

[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. <i>Campylobacter-like organism test</i> )                                                                                                     |
|                                                                                                                                                                | Уреазный дыхательный тест (13C, 14C мочевины)<br>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, borisovavt96@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, lehanovasn@mail.ru, ФЕДОРОВА Сардана Аркадьевна – д.б.н., зав. лаб., с.н.с. ЯНЦ КМП; РБ№1-НЦМ: ПАК Мария Владимировна – врач эндоскопист, rakmv@mail.ru, АЛЕКСЕЕВА Мавра Павловна – врач эндоскопист, ЛОСКУТОВА Кюнная Саввична – к.м.н., зав. патологоанатомич. отд., loskutovaks@mail.ru.

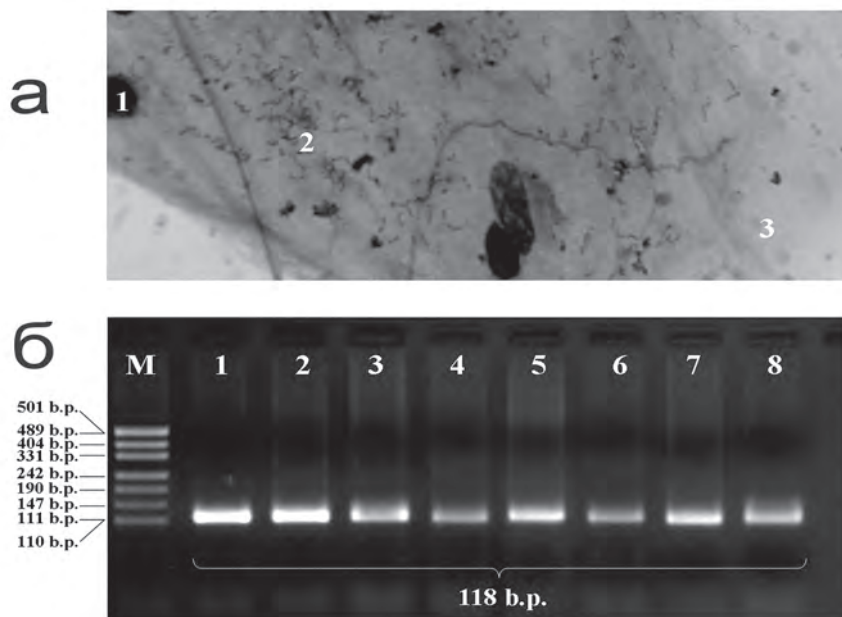
считают «золотым стандартом» диагностики инфекции [8, 17], так как его чувствительность составляет от 72 до 100%, а специфичность – от 81 до 97% [18].

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 бактерио-



**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 искоемых фрагментов 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 гелевидеоокационного 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>                      | 5'-TGCGAAGTGGAGCCAATCTT-3'<br>5'-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-

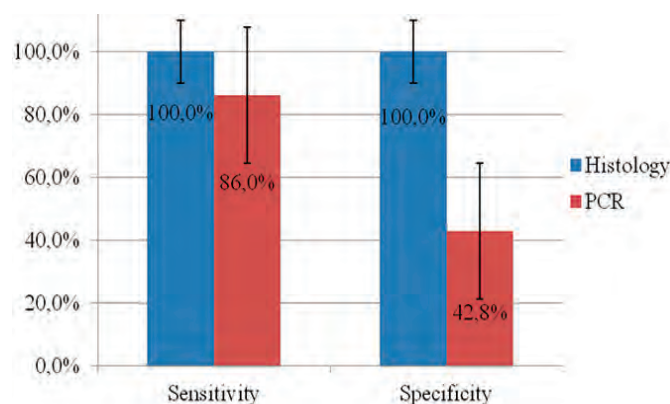


Рис.2. Объективные параметры информативности метода ПЦР по сравнению с гистологическим методом исследования

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

Таблица 4

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

| Исследованные гастроэнтерологические 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. Aleksandrova, 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. Склианская, 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.