

Міністерство освіти і науки України
Полтавський національний педагогічний університет імені В. Г. Короленка
Київський національний університет
імені Тараса Шевченка
Київський національний медичний університет імені О. О. Богомольця
Полтавський державний медичний університет
Харківський національний університет
імені В. Н. Каразіна
Дніпровський національний університет
імені Олеся Гончара
Аріельський Університет, Аріель, Ізраїль
Краківський педагогічний університет імені Комісії національної освіти,
Польща
Грайфсвальський університет (м. Грайфсальд, Німеччина)
Середня школа «Сент-Ендрю», Канада
Національний коледж шкільних керівників, Великобританія
Лабораторія “Макаренко-реферат” Марбурзького університету, ФРН

МАТЕРІАЛИ

МІЖНАРОДНОЇ НАУКОВО-ПРАКТИЧНОЇ КОНФЕРЕНЦІЇ

«БІОЛОГІЧНІ, МЕДИЧНІ ТА НАУКОВО-ПЕДАГОГІЧНІ АСПЕКТИ ЗДОРОВ'Я ЛЮДИНИ»



Полтава -2022

нервового центру, як важливий патогенетичний компонент патогенезу ССЗ і показник, що відображає баланс механізмів витрати і відновлення енергетичного статусу/резерву в організмі. Адаптований алгоритм клінічного аналізу КЗВРС можна дозволити ефективно використовувати в рутинній роботі лікаря терапевтичного профілю під час загального клінічного обстеження хворого з метою отримання додаткових індивідуальних клінічних даних про функціональний стан організму. Дану методику можна рекомендувати у використанні і як скринінгову, і як таку, що може дозволити здійснення об'єктивного контролю за ефективністю призначеної терапії в динаміці лікування, оскільки її можливості перевищують інформаційність звичайної електрокардіографії.

Список використаних джерел

1. Мінцер О.П., Потяженко М.М., Невойт Г.В. Короткий запис варіабельності ритму серця в клінічному обстеженні пацієнтів: навчальний посібник. Київ-Полтава, Інтерсервіс, 2022. 151с.
2. Невойт Г.В. Можливості короткого запису варіабельності ритму серця у відображенні системних інформаційних енергетичних процесів людського організму при клінічному обстеженні пацієнтів терапевтичного профілю. Актуальні проблеми сучасної медицини: Вісник Української медичної стоматологічної академії. 2020. №4(20). С. 78-82. DOI:10.31718/2077-1096.20.4.78
3. Потяженко М.М., Невойт Г.В. Інноваційні методики об'єктивного обстеження з комп'ютерним тестуванням в еволюції реєстрації фізичних феноменів лікарем терапевтичного профілю: історія, реальність, перспективи. Медична інформатика та інженерія. 2018. №4. С. 58-65.

ОСОБЛИВОСТІ БАКТЕРІОЛОГІЧНОГО МЕТОДУ ДІАГНОСТИКИ ХЕЛІКОБАКТЕРІОЗУ

О.В. Костюк, М.В. Шилов
Національний медичний університет імені О.О. Богомольця
helen_kit@ukr.net
О. V. KostiuK, M. V. Shylov

FEATURES OF THE BACTERIOLOGICAL METHOD OF HELICOBACTERIOSIS DIAGNOSTICS

Annotation

This thesis aims to expose specificity of isolation pure culture method for *H. pylori* infection diagnosis, highlighting steps of performing this method to achieve successful and avoid false result. Multiple advantages of this method: specificity, informativeness, possibility of determining the sensitivity of selected strains to antibiotics are also presented.

Keywords: *H.pylori*, bacteriological method, high specificity, antibiotic sensitivity testing

H. pylori інфекція – одна із найбільш розповсюджених. За епідеміологічними даними більше половини населення земної кулі інфіковано. Цей патоген здатен викликати не лише хронічні гастрити, виразкову хворобу шлунка та 12 палої кишки, але й має доведену канцерогенну дію, приймає участь у розвитку раку шлунка та MALT лімфоми шлунка [1,2]. Серед низки інвазивних та неінвазивних методів, що є в арсеналі сучасної діагностики цієї інфекції (дихальний, гістологічний, швидкий уреазний, генетичний метод та інші) бактеріологічний метод посідає чільне місце. Він демонструє ряд переваг порівняно з іншими методами - специфічність, інформативність та можливість визначення чутливості виділених штамів до антибіотиків. Що є особливо актуальним на сьогодні, коли стійкість *H. pylori* до антибіотиків у всьому світі досягла загрозливого рівня. Так, ВООЗ в 2017 році визначила резистентні до кларитроміцину штами *Helicobacter pylori* високо пріоритетною мішенню для дослідження та розробки нових антибіотиків [3].

Кожен з основних етапів бактеріологічного методу має свої особливості проведення.

1. Взяття клінічного матеріалу та транспорт

Найкращим матеріалом для дослідження є біоптати слизової оболонки шлунку – природної ніші мікроорганізму. Цей етап є критичним і багато в чому залежить від кваліфікації персоналу. Потрібно взяти принаймні два зразки з антрального відділу та один - з тіла шлунка. Важливим є також припинення прийому антибіотиків принаймні за чотири тижні до посіву. Вживання інгібіторів протонної помпи, алкоголю чи кровотеча може знизити частоту виділення збудника [4].

Правильне транспортування біоптатів являється дуже важливим, оскільки збудник є чутливим до факторів зовнішнього середовища (температури, висушування, дії кисню).

При швидкому транспортуванні (не більше 2 годин), можливе використання фізіологічного розчину, проте використання спеціальних поживних середовищ (Portagerm *pylori* (bioMérieux) Stuart's transport medium) подовжує можливий час транспортування та покращує висівання за рахунок селективних добавок, що пригнічують ріст супутніх та контамінантних мікробів [5].

2. Передпосівна обробка біоптату

Єдиної думки щодо необхідності попередньої дезінтеграції біоптату серед мікробіологів немає [6]. Проте збудник представлений у біоптаті нерівномірно, а механічна обробка збільшує кількість колоній при висіванні. Тому, на нашу думку, обробка біоптату є обов'язковою. З цієї метою може бути використано як електричний (при 10 000 об/хв протягом 10-20 с.), так і ручний гомогенізатор (протягом 1 хв.). Обробку проводять в невеликій кількості мізково-серцевого бульйону чи фізіологічному розчині.

3. Посів на щільні поживні середовища та культивування

Посів здійснюється одразу на щільні середовище, оскільки попереднє висівання на рідке поживне середовище (мізково-серцевий бульйон) не призводить до збагачення культури. Ріст на рідких поживних середовищах дуже повільний, порівняно з контамінантною флорою та супроводжується швидким переходом в кокові форми. В якості базових агарових середовищ можуть бути використані Columbia agar, Wilkins Chalgren agar, brain heart agar. Обов'язковим є використання ростових добавок, що містять вітаміни та мікроелементи. З цією метою в середовище додають нативну та лізовану кров та сироватку (5-10%). При первинному посіві матеріалу рекомендується використовувати середовище із селективними добавками, оскільки, як правило, спостерігається контамінація орофарінгеальною та дуоденальною (у випадку дуоденального рефлюксу) мікрофлорою. Селективні добавки можна додавати до неселективних середовищ (добавки Dent та Skirrow). Крім того вони входять до складу готових селективних середовищ (Agar Pylori).

H. pylori потребує створення спеціальних умов культивування. За типом дихання він мікроаерофіл та капнофіл. Оптимальна атмосфера для росту складає-5% кисню, 5-10% вуглекислого газу та 85-90% азоту Для створення мікроаерофільної атмосфери запропоновано ряд систем - від стаціонарних мікроаерофільних боксів до невеликих закритих ємкостей (анаеростат, Gen бокси), де мікроаерофільні умови створюються спеціальними газогенеруючими пакетами. *H. pylori* чутливий до висушування та потребує високої вологості (95%) при культивуванні. Це створює додаткову загрозу контамінації вологолюбивими мікроорганізмами, особливо грибами.

4. Ідентифікація

Морфологічна та тінкторіальна ідентифікація заснована на виявленні грам-негативних, вигнутих S-подібних паличок та специфічної рухливості. Типова спіральна форма, що характерна для мікроорганізму *in vivo*, при культивуванні втрачається, хелікобактери можуть виглядати як прямі або злегка зігнуті палички. В старих культурах *H. pylori* утворює дегенеративні кокові форми, що погано фарбуються за Грамом.

За ферментативними властивостями рід *Helicobacter* близький до родів *Campylobacter*, *Arcobacter*, *Wollinella*, а також *Bacteroides*, *Thiovulum* та *Selenomonas*. Вони мають схожі морфологічні та тінкторіальні властивості та здатність рости в мікроаерофільних та анаеробних умовах. Ключовим в біохімічній ідентифікації є визначення високої уреазної активності. Інші ферменти, що обов'язково досліджуються - це каталаза та цитохромоксидаза. Як додаткові тести, при наявності сумнівів,

використовуються виявлення гама-глутаміламінопептидази, лужної фосфатази та інших ферментів, або проводять молекулярне генотипування ДНК [6,7].

5. Визначення чутливості культур *H. pylori* до антибіотиків

Для оцінки чутливості штамів *H. pylori* до антибіотиків можуть бути застосовані фенотипові та генотипові тести. Проте перші більш широко вживані, оскільки дешевші та простіші у виконанні. До них належать дискодифузійний, E-тест, метод серійних розведень в щільному та рідкому поживному середовищі. Перший тест – якісний, надає інформацію щодо групи антибіотикочутливості штаму (чутливий, помірно чутливий чи резистентний), тоді як три останні тести відносяться до кількісних і дають можливість визначити мінімальну пригнічуючу концентрацію антибіотика, що діє на досліджуваний штам.

6. Музейне зберігання культур

H. pylori - дуже чутливий до дії факторів зовнішнього середовища та процедури ліофільного висушування. Тому для зберігання культур використовують глибоке заморожування з різними кріопротекторами (гліцерин, сироватка тварин). Зберігання при -70°C , -80°C можливе в залежності від середовищ від декількох місяців до декількох років. У випадку використання рідкого азоту (-196°C) культура зберігає життєдіяльність у 80-90% після шести років [9].

Таким чином, бактеріологічний метод, попри ряд недоліків - інвазивність, затратність, тривалість та трудомісткість, залишається актуальним методом діагностики хелікобактерної інфекції та потребує стандартизації та уніфікації .

Список використаних джерел

1. Global prevalence of helicobacter pylori infection: systematic review and meta-analysis / J. K. Y. Hooi et al. *Gastroenterology*. 2017. Vol. 153, no. 2. P. 420–429.
2. Mladenova I. Clinical Relevance of Helicobacter pylori Infection. *J. Clin. Med.* 2021., 10, 3473
3. Arslan N., Yılmaz Ö., Demiray-Gürbüz E. Importance of antimicrobial susceptibility testing for the management of eradication in Helicobacter pylori infection. *World journal of gastroenterology*. 2017. Vol. 23, no. 16. P. 2854.
4. Patient factors affecting culture of Helicobacter pylori isolated from gastric mucosal specimens / K. Leszczyńska et al. *Advances in medical sciences*. 2010. Vol. 55, no. 2. P. 161–166
5. Improvement and optimization of the classical gastric biopsy culture technique for Helicobacter pylori diagnosis using trypsin / A. Peretz et al. *Journal of medical microbiology*. 2015. Vol. 64, no. 6. P. 642–645
6. Helicobacter pylori: physiology and genetics. ASM Press, 2001. 608 p.