

Желудочная микробиота при морфологических изменениях гастродуоденального тракта, ассоциированных с инфекцией *Helicobacter pylori*

Г.Ш.Исаева¹, Л.В.Вакатова², Н.Г.Ефимова³, Р.Р.Бурханов³, И.Р.Валиуллина⁴

¹ФБУН «Казанский НИИ эпидемиологии и микробиологии» Роспотребнадзора РФ, Казань, Российская Федерация;

²Центр гигиены и эпидемиологии в Республике Татарстан, Казань, Российская Федерация;

³ООО «Лечебно-диагностический центр «Фарм-Т», Казань, Российская Федерация;

⁴ГАУЗ «Республиканская клиническая больница» МЗРТ, Казань, Российская Федерация

Цель. Изучение микробиоты при морфологических изменениях гастродуоденального тракта.

Материалы и методы. Обследовано 104 пациента цитологическим, бактериологическим, масс-спектрометрическим методами.

Результаты. При изучении микробного состава желудка была обнаружена смешанная микрофлора, представленная *Helicobacter pylori*, кокками, грибами рода *Candida*, палочковидными бактериями, простейшими. Были обнаружены бактерии следующих родов: *Actinomyces*, *Arthrobacter*, *Bacillus*, *Corynebacterium*, *Lactobacillus*, *Neisseria*, *Pseudomonas*, *Rothia*, *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Streptomyces*. При исследовании биоптатов пищевода микробный пейзаж был менее разнообразен – выявлены условно-патогенные бактерии рода *Neisseria*, *Gemella* и вида *Rothia mucilaginosa*. В группе *Helicobacter*-положительных пациентов обнаружены грибы *Candida*, *Colletotrichum*, бактерии родов *Thauera*, *Mycoplasma*, при этом у *H. pylori*-негативных пациентов видовой состав микробиоты отличался большим видовым разнообразием. Тяжесть морфологических изменений (атрофия, кишечная метаплазия, дисплазия) коррелировала с частотой обнаружения *H. pylori* и ассоциантов эукариотического происхождения (грибов рода *Candida* и простейших).

Выводы. Полученные данные указывают на возможную роль *H. pylori* и других микроорганизмов (преимущественно грамположительных кокков, грамотригативных палочек, дрожжеподобных грибов) в воспалительных процессах слизистой оболочки желудка. Необходимы дальнейшие исследования для подтверждения концепции о существовании ассоциаций *H. pylori* и желудочной микробиоты с хроническими воспалительными процессами.

Ключевые слова: гастродуоденальные заболевания, *Helicobacter pylori*, микробиота

Для цитирования: Исаева Г.Ш., Вакатова Л.В., Ефимова Н.Г., Бурханов Р.Р., Валиуллина И.Р. Желудочная микробиота при морфологических изменениях гастродуоденального тракта, ассоциированных с инфекцией *Helicobacter pylori*. Бактериология. 2017; 2(1): 14–19. DOI: 10.20953/2500-1027-2017-1-14-19

Gastric microbiota at gastroduodenal tract morphological changes associated with the infection caused by *Helicobacter pylori*

G.Sh.Isaeva¹, L.V.Vakatova², N.G.Efimova³, R.R.Burkhanov³, I.R.Valiullina⁴

¹Kazan Scientific Research Institute of Epidemiology and Microbiology, Kazan, Russian Federation;

²Center of Hygiene and Epidemiology in the Republic of Tatarstan, Kazan, Russian Federation;

³Medical Center «Pharm-T», Kazan, Russian Federation;

⁴Republican Clinical Hospital of the Ministry of Healthcare of the Republic of Tatarstan, Kazan, Russian Federation

The objective. Studying microbiota at morphological changes of gastroduodenal tract.

Materials and methods. The study involved 104 patients tested by cytological, bacteriological methods and mass-spectrometry.

Results. Mixed microflora presented by *H. pylori*, cocci, fungi of the genus *Candida*, rod-shaped bacteria, protozoa was discovered during the studying of gastric microbial composition. Bacteria of the following genera: *Actinomyces*, *Arthrobacter*, *Bacillus*, *Corynebacterium*, *Lactobacillus*, *Neisseria*, *Pseudomonas*, *Rothia*, *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Streptomyces*

Для корреспонденции:

Исаева Гузель Шавхатовна, доктор медицинских наук, директор ФБУН «Казанский НИИ эпидемиологии и микробиологии» Роспотребнадзора РФ

Адрес: 420015, Казань, ул. Большая Красная, 67

Телефон: (843) 236-6721/(843) 236-6741

E-mail: guzelleisaeva@yandex.ru, guisaeva@rambler.ru

Статья поступила 15.12.2016 г., принята к печати 15.03.2017 г.

For correspondence:

Guzel Ch. Isaeva, doctor of medicine, Director, Kazan Scientific Research Institute of Epidemiology and Microbiology

Address: 67, ul. Bol'shaya Krasnaya, Kazan', 420015, Russian Federation

Phone: (843) 236-6721/(843) 236-6741

E-mail: guzelleisaeva@yandex.ru, guisaeva@rambler.ru

The article was received 15.12.2016, accepted for publication 15.03.2017

were also detected. During the study of esophagus biopsies microbial landscape was less diverse: conditionally pathogenic bacteria of the genus *Neisseria*, *Gemella* and of the species *Rothia muchilaginosa* were identified. In *Helicobacter*-positive patients *Candida* fungi, *Colletotrichum*, bacteria of the genera *Thaueria*, *Mycoplasma* were observed. In *H. pylori*-negative patients species composition of microbiota was characterized by high species diversity. The severity of morphological changes (atrophy, intestinal metaplasia, dysplasia) correlated with frequency of detection of *H. pylori* and associated microorganisms of eukaryotic origin (fungi and protozoa of the genus *Candida*).

Conclusions. The obtained data indicate a possible role of *H. pylori* and other microorganisms (mainly gram-positive cocci, Gram-negative rods, yeasts) in inflammatory processes of the gastric mucosa. Further studies to confirm the concept on the existence of association of *H. pylori* and gastric microbiota with chronic inflammatory processes are required.

Keywords: *gastroduodenal diseases, Helicobacter pylori, microbiota*

For citation: Isaeva G.Sh., Vakatova L.V., Efimova N.G., Burkhanov R.R., Valiullina I.R. Gastric microbiota at gastroduodenal tract morphological changes associated with the infection caused by *Helicobacter pylori*. *Bacteriology*. 2017; 2(1): 14–19. (In Russian). DOI: 10.20953/2500-1027-2017-1-14-19

Открытие роли *Helicobacter pylori* в патогенезе заболеваний желудка произвело настоящий прорыв в области медицины. Опровержение ранее господствующего мнения о «стерильности» желудка и обнаружение *H. pylori* привели к концептуальному сдвигу в пользу утверждения о возможности колонизации этого биотопа различными микроорганизмами. Последующим шагом в понимании патологических процессов, происходящих в желудке, становятся исследования взаимоотношений между макроорганизмом и микробным сообществом.

Как известно, микрофлора желудочно-кишечного тракта (ЖКТ) представляет собой сложную экосистему. По данным последних исследований с использованием молекулярно-генетических, протеомных, хромато-масс-спектрометрических методов совокупный геном бактерий, колонизирующих ЖКТ, насчитывает более 400 тыс. генов, что в 12 раз превышает размер генома человека. При этом большинство бактерий относится к некультивируемым формам, что открывает огромную перспективу в изучении «микробиома» и его роли в физиологических и патологических процессах, происходящих в организме человека.

Цель исследования – изучение разнообразия микробиоты при различных морфологических изменениях слизистой оболочки желудка у больных с воспалительными заболеваниями гастроудоденального тракта, в том числе ассоциированных с *H. pylori*.

Материалы и методы

Были обследованы 104 пациента, обратившихся в лечебно-диагностический центр «Фарм-Т» с хроническим гастроудоденитом, эрозивным гастритом, гастроэзофагорефлюксной болезнью желудка. Средний возраст больных – 44 года.

Материалом для исследования служили биоптаты слизистой оболочки желудка (СОЖ) и пищевода, отобранные при проведении диагностической фиброэзофагогастроудоденоскопии. Для изучения морфологических изменений СОЖ и микрофлоры с определением степени ее обсемененности применяли цитологический метод с использованием окраски катионовым синим О (основным) [1] и по Романовскому-Гимзе. Флаконы с материалом доставляли в цитологическую лабораторию сразу же после отбора проб. Из биоптатов СОЖ готовили мазки, равномерно распределяя клеточный материал по предметному стеклу. Фиксацию мазков производили 96% этиловым спиртом в течение 20 минут, после чего окрашивали и микроскопировали.

Для изучения микрофлоры СОЖ и обнаружения *H. pylori* использовали бактериологический и масс-спектрометрический методы.

Отобранные биоптаты помещали в пробирки с 5 мл транспортной тиогликолевой средой и в течение 1–2 часов с момента взятия материала доставляли в лабораторию. В бактериологических исследованиях были использованы питательные среды (колумбийский и эритрит агары) с добавлением 5% крови. Культивирование проводили при 37 °С в течение 3–5 сут в микроаэрофильных и аэробных условиях. Чашки с посевами помещали в анаэробстат (АЭ-01, Россия), в котором микроаэрофильные условия создавали с помощью специальных газогенерирующих пакетов (Campy Gen, Oxoid, England).

Принадлежность выделенных культур к *H. pylori* подтверждали результатами изучения культуральных, морфологических и биохимических свойств. Колонии, выросшие на чашках, были прозрачные, влажные, блестящие, имели ровную округлую форму и малый размер ($d \approx 1–2$ мм). В мазках, приготовленных из подозрительных колоний, были обнаружены мелкие грамтрицательные неспорообразующие палочки изогнутой, С-образной формы. Биохимическую активность культур определяли по трем основным тестам: на наличие фермента цитохромоксидазы (OXItest, Erba Lachema, Чехия); на наличие фермента каталазы с использованием 3% перекиси водорода; выявление уреазной активности с использованием жидкой среды с мочевиной по Кристенсену. Биохимический метод включал постановку уреазного теста с биоптатом.

Для окончательной идентификации других микроорганизмов использовали метод MALDI-TOF масс-спектрометрии с помощью «Microflex Maldi-ToF» (Bruker, Germany). Для проведения масс-спектрометрического анализа подозрительную колонию наносили на чип, затем покрывали матрицей (α-циано-4-гидроксикоричной кислоты). Идентификацию образцов проводили в режиме реального времени, для чего чип помещали в камеру масс-анализатора и снимали исходные спектры образцов.

Результаты и обсуждение

При исследовании морфологических изменений СОЖ больных хроническими заболеваниями желудка выявили: пролиферацию покровно-ямочного эпителия в 25% случаев, гиперплазию – в 1%, атрофию – в 5,8%, кишечную метаплазию – в 57,7%, дисплазию – в 10,8% случаев (рис. 1).

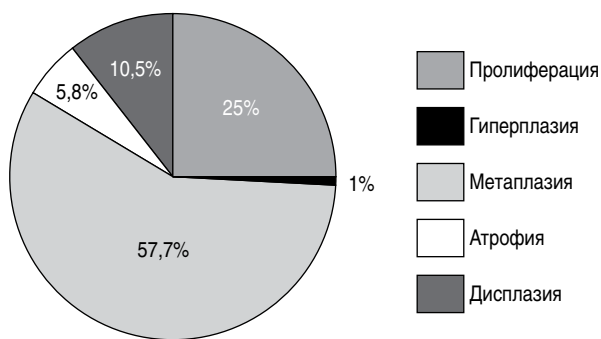


Рис. 1. Структура морфологических изменений слизистой оболочки желудка больных хроническими заболеваниями желудка.

В результате анализа микробного состава желудка была обнаружена смешанная микрофлора, представленная *H. pylori* в 100 случаях ($96,15 \pm 1,9\%$) (рис. 2, 3), кокками – в 18 случаях ($18,27 \pm 3,8\%$) (рис. 4), грибами рода *Candida* – в 65 случаях ($65,38 \pm 4,7\%$) (рис. 5), палочковидными бактериями – в 2 случаях ($2 \pm 1,4\%$), простейшими (цисты лямблий, вегетативные формы) – в 49 случаях ($49 \pm 4,9\%$), смешанной микрофлорой – в 9 случаях ($9 \pm 2,9\%$).

Изучение микробного пейзажа при различных морфологических изменениях СОЖ показало наличие ассоциации между патологическими изменениями и микробной колонизацией. Данные представлены в таблице.

Бактериологическим методом *H. pylori* выделен в 37% случаев, при цитологическом исследовании обнаружен в 96,1% случаев. Микробный пейзаж желудка пациентов, изученный с помощью масс-спектрометрии, был представлен следующими видами: *Actinomyces sp.*, *Arthrobacter polychromogenes*, *Arthrobacter scleromae*, *Bacillus mojavensis*, *B. licheniformis*, *Candida sp.*, *Colletotrichum sp.*, *Corynebacterium durum*, *Helicobacter pylori*, *Kocuriarosea*, *Lactobacillus sp.*, *Mycoplasma*, *Neisseria flavescens*, *N. perflava*, *N. subflava*, *Pseudomonas sp.*, *Rothia mucilaginosa*, *R. nasimurium*, *Staphylococcus epidermidis*, *Staph. hominis*, *Staph. warneri*, *Streptococcus pneumoniae*, *Str. salivarius*, *Str. dysgalactiae*, *Streptomyces griseus*, *Thauera sp.*

При исследовании биоптатов пищевода ($n = 50$) микробный пейзаж был менее разнообразен по сравнению с СОЖ. Была обнаружена смешанная микрофлора, представленная кокками – в 11 случаях (22%), грибами рода *Candida* – в 39 случаях (78%), палочковидными бактериями – в 7 случаях (14%), простейшими – в 12 случаях (24%), фузобактериями – в 3 случаях (6%). Среди микроорганизмов, колонизирующих пищевод, масс-спектрометрическим методом выявлены условно-патогенные бактерии рода *Neisseria*, *Gemella* и вида *Rothia mucilaginosa*.

Как известно, микробиота пищевода отличается низким филогенетическим разнообразием. По литературным данным, у здоровых людей постоянная микрофлора, колонизирующая слизистую оболочку пищевода, представлена преимущественно грамположительными факультативными анаэробами: стрептококками и лактобациллами, происходящими преимущественно из ротовой полости [2]. Восемь родов (*Streptococcus*, *Prevotella*, *Actinomyces*, *Gemella*, *Rothia*, *Granulicatella*, *Haemophilus*, *Vellonella*) обнаружены A.F.Andersson и соавт. (2008) с помощью пиросеквенирова-

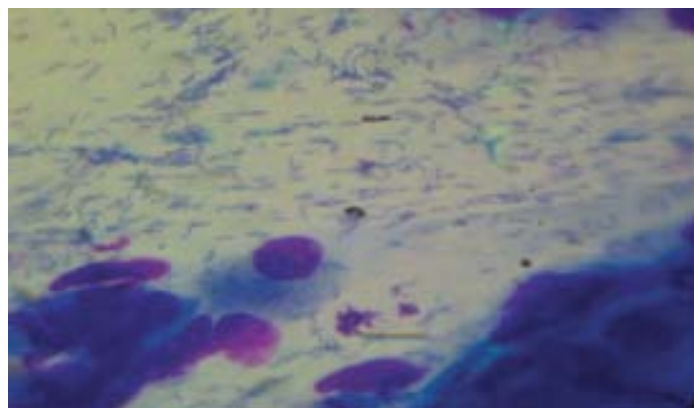


Рис. 2. *Helicobacter pylori* в высокой степени обсемененности. Покровно-ямочный эпителий желудка. Окрашивание по Романовскому-Гимзе. Ув. $\times 1000$.

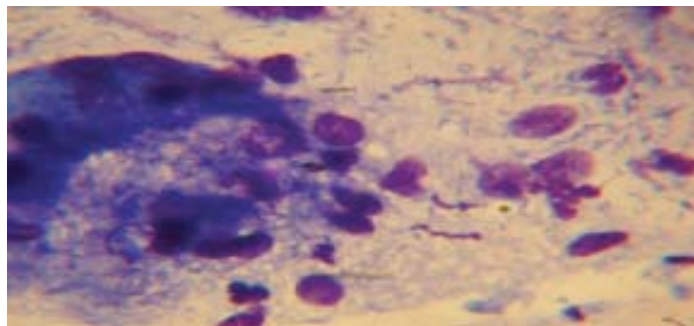


Рис. 3. Пролиферация покровно-ямочного эпителия желудка. *Helicobacter pylori* в умеренной степени обсемененности. Окраска по Романовскому-Гимзе. Ув. $\times 1000$.

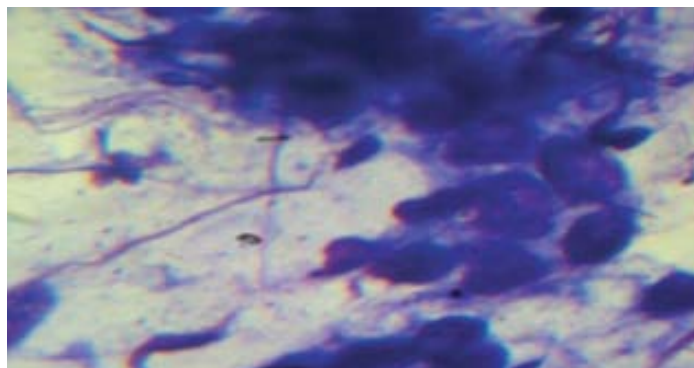


Рис. 4. Пласты покровно-ямочного эпителия пилорического отдела желудка. Кокковая флора. Окрашивание по Романовскому. Ув. $\times 1000$.

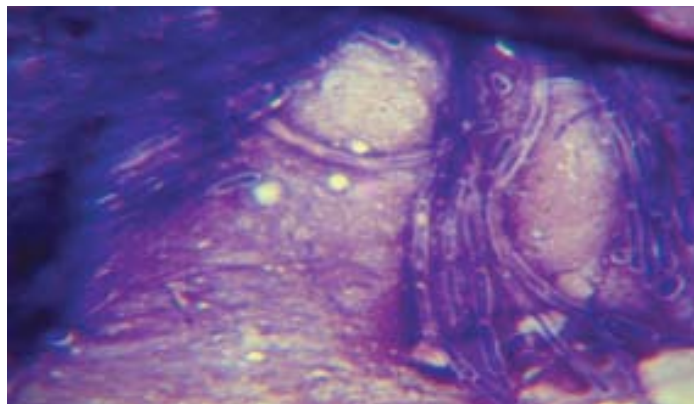


Рис. 5. Грибы рода *Candida* в слизистой оболочке желудка. Окраска катионовым синим О. Ув. 8×90 .

Таблица. Ассоциация морфологических изменений СОЖ с колонизацией различными микроорганизмами у *H. pylori*-позитивных больных

| Микроорганизм | Морфологические изменения, n (%) | | | | | Всего n = 100, n (%) |
|-----------------------------|----------------------------------|-------------|------------|----------|-----------|----------------------|
| | пролиферация | гиперплазия | метаплазия | атрофия | дисплазия | |
| <i>H. pylori</i> | 23 | 1 | 59 | 6 | 11 | 100 (100) |
| Кокки | 8 (34,8) | | 8 (13,6) | 1 (16,6) | 1 (9,1) | 18 (18 ± 3,8) |
| Палочковидные | | | 2 (3,4) | | | 2 (2 ± 1,4) |
| Грибы рода <i>Candida</i> | 11 (47,8) | 1 | 45 (76,3) | 2 (33,3) | 6 (54,5) | 65 (65 ± 4,8) |
| Цисты простейших типа амёбы | 16 (69,6) | 1 | 22 (37,3) | 5 (83,3) | 5 (45,5) | 49 (49 ± 4,9) |
| Смешанная флора | 3 (13) | | 6 (10,2) | | | 9 (9 ± 2,9) |

ния в биоматериале из глотки и пищевода [3]. В проведенном нами исследовании в биоптатах пищевода были идентифицированы условно-патогенные бактерии, принадлежащие к родам *Neisseria*, *Gemella* и виду *Rothia mucilaginosa*. По данным современных исследований, эти микроорганизмы часто обнаруживаются в ротовой полости и верхних дыхательных путях здоровых людей, считаются слабо вирулентными и не играют большой роли в патологии человека. Они описаны в качестве этиологического фактора заболеваний (пневмонии, менингиты, септические инфекции и других) преимущественно у пациентов с иммунодефицитными состояниями.

Микробиота желудка, в сравнении с пищеводом, отличается большим разнообразием. Известно, что в 1 мл желудочного сока здорового человека содержится 10^2 – 10^4 клеток культивируемых микроорганизмов. За счет высокой кислотности (натощак среднее значение pH равно 1,5–2,0), воздействия протеолитических ферментов, быстрой моторно-эвакуационной функции создаются относительно неблагоприятные условия для размножения бактерий. Результаты бактериологических исследований показывают, что желудочная микробиота состоит из преимущественно резидентных представителей биотопов респираторного тракта, ротовой полости, пищевода и тонкого кишечника. У здоровых людей из СОЖ наиболее часто выделяются бактерии родов *Veillonella*, *Lactobacillus*, *Clostridium* [4]. Также из желудка изолируют бактерии родов *Propionibacterium*, *Lactobacillus*, *Streptococcus*, *Staphylococcus* [5]. Результаты, полученные при исследовании микробиоты желудка здоровых людей, указывают на наличие зависимости между отсутствием воспалительных процессов и обнаружением лактобактерий, обладающих пробиотической активностью [6, 7].

Противохеликобактерная активность нормальных комменсалов желудка подтверждается последними исследованиями, проведенными *in vivo* и *in vitro*. Так, на животных моделях выявлено ингибирующее действие трех видов лактобактерий *L. johnsonii*, *L. murinus* и *L. reuteri* на *H. pylori* [8]. Антимикробная активность также подтверждена у *Lactobacillus reuteri*, выделенной из биоптатов желудка и желудочного сока здоровых пациентов [9]. Кроме того, выявлена способность ингибирования роста *H. pylori* и предотвращение его перехода из спиральной в кокковидную форму *Streptococcus mitis* – представителя нормальной микробиоты желудка [10].

В настоящее время установлено, что более 80% микроорганизмов, колонизирующих желудок, относится к некультивируемым формам, в связи с чем, несмотря на высокую специфичность, чувствительность бактериологического метода невысока, что ограничивает использование этого метода для более полного изучения микробного сообщества

биотопов. В настоящее время методы геномного и протеомного анализа позволяют значительно расширить наши представления о составе микробиоты. Так, в исследовании, проведенном Е.М.Вик и соавт. (2006), среди бактериальных популяций, колонизирующих желудок, было выявлено более 130 семейств 13 типов, из которых доминирующими являлись представители *Proteobacteria*, *Bacteroides*, *Actinobacteria*, *Fusobacteria* [11]. 67% идентифицированных генотипов были обнаружены ранее в образцах из ротовой полости, и, таким образом, имели оральное происхождение. Но последние исследования указывают на то, что микробиота желудка здоровых людей отличается по составу от микробиоты верхних отделов пищеварительного тракта (ротовой полости, глотки, пищевода) с доминированием представителей *Actinobacteria*, *Bacteroides*, *Firmicutes*, *Proteobacteria* [5].

В проведенном нами исследовании состава микрофлоры в группах больных, инфицированных и не инфицированных *H. pylori*, были выявлены некоторые закономерности, требующие дополнительного подтверждения при проведении дальнейших исследований на группах здоровых добровольцев. В группе *H. pylori*-негативных пациентов видовой состав микробиоты отличался большим видовым разнообразием. В то же время в обеих группах были обнаружены бактерии следующих родов: *Actinomyces*, *Arthrobacter*, *Bacillus*, *Corynebacterium*, *Lactobacillus*, *Neisseria*, *Pseudomonas*, *Rothia*, *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Streptomyces*. Только в группе *Helicobacter*-положительных пациентов обнаружены грибы *Candida*, *Colletotrichum*, бактерии родов *Thauera*, *Mycoplasma*. При всем разнообразии представленной бактериальной флоры были выявлены популяции преимущественно назоорофарингеального происхождения. По результатам ранее проведенных исследований установлено, что при хронических заболеваниях гастродуоденального тракта выявляется смешанная микрофлора не только орофарингеального происхождения – источником колонизации желудка может быть дуоденогенный путь инфицирования, на что указывает выявление при цитологическом изучении биоптатов СОЖ лямблий, кишечных амёб [12].

Данные о влиянии *H. pylori* на состав микрофлоры гастродуоденальной зоны отличаются противоречивостью. По некоторым данным у *H. pylori*-негативных пациентов отмечено большее филогенетическое разнообразие микрофлоры. А.Ф.Андерссон и соавт. (2008) при отсутствии *H. pylori* обнаружили более 260 видов микроорганизмов, относящихся к 33 родам, в то время как у *H. pylori*-позитивных было выявлено тотальное доминирование этого микроорганизма, достигающее до 93–97% от всего видового состава [3]. По другим данным, у лиц, не инфицированных *H. pylori*, наиболее часто встречались бактерии родов *Proteobacteria*, *Streptococcus*,

Prevotella [13]. A. Maldonado-Contreras и соавт. (2011) методом секвенирования по гену 16S РНК проанализировали состав желудочной микробиоты в зависимости от инфицирования *H. pylori*. У пациентов, инфицированных *H. pylori*, преобладали представители протеобактерий и ацидобактерий, тогда как у неинфицированных – актинобактерии и представители *Fermicutes* (грамположительных) [14]. Другие исследования свидетельствуют об обратном. При исследовании 215 малазийских пациентов не обнаружено влияния *H. pylori* на микробное разнообразие [15]. Бактериологическое и молекулярно-генетическое исследование биоптатов желудка, отобранных от 29 здоровых добровольцев, не выявили достоверных отличий в составе желудочной микробиоты в зависимости от *H. pylori* статуса [5]. Противоречивость данных может объясняться наличием географических различий в разнообразии микробиоты, обусловленных не только влиянием *H. pylori*, но и других факторов (социально-гигиенических, пищевых, генетических и т.д.).

Установлению возможной роли микробиоты, отличной от *H. pylori*, в канцерогенезе СОЖ посвящен ряд последних исследований [16–18]. Одним из патогенетических механизмов участия микробиоты в развитии рака желудка может служить избыточный рост нитратредуцирующих бактерий, вызывающих накопление эндогенных N-нитрозокомпонентов (N-нитрозаминов и N-нитрозоамидов), являющихся потенциальными канцерогенами. Как известно, нитриты являются прекурсорами нитрозокомпонентов, а бактериальные цитохромнитратредуктазы катализируют превращение нитритов в нитрозамины в присутствии вторичных аминов. Множество бактерий имеют данный фермент, но наибольшей нитратредуктазной активностью обладают вейлонеллы и гемофилы. В исследовании, проведенном J.Dicksved и соавт. (2009), были получены данные о доминировании в составе желудочной микрофлоры у больных раком желудка бактерий родов *Veillonella* и *Haemophilus*, наряду с колонизацией бактериями из родов *Streptococci*, *Lactobacillus*, *Prevotella* и *Neisseria* [16]. Некоторые представители микробиоты (обсуждается участие бактерий родов *Pseudomonas*, *Neisseria*, *Streptococcus*, *Veillonella*, *Haemophilus*) как постоянный источник воспаления и стимуляции пролиферативной активности клеток эпителия могут являться потенциальным фактором риска малигнизации, но для подтверждения данной гипотезы необходимы длительные многоцентровые исследования.

Проведенное нами изучение микробного пейзажа показало наличие связи между присутствием *H. pylori* и морфологическими изменениями, при этом в большинстве случаев пролиферация СОЖ, кишечная метаплазия и дисплазия чаще ассоциированы с микст-инфицированием *H. pylori*, грибами рода *Candida* и простейшими ($p < 0,05$). Обнаружение доминирования эукариотов (грибов рода *Candida* и простейших) при начальных стадиях воспалительного процесса и при предраковых состояниях (атрофия, кишечная метаплазия, дисплазия) позволяет сделать предположение о возможном участии или синергетическом воздействии *H. pylori* и эукариотической микрофлоры на патологический процесс последовательных превращений в СОЖ, ведущих к канцерогенезу. Как известно, цепь переходов от начальной стадии воспаления от пролиферации и гиперплазии к стадиям предраковой трансформации – атрофии, кишечной метаплазии и

дисплазии – возможно обратить вспять при проведении адекватного лечения, в том числе при достижении эрадикации *H. pylori*. Но полученные первоначальные данные позволяют предположить возможность использования комбинирования противохеликобактерной терапии с потивопротозойными и антифунгицидными препаратами, дополненного в дальнейшем пробиотиками, для коррекции дисбиотических нарушений микробиоты в комплексном лечении поражений желудка.

Выводы

Проведенное исследование указывает на наличие разнообразия микробиоты желудка, представленной прокариотической и эукариотической микрофлорой, у больных с хроническими заболеваниями гастродуоденальной зоны. Выявлено доминирование *H. pylori* в слизистой оболочке желудка с некоторым снижением видового разнообразия условно-патогенной микрофлоры у *H. pylori*-позитивных пациентов. Патоморфологические изменения слизистой оболочки желудка коррелируют с микробной колонизацией. При этом тяжесть морфологических изменений (атрофия, кишечная метаплазия, дисплазия) СОЖ находится в прямой зависимости от частоты обнаружения *H. pylori* и ассоциантов – грибов рода *Candida* и простейших.

Литература

- Исаева Г.Ш., Ефимова Н.Г., Хайрутдинова Г.Н. Окраска катионовым синим O для цитологического выявления *Helicobacter pylori*. Клиническая лабораторная диагностика. 2009;5:19-20.
- Macfarlane S, Dillon JF. Microbial biofilms in the human gastrointestinal tract. J Appl Microbiol. 2007;102:1187-96.
- Andersson AF., Lindberg M, Jakobsson H, Bäckhed F, Nyrén P, Engstrand L. Comparative analysis of human gut microbiota by barcoded pyrosequencing. PLoS One. 2008;3(7):e2836. DOI: 10.1371/journal.pone.0002836
- Zilberstein B, Quintanilha AG, Santos MA, Pajeki D, Moura EG, Alves PR, et al. Digestive tract microbiota in healthy volunteers. Clinics (Sao Paulo). 2007;62:47-54.
- Delgado S, Cabrera-Rubio R, Mira A, Suárez A, Mayo B. Microbiological survey of the human gastric ecosystem using culturing and pyrosequencing methods. Microb Ecol. 2013;65:763-72.
- Ryan KA, Jayaraman T, Daly P, Canchaya C, Curran S, Fang F, et al. Isolation of lactobacilli with probiotic properties from the human stomach. Lett Appl Microbiol. 2008;47:269-74.
- Roos S, Engstrand L, Jonsson H. *Lactobacillus gastricus* sp. nov., *Lactobacillus antri* sp. nov., *Lactobacillus kalixensis* sp. nov. and *Lactobacillus ultunensis* sp. nov., isolated from human stomach mucosa. Int J Syst Evol Microbiol. 2005; 55:77-82.
- Zaman C, Osaki T, Hanawa T, Yonezawa H, Kurata S, Kamiya S. Analysis of the microbial ecology between *Helicobacter pylori* and the gastric microbiota of Mongolian gerbils. J Med Microbiol. 2014;63:129-37. DOI: 10.1099/jmm.0.061135-0
- Delgado S, Leite AM, Ruas-Madiedo P, Mayo B. Probiotic and technological properties of *Lactobacillus* spp. strains from the human stomach in the search for potential candidates against gastric microbial dysbiosis. Front Microbiol. 2015;5:766. DOI: 10.3389/fmicb.2014.00766
- Khosravi Y, Dieye Y, Loke MF, Goh KL, Vadivelu J. *Streptococcus mitis* induces conversion of *Helicobacter pylori* to coccoid cells during co-culture in vitro. PLoS One. 2014;9:e112214. DOI: 10.1371/journal.pone.0112214

11. Bik EM, Eckburg PB, Gill SR, Nelson KE, Purdom EA, Francois F, et al. Molecular analysis of the bacterial microbiota in the human stomach. Proc Natl Acad Sci USA. 2006;103:732-37. DOI: 10.1073/pnas.0506655103
12. Исаева ГШ, Ефимова НГ. Желудочный гiardiaz, ассоциированный с *Helicobacter pylori*. Экспериментальная клиническая гастроэнтерология. 2010;6:30-4.
13. Li XX, Wong GL, To KF, Wong VW, Lai LH, Chow DK, et al. Bacterial microbiota profiling in gastritis without *Helicobacter pylori* infection or non-steroidal anti-inflammatory drug use. PLoS One. 2009;4:e7985. DOI: 10.1371/journal.pone.0007985
14. Maldonado-Contreras A, Goldfarb KC, Godoy-Vitorino F, Karaoz U, Contreras M, Blaser MJ, et al. Structure of the human gastric bacterial community in relation to *Helicobacter pylori* status. ISME J. 2011;(5):574-9. DOI: 10.1038/ismej.2010.149
15. Khosravi Y, Dieye Y, Poh BH, Ng CG, Loke MF, Goh KL, et al. Culturable bacterial microbiota of the stomach of *Helicobacter pylori* positive and negative gastric disease patients. Scientific World Journal. 2014;6:10421. DOI: 10.1155/2014/610421
16. Dicksved J, Lindberg M, Rosenquist M, Enroth H, Jansson JK, Engstrand L. Molecular characterization of the stomach microbiota in patients with gastric cancer and in controls. J Med Microbiol. 2009;58:509-16. DOI: 10.1099/jmm.0.007302-0
17. Aviles-Jimenez F, Vazquez-Jimenez F, Medrano-Guzman R, Mantilla A, Torres J. Stomach microbiota composition varies between patients with non-atrophic gastritis and patients with intestinal type of gastric cancer. Sci Rep. 2014;4:4202. DOI: 10.1038/srep04202
18. Eun CS, Kim BK, Han DS, Song KS, Kim YS, Kim JF, et al. Differences in gastric mucosal microbiota profiling in patients with chronic gastritis, intestinal metaplasia, and gastric cancer using pyrosequencing methods. Helicobacter. 2014 Dec;19(6):407-16. DOI: 10.1111/hel.12145
10. Khosravi Y, Dieye Y, Loke MF, Goh KL, Vadivelu J. *Streptococcus mitis* induces conversion of *Helicobacter pylori* to coccoid cells during co-culture in vitro. PLoS One. 2014;9:e112214. DOI: 10.1371/journal.pone.0112214
11. Bik EM, Eckburg PB, Gill SR, Nelson KE, Purdom EA, Francois F, et al. Molecular analysis of the bacterial microbiota in the human stomach. Proc Natl Acad Sci USA. 2006;103:732-37. DOI: 10.1073/pnas.0506655103
12. Isaeva GSh, Efimova NG. Zheludochnyi giardiaz, assotsirovannyi s *Helicobacter pylori*. Eksperimental'naya i klinicheskaya gastroenterologiya. 2010;6:30-4. (In Russian).
13. Li XX, Wong GL, To KF, Wong VW, Lai LH, Chow DK, et al. Bacterial microbiota profiling in gastritis without *Helicobacter pylori* infection or non-steroidal anti-inflammatory drug use. PLoS One. 2009;4:e7985. DOI: 10.1371/journal.pone.0007985
14. Maldonado-Contreras A, Goldfarb KC, Godoy-Vitorino F, Karaoz U, Contreras M, Blaser MJ, et al. Structure of the human gastric bacterial community in relation to *Helicobacter pylori* status. ISME J. 2011;5:574-9. DOI: 10.1038/ismej.2010.149
15. Khosravi Y, Dieye Y, Poh BH, Ng CG, Loke MF, Goh KL, et al. Culturable bacterial microbiota of the stomach of *Helicobacter pylori* positive and negative gastric disease patients. Scientific World Journal. 2014;6:10421. DOI: 10.1155/2014/610421
16. Dicksved J, Lindberg M, Rosenquist M, Enroth H, Jansson JK, Engstrand L. Molecular characterization of the stomach microbiota in patients with gastric cancer and in controls. J Med Microbiol. 2009;58:509-16. DOI: 10.1099/jmm.0.007302-0
17. Aviles-Jimenez F, Vazquez-Jimenez F, Medrano-Guzman R, Mantilla A, Torres J. Stomach microbiota composition varies between patients with non-atrophic gastritis and patients with intestinal type of gastric cancer. Sci Rep. 2014;4:4202. DOI: 10.1038/srep04202
18. Eun CS, Kim BK, Han DS, Song KS, Kim YS, Kim JF, et al. Differences in gastric mucosal microbiota profiling in patients with chronic gastritis, intestinal metaplasia, and gastric cancer using pyrosequencing methods. Helicobacter. 2014 Dec;19(6):407-16. DOI: 10.1111/hel.12145

References

1. Isayeva GSh, Yefimova NG, Khairutdinova GN. Cationic blue O staining for the cytological detection of *Helicobacter pylori*. Russian Clinical Laboratory Diagnostics. 2009;5:19-20. (In Russian).
2. Macfarlane S, Dillon JF. Microbial biofilms in the human gastrointestinal tract. J Appl Microbiol. 2007;102:1187-96.
3. Andersson AF, Lindberg M, Jakobsson H, Bäckhed F, Nyrén P, Engstrand L. Comparative analysis of human gut microbiota by barcoded pyrosequencing. PLoS One. 2008;37:e2836. DOI: 10.1371/journal.pone.0002836
4. Zilberstein B, Quintanilha AG, Santos MA, Pajeci D, Moura EG, Alves PR, et al. Digestive tract microbiota in healthy volunteers. Clinics (Sao Paulo). 2007;62:47-54.
5. Delgado S, Cabrera-Rubio R, Mira A, Suárez A, Mayo B. Microbiological survey of the human gastric ecosystem using culturing and pyrosequencing methods. Microb Ecol. 2013;65:763-72.
6. Ryan KA, Jayaraman T, Daly P, Canchaya C, Curran S, Fang F, et al. Isolation of lactobacilli with probiotic properties from the human stomach. Lett Appl Microbiol. 2008;47:269-74.
7. Roos S, Engstrand L, Jonsson H. *Lactobacillus gastricus sp. nov.*, *Lactobacillus antri sp. nov.*, *Lactobacillus kalixensis sp. nov.* and *Lactobacillus ultunensis sp. nov.*, isolated from human stomach mucosa. Int J Syst Evol Microbiol. 2005;55:77-82.
8. Zaman C, Osaki T, Hanawa T, Yonezawa H, Kurata S, Kamiya S. Analysis of the microbial ecology between *Helicobacter pylori* and the gastric microbiota of Mongolian gerbils. J Med Microbiol. 2014;63:129-37. DOI: 10.1099/jmm.0.061135-0
9. Delgado S, Leite AM, Ruas-Madiedo P, Mayo B. Probiotic and technological properties of *Lactobacillus spp.* strains from the human stomach in the search for potential candidates against gastric microbial dysbiosis. Front Microbiol. 2015;5:766. DOI: 10.3389/fmicb.2014.00766

Информация о авторах:

Вакатова Лидия Владимировна, биолог лаборатории бактериологических исследований ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Республике Татарстан (Татарстан)»
Адрес: 420061, Казань, ул. Сеченова, 13а
Телефон: (843) 221-7958

Ефимова Надежда Геннадьевна, врач-цитолог
ООО «Лечебно-диагностический центр «Фарм-Т»
Адрес: 420111, Казань, ул. Профсоюзная, 30
Телефон: (843) 292-0222

Бурханов Ринат Рифкатович, врач-эндоскопист
ООО «Лечебно-диагностический центр «Фарм-Т»
Адрес: 420111, Казань, ул. Профсоюзная, 30
Телефон: (843) 292-0222

Валиуллина Инна Робертовна, врач-бактериолог, руководитель лаборатории клинической бактериологии ГАУЗ «Республиканская клиническая больница» МЗ РТ
Адрес: 420064, Казань, Оренбургский тракт, 138
Телефон: (843) 231-2143

Information about authors:

Lidia V. Vakatova, biologist of laboratory of bacteriological researches Center of Hygiene and Epidemiology in the Republic of Tatarstan
Address: 13a Sechenov Str., Kazan, 420061, Russian Federation
Phone: (843) 221-7958

Nadezhda G. Efimova, cytologist of Medical Center «Pharm-T»
Address: 30 Profsovnaya Str., Kazan, 420111, Russian Federation
Phone: (843) 292-0222

Rinat R. Burkhanov, endoscopist of Medical Center «Pharm-T»
Address: 30 Profsovnaya Str., Kazan, 420111, Russian Federation
Phone: (843) 292-0222

Inna R. Valiullina, bacteriologist, head of department of clinical bacteriology of Republican Clinical Hospital of the Ministry of Healthcare of the Republic of Tatarstan
Address: 138 Orenburgskii tract, Kazan, 420064, Russian Federation
Phone: (843) 231-2143