



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

# STRING TEST PER INFEZIONE DA *HELICOBACTER PYLORI*

CON TECNOLOGIA DI DIAGNOSTICA DNA CONFERMATIVA

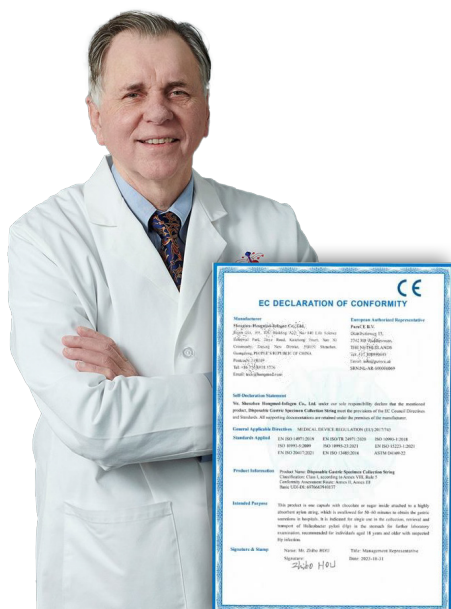


## Helicobacter pylori e impatto clinico

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	
Anticorpi	+	+	++	x	x	+	Non invasivo
UBT	+	+	++	x	x	+	
Antigene	+	+	++	x	✓	+	
String +qPCR	++	+	+++	✓	✓	+	
Cultura HP	+++	++	+	✓	✓	+++	Invasivo
Test rapido dell'uresi	++	++	++	x	✓	+++	
Istologia	+++	++	+++	x	✓	+++	

## 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 morbidità 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.

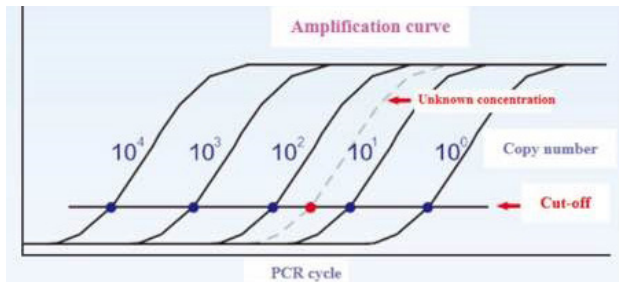


## Test del DNA per la suscettibilità agli antibiotici

- Sensibilità > 95%
- Specificità > 99%

## Rilevamento simultaneo di due resistenze antibiotiche:

- Levofloxacin (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: 25 February 2023 | Revised: 9 April 2023 | Accepted: 25 April 2023

DOI: 10.1002/hlcr.12001

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 Han<sup>1</sup> | Xijiu Yu<sup>2</sup> | Xiaojuan Gao<sup>2</sup> | Xiangyu Wang<sup>3</sup> | Chin Yen Tay<sup>4,5</sup> | Xiaolan Wei<sup>2</sup> | Bing Lai<sup>2</sup> | Barry J. Marshall<sup>4,5</sup> | Xiuming Zhang<sup>2</sup> | Eng Guan Chua<sup>3</sup>

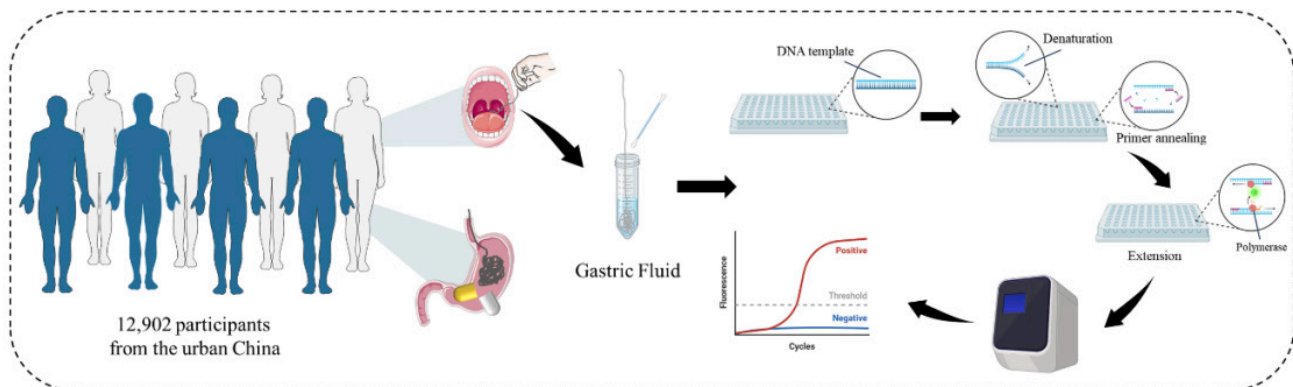
TABLE 1 Diagnosis of *Helicobacter pylori* infection via string-qPCR and <sup>13</sup>C-UBT.

String-qPCR	<sup>13</sup> C-UBT		Total
	Positive	Negative	
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 levofloxacin. 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 VI/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 (13C o 14C) 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 (coltura) 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 morbidità 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 colturali;



## 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.