

**BAĞIRSAQ MİKROBIOTASININ ƏHƏMIYYƏTİ VƏ  
MÜASİR DİAQNOSTİKA ÜSULLARI**

**t.ü.f.d. Hafizə Mansurova**

*ATU Tibbi mikrobiologiya və immunologiya kafedrası*  
[departament.microbiology@amu.edu.az](mailto:departament.microbiology@amu.edu.az)

**t.ü.f.d. Səidə Hacıyeva**

*ATU Tibbi mikrobiologiya və immunologiya kafedrası*  
[saida.hadjiyeva@gmail.com](mailto:saida.hadjiyeva@gmail.com)

**b.e.d. prof. Gülər Seyidova**

*ATU Tibbi mikrobiologiya və immunologiya kafedrası*  
[departament.microbiology@amu.edu.az](mailto:departament.microbiology@amu.edu.az)

**b.e.d. prof. Emma Ağayeva**

*ATU Tibbi mikrobiologiya və immunologiya kafedrası*  
[departament.microbiology@amu.edu.az](mailto:departament.microbiology@amu.edu.az)

**b.ü.f.d. Yeganə Baxışova**

*ATU Tibbi mikrobiologiya və immunologiya kafedrası*  
[departament.microbiology@amu.edu.az](mailto:departament.microbiology@amu.edu.az)

**tibb xidməti polkovniki Şahin Süleymanov**

*Hərbi tibb fakültəsinin Tibbi profilaktika kafedrası*  
[departament\\_medical\\_prophylaxis@amu.edu.az](mailto:departament_medical_prophylaxis@amu.edu.az)

**Xülasə.** Məqalədə bağırsağ mikrobiotasının insan orqanizmi üçün əhəmiyyəti və *Helicobacter pylori* (HPET) sonradan baş verən dəyişikliklər araşdırılır. Bağırsağ mikrobiotası immun sistemin formalaşması, aminturşu və vitamin sintezi, həzmi stimullaşdırmaq, patogen mikroorqanizmlərə qarşı kolonizasiya rezistentliyi və s. yaratmaqla insan sağlamlığı üçün zəruri olan bir çox fizioloji proseslərdə iştirak edir. Mikrobiomanın tərkibi metagenomik analiz üsulları – hədəflənmiş metagenomika (16s rRNT, 18s rRNT, ITS təyin olunur), ov tufəngi metagenomikası, YNS və s. ilə öyrənilmədən sonra bu nəticəyə gəlinmişdir ki, HPET-dən sonra antibiotiklərin təsirindən bağırsağ mikrobiotasının tərkibində obliqat anaerobların (*actinobacteria*, *bacteroides*, *akkermansia muciniphila*, *faecalibacterium prausnitzii* və s.) sayının azalması və fakültativ aerob mikroorqanizmlərin artımında dəyişikliklər yaranır və disbioz baş verir. HP-nin rəşional eradikasiya müalicəsi, alternativ fitopreparatlar, faq və ya probiotiklərlə aparılarsa, disbioz problemi vaxtında müəyyən edilərək aradan qaldırıla bilər.

Aparılmış araşdırmada HP infeksiyalarının antibiotik müalicəsindən bağırsağ mikroflorasının tərkibində bakteriyaların nisbi miqdarı sekvenirləşmə üsulu ilə əldə edilən məlumatlar əsasında müəyyən edilmişdir. *Bifidobacterium*, *lactobacillus*, *escherichia* və *clostridium* cinslərinin nümayəndələrinə təsirinə müəyyən etmək üçün klinik materialın metagenomik analizindən istifadə edilmişdir. Məlum olmuşdur ki, bağırsağın mikrob tərkibi *lactobacillus*, *escherichia* və *clostridium* cinsinə aid olan bakteriyaların müalicədən sonra müvafiq olaraq xəstələrin 76,5%, 51,3% və 55,2%-də, yəni cəmi 0,5% dəyişiklik baş vermişdir. *Bifidobacterium* miqdarı xəstələrin 60,5%-də əhəmiyyətli dərəcədə azalmışdır. HPET bağırsağ mikroflorasında “açar” bakteriyalar olan əsas nümayəndələrinin sayına çoxistiqamətli təsir göstərir, bu baxımından müalicənin nəticələrinin risklərini proqnozlaşdırarkən antibiotiklərin istifadəsi zamanı nəzərə alınmalıdır.

**Açar sözlər:** bağırsağ mikrobiotası, microbioma, *Helicobacter pylori*, eradikasiya müalicəsi, metagenomik analiz

## Giriş

Mikroorqanizmlər insan orqanizminin biokütlesinin əhəmiyyətli hissəsini təşkil edərək, onunla mürəkkəb simbiotik ekosistem yaradır. Bağırsağ mikrobiotasının normal tərkibi və funksiyası immün sistemin formalaşması, stimullaşması (bağırsağın selikli qişasının gücləndirilməsi/ $\beta$ -defensin istehsalı), vitamin sintezi (B1, B2, B6, B12 və K), həzmi dəstəkləmək (həzm olunması çətin olan liflərin və karbohidratları parçalanması), bağırsağın epitel hüceyrələrində enerji mənbəyi kimi qısa zəncirli yağ turşularının (asetat və butirat) sintezi, iltihab əleyhinə və selikli qişalara qoruyucu (butiratlar və s.), detoksifikasiya (ekzogen maddələrin parçalanması və çıxarılması), aminturşu sintezi, patogen mikroorqanizmlərə qarşı kolonizasiya rezistentliyi və s. təsirlərlə insan sağlamlığı üçün zəruri olan bir çox fizioloji proseslərdə iştirak edir. Çox hissəsi bakteriyalar, göbələk, virus və protozoalardan ibarət olan bu populyasiya insan hüceyrələrindən 10 dəfə çox mikrob hüceyrəsinə, insan genomundan 150 qat daha çox genə malikdir. İnsan orqanizmində yaşayan kommensal, simbiotik mikroorqanizmlərin yaratdığı bu ekoloji birliyə “mikrobiota”, bu mühitdə yaşayan “mikrobiota”nın sahib olduğu genetik materiala isə “mikrobioma” deyilir. Mikroorqanizmlərin stabil tərkibi bir yaşından sonra formalaşır. Onun tərkibinə ətraf mühit faktorları, antibiotiklər, pəhriz, genetik, iltihab, gigiyenik aspektlər, həyat tərzi və s. təsir göstərir. Onu da qeyd etmək lazımdır ki, bu gün ənənəvi nəcis analizlərini əvəz edən müasir molekulyar-genetik üsullarla bağırsağ mikrobiotasının tərkibini öyrənmək mümkündür. Bu analizlərlə mikrobiomanın hər bir fərd üçün spesifik və nisbi stabil olması müəyyən edilmişdir. “İnsanın mikrobiom proyeği” (Human Microbiome Project, 2007) sayəsində insanın sağlamlığında çox əhəmiyyətli rolunu oynayan mikrobiota daim hərtərəfli öyrənilməkdədir [1; 2; 3; 4].

Mikrobiotanın taksonomiyası 5 əsas tipdən (phylum) – aktinobakteria (5%), proteobakteria (8%), firmicutes (>250 cins, 40-65%; lactobacillus, mycoplasma, bacillus, clostridium), bacteroides (~20 cins, 25-60%), verrucomicrobia (1%) ibarətdir. Fərdlərdə mikrobiotada rast gəlinən 160 bakteriya növündən 124-ü tədqiq edilmişdir [5].

Helikobakter pilori bakteriyası dünya əhalisinin təxminən yarısında mədədə bakteriya gəzdiriciliyə səbəb olur. Bu bakteriya qastrit, mədə xorası, adenokarsinoma və mədə selikli qişası ilə əlaqəli limfoid toxuma limfomasi (mucosa-associated lymphoid tissue – MALT lymphoma) kimi xəstəliklərə səbəb olur. Dünya miqyasında yayılan patogen olmaqla yanaşı, H. pylori getdikcə daha yüksək antibiotiklərə davamlılıq nümayiş etdirir və bu bakteriyaya qarşı yeni terapevtik strategiyaların işlənilməsi zərurətini yaradır. H. pylori-nin eradikasiya terapiyası (HPET) infeksiyadan dərhal sonra başlansa, mədə selikli qişasının zədələnməsi və yetkinlik dövründə mədə xərçənginin yaranma riski azala bilər. Bunu nəzərə alaraq, bir çox ölkələrdə ilkin profilaktik tədbir kimi gənclər arasında H.pylori-nin skrininginə başlanılmışdır [6, 7].

HPET Maastrixt Konsensusunun protokoluna uyğun olaraq, kompleks bir sxemə əsaslanan amoksisillin 1000 mq, klaritromisin 500 mq, o cümlədən proton pompası inhibitoru və vismut subsalisilatının istifadəsi ilə həyata keçirilir. HPET tərkibində olan antibiotiklər bağırsağ mikrobiotasına təsir göstərərək onun tərkibinin kəmiyyət və keyfiyyətə dəyişməsinə səbəb olur. Bu müalicənin bağırsağ mikrobiotasına təsirini müəyyən etmək üçün faydalı (obliqat, autoxton) və patogen bağırsağ mikroflorasının sayının qiymətləndirilməsi lazımdır [8; 9].

HPET aparılmış xəstələrdə diqqətə layiq bağırsağ mikroflorasının əsas nümayəndələrinin kəmiyyətə miqdarına yönəldilir – bifidobacterium, lactobacillus, escherichia və clostridium – bakteriya cinsləri bağırsağ mikrobiotasının əhəmiyyətli hissəsini təşkil edir. Eyni zamanda faecalibacterium prausnitzii və akkermansia muciniphila kimi anaerob bakteriyalar mikrobiotanın ən böyük populyasiyasını təşkil edən növlərdir, adi üsullarla aşkarlanma bilməsələr də, metabolik funksiyalarına və genomu görə ayırd edilirlər [10;11; 12, 13].

HPET sonra baş vermiş disbiozun diaqnostikası üçün əvvəllər istifadə edilən, klassik üsul bağırsağ tərkibinin (nəcis) kultivasiyası aparılaraq öyrənilirdi. Lakin bağırsaqda yaşayan əksər mikroorqanizmlərin kultivasiyası üçün uyğun şərait yaratmaq mümkün olmadığından (xüsusilə, anaeroblar üçün) bu üsulun geniş istifadəsi mümkün deyil. Hazırda müasir molekulyar genetik

analizlərdən istifadə edərək, bağırsağ mikrobiotasında çoxlu sayda aerob və anaerob bakteriyaları və metabolik əlaqəli qruplarını müəyyən etmək mümkündür [14; 15; 16].

Tədqiqat işində tərəfimizdən *H.pylori*-nin eradikasiya terapiyasından sonra xəstələrdə bağırsağ mikrobiotasının tərkibindəki dəyişikliklər araşdırılmışdır.

### **Material və təhlil metodları**

Bağırsağ mikrobiotasının tərkibini müəyyənləşdirmək üçün xəstələrdən 200 mq çəkiddə nəcis nümunələri toplanılır və müxtəlif üsullarla müayinə edilir. Bu məqsədlə mikroskopik, kultural (aerob/anaerob NextGen kulturası), molekulyar-genetik (ZPR və s.), metabolit zülalların təyini (MS, ELISA), molekulyar texniki (Sanger, NGS) üsullar istifadə olunur. Metagenomik analizlərdən (MA) istifadə edərək, nümunələrdə mikrobiomanın tərkibindəki mikroorqanizmlərinin kultivasiya aparmadan nuklein turşusunu təyin etməklə birbaşa identifikasiyası mümkündür. Bu üsullardan istifadənin səbəblərindən biri mikrobiotada mövcud olan çoxlu sayda anaerob bakteriyalar qrupunun kultivasiya yolu ilə aşkarlanmasının çox zəhmətli və əksər hallarda mümkün olmamasıdır. Mikrobiomanın tərkibi aşağıdakı müasir üsullarla öyrənilir: mikrobiomun profilləşdirilməsi (16S rRNA, 18S rRNA, ITS2, funksional marker genləri), proqnozlaşdırılan funksional profilləşdirmə (16S rRNT gen məlumatlarına əsaslanaraq), ov tütənginin metagenomikası, metatranskriptomika, filogenetik analiz. Nəcisdə yüksək miqdarda DNT izolyasiya inhibitorlarının olması səbəbindən DNT təcrid proseduru üçün adətən, xüsusi ekstraksiya dəsti (QIAmp DNA Stool Mini Kit, QIAgen, GERMANY) istifadə olunur. Mikrobiom məlumatlarının təhlili nümunələrdə metagenomik analizlər, müqayisəli taksonomik və funksional profillər öyrənilərək aparılır. Mikrob metatranskriptomikası – kompleks nümunə daxilində bir qrup mikroorqanizm tərəfindən kodlanan bütün RNT-lərin təhlilidir. Hədəflənmiş metagenomikada müəyyən konservativ (qorunan) bölgələr (16s rRNT, 18s rRNT, ITS (Internal Transcribed Spacer – Daxili transkripsiya aralığı)) zəncirvari polimeraza reaksiyası (ZPR) praymerləri ilə amplifikasiya olunur və ardıcillıq təyin edilir. ~1500 bp uzunluğunda 16S rRNT geni ilə bakteriyaların identifikasiyası hazırda standartlaşdırılmış bir prosedurdur. Tək genin müxtəlifliyinə əsaslanan unimodal filogenetik analizdən fərqli olaraq, 16S rRNT geni, metagenomik analizi mikrob populyasiyasının multimodal genetik tərkibini sistemləşdirir və beləliklə, daha düzgün taksonomik təyin və genomik məlumat verir. Metagenomika mikrob populyasiyasının tərkibinin təkamül profillərini yaratmaqla yanaşı, funksiyaları filogenetika ilə əlaqələndirməyə kömək edir. 16S rRNT ardıcillığı verilmiş nümunədə mövcud olan bakteriyaları müəyyən və müqayisə etmək üçün istifadə olunur [17; 18; 19].

Mikrobiotanın test panelinə aşağıdakılar daxildir – Enterotiplər: (Bacteroides, Prevotella, Ruminococcus, Lachnospiracea); Mucin-/Butirat əmələ gətirən: (Akkermansiya, Faecalibacterium); Mucin-/Butirat-/H2S- əmələ gətirən: (Akkermansiya, Faecalibacterium, SRB (sulfat azaldan bakteriyalar)); Firmicutes-Bacteroidetes-Ratio (piylənmə, qıcıqlanan bağırsağ): Bacterioides, Bifidobacterium, Eubacterium; həzm pozğunluğu (mədə pozğunluğu): pankreatik elastaza, öd turşusu.

Klinik nümunələrdəki bakteriya genomları molekulyar-genetik texniki üsulu olan DNT sekvenirləşmə ilə aşkar edilir. Proses zamanı, xüsusilə bakteriyalardan gələn siqnallar qeydə alınır. Nümunədə neçə fərqli bakteriya genomunun olduğu 16S rRNT ardıcillığı zəncirvari polimeraza reaksiyası (ZPR) ilə çoxaldılaraq təyin edilir. Bu üsullarla mikrobiomdakı spesifik genlər aşkarlanaraq funksional məlumatlar verilir və bakterial bioçeşidlilik təhlil olunur [19].

Sekvenirləşmə (ardıcillıq) üsullarından olan ov tütəngi (Shotgun) metagenomikası qeyri-diskriminantdır, mikroorqanizmlərin növ səviyyəsinə qədər kəmiyyətini, hətta taksonomiyasını müəyyən edir. İstənilən mikroorqanizm olan nümunə kompleksində bütün genlərin DNT ardıcillığını təyin etməyə imkan verir. Mikrobiomun metagenomik ov tütəngi ardıcillığı nəticəsində bakteriyaların 16S rRNT bölgəsi üçün spesifik praymerlər hədəf bölgənin amplifikasiyası məqsədilə istifadə edilir. Uzun nukleotidin oxunması ilə daha dəqiq nəticələr əldə olunur. Massive Bioinformatics Illumina sistemlərindən istifadə edilərək, standartlaşdırılmış metagenomik analizlər, həmçinin Oxford Nanopore texnologiyası ilə sintez olunan uzun ampikonlarla analizlər yerinə yetirilir [20].

Yeni nəsilləşmə (YNS (Next-generation sequencing – NGS)) genetik texnologiyası ilə bir nümunədən götürülən milyonlarla hissəyə ayrılmış DNT molekulunun hər bir hissəsinin eyni vaxtda paralel oxunmasına əsaslanır. Mikrobiomun tərkibinin öyrənilməsində uğurla tətbiq olunur. Hüceyrədəki DNT, RNT, mikro-RNT kimi molekullar haqqında böyük həcmdə məlumatların az xərclə, tez və paralel şəkildə əldə olunmasını təmin edir. Son zamanlar müasir YNS – metagenomik ov tufəngi ardıcılığı üsulu yavaş-yavaş klassik Sanger ardıcılığını əvəz etmişdir. Həm 454/Roche, həm də Illumina/Solexa sistemləri çoxçeşidli mühitlərdə metagenomik nümunələrin təhlili üçün geniş şəkildə istifadə olunur [21; 22; 23].

ZPR üsulundan bakteriyaların kəmiyyətə fərdi fərqlərini müəyyən etmək və klassik kultivasiya üsullarını dəstəkləmək üçün istifadə olunur. Xüsusi praymerlər vasitəsilə nuklein turşusu (spesifik hədəf) amplifikasiya olunaraq fərdlərin bağırsağ mikrobiotasında olan mikroorqanizmlərin növ və miqdarı təyin edilir. Nümunə toplanması, MutaCLEAN® Mag RNT/DNT köməyi ilə nukleotidlərin ekstraksiyası, (Real time PCR: MutaPLEX®) spesifik mikrobiomun amplifikasiyası (xüsusi Ct-dəyərləri bakteriya növləri) KƏV-nin hesablanması, növlərin nisbətini müəyyən edilməsi (standart əyri ilə ölçülməsi, xüsusi nömrələri ilə ifadə edilməsi = KƏV) Xüsusi Diaqnostika Xidməti (Special Diagnostic Service – SDS) standartlarına uyğun aparılır [19].

İntestinal mikrobiomun təhlili nəticəsində insanın bağırsağ florasında yerləşən 3 əsas enterotip müəyyən edilmişdir. Enterotiplər qidalanma vərdişlərindən asılı olaraq fərqlənir, əsasən, Bacteriodes (enterotip 1), Prevotella (enterotip 2), və Ruminococcus (enterotip 3) növlərindən ibarətdir. Tipik metabolik xüsusiyyətlərə görə enterotipin hansı bakterial qrupa aid olduğunu təyin etmək mümkündür.

### **Tədqiqatın təhlili**

Beləliklə, standart məlumatlara istinad edərək, mikroorqanizmləri müəyyən etmək və terapevtik tədbirlər üçün fərdi tövsiyələr vermək mümkündür. Mikrobiom analizində Actinobacteria, Bacteroides, Firmicutes, Akkermansia muciniphila və nadir hallarda Fusobacterium filumunun tərkibi nəzərə alınır. Tipik klinik nümunələr bu taksonomik təsnifata uyğun olaraq, müəyyən edilir. Məsələn, Firmicutes/Bacteroidetes nisbətini artırması və ya Proteobacterium-un üstünlüyü müxtəlif klinik fərqlər yaradır. Bağırsağ mikrobiomu tədqiqatında “yaşlı bakteriyalar” diqqət mərkəzindədir. Sağlam bağırsağ üçün vacib bakteriyalardan biri olan Akkermansia muciniphila – Qram-mənfidir, anaerob, çöpşəkili olub bağırsağ endotelində musini deqradasiya edərək, selikli qişadakı musin təbəqəsini yeniləyir və s. Bağırsağın digər normal mikrobiota nümayəndəsi faecalibacterium prausnitzii – Qram-müsbətdir, nəcisin 1% KBE = Bacteroides + Eubacteriumdan sonra üçüncü ən çox rast gəlinən bağırsağ bakteriyasıdır. Butirat sintez edir, iltihab əleyhinə (NF-kB-aktivasiya + IL-8 sintezini blokada etməklə) təsir göstərir [5; 24].

### **Nəticə**

HPET tərkibinə amoksisillinin daxil olduqda xəstə qrupunun bağırsağ mikroflorasında Enterococcus spp., Enterobacteriaceae spp. və Peptostreptococcus spp.-nin kəmiyyətə artması, həmçinin Enterobacteriaceae fəsiləsinin rezistent şammlarının da çoxalması müşahidə edilmişdir. Anaerob mikrobiotadan Bifidobacterium spp., Clostridium spp. əhəmiyyətli dərəcədə azalır. Bəzi xəstələrdə maya göbələkləri (əsasən Candida albicans) aşkar edilir. Bəzi hallarda müalicədən 4 həftə sonra mikrobiotanın tərkibi bərpa olunur. Klaritromisin qəbul edən xəstələrdə Bifidobacterium spp., Clostridium spp., Bacteroides spp.-də azalma, Enterococcus spp.-nin miqdarında isə artma baş vermişdir. Amoksisillin və klaritromisinin Enterococcus spp. və Enterobacteriaceae spp.-yə qarşı minimum inhibisiya konsentrasiyası (MİK) nəcis nümunələrində əhəmiyyətli dərəcədə artmışdır. Bacteroides spp.-yə qarşı klaritromisinin MİK əhəmiyyətli dərəcədə artmış, amoksisillin üçün əhəmiyyətli dəyişikliklər müşahidə edilməmişdir. Bacteroides spp.-nin klaritromisinə davamlı şammlarının tərkibində antibiotik terapiyası fonunda 2%-dən 76%-ə qədər artma müəyyən edilmiş, müalicədən 4 həftə sonra onların nisbəti 59% təşkil etmişdir. Müəlliflər belə qənaətə gəlirlər ki, H.pylori-

nin eradikasiya sxemlərinin bir hissəsi kimi antibakterial preparatların istifadəsi bütün mədə-bağırsaq traktının mikroflorasının tərkibinin dəyişməsinə gətirib çıxarır və disbiozla nəticələnir [25; 26; 27;28].

Həmçinin antibakterial müalicə aparıldıqda patogen bakteriyalar və onlarla yanaşı, normal mikroflora nümayəndələri arasında rezistentlik genləri yayılır. Məlum olduğu kimi, bakteriyalarda rezistentlik mutasiya və ya horizontal ötürülmə ilə qazanılır. Nəticədə bağırsaq mikroflorası rezistentlik genlərinin potensial rezervuarı olur. HPET tərkibində uzunmüddətli antibiotik müalicəsinin aparılması antibiotiklərə davamlı bakteriya ştammlarının seleksiyası ilə nəticələnir. HPET preparatları, antibiotiklər və proton pompası inhibitorları mədə-bağırsaq traktının mikrobiotasında uzunmüddətli disbiotik dəyişikliklərə səbəb olur. Qarşısını almaq üçün probiotiklərin, prebiotiklərin və mikrob metabolitlərinin (məsələn, butirat +) müalicə sxeminə daxil edilməsi eradikasiyanın mənfi təsirlərini azaldır [27]. Bundan əlavə, antibiotik istifadəsi məhdudlaşdırılmalıdır və alternativ eradikasiya vasitələri (məs., bakteriofaq) [30], autoprobiotiklər [29], fitopreparatlar daxil olmaqla təbii agentlər, üsullar inkişaf etdirilməli və tədqiq olunmalıdır. Qeyd etmək lazımdır ki, H. pylori-nin litik faqlarının müəyyən edilməsi, onun aradan qaldırılması üçün alternativ yanaşma kimi faq terapiyasını nəzərdən keçirməyə imkan verir [30].

HPET zamanı bağırsaq mikrobiotasının tərkibinin öyrənilməsi, məsləhət və müalicə yanaşmaları fərdi şəkildə həyata keçirilir. Nəticə olaraq qeyd etmək lazımdır ki, H. pylori-nin rəşional eradikasiyası aparılırsa, probiotiklər, faq və fitopreparatların istifadəsi ilə bağırsaq mikrobiotasının disbiozunun qarşısını almaq mümkündür.

### İstifadə edilmiş ədəbiyyat siyahısı

1. The Human Microbiome Project Consortium. A framework for human microbiome research // – London: Nature. – 2012. № 486(7402). – p.215-221: [Electronic resource] / URL: <http://dx.doi.org/10.1038/nature11209>
2. Willem, M de Vos, Herbert, T, Matthias, Van Hul, Patrice, D Cani. Gut microbiome and health: mechanistic insights //– London. – Nature. – 2022. №71(5) – p.1020-1032. PMID: 35105664 PMCID: PMC8995832 DOI: 10.1136/gutjnl-2021-326789.
3. Turnbaugh, P.J. The Human Microbiome Project / P.J.Turnbaugh, R.E.Ley, M.Hamady, C.M.Fraser-Liggett, R.Knight, J.I.Gordon // – London: Nature – 2007 №449. – p. 804-810.
4. Jane Peterson, Susan Garges, Maria Giovanni, Pamela McInnes, Lu Wang, Jeffery A. Schloss, Vivien Bonazzi. The NIH HMP Working Group et al: The NIH Human Microbiome Project. In: Genome Res. 19, Published in Advance October 9, – 2009, – p.2317-2323, DOI:10.1101/gr.096651.109
5. Wu, G.D. Linking Long-Term Dietary Patterns with Gut Microbial Enterotypes / G.D.Wu, J.Chen, C.Hoffmann, K.Bittinger, Y.Y.Chen, S.A.Keilbaugh, M.Bewtra, D.Knights, W.A.Walters, R.Knight // – United States: Science. – 2011; №334. – p.105-108. DOI: 10.1126/science.1208344.
6. Cuomo, P., An Innovative Approach to Control H.pylori-Induced Persistent Inflammation and Colonization. Microorganisms / P. Cuomo, M.Papaianni, A.Fulgione, F.Guerra, R.Capparelli, C.Medaglia // – PubMed. – 2020. №10; 8(8). DOI: 10.3390/microorganisms8081214.
7. Guo, Y, Cao, X-S, Guo, G-Y, Zhou, M-G, Yu B (2022) Effect of Helicobacter Pylori Eradication on Human Gastric Microbiota: A Systematic Review and Meta-Analysis. Front. Cell. Infect. Microbiol. 12:899248. DOI: 10.3389/fcimb.2022.899248. Meta-Analysis PMID: 35601105 PMCID: PMC9114356
8. Zagari, R.M, Romano, M., Ojetti, V., Stockbrugger, R., Gullini, S., Annibale, B., Farinati, F., Ierardi E, Maconi G, Rugge M, Calabrese C, Di Mario F. Guidelines for the management of Helicobacter pylori infection in Italy: The III Working Group Consensus Report 2015. Dig Liver Dis. – 2015 Nov;47(11):903-12. DOI: 10.1016/j.dld.2015.06.010. Epub 2015 Jul 6. PMID: 26253555
9. Malfertheiner P, Management of Helicobacter pylori infection-the Maastricht V / P.Malfertheiner, F.Megraud, C.A. O’Morain et al. // Gut.: BMJ journal – 2017. №66(1). – p. 6-30.
10. Luyi, Ch., Wenli, X., Allen, L., Jiamin, H. The impact of Helicobacter pylori infection, eradication therapy and probiotic supplementation on gut microenvironment homeostasis: An open-

label, randomized clinical trial –LondonEBioMedicine – 2018. №35. – p. 87-96. DOI: 10.1016/j.ebiom.2018.08.028. Epub 2018

11. Y.Guo, C.Xue-Shan, Yi Guo G., G.Z. Meng Y.Bo Effect of Helicobacter Pylori Eradication on Human Gastric Microbiota: A Systematic Review and Meta-Analysis./ – USA: Front Cell Infect Microbiology. American Society for Microbiology. – 2022 May 4:12:899248. DOI: 10.3389/fcimb.

12. Mao, L. Q., Zhou, Y. L., Wang, S. S., Chen, L., Hu, Y., Yu, L. M., et al. (2021). Impact of Helicobacter Pylori Eradication on the Gastric Microbiome. Gut pathogens 13 Article number: 60 (2021).

13. Bull, M.J., Plummer, N.T. Part 1: The Human Gut Microbiome in Health and Disease // Integrative Medicine: A Clinician's Journal, – 2014. №13(6). – p. 17-22.

14. Leonard, M.M. et all. Microbiome signatures of progression toward celiac disease onset in at-risk children in a longitudinal prospective cohort study / – USA: Proc Natl Acad Sci – 202. – 118 s.

15. Sandi, Y.J. Johnson, S. Metagenomics: a path to understanding the gut microbiome. – Germany. ISSN: 1432-1777, 0938-8990 (Print) – 2021; № 32(4). – p.2 82–296. DOI: 10.1007/s00335-021-09889-x

16. Almeida, A. A unified catalog of 204,938 reference genomes from the human gut microbiome. // – London: Nature Biotechnol – 2020. 39(1). – p. 105-114

17. Franzosa, EA. Species-level functional profiling of metagenomes and metatranscriptomes // – New York: Nature Methods. – 2018; №15. – p. 962–968. DOI: 10.1038/s41592-018-0176-y. Corpus ID: 53115339

18. Fox, G.E. Classification of methanogenic bacteria by 16S ribosomal RNA characterization. / G.E. Fox, L.J. Magrum, W.E.Balch, R.S.Wolfe, C.R. Woese // – USA: Proc. Nat. Acad. Sci. – 1977. №74. – p.4537–4541.

19. Shailesh, K.S., Z.Kasra, V.G. Natalya, K.M.Ashutosh. Microbiota Analysis Using Two-step PCR and Next-generation 16S rRNA Gene Sequencing. // – USA: PubMed. JVis Exp –2019 Oct. 15(152). DOI: 10.3791/59980.

20. Francesco Durazzi, Claudia Sala, Gastone Castellani, Gerardo Manfreda, Daniel Remondini & Alessandra De Cesare Comparison between 16S rRNA and shotgun sequencing data for the taxonomic characterization of the gut microbiota. Scientific Reports volume 11, Article number: 3030 (2021) C

21. Goig GA, Blanco S, Garcia-Basteiro AL, Comas I. Contaminant DNA in bacterial sequencing experiments is a major source of false genetic variability. BMC Biol. 2020; 18:24.

22. Gu W, et al. Rapid pathogen detection by metagenomic next-generation sequencing of infected body fluids. – Nature Med.– 2021. №2. – p.115-124.

23. Levy SE, Myers, RM. Advancements in next-generation sequencing // Annu Rev Genom Hum Genet. – 2016. №17. – p.95-115.

24. Manimozhiyan Arumugam, Jeroen Raes, Eric Pelletier, Denis Le Paslier, Takuji Yamada, Daniel R. Mende, Gabriel R. Fernandes, Julien Tap, Thomas Bruls et all. Enterotypes of the human gut microbiome Nature. 2011 May 12; 473(7346): – p.174-180.

25. Ye, Q., Shao, X., Shen, R., Chen, D., Shen, J. (2020). Changes in the Human Gut Microbiota Composition Caused by Helicobacter Pylori Eradication Therapy: A Systematic Review and Meta-Analysis. Helicobacter 25 (4), e12713. DOI: 10.1111/hel.12713

26. Schulz, C., Schutte, K., Koch, N., Vilchez-Vargas, R., Wos-Oxley, M. L., Oxley, A. P. A., et al. (2018). The Active Bacterial Assemblages of the Upper GI Tract in Individuals With and Without Helicobacter Infection. Gut 67 (2), 216–225. DOI: 10.1136/gutjnl-2016-312904

27. Yuan, Z., Xiao, S., Li, S., Suo, B., Wang, Y., Meng, L., et al. (2021). The Impact of Helicobacter Pylori Infection, Eradication Therapy, and Probiotics Intervention on Gastric Microbiota in Young Adults. Helicobacter 26 (6), e12848. DOI: 10.1111/hel.12848

28. Butorova, L.I., Ardatskaya, M.D., Osadchuk, M.A., Kadnikova, N.G., Lukianova, E.I., Plavnik, R.G., Sayutina, E.V., Topchiy, T.B., Tuayeva, E.M. [Comparison of clinical-metabolic efficacy

of pre- and probiotics in the conducted optimized protocols of eradication therapy of *Helicobacter pylori* infection] Ter Arkh. – 2020. № 92– p.64–69.

29. Suvorov, A., Karaseva, A., Kotyleva, M., Kondratenko, Y., Lavrenova, N., Korobeynikov, A., Kozyrev, P., Kramskaya, T., Leontieva, G., Kudryavtsev, I., Guo, D., Lapidus, A., Ermolenko, E. Autoprobiotics as an Approach for Restoration of Personalised Microbiota. – Front Microbiol – 2018.9:1869.

30. Angela B. Muñoz, Johanna Stepanian, Alba Alicia Trespacios, and Filipa F. Vale. Bacteriophages of *Helicobacter pylori* Published online – 2020 Nov 12. – 2020. – 11 p.

#### **Аннотация**

#### **Значение кишечной микробиоты и методы их современной диагностики**

**Хафиза Мансурова, Саида Гаджиева, Гюлер Сеидова, Эмма Агаева,  
Егана Бахышова, Шахин Сулейманов**

В статье рассмотрено значение микробиоты кишечника для организма человека и изменения, происходящие в ней после эрадикационной терапии *Helicobacter pylori* (ГПЭТ). Кишечная микробиота участвует в формировании иммунной системы, синтезе аминокислот и витаминов, стимуляции пищеварения, колонизационной устойчивости к патогенным микроорганизмам и др. Она участвует во многих физиологических процессах, необходимых для здоровья человека. Изучив состав микробиома с помощью методов метагеномного анализа - таргетной метагеномики (16s рРНК, 18s рРНК, ITS), метагеномики дробовика, YNS и других, был сделан вывод, что облигатные анаэробы (*Actinobacteria*, *Bacteroides*, *Akkermansia muciniphila*, *Faecalibacterium prausnitzii* и др.) возникает уменьшение численности и изменение роста факультативных аэробных микроорганизмов и дисбактериоз. Если провести рациональное эрадикационное лечение НР альтернативными фитопрепаратами, фагом или пробиотиками, проблему дисбактериоза можно своевременно выявить и устранить.

В проведенных исследованиях на основании данных, полученных методом секвенирования, определяли относительное количество бактерий в микрофлоре кишечника при лечении антибиотиками НР-инфекций. Метагеномный анализ клинического материала был использован для определения влияния на представителей родов бифидобактерий, лактобактерий, эшерихий и клостридий. Установлено, что после лечения бактериями рода лактобацилл, эшерихий и клостридий микробный состав кишечника изменился у 76,5%, 51,3% и 55,2% больных, т.е. всего у 0,5%. Содержание бифидобактерий было достоверно снижено у 60,5% больных. ГПЭТ оказывает разнонаправленное влияние на количество ключевых представителей микрофлоры кишечника, что следует учитывать при применении антибиотиков при прогнозировании рисков исходов лечения.

**Ключевые слова:** микробиота кишечника, микробиом, *Helicobacter pylori*, эрадикационная терапия, метагеномный анализ.

#### **Abstract**

#### **Importance of intestinal microbiota and modern diagnostic methods**

**Hafiza Mansurova, Saida Hajiyeva, Gular Seyidova, Emma Aghayeva,  
Yegana Bakhishova, Shahin Suleymanov**

The article examines the importance of intestinal microbiota for the human body and the changes that occur in it after *Helicobacter pylori* eradication therapy (HPET). Intestinal microbiota is involved in the formation of the immune system, synthesis of amino acids and vitamins, stimulation of digestion, colonization resistance against pathogenic microorganisms, etc. It participates in many physiological processes necessary for human health. After studying the composition of the microbiome using metagenomic analysis methods - targeted metagenomics (16s rRNA, 18s rRNA, ITS), shotgun metagenomics, YNS, and others, it was concluded that obligate anaerobes (*actinobacteria*, *bacteroides*)

in the gut microbiota after HPET were affected by antibiotics, akkermansia muciniphila, faecalibacterium prausnitzii and others) decrease in number and changes in the growth of facultative aerobic microorganisms and dysbiosis occurs. If the rational eradication treatment of HP is carried out with alternative phytopreparations, phage or probiotics, the problem of dysbiosis can be identified and eliminated in time.

In the conducted research, the relative number of bacteria in the intestinal microflora from the antibiotic treatment of HP infections was determined based on the data obtained by the sequencing method. Metagenomic analysis of clinical material was used to determine the effect on representatives of the genera bifidobacterium, lactobacillus, escherichia and clostridium. It was found that after the treatment of bacteria belonging to the genus lactobacillus, escherichia and clostridium, the microbial composition of the intestine changed in 76.5%, 51.3% and 55.2% of patients, i.e. only 0.5%. Bifidobacterium content was significantly reduced in 60.5% of patients. HPET has a multidirectional effect on the number of key representatives of intestinal microflora, which should be taken into account when using antibiotics while predicting the risks of treatment outcomes.

**Keywords:** intestinal microbiota, microbiome, helicobacter pylori, eradication treatment, metagenomic analysis

*Məqalə redaksiyaya daxil olmuşdur: 20.12.2023*

*Təkrar işlənməyə göndərilmişdir: 15.01.2024*

*Çapa qəbul edilmişdir: 19.02.2024*