данный вариант диагностики носит скорее научную направленность.

**Секвенирование генома**

Возрастает актуальность и широта использования полногеномного секвенирования *H. pylori* [6]. В качестве материала исследования могут быть использованы биоптаты слизистой оболочки желудка и двенадцатиперстной кишки, фекалии. По сути, секвенирование генома отличается от ПЦР-исследвоания только последним этапом, когда после выделения ДНК/РНК и амплификации проводится собственно секвенирование: определение нуклеотидных последовательностей различных генов микроорганизмов [22], полученных в результате амплификации отдельных генов бактерий [23]. В основном для идентификации используют гены, кодирующие 16S и 23S рибосомальные-РНК (р-РНК), т.к. они присутствуют во всех бактериальных клетках и являются видоспецифичными для большинства микроорганизмов [24]. Использование для идентификации гена 16S р-РНК (присутствует в геноме всех известных бактерий и архей, но отсутствует у вирусов и в ядерных хромосомах эукариот), позволяет различать близкородственные виды и подвиды микроорганизмов [25]. Поскольку нуклеотидные последовательности 16S р-РНК многих известных бактерий доступны, при проведении секвенирования выявленные последовательности анализируемых микроорганизмов можно сравнить с присутствующими в базах данных и идентифицировать бактерии [26].

В диагностике генома бактерии используют несколько методов.

***1. Метод Сэнгера (ферментативный)***

Метод заключается в синтезе новой комплементарной ДНК-цепи на ДНК-матрице с помощью фермента ДНК-полимеразы. Синтез проводится в 4 разных пробирках с реакционной смесью, состоящей из праймера, стандартных дезоксинуклеотидов (dATP, dGTP, dCTP, dTTP), а также малого количества одного из четырех радиоактивно меченых дезоксинуклеотидов (дидезоксинуклеотидов). Готовятся четыре раствора с каждым ddNTP по отдельности. У дидезоксирибонуклеотидов (ddATP, ddGTP, ddCTP, or ddTTP) отсутствует 3’-гидроксильная группа, поэтому после их включения в цепь дальнейший синтез обрывается. Таким образом, в каждой пробирке образуется набор фрагментов ДНК разной длины, которые заканчиваются одним и тем же нуклеотидом (в соответствии с добавленным дидезоксинуклеотидом). После завершения реакции содержимое пробирок разделяют электрофорезом в полиакриламидном геле в денатурирующих условиях и проводят авторадиографию гелей. На сегодняшний день секвенирование ДНК по Сэнгеру полностью автоматизировано. В настоящее время вместо радиоактивно меченных нуклеотидов используют дидезоксинуклеотиды с флуоресцентными метками с разными длинами волн испускания, благодаря чему реакцию можно проводить в одной пробирке. Реакционную смесь разделяют капиллярным электрофорезом, фрагменты ДНК, выходящие из капиллярной колонки, регистрируются детектором флуоресценции. Результаты анализируют с помощью компьютера и представляют в виде последовательности разноцветных пиков, соответствующих четырём нуклеотидам [27].

***2. NGS (next-generation sequencing) – секвенирование нового поколения***

*Циклическое лигазное секвенирование*

В данном методе используют эмульсионную ПЦР, после которой каждая из микросфер содержит на своей поверхности около миллиона копий одного из исходных ДНК-фрагментов. Затем фрагменты ДНК денатурируют и модифицируют по 3′ концу, что позволяет ковалентно связать миллиарды микросфер, покрытых фрагментами ДНК, с подложкой. Затем следует процесс циклического лигазного секвенирования. К одноцепочечной матрице ДНК присоединяют праймер и добавляют синтезированные флуоресцентно меченные восьмичленные олигонуклеотидные зонды. Каждый зонд в позиции 1 и 2

содержит два известных нуклеотида, которые в сочетании со следующими тремя основаниями должны иметь комбинацию последовательности, комплементарную соответствующим коротким фрагментам матрицы. Последние 3 основания, одинаковые (универсальные) для всех зондов, имеют на конце флуоресцентную метку. После того, как один из зондов комплементарно связывается с первыми пятью основаниями от праймера на одноцепочечной матрице ДНК, лигаза сшивает его с праймером. При этом метка детектируется и удаляется вместе с последними тремя универсальными нуклеотидами зонда. Затем происходит сшивание (лигирование) другого зонда, комплементарно соединившегося со следующими пятью основаниями, от зонда уже присоединенного ранее и так далее до конца матрицы ДНК. После чего построенная комплементарная цепь удаляется, а к матрице добавляется праймер, который смещен по месту посадки на один нуклеотид относительно посадки предыдущего праймера, и весь процесс достройки второй цепи методом лигирования повторяется. Для определения полной последовательности секвенируемого фрагмента нужно провести эту процедуру с пятью праймерами, каждый из которых смещен относительно предыдущего праймера по месту посадки на один нуклеотид.

*Секвенирование на молекулярных кластерах с использованием флуоресцентно меченных предшественников*

В этом методе фрагменты ДНК матрицы фиксируют на подложке вместе с праймерами и проводят их амплификацию, в результате которой вокруг каждого исходного фиксированного фрагмента ДНК образуется около 1000 его копий. В целом на подложке образуются до миллиарда таких скоплений – кластеров. Далее ДНК денатурируют и проводят секвенирование ее одноцепочечных фрагментов. Для этого добавляют свободно плавающие праймеры и меченные флуоресцентными красителями разных цветов терминирующие нуклеотиды всех четырех типов, чтобы к каждому однонитевому фрагменту ДНК присоединился праймер и только 1 нуклеотид, цвет которого можно определить с помощью лазера. Затем присоединенный нуклеотид химически модифицируют, чтобы к нему мог присоединиться следующий терминирующий нуклеотид, таким образом продолжают сиквенс (достраивание) комплементарной цепи, детектируя прибором флуоресценцию из многих сотен миллионов точек-кластеров одновременно.

*Высокопроизводительное пиросеквенирование*

Основой данного метода является использование эмульсионной ПЦР с одновременной параллельной подготовкой многих сотен тысяч фрагментов ДНК для их секвенирования. После проведения всех предварительных этапов пробоподготовки каждый из четырех видов нуклеотидов, смешанный с другими реактивами для пиросеквенирования, подается последовательно в проточную камеру, куда помещается подложка, имеющая несколько миллиардов лунок, заполненных микросферами (одна лунка – одна микросфера). Каждая микросфера содержит на своей поверхности после эмульсионной ПЦР многие сотни тысяч копий одного из исходных ДНК-фрагментов. Если в лунку попадает тип нуклеотидов, который комплементарен очередному нуклеотиду в достраиваемой одноцепочечной цепи матрицы ДНК, то полимераза встраивает эти нуклеотиды, что приводит через каскад реакций к высвобождению пирофосфата и генерации общего светового сигнала из лунки. Интенсивность сигнала из каждой лунки пропорциональна количеству нуклеотидов одного вида, встроенных в цепи ДНК за один проход реакционной смеси. Дно подложки находится в оптическом контакте с оптико-волоконным световодом, что позволяет регистрировать излучаемые фотоны со дна многих сотен тысяч лунок одновременно, в которых произошло встраивание очередного известного нуклеотида в достраиваемые комплементарные цепи ДНК в процессе пиросеквенирования.

*Полупроводниковое секвенирование.*

Данный метод не требует модификации нуклеотидных оснований, хемилюминесцентных или флуоресцентных меток. Когда нуклеотид включается в комплементарную достраиваемую цепь ДНК полимеразой, происходит выделение водородного иона как побочного продукта, что изменяет pH реакционной смеси, определение этого изменения pH положено в основу детекции последовательности нуклеотидов ДНК при полупроводниковом секвенировании. Пробоподготовка ДНК в данном методе практически не отличается от уже описанной для лигазного секвенирования. Проведение предварительной эмульсионной ПЦР здесь необходимо для усиления сигнала об изменении в значении pH. Это изменение pH в каждой отдельной лунке на чипе будет давать около миллиона копий одного из исходных ДНК-фрагментов, прикрепленных к поверхности микросферы. Для этого подготовленную таким образом библиотеку ДНК денатурируют и распределяют на микроэлектронный чип, имеющий миллионы микролунок (одна лунка – одна микросфера) с иончувствительной поверхностью, связанной с датчиками. Затем последовательно добавляют реакционные ПЦР смеси, отличающиеся по составу наличием в них только одного из 4 видов нуклеотидов, и детектируют изменение pH в лунках, где произошло встраивание этих нуклеотидов в комплементарные цепи ДНК-матриц [28–29].

К минусам секвенирования генома *H. pylori* можно отнести высокую стоимость метода, отсутствие массового оснащения необходимым оборудованием медицинских лабораторий и отсутствие данной услуги в системе ОМС. В связи с чем геномное секвенирование в настоящее время используется преимущественно в научных целях.

*Анализ резистентости H.pylori к антибиотикам с использованием молекулярно-генетических методов*

Как уже упоминалось выше, с помощью ПЦР-исследования можно определить наличие генов, кодирующих резистентность H.pylori к антибиотикам, в частнотси к кларитромицину, тетрациклину, левофлксацину, метронидазолу. Также устойчивость *H.pylori* к антибактериальным препаратам с использованием метода секвенирования генома изучается во множестве стран [30, 31, 32, 33]. Резистентность *H.pylori* к макролидам возникает в результате нуклеотидных замен в участках связывания антибиотика с большой субъединицей бактериальной рибосомы (коррелирует с наличием аллелей гена 23S рРНК), таких как A2142G, A2143G и T2717C.

В качестве примера можно привести исследования Республиканского научно-практического центра радиационной

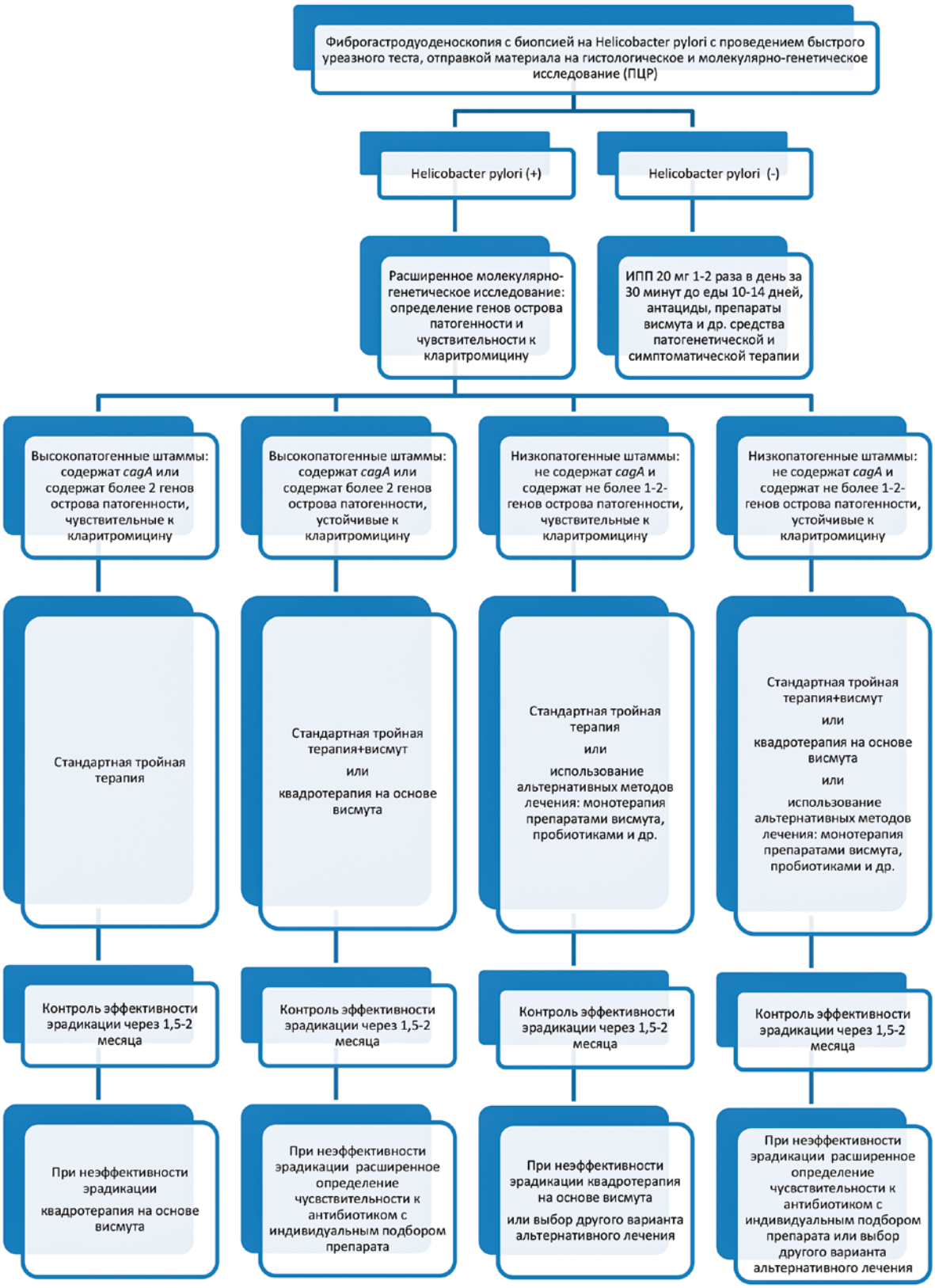


*Рисунок 1.* Алгоритм диагностики и лечения пациентов с *H. pylori*-ассоциированными заболеваниями гастродуоденальной зоны при возможности проведения молекулярно-генетического исследования

медицины и экологии человека, г. Гомель, Республика Беларусь [34]. Биологическим материалом являлись 9 клинически устойчивых к терапии первой линии с применением Кларитромицина образцов ДНК и 25 выборочных образцов ДНК пациентов с гастродуоденальными заболеваниями. В ходе исследований, после ПЦР и очистки ПЦР-продукта, осуществляли секвенирование. Секвенирующую реакцию проводили в тонкостенных ПЦР-пробирках объемом 0,2 мл. В ходе исследования использовали реакционную смесь содержащую BigDye® Terminator v1.1 Cycle Sequencing

Kit и прямой и обратный праймеры. После проведения секвенирующей реакции проводили очистку продуктов от непрореагировавших дидезоксинуклеотидтрифосфатов и праймеров. После промывки этанолом пробирки с открытыми крышками размещали в штативе и просушивали осадок ДНК-меченых продуктов в твердотельном термостате в течение 50 минут при температуре 450 С° до полного испарения этанола. Высушенный осадок растворяли в 20 мкл деионизованного формамида, осторожно встряхивая на вортексе в течение 3 минут. Растворенные меченые образцы денатурировали в твердотельном термостате при температуре 950 С° в течение 2 минут, затем резко охлаждали на льду и хранили при температуре минус 200 С° для последующего секвенирования. Электрофоретический анализ проводили на секвенаторе ABI Prism 310 Genetic Analyzer (Applied Biosystems, США) в соответствии с прилагаемой инструкцией. Количество внесенного образца составляло 20 мкл. Для проведения исследования использовали 6% денатурирующий гель POP-6TM. В ходе исследования был выбран модуль анализа Seq POP6 (1 ml) E для 61см (50 мкм) капилляра. Анализ полученных результатов проводили при помощи программного пакета Sequencing Analysis Software 5.1.1 (Applied Biosystems, США). Полученные данные о нуклеотидной последовательности в формате FASTA были использованы для поиска с помощью программы BLAST (http://www.ncbi.nlm.nih.gov/blast). Конечным результатом явилось установление спецификации выявленного продукта сравнением с известными последовательностями гена 23S рРНК *H. pylori*. Нуклеотидные последовательности изучаемых образцов анализировали с помощью программы Sequence Analysis 5.1.1 и сравнивали с нуклеотидными последовательностями гена 23S рРНК H. pylori из GenBank NCBI в программе CLC Sequence Viewer 6.3. Обозначение мутаций проводили согласно работе D.E. Taylor с соавт. [35]. Проведенный анализ нуклеотидных последовательностей ДНК, устойчивых к кларитромицину образцов с использованием технологии прямого автоматического секвенирования, позволил определить наиболее значимые и часто встречаемые точечные мутации, ответственные за резистентность *H. pylori* к кларитромицину: T2182C (62,5%), A2143G (25%), A2142G (12,5%) [34]. Полногеномное секвенирование позволяет проводить широкий анализ изолятов *H. pylori*. Этот метод целесообразен для выявления резистентности к кларитромицину и левофлоксацину. Комбинаторный анализ усечений гена rdxA и мутаций R16H может быть полезен для определения устойчивости к метронидазолу [36].

Возможности молекулярно-генетического типирования позволяют предложить алгоритм персонифицированного подхода к ведению пациентов, инфицированных *H. pylori* с учетом генетических особенностей и генотипической чувствительности к антибиотикам штамма микроба (*рис. 1*). Уникальный комплекс исследований, включающий не только верификацию возбудителя, но и и молекулярно-генетическое типирование инфекции H. pylori методом ПЦР, выполняет научно-исследовательская лаборатория Explana (ООО «Эксплана»), базирующаяся в Санкт-Петербурге и сотрудичающая со многими клиниками по всей России и в странах СНГ. Комплексное исследование включает в себя генотипирование *H. pylori* – cagA, cagE, cagH, чувствительность *H. pylori* к кларитромицину и качественное определение ДНК возбудителя в биообразцах. Для исследования используются биоптаты слизистой оболочки желудка, а также кал, взятый из разных участков биообразца. Результат выдается в кратчайший срок от 2 до 5 дней [37].

## Заключение

Возможность молекулярно-генетического метода позволяет не только подтвердить инфицирование, но и определить молекулярно-генетические особенности микроорганизма для оценки его вирулентности, формирования представления о дальнейшем течении заболевания и его прогнозе, а также для определения чувствительности микроорганизма к антибиотикам для подбора подходящих антибактериальных препаратов. Использование молекулярно-генетических методов исследования *H. pylori* полезно для составления более полной картины заболевания, уточнения степени патогенности микроорганизма, прогнозирования течения заболеваний. Помимо роли генетических характеристик *H. pylori* в развитии заболеваний желудочно-кишечного тракта, следует помнить о ряде факторов, к которым относятся как эндогенные (кислотная агрессия, нарушение слизеобразования в желудке и др.), так и экзогенные (стрессы, нерациональное питание и др.) факторы, а также состояние макроорганизма, его способность сопротивляться инфекции. Эти факторы также принимают участие в формировании болезней и должны учитываться при определениии тактики ведения пациентов, инфицированных *H. pylori*.

***Список литературы / References***


1. *Bordin D, Morozov S, Plavnik R, Bakulina N, Voynovan I, Skibo I, Isakov V, Bakulin I, Andreev D, Maev I. Helicobacter pylori infection prevalence in ambulatory settings in 2017–2019 in RUSSIA: The data of real-world national multicenter trial. Helicobacter. 2022 Oct;27(5): e12924. doi: 10.1111/hel.12924. Epub 2022 Aug 16. PMID: 35971900.*
2. *Tkachenko MA, Zhannat NZ, Erman LV, Blashenkova EL, Isachenko SV, Isachenko OB, Graham DY, Malaty HM. Dramatic changes in the prevalence of Helicobacter pylori infection during childhood: a 10-year follow-up study in Russia. J Pediatr Gastroenterol Nutr. 2007 Oct;45(4):428–32. doi: 10.1097/MPG.0b013e318064589f. PMID: 18030208.*
3. *World Cancer Report [электронный ресурс]. URL: https://www.iarc.who.int/featured-news/new-world-cancer-report/ (дата обращения: 14.12.2024).*
4. *International Agency for Research on Cancer. IARC (1994) Schistosomes, Liver Flukes and Helicobacter Pylori (IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans, Vol. 61), Lyon, IARC [электронный ресурс]. URL: https://www.iarc.who.int/world-cancer-report-content-overview/ (дата обращения 14.12.2024)*
5. *Ивашкин В.Т., Лапина Т.Л., Маев И.В., Драпкина О.М., Козлов Р.С., Шептулин А.А., Трухманов А.С., Абдулхаков С.Р., Алексеева О.П., Алексеенко С.А., Андреев Д.Н., Бордин Д.С., Дехнич Н.Н., Кляритская И.Л., Корочанская Н.В., Осипенко М.Ф., Полуэктова Е.А., Сарсенбаева А.С., Симаненков В.И., Ткачев А.В., Ульянин А.И., Хлынов И.Б., Цуканов В.В. Клинические рекомендации Российской гастроэнтерологической ассоциации, Научного сообщества по содействию клиническому изучению микробиома человека, Российского общества профилактики неинфекционных заболеваний, Межрегиональной ассоциации по клинической микробиологии и антимикробной химиотерапии по диагностике и лечению H. pylori у взрослых. Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии. 2022;32(6):72–93. https://doi.org/10.22416/1382-4376-2022-32-6-72-93.*
   *Ivashkin V.T., Lapina T.L., Maev I.V., Drapkina O.M., Kozlov R.S., Sheptulin A.A., Trukhmanov A.S., Abdulkhakov S.R., Alekseeva O.P., Alekseenko S.A., Andreev D.N., Bordin D.S., Dekhnich N.N., Klyaritskaya I.L., Korochanskaya N.V., Osipenko M.F., Poluektova E.A., Sarsenbaeva A.S., Simanenkov V.I., Tkachev A.V., Ulyanin A.I., Khlynov I.B., Tsukanov V.V. Clinical Practice Guidelines of Russian Gastroenterological Association, Scientific Society for the Clinical Study of Human Microbiome, Russian Society for the Prevention of Non-Communicable Diseases, Interregional Association for Clinical Microbiology and Antimicrobial Chemotherapy for H. pylori Diagnostics and Treatment in Adults. Russian Journal of Gastroenterology, Hepatology, Coloproctology. 2022;32(6):72–93. (In Russ.). https://doi.org/10.22416/1382-4376-2022-32-6-72-93*
6. *Malfertheiner P, Megraud F, Rokkas T, Gisbert JP, Liou JM, Schulz C, Gasbarrini A, Hunt RH, Leja M, O'Morain C, Rugge M, Suerbaum S, Tilg H, Sugano K, El-Omar EM; European Helicobacter and Microbiota Study group. Management of Helicobacter pylori infection: the Maastricht VI/Florence consensus report. Gut. 2022 Aug 8: gutjnl-2022–327745. doi: 10.1136/gutjnl-2022–327745. Epub ahead of print. PMID: 35944925.*
7. *Figura N, Guglielmetti P, Rossolini A, Barberi A, Cusi G, Musmanno RA, Russi M, Quaranta S. Cytotoxin production by Campylobacter pylori strains isolated from patients with peptic ulcers and from patients with chronic gastritis only. J Clin Microbiol. 1989 Jan;27(1):225–6. doi: 10.1128/jcm.27.1.225–226.1989. PMID: 2913034; PMCID: PMC267274.*

8. *Ansari S, Yamaoka Y. Helicobacter pylori Virulence Factors Exploiting Gastric Colonization and its Pathogenicity. Toxins (Basel). 2019 Nov 19;11(11):677. doi: 10.3390/toxins11110677. PMID: 31752394; PMCID: PMC6891454.*
9. *Tohidpour A. CagA-mediated pathogenesis of Helicobacter pylori. Microb Pathog. 2016 Apr;93:44–55. doi: 10.1016/j.micpath.2016.01.005. Epub 2016 Jan 12. PMID: 26796299.*
10. *Ansari S, Yamaoka Y. Helicobacter pylori Virulence Factors Exploiting Gastric Colonization and its Pathogenicity. Toxins (Basel). 2019 Nov 19;11(11):677. doi: 10.3390/toxins11110677. PMID: 31752394; PMCID: PMC6891454.*
11. *Исаков В. А., Домарадский И. В. Хеликобактериоз.– М.: Медпрактика, 2003.– 412 с.*
*Isakov V. A., Domaradsky I. V. Helicobacteriosis.– M.: Medpraktika, 2003.– 412 p. (In Russ.).*
12. *Барышникова Н. В., Суворов А. Н., Ткаченко Е. И., Успенский Ю. П. Роль генетических особенностей Helicobacter pylori в патогенезе заболеваний органов пищеварения: от теории к практике. Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. 2009; 1: 12–19.*
*Baryshnikova NV, Suvorov AN, Tkachenko EI, Uspenskiĭ Iu P. The role of genetic features of Helicobacter pylori in pathogenesis of digestive system diseases: from theory to practice. Eksp Klin Gastroenterol. 2009;(1):12–9. (In Russ.). PMID: 19548418*
13. *Graham DY, Yamaoka Y. Disease-specific Helicobacter pylori virulence factors: the unfulfilled promise. Helicobacter. 2000;5 Suppl 1: S3–9; discussion S27–31. doi: 10.1046/j.1523–5378.2000.0050s1003.x. PMID: 10828748.*
14. *Успенский Ю. П., Суворов А. Н., Барышникова Н. В. Инфекция Helicobacter pylori в клинической практике (монография)/ СПб.: ИнформМед, 2011.– 572 с.: ил., 16 с. цв. вкл. ISBN978-5-904192-46-4.*
*Uspensky Yu.P., Suvorov A. N., Baryshnikova N. V. Helicobacter pylori infection in clinical practice (monography)/ St. Petersburg: InformMed, 2011.– 572 p. (In Russ.). ISBN978-5-904192-46-4*
15. *Jenks PJ, Edwards DI. Metronidazole resistance in Helicobacter pylori. Int J Antimicrob Agents. 2002 Jan;19(1):1–7. doi: 10.1016/s0924–8579(01)00468-x. PMID: 11814762.*
16. *Al-Ghoul L, Wessler S, Hundertmark T, Krüger S, Fischer W, Wunder C, Haas R, Roessner A, Naumann M. Analysis of the type IV secretion system-dependent cell motility of Helicobacter pylori-infected epithelial cells. Biochem Biophys Res Commun. 2004 Sep 24;322(3):860–6. doi: 10.1016/j.bbrc.2004.07.199. PMID: 15336542*
17. *Kudo T, Nurgalieva ZZ, Conner ME, Crawford S, Odenbreit S, Haas R, Graham DY, Yamaoka Y. Correlation between Helicobacter pylori OipA protein expression and oipA gene switch status. J Clin Microbiol. 2004 May;42(5):2279–81. doi: 10.1128/JCM.42.5.2279–2281.2004. PMID: 15131212; PMCID: PMC404672*
18. *Furuta T, Soya Y, Sugimoto M, Shirai N, Nakamura A, Kodaira C, Nishino M, Okuda M, Okimoto T, Murakami K, Fujioka T, Hishida A. Modified allele-specific primer-polymerase chain reaction method for analysis of susceptibility of Helicobacter pylori strains to clarithromycin. J Gastroenterol Hepatol. 2007 Nov;22(11):1810–5. doi: 10.1111/j.1440–1746.2007.04919.x. PMID: 17914955*
19. *Wu CC, Chou PY, Hu CT, Liu ZC, Lin CY, Tseng YH, Lin NT. Clinical Relevance of the vacA, iceA, cagA, and flaA genes of Helicobacter pylori strains isolated in Eastern Taiwan. J Clin Microbiol. 2005 Jun;43(6):2913–5. doi: 10.1128/JCM.43.6.2913–2915.2005. PMID: 15956417; PMCID: PMC1151873.*
20. *Белов Ю. В., Петров А. И., Курочкин В. Е. Двукомпонентный количественный ПЦР-Анализ. Научное приборостроение. 2012; 22 (4): 72–76.*
*Belov Yu. V., Petrov A. I., Kurochkin V. E. Two-component quantitative PCR Analysis. Scientific application. 2012; 22 (4): 72–76. (In Russ.).*
21. *Чубенко Г. И. Методы идентификации бактерий. Методическое пособие для самоподготовки студентов. Благовещенск, 2018–44 с.*
*Chubenko G. I. Methods of identification of bacteria. A methodological guide for self-preparation of students. Blagoveshchensk, 2018–44 s. (In Russ.).*
22. *Определитель бактерий Берджи. / Под ред. Хоулта Дж. и др.: 9-е издание в 2-х томах: Пер. с англ. под ред. акад. РАН Г. А. Заварзина,– М., 1997.*
*A definitive bacterium Bergi. / In order. Holta J. etc.: 9th edition in 2-x Tomah: per. with English. in order. ACAD. RAN G. A. Zavarzina, M., 1997. (In Russ.).*
23. *Vesterlund SR, Sorvari J, Vasemägi A. Molecular identification of cryptic bumblebee species from degraded samples using PCR-RFLP approach. Mol Ecol Resour. 2014 Jan;14(1):122–6. doi: 10.1111/1755–0998.12168. Epub 2013 Oct 16. PMID: 24128053.*
24. *Schlegel L, Grimont F, Grimont PA, Bouvet A. Identification of major Streptococcal species by rrn-amplified ribosomal DNA restriction analysis. J Clin Microbiol. 2003 Feb;41(2):657–66. doi: 10.1128/JCM.41.2.657–666.2003. PMID: 12574263; PMCID: PMC149671.*
25. *Патрушев Л. И. Искусственные генетические системы. Москва: Наука, 2004.– 530 с.*
*Patrushev L. I. Artificial genetic systems. Moscow: Nauka, 2004.– 530 p. (In Russ.).*
26. *ГенБанк [Электронный ресурс]. URL: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore (дата обращения 14.12.2024)*
*GenBank [Electronic resource]. URL: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore (accessed 12/14/2024).*
27. *Краснов Я. М., Гусева Н. П., Шарапова Н. А., Черкасов А. В. Современные методы секвенирования ДНК. Микробиология, 2014; 2:73–79.*
*Krasnov Ya.M., Guseva N. P., Sharapova N. A., Cherkasov A. V. Modern methods of DNA sequencing. Microbiology, 2014; 2:73–79. (In Russ.).*
28. *Новикова Е. И., Снигирева Г. П. Секвенирование «нового поколения» (NGS): применение для молекулярно-генетических исследований в онкологии. Вестник Российского научного центра рентгенорадиологии. 2016; 16 (1): 1–16.*
*Novikova E. I., Snigireva G. P. «New generation» sequencing (NGS): application for molecular genetic research in oncology. Bulletin of the Russian Scientific Center of Radiology. 2016; 16 (1): 1–16. (In Russ.).*
29. *Мицура В. М. Применение секвенирования нового поколения (NGS) в медицине. Медико-биологические проблемы жизнедеятельности. 2021;(1):13–18.*
*Mitsura V. M. The application of next-generation sequencing (NGS) in medicine. Medical and Biological Problems of Life Activity. 2021;(1):13–18. (In Russ.).*
30. *Чемерис А. В., Ахунов Э. Д., Вахитов В. А. Секвенирование ДНК. М.: Наука; 1999. 428 с.*
*Chemeris A. V., Akhunov E. D., Vakhitov V. A. DNA sequencing. M.: Nauka; 1999. 428 p. (In Russ.).*
31. *Михеева И. О., Цапкова Л. А., Бодунова Н. А., Бордин Д. С., Дехнич Н. Н., Полякова В. В., Репьев А. П. Сравнительное исследование лабораторных методов выявления антибиотикорезистентности Helicobacter pylori. Доказательная гастроэнтерология. 2023;12(3):64–73.*
*Mikheeva IO, Tsapkova LA, Bodunova NA, Bordin DS, Dekhnich NN, Polyakova VV, Repyev AP. A comparative study of laboratory methods for detecting Helicobacter pylori antibiotic resistance. Russian Journal of Evidence-Based Gastroenterology. 2023;12(3):64–73. (In Russ.) https://doi.org/10.17116/dokgastro20231203164].*
32. *Cortes MC, Yamakawa A, Casingal CR, Fajardo LS, Juan ML, De Guzman BB, Bondoc EM; St. Luke's Helicobacter pylori Study Group; Mahachai V, Yamazaki Y, Yoshida M, Kutsumi H, Natividad FF, Azuma T. Diversity of the cagA gene of Helicobacter pylori strains from patients with gastroduodenal diseases in the Philippines. FEMS Immunol Med Microbiol. 2010 Oct;60(1):90–7. doi: 10.1111/j.1574–695X.2010.00722.x. PMID: 20670275.*
33. *Mégraud F, Bessède E, Lehours P. Diagnosis of Helicobacter pylori infection. Helicobacter. 2014 Sep;19 Suppl 1:6–10. doi: 10.1111/hel.12161. PMID: 25167939.*
34. *Воропаева А. В. Детекция резистентности Helicobacter pylori к Кларитромицину с использованием технологии прямого автоматического секвенирования. Наука и инновации – современные концепции. 2023:82–86. DOI 10.34660/INF.2023.83.99.041*
*Voropaeva A. V. Detection of Helicobacter pylori resistance to Clarithromycin using direct automatic sequencing technology. Science and innovation are modern concepts. 2023:82–86. (In Russ.).DOI 10.34660/INF.2023.83.99.041*
35. *Taylor DE, Ge Z, Purych D, Lo T, Hiratsuka K. Cloning and sequence analysis of two copies of a 23S rRNA gene from Helicobacter pylori and association of clarithromycin resistance with 23S rRNA mutations. Antimicrob Agents Chemother. 1997 Dec;41(12):2621–8. doi: 10.1128/AAC.41.12.2621. PMID: 9420030; PMCID: PMC164180.*
36. *Saranathan R, Levi MH, Wattam AR, Malek A, Asare E, Behin DS, Pan DH, Jacobs WR Jr, Szymczak WA. Helicobacter pylori Infections in the Bronx, New York: Surveying Antibiotic Susceptibility and Strain Lineage by Whole-Genome Sequencing. J Clin Microbiol. 2020 Feb 24;58(3): e01591–19. doi: 10.1128/JCM.01591–19. PMID: 31801839; PMCID: PMC7041580.*
37. *Комплексное исследование на Helicobacter pylori [электронный ресурс]. URL: https://www.explana.ru/research/1000?ysclid=m4sltehtz469854904 1#ysclid=m4sltehtz469854904 1&tab=opisanie (дата обращения 17.12.2024)*
*A comprehensive study on Helicobacter pylori [electronic resource]. URL: https://www.explana.ru/research/1000?ysclid=m4sltehtz469854904 1#ysclid=m4sltehtz469854904 1&tab=opisanie (accessed 12/17/2024)*



Статья поступила / Received 08.12.2024
Получена после рецензирования / Revised 16.12.2024
Принята в печать / Accepted 18.12.2024



**Сведения об авторах**

***Барышникова Наталья Владимировна,*** *к.м.н., доцент, младший научный сотрудник лаборатории медико-социальных проблем педиатрии[1], доцент кафедры внутренних болезней стоматологического факультета[2], научный сотрудник лаборатории молекулярной микробиологии[3].*
*E-mail: baryshnikova_nv@mail.ru. ORCID: 0000-0001-7429-0336*

***Ловчикова Марина Дмитриевна,*** *врач-гастроэнтеролог[4].*
*E-mail: rozmd@yandex.ru. ORCID: 0009-0003-5997-4096*

***Шишлова Ирина Игоревна,*** *врач-гастроэнтеролог[5,6].*
*E-mail: freilain.kochina@yandex.ru. ORCID: 0009-0005-6776-935*

*[1]ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет» Минздрава России, Санкт-Петербург*
*[2]ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И. П. Павлова», Санкт-Петербург*
*[3]ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины», Санкт-Петербург*
*[4]БУ Ханты-Мансийского автономного округа – Югры «Сургутская городская клиническая поликлиника № 4», Сургут*
*[5]ГБУЗ Астраханской области «Александро-Мариинская областная клиническая больница», Астрахань*
*[6]ЧУЗ «Медико-санитарная часть», Астрахань*

***Автор для переписки:*** *Барышникова Наталья Владимировна.*
*E-mail: baryshnikova_nv@mail.ru*

**About authors**

***Baryshnikova Natalia V.,*** *PhD Med, aassociate professor, junior researcher at Laboratory of Medical and Social Problems of Pediatrics[1], associate professor at Dept of Internal Medicine, Faculty of Dentistry[2], researcher at Laboratory of Molecular Microbiology[3]. E-mail: baryshnikova_nv@mail.ru*
*ORCID: 0000-0001-7429-0336*

***Lovchikova Marina D.,*** *gastroenterologist[4]. E-mail: rozmd@yandex.ru*
*ORCID: 0009-0003-5997-4096*

***Shishlova Irina I.,*** *gastroenterologist[5,6]. E-mail: freilain.kochina@yandex.ru*
*ORCID: 0009-0005-6776-935*

*[1]St. Petersburg State Pediatric Medical University, St-Petersburg, Russia*
*[2]Pavlov First St-Petersburg State Medical University, St-Petersburg, Russia*
*[3]Institute of Experimental Medicine, St-Petersburg, Russia*
*[4]Surgut City Clinical Polyclinic No. 4, Surgut, Russia*
*[5]Alexander-Mariinsky Regional Clinical Hospital, Astrakhan, Russia*
*[5]Private healthcare institution «Medical and Sanitary Unit», Astrakhan, Russia*

***Corresponding author:*** *Baryshnikova Natalia V. E-mail: baryshnikova_nv@mail.ru*



**Для цитирования:** Барышниковаа Н. В., Ловчикова М. Д., Шишлова И. И. Молекулярно-генетические исследования в диагностике инфекции Helicobacter pylori. *Медицинский алфавит.* 2024; (34): 27–34. https://doi.org/10.33667/2078-5631-2024-34-27-34

**For citation:** Baryshnikova N. V., Lovchikova M. D., Shishlova I. I. Molecular-genetic studies in the diagnosis of Helicobacter pylori infection. *Medical alphabet.* 2024; (34): 27–34. https://doi.org/10.33667/2078-5631-2024-34-27-34