

Червинец В. М.<sup>1</sup>, Миронов А. Ю.<sup>2</sup>, Червинец Ю. В.<sup>1</sup>, Базлов С.Н.<sup>1</sup>

## СОСТОЯНИЕ И ЗНАЧЕНИЕ МИКРОБИОЦЕНОЗОВ ПИЩЕВОДА, ЖЕЛУДКА, ДВЕНАДЦАТИПЕРСТНОЙ КИШКИ ПРИ ЯЗВЕННОЙ БОЛЕЗНИ, ХРОНИЧЕСКОМ ГАСТРИТЕ, ЭЗОФАГИТЕ

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО Тверской государственный медицинский университет Минздрава РФ, 170100, Тверь, Россия;

<sup>2</sup>ФБУН Московский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Г. Н. Габричевского Роспотребнадзора, 125212, Москва, Россия

Исследована микрофлора 64 биоптатов, взятых при фиброгастроуденоскопии слизистой оболочки (СО) пищевода, желудка, двенадцатиперстной кишки (ДПК) у здоровых добровольцев и 1120 образцов, полученных из этих же отделов пищеварительного тракта у больных с эзофагитом, хроническим гастритом, язвенной болезнью. Возраст пациентов от 18 до 62 лет. Микроорганизмы выделяли и идентифицировали культуральным методом. Из биоптатов здоровых респондентов высеяны *Staphylococcus* spp., *Streptococcus* spp., *Lactobacillus* spp., *Bacteroides* spp., *Stomatococcus* spp., *Corynebacterium* spp., *Micrococcus* spp., *Neisseria* spp., *Veilonella* spp., *Enterobacteriaceae* в количестве от 3,2 до 4,68 lg КОЕ/г. *H. pylori* выделялся в пищеводе в 60% (5,66 lg КОЕ/г), из фундального отдела желудка в 33,3% случаев (5,12 lg КОЕ/г), из антрального отдела – в 44,4% (5,25 lg КОЕ/г), из СО ДПК – в 5,5% (4,2 lg КОЕ/г). В образцах, полученных из воспаленной и эрозированной СО пищевода, желудка, ДПК выявлялись условно-патогенные микроорганизмы (УПМ) родов *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Proteus*, *Pseudomonas*, *Peptococcus*, *Actinomyces*, грибы рода *Candida* и др. в количестве, превышающим 4 lg КОЕ/г. *H. pylori* изолирован у 6,3-16,7% больных (4,25-4,6 lg КОЕ/г), не доминировал по отношению к другим микроорганизмам, в большинстве случаев имел низкую частоту встречаемости. При рецидиве язвенной болезни, обострении хронического гастрита и эзофагита развивается дисбиоз, характеризующийся увеличением видового и количественного состава УПМ, усилением их ферментативной и цитотоксической активности, что может способствовать поддержанию воспалительно-некротических процессов и тормозить ликвидацию патологического процесса.

Ключевые слова: *Helicobacter pylori*; дисбактериоз; мукозная микрофлора; эзофагогастроуденальная зона.

Для цитирования: Червинец В. М., Миронов А. Ю., Червинец Ю. В., Базлов С.Н. Состояние и значение микробиоты пищевода, желудка, двенадцатиперстной кишки при язвенной болезни, хроническом гастрите, эзофагите. Клиническая лабораторная диагностика. 2020; 65 (1): 42-49

DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0869-2084-2020-65-1-42-49>

Chervinets V.M.<sup>1</sup>, Mironov A.Yu.<sup>2</sup>, Chervinets Yu.V.<sup>1</sup>, Bazlov S.N.<sup>1</sup>

### THE STATE AND ROLE OF ESOPHAGUS, STOMACH, INTESTINAL MICROBIOTA IN PATIENTS WITH ULCER DISEASE, CHRONIC GASTRITIS, ESOPHAGITIS

<sup>1</sup>Tver State Medical University, 170100, Tver, Russia;

<sup>2</sup>G.N. Gabrichevskogo Moscow Research Institute for Epidemiology and Microbiology, 125212, Moscow, Russia

The microflora of 64 biopsies taken during fibrogastroduodenoscopy of the mucous membrane of the esophagus, stomach and duodenum in healthy volunteers and 1120 samples obtained from the same parts of the digestive tract in patients with esophagitis, chronic gastritis and peptic ulcer disease were studied. The patients ranged in age from 18 to 62 years. Traditional bacteriological method was used to isolate and identify microorganisms. *Staphylococcus* spp., *Streptococcus* spp., *Lactobacillus* spp., *Bacteroides* spp., *Stomatococcus* spp., *Enterobacteriaceae*, *Corynebacterium* spp., *Micrococcus* spp., *Neisseria* spp., *Veilonella* spp. were isolated from biopsies of healthy respondents in an average amount from 3.2 to 4.68 lg CFU/g. *H. pylori* was found in 60% (5.66 lg CFU/g) in the esophagus, in 33.3% of cases (5.12 lg CFU/g) from the fundal part of the stomach, in 44.4% (5.25 lg CFU/g) from the antral part of the stomach, in 5.5% (4.2 lg CFU/g) in the duodenal mucosa. In samples obtained from the inflamed and eroded mucous membrane of the esophagus, stomach and duodenum, opportunistic bacteria of the genera *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Proteus*, *Pseudomonas*, *Peptococcus*, *Actinomyces*, yeast fungi of the genus *Candida* etc. were detected in an amount exceeding 4 lg CFU/g. *H. pylori* isolated in 6.3-16.7% of patients (4.25-4.6 lg CFU/g) and did not dominate in relation to other microorganisms, and in most cases had a low frequency of its occurrence. In patients with the recurrence of peptic ulcer disease, exacerbation of chronic gastritis and esophagitis, dysbiosis was developed, characterized by an increase in the species and quantitative composition of opportunistic microflora, an increase in its enzymatic and cytotoxic activity, which can contribute to the maintenance of inflammatory and necrotic processes and inhibit the elimination of the pathological process.

Key words: *Helicobacter pylori*; dysbacteriosis; mucosal microflora; esophagogastrroduodenal zone.

For citation: Chervinets V. M., Mironov A. Yu., Chervinets Yu. V., Bazlov S.N. The state and role of esophagus, stomach, intestinal microbiota in patients with ulcer disease, chronic gastritis, esophagitis. *Klinicheskaya laboratornaya diagnostika* (Russian Clinical Laboratory Diagnostics) 2019; 65 (1): 42-49 (in Russ.) DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0869-2084-2020-65-1-42-49>

For correspondence: Chervinets V. M., Doctor of Medical Sciences, professor, head of the department of microbiology and virology with course of immunology; e-mail: [chervinets@mail.ru](mailto:chervinets@mail.ru)

**Information about authors:**

Chervinets V. M., <https://orcid.org/0000-0001-6549-0010>

Mironov A. Yu., <https://orcid.org/0000-0003-4148-0752>

Chervinets Yu. V., <https://orcid.org/0000-0001-9209-7839>

**Conflict of interest.** *The authors declare no conflict of interest.*

**Acknowledgment.** *The study had no sponsorship.*

Received 09.12.2019

Accepted 24.12.2019

**Введение.** Большинство исследователей рассматривают *Helicobacter pylori* (Hр) в качестве этиологического фактора хронического гастрита (ХГ), язвенной болезни желудка (ЯБЖ) и 12-перстной кишки (ЯБДПК) [1-7]. Об этом свидетельствует снижение случаев рецидивов язв на 5-10% при проведении антихеликобактериальной терапии [8]. У жителей России Hр обнаруживают у 65-92% здоровых лиц в зависимости от региона [9]. Hр встречается у больных с различной локализацией язвы, реже при язве ДПК. У больных данной патологией встречаются в большом разнообразии и другие микроорганизмы: *Prevotella*, *Neisseria*, *Streptococcus*, *Pseudomonas*, подтверждено преобладание их и при ХГ [10, 11, 12]. Патогенность Hр реализуется не всегда, заболевания ЖКТ развиваются при сочетании генетических, аутоиммунных и др. факторов [13]. Рано утверждать о приобретении Hр статуса УПМ, но при колонизации биотопов желудка Hр приобрёл белки Hрn и Hрn-2, позволяющие приспособиться к агрессивной среде желудка, что, возможно, свидетельствует о перераспределении симбиотических отношений с организмом [14]. Hр повышает местный противовоспалительный иммунитет за счёт нейтрофильной инфильтрации слизистой оболочки (СО) желудка [15]. Патогенность Hр реализуется за счёт регуляции экспрессии генов патогенности, в той степени, в какой это диктуется реакцией организма. Патогенное действие Hр на СО желудка и ДПК возможно только у определённой части популяции, характеризующейся недостаточностью защитных механизмов, в первую очередь иммунных [16].

Мукозная микрофлора эзофагогастроуденальной зоны и её роль при эзофагите, ХГ, ЯБЖ, ЯБДПК изучена недостаточно. Не выяснены взаимоотношения Hр с микроорганизмами гастроуденальной зоны, роль микробных ассоциаций в патогенезе воспалительно-язвенных поражений СО пищевода, желудка, ДПК. Микрофлора интактной СО пищевода, желудка, ДПК мало изучена в видовом и количественном отношении. Немногочисленны и противоречивы данные о причастности Hр и другой мукозной микрофлоры к рецидивам воспалительно-эрозивно-язвенных поражений пищевода. Отсутствуют данные о признаках, ассоциируемых с вирулентностью УПМ, вегетирующих в очаге воспаления. Мало разработан вопрос об антимикробной терапии воспалительно-язвенных заболеваний пищевода и гастроуденальной зоны, коррекции микробиологических нарушений и восстановления иммунного статуса.

Цель исследования – изучить микробный пейзаж СО верхнего отдела ЖКТ у здоровых лиц и пациентов с воспалительно-эрозивно-язвенными поражениями пищевода, желудка, ДПК; определить характер нарушения микробиоценозов и значение выявленных сдвигов в патогенезе данных патологических состояний.

**Материал и методы.** Исследовано 64 биоптата СО пищевода, желудка, ДПК от 28 здоровых добровольцев и 1120 биоптатов, полученных из этих же отделов ЖКТ от 16 больных, страдающих эзофагитом, 24 – ХГ, 203 – язвенной болезнью, лечившихся в ЛПУ г. Твери. Возраст пациентов от 18 до 62 лет.

Из анализа выделены клинические штаммы: *Staphylococcus spp.* – 55, *Streptococcus spp.* – 31, *H. pylori* – 54, *Peptococcus spp.* – 17, *Peptostreptococcus spp.* – 20, *Cripticoccus spp.* – 15, *Gemella spp.* – 8, *Enterococcus spp.* – 10, *Prevotella spp.* – 5, *Corynebacterium spp.* – 15, *Bifidobacterium spp.* – 2, *Bacillus spp.* – 17, *Lactobacillus spp.* – 23, *Micrococcus spp.* – 28, *Aerococcus viridans* – 16, *Pseudomonas spp.* – 81, *Enterobacter spp.* – 13, *Acinetobacter spp.* – 20, *Aeromonas spp.* – 10, *Serratia spp.* – 5, *Hafnia alvei* – 5, *Alcaligenes spp.* – 10, *Citrobacter spp.* – 12, *Yersinia spp.* – 5, *Eubacterium spp.* – 5, *Veillonella spp.* – 7, *E. coli* – 13, *Actinomyces spp.* – 15, *Candida spp.* – 50, *Trichosporon spp.* – 10.

Микробная обсеменённость СО гастроуденальной зоны определялась в биоптатах, взятых при фиброгастроуденоскопии из периульцерозной зоны (ПУЗ), антрального и фундального отдела желудка больных ХГ, ЯБЖ, ЯБДК, из СО нижней трети пищевода больных эзофагитами. Биопсийный материал брали у вновь поступивших больных до начала лечения из ПУЗ, из визуально неизменённого участка ДПК, из антрального и фундального отдела желудка. Выделение и идентификация чистых культур проводилась по общепринятым схемам.

Цитотоксичность микроорганизмов определялась по состоянию монослоя в виде изменения морфологии деструкции, отслоения клеток по модифицированной нами методике. Антагонистическая активность микроорганизмов выявлялась методом агаровых слоёв. При работе с требовательными к факторам роста микроорганизмами использован метод «агаровых блоков» [17].

Антилизотическая активность (АЛА) микроорганизмов определялась по методу отсроченного антагонизма [18]. Лецитиназную, гемолитическую, каталазную, желатиназную, ДНК-ую, РНК-ую, казеинолитическую активности изучали ускоренным методом [19]. Оксидазный тест проводили со стандартными индикаторными дисками Oxidase test (bioMérieux). Продукцию уреазы определяли используя стандартный Urease Test Broth (BBL<sup>®</sup>, USA). Степень адгезии микроорганизмов определяли, пользуясь средним показателем адгезии (СПА) по методу В.И. Брилис (1986) на эритроцитах человека О (I) группы Rh<sup>+</sup> и на культуре клеток Нер 2 [20]. Данные экспериментов обрабатывались прикладной программой «STATISTICA» (StatSoftRussia) с использованием критерия Фишера, различия считали достоверными при  $p < 0,05$ .

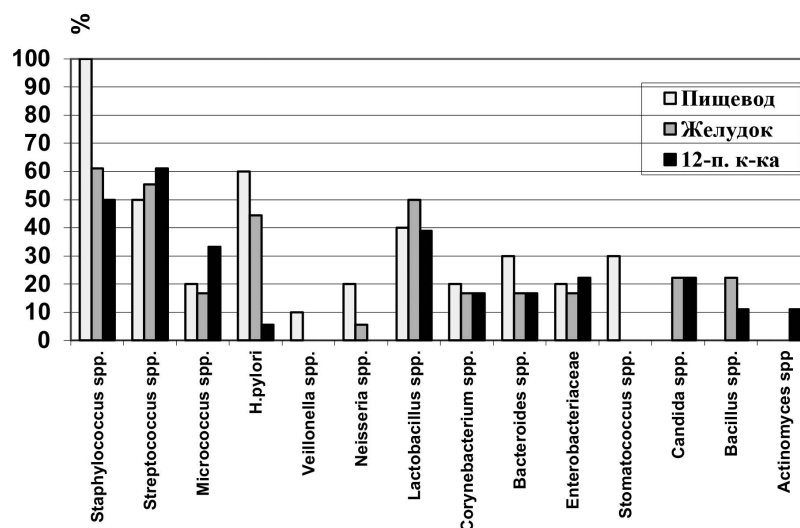


Рис. 1. Спектр и частота встречаемости микроорганизмов СО пищевода, желудка, ДПК здоровых людей,  $p < 0,05$ .

Здесь и на рис. 2-6: по оси абсцисс – наименования микроорганизмов; по оси ординат – распространенность микроорганизмов (%). Столбцы слева направо: первый – пищевод, второй – желудок, третий – двенадцатиперстная кишка.

**Результаты.** Исследованиями, проведенными у 28 практически здоровых добровольцев, установлено, что микрофлора эндоскопически интактной СО эзофагогастро-дуоденальной зоны немногочисленна в видовом и количественном отношении. У 96,4% лиц из биоптатов СО пищевода, фундального, антрального отделов желудка, луковицы ДПК выделены микроорганизмы, включающие представителей 11 родов и порядка *Enterobacteriales* (рис. 1).

Из СО пищевода часто выделяли *Staphylococcus spp.* (в 100% случаев), *Нр* (в 60%), *Streptococcus spp.* (в 50%), *Lactobacillus spp.* (в 40%), реже, в 10-30% – *Bacteroides spp.*, *Stomatococcus spp.*, энтеробактерии, *Corynebacterium spp.*, *Micrococcus spp.*, *Neisseria spp.*, *Veillonella spp.* в среднем количестве от 3,2 до 4,68 lg КОЕ/г, что частично совпадает с данными [21], в отношении доминирования стрептококков, но вторыми и третьими по встречаемости были *Prevotella spp.* и *Veillonella spp.*

Из СО желудка и ДПК высеивали *Staphylococcus spp.* (61,1% случаев), *Streptococcus spp.* (44-55,5%), *Lactobacillus spp.* (44-50%), *Нр* (44-5,5%), *Corynebacterium spp.*, *Bacillus spp.*, *Micrococcus spp.*, порядка *Enterobacteriales*, грибы рода *Candida* (22,2-27,7%), у 5,5-16,7% обследованных – *Bacteroides spp.*, *Actinomyces spp.*, *Neisseria spp.*. Количество микроорганизмов не превышало 4 lg КОЕ/г, и колебалось в пределах 2,77-3,87 lg КОЕ/г.

*Нр* выделяли в антральном и фундальном отделе желудка, ДПК, пищеводе соответственно в 44,4%, 33,3%, 5,5% и 60%. Количество *Нр* составляло 5,12-5,66 lg КОЕ/г в пищеводе, желудке, ДПК. В монокультуре *Нр* не обнаружен.

Из биоптатов СО ПУЗ больных ЯБЖ (рис. 2) высеиваны бактерии 15 родов: *Staphylococcus spp.* у 79,2% больных в среднем количестве 4,9 lg КОЕ/г, *Streptococcus spp.* у 58,3% (5,43 lg КОЕ/г), *Corynebacterium spp.* у 37,5% (3,66 lg КОЕ/г), *Candida spp.* у 33,3% (4,6 lg КОЕ/г), *Bacteroides spp.* у 42,86% (4,77 lg КОЕ/г). У 35,7% больных выделялись *S. aureus* (3,15 lg КОЕ/г), у 29,2% – *Lactobacillus spp.* (4,76 lg КОЕ/г), у 33,3% – *Micrococcus spp.* (2,8 lg

КОЕ/г), у 20,8% – бактерии порядка *Enterobacteriales* (4,5 lg КОЕ/г), *Veillonella spp.* (3,54 lg КОЕ/г). *Нр* выявлен у 16,7% больных (4,25 lg КОЕ/г). *Actinomyces spp.* (3,06 lg КОЕ/г) – у 12,5%. В 4,2% случаев выделены *Neisseria spp.* (4,06 lg КОЕ/г), *Enterobacter spp.* (4,16 lg КОЕ/г), *Bacillus spp.* (3,44 lg КОЕ/г).

В СО ПУЗ больных ЯБЖ появляются *Veillonella spp.*, *Actinomyces spp.*, *Peptococcus spp.*, *Enterobacter spp.*, *Pseudomonas spp.*. Большинство выделенных микроорганизмов проявляли патогенный потенциал (гемолизин, лецитиназа, РНК-аза, протеаза, уреаза и др.), включая цитотоксические свойства.

Из биоптатов СО ПУЗ при рецидиве ЯБДПК выделены представители 28 родов микроорганизмов (рис. 2). В 100-40,6% случаев выделены *Staphylococcus spp.*, *Streptococcus spp.*, энтеробактерии, *Bacteroides spp.*, *Lactobacillus spp.*, *Micrococcus spp.*, грибы рода *Candida*. В 23,6-12,3% случаев, высеивались *Corynebacterium spp.*, *Veillonella spp.*, *Actinomyces spp.*, *Peptococcus spp.*, *Bacillus spp.*, *Pseudomonas spp.*. Менее чем в 8% обнаруживались *Peptostreptococcus spp.*, *Neisseria spp.*, *Prevotella spp.*, *Citrobacter spp.*, *Acinetobacter spp.* и др. *Нр* выделялись у 33% больных в количестве 4,74 lg КОЕ/г. Количественно доминировали (4,42-5,4 lg КОЕ/г) *Нр*, бактерии родов *Streptococcus*, *Peptostreptococcus*, *Bacteroides*, *Prevotella*, *Staphylococcus*, *Lactobacillus*, бактерии порядка *Enterobacteriales*. В меньшем количестве (3,15-4,4 lg КОЕ/г) выявлялись грибы рода *Candida*, бактерии родов *Veillonella*, *Peptococcus*, *Corynebacterium*, *Neisseria*, *Pseudomonas*, *Porphyromonas*, *Actinomyces* и др.

Активация мукозной микрофлоры отмечена не только в ПУЗ, но и в отдаленных от нее участках СО. В отдалении от язвы из видимо неизмененного участка СО микроорганизмы выявлялись существенно чаще, чем у здоровых, хотя в меньшем видовом и количественном составе, чем из ПУЗ (рис. 3). *Staphylococcus spp.* выделены от 41,7% обследованных в количестве 4,8 lg КОЕ/г, *Streptococcus spp.* и *Corynebacterium spp.* – 20,8% (5,7 и 4,18 lg КОЕ/г соответственно), *Bacteroides spp.*, *Enterobacteriales*, *Candida spp.* – 12,5% (5,4, 4,77 и 2,76 lg КОЕ/г), *Lactobacillus spp.*, *Micrococcus spp.* – 8,3% (4,24

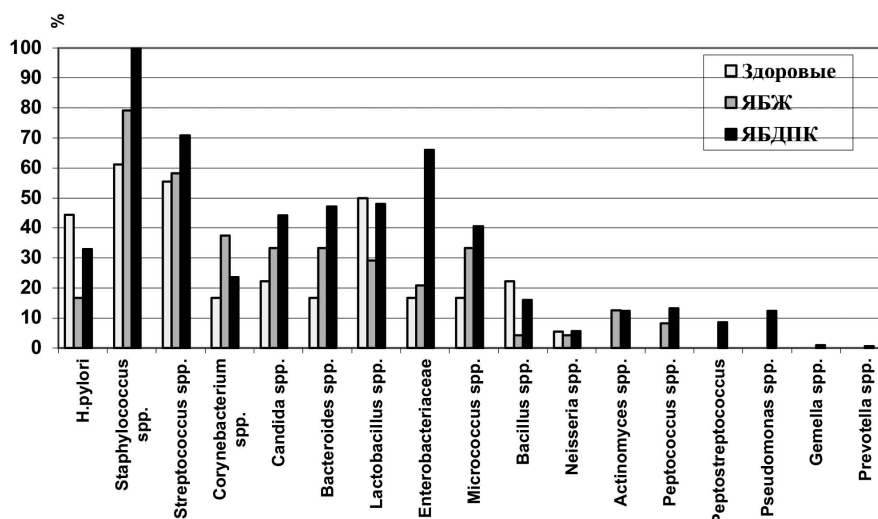


Рис. 2 Частота выделения из биоптатов ПУЗ СО желудка и ДПК здоровых и больных ЯБ,  $p < 0,05$ . Столбцы слева направо: первый – здоровые, второй – больные с ЯБЖ, третий – больные с ЯБДПК.

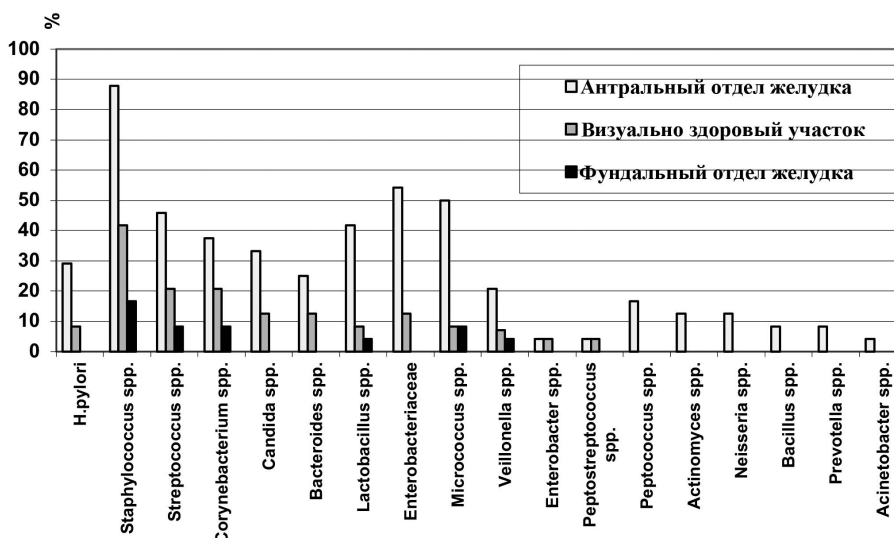


Рис. 3 Спектр и частота выделения микроорганизмов из отдаленного от язвы участка СО больных ЯБЖ,  $p < 0,05$ . Столбцы слева направо: первый – антральный отдел желудка, второй – визуально здоровый участок, третий – фундальный отдел желудка.

и 4,2 lg КОЕ/г), *Veillonella spp.* – 7,14% (2,77 lg КОЕ/г), *Enterobacter spp.* и *Peptostreptococcus spp.* – 4,2% (3,06 и 4,94 lg КОЕ/г). Нр выделен от небольшого числа больных – 8,3%, но в больших количествах – 5,47 lg КОЕ/г. Из фундального отдела желудка микрофлора выделена в 4,2-16,7% случаев в ассоциации 2-3 культур в количестве от 2,76 до 3,39 lg КОЕ/г. Нр в фундальном отделе не обнаружен. Микробный пейзаж антрального отдела желудка сходен с микробиоценозом области язвы. Нр выделен от 29,2% больных в количестве 5,23 lg КОЕ/г, т. е. на 12,5% чаще, чем из ПУЗ.

Из визуально неизмененного участка СО в отдалении от ПУЗ ДПК микроорганизмы выделены в виде микробного дисбаланса: в меньшем спектре и процентном соотношении (рис. 4). В 20,8-50,9% выявлены *Staphylococcus spp.*, *Streptococcus spp.*, энтеробактерии, *Lactobacillus spp.*, *Bacteroides spp.*, грибы рода *Candida*. Нр выделен в 14,2% случаев в количестве 4,7 lg КОЕ/г. Представители других 12

родов изолированы от 0,9-15,1% обследованных больных. В количестве более 4 lg КОЕ/г выявлены *Staphylococcus spp.*, *Streptococcus spp.*, *Peptococcus spp.*, *Lactobacillus spp.*, *Veillonella spp.*, *Prevotella spp.*, грибы рода *Candida*.

Микробный пейзаж изменяется при язвенном поражении ДПК и в СО желудка. В антральном отделе желудка больных ЯБДПК на 10-20% больше, чем у здоровых, выделяются *Enterobacteriales*, *Bacteroides spp.*, *Micrococcus spp.*, грибы рода *Candida*. В количественном отношении превышают 4 lg КОЕ/г бактерии родов *Streptococcus*, *Staphylococcus*, *Bacteroides*, *Veillonella*, *Corynebacterium*, *Peptococcus*, порядка *Enterobacteriales*, грибов рода *Candida*. Появляются в количестве более 4 lg КОЕ/г бактерии рода *Pseudomonas*, *Proteus*, *Porphyromonas*. На 10% меньше выделено Нр (34,37%), хотя и в больших количествах (5,18 lg КОЕ/г). Большинство микроорганизмов выделено в ассоциации от 3 до 6 культур, что больше, чем у здоровых людей.

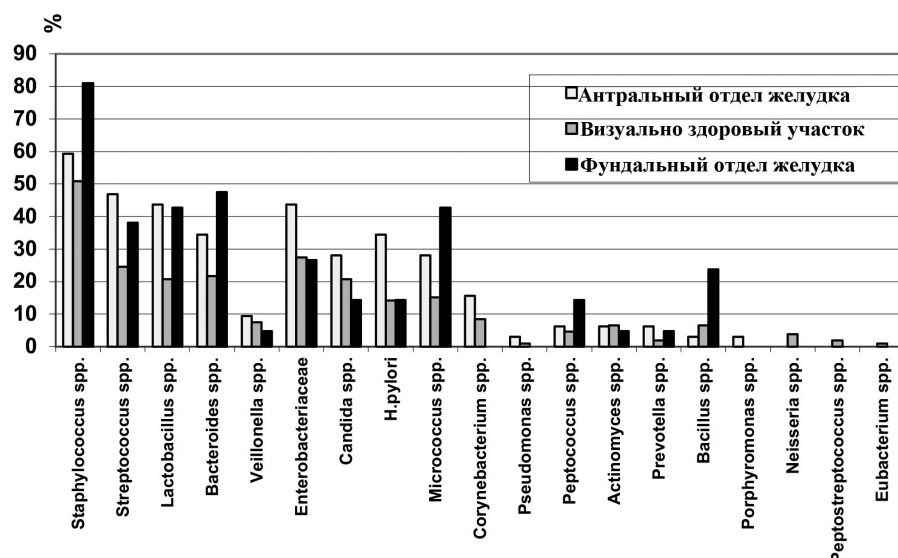


Рис. 4. Спектр и частота выделения микроорганизмов из антрального и фундального отделов желудка, отдалённых от язвы участков СО больных ЯБДПК,  $p < 0,05$ .

Столбцы слева направо: первый – антральный отдел желудка, второй – визуально здоровый участок, третий – фундальный отдел желудка.

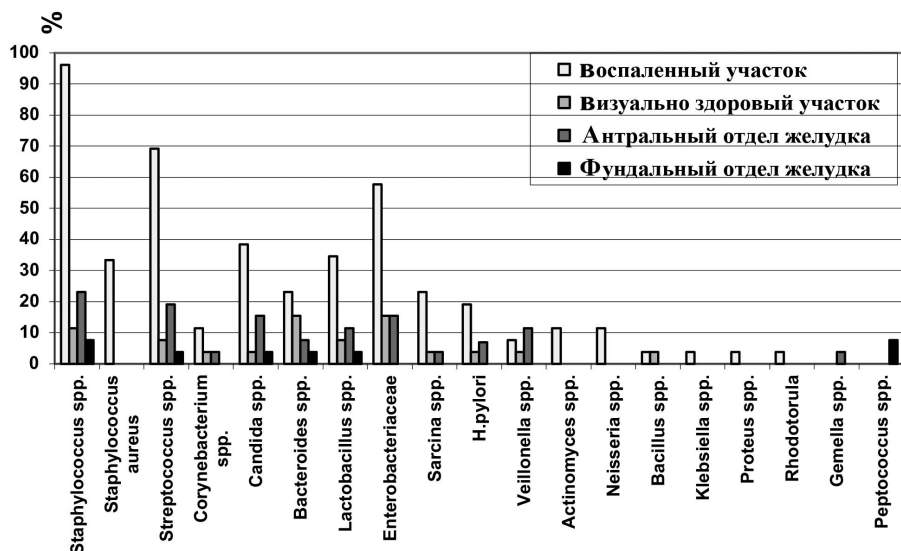


Рис. 5. Спектр и частота выделения микроорганизмов из СО желудка больных ХГ,  $p < 0,05$ .

Столбцы слева направо: первый – воспаленный участок, второй – визуально здоровый участок, третий – антральный отдел желудка, четвертый – фундальный отдел желудка.

В СО фундального отдела желудка больных ЯБДПК (рис. 4), по сравнению со здоровой СО, появляется *S. aureus* (33,3% выделений), *Peptococcus spp.* (14,3%), *Micrococcus spp.* (42,8%), *Gemella spp.* (9,5%), *Prevotella spp.* (4,76%), *Actinomyces spp.* (4,76%), *Veillonella spp.* (4,76%). На 21% увеличивается выделение других видов стафилококка, на 31% – бактероидов. От меньшего числа обследованных больных (14,3%) выделяется *Hp* и в меньшем количестве (4,04 lg КОЕ/г). В количестве больше 4 lg КОЕ/г выделены *Staphylococcus spp.*, *Streptococcus spp.*, *Bacteroides spp.*, *Prevotella spp.*, *Lactobacillus spp.*

Из биоптатов воспаленной СО больных ХГ чаще выявлялись *Staphylococcus spp.*, *Streptococcus spp.*, бактерии порядка *Enterobacteriales*, соответственно в 96,2%, 69,2, 57,7% случаев (рис. 5). В 38,5% грибы ро-

да *Candida*, в 34,6% *Lactobacillus spp.*, в 23,1% *Micrococcus spp.*, *Bacteroides spp.*, в 11,5% *Corynebacterium spp.*, *Actinomyces spp.*, *Neisseria spp.*, в 7,7% *Veillonella spp.*, в 3,8% *Bacillus spp.*, *Klebsiella spp.*, *Proteus spp.*, *Rhodotorula spp.* Выделены микроорганизмы 17 родов и видов в количестве от 2,58 lg КОЕ/г до 4,63 lg КОЕ/г, в среднем  $3,38 \pm 0,54$  lg КОЕ/г. В количестве более 4 lg КОЕ/г выделены *Streptococcus spp.*, *Bacteroides spp.*, энтеробактерии, *Veillonella spp.*, *Neisseria spp.*, *Lactobacillus spp.* *Hp* выделен в 19,2% случаев в количестве 4,6 lg КОЕ/г.

Из визуально неизменённого участка СО рядом с зоной гиперемии во всех случаях высевались представители тех же родов бактерий, количество которых в среднем составляло  $3,64 \pm 0,53$  lg КОЕ/г, но в меньшем проценте

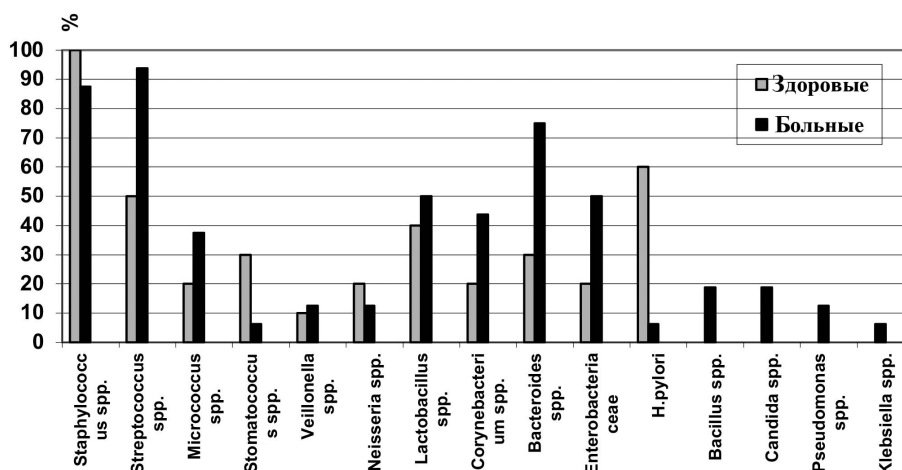


Рис. 6. Спектр и частота выделения микроорганизмов из СО пищевода здоровых лиц и больных эзофагитом,  $p < 0,05$ . Столбцы слева направо: первый – здоровые люди, второй – больные эзофагитом.

случаев. Нр из видимо неизменённого участка СО выделен в 3,8% в количестве 4,22 lg КОЕ/г.

При исследовании биоптатов СО антрального отдела желудка у больных ХГ чаще выделены бактерии рода *Staphylococcus* (в 23,1% случаев). У 19,2% больных выявлены стрептококки, от 15,4% – бактерии прядка *Enterobacteriales*, грибы рода *Candida*, от 11,5% – бактерии рода *Veillonella*, *Lactobacillus*, от 7,7% – *Bacteroides*, от 3,8% – *Corynebacterium*, *Gemella*, *Micrococcus*. Количество микроорганизмов колебалось от 2,77 lg КОЕ/г до 4,34 lg КОЕ/г, в среднем 3,6±0,54 lg КОЕ/г. Нр выделен у 7% обследованных в количестве 4,34 lg КОЕ/г.

В фундальном отделе желудка при ХГ спектр микрофлоры небольшой. Количество микроорганизмов колебалась от 2,92 lg КОЕ/г (*Candida spp.*) до 4,34 lg КОЕ/г (*Peptococcus spp.*), в среднем 3,778±0,51 lg КОЕ/г. В количестве более 4 lg КОЕ/г выделены *Streptococcus spp.*, *Peptococcus spp.*, *Lactobacillus spp.* Нр ни в одном случае не выявлен.

В зоне атрофии СО желудка при ХГ в 100% обнаружены *Streptococcus spp.*, в 83,3% – *Staphylococcus spp.*, *Bacteroides spp.*, энтеробактерии, в 50% – грибы рода *Candida*, в 3,3% – *Veillonella spp.*, *Lactobacillus spp.*, *S. aureus*, в 8,3% – *Corynebacterium spp.*, *Micrococcus spp.*, *Pseudomonas spp.*. Количество микроорганизмов колебалось от 2,7 lg КОЕ/г (коринебактерии) до 5,3 lg КОЕ/г (энтеробактерии), в среднем 3,82±0,77 lg КОЕ/г. Нр выделен у 33,3% больных в количестве 4,2 lg КОЕ/г. При ХГ выделены: Нр 41,7% *Proteobacteria* (69,3%), *Firmicutes* (14,7%), *Bacteroides spp.* (9,0%), *Actinobacteria spp.* (4,3%), *Fusobacteria spp.* (1,3%).

Из биоптатов СО пищевода больных эзофагитом из зоны воспалительно изменённой СО выделены микроорганизмы 15 родов, что на 4 рода больше, чем у здоровых лиц (рис. 6). Часто (у 93,75-50% больных) выделялись бактерии рода *Streptococcus*, *Staphylococcus*, *Bacteroides*, *Lactobacillus*, порядка *Enterobacteriales*. Реже, в 43,75-12,5% случаев обнаружены бактерии рода *Corynebacterium*, *Micrococcus*, *Bacillus*, *Veillonella*, *Neisseria*, *Pseudomonas*, грибы рода *Candida*. У 6,25% больных выделены *Stomatococcus spp.*, *Klebsiella spp.*. Нр. Частота выделения *Stomatococcus spp.*, *Staphylococcus spp.*, *Neisseria spp.* на 23,75-7,5% ниже, чем у здоро-

вых людей ( $p > 0,05$ ). Повышение частоты выделения на 17,5-45% отмечено у *Streptococcus spp.*, *Bacteroides spp.*, энтеробактерий, *Corynebacterium spp.*, *Micrococcus spp.* ( $p < 0,05$ ). Появились бактерии родов *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Klebsiella*, грибы рода *Candida*. Количество микроорганизмов в пределах от 3,16 lg КОЕ/г (*Corynebacterium spp.*) до 6,2 lg КОЕ/г (*Stomatococcus spp.*), в среднем 4,55±0,767 lg КОЕ/г, что больше, чем у здоровых людей на 0,6±0,88 ( $p = 0,048$ ). Выделение Нр снизилось с 60% до 6,25% ( $p < 0,05$ ) по сравнению с группой здоровых, количество с 5,66 lg КОЕ/г до 4,5 lg КОЕ/г. В монокультуре Нр не выявлен.

В зоне воспалительно-язвенных поражений пищевода, в ПУЗ у больных ЯБЖ и ЯБДК выявлен дисбиоз, выражающийся в увеличении спектра и количества микрофлоры, появлении нетипичных для данного биотопа бактерий. Микробиоценоз включал до 28 родов микроорганизмов с уменьшением выделения Нр. По частоте встречаемости и количеству преобладают *Staphylococcus spp.*, *Streptococcus spp.*, *Bacteroides spp.*, *Lactobacillus spp.*, *Corynebacterium spp.*, *Enterobacteriaceae*, грибы рода *Candida*. В очаге поражения появляются микроорганизмы в количестве больше 4 lg КОЕ/г, что указывает на причастность их к неблагоприятному развитию заболевания.

Изучение ферментативных свойств клинических изолятов из поражённых участков СО эзофаго-гастроудуоденальной зоны показало, что они имеют высокие показатели признаков, коррелирующих с патогенностью. По сравнению с бактериями, выделенными со СО здоровых людей, в большем числе случаев обнаруживаются гемолитические стафилококки, стрептококки. Гемолитической активностью обладали штаммы бактерий родов: *Neisseria*, *Bacillus*, *Veillonella*, *Peptococcus*, *Pseudomonas*, *E. coli*. Выделяются бактерии с лецитиназной активностью: стафилококки, стрептококки, бациллы, коринебактерии, псевдомонады, энтеробактерии. Выявляются штаммы с РНК-азной активностью: псевдомонады, стафилококки, стрептококки и даже лактобациллы. Казеинолитическая активность отмечена у псевдомонад, стрептококков, бактериоидов. Уреаза, кроме Нр, продуцируется пептококками, микрококками стрептококками, стафилококками, криптококками, псевдомонадами, грибами рода *Candida*.

Цитотоксическими свойствами обладало большинство выделенных микроорганизмов со СО больных: Нр, стафилококки, стрептококки, пептококки, микрококки, лактобактерии, актиномицеты, псевдомонады, энтеробактерии (цитробактеры, сerratии, ацинетобактеры, *E. coli*), грибы рода *Candida*. Определение цитотоксического действия бактерий на клетки НЕР-2 подтверждает, что УПМ могут быть причастны к развитию патологического процесса в зоне воспалительно-язвенного поражения СО пищевода, желудка, ДПК [22].

Грамположительные кокки, выделенные из СО пищевода, желудка, ДПК у больных эзофагитом, ХГ и ЯБ в 85,7-94,7% случаев не обладают АЛА. У *Corynebacterium* spp. отсутствие АЛА отмечено в 62,5% случаев. В 14,3-33,3% случаев выделены стафилококки и стрептококки, продуцирующие лизоцим, что позволяет отнести этот признак к факторам, определяющим селективные преимущества бактерий при выживании в микробиоценозе. Продукция *E. coli* и *Lactobacillus* spp. бактериоцинов и микроцинов важна для выживания в микробиоценозе. *L. johnsonii*, *L. murinus*, *L. reuteri* могут негативно воздействовать на Нр посредством выделения ингибирующих рост веществ [23].

Адгезивные свойства выявлены практически у всех исследуемых бактерий. В большей степени средний показатель адгезии (СПА) 3-5 бактерий на клетке обнаружены у бактерий рода *Serratia*, *Alcaligenes*, *Escherichia*, *Acinetobacter*, *Pseudomonas*, *Staphylococcus*. У Нр СПА в среднем составил 1,5.

**Обсуждение.** Микробиоценоз зоны воспалительно-язвенных поражений пищевода, желудка, ДПК при эзофагите, ХГ, ЯБ позволяет утверждать, что речь идёт о дисбиозе, выражающемся в увеличении видового и количественного состава микрофлоры, появлении нетипичных для данного биотопа бактерий с признаками патогенности (гемолитической, лецитиназной, РНК-азной, казеинолитической, каталазной, уреазной, цитотоксической активностью). Доминирующая микрофлора больных в поражённой СО кроме Нр, представлена агрессивными штаммами стрептококков, стафилококков, пептококков, псевдомонад, лактобактерий, бацилл, коринебактерий и других УПМ, которые могут быть причастными к утяжелению патологического процесса. В поражённой СО среди нормальных обитателей ЖКТ происходит селекция штаммов бактерий с патогенным потенциалом и их усиленное размножение.

Дисбиоз может вести не только к увеличению возможности заражения патогенными микроорганизмами, но и УПМ транзитной НМФ. Дисбиоз характеризуется исчезновением или снижением популяционного уровня ряда облигатных представителей НМФ (бифидобактерий, лактобацилл, бактероидов и др.), увеличением частоты выявления и количества представителей факультативной её части (грамотрицательных бактерий, в частности, изменённых эшерихий, клебсиелл, гемолитических стафилококков и др.), появлением необычных для данного биотопа видов. [24-27].

В этих условиях представители НМФ, обладая определёнными механизмами приживания, способны вызывать заболевание при снижении иммунитета. УПМ могут быть причастны к инфекционному процессу при сниженной естественной резистентности организма хозяина, т. е. при иммунодефиците. Многие УПМ, такие как *Proteus vulgaris*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa* и др., рассматриваемые в качестве возбудителей

ИСМП, относящиеся к транзитной нормальной микрофлоре, обладают факторами патогенности.

При обострении ЯБ, ХГ, эзофагита в зоне воспалительно-эрозивно-язвенного процесса имеется микробный дисбаланс, выражающийся в увеличении спектра и количества выделяемых УПМ, с усилением выраженности признаков патогенности. Трудно представить, что Нр в этих условиях выступает лидирующим агентом в ассоциации с патогенными штаммами стрептококков, стафилококков, коринебактерий, энтеробактерий, грибов рода *Candida* и других представителей УПМ данных биотопов. Наши данные указывают на возможность реализации признаков патогенности выявляемых микроорганизмов. При обострении изучаемых заболеваний следует говорить о наличии в СО поражённых органов сформированного паразитоценоза, обусловленного снижением местной и общей резистентности. Это подтверждается данными, показывающими, что нарушения микробного баланса при указанных заболеваниях происходят на фоне изменений иммунного статуса больных.

Для санации поражённого участка необходимо избавиться от микрофлоры с выраженными признаками патогенности, восстановить местный и общий иммунный статус и заселить поражённую зону пробиотическими бактериями-антагонистами УПМ.

Для решения этих задач необходимо знать чувствительность всех УПМ, колонизирующих патологический очаг, к антимикробным препаратам, уметь правильно осуществлять антибиотикотерапию препаратами [28,29], которые проявляют не только бактериостатический эффект, но и способны восстанавливать иммунный статус, обладать сорбционной, противовоспалительной активностью и др. полезными свойствами.

При обострении ЯБ, ХГ, эзофагита в СО пищевода, желудка, ДПК происходит активация УПМ, включая Нр, характеризующаяся увеличением видового и количественного состава, усилением ферментативной и цитотоксической активности, что может способствовать поддержанию воспалительно-некротических процессов и тормозить ликвидацию патологического процесса. Активация мукозной микрофлоры связана с воспалительно-некротическими процессами СО ГДЗ, снижением местных и общих факторов клеточного и гуморального иммунитета. Для восстановления нормального микробиоценоза необходима коррекция с использованием препаратов, обладающих антимикробной активностью, сорбционными и иммуномодулирующими свойствами.

**Финансирование.** Исследование не имело спонсорской поддержки.

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА (пп. 4-7, 11, 12, 14, 16, 25-27, 29 см. REFERENCES)

1. Бондаренко В.М., Базлов С.Н., Червинец В.М., Чернин В.В. Терапия дисбактериоза мукозной микрофлоры гастроудоденальной зоны при её воспалительно-эрозивно-язвенных поражениях. *Терапевтический архив*. 2011; 2: 12-6.
2. Чернин В.В., Червинец В.М., Базлов С.Н. Место *Helicobacter pylori* в нормомикробиоценозе и дисбактериозе мукозной микрофлоры эзофагогастроудоденальной зоны, развитии язвенной болезни, хронического гастрита и эзофагита. *Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология*. 2016; 126(2): 79-86.
3. Ардатская М.Д., Бельмер С.В., Добрица В.П., Захаренко С.М., Лазебник Л.Б., Мишушкин О.Н. и др. Дисбиоз (дисбактериоз)

- кишечника: современное состояние проблемы, комплексная диагностика и лечебная коррекция. *Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология*. 2015; 5 (117): 13-50.
8. Яриев А.А., Каримов Х.Я., Бабаев А.Т. Язвенная болезнь желудка и двенадцатиперстной кишки: история вопроса и современные взгляды на патогенез заболевания (обзор литературы). *Вестник неотложной и восстановительной хирургии*. 2018; 3 (2): 207-12.
  9. Ивашкин В.Т., Маев И.В., Лапина Т.Л., Шептулин А.А., Трухманов А.С., Абдулхаков Р.А. и др. Лечение инфекции *Helicobacter pylori*: мейнстрим и новации. *Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии*. 2017; 27(4): 4-21.
  10. Червинец В.М., Червинец Ю.В., Беляева Е.А. Микробиоценоз эзофагогастроуденальной зоны в отсутствие патологии и при воспалительно-эрозивно-язвенных её поражениях. *Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология*. 2016; 126(2):108-9.
  13. Асатуров А.В., Варзин С.А., Строев Ю.И., Чурилов Л.П., Утехин В.И. Роль аутоиммунологической реактивности в патогенезе осложнённых форм язвенной болезни у детей и взрослых. *Педиатр*. 2018; 9 (6): 93-100.
  15. Колотилова М.Л., Иванов Л.Н. Нейрогенно-генетические факторы этиологии и патогенеза язвенной болезни. *Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология*. 2017; 148 (12):89-97.
  17. Баженов Л.Г., Бондаренко В.М., Лыкова Е.А. Огай Д.К. Изучение антагонистического действия лактобацилл на *Helicobacter pylori*. *Журнал микробиологии* 1997; 3: 89-91.
  18. Бухарин О.В., Усвятцов Б.Я., Хуснутдинова Л.М. Межбактериальные взаимодействия *Журнал микробиологии*. 2003; 4: 3-8.
  19. Никитин В.М. *Справочник методов биохимической экспресс-индикации микробов* Кишинев; 1986.
  20. Брилис В.И. Методика изучения адгезивного процесса. *Лабораторное дело*. 1986; 4: 210-2.
  21. Евсютина Ю.В., Ивашкин В.Т. Роль микробиома в развитии болезней пищевода. *Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии*. 2016; 26(3):11-6.
  23. 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): 4-9.
  24. Самоукина А.М., Михайлова Е.С., Червинец В.М., Миронов А.Ю., Алексеева Ю.А. Микрoэкология пищеварительного тракта как показатель состояния здоровья человека. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2015; 6: 57-60.
  28. Ситкин С.И., Вахитов Т.Я., Демьянова Е.В. Микробиом, дисбиоз толстой кишки и воспалительные заболевания кишечника: когда функция важнее таксономии. *Альманах клинической медицины*. 2018; 46 (5): 396-425.
  9. Ivashkin V.T., Maev I.V., Lapina T.L., Sheptulin A.A., Truhmanov A.S., Abdulhakov R.A. i dr. *Helicobacter pylori* infection treatment: mainstream and innovations. *Rossiyskiy zhurnal gastroenterologii, gepatologii, koloproktologii*. 2017; 27(4): 4-21. (in Russian)
  10. Chervinets V.M., Chervinets Yu.V., Belyaeva E.A. Microbiocenosis of the esophagogastroduodenal zone in the absence of pathology and with inflammatory and erosive-ulcerative lesions of it. *Eksperimental'naya i klinicheskaya gastrojenterologiya*. 2016; 126(2):108-9. (in Russian)
  11. Chen X., Xia C., Li Q., Jin L., Zheng L., Wu Z. Comparisons between bacterial communities in mucosa in patients with gastric antrum ulcer and a duodenal ulcer. *Frontiers cellular infection Microbiology*. 2018;8:126.
  12. Ferreira RM, Pereira-Marques J, Pinto-Ribeiro I, Costa J. L., Carneiro F., Machado J. C.et al. Gastric microbial community profiling reveals a dysbiotic cancer-associated microbiota. *Gut*. 2017; 67(2): 226-36.
  13. Asaturov A.V., Varzin S.A., Stroeв Yu.I., Churilov L.P., Utehin V.I. The role of autoimmunological reactivity in the pathogenesis of complicated forms of peptic ulcer in children and adults. *Pediatr*. 2018; 9 (6): 93-100. (in Russian)
  14. Vinella D., Fischer F., Vorontsov E., Gallaud J., Malosse C., Michel V.et al. Evolution of *Helicobacter*: acquisition by gastric species of two histidine-rich proteins essential for colonization. *PLoS Pathogens*. 2015; 11(12): e1005312.
  15. Kolotilova M.L., Ivanov L.N. Neurogenic and genetic factors of the etiology and pathogenesis of peptic ulcer. *Eksperimental'naya i klinicheskaya gastrojenterologiya*. 2017; 148 (12):89-97. (in Russian)
  16. Neumeyer V., Vieth M., Gerhard M., Mejias-Luque R. Mutated *Rnf43* Aggravates *Helicobacter Pylori*-Induced Gastric Pathology. *Cancers*. 2019; 11(3): 372.
  17. Bazhenov L.G., Bondarenko V.M., Lykova E.A., Ogaj D.K. The study of the antagonistic effect of lactobacilli on *Helicobacter pylori* *Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii i immunobiologii*. 1997; 3: 88-91. (in Russian)
  18. Bukharin O.V., Usvyatsov B.Ya., Husnutdinova L.M. Interbacterial interactions. *Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii i immunobiologii*. 2003; 4: 3-8. (in Russian)
  19. Handbook of methods for biochemical express indication of microbes [Справочник методов биохимической экспресс-индикации микробов]. Kishinev: Cartya Moldoveniasca; 1986. (in Russian)
  20. Brilis V.I. The methodology for studying the adhesive process. *Laboratornoe delo*. 1986; 4: 210-2. (in Russian)
  21. Evsyutina Yu.V., Ivashkin V.T. The role of microbiome in the development of diseases of the esophagus. *Rossiyskiy zhurnal gastrojenterologii, gepatologii, koloproktologii*. 2016; 26(3): 11-6. (in Russian)
  22. Yung-Yu Hsieh Hung-Yu Pan, Shui-Yi Tung, Chih-Wei Yen. Increased Abundance of Clostridium and Fusobacterium in Gastric Microbiota of Patients with Gastric Cancer in Taiwan. *Scientific reports*. 2018; 8 (1): 158.
  23. Isaeva G.Sh., Vakatoва L.V., Efimova N.G., Burhanov R.R., Valiullina I.R. Gastric microbiota with morphological changes in the gastroduodenal tract associated with *Helicobacter pylori* infection. *Bakteriologiya*. 2017; 2 (1): 4-9. (in Russian)
  24. Samoukina A.M., Mihajlova E.S., Chervinets V.M., Mironov A.Ju., Alekseeva Ju.A. Digestive tract microecology as an indicator of human health. *Klinicheskaya laboratornaya diagnostika*. 2015; 6: 57-60. (in Russian)
  25. Toh Michael C, Emma Allen-Vercoe. The human gut microbiota with reference to autism spectrum disorder: considering the whole as more than a sum of its parts. *Microbial ecology in health and disease*. 2015; 26: 26309. doi:10.3402/mehd.v26.26309
  26. Thomas W. Buford. (Dis). Trust your gut: the gut microbiome in age-related inflammation, health, and disease. *Microbiome*; 2017. <https://doi.org/10.1186/s40168-017-0296-0>.
  27. Pajau Vangay, Tonya Ward, Jeffrey B S. Gerber, Dan Knights. Antibiotics, Pediatric Dysbiosis, and Disease, *Cell Host & Microbe*. 2015; 17 (5): 553-64.
  28. Sitkin S.I., Vakhitov T.Ya., Dem'yanova E.V. Microbiome, colon dysbiosis and inflammatory bowel disease: when function is more important than taxonomy. *Al'manakh klinicheskoy meditsiny*. 2018; 46 (5): 396-425. (in Russian)
  29. Tariq Jamal Khan, Mohammed Nihal Hasan, Esam I. Azhar, Muhammad Yasir, Association of gut dysbiosis with intestinal metabolites in response to antibiotic treatment, *Human Microbiome Journal*. 2019; 11: 100054. <https://doi.org/10.1016/j.humic.2018.11.004>

Поступила 09.12.19

Принята к печати 24.12.19