

Естественная *H. pylori*-ассоциированная инфекция приматов

В.А. Калашникова

Научно-исследовательский институт медицинской приматологии РАНН, Сочи, Адлер,
e-mail: vikky.aw@gmail.com

Проведено исследование обезьян различных видов на наличие *Helicobacter pylori*. Установлена достаточно высокая степень инфицированности данными возбудителями (25,3%). Показано, что *H. pylori* выявлены у всех видов и возрастных групп обезьян, причем с возрастом происходит увеличение частоты инфицирования *H. pylori*. В фекалиях *H. pylori* встречаются в 3,8 раза реже, чем в желудке и двенадцатиперстной кишке. Наиболее часто *H. pylori* обнаруживаются у мартышек зеленых (53,9%). У клинически здоровых павианов возбудители хеликобактериоза выявлены не были, в то время как у больных желудочно-кишечными заболеваниями частота обнаружения этих бактерий составила 75%.

Ключевые слова: *Helicobacter pylori*, обезьяны, макаки резусы, макаки яванские, мартышки зеленые, павианы анубисы, павианы гамадрилы, полимеразная цепная реакция (ПЦР).

Введение

Начиная с середины прошлого столетия приматы широко используются в качестве объектов биологических и медицинских экспериментов и расцениваются как адекватная модель для изучения различных форм клинической патологии, расшифровки патогенеза заболеваний, механизма действия средств терапии, испытания вакцин. Однако животные также сами могут являться носителями инфекционных агентов (вирусных и бактериальных). Исследования, проводимые за рубежом, показывают, что обезьяны восприимчивы к естественной инфекции, вызванной возбудителями хеликобактериоза, у животных развиваются многие морфологические признаки *H. pylori*-связанного гастрита людей [1, 2, 3, 4, 5]. Существуют сведения о том, что у разных видов обезьян распространенность *H. pylori* различна и, в отличие от людей, у макак резусов и бабуинов хеликобактерии не ассоциированы с антральными гастритами [5, 6]. Изучение роли *H. pylori* у здоровых, иммунокомпрометированных обезьян-носителей и больных животных является актуальным.

Цель работы

Целью работы является изучение естественной инфекции, обусловленной микроорганизмами рода *Helicobacter* (*H. pylori*) у обезьян питомника.

Материалы и методы

Исследованы 388 обезьян различных видов и возрастов (табл. 1), из них 278 клинически здоровых, без симптомов

H. pylori-ассоциированной инфекции и 110 погибших (75 – без поражения желудка, 35 – с желудочно-кишечной патологией).

Материал исследования – 278 образцов фекалий от здоровых живых обезьян без клинических симптомов *H. pylori*-ассоциированной инфекции, 75 образцов кишечного содержимого трех отделов (тонкой, слепой, прямой кишки) кишечника от 25 погибших обезьян, 225 образцов кусочков отделов желудка (тела, антрального отдела) и двенадцатиперстной кишки (ДПК) размером 1 × 1 см от 75 погибших обезьян (преимущественные диагнозы: кишечная инфекция, травма, анемия, амилоидоз и др.), 105 образцов патологического материала от 35 больных кишечной инфекцией с морфологически выраженным гастроэнтероколитом (26), гастритом (4), острым расширением желудка (1), безоаром желудка (1), катаральным гастроэнтеритом (3).

Исследование проводили методом полимеразной цепной реакции (ПЦР). Микробную ДНК из фекалий и патологического материала выделяли с использованием универсальных наборов реагентов для пробоподготовки фирмы «Biocom» (Россия) в соответствии с инструкцией к набору. Для детекции ДНК *H. pylori* использовались лиофилизированные ПЦР-тест-системы «GenePak» с наборами праймеров ure, vacA, cagA с соответствующими контрольными ДНК указанных генов. Амплификация генов шла в температурном режиме последовательно связанных программ по прилагаемому протоколу. Учет результатов проводили методом горизонтального электрофореза в 1,5% агарозном геле в градиенте напряжения 200 В. На-

Таблица 1. Характеристика обследованных обезьян

Вид	Общее количество	Возраст, годы			
		До 1	1–4	5–10	Старше 10
М. резусы	184	14	78	62	30
М. яванские	72	10	27	21	14
М. лапундеры	3	2		–	1
М. ассамские	1	–		1	–
М. зеленые	26	1	17	5	3
П. анубисы	8	2	2	3	1
П. гамадрилы	93	24	30	21	18
Саймири	1	–	1	–	–
Всего	388	53	155	113	67

Таблица 2. Инфицированность различных видов обезьян *H. pylori*

Вид	Положительный результат, абс. число (%)	Клинически здоровые, абс. число (%)	Погибшие	
			Клинически здоровые, абс. число (%)	Больные с поражением желудка, абс. число (%)
М. резусы	37/20,1	16/12,0	15/37,5	6/54,6
М. яванские	23/32,0	16/27,6	7/63,6	–
М. лапундеры	1	1	–	–
М. ассамские	1	–	–	1
М. зеленые	14/53,9	10/52,6	4/57,2	–
П. анубисы	3/37,5	–	1	2
П. гамадрилы	19/20,4	–	7/63,6	12/75,0
Всего	98/25,3	43/15,5	34/45,3	21/60,0

Таблица 3. Инфицированность *H. pylori* обезьян различных возрастов

Вид	Возраст, годы (%)			
	До 1	1 – 4	5 – 10	Старше 10
М. резусы	5 (35,7)	8 (10,3)	10 (16,1)	14 (46,7)
М. яванские	1 (10,0)	7 (25,9)	9 (42,9)	6 (42,9)
М. лапундеры	1	–	–	–
М. ассамские	–	–	1	–
М. зеленые	1	9 (53,0)	3	1
П. анубисы	–	1	2	–
П. гамадрилы	5 (20,8)	–	9 (42,9)	5 (27,8)
Всего	13 (24,5)	25 (16,1)	34 (25,6)	26 (38,8)

личие светящейся полосы желтого цвета на уровне полосы положительного контрольного образца свидетельствовало о положительной реакции образца на возбудитель.

Результаты и их обсуждение

При обследовании 388 обезьян различных видов установлена достаточно высокая степень инфицированности возбудителями хеликобактериоза. У 98 животных выявлены нуклеотидные последовательности *H. pylori*, что составляет 25,3% (табл. 2). При этом в фекалиях 278 клинически здоровых обезьян ДНК возбудителя верифицирована в 15,5%, в то время как в желудке и ДПК 110 погибших животных – в 50,0%. Также проведено исследование содержимого трех отделов кишечника у погибших обезьян. Ни в одном случае ДНК возбудителя не обнаружена.

Среди макак на первом месте по частоте инфицирования стоят макаки яванские (32,0%) (табл. 2). Из трех обследованных макак лапундеров ДНК *H. pylori* обнаружена у одной, из восьми павианов анубисов – у трех. У макак резусов и павианов гамадрилов частота детекции возбудителя была одинаковой (20,1% и 20,4% соответственно).

Возбудителями хеликобактериоза инфицированы обезьяны всех возрастов (табл. 3). При анализе связи возраста обезьян и наличия у них *H. pylori* замечено, что особой закономерности в этом не наблюдается. Наиболее низкий процент детекции возбудителя отмечен у подростков – 16,1%. Инфицированность детенышей до года и взрослых обезьян приблизительно одинаковая (24,5 и 25,6% соответственно). У старых животных происходит увеличение частоты положительных находок до 38,8%.

Среди детенышей до года наиболее инфицированными оказались детеныши макак резусов (35,7%). В возрасте 1–4 лет наиболее часто ДНК *H. pylori* обнаруживалась у подростков мартышек. Так, из 17 обследованных животных этой группы у 9 выявлены возбудители хеликобактериоза. В 25,9% случаев хеликобактер-инфицированными были подростки макак яванских. В группе обезьян 5–10 лет наиболее часто *H. pylori* выявлены у макак яванских и павианов гамадрилов (42,9%). Из пяти обследованных мартышек зеленых этого возраста *H. pylori* обнаружены у трех. Менее инфицированными обезьянами в данной группе были макаки резусы (16,1%). На первом месте из группы животных старше 10 лет по частоте инфицированности *H. pylori* стоят также макаки резусы (46,7%). Из 14 обследованных макак яванских искомые нуклеотидные последовательности обнаружены у 6 (42,9%), из 18 павианов гамадрилов – у 5 (27,8%). Следовательно, с возрастом частота инфицирования возбудителями хеликобактериоза у обезьян возрастает. Четко эта тенденция прослеживается у макак яванских.

Таким образом, исследование показало, что микроорганизмы рода *Helicobacter* широко распространены среди обезьян, содержащихся в адлерском питомнике, причем в фекалиях *H. pylori* встречаются гораздо реже (практически в 3,8 раза), чем в желудке и двенадцатиперстной кишке. Низкую выявляемость возбудителя хеликобактериоза в фекалиях можно объяснить невысокой концентрацией бактерий в данном материале и ингибированием ПЦР компонентами пробы. Обнаружение *H. pylori* у приматов пополняет наши знания об инфекционных агентах обезьян. Дальнейшие исследования генотипов *H. pylori* у обезьян также позволят лучше понять механизм возникновения гастродуоденальных заболеваний у одних видов и

отсутствие этой патологии при выявлении возбудителей данной инфекции у других. Изучение спонтанного хеликобактериоза у обезьян может быть полезным в понимании этиологии и патогенеза воспалений желудка и кишечника у человека. У макак слизистая желудка гистологически сходна с таковой человека, что предполагает данный вид обезьян как потенциальную модель при исследовании *H. pylori*-ассоциированного гастрита и открывает путь к развитию сравнительного изучения *H. pylori*-инфекции у людей.

Выводы

1. Частота распространения *H. pylori* у обезьян составила 25,3%.
2. С возрастом инфицированность *H. pylori* обезьян возрастает.
3. Инфицированность *H. pylori* больных желудочно-кишечными заболеваниями обезьян в 3 раза выше, чем клинически здоровых.

Summary

A study of Helicobacter pylori infection in monkeys was conducted. As result, the high degree of infection by these pathogens was established (23.5%). It has been shown, that H.pylori were found in all species and age groups of monkeys, moreover, the frequency of infection is increasing with age. H.pylori are found out in feces in 3.8 times less, than in stomach and duodenal gut. The most often occurrence of Helicobacter pylori was noted in green monkeys (53.9%). The hamadryads baboons without

clinical symptoms of the disease did not show Helicobacter pylori agent. While the sick animals with gastro-intestinal disease showed the 75% occurrence of these bacteria.

Key words: *Helicobacter pylori, monkeys, rhesus macaques, macaca fascicularis, green monkeys, baboons anubis, baboons hamadryads, polymerase chain reaction (PCR).*

ЛИТЕРАТУРА

1. De Mello M.F., Monteiro A.B., Fonseca E.S. et al. Identification of Helicobacter species in gastric mucosa from captive marmosets (*Callithrix* sp.; callitrichidae, primates) // *Am. J. Primatol.* – 2005. – Vol. 66, No. 2. – P. 111–118.
2. Doi S.Q., Kimbason T., Reindel J. et al. Molecular characterization of Helicobacter pylori strains isolated from cynomolgus monkeys (*Macaca fascicularis*) // *Vet. Microbiol.* – 2005. – Vol. 108, No. 1–2. – P. 133–139.
3. Fox J.G., Handt L., Xu S. et al. Novel Helicobacter species isolated monkeys with chronic idiopathic colitis // *J. Med. Microbiol.* – 2001. – Vol. 50. – P. 421–429.
4. Han S.-R., Schreiber H.-J., Bhakdi S. et al. VacA Genotypes and Genetic Diversity in Clinical Isolates of Helicobacter pylori // *Clin. and Diadn. Lab. Immun.* – 1998. – Vol. 5, No. 2. – P. 139–145.
5. Mackie J.T., O'Rourke. Gastritis Associated with Helicobacter-like Organisms in Baboons // *Vet. Pathol.* – 2003. – Vol. 40. – P. 563–566.
6. Newell D.G. Campylobacter pylori infections in non-human primates // *Campylobacter pylori and Gastrointestinal Disease*, edited by Rathbone B.J., Heathey R.V. – Blackwell Scientific Publications. – 1989. – P. 265–273.