



Brevettata dal Nobel per la Medicina **Barry Marshall**

STRING TEST PER INFEZIONE DA HELICOBACTER PYLORI

CON TECNOLOGIA DI DIAGNOSTICA DNA CONFERMATIVA

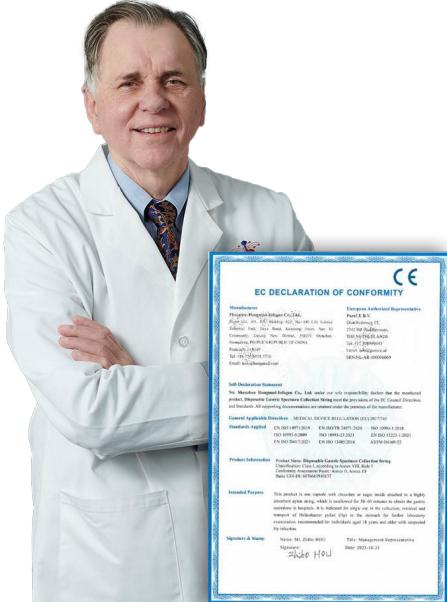
Helicobacter pylori e impatto clinico

L'infezione da Helicobacter pylori (H. pylori) è una delle infezioni batteriche croniche più diffuse a livello globale, con una prevalenza stimata del 44%. Questo batterio Gram-negativo colonizza la mucosa gastrica umana ed è associato a diverse patologie gastrointestinali, tra cui gastrite cronica, ulcera peptica, linfoma del tessuto linfoide associato alla mucosa (MALT) e adenocarcinoma gastrico.

Nel 1994, l'Agenzia Internazionale per la Ricerca sul Cancro (IARC) ha classificato H. pylori come carcinogeno di classe I per l'uomo, sottolineando la necessità di strategie diagnostiche e terapeutiche mirate ed efficaci.

Lo String Test rappresenta una rivoluzione nella diagnostica gastroenterologica, distinguendosi nettamente dalle tecniche tradizionali grazie alla sua efficacia, rapidità e precisione. Questa innovativa metodologia permette non solo di identificare rapidamente e accuratamente l'infezione da Helicobacter pylori, ma anche di determinare in sole due ore la presenza di specifiche resistenze antibiotiche, consentendo ai medici di prescrivere una terapia immediatamente mirata ed efficace.

Barry Marshall e Premio Nobel



La tecnologia diagnostica basata sul String Test è stata sviluppata dal Prof. Barry Marshall presso la University of Western Australia.

Il Prof. Marshall, Premio Nobel per la medicina nel 2005, è riconosciuto globalmente per la scoperta, insieme al Dr. Robin Warren, della correlazione tra l'infezione da H. pylori e le patologie gastriche.

La University of Western Australia continua a essere un punto di riferimento nella ricerca sul H. pylori, supportando lo sviluppo di tecnologie innovative per la diagnosi precoce e il trattamento personalizzato delle infezioni da questo patogeno.

String test alternativa e complementarietà a endoscopia e UBT

Uno dei principali punti di forza del String test risiede nella sua non invasività, che rende il processo diagnostico confortevole e meno stressante per i pazienti, particolarmente per i più giovani o per coloro che risiedono in aree remote dove l'endoscopia non è un'opzione facilmente praticabile. La facilità d'uso e la rapidità del test ne favoriscono una diffusione capillare nelle strutture sanitarie, contribuendo significativamente a un monitoraggio epidemiologico accurato e tempestivo.

	Difficoltà	Rischio	Accuratezza	Report AMR	Esente da IPP	Tempo/Costo	Non invasivo
Anticorpi	+	+	++	✗	✗	+	
UBT	+	+	++	✗	✗	+	
Antigene	+	+	++	✗	✓	+	
String +qPCR	++	+	+++	✓	✓	+	
Coltura HP	+++	++	+	✓	✓	++++	
Test rapido dell'uresi	++	++	++	✗	✓	+++	
Istologia	+++	++	+++	✗	✓	+++	

Chi è adatto allo String test?

- Casi resistenti agli antibiotici, con trattamenti falliti;
- Pazienti giovani a basso rischio di tumore gastrico che non necessitano endoscopia;
- Zone remote senza accesso all'endoscopia;
- Pazienti che hanno già effettuato un'endoscopia e non vogliono ripeterla;
- Dati borderline al test del respiro.
(test come strumento di prevenzione).

String test come strumento di prevenzione

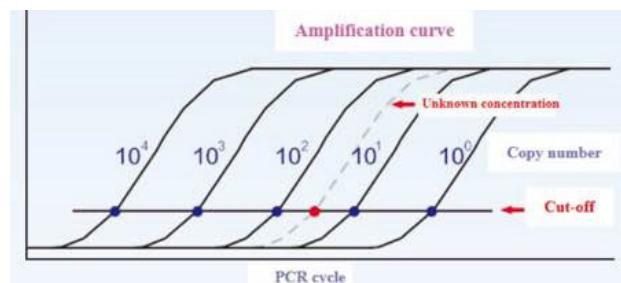
La possibilità di una diagnosi precoce e di un trattamento tempestivo e appropriato, grazie allo String test, si traduce concretamente in una riduzione significativa della morbilità e mortalità associate al cancro gastrico, migliorando notevolmente la qualità e l'aspettativa di vita dei pazienti. Adottare su larga scala questa tecnologia diagnostica significa non solo ottimizzare le risorse sanitarie e ridurre l'impatto della resistenza agli antibiotici, ma anche garantire una protezione efficace e concreta per la salute pubblica.

Test del DNA per la suscettibilità agli antibiotici

- Sensibilità > 95%
- Specificità > 99%

Rilevamento simultaneo di due resistenze antibiotiche:

- Levofloxacina (gene gyrA): 260T, 261A, 261G, 271A, 271T, 272G
- Claritromicina (23S rRNA): A2142G, A2143G



Il rilevamento della resistenza a diversi antibiotici può avvenire entro due ore, grazie all'analisi del DNA di *H. pylori* e della sua resistenza a due antibiotici, offrendo strategie di trattamento precise e personalizzate immediatamente.

Received: 21 February 2023 | Revised: 8 April 2023 | Accepted: 10 April 2023
DOI: 10.1111/hel.13295

ORIGINAL ARTICLE

Helicobacter WILEY

Quantitative PCR of string-test collected gastric material: A feasible approach to detect *Helicobacter pylori* and its resistance against clarithromycin and levofloxacin for susceptibility-guided therapy

Xinyuan Han¹ | Xiqiu Yu² | Xiaojuan Gao³ | Xiangyu Wang³ | Chin Yen Tay^{4,5} |
Xiaolan Wei² | Bing Lai² | Barry J. Marshall^{4,5} | Xiuming Zhang² | Eng Guan Chua⁵

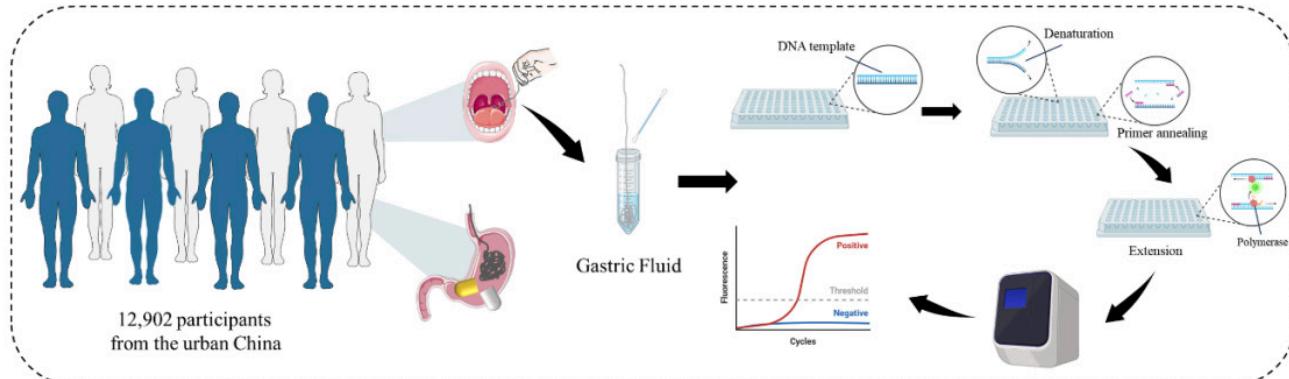
TABLE 1. Diagnosis of *Helicobacter pylori* infection via string-qPCR and ¹³C-UBT.

String-qPCR	¹³ C-UBT		
	Positive	Negative	Total
Positive	88	0	88
Negative	6	52	58
Total	94	52	146

A positive concordance rate of 93.6% (88/94).
An overall concordance rate of 95.9% (140/146)

In questo studio, abbiamo scoperto che lo string test +qPCR è un approccio pratico, conveniente ed economico per rilevare *H. pylori* e la sua resistenza a claritromicina e levofloxacina. Ha mostrato un tasso di successo terapeutico guidato dalla suscettibilità del 91,8%. Può essere facilmente adottato per il test di routine della suscettibilità agli antibiotici di *H. pylori* nelle cliniche, per contrastare la crescente resistenza a questi antibiotici.

Funzionamento del Test



Lo String test è una capsula ingeribile oralmente, attaccata a un filo assorbente che esce dalla capsula e viene fissato alla guancia del paziente prima della deglutizione. Questo permette il recupero della stringa e il rilevamento di *H. pylori* nel fluido gastrico assorbito.

Sensibilità del test con stringa e risultati degli studi

Gli studi hanno dimostrato che la sensibilità del test con stringa può arrivare fino al 97%. Questo test è stato utilizzato per la prima volta da Perez-Trallero nel 1995, ottenendo un successo del 50% nella coltura

di *Helicobacter pylori*. Successivamente, Marshall e collaboratori hanno migliorato la metodologia, raggiungendo un tasso di successo del 97% (intervallo di confidenza: 84/99%), grazie a una serie di accorgimenti tecnici:

- Uso della PCR (reazione a catena della polimerasi) per rilevare *H. pylori*, al posto del meno sensibile test all'ureasi;
- Impiego di terreni selettivi multipli per la coltura;
- Lavaggio della stringa con soluzione salina per rimuovere i contaminanti e aumentare le probabilità di coltivazione del batterio.

Gestione delle infezioni da H. pylori

- Prevenzione delle infezioni resistenti ai farmaci: fondamentale per il controllo;
- Diagnosi efficace e trattamento standardizzato: riduce le recidive e aumenta i tassi di eradicazione;
- Uso razionale degli antibiotici: chiave per la prevenzione;
- Prevenzione della trasmissione: limita la diffusione dei ceppi resistenti.

Antibiotico-resistenza:
una pandemia silenziosa da fermare

- Amoxicillina;
- Claritromicina;
- Levofloxacina;
- Metronidazolo;
- Tetraciclina.

Estratto Maastricht VI/Florence

Questo è un estratto del rapporto di consenso Maastricht VI/Florence sviluppato da un gruppo multidisciplinare di esperti in gastroenterologia, microbiologia, farmacologia e sanità pubblica.

Epidemiologia

L'infezione da H. pylori è un'infezione batterica cronica che coinvolge circa il 44% della popolazione mondiale. La sua distribuzione varia a seconda della geografia, dell'età, dell'etnia e dello status socioeconomico.

L'infezione è generalmente acquisita durante l'infanzia e può durare tutta la vita se non trattata. H. pylori è la causa più comune di gastrite cronica ed è implicato nella patogenesi dell'ulcera peptica, gastrite atrofica, adenocarcinoma gastrico e linfoma del tessuto linfoide associato alla mucosa (MALT). È stato classificato come carcinogeno di classe I per l'uomo dall'International Agency for Research on Cancer (IARC).

Dal primo Consenso di Maastricht nel 1996, sono stati pubblicati altri quattro rapporti aggiornati (Maastricht I-V) per affrontare i progressi nella comprensione della gestione dell'infezione da H. pylori. Il presente rapporto (Maastricht VII/Florence) rappresenta il sesto consenso congiunto dell'European Helicobacter and Microbiota Study Group (EHMSG) e della Società Europea di Gastroenterologia (UEG), elaborato per integrare le nuove conoscenze sull'epidemiologia, i metodi diagnostici, le strategie terapeutiche e la prevenzione delle complicanze correlate a H. pylori. Questa sesta edizione ha visto l'ampliamento del gruppo di esperti, includendo anche microbiologi, specialisti in malattie infettive, patologi e rappresentanti delle autorità sanitarie pubbliche, per garantire una prospettiva multidisciplinare. Il Consenso di Maastricht VI/Florence mira a fornire una guida evidence-based alla diagnosi e al trattamento dell'infezione da H. pylori per clinici, ricercatori e autorità sanitarie in Europa e nel mondo. Le raccomandazioni sono state sviluppate seguendo il metodo GRADE, che consente la classificazione della qualità delle evidenze e della forza delle raccomandazioni.

Diagnosi dell'infezione da H. pylori

Una diagnosi accurata dell'infezione da H. pylori è fondamentale per garantire che vengano trattati solo i soggetti infetti. Esistono vari test diagnostici con sensibilità e specificità diverse, e la loro appropriatezza dipende dalla situazione clinica, dalla disponibilità locale e dal costo.

I test diagnostici si suddividono in non invasivi e invasivi (cioè richiedono endoscopia).

Stato dell'arte prima dello String test

Test non invasivi

A. Test del respiro con urea marcata (Urea Breath Test, UBT)

Il test del respiro con urea marcata (^{13}C o ^{14}C) è uno dei metodi più accurati e comunemente utilizzati per la diagnosi dell'infezione da H. pylori.

Ha una sensibilità e specificità > 90% ed è ampiamente disponibile.

- È raccomandato come test iniziale in soggetti che non necessitano di endoscopia;
- È anche il test di prima scelta per confermare l'eradicazione dell'infezione.

Importante: Il test deve essere eseguito:

- dopo almeno 2 settimane di sospensione degli inibitori di pompa protonica (IPP);
- e dopo almeno 4 settimane di sospensione degli antibiotici e del bismuto.

Queste sospensioni evitano falsi negativi.

B. Test dell'antigene fecale (Stool Antigen Test)

Il test dell'antigene fecale, basato su anticorpi monoclonali, è un'alternativa accurata all'UBT.

- Può essere usato sia per la diagnosi iniziale sia per il controllo dell'eradicazione;
- Ha alta sensibilità e specificità se eseguito con test monoclonali ELISA;
- I test immunocromatografici (flusso laterale) sono meno affidabili.

Nota: Anche qui è necessario interrompere gli IPP per almeno 2 settimane prima del test.

C. Test sierologici

I test sierologici rilevano anticorpi IgG contro H. pylori.

- Non distinguono tra infezione attiva e pregressa;
- Non devono essere usati per valutare l'efficacia del trattamento;
- Possono essere utili solo in contesti con bassa prevalenza o in situazioni in cui altri test non sono disponibili.

Test invasivi (richiedono endoscopia)

A. Istologia

L'esame istologico consente di osservare direttamente H. Pylori e di valutare:

- Infiammazione;
- Atrofia;
- Metaplasia intestinale;
- Altre lesioni pre-neoplastiche.

La sensibilità dipende da:

- Numero e sede delle biopsie;
- Uso recente di farmaci;
- Esperienza del patologo.

Colorazioni speciali (come Giemsa o immunoistochimica) aumentano l'accuratezza.

Raccomandato: Prelievi da antro e corpo gastrico per aumentare la sensibilità.

B. Test rapido dell'ureasi (Rapid Urease Test)

Questo test si basa sull'attività ureasi di H. pylori. Un campione di mucosa gastrica viene inserito in un mezzo contenente urea:

- Se H. pylori è presente, l'ureasi rompe l'urea, rilasciando ammoniaca e modificando il pH cambia colore.

Vantaggi:

- Risultato disponibile in 1–24 ore
- Alta specificità

Limiti:

- Sensibilità può essere ridotta in caso di:

1. Uso recente di IPP;
2. Uso di antibiotici;
3. Atrofia gastrica.

C. Coltura

La coltura è l'unico metodo che consente:

- Identificazione diretta di H. pylori;
- Test fenotipico di sensibilità agli antibiotici.

Limiti:

- Sensibilità moderata
- Richiede trasporto e laboratori specializzati
- Può fallire in caso di campioni mal conservati o contaminati

D. Test molecolari (es. PCR)

I test molecolari possono:

- Rilevare DNA batterico;
- Identificare mutazioni genetiche associate a resistenza antibiotica (es. claritromicina: mutazioni nel gene 23S rRNA; levofloxacina: gene gyrA)

Possono essere eseguiti su:

- Biopsie;
- Feci;
- Saliva;
- Fluidi gastrici;
- Campioni da string test.

Sono altamente sensibili e specifici, e offrono risultati rapidi. In molte regioni, sono usati in sostituzione della coltura.

Trattamento dell'infezione e limiti

Obiettivi del trattamento

L'obiettivo del trattamento è l'eradicazione definitiva di H. pylori.

Un trattamento efficace:

- Guarisce l'ulcera peptica;
- Previene recidive ulcerose;
- Riduce il rischio di cancro gastrico;
- Migliora condizioni extra-gastriche associate all'infezione.

Principi generali

Tutti i soggetti infetti da H. pylori dovrebbero essere trattati, indipendentemente dai sintomi salvo controindicazioni.

L'efficacia del trattamento dipende da:

- Aderenza del paziente;
- Durata della terapia;
- Scelta degli antibiotici;
- Resistenza antibiotica locale.

Raccomandazione forte: non utilizzare regimi terapeutici con tassi di eradicazione inferiori al 90% nella popolazione locale.

Influenza della resistenza agli antibiotici

La resistenza alla claritromicina, metronidazolo e levofloxacina è in aumento e varia da regione a regione.

- Se la resistenza alla claritromicina è >15%, non usare la triplice terapia classica.
- Se la resistenza alla levofloxacina è >10% evitare terapie basate su fluorochinoloni.

Dove possibile, eseguire test per la resistenza molecolare (PCR) o fenotipica (cultura) prima di iniziare il trattamento.

Prevenzione del cancro gastrico e implicazioni di sanità pubblica

Ruolo del H. pylori nella cancerogenesi gastrica

L'infezione cronica da *Helicobacter pylori* è il principale fattore di rischio modificabile per lo sviluppo di cancro gastrico non cardiale. L'Agenzia Internazionale per la Ricerca sul Cancro (IARC) ha classificato *H.pylori* come carcinogeno di gruppo 1 per l'uomo.

Il processo di cancerogenesi si sviluppa attraverso una cascata istologica nota come "**cascata di Correa**", che include:

- Gastrite cronica attiva;
- Gastrite atrofica;
- Metaplasia intestinale;
- Displasia;
- Adenocarcinoma.

L'eradicazione di *H. pylori* nelle fasi precoci di questa cascata può arrestare o invertire la progressione verso il carcinoma gastrico.

Evidenze cliniche

Numerosi studi clinici e metanalisi hanno dimostrato che l'eradicazione dell'*H. pylori*:

- Riduce significativamente il rischio di cancro gastrico;
- più efficace se effettuata prima dello sviluppo di atrofia avanzata o metaplasia intestinale.

In pazienti con una storia familiare di cancro gastrico, il trattamento del *H. pylori* riduce l'incidenza di neoplasia gastrica.

Popolazioni a rischio elevato

Le strategie di test-and-treat (testa e tratta) sono raccomandate in popolazioni con:

- Alta prevalenza di infezione;
- Alta incidenza di cancro gastrico;
- Soggetti con storia familiare di carcinoma gastrico;
- Soggetti con gastrite atrofica, metaplasia intestinale o displasia;
- Soggetti sottoposti a resezione endoscopica per neoplasia gastrica precoce.

Strategie di prevenzione

L'eradicazione dell'*H. pylori* è considerata una strategia di prevenzione primaria del cancro gastrico.

Strategie raccomandate:

- Programmi nazionali o regionali di screening e trattamento nei paesi con alta incidenza;
- Trattamento mirato in soggetti a rischio individuale;
- Educazione sanitaria e formazione dei medici di base;

- Miglioramento della sorveglianza istologica nei pazienti già affetti da lesioni precancerose.

Considerazioni di sanità pubblica

L'inclusione della strategia di eradicazione del *H. pylori* nei programmi di prevenzione del cancro gastrico è supportata da:

- Analisi di costo-efficacia;
- Sostenibilità in molte aree ad alto rischio;
- Riduzione della morbilità e mortalità a lungo termine.

Il beneficio potenziale è maggiore nei giovani adulti, per i quali il trattamento può prevenire completamente la progressione istologica.

Conclusioni e raccomandazioni finali

- 1.** *Helicobacter pylori* è un agente patogeno classificato come carcinogeno di classe I, coinvolto nella patogenesi dell'ulcera peptica, della gastrite atrofica, del linfoma MALT e del cancro gastrico;
- 2.** Tutti i soggetti infetti da *H. pylori* dovrebbero essere trattati, indipendentemente dai sintomi, con l'obiettivo di prevenire le complicanze correlate, incluse quelle neoplastiche;
- 3.** La diagnosi non invasiva dell'infezione è affidabile. L'UBT (test del respiro con urea) e il SAT (test dell'antigene fecale con anticorpi monoclonali) sono raccomandati come test iniziali e per confermare l'eradicazione;
- 4.** Nei soggetti che necessitano di endoscopia, la combinazione di istologia, test rapido dell'ureasi e, se possibile, test molecolari aumenta la sensibilità diagnostica;
- 5.** La resistenza antibiotica è il principale determinante dell'insuccesso terapeutico. Quando possibile, la terapia deve essere guidata da test di sensibilità molecolari o culturali;

Biografia e premi di Barry J. Marshall

Barry James Marshall (Kalgoorlie, 30 settembre 1951) è un medico australiano, professore di Microbiologia Clinica e premiato con il Nobel per la Medicina nel 2005 per la scoperta del ruolo patogenetico di *H. pylori* in gastriti e ulcere peptiche.

Formazione e primi incarichi:

- Laureato in Medicina e Chirurgia (MBBS) presso la University of Western Australia (UWA) nel 1974;
- Specializzazione in medicina interna presso il Queen Elizabeth II Medical Centre, UWA;
- Dal 1979, incarichi presso il Royal Perth Hospital; nel 1981 incontra il Prof. Robin Warren, iniziando gli studi su batteri gastrici;
- Nel 1982 avvia la coltura di *H. pylori* e formula l'ipotesi batterica sull'ulcera peptica;
- Dopo la sperimentazione autogestita con assunzione volontaria del batterio nel 1984 – che confermò la causa infezionistica delle gastriti – ottiene una borsa di ricerca per uno studio clinico controllato;
- Nel 1986 si trasferisce per attività di ricerca presso la University of Virginia, quindi rientra alla UWA nel 1996, dove fonda il Marshall Centre for Infectious Diseases Research & Training;
- Ancora attivo nella pratica clinica presso il Dipartimento di Gastroenterologia del Sir Charles Gairdner Hospital di Perth.

Esperienze personali e scientifiche peculiari

• Marshall eseguì pubblicamente l'autosperimentazione nel 1984 per dimostrare che *H. pylori* causa gastriti, concretizzando così i postulati di Koch.

- Durante la formazione adolescente sviluppò un forte spirito di iniziativa e curiosità tecnica.
- Ha collaborato e continua a collaborare con istituzioni internazionali, incluso un incarico part-time alla Pennsylvania State University.

Premi e riconoscimenti

- 1994 – Warren Alpert Prize;
- 1995 – Lasker Award per la ricerca clinica;
- 1996 – Gairdner International Award;
- 1997 – Paul Ehrlich and Ludwig Darmstaedter Prize;
- 1998 – Heineken Prize for Medicine, Florey Medal, Buchanan Medal (Royal Society);
- 1999 – Ben Franklin Medal (Philadelphia), Fellow of the Royal Society (FRS);
- 2002 – Keio Medical Science Prize;

- 2003 – Centenary Medal (Australia);
- 2005 – Premio Nobel per la Medicina, congiuntamente a Robin Warren;
- 2006 – Western Australian of the Year;
- 2007 – Companion of the Order of Australia;
- 2009 – Laurea honoris causa in Scienze, University of Oxford;
- 2015 – Fellow, Australian Academy of Health and Medical Sciences;
- Nel 2015, l'Università della Western Australia ha dedicato la biblioteca scientifica in suo onore come Barry J. Marshall Library.

Autorizzazione all'uso della tecnologia

Il Prof. Marshall ha fornito una lettera ufficiale di autorizzazione per l'utilizzo della tecnologia basata su string test e analisi qPCR, in qualità di inventore e promotore – conservando l'integrità metodologica e scientifica del suo protocollo originario.