

УДК: 619:579.835:637

DOI: 10.52419/issn2072-2419.2023.2.194

ОБНАРУЖЕНИЕ ДНК БАКТЕРИЙ РОДА *HELICOBACTER* В МЯСЕ СВИНЕЙ

Поздеев О.К. – заведующий кафедрой микробиологии КГМА - филиал ФГБОУ ДПО РМАНПО Минздрава России, доктор медицинских наук, профессор (ORCID: 0000-0002-6855-3387), **Нургалиев Ф.М.** – доцент кафедры микробиологии, вирусологии и иммунологии ФГБОУ ВО Казанская ГАВМ, кандидат ветеринарных наук (ORCID: 0000-0001-7496-0379), **Гильманов Х.Х.** – научный консультант ФГБНУ ФНЦ ВИЭВ РАН, кандидат биологических наук (ORCID: 0000-0001-7053-6925), **Маннанова А.Р.** – студент ФГБОУ ВО Казанская ГАВМ

*nurgalievfm@gmail.com

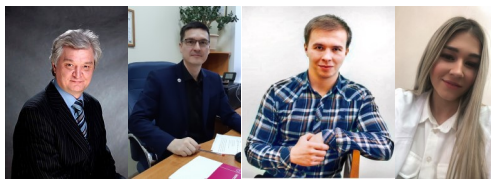
Ключевые слова: *Helicobacter suis*, гастриты, лабораторная диагностика

Key words: *Helicobacter suis*, gastritis, laboratory diagnostics, pork.

Поступила: 26.12.2022

Принята к публикации: 31.03.2023

Опубликована онлайн: 29.06.2023



РЕФЕРАТ

Хеликобактеры, отличные от *H. pylori*, колонизирующие различных животных, также способны вызывать гастриты, язвы желудка и МАЛТ-лимфомы у человека. Среди подобных бактерий со слизистой оболочки желудка человека наиболее часто выделяют *H. suis*. Несмотря на свое название, этот микроорганизм может также инфицировать кошек и собак. При этом распространенность *H. suis* среди поголовья свиней в различных странах варьирует в пределах 10,8-90,0%, но в большинстве исследований она составляет, в среднем, 60%. Очевидно, что такое масштабное распространение *H. suis* и тесные контакты с инфицированными животными могут способствовать профессиональным заражениям людей. Кроме того, потребление зараженного и недостаточно термически обработанного свиного мяса является возможным путем передачи этого микроорганизма. В наших экспериментах исследованием на наличие ДНК *H. suis* в различных частях туш свиней непосредственно после убоя установлено, что в 26,7 % пробах ДНК бактерий была обнаружена на слизистой оболочке ротовой полости, 13,3 % – по линиям разреза шеи, 6,6 % – грудного отдела и 0 % – окорока. Поскольку, по данным доступной литературы, выделение *H. suis* бактериологическим методом представляет большие трудности, то одним из немногих доступных способов диагностики остается обнаружение нуклеиновых кислот микроорганизма. Для обнаружения ДНК жизнеспособных *H. suis* в мясе свиней мы использовали протокол обработки образцов свинины этидия моноазидом в сочетании с ПЦР для исследования мяса свиней (свиная шейка) различных производителей, приобретенных на прилавках рынков г. Казани. В результате, в 0,5 % проб была обнаружена ДНК живых *H. suis*.

ВВЕДЕНИЕ / INTRODUCTION

Род *Helicobacter* семейства *Helicobacteraceae* объединяет подвижные (лофотрихи), грамотрицательные, каталазо- и оксидазоположительные, преимущественно спиралевидные бактерии, не образующие спор. Природными хозяевами бактерий являются различные животные и человек [3, 9]. В настоящее время род включает 27 идентифицированных видов. По мнению D.W. Waite с соавт. (2017) в настоящее время в род *Helicobacter* включены генетически различные микроорганизмы, что требует дальнейшей его реклассификации [23].

Наиболее известным представителем рода является *H. pylori*. Вот уже почти тридцать лет он находится в центре внимания гастроэнтерологов и, вероятно, не будет преувеличением назвать эти годы «эрой *H. pylori*» [1, 6]. Опубликованы результаты нескольких тысяч исследований, и накопленные данные позволяют считать доказанной патогенетическую связь *H. pylori* с развитием некоторых форм хронического гастрита, язвенного гастродуоденита, аденокарцином и MALT-лимфом желудка [4].

В 1990 году М.М. Queiroz и соавт. пришли к мысли, что свиньи могут быть резервуаром *H. pylori*. Исследовав образцы слизистой оболочки желудка (СОЖ) от 120 голов клинически здоровых свиней, обнаружили ранее не описанную крупную тугоскрученную спиралевидную бактерию [21]. В следующей своей работе этот научный коллектив авторов предложил название данному микроорганизму “*Gastrospirillum suis*” [20]. В 1994 году E.N. Mendes и др. реклассифицировали выделенную от свиней бактерию как *Helicobacter heilmannii* [19]. В последующем De Groote и др. (1999) установили, что эта бактерия принадлежит к роду *Helicobacter* и назвали ее *Candidatus Helicobacter suis* [14]. После первого успешного выделения *in vitro* Baele и др. (2008) данный микроорганизм был классифицирован и получил название *Helicobacter suis* [5].

Исследования, проведенные в разных странах, указывают на различия в

распространении этих бактерий среди поголовья свиней. Так, например, E.N. Mendes и др. 1991 обнаружил хеликобактерии в 10,8% случаях, М.М. Queiroz и др. 1996 – в 90%, Hellemans и др. – в 80%. На сегодняшний день можно заключить, что распространенность хеликобактеров среди свиней варьирует от 10,8 до 90,0%, но в большинстве исследований сообщают о распространенности составляющей 60%. Установлено, что распространенность увеличивается с возрастом свиньи, составляя 2% у молочных поросят и до 90% у взрослых свиней [2, 9, 15, 16, 18].

Параллельно с исследованиями распространения бактерий рода *Helicobacter* у животных в биоптатах слизистой желудка человека были также обнаружены хеликобактеры не похожие морфологически на *H. pylori* и число подобных находок варьировало в пределах 0,2-6% [7, 17, 22]. Установлено, что у людей у которых выявляли не-*H. pylori* хеликобактерные бактерии, они вызывали заболевания желудка: гастриты, язвы и MALT-лимфомы, но не первичные аденокарциномы [3, 7, 10, 22]. Очевидно, что биология *H. suis* и контакты с инфицированными животными способствуют заражению человека. В частности, высокая инфицированность зарегистрирована среди свиноводов-частников и работников свиноводческих ферм. Также определенную опасность представляет употребление в пищу свинины без достаточной термической обработки [8, 12, 13]. К сожалению, точные пути и механизмы передачи инфекции от свиней к человеку остаются не изученными. Этому способствует и то, что на сегодняшний день, выделение и культивирование *H. suis* из мяса бактериологическими методами невозможно. Целью данной работы являлось селективное выявление ДНК жизнеспособных бактерий рода *Helicobacter* в мясе свиней.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ / MATERIALS AND METHOD

В начале нашей работы отобрали образцы для исследования на наличие ДНК

H. suis и *H. pylori* с поверхности туш свиней в условиях убойного пункта. Технологический процесс убоя свиней и разделки туш предусматривает выработку свинины в шкуре и без шкуры. Последовательность операций и режимы их проведения проводятся в соответствии с действующей технологической инструкцией, а требования к процессу соблюдаются с учетом вступившего в силу 01.05.2014 г. Технического регламента Таможенного союза 034/2013 «О безопасности мяса и мясной продукции»

После убоя животных отбирали образцы для исследования. Материалами для исследования служили: слизистая оболочка ротовой полости, по линиям разреза шеи, грудного отдела и окорока (площадь

сбора материала 100 см²) и биоптаты фундальных отделов СОЖ. Для сбора использовали стерильные ватные тампоны. Все образцы хранили в пластиковых стерильных пакетах при -20 °С.

Экстракцию ДНК из биоматериалов проводили с использованием набора реагентов «РИБО-преп» производства ФБУН ЦНИИЭМ Эпидемиологии Роспотребнадзора, в соответствии с инструкцией производителя.

Постановку видоспецифической ПЦР для амплификации фрагмента ДНК гена 16S рДНК *H. suis* размером 433 п.н. проводили с помощью набора «СибЭнзим» и праймеров V832f и V1261r (таблица 1), предложенных D. De Groote и соавт. (1999) [14].

Таблица 1

Праймеры использованные для амплификации

Название	Структура праймера	Организм	Размер ампликона п. н.	Ссылка
V832f V1261r	TTGGGAGGCTTTGTCTTTCCA GATTAGCTCTGCCTCGCGGCT	<i>H. suis</i>	433	D. De Groote [14]
BFHsuis_F1 BFHsuis_R1	AAAACAMAGGCGATCGCCCTGTA TTTCTTCGCCAGGTTCAAAGCG	<i>H. suis</i>	150	F. Cortez Nunes [14]

Таблица 2

Режимы термоциклирования

Стадия	<i>H. suis</i> (V832f и V1261r)		Набор «ХЕЛИКОПОЛ»		<i>H. suis</i> (BFHsuis_F1 и BFHsuis_R1)
Пред. денатурация	(94 °C – 4 мин) x 1		94 °C – 1 мин.		94 °C – 4 мин. x 1
Денатурация	94 °C – 30 сек.	x 40	94 °C – 30 сек.	x 5	95 °C – 20 сек.
Отжиг	60 °C – 60 сек.		50 °C – 30 сек.		60 °C – 30 сек.
Синтез	72 °C – 10 сек		72 °C – 30 сек		72 °C – 30 сек.
Денатурация	–		92 °C – 5 сек.	x 40	–
Отжиг	–		50 °C – 10 сек.		–
Синтез	–		72 °C – 15 сек		–
Досинтез	(72°C – 4 мин) x 1		(72°C – 4 мин) x 1		(72°C – 4 мин) x 1

Амплификацию проводили в амплификаторе «Терцик» (ООО "ДНК-Технология"). Режимы термоциклирования представлены в таблице 2.

Выявление продуктов амплификации проводили горизонтальным электрофорезом в 2% агарозном геле с добавлением бромистого этидия и флуоресцентной визуализацией в УФ-трансиллюминаторе.

При постановке ПЦР для амплификации фрагмента ДНК *H. pylori* применяли коммерческий набор для амплификации «ХЕЛИКОПОЛ» на 50 реакций, производства ООО НПФ «Литех» согласно методике, предложенной производителем (таблица 2).

Ранее, из СОЖ откормочной свиньи при плановом убое клинически здоровых свиней нами был выделен штамм *H. suis*, который в дальнейшем использовали как положительный контроль в наших исследованиях. Выделение бактерий проводили в течение 96 часов при 37 °С на селективной питательной среде в микроаэрофильных и капнофильных условиях. Идентификацию полученного штамма *H. suis* проводили с учётом морфологических, тинкториальных, культуральных, биохимических свойств, а также в ПЦР в соответствии с методом, предложенным D. De Groote с соавторами (1999) [14].

Для оценки продолжительности сохранения жизнеспособности бактерии *H. suis* на мясе свиней, на поверхность 5 образцов из шейного отдела массой по 0,5 кг наносили взвесь выделенной живой культуры микроорганизмов. Контролем служил интактный образец мяса. Далее пробы помещали в вакуумную упаковку и хранили 48 часов при + 4 °С.

Были предприняты попытки вновь выделить контрольный штамм *H. suis* бактериологическим методом с поверхности обработанных образцов мяса.

Также для индикации ДНК жизнеспособных *H. suis* мы обрабатывали исследуемые образцы этидия моноазидом (ЕМА) в сочетании с последующей постановкой ПЦР, предложенные L. De Cooman с соавт. (2013) [13].

Для этого ЕМА растворяли в 4 мл ди-

метилформамида и 1 мл среды RPMI-1640 (ПанЭко, Россия) для получения рабочей концентрации 1 мг мл⁻¹. В конце срока хранения получали смывы с образцов мяса и на культуральных планшетах обрабатывали их 10 мкг мл⁻¹ ЕМА. Образцы накрывали алюминиевой фольгой и перемешивали 10 мин на шейкере в режиме 600 об/мин при комнатной температуре. После этого все образцы помещали на лед и облучали в течение 5 мин галогенным источником света мощностью 500 Вт с расстояния 25 см. Затем процедуру повторяли еще раз. Затем все суспензии переносили в пробирки Эппендорфа и осаждали центрифугированием при 5000 об./мин, дважды промывая для удаления несвязанного ЕМА. Осадок ресуспендировали в 250 мкл сбалансированного солевого раствора Хэнкса.

Постановку ПЦР для селективного определения ДНК жизнеспособных *H. suis* проводили согласно F. Cortez Nunes и др. (2021) [11]. Определяемыми фрагментами ДНК служили гомологичные участки гена 16S р ДНК *H. suis* размером 150 п.н. Видоспецифическую ПЦР проводили с применением праймеров BFHsuis_F1 и BFHsuis_R1 (таблица 1). Режим термоциклирования представлен в таблице 2. Визуализацию ПЦР проводили с помощью горизонтального электрофореза в 1,5% агарозном геле с буфером TBE, содержащим этидия бромид, с последующим просмотром электрофореграмм в УФ-трансиллюминаторе.

Этим же методом было исследовано мясо свиней, реализуемое на торговых площадках г. Казани, для чего было закуплено 20 образцов мяса свиней различных производителей.

РЕЗУЛЬТАТЫ / RESULTS

Всего в условиях убойного пункта было взято и проанализировано 60 образцов биоматериала, полученных с различных частей свиных туш, и 15 проб фундального отдела СОЖ на наличие ДНК *H. suis* и *H. pylori*. Результаты представлены в таблице 3.

Как видно из таблицы 3, в 11 пробах (73,3 %) из фундального отдела СОЖ

была обнаружена ДНК *H. suis*. Результаты ПЦР на содержание ДНК *H. suis* были получены: со слизистой оболочки ротовой полости – 26,7%; по линиям разреза шеи – 13,4% (рисунок 1); грудного отдела – 6,7%; окорока – 0%.

По результатам ПЦР на обнаружение ДНК *H. pylori* все исследованные пробы были отрицательные (рисунок 2).

Таблица 3
Результаты ПЦР на обнаружение ДНК *H. suis* и *H. pylori* на поверхности различных частей свиных туш

	Место забора материала				
	фундальный отдел СОЖ	слизистая оболочка ротовой полости	по линиям разреза шеи	грудного отдела	окорок
ДНК <i>H. suis</i> +	11	4	2	1	0
ДНК <i>H. suis</i> –	4	11	13	14	15
Итого	15	60			

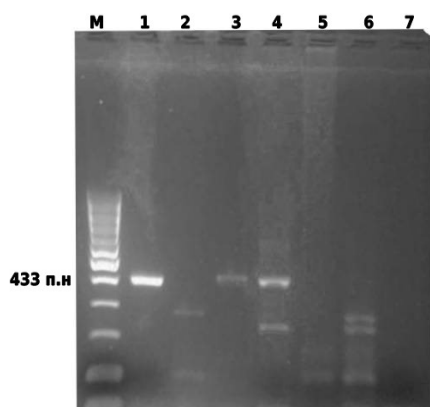


Рис.1. Электрофореграмма результата ПЦР-амплификации биоматериала взятого по линиям разреза шеи. Праймеры V832f и V1261r иницируют амплификацию фрагмента ДНК гена 16S рДНК *H. suis* длиной 433 п.н.

Обозначения: М) ДНК-маркер;
1) Положительный контроль;
2) Отрицательный контроль;
3-7) ПЦР-пробы

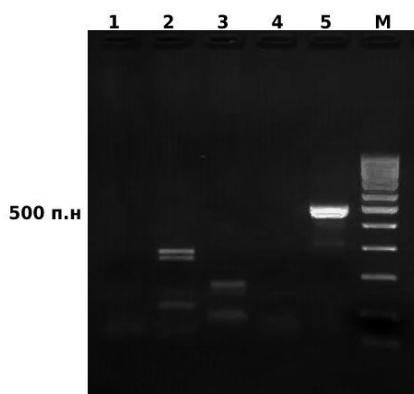


Рис.2. Электрофореграмма результата ПЦР-амплификации ДНК *H. pylori*. Комплект для амплификации *Helicobacter Pylori* «ХЕЛИКОПОЛ», амплификация фрагмента ДНК гена 16S рДНК *H. suis*.

Обозначения: 1-3) ПЦР-пробы
4) Отрицательный контроль;
5) Положительный контроль;
М) ДНК-маркер.

Следующим этапом исследования стало изучение сохранности *H. suis* на охлажденном мясе при +4 °С в течение 48 часов. В конце срока хранения образцов были сделаны посевы на питательную среду и проведено селективное выявление ДНК жизнеспособных бактерий *H. suis*. Выделить чистые культуры *H. suis* из охлажденного мяса в конце срока хранения нам не удалось.

Для выявления ДНК жизнеспособных бактерий *H. suis* были сделаны смывы с кусков мяса через 48 часов. По 250 мкл полученных от каждого куска свинины суспензий обрабатывали ЕМА как описано в материалах и методах и исследовали в ПЦР (рисунок 3). В качестве отрицательного контроля брали смыв с пробы свинины, не обработанной бактериальной

суспензией. Положительным контролем послужил выделенный штамм *H. suis*.

По результатам исследования установили, что через 48 часов хранения на всех пробах свиного мяса, на которые была нанесена живая культура *H. suis*, была обнаружена ДНК жизнеспособных *H. suis*.

Далее нами на прилавках рынков г. Казани было закуплено 20 образцов мяса свиней (свиная шейка) различных производителей. Проведенная оценка данных образцов на соответствие требованиям безопасности по микробиологическим показателям показала, что образцы мяса соответствует требованиям безопасности по проверенным микробиологическим показателям (таблица 4).

Таблица 4

Результаты испытаний на соответствие требованиям безопасности по микробиологическим показателям образцов мяса

Наименование определяемых показателей	Единица измерения	НД на методику исследования	Результаты испытаний	Допустимый уровень
КМАФАнМ	КОЕ/г	ГОСТ 10444-15-94	менее $1,0 \times 10^5$	не более $1,0 \times 10^6$
БГКП (колиморфные)	в 0,001 г	ГОСТ 31747-2012	не обнаружено	не допускает
Патогенные микроорганизмы, в т.ч. сальмонеллы	в 25 г	ГОСТ 31659-2012	не обнаружено	не допускает
<i>L. monocytogenes</i>	в 25 г	ГОСТ 32031-2012	не обнаружено	не допускает

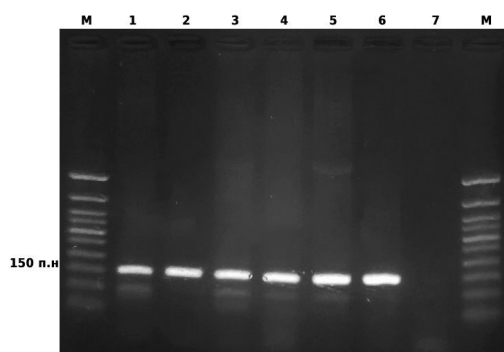


Рис.3. Электрофореграмма результата ПЦР-амплификации селективного выявления ДНК жизнеспособных бактерий *H. suis*. Праймеры *BFHsuis_F1* и *BFHsuis_R1* иницируют амплификацию фрагмента ДНК гена 16S рДНК *H. suis* длиной 150 п.н.

Обозначения: М) ДНК-маркер;
1-5) ПЦР-пробы;
6) Положительный контроль;
7) Отрицательный контроль

Взятые пробы биоматериала от этих образцов свинины исследовали на наличие ДНК *H. suis* и *H. pylori*. Обнаружение ДНК *H. suis* проводили, используя методику, предложенную D. De Groote и соавт. (1999). Обнаружение *H. pylori* проводили согласно методике, предложенной производителем набора ООО НПФ «Литех». Положительные результаты ПЦР на содержание ДНК *H. suis* были получены в образцах от 2 проб. Все пробы на обнаружение ДНК *H. pylori* были отрицательные.

Также все образцы исследовали на обнаружение ДНК живых бактерий *H. suis*, для этого применили протокол обработки образцов свинины ЕМА в сочетании с ПЦР. По результатам на обнаружение ДНК *H. suis* одна проба была положительной.

ВЫВОДЫ / CONCLUSION

Выделение и культивирование *H. suis* является очень сложным и трудоемким процессом с низкой вероятностью успеха. Впервые выделить этот микроорганизм удалось М. Baele с соавт. (2008) с СОЖ, обильно колонизированной этим микроорганизмом. Выделить данный микроорганизм из мяса и продуктов его переработки бактериологическим методом не представляется возможным. Поэтому при выполнении данной работы для обнаружения ДНК жизнеспособных *H. suis* мы использовали протокол обработки образцов свинины ЕМА в сочетании с ПЦР.

Были проведены ПЦР исследования 15 проб СОЖ от 15 голов свиней и 60 образцов биоматериала от 15 голов свиней, полученных с различных частей свиных туш, на наличие ДНК *H. suis* и *H. pylori*. Положительные результаты ПЦР на содержание ДНК *H. suis* были получены в 11 пробах (73,3 %) с СОЖ, ДНК *H. pylori* обнаружено не было.

В образцах биоматериала от 4 туш (26,7 %) была обнаружена ДНК *H. suis*, ДНК *H. pylori* обнаружено не было. При этом ДНК *H. suis* была обнаружена во всех образцах слизистой оболочке рото-

вой полости, но реже обнаруживали по линиям разреза шеи и грудного отдела. Возможно загрязнение на слизистой оболочке ротовой полости можно объяснить тем, что после оглушения животных переводят в вертикальное положение с помощью подвешного устройства, при этом содержимое желудка может попадать в ротовую полость. Также можно предположить, что микроорганизм может определенное время обитать на слизистой оболочке полости рта, что показано для *H. pylori*. Также загрязнение туш возможно при нутровке, когда часть содержимого желудка может попадать на поверхность туши в области шеи и грудного отдела, на что указывают L. De Cooman и др. (2014).

Согласно СанПиН 2.3.2.1324-03 «Гигиенические требования к срокам годности и условиям хранения пищевых продуктов» срок хранения кусковой свинины при температуре +4 (± 2) °C составляет 48 часов. Исходя из этого мы выбрали срок изучения выживаемости *H. suis* на поверхности кускового мяса. По результатам исследования была обнаружена ДНК жизнеспособных *H. suis* ПЦР на поверхности всех обработанных проб свинины. Возможно этому способствовало создание вакуумной упаковки для хранения (влажная среда и анаэробные условия).

При оценке проб мяса свиней (свиная шейка) различных производителей, приобретенных на прилавках рынков установили, что все они соответствовали требованиям безопасности по микробиологическим показателям ТР ТС 034/2013 "О безопасности мяса и мясной продукции". Исследованиями этих проб мяса на наличие ДНК *H. suis* и *H. pylori* установили, что в 1 пробе содержалась ДНК живых *H. suis*. Все пробы на обнаружение ДНК *H. pylori* были отрицательные.

Необходимы дальнейшие исследования для того, чтобы оценить возможность заражения человека и определить точные пути обсеменения мяса в процессе убоя.

DETECTION OF DNA OF BACTERIA OF THE GENUS *HELICOBACTER* IN PIG MEAT

Pozdeev O.K. - Head of the Department of Microbiology KSMA - Branch Campus of the FSBEIFPE RMACPE MOH Russia, professor; **Nurgaliev F.M.** - Associate Professor of the Department of Microbiology, Virology and Immunology FSBEI HE Kazan SAVM; **Gilmanov Kh.Kh.** - scientific consultant Federal State Budget Scientific Institution "Federal Scientific Centre VIEV"; **Mannanova A.R.** - student FSBEI HE Kazan SAVM

ABSTRACT

Helicobacters different from *Helicobacter pylori*, colonizing various animals, are also capable of causing gastritis, stomach ulcers and MALT – lymphomas in humans. *Helicobacter suis* is most often isolated among similar bacteria from the mucous membrane of the human stomach. In spite of its name this microorganism can also infect cats and dogs. At the same time the spread of *Helicobacter suis* among the pig population in different countries varies between 10.8-90.0% but in most studies it is in average 60%. It is obvious that such extensive spread of *Helicobacter suis* and close contacts with infected animals can contribute to occupational infections of human beings. In addition, the consumption of infected and insufficiently heat-treated pork meat is a possible route of transmission of this microorganism. In our studies on the presence of *Helicobacter suis* DNA in various parts of pig carcasses immediately after slaughter determined that DNA samples in 26.7% of bacterial were found on the oral mucosa, 13.3% – along the neck lines section, 6.6% - thoracic section and 0% – hock section. According to the available literature the isolation of *Helicobacter suis* by the bacteriological method presents great difficulties and the detection of nucleic acids of the microorganism remains as one of the few available diagnostic methods. To detect the DNA of living *Helicobacter suis* in pork we used the protocol for processing pork samples with ethidium monoazide in combination with PCR to

study pig meat (pork neck) from various manufacturers purchased on the shelves of Kazan markets. As a result, the DNA of living *Helicobacter suis* was found in 0.5% of the samples.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Исаева Г. Ш., Исаева Р. А. Геном *Helicobacter pylori* и патогенность. *Бактериология*. 2021;6(1):37-47. DOI: 10.20953/2500-1027-2021-1-37-47. URL: <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=46452099>.
2. Isaeva G.Sh., Isaeva R.A. The genome of *Helicobacter Pylori* and the pathogenicity. *Bacteriology*. 2021;6(1):37-47. [In Russ.] DOI: 10.20953/2500-1027-2021-1-37-47. URL: <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=46452099>.
3. Нургалиев Ф.М. Выявление бактерий *Helicobacter suis* у свиней разных возрастных групп. *Ветеринария сегодня*. 2020;(4):266-271. DOI: 10.29326/2304-196X-2020-4-35-266-271. URL: <https://veterinary.arriah.ru/jour/article/view/514>.
4. Nurgaliev F.M. Detection of *Helicobacter suis* bacteria in pigs of different age groups. *Veterinary Science Today*. 2020;(4):266-271. [In Russ.] DOI: 10.29326/2304-196X-2020-4-35-266-271. URL: <https://veterinary.arriah.ru/jour/article/view/514>.
5. Поздеев О. К. и др. Роль "желудочных" хеликобактеров животных в гастропатологии человека. *Терапевтический архив*. 2015; 87(5):122-126. DOI: 10.17116/terarkh2015875122-126 URL: <https://cyberleninka.ru/article/n/rol-zheludochnyh-helikobakterov-zhivotnyh-v-gastropatologii-cheloveka>.
6. Pozdeev O.K., Pozdeeva A.O., Pozdnyak A.O., Saifutdinov R.G. Role of animal gastric *Helicobacter* species in human gastric pathology. *Therapeutic archive*. 2015; 87(5):122-126. [In Russ.] DOI: 10.17116/terarkh2015875122-126 URL: <https://cyberleninka.ru/article/n/rol-zheludochnyh-helikobakterov-zhivotnyh-v-gastropatologii-cheloveka>.
7. Поздеева А. О. и др. Современное развитие схем эрадикации *Helicobacter*

- pylori. *Инфекция и иммунитет*. 2021; 11 (6):1037-1049. URL:<https://cyberleninka.ru/article/n/sovremennoe-razvitie-shem-eradikatsii-helicobacter-pylori>.
8. Pozdeeva A.O.a, Pozdeev O.K.a, Gulyaev P.E.b, Valeeva Yu.V.c, Savinova A.N. Current development of Helicobacter Pylori eradication protocols. *Infection and Immunity*. 2021; 11(6):1037-1049. (In Russ.)] URL:<https://cyberleninka.ru/article/n/sovremennoe-razvitie-shem-eradikatsii-helicobacter-pylori>.
9. Baele M., et al. Isolation and characterization of Helicobacter suis sp. nov. from pig stomachs. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*. 2008; 58:1350–1358. DOI: doi: 10.1099/ijs.0.65133-0. URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18523177/>
10. Bento-Miranda M., Figueiredo C. Helicobacter heilmannii sensu lato: an overview of the infection in humans. *World Journal of Gastroenterology: WJG*. 2014; 20 (47):17779. DOI: 10.3748/wjg.v20.i47.17779. URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25548476/>
11. Blaecher C. et al. Significantly higher frequency of Helicobacter suis in patients with idiopathic parkinsonism than in control patients. *Alimentary pharmacology & therapeutics*. 2013; 38(11-12):1347-1353. DOI: 10.1111/apt.12520. URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24117797/>
12. Bohaychuk V. M., Gensler G. E., Barrios P. R. Microbiological baseline study of beef and pork carcasses from provincially inspected abattoirs in Alberta, Canada. *The Canadian veterinary journal*. 2011; 52 (10):1095. URL:<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3174505/>
13. Buck, et al. Ultrastructural and molecular characterization of non-Helicobacter pylori species in the gastric mucosa of naturally infected pigs. *Braz J Vet Pathol*. 2018; 11 (2):42-49. DOI: 10.24070/bjvp.1983-0246.v11i2p42-49. URL: https://www.researchgate.net/publication/326910260_Ultrastructural_and_molecular_characterization_of_nonHelicobacter_pylori_species_in_the_gastric_mucosa_of_naturally_infected_pigs.
14. Chloë De Witte, et al. Infeed bambarmycin medication induces antiinflammatory effects and prevents parietal cell loss without influencing Helicobacter suis colonization in the stomach of mice. *De Witte et al. Vet Res*. 2018; 49(1):35. DOI: 10.1186/s13567-018-0530-1. URL: <https://veterinaryresearch.biomedcentral.com/articles/10.1186/s13567-018-0530-1>.
15. Cortez Nunes F. et al. Presence of Helicobacter pylori and H. suis DNA in Free-Range Wild Boars. *Animals*. 2021; 11 (5):1269. DOI: 10.3390/ani11051269. URL: <https://www.mdpi.com/2076-2615/11/5/1269>.
16. De Cooman L. et al. Presence of Helicobacter suis on pork carcasses. *International journal of food microbiology*. 2014; 187:73-76. DOI: 10.1016/j.ijfoodmicro.2014.06.016. URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25058686/>.
17. De Cooman L. et al. Survival of Helicobacter suis bacteria in retail pig meat. *International journal of food microbiology*. 2013; 166(1):164-167. DOI: 10.1016/j.ijfoodmicro.2013.05.020. URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23880243/>.
18. De Groote D. et al. ‘Candidatus Helicobacter suis’, a gastric helicobacter from pigs, and its phylogenetic relatedness to other gastrospirilla. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*. 1999; 49(4):1769-1777. DOI: 10.1099/00207713-49-4-1769. URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10555359/>.
19. De Witte C., Ducatelle R., Haesebrouck F. The role of infectious agents in the development of porcine gastric ulceration. *The Veterinary Journal*. 2018; 236:56-61. DOI: 10.1016/j.tvjl.2018.04.015. URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29871751/>.
20. Dulciene M.M., et al. Association Between Helicobacter and Gastric Ulcer Disease of the Pars Esophagea in Swine. *Gastroenterology*. 1996; 111:19–27. DOI: 10.1053/gast.1996.v111.pm8698198. URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/8698198/>.
21. Flahou B. et al. Evidence for a primate origin of zoonotic Helicobacter suis colo-

- nizing domesticated pigs. *The ISME journal*. 2018; 12.(1):77-86. DOI: 10.1038/ismej.2017.145. URL: <https://www.nature.com/articles/ismej2017145>.
22. GRASSO G.M., et al. Prevalence of helicobacter-like organisms in porcine gastric mucosa: a study of swine slaughtered in Italy. *Comp. Immun. Microbiol. infect.* 1996; 19(3):213-217. DOI: 10.1016/0147-9571(96)00007-0. URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/8800547/>.
23. Mendes E. N. et al. Are pigs a reservoir host for human *Helicobacter* infection. *Am J Gastroenterol.* 1994; 89(8):1296. URL: https://scholar.google.com/scholar_lookup?journal=Am+J+Gastroenterol&title=Are+pigs+a+reservoir+host+for+human+Helicobacter+infection?&author=E+N+Mendes&author=D+M+M+Queiroz&author=F+E+Dewhirst&author=B+J+Paster&author=G+A+Rocha&volume=89&publication_year=1994&pages=1296&#d=gs_qabs&t=1677410862332&u=%23p%3DSjkIipDvKPIJ.
24. Mendes E. N. et al. Ultrastructure of a spiral micro-organism from pig gastric mucosa ("Gastrospirillum suis"). *Journal of Medical Microbiology*. 1990; 33(1):61-66. DOI:10.1099/00222615-33-1-61. URL: https://www.researchgate.net/publication/20923735_Ultrastructure_of_a_spiral_micro-organism_from_pig_gastric_mucosa_Gastrospirillum_suis
25. Queiroz D. M. M. et al. A spiral microorganism in the stomach of pigs. *Veterinary microbiology*. 1990; 24(2):199-204. DOI: 10.1016/0378-1135(90)90067-6. URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/1700535/>
26. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2021; 118(13):e2026337118. DOI: 10.1073/pnas.2026337118. URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33753513/>
27. Waite D. W. et al. Comparative genomic analysis of the class Epsilonproteobacteria and proposed reclassification to Epsilonbacteraeota (phyl. nov.). *Frontiers in microbiology*. 2017; 8:682. DOI: 10.3389/fmicb.2017.00682. URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28484436/>

REFERENCES

1. Isaeva G.Sh., Isaeva R.A. The genome of *Helicobacter Pylori* and the pathogenicity. *Bacteriology*. 2021;6(1):37-47. (In Russ) DOI: 10.20953/2500-1027-2021-1-37-47. URL: <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=46452099>.
2. Nurgaliev F.M. Detection of *Helicobacter suis* bacteria in pigs of different age groups. *Veterinary Science Today*. 2020;(4):266-271. (In Russ.) DOI: 10.29326/2304-196X-2020-4-35-266-271. URL: <https://veterinary.arriah.ru/jour/article/view/514>.
3. Pozdeev O.K., Pozdeeva A.O., Pozdnyak A.O., Saifutdinov R.G. Role of animal gastric *Helicobacter* species in human gastric pathology. *Therapeutic archive*. 2015; 87(5):122-126. (In Russ.) DOI: 10.17116/terarkh2015875122-126 URL: <https://cyberleninka.ru/article/n/rol-zheludochnyh-helikobakterov-zhivotnyh-v-gastropatologii-cheloveka>.
4. Pozdeeva A.O.a, Pozdeev O.K.a, Gulyaev P.E.b, Valeeva Yu.V.c, Savinova A.N. Current development of *Helicobacter Pylori* eradication protocols. *Infection and Immunity*. 2021; 11(6):1037-1049. (In Russ.) URL: <https://cyberleninka.ru/article/n/sovremennoe-razvitie-shem-eradikatsii-helicobacter-pylori>.
5. Baele M., et al. Isolation and characterization of *Helicobacter suis* sp. nov. from pig stomachs. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*. 2008; 58:1350-1358. DOI: doi: 10.1099/ijs.0.65133-0. URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18523177/>
6. Bento-Miranda M., Figueiredo C. *Helicobacter heilmannii* sensu lato: an overview of the infection in humans. *World Journal of Gastroenterology: WJG*. 2014; 20(47):17779. DOI: 10.3748/wjg.v20.i47.17779. URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25548476/>
7. Blaecher C. et al. Significantly higher

- frequency of *Helicobacter suis* in patients with idiopathic parkinsonism than in control patients. *Alimentary pharmacology & therapeutics*. 2013; 38(11-12):1347-1353. DOI: 10.1111/apt.12520. URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24117797/>
8. Bohaychuk V. M., Gensler G. E., Barrios P. R. Microbiological baseline study of beef and pork carcasses from provincially inspected abattoirs in Alberta, Canada. *The Canadian veterinary journal*. 2011; 52(10):1095. URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3174505/>
9. Buck, et al. Ultrastructural and molecular characterization of non-*Helicobacter pylori* species in the gastric mucosa of naturally infected pigs. *Braz J Vet Pathol*. 2018; 11(2):42-49. DOI: 10.24070/bjvp.1983-0246.v11i2p42-49. URL: https://www.researchgate.net/publication/326910260_Ultrastructural_and_molecular_characterization_of_nonHelicobacter_pylori_species_in_the_gastric_mucosa_of_naturally_infected_pigs
10. Chloë De Witte, et al. Infeed bambermycin medication induces antiinflammatory effects and prevents parietal cell loss without influencing *Helicobacter suis* colonization in the stomach of mice. *De Witte et al. Vet Res*. 2018; 49(1):35. DOI: 10.1186/s13567-018-0530-1. URL: <https://veterinaryresearch.biomedcentral.com/articles/10.1186/s13567-018-0530-1>
11. Cortez Nunes F. et al. Presence of *Helicobacter pylori* and *H. suis* DNA in Free-Range Wild Boars. *Animals*. 2021; 11(5):1269. DOI: 10.3390/ani11051269. URL: <https://www.mdpi.com/2076-2615/11/5/1269>
12. De Cooman L. et al. Presence of *Helicobacter suis* on pork carcasses. *International journal of food microbiology*. 2014; 187:73-76. DOI: 10.1016/j.ijfoodmicro.2014.06.016. URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25058686/>
13. De Cooman L. et al. Survival of *Helicobacter suis* bacteria in retail pig meat. *International journal of food microbiology*. 2013; 166(1):164-167. DOI: 10.1016/j.ijfoodmicro.2013.05.020. URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23880243/>
14. De Groote D. et al. 'Candidatus *Helicobacter suis*', a gastric helicobacter from pigs, and its phylogenetic relatedness to other gastrospirilla. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*. 1999; 49(4):1769-1777. DOI: 10.1099/00207713-49-4-1769. URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10555359/>
15. De Witte C., Ducatelle R., Haesebrouck F. The role of infectious agents in the development of porcine gastric ulceration. *The Veterinary Journal*. 2018; 236:56-61. DOI: 10.1016/j.tvjl.2018.04.015. URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29871751/>
16. Dulciene M.M., et al. Association Between *Helicobacter* and Gastric Ulcer Disease of the Pars Esophagea in Swine. *Gastroenterology*. 1996; 111:19-27. DOI: 10.1053/gast.1996.v111.pm8698198. URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/8698198/>
17. Flahou B. et al. Evidence for a primate origin of zoonotic *Helicobacter suis* colonizing domesticated pigs. *The ISME journal*. 2018; 12(1):77-86. DOI: 10.1038/ismej.2017.145. URL: <https://www.nature.com/articles/ismej2017145>
18. GRASSO G.M., et al. Prevalence of helicobacter-like organisms in porcine gastric mucosa: a study of swine slaughtered in Italy. *Comp. Immun. Microbiol infect*. 1996; 19(3):213-217. DOI: 10.1016/0147-9571(96)00007-0. URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/8800547/>
19. Mendes E. N. et al. Are pigs a reservoir host for human *Helicobacter* infection. *Am J Gastroenterol*. 1994; 89(8):1296. URL: https://scholar.google.com/scholar_lookup?journal=Am+J+Gastroenterol&title=Are+pigs+a+reservoir+host+for+human+Helicobacter+infection?&author=E+N+Mendes&author=D+M+M+Queiroz&author=F+E+Dewhirst&author=B+J+Paster&author=G+A+Rocha&volume=89&publication_year=1994&pages=1296&#d=gs_qabs&t=1677410862332&u=%23p%3DSjkIipDvKPIJ

20. Mendes E. N. et al. Ultrastructure of a spiral micro-organism from pig gastric mucosa ("Gastrospirillum suis"). *Journal of Medical Microbiology*. 1990; 33(1):61-66. DOI:10.1099/00222615-33-1-61. URL:https://www.researchgate.net/publication/20923735_Ultrastructure_of_a_spiral_micro-organism_from_pig_gastric_mucosa_Gastrospirillum_suis
21. Queiroz D. M. M. et al. A spiral microorganism in the stomach of pigs. *Veterinary microbiology*. 1990; 24(2):199-204. DOI: 10.1016/0378-1135(90)90067-6. URL:<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/1700535/>
22. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2021; 118(13):e2026337118. DOI: 10.1073/pnas.2026337118. URL:<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33753513/>
23. Waite D. W. et al. Comparative genomic analysis of the class Epsilonproteobacteria and proposed reclassification to Epsilonbacteraeota (phyl. nov.). *Frontiers in microbiology*. 2017; 8:682. DOI: 10.3389/fmicb.2017.00682. URL:<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28484436/>