

МАРТЫНОВА НИНА СЕРГЕЕВНА

**КЛИНИКО-ПАТОГЕНЕТИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ НАРУШЕНИЯ
МИКРОБИОЦЕНОЗА ПРИ КОРОНАВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИИ COVID-19**

3.1.22. Инфекционные болезни

Автореферат
диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Москва – 2026

Работа выполнена в Федеральном бюджетном учреждении науки «Центральный научно-исследовательский институт эпидемиологии» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека

Научный руководитель:

Понежева Жанна Бетовна, доктор медицинских наук, доцент

Официальные оппоненты:

Городин Владимир Николаевич, доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой инфекционных болезней и эпидемиологии Института непрерывного образования Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Кубанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Петров Владимир Александрович, доктор медицинских наук, профессор, заведующий Научно-образовательным отделом Медицинского радиологического научного центра им. А.Ф. Цыба - филиал федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр радиологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации; заведующий кафедрой инфекционных болезней, общественного здоровья и здравоохранения Обнинского института атомной энергетики - филиал федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Национальный исследовательский ядерный университет «МИФИ»

Ведущая организация:

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Башкирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Защита диссертации состоится «___» ____ 2026 года в _____ час. _____ мин. на заседании Диссертационного Совета 64.1.010.01 в Федеральном бюджетном учреждении науки «Центральный научно-исследовательский институт эпидемиологии» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека по адресу: 111123, Москва, ул. Новогиреевская, д.3а.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Федерального бюджетного учреждения науки «Центральный научно-исследовательский институт эпидемиологии» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека и на сайте www.crie.ru

Автореферат разослан «___» ____ 2026 г.

Ученый секретарь
Диссертационного Совета,
доктор медицинских наук

Николаева Светлана Викторовна

АКТУАЛЬНОСТЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Инфекция COVID-19, вызванная вирусом SARS-CoV-2, продолжает оставаться одной из наиболее значимых проблем глобального здравоохранения. Несмотря на завершение пандемического этапа, сохраняется высокая вероятность циркуляции новых генетических вариантов вируса, обладающих эпидемиологическим потенциалом, что делает актуальным дальнейшее исследование патогенеза заболевания, его осложнений, а также возможностей персонализированной терапии и реабилитации пациентов.

Современные данные всё более убедительно свидетельствуют о значительной роли микробиоценоза кишечника в регуляции иммунных и метаболических процессов макроорганизма [Авдеева М.Г. с соавт. 2021; Горелов А.В., Усенко Д.В., 2022; Стома И.О., 2024]. Нарушения состава и функций кишечного микробиоценоза могут как способствовать развитию системного воспаления, так и формироваться вторично на его фоне. Это особенно важно в условиях инфекционного процесса, сопровождающегося гиперпродукцией провоспалительных цитокинов и активацией врождённого иммунного ответа - как это наблюдается при коронавирусной инфекции COVID-19 [Горелов А.В. с соавт 2022; Гришаева А.А. с соавт., 2022; Солдатова О.В. с соавт., 2023].

Появляющиеся в последние годы исследования указывают на то, что при коронавирусной инфекции COVID-19 у пациентов формируется выраженный дисбиоз: снижается численность облигатных симбионтов (таких как *Lactobacillus* spp., *Bifidobacterium* spp., *Faecalibacterium prausnitzii*) на фоне увеличения популяций условно-патогенных и патогенных микроорганизмов (*Klebsiella* spp., *Staphylococcus aureus*, *Citrobacter* spp., *Candida* spp., *Enterobacter* spp. и др.) [Ахмедов В.А. с соавт., 2022]. Такие изменения могут быть не только следствием инфекции, но и важным фактором, определяющим её клиническое течение и выраженность воспалительного ответа.

Особый интерес представляет изучение связи между микробиоценозом кишечника и провоспалительными медиаторами, включая MIP-1 α , MIP-1 β , IL-12 и sCD14, поскольку эти цитокины играют ключевую роль в патогенезе коронавирусной инфекции COVID-19 и отражают степень активации иммунной системы [Гришаева А.А. с соавт., 2022]. В контексте заболевания среднетяжелого течения COVID-19, как наиболее распространённой степени тяжести, изучение механизмов взаимодействия микробиоценоза и клинических проявлений может способствовать более глубокому пониманию патофизиологических основ болезни.

Таким образом, выявление патофизиологических особенностей нарушения микробиоценоза толстой кишки у пациентов с COVID-19 среднетяжелого течения представляет собой актуальное научное направление, имеющее высокую значимость как для совершенствования клинических подходов к лечению и реабилитации, так и для расширения фундаментальных представлений о взаимодействии микробиоценоза кишечника и иммунной системы при вирусных инфекциях.

Степень разработанности темы

Несмотря на растущий научный интерес к изучению роли кишечного микробиоценоза при коронавирусной инфекции COVID-19, в настоящее время данное направление остаётся недостаточно изученным. С 2020 года в зарубежной и отечественной литературе накоплены данные о таксономических сдвигах в микробиоценозе у больных COVID-19 [Ахмедов В. А. с соавт., 2022; Битюмина Л. А. с соавт., 2023; Лазарева Е.Н. с соавт., 2025; Simadibrata D.M. et al., 2023; Chu X.J. et al.,

2025; Iqbal N.T. et al., 2025 и др.]. Большинство исследований выполнено с использованием методов секвенирования, которые, несмотря на высокую информативность, не позволяют оценить жизнеспособность выявленных микроорганизмов, что ограничивает возможности клинической интерпретации полученных данных.

Многочисленные исследования в пандемийный и постпандемийный периоды [Zuo T. et al., 2021; Grenga L. et al., 2022; Galperine T. et al., 2023; Essex M. et al., 2024; Yokoyma Y. et al., 2024 и др.] показали, что состав микробиоценоза кишечника может быть связан с наличием и уровнем SARS-CoV-2 в фекалиях. При этом крайне мало работ по изучению взаимосвязи микробиоценоза с клиническими проявлениями коронавирусной инфекции SARS-CoV-2, а большинство исследований носило кросс-секционный характер и не проводилось в динамике, что ограничивает понимание временной эволюции микробиоценоза кишечника. Кроме того, до настоящего времени отсутствуют работы, систематически характеризующие микробиоценоз кишечника в зависимости от вирусной нагрузки SARS-CoV-2 в респираторном тракте.

Представлены результаты исследований [Гуменюк А.В. и соавт., 2022; Liu Q. et al., 2022; Chu X.J. et al., 2025 и др.], где демонстрируется связь между состоянием кишечного микробиоценоза и тяжестью течения коронавирусной инфекции COVID-19. В то же время вопросы о влиянии микробиоценоза на специфические клинические проявления заболевания и его роли в прогнозировании осложнённого течения остаются недостаточно освещёнными и малоизученными.

Опубликован ряд работ [Гуменюк А.В. и соавт., 2022; Юлдашев Б.К. и соавт., 2022; Лазарева Е.Н. и соавт., 2025; Zhong J. et al., 2024; Barichello T. et al., 2025 и др.] по изучению взаимосвязи бактериального состава кишечника с ключевыми компонентами иммунного ответа при коронавирусной инфекции COVID-19. Однако данные о влиянии микробиоценоза на активацию макрофагального звена и индексы системного воспаления остаются недостаточными и требуют дальнейшего углублённого изучения. В исследованиях Gutiérrez-Castrellón P. et al., 2022; Zhang L. et al., 2022; Horváth A. et al., 2024; Ranisavljev M. et al., 2024; Wischmeyer P.E. et al., 2024 и др. продемонстрирован потенциал пробиотиков и синбиотиков в постконтактной профилактике COVID-19, снижении желудочно-кишечных симптомов и влиянии на вирусную нагрузку, а также для стимуляции выработки антител. Тем не менее, до настоящего времени не разработан научно обоснованный алгоритм применения пробиотиков при COVID-19, что ограничивает их системное использование в клинической практике.

Таким образом, несмотря на ряд исследований, подтверждающих нарушения кишечного микробиоценоза при COVID-19, степень разработанности темы, касающейся комплексного анализа взаимосвязей между бактериальным составом, иммунными маркерами и клиническими проявлениями, остаётся недостаточно изученной. Настоящее исследование предлагает комплексный подход к анализу этих взаимосвязей и вносит вклад в детализацию клинико-патогенетических аспектов коронавирусной инфекции COVID-19 и совершенствование терапевтической тактики ведения пациентов.

Цель работы

Определение клинико-патогенетической роли нарушения микробиоценоза у больных коронавирусной инфекцией COVID-19 для оптимизации тактики их ведения.

Задачи исследования

1. Оценить в динамике состав микробиоценоза кишечника у пациентов с коронавирусной инфекцией в зависимости от вирусной нагрузки SARS-CoV-2 в респираторном и кишечном локусах.
2. Определить наличие взаимосвязей клинических проявлений и осложнений с нарушением микробиоценоза кишечника у больных COVID-19.
3. Изучить показатели иммунного воспаления (MIP-1 α , MIP-1 β , IL-12, sCD14 и интегральные гематологические индексы) при коронавирусной инфекции COVID-19 и их взаимосвязи с нарушением микробиоценоза кишечника.
4. Проанализировать влияние фармакотерапии COVID-19 на клинико-иммунологические, микробиологические показатели и предложить научно обоснованный метод оптимизации тактики ведения больных.

Научная новизна

Впервые с применением комплекса молекулярно-генетических и классических культуральных методов проведена оценка состава и динамики изменения кишечного микробиоценоза у больных коронавирусной инфекцией и установлена взаимосвязь с уровнем вирусной нагрузки SARS-CoV-2 в респираторном и кишечном локусах, что позволило установить значимость нарушения микробиоценоза в патогенезе COVID-19.

Выявлены статистически значимые корреляции фебрильной лихорадки и уровня *Lactobacillus* spp. ($r = -0,426$, $p < 0,001$), а также характера поражения легких при COVID-19 и снижения альфа-разнообразия кишечного микробиоценоза (индекс Шеннона $p = 0,009$, индекс Симпсона $p = 0,018$), уровней *Akkermansia muciniphila* ($p = 0,031$) и *Escherichia coli* ($p = 0,01$).

Впервые проведено комплексное исследование взаимосвязей иммунологических параметров (MIP-1 α , MIP-1 β , sCD14, IL-12), маркеров системного воспаления (AISI, SIRI, SII, CLR), интегральных гематологических индексов (ИСЛМ, ТЛИ) с выраженностью нарушений микробиоценоза кишечника у больных коронавирусной инфекцией COVID-19.

Впервые на основе интегральной оценки микробиологических и иммунологических показателей научно обосновано использование комплексного пробиотического препарата, содержащего *Lactiplantibacillus plantarum* CECT7484/485/30292, *Pediococcus acidilactici* CECT7483, витамин D3, в патогенетической терапии COVID-19, что обеспечивает улучшение микробиологических показателей (повышение уровня *Bifidobacterium* spp., а также тенденция к увеличению *Lactobacillus* spp., *Faecalibacterium prausnitzii*, и снижению *Enterobacter* spp., *Enterococcus* spp.), снижение маркеров системного воспаления (MIP-1 α , MIP-1 β , IL-12) и нормализацию гематологических индексов (ИСЛМ).

Теоретическая и практическая значимость

На современном методологическом уровне представлены состав и динамика микробиоценоза кишечника в зависимости от вирусной нагрузки SARS-CoV-2 в респираторном и кишечном трактах, наличия осложнений и впервые с помощью ROC-анализа установлено, что в остром периоде показатели хемокинов (MIP-1 $\alpha > 85,5$ пг/мл, AUC = 0,847, $p = 0,003$; MIP-1 $\beta > 114,8$ пг/мл, AUC = 0,819, $p = 0,006$) и системных воспалительных индексов (SIRI $> 2,9$ усл. ед., AUC = 0,731; $p = 0,041$; AISI $> 470,4$ усл. ед., AUC = 0,772; $p = 0,016$) являются значимыми предикторами дефицита *Lactobacillus* spp. и *Bifidobacterium* spp. в периоде реконвалесценции, что подтверждает взаимосвязь системного воспаления и нарушения микробиоценоза кишечника при COVID-19.

Разработан патогенетически обоснованный подход к терапии COVID-19, направленный на снижение иммуновоспалительных реакций и восстановление микробного баланса с применением источника пробиотических микроорганизмов (*Lactiplantibacillus plantarum*), молочнокислых микроорганизмов (*Pediococcus acidilactici*) и дополнительно витамина D3.

Методология и методы исследования

С учётом поставленной цели и задач, методология исследования основана на системном подходе и включает последовательное применение методов клинического наблюдения, сравнительного анализа и обобщения данных. Исследование выполнено в формате проспективного, открытого, наблюдательного исследования в параллельных группах, в котором распределение участников осуществлялось в зависимости от наличия РНК SARS-CoV-2 в кале и уровня вирусной нагрузки в мазках из носо-/ротоглотки.

Дизайн исследования предусматривал применение клинических, лабораторных, иммунологических, микробиологических и статистических методов. Использовались приёмы описательной статистики, сравнительного анализа, многомерного статистического анализа для установления комплексных взаимосвязей между исследуемыми параметрами, а также современные методы корреляционного анализа для количественной оценки ассоциаций и ROC-анализ для оценки диагностической точности прогностических моделей.

Полученные результаты были систематизированы, проанализированы и представлены в главах собственных исследований. По итогам исследования сформулированы выводы, практические рекомендации и определены направления для дальнейшего научного поиска.

Положения, выносимые на защиту

1. У пациентов с коронавирусной инфекцией COVID-19 установлена взаимосвязь нарушения микробиоценоза кишечника с уровнем вирусной нагрузки SARS-CoV-2 в респираторном и кишечном локусах. Максимально выраженные изменения выявлены при низкой вирусной нагрузке с достоверным увеличением *Escherichia coli* ($p = 0,012$) и снижением *Akkermansia muciniphila* ($p = 0,045$), а после клинического выздоровления дисбиоз кишечника сопровождается еще более значимым снижением *Bifidobacterium* spp. ($p = 0,032$), *Escherichia coli* ($p = 0,004$), *Faecalibacterium prausnitzii* ($p = 0,034$), *Enterobacter* spp. ($p = 0,031$) и увеличением количества *Enterococcus* spp. ($p = 0,006$). Наличие РНК SARS-CoV-2 в кале ассоциируется с уменьшением альфа-разнообразия (индекс Шеннона $p=0,033$; индекс Симпсона $p = 0,039$) и снижением количества *Bifidobacterium* spp. ($p=0,014$), увеличением *Enterococcus* spp. ($p = 0,027$) в динамике заболевания.

2. Характер изменений микробиоценоза кишечника у пациентов с коронавирусной инфекцией COVID-19 взаимосвязан с клиническими проявлениями: фебрильная лихорадка ассоциируется со снижением содержания *Lactobacillus* spp. менее 1×10^7 копий/мл; диспепсические расстройства - с уменьшением *Bifidobacterium* spp. ниже 1×10^7 копий/мл, а диарея – с *Faecalibacterium prausnitzii* менее 1×10^8 копий/мл. Развитие пневмонии при COVID-19 характеризуется уменьшением альфа-разнообразия кишечного микробиоценоза (индекс Шеннона менее 0,573 усл. ед.; индекс Симпсона более 0,764 усл. ед.) и дефицитом *Akkermansia muciniphila*, развитие гидроторакса ассоциировано с повышением индекса соотношения *Bacteroides* spp. и *Faecalibacterium prausnitzii* более 100 копий/мл.

3. При коронавирусной инфекции COVID-19 среднетяжелого течения выраженностю системного воспаления характеризуется значимым повышением

концентраций MIP-1 α , MIP-1 β , IL-12, sCD14 и показателей интегральных гематологических индексов (SIRI > 2,9 усл. ед. и AISI > 470,4 усл. ед.), что ассоциируется с дефицитом *Bifidobacterium* spp., а повышение MIP-1 α > 85,5 пг/мл, MIP-1 β > 114,8 пг/мл - с дефицитом *Lactobacillus* spp., ТЛИ > 195,4 усл.ед. - с наличием РНК SARS-CoV-2 в кале в период реконвалесценции.

4. Применение стандартных схем фармакотерапии COVID-19 оказывает негативное влияние на микробиоценоз кишечника, вызывая снижение *Akkermansia muciniphila* и увеличение *Enterococcus* spp. на фоне сохраняющейся выраженной иммуновоспалительной реакции в периоде реконвалесценции, что требует обоснованной патогенетической коррекции выявленных нарушений с использованием комплексного пробиотического препарата (*Lactiplantibacillus plantarum* СЕСТ7484/485/30292, *Pediococcus acidilactici* СЕСТ7483, витамин D3) для восстановления микробного баланса и уменьшения системного иммунного воспаления.

Внедрение результатов работы в практику

По материалам диссертационного исследования опубликованы два учебно-методических пособия, рекомендованных для использования в образовательной и клинической практике:

- «Тактика ведения пациентов с коронавирусной инфекцией (COVID-19)». – Москва. - 2024. - 80 с. (утверждено Учебно-методическим советом ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора, протокол №2 от 14. 05. 2024 г.);
- «Острые вирусные инфекции респираторного тракта у взрослых». – Москва, 2025. – 68 с. (утверждено Учебно-методическим советом ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора, протокол №4 от 18. 11. 2025 г.).

Зарегистрирована база данных «Состояние микробиоценоза кишечника и клинико-иммунологические особенности у госпитализированных взрослых пациентов с COVID-19» №2025621892 от 28.02.2025 г.

Подана заявка на патент «Способ прогнозирования дисбиоза микробиоценоза по активности фекального кальпротектина при диареях инфекционного генеза» №2025131893 от 17.11.2025 г.

Материалы диссертационного исследования внедрены в образовательную программу ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора и активно используются при обучении врачей, ординаторов и аспирантов. Полученные научные данные применяются в практической и научной деятельности сотрудников клинического отдела инфекционной патологии на клинических базах ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора.

Личное участие автора

Автор принимал непосредственное участие на всех этапах проведения исследования. Им был разработан план и дизайн исследования, осуществлён отбор пациентов с учётом критериев включения и исключения, а также организовано наблюдение за участниками в течение всего периода их стационарного лечения. Автором самостоятельно проведён сбор биологического материала для лабораторных исследований, а также с ее участием частично выполнено определение концентраций провоспалительных цитокинов и хемокинов в сыворотке крови с применением метода твердофазного иммуноферментного анализа (ИФА).

Кроме того, исследователь лично осуществлял систематический анализ отечественных и зарубежных научных публикаций, составил электронную базу данных обследованных пациентов, провёл анализ полученных клинико-лабораторных и иммунологических показателей, оформил разделы, посвящённые интерпретации и

обсуждению результатов, сформулировал основные научные выводы, практические рекомендации и подготовил публикационные материалы. Также при участии автора выполнена статистическая обработка и оценка достоверности полученных данных.

Степень достоверности и аprobация результатов исследования

Научные положения, выводы и практические рекомендации, представленные в диссертации, разработаны автором на основе анализа репрезентативной выборки и применения современных, соответствующих цели и задачам исследования, методов. Полученные в ходе работы теоретические и практические результаты нашли применение в образовательной и клинической деятельности ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора.

Материалы исследования представлены на Конгрессах и научно-практических конференциях в рамках: XV Ежегодного Всероссийского Конгресса по инфекционным болезням с международным участием «Инфекционные болезни в современном мире: эволюция, текущие и будущие угрозы» (Москва, 27–29 марта 2023 г.); Конгресса с международным участием «Молекулярная диагностика и биобезопасность-2023» (Москва, 27–28 апреля 2023 г.); IX Межведомственной научно-практической конференции «Инфекционные болезни — актуальные проблемы, лечение и профилактика» (Москва, 30–31 мая 2023 г.); III Ежегодной конференции по инфекционным болезням «Покровские чтения» (Москва, 30-31 октября 2023 г.); XVI Ежегодного Всероссийского Конгресса по инфекционным болезням с международным участием «Инфекционные болезни в современном мире: эволюция, текущие и будущие угрозы» (Москва, 25–27 марта 2024 г.); Онлайн-семинара «Актуальные проблемы диагностики, профилактики и терапии острых кишечных инфекций» (Москва, 22-23 мая 2024 г.); Научно-практической конференции молодых учёных и специалистов ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора «Проблемы эпидемиологии, терапии и лабораторной диагностики инфекционных заболеваний-2024» (Москва, 29-30 мая 2024); Второго Гомельского международного конгресса «Инфекционные болезни, микробиология и иммунология» (Гомель, 12-13 сентября 2024 г.); IV Ежегодной конференции по инфекционным болезням «Покровские чтения» (Москва, 1–2 ноября 2024 г.); XVIII научно-практической конференции «Актуальные вопросы инфекционной патологии Юга России» (Краснодар, 22-23 мая 2025 г.); V Ежегодной конференции по инфекционным болезням «Покровские чтения» (Москва, 27–28 октября 2025 г.). Диссертационная работа представлена и рекомендована к защите на заседании аprobационного совета ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора 25 ноября 2025 года, протокол № 107.

Соответствие паспорту научной специальности

Диссертационное исследование соответствует шифру научной специальности 3.1.22. Инфекционные болезни, относящейся к области клинической медицины, в рамках которой изучаются причины возникновения, механизмы развития, клиническое течение, методы диагностики, терапии, а также прогноз и возможные осложнения инфекционных заболеваний у человека, включая новую коронавирусную инфекцию (COVID-19). Результаты проведенного исследования соответствуют направлениям исследований в пунктах 2, 3, 4 и 7 паспорта научной специальности 3.1.22. Инфекционные болезни.

Публикации

Научные положения и результаты диссертационной работы опубликованы в 12 печатных работах, в том числе 5 - в журналах, рекомендованных ВАК Российской

Федерации для публикации основных научных результатов диссертации по специальности 3.1.22. Инфекционные болезни.

Структура и объем диссертации

Диссертационная работа представлена в виде рукописи, изложена на 189 страницах машинописного текста, содержит 28 таблиц, 54 рисунка. Диссертация состоит из следующих разделов: введение, обзор литературы, материалы и методы исследования, главы с результатами собственных исследований, а также заключение, выводы, практические рекомендации, приложения А, Б, В. Список литературы содержит 220 источников, в том числе 32 отечественных и 188 зарубежных авторов.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Материалы и методы исследования

Диссертационная работа выполнена на базе клинического отдела инфекционной патологии Федерального бюджетного учреждения науки «Центрального научно-исследовательского института эпидемиологии» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека в период с 01.10.2022 г. по 01.05.2023 г. в ГБУЗ «Инфекционная клиническая больница №2 Департамента здравоохранения города Москвы в рамках НИР на 2020-2025 гг. «Клинико-эпидемиологические, иммунопатогенетические аспекты современного течения острых и хронических инфекций у детей и взрослых, оптимизация тактики ведения пациентов и профилактики заболеваний» [УДК 616-053:2; НИОКР АААА-А21-121011890140-6] и «Клинико-патогенетическое обоснование и совершенствование терапевтических программ сохранения и восстановления микробиома человека при широко распространённых инфекционных заболеваниях» [УДК 616-053:2; НИОКР АААА-А21-121011890137-6].

Проведение исследования было одобрено локальным этическим комитетом ФБУН «ЦНИИ Эпидемиологии» Роспотребнадзора (протокол №127 от 27.09.2022 г.) и локальным этическим комитетом ГБУЗ «ИКБ №2» ДЗМ.

Исследование выполнено в формате проспективного и частично ретроспективного, открытого, наблюдательного исследования с последовательным применением клинико-лабораторных, иммунологических, молекулярно-генетических, микробиологических, инструментальных и статистических методов. Объем проведенных клинико-лабораторных и инструментальных исследований представлен в таблице 1.

В исследовании участвовали 100 пациентов из числа госпитализированных в ГБУЗ «ИКБ №2» ДЗМ с коронавирусной инфекцией COVID-19 среднетяжелого течения в возрасте от 18 до 75 лет, соответствующих критериям включения.

Критерии включения в исследование: возраст от 18 до 75 лет; лабораторно подтверждённая коронавирусная инфекция COVID-19 среднетяжелого течения; наличие информированного согласия на обработку персональных данных и участие в исследовании. Критерии невключения: возраст младше 18 или старше 75 лет; отсутствие лабораторно подтверждённого диагноза COVID-19; беременность; ВИЧ-инфекция; наличие на момент болезни аутоиммунных или онкологических заболеваний в стадии обострения, требующих приёма ГКС, иммуно/химиотерапии.

Всем пациентам (n=100) было проведено стандартное обследование согласно действующим временными клиническим рекомендациям МЗ РФ «Профилактика, диагностика и лечение новой коронавирусной инфекции (COVID-19)», версия 17 (24.12.2022 г.), а также ПЦР исследование количества РНК SARS-CoV-2 в мазке со слизистой из носо/ротоглотки, фекалиях и в сыворотке крови с забором материала в день госпитализации и при выписке из стационара.

Таблица 1. Методы и объем исследований

<i>Методы исследования</i>	<i>Характеристика исследований</i>	<i>Объем</i>
Клинические	Работа с медицинской документацией	324 карты
	Анкетирование пациентов в динамике в ПР и ЧМ	176
	Сбор анамнеза и жалоб, физикальный осмотр ежедневно в период стационарного лечения и ЧМ	100 больных
Лабораторные	Клинический анализ крови и расчет интегральных гематологических индексов (ИСЛМ, ТЛИ), показателей системного воспаления (МП, CLR, SIRI, SII, AISI) в ОП, ПР, ЧМ	276
	Биохимический анализ крови (мочевина, креатинин, глюкоза, АЛТ, АСТ, альбумин, ЛДГ, ферритина, СРБ) в ОП, ПР, ЧМ	276
	Коагулограмма (фибриноген, протромбиновое время, Д-димер) в ОП, ПР, ЧМ	276
Иммуноологические	Иммуноферментный анализ концентрации цитокинов (МIP-1 α , МIP-1 β , IL-12), sCD14 в ОП, ПР, ЧМ	276
Молекулярно-генетические	Количественный анализ РНК SARS-CoV-2 в мазках из носо/ротоглотки в ОП	100
	Качественный анализ РНК SARS-CoV-2 в мазках из носо/ротоглотки в ОП и ПР	200
	Количественный анализ РНК SARS-CoV-2 в сыворотке крови в ОП и ПР	200
	Количественный анализ РНК SARS-CoV-2 в кале в ОП и ПР	200
	Количественная оценка состояния микробиоценоза толстого кишечника в ОП, ПР, ЧМ; расчет индекса разнообразия Шеннона, индекса разнообразия Симпсона	276 276 276
Микробиологические	Определение дисбактериоза толстого кишечника; расчет индекса колонизационной резистентности (ИКР)	276 276
	Микробиологическое исследование мокроты и мочи	18 6
Инструментальные	Пульсоксиметрия ежедневно в стационаре КТ органов грудной клетки в ОП и ПР	135
	ЭКГ, Эхокардиография, УЗИ органов брюшной (по показаниям)	54

Примечание: ОП – острый период; ПР – период реконвалесценции; ЧМ – через месяц после выписки из стационара

У всех госпитализированных пациентов определены МIP-1 α , МIP-1 β , sCD14, IL-12 в разные периоды заболевания, а также взаимосвязи нарушений микробиоценоза с

клиническими и иммунологическими параметрами. Проведена оценка количественного состава микробиоценоза толстого кишечника методом ПЦР и классическим микробиологическим методом в группах сравнения в зависимости от уровня вирусной нагрузки в респираторном и кишечном трактах. Проанализирован состав кишечного микробиоценоза у больных COVID-19 с учётом влияния различных схем терапии и обоснована необходимость коррекции выявленных нарушений.

При выписке из стационара 42 реконвалесцентам COVID-19 был назначен комплексный пробиотический продукт на основе *Lactiplantibacillus plantarum* KABP022/ KABP023/KABP033 и *Pediococcus acidilactici* KABP021 для коррекции выявленных нарушений. «Ковирвин (AB21 D+) выпускается в капсулах, зарегистрирован в РФ. Среднее содержание в одной капсule *Lactiplantibacillus plantarum* - 1,66·109 КОЕ, *Pediococcus acidilactici* - 3,33·10⁸ КОЕ, витамина D3 - 10 мкг, (производство AB-BIOTICS S.A., Испания). Пробиотик назначался в соответствии с инструкцией: по одной капсule один раз в сутки во время приёма пищи в течение 30 дней. Для оценки эффективности проводимой коррекции через месяц после выписки анализировали динамику иммунологических показателей и состояние кишечного микробиоценоза. Группу сравнения составили 34 реконвалесцента COVID-19.

Клинико-лабораторные методы. Всем пациентам проводилось стандартное обследование, включавшее ежедневный осмотр, сбор жалоб и комплексную оценку общего состояния. Выполнялся клинический анализ крови с расчетом интегральных гематологических индексов (ИСЛМ = лимфоциты ÷ моноциты, норма: 5,34±0,59 у.е.; ТЛИ = тромбоциты ÷ лимфоциты, норма: 106 -150 у.е.) и индексов системного воспаления (SIRI= нейтрофилы × моноциты ÷ лимфоциты; SII = нейтрофилы × тромбоциты ÷ лимфоциты; AISI = нейтрофилы × моноциты × тромбоциты ÷ лимфоциты; CLR= СРБ ÷ лимфоциты), а также биохимический анализ крови и коагулограмма.

Молекулярно-генетический метод. Определение количества РНК SARS-CoV-2 в биобразцах проводилось методом ОТ-ПЦР с гибридизационно-флуоресцентной детекцией продуктов амплификации в режиме реального времени (РНК \geq 10³ - $<5 \times 10^4$ - низкая вирусная нагрузка (ВН); РНК $\geq 5 \times 10^4$ - $<10^6$ - средняя ВН; РНК $\geq 10^6$ - $<10^8$ - высокая ВН) с применением набора реагентов «АмплиСенс® COVID-19-FL» производства ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора. Количественный состав микробиоценоза толстого кишечника оценивали в динамике методом ПЦР (набор «КОЛОНОФЛОР-16»); видовое разнообразие — по индексам Шеннона и Симпсона.

Иммунологический метод. Анализировали иммунологические показатели (MIP-1 α , MIP-1 β , sCD14, IL-12) с использованием ИФА наборов согласно инструкции (референсные значения к каждому набору): RayBio® «Human MIP-1 Alpha ELISA» ($<15,6$ пг/мл, США) и «Human MIP-1beta ELISA» ($<7,8$ пг/мл, США), Hycult Biotech «sCD14, Human, ELISA» (2–4 мкг/мл, США), Invitrogen™ «Human IL-12 p70» ($<4,9$ пг/мл, США).

Микробиологический метод. Определение дисбактериоза толстого кишечника проводилось согласно ОСТ 91500.11.0004-2003 «Протокол ведения больных. Дисбактериоз кишечника», а также рассчитывался индекс колонизационной резистентности (ИКР) [Горелов А.В., Плоскирева А.А., 2010].

Статистические методы. Сбор, обработка, систематизация и визуализация данных выполнялись в Microsoft Excel 2018. Статистический анализ проводился в программе StatTech v. 4.2.8 (разработчик – ООО «Статтех», Россия). При проверке гипотез использовался порог значимости 0,05.

РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

Динамика показателей микробиоценоза кишечника у пациентов с COVID-19 среднетяжелого течения в зависимости от вирусной нагрузки SARS-CoV-2 в респираторном и кишечном локусах

В группе наблюдения 100 пациентов, из них 59 (59%) мужчин и 41 (41%) женщины. Преобладали пациенты пожилого возраста (46%), госпитализированные на 4-е сутки заболевания, с жалобами на лихорадку (87%), кашель (57%) и астению (51%). У 42% отмечался отягощённый преморбидный фон, преимущественно артериальная гипертензия (41%), ожирение (11%) и сахарный диабет 2 типа (11%).

Низкая ВН в мазках из ротоглотки выявлена у 57%, средняя ВН - у 43%. В кале выявлена только низкая вирусная нагрузка, в остром периоде - в 22% и в период реконвалесценции - в 21% случаев. В сыворотке крови РНК вируса SARS-CoV-2 в оба периода заболевания не обнаружена. По данным КТ ОГК при поступлении в инфекционный стационар установлено: КТ-1 - у 16% пациентов, КТ-2 - у 8%; вирусно-бактериальная пневмония - у 17% больных, а у 59% пациентов поражения лёгких не выявлено.

В ходе работы проведено комплексное исследование микробиоценоза толстого кишечника, который характеризовался выраженным дефицитом облигатных бактерий - *Bifidobacterium* spp. (80%) и *Faecalibacterium prausnitzii* (30%) - при росте условно-патогенных микроорганизмов (*Enterobacter* spp. 81%, *C. difficile* 14%, *Candida* spp. 8%, *Klebsiella* spp. 6%) (Рисунок 1).

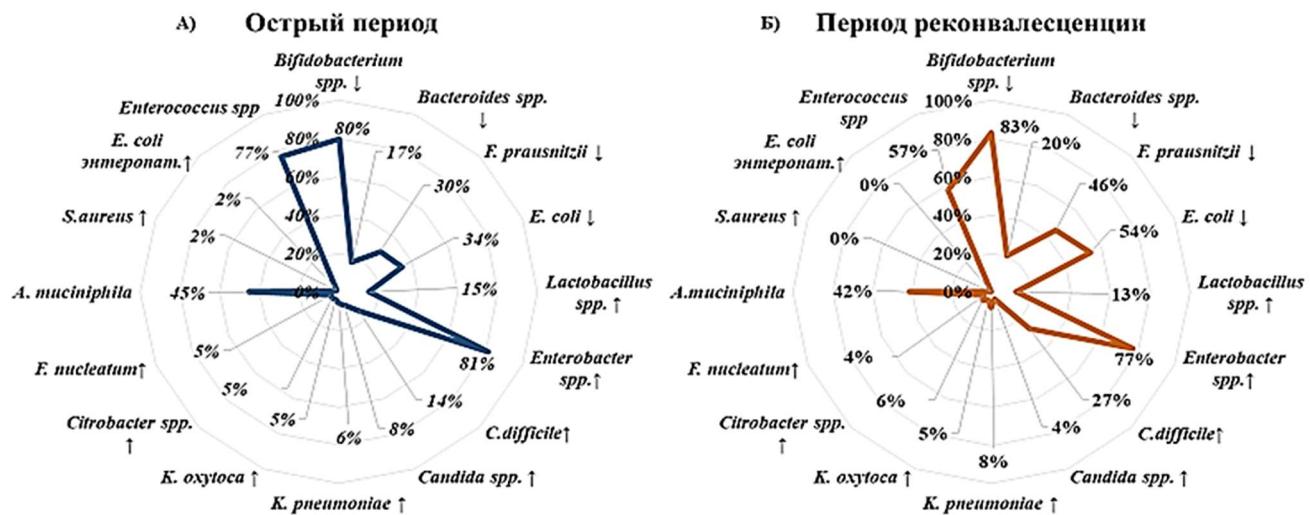


Рисунок 1. Частота выявления нарушений микробиоценоза толстого кишечника при COVID-19 среднетяжелого течения ПЦР методом в остром периоде (Рисунок 1А) и периоде реконвалесценции (Рисунок 1Б)

Примечание: ↑ - выше референсных значений; ↓ - ниже референсных значений

Следует отметить разные результаты анализа количества *Lactobacillus* spp. методами ПЦР и микробиологического посева (Рисунок 1, Рисунок 2). По данным ПЦР-анализа при госпитализации ни у одного пациента не отмечено снижения численности *Lactobacillus* spp, а у 15% - показатели выше референсных значений.

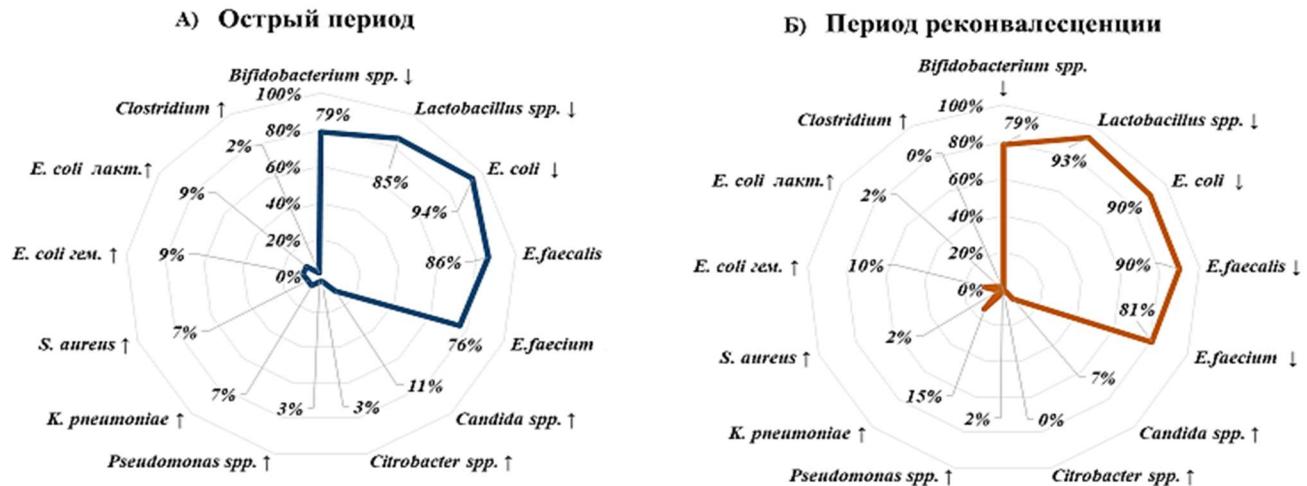


Рисунок 2. Частота выявления нарушений микробиоценоза толстого кишечника при COVID-19 среднетяжелого течения микробиологическим методом в остром периоде (Рисунок 2А) и периоде реконвалесценции (Рисунок 2Б)

Примечание: ↑ - выше референсных значений; ↓ - ниже референсных значений

В то же время микробиологический метод выявил дефицит *Lactobacillus* spp. у 85% пациентов в остром периоде (Рисунок 2). Вероятным объяснением данного расхождения является то, что ПЦР определяет как живые, так и фрагментированные клетки, включая нежизнеспособные формы, и, возможно, участие отдельных штаммов *Lactobacillus* spp. в замещении утраченной симбиотической флоры.

Результаты исследования микробиоценоза кишечника в динамике демонстрируют усугубление дисбиотических нарушений в периоде реконвалесценции. Наблюдается достоверное снижение копий/мл *Bifidobacterium* spp. ($p = 0,047$), *Faecalibacterium prausnitzii* ($p = 0,021$), *Escherichia coli* ($p = 0,012$) и *Enterococcus faecalis* ($p = 0,049$), тогда как уровень *Enterococcus* spp. возрастал ($p = 0,003$).

Сравнительный анализ состава кишечного микробиоценоза в зависимости от уровня вирусной нагрузки РНК SARS-CoV-2 в носо/ротоглотки показал, что у пациентов со средней ВН в остром периоде уровень *Escherichia coli* был ниже ($p = 0,012$), а *Akkermansia muciniphila* - выше ($p = 0,045$), чем у больных с низкой ВН (Рисунок 3).

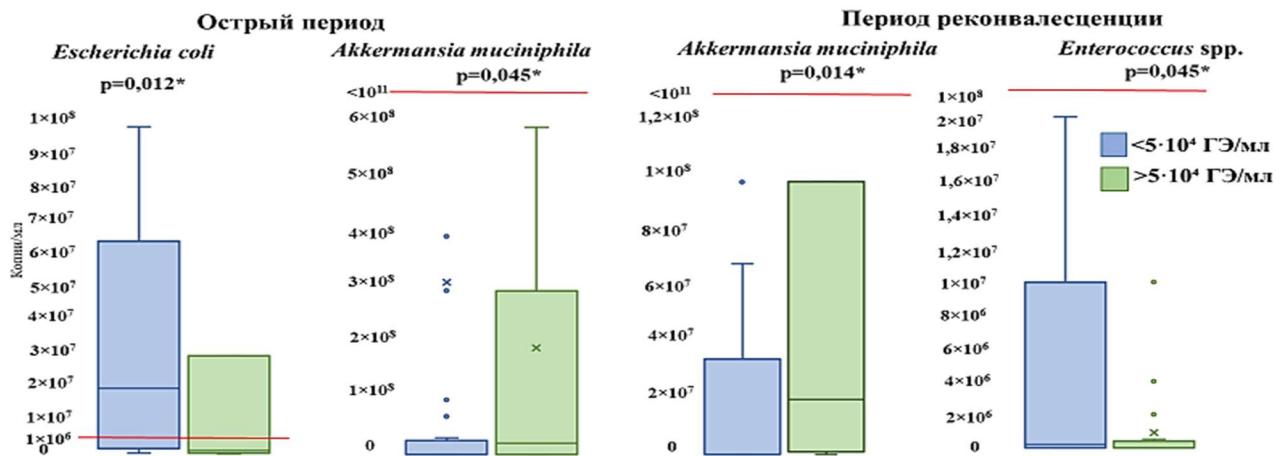


Рисунок 3. Сравнительный анализ значимых таксонов микробиоценоза кишечника в зависимости от вирусной нагрузки SARS-CoV-2 в ротоглотке

Примечание: красный – нижняя граница референса

В динамике у пациентов с низкой ВН наблюдалось более выраженное снижение ключевых компонентов симбиотической флоры (Рисунок 4). Количество *Bifidobacterium* spp. достоверно снизилось с $1,0 \times 10^8$ (Q1–Q3: $4,0 \times 10^7$ – $1,0 \times 10^9$) до $2,0 \times 10^7$ копий/мл (Q1–Q3: $1,0 \times 10^6$ – $3,0 \times 10^8$), $p = 0,032$. Аналогичная динамика зафиксирована и по *Escherichia coli* ($p = 0,004$), *Faecalibacterium prausnitzii* ($p=0,034$), *Enterobacter* spp. ($p = 0,031$). В то же время отмечается статистически значимое увеличение количества *Enterococcus* spp. ($p = 0,006$) (Рисунок 4).

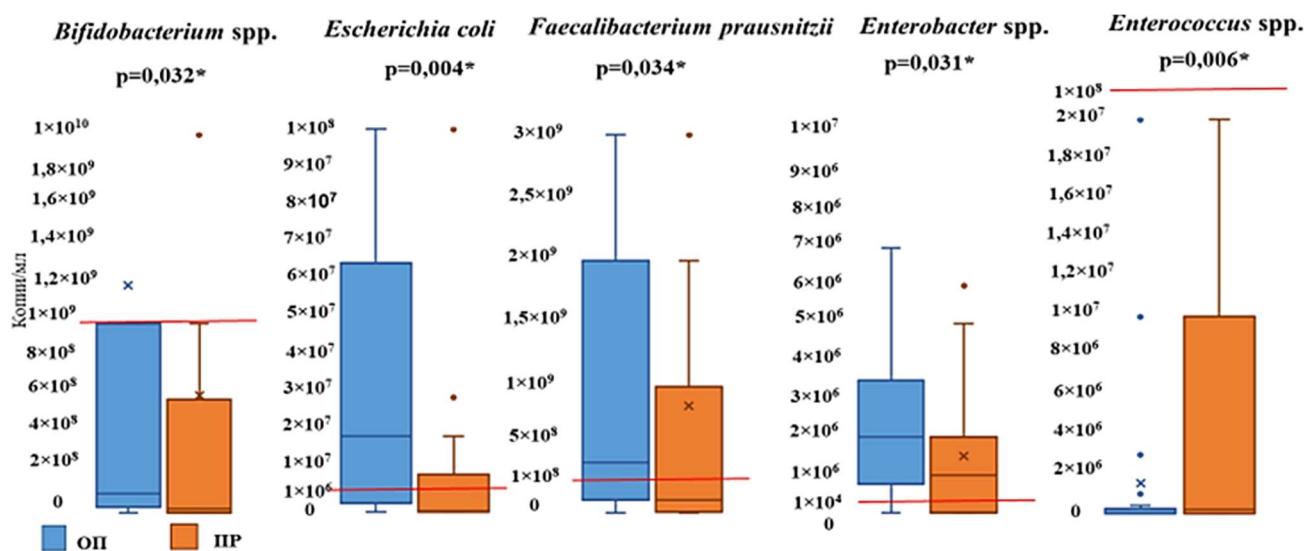


Рисунок 4. Динамика состава микробиоценоза кишечника при низкой вирусной нагрузке SARS-CoV-2 в ротоглотке

Примечание: ОП – острый период; ПР – период реконвалесценции; красный – нижняя граница референса

В период реконвалесценции у пациентов со средней ВН продолжали определяться более высокие уровни *Akkermansia muciniphila* $Me = 1,5 \times 10^7$ копий/мл (Q1–Q3: $1,6 \times 10^6$ – $9,2 \times 10^7$) по сравнению с пациентами с низкой ВН ($p=0,014$), при этом у пациентов с низкой ВН количество *Enterococcus* spp. увеличилось ($p = 0,045$).

Желудочно-кишечный тракт играет важную роль в патогенезе многих инфекционных заболеваний, а его микробиоценоз всё чаще признаётся важнейшим фактором, влияющим на течение COVID-19.

У пациентов с выявленной в кале РНК SARS-CoV-2 в остром периоде наблюдался выраженный дисбиоз, при этом в динамике его усиление не отмечалось.

В группе пациентов с отрицательным результатом РНК SARS-CoV-2 в кале (как в остром периоде, так и периоде реконвалесценции) наблюдалось выраженное изменение микробиоценоза в динамике заболевания: достоверное снижение количества *Bifidobacterium* spp. ($p = 0,045$) и *Escherichia coli* ($p = 0,015$) при одновременном достоверном увеличении численности *Enterococcus* spp. ($p = 0,014$).

В группе, где вирусная РНК впервые определялась в периоде реконвалесценции, отмечаются характерные сдвиги микробиоценоза, выражющиеся в снижении *Bifidobacterium* spp. ($p=0,014$) и нарастании количества *Enterococcus* spp. ($p=0,027$) (Рисунок 5).

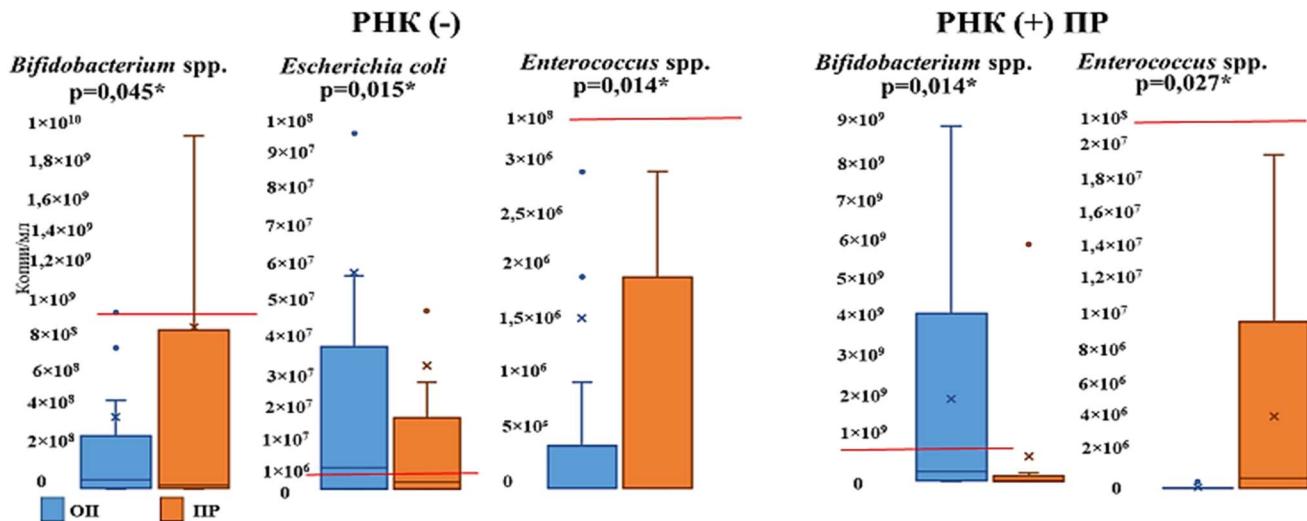


Рисунок 5. Динамика состава микробиоценоза кишечника в зависимости от наличия РНК SARS-CoV-2 в кале

Примечание: ОП – острый период; ПР – период реконвалесценции; красный – нижняя граница референса

Сравнительный анализ альфа-разнообразия в остром периоде не выявил достоверных различий в зависимости от наличия РНК SARS-CoV-2 в кале. У пациентов с выявленной РНК SARS-CoV-2 в периоде реконвалесценции медиана индекса Шеннона была ниже - 0,28 (Q1-Q3: 0,08–0,47) по сравнению с 0,62 (Q1–Q3: 0,25–0,98) в группе с отрицательным результатом ($p = 0,033$). В то же время индекс Симпсона оказался достоверно выше - 0,88 (Q1-Q3: 0,78–0,97) против 0,71 при ПЦР отрицательном результате (Q1–Q3: 0,48–0,90), $p = 0,039$, что отражает снижение видового богатства таксонов при наличии вирусной РНК в кишечном локусе.

Взаимосвязи клинических проявлений и осложнений с нарушением микробиоценоза кишечника у больных COVID-19

У пациентов с COVID-19 среднетяжёлого течения клинические проявления заболевания взаимосвязаны с микробиоценозом толстого кишечника: фебрильная лихорадка ассоциирована со снижением *Lactobacillus* spp. в остром периоде ($r = -0,426$; AUC = 0,764; $p <0,001$) и альфа-разнообразия в периоде реконвалесценции, что проявляется уменьшением индекса Шеннона ($r = -0,493$; AUC = 0,777; $p = 0,002$) и увеличением индекса Симпсона ($r = 0,518$; AUC = 0,773; $p = 0,002$) по данным ROC-анализа и отражает уменьшение таксономического разнообразия на фоне воспаления.

Выраженная слабость ассоциируется с повышением уровня *Enterobacter* spp. (AUC = 0,665; $p = 0,047$), диспепсические жалобы - с дефицитом *Bifidobacterium* spp. ниже 1×10^7 копий/мл (AUC = 0,761; $p = 0,009$), а диарея - с *Faecalibacterium prausnitzii* менее 1×10^8 копий/мл (AUC = 0,823; $p = 0,031$).

Наиболее частым осложнением у пациентов с COVID-19 среднетяжелого течения является пневмония. Анализ жалоб при COVID-19 показал, что пациенты с поражением легких чаще жаловались на кашель и одышку ($p <0,001$) и значимо реже – на дискомфорт в животе, тошноту и диарею. Кроме респираторных нарушений при поражении лёгких наблюдались более высокий уровень тромбоцитов ($Me = 220 \times 10^9/\text{л}$ (Q1-3:169–331) против $190 \times 10^9/\text{л}$ (Q1-3:170,0–231), $p = 0,027$) и повышение индекса CLR ($Me = 24,7$ усл. ед. (Q1-3: 10,2 - 89,8) против 15,1 усл. ед. (Q1-3: 8,9 – 45,4), $p = 0,038$) в группе без

пневмонии. Воспалительные изменения при COVID-19 сопровождаются выраженными сдвигами в составе кишечного микробиоценоза.

Развитие пневмонии, согласно результатам ROC-анализа, ассоциировано с достоверным снижением альфа-разнообразия (индекс Шеннона: AUC = 0,693, p = 0,009; индекс Симпсона: AUC = 0,675, p = 0,018), а также с более низкой частотой выявления *Akkermansia muciniphila* (38% против 65,8%, p = 0,031) и дефицитом *Escherichia coli* (в 72,7% случаев против 34,6%, p = 0,010). Вирусно-бактериальная пневмония характеризуется более высокой частотой обнаружения *Klebsiella pneumoniae* в остром периоде (21,4% против 2%, p = 0,013) и достоверно прогнозирует в периоде реконвалесценции дефицит *Bifidobacterium* spp. (AUC = 0,711, p = 0,026), как и значимое снижение количества *Escherichia coli* (AUC = 0,713, p = 0,023). Развитие гидроторакса связано с повышением индекса соотношения *Bacteroides* spp. и *Faecalibacterium prausnitzii* более 100 копий/мл (AUC = 0,761, p = 0,012), а также со снижением уровня *Escherichia coli* менее 1×10^5 копий/мл (AUC = 0,771, p = 0,011), что подтверждается данными ROC-анализа.

Полученные данные демонстрируют, что характер клинических проявлений и развитие осложнений при COVID-19 взаимосвязаны с нарушением кишечного микробиоценоза, что подчёркивает его значимую роль в патогенезе заболевания.

Показатели иммунного воспаления (MIP-1 α , MIP-1 β , sCD14, IL-12) и интегральные гематологические индексы при COVID-19 и их взаимосвязи с нарушением микробиоценоза кишечника

В патогенезе коронавирусной инфекции COVID-19 ключевое значение имеет активация врождённого и адаптивного звеньев иммунного ответа, сопровождающегося развитием системного воспаления. Анализ динамики значимых интегральных гематологических индексов показал, что в остром периоде ИСЛМ был снижен у 99% пациентов, а в период реконвалесценции регистрировали его нормализацию у трети пациентов (p < 0,001). ТЛИ повышен в 51% случаев, достоверных изменений к моменту выписки не наблюдалось (p = 0,344). Наиболее выраженная динамика наблюдалась по индексам системного воспаления, при этом значимое снижение отмечалось по CLR-медиана снизилась в 6,5 раз (p < 0,001) (Таблица 2).

Таблица 2. Динамика гематологических интегральных индексов и показателей системного воспалительного ответа при COVID-19 среднетяжелого течения

Показатель	Референс	Острый период заболевания (n=100)		Период реконвалесценции (n=93)		Различие в группах сравнения (p)
		Ме	Q ₁ – Q ₃	Ме	Q ₁ – Q ₃	
ИСЛМ	5,34±0,59у.е	1,9	1,3–2,4	3,2	2,0–4,9	<0,001
ТЛИ	106–150 у.е.	154,5	106,0–215,8	151,6	109,4–231,0	0,344
CLR	–	16,7	9,0–60,3	2,6	0,0–6,3	<0,001
SIRI	–	3,2	1,6–5,8	1,1	0,5–2,5	<0,001
SII	–	740,2	441,3–1430,1	488,9	313,7–1116,6	0,007
AISI	–	567,9	317,2–1317,3	261,1	137,1–823,8	<0,001

В рамках исследования были проанализированы уровни MIP-1 α , MIP-1 β , IL-12 и sCD14 в динамике, что позволило более детально охарактеризовать иммуновоспалительные изменения у пациентов с COVID-19. В остром периоде заболевания медиана концентрации MIP-1 α в сыворотке крови составила 126,8 пг/мл (Q1–

Q3: 62,5–309,7 пг/мл). В период реконвалесценции уровень МИР-1 α оставался стабильно высоким $Мe=129,3$ пг/мл (Q1–Q3: 79,3–236,8 пг/мл), наблюдалась тенденция к снижению его концентрации у 86% пациентов, которая оставалась значимо выше референсных значений ($p <0,001$). Хемокин МИР-1 β , наряду с МИР-1 α , является одним из ключевых медиаторов воспаления, активно вовлечённых в регуляцию клеточного иммунного ответа. Повышенная концентрация МИР-1 β способствует активации цитокинового каскада и может усиливать тканевое воспаление. В остром периоде COVID-19 уровень МИР-1 β достоверно повышен в 100% случаев ($Мe =156,85$; Q1–Q3: 93,3–334,8 пг/мл), что подтверждает наличие системного воспалительного ответа. В период реконвалесценции медиана МИР-1 β составила 59,1 пг/мл (Q1–Q3: 109,7–263,3 пг/мл) и в 97% случаев оставалась значимо выше условной нормы ($p <0,001$).

Растворимая форма рецептора CD14 (sCD14) является важным маркером активации моноцитов, макрофагов и в остром периоде COVID-19 у 86% больных его уровень был достоверно повышен - медиана составила 8,1 мкг/мл (Q1–Q3: 6,4–8,4 мкг/мл, $p <0,001$). В динамике отмечается двукратное снижение уровня sCD14 до 4,0 мкг/мл (Q1–Q3: 3,4–7,9 мкг/мл), в периоде реконвалесценции показатель sCD14 был выше нормы у 47% исследуемых ($p <0,001$). В остром периоде у пациентов с COVID-19 медиана концентрации IL-12 составила 18,0 пг/мл (Q1–Q3: 6,0–35,4 пг/мл), при этом у 83% обследованных регистрировался уровень, превышающий референсные значения ($p <0,001$). В периоде реконвалесценции уровень IL-12 несколько снизился до $Мe=13,7$ пг/мл (Q1–Q3: 6,7–28,8 пг/мл), повышенные показатели в динамике наблюдали у 78% пациентов.

Проведённый ROC-анализ позволил выявить ряд статистически значимых взаимосвязей иммуновоспалительных показателей с некоторыми таксонами микробиоценоза кишечника и определить их пороговые значения (Таблица 3). Так, ТЛИ выше 195 усл. ед ($AUC = 0,766$; $p=0,010$) показал прогностическую значимость в отношении выделения РНК SARS CoV-2 с калом в период реконвалесценции.

Таблица 3. Результаты ROC-анализа показателей системного воспаления как маркеров нарушения микробиоценоза кишечника при COVID-19

Прогностический признак	Прогнозируемый параметр	Чувствительность	Специфичность	Пороговое значение
<i>Lactobacillus</i> spp.	МИР-1 α	77,4%	87,5%	85,5 пг/мл
<i>Lactobacillus</i> spp.	МИР-1 β	74,2%	87,5%	114,8 пг/мл
<i>Bifidobacterium</i> spp.	SIRI	65,0%	75,0%	2,9 усл. ед.
<i>Bifidobacterium</i> spp.	AISI	75,0%	75,0%	470,4 усл.ед
РНК в кале	ТЛИ	70,0%	84,2%,	195,4 усл.ед

Установлено, что SIRI выше 2,9 усл. ед ($AUC = 0,731$; $p=0,041$) и AISI выше 470 усл. ед ($AUC = 0,772$; $p=0,016$) являются предикторами дефицита *Bifidobacterium* spp. Повышение МИР-1 α более 85,5 пг/мл ($AUC = 0,847$; $p=0,003$) и МИР-1 β более 114,8 пг/мл ($AUC= 0,819$; $p=0,006$) прогнозируют дефицит *Lactobacillus* spp. (по результатам микробиологического исследования).

Анализ влияния фармакотерапии на клинико-иммунологические, микробиологические показатели и обоснование метода оптимизации тактики ведения пациентов с COVID-19 среднетяжелого течения

Высокая концентрация иммунологических показателей МИР-1 α (86%), МИР-1 β (97%), sCD14 (86%) и IL-12 (78%) сохраняется и после клинического выздоровления у

большинства пациентов ($p <0,001$). Считается, что терапия на амбулаторном и стационарном этапах (противовирусные, антибактериальные препараты, ингибиторы янус-киназ) способна оказывать значимое влияние как на иммунологические показатели, так и на состав микробиоценоза кишечника.

Оценивая влияние терапии на состояние микробиоценоза кишечника у пациентов с COVID-19 среднетяжелого течения отмечено, что до госпитализации 43% больных обращались за медицинской помощью и на амбулаторном этапе получали противовирусные препараты (14%), антибактериальную терапию (в основном, Левофлоксацин) 18%. При этом 2% получали более одного препарата на догоспитальном этапе, а 4% - одновременно противовирусную и антибактериальную терапию.

В условиях стационара противовирусные препараты назначены всем пациентам (100%), чаще - Фавипиравир, противовирусную терапию совместно с антибактериальной - 65% (преимущественно назначали Левофлоксацин/Цефтриаксон), только противовирусные и ингибиторы янус-киназ (Барицитиниб) получали 11% пациентов.

Анализ основных показателей крови и индексов системного воспаления в зависимости от проводимой терапии не выявил значимых различий. При сравнительном анализе иммунологических показателей установлено, что уровни MIP-1 α , MIP-1 β , sCD14, IL-12 не демонстрируют достоверных различий в зависимости от применяемой терапии как на амбулаторном этапе, так и в стационаре.

У пациентов с COVID-19 на амбулаторном этапе при оценке влияния терапии на состав микробиоценоза кишечника по данным ПЦР-анализа и микробиологического метода статистически значимых различий в зависимости от лечения не установлено.

Анализ состава микробиоценоза кишечника в зависимости от схем лечения в стационаре показал, что достоверно более выраженный дефицит *Akkermansia muciniphila* наблюдается у пациентов, получавших одновременно противовирусную и антибактериальную терапию: $M_e=0,0$ копий/мл ($Q_1-Q_3: 0,0-1,0 \times 10^7$). При противовирусной терапии в сочетании с ингибиторами янус-киназ концентрация *Akkermansia muciniphila* значительно выше - $7,5 \times 10^7$ копий/мл ($Q_1-Q_3: 3,2 \times 10^7-1,5 \times 10^8$), а при применении только противовирусной терапии - медиана составила $3,0 \times 10^7$ копий/мл ($Q_1-Q_3: 4,2 \times 10^6-1,0 \times 10^9$). Различия между группами были статистически значимыми ($p = 0,042$), что указывает на существенное угнетение данного комменсалы при включении антибиотиков в схему терапии. В этой же группе пациентов отмечено повышение уровня *Enterococcus* spp. $M_e=5,0 \times 10^8$ копий/мл ($Q_1-Q_3: 0,0-1,0 \times 10^7$) по сравнению с другими группами, где его количество было достоверно ниже: $M_e=0,0$ копий/мл ($Q_1-Q_3: 0,0-0,0$ и $M_e=0,0$ копий/мл ($Q_1-Q_3: 0,0-1,0 \times 10^8$, $p=0,035$)). Следует подчеркнуть, что на уровень ключевых представителей симбиотической флоры проводимая антибактериальная терапия статистически значимого влияния не оказывает.

В ходе исследования показано, что в период реконвалесценции у пациентов с COVID-19 среднетяжелого течения в 88% случаев отмечается выраженная астенизация, более чем у половины - мышечные боли, ломота и боли в суставах, в 42% - снижение концентрации внимания и памяти, у четверти - дискомфорт в животе, газообразование, неустойчивый стул и тошнота, снижение аппетита; потеря вкуса/обоняния - в 16% случаев, при этом кашель и одышка отмечаются в 20% случаев. Оценка по шкале тревоги и депрессии показала, что у трети пациентов наблюдается тревожное состояние (36,8%), а депрессивные симптомы - у 21,5% пациентов (Рисунок 6).

Полученные результаты исследования свидетельствуют о системном характере воспаления при COVID-19 и существенных взаимосвязях иммунологических биомаркеров воспаления с клинико-лабораторными показателями и бактериальными компонентами кишечника. Учитывая имеющиеся данные зарубежных исследователей о благоприятном влиянии пробиотических вмешательств при COVID-19, в период реконвалесценции (в день выписки) участникам исследования (n=42) назначали пробиотический продукт. Основную группу - группу 1 - составили эти 42 пациента. Группу сравнения – группу 2 - составили 34 реконвалесцента COVID-19.

Для интегральной оценки микробиологических и иммунологических показателей на фоне приема комплексного пробиотика в нашем исследовании выполнен комплексный анализ в динамике: одновременно оценивались таксономический состав микробиоценоза кишечника методом ПЦР и микробиологическим методом, концентрации ключевых хемокинов и цитокинов (MIP-1 α , MIP-1 β , IL-12), sCD14, интегральные гематологические индексы, а также клинические симптомы и проявления постинфекционного синдрома, показатели тревоги/депрессии по шкале HADS.

Отмечено, что прием пробиотического продукта улучшает течение периода реконвалесценции. Так, достоверно быстрее купируются клинические постинфекционные проявления: уменьшаются выраженность кашля ($p=0,008$), слабости, усталости и быстрой утомляемости ($p <0,001$), снижается частота тошноты и потери аппетита ($p=0,004$), боли и дискомфорт в животе, нарушения стула ($p=0,016$). Также отмечено значимое снижение уровня тревоги ($p=0,002$) и депрессии ($p=0,031$) по шкале HADS (Рисунок 6).

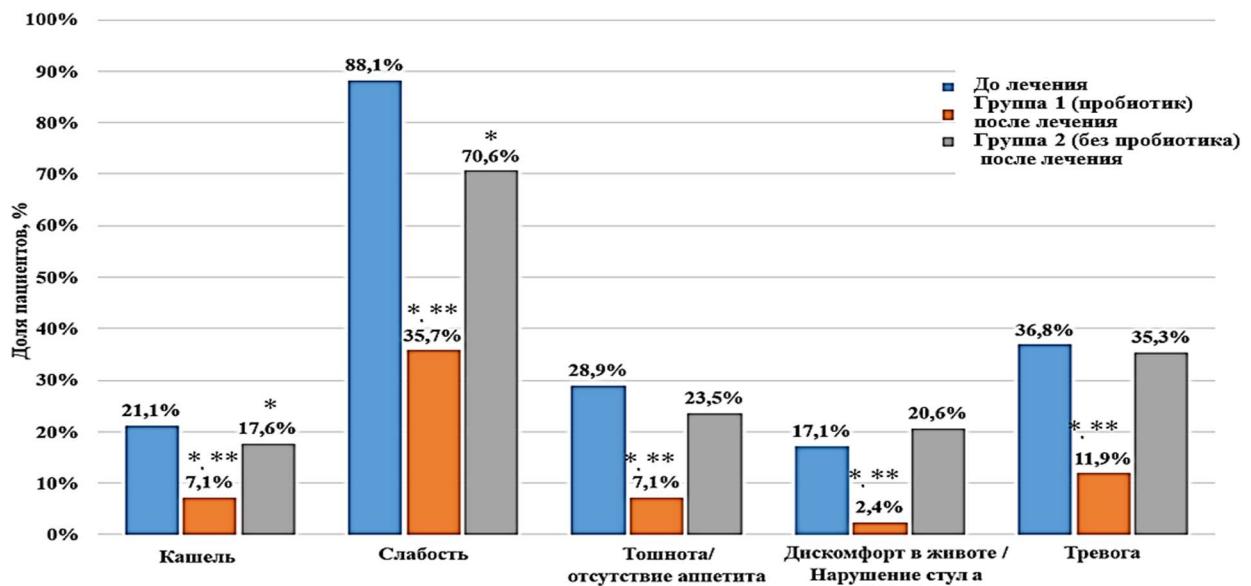


Рисунок 6. Анализ динамики симптомов у реконвалесцентов COVID-19 в группах сравнения

Примечание: * -статистически значимые различия по отношению к данным до лечения ($p <0,05$); ** - статистически значимые различия между сравниваемыми группами после лечения ($p <0,05$)

Проведённый анализ динамики гематологических индексов показал, что назначение пробиотического продукта не оказывало существенного влияния на большинство изучаемых индексов. Исключением оказался ИСЛМ: у пациентов группы 1

отмечается нормализация данного индекса ($p=0,029$), что может свидетельствовать о благоприятном влиянии пробиотической терапии на клеточные компоненты иммунного ответа. Также у пациентов этой группы отмечено достоверное снижение выраженности системной воспалительной реакции, что проявляется в снижении концентрации МИР-1 α ($p <0,001$), МИР-1 β ($p <0,001$) и IL-12 ($p=0,027$) (Таблица 4).

По данным ПЦР-анализа у пациентов из группы 1 отмечалась тенденция к повышению содержания *Lactobacillus* spp., *Faecalibacterium prausnitzii* и снижению доли условно-патогенных микроорганизмов (*Enterobacter* spp., *Enterococcus* spp.), при этом уровень *Bifidobacterium* spp. был достоверно выше - $3,1 \times 10^8$ (Q1- Q3: $2,4 \times 10^7 - 1,1 \times 10^9$) против $9,0 \times 10^6$ (Q1- Q3: $1,0 \times 10^6 - 2,5 \times 10^8$), $p <0,001$ в группе 2.

Микробиологический метод показал, что применение пробиотического продукта способствует восстановлению микробного баланса, что проявляется тенденцией к увеличению численности представителей облигатной симбиотической флоры.

Таблица 4. Сравнительный анализ динамики иммунологических показателей и гематологических индексов в зависимости от приема Ковирвина (АВ21 D+)

Показатель	В момент выписки (n=76)			Группа 1 (n=42) (пробиотик)			Группа 2 (n=34) (без пробиотика)			p
	Ме	Q ₁ -Q ₃ (копии/мл)	Частота выявленных нарушений %	Ме	Q ₁ -Q ₃ (копии/мл)	Частота выявленных нарушений %	Ме	Q ₁ -Q ₃ (копии/мл)	Частота выявленных нарушений %	
МИР-1 α	129,3	79,3 - 236,8	86,1% ↑нормы	37,4	10,4 - 62,2	24,4% ↑нормы	82,5	74,4- 116,5	68,6% ↑нормы	p1<0,001 p2=0,083 p3=0,050
МИР-1 β	159,1	124,4- 276,3	97,2% ↑нормы	52,7	39,1 - 94,4	39,5% ↑нормы	125,4	110,4- 148,2	64,5% ↑нормы	p1<0,001 p2=0,087 p3=0,022
sCD14	4,0	3,4 - 7,9	47,2% ↑нормы	3,4	2,8 - 5,1	12,6 ↑нормы	3,9	2,4 - 5,7	27,4% ↑нормы	p1=0,142 p2=0,391 p3=0,317
IL-12	13,7	11,7 - 28,8	77,8% ↑нормы	5,7	4,5 - 8,4	31,4% ↑нормы	10,9	9,1 - 16,8	57,2% ↑нормы	p1=0,027 p2=0,214 p3=0,061
ИСЛ M	3,2	2,0 - 4,9	71,8 % ↓нормы	4,5	4,2 - 5,6	51,6% ↓нормы	3,2	3,9 - 4,9	46,2 % ↓нормы	p1=0,029 p2=0,412 p3=0,072

p1, p2 – статистически значимые различия по отношению показателей группы 1 и 2 к данным до лечения; p3 - статистически значимые различия при сравнении показателей между группами 1 и 2

Результаты исследования позволили научно обосновать и разработать алгоритм тактики ведения пациентов с COVID-19 для восстановления микробиоценоза, нормализации системного воспаления и поддержки иммунной защиты (Рисунок 7).

Пациентам в остром периоде заболевания с фебрильной лихорадкой, гастроинтестинальным синдромом, выраженной слабостью, пневмонией и признаками системного воспаления (SIRI> 2,9; AISI> 470,4; ТЛИ> 195,4) рекомендуется проведение

исследования микробиоценоза кишечника ПЦР-методом. При выявлении дефицита симбиотических микроорганизмов показано назначение пробиотиков.

В периоде реконвалесценции пациентам с сохраняющимися клиническими симптомами рекомендуется исследование бактериального состава кишечника микробиологическим методом. При выявлении нарушений микробного баланса показано назначение пробиотического продукта AB21 D+ по 1 капсуле в день на протяжении 30 дней. При обнаружении патогенной флоры или избыточного роста условно-патогенной флоры требуется курс противомикробной терапии с учётом результатов чувствительности микроорганизмов к препаратам (антибиотики, бактериофаги, противогрибковые препараты).



Рисунок 7. Алгоритм тактики ведения пациентов с COVID-19

В ходе диссертационного исследования полученные результаты подтверждают взаимосвязь системного воспаления и нарушения микробиоценоза кишечника при COVID-19 и демонстрируют эффективность предложенного, научно обоснованного метода оптимизации тактики ведения пациентов с применением пробиотического комплекса, что способствует снижению воспалительного ответа, восстановлению микробного баланса и улучшению качества жизни реконвалесцентов COVID-19.

Выводы

- У пациентов с COVID-19 среднетяжелого течения выявлена зависимость нарушения микробиоценоза от уровня вирусной нагрузки SARS-CoV-2 в респираторном тракте: в остром периоде у больных со средней вирусной нагрузкой уровень *Escherichia coli* достоверно ниже ($p = 0,012$), а *Akkermansia muciniphila* достоверно выше ($p = 0,045$) по сравнению с показателями при низкой вирусной нагрузке, при этом уровень *Bifidobacterium* spp. (80%) и *Faecalibacterium prausnitzii* (30%) значительно снижены на фоне увеличения *Enterobacter* spp. (81%) у всех наблюдаемых. В период

реконвалесценции дисбиоз значимо усиливается в группе с низкой вирусной нагрузкой. Обнаружение вируса SARS-CoV-2 в кале, преимущественно у пациентов молодого возраста (Ме = 37 лет; Q1–Q3:35,2–55,5), сопровождалось уменьшением альфа-разнообразия микробиоценоза (индекс Шеннона $p=0,033$; индекс Симпсона $p = 0,039$) и в динамике проявлялось снижением *Bifidobacterium* spp. ($p=0,014$) и увеличением количества *Enterococcus* spp. ($p = 0,027$).

2. Установлено, что клинические проявления COVID-19 среднетяжелого течения и развитие осложнений взаимосвязаны с нарушением микробиоценоза кишечника: фебрильная лихорадка ассоциируется со снижением содержания *Lactobacillus* spp. менее 1×10^7 копий/мл (AUC = 0,764; $p < 0,001$), диспепсические расстройства - с уменьшением *Bifidobacterium* spp. ниже 1×10^7 копий/мл (AUC=0,761; $p = 0,009$), а диарея - с *Faecalibacterium prausnitzii* менее 1×10^8 копий/мл (AUC = 0,823; $p = 0,031$). Развитие пневмонии при COVID-19 сопровождается уменьшением альфа-разнообразия кишечного микробиоценоза (индекс Шеннона =0,573 усл. ед.; AUC = 0,693; $p = 0,009$; индекс Симпсона = 0,764 усл. ед.; AUC = 0,675; $p=0,018$), а развитие гидроторакса - с повышением индекса соотношения *Bacteroides* spp. и *Faecalibacterium prausnitzii* более 100 копий/мл (AUC = 0,761; $p=0,012$).

3. При COVID-19 среднетяжелого течения выраженность системного воспаления характеризуется значимым повышением концентраций МИР-1 α , МИР-1 β , IL-12, sCD14 и показателей интегральных гематологических индексов, что ассоциируется с дефицитом облигатной симбиотической флоры (*Bifidobacterium* spp.). Индексы SIRI $> 2,9$ усл. ед. (AUC = 0,731; $p = 0,041$) и AISI $> 470,4$ усл. ед. (AUC = 0,772; $p = 0,016$) служат предикторами дефицита *Bifidobacterium* spp., а повышение МИР-1 $\alpha > 85,5$ пг/мл (AUC = 0,847; $p = 0,003$) и МИР-1 $\beta > 114,8$ пг/мл (AUC = 0,819; $p = 0,006$) - дефицита *Lactobacillus* spp., повышение ТЛИ $> 195,4$ усл. ед. (AUC = 0,766; $p = 0,010$) ассоциируется с наличием РНК SARS-CoV-2 в кале; у пациентов с лихорадкой установлены отрицательные корреляции между содержанием *Bifidobacterium* spp. и уровнями МИР-1 α , как в остром периоде ($r = - 0,407$; $p = 0,005$), так и в периоде реконвалесценции ($r = - 0,587$; $p = 0,010$), что подтверждает тесную двустороннюю взаимосвязь между выраженностью системного воспаления и нарушением кишечного микробиоценоза.

4. Выявлено, что стандартные схемы фармакотерапии COVID-19 среднетяжелого течения усиливают дисбиоз кишечника с достоверным снижением количества *Akkermansia muciniphila* ($p = 0,042$) и увеличением *Enterococcus* spp. ($p = 0,035$) на фоне сохраняющейся гиперпродукции МИР-1 α (Ме = 129,3 пг/мл; Q1–Q3: 79,3 – 236,8 пг/мл) и МИР-1 β (Ме = 159,1 пг/мл; Q1–Q3: 109,7 – 263,3 пг/мл) в периоде реконвалесценции, что обосновывает применение комплексного пробиотического препарата на основе *Lactiplantibacillus plantarum* КАВР022/ КАВР023/КАВР033 и *Pediococcus acidilactici* КАВР021. Предложенный метод оптимизации тактики ведения больных позволяет улучшить иммунологические показатели (МИР-1 α ($p < 0,001$), МИР-1 β ($p < 0,001$) и IL-12 ($p = 0,027$)), нормализовать интегральный гематологический индекс системного воспаления (ИСЛМ ($p = 0,029$)), стабилизировать состояние симбиотической флоры с повышением *Bifidobacterium* spp. ($p = 0,050$), снизить клинические проявления постинфекционного состояния.

Практические рекомендации

В остром периоде COVID-19 пациентам с фебрильной лихорадкой, гастроинтестинальным синдромом, выраженной слабостью, пневмонией и признаками

системного воспаления (SIRI $>2,9$; AISI $>470,4$; ТЛИ $>195,4$) рекомендуется курс пробиотических препаратов для восстановления кишечного микробиоценоза и снижения выраженности воспалительного ответа.

В период реконвалесценции у пациентов с сохраняющимися астеническим и диспептическим синдромами целесообразно проведение патогенетической терапии с применением пробиотического комплекса, содержащего *Lactiplantibacillus plantarum* (КАВР022, КАВР023, КАРВ033), *Pediococcus acidilactici* и витамин D₃ по 1 капсуле 1 раз в течение 30 дней.

Для оптимизации терапевтического подхода к ведению пациентов с коронавирусной инфекцией рекомендуется научно обоснованный алгоритм, направленный на диагностику нарушений микробиоценоза и коррекцию дисбиоза, снижение системного иммунного воспаления и повышение качества жизни в период реконвалесценции COVID-19.

Перспективы дальнейшей разработки темы

- Дальнейшие исследования должны быть направлены на разработку персонализированных подходов к восстановлению микробиоценоза кишечника у пациентов с COVID-19 и других инфекционных заболеваний, ассоциированных с дисбиозом.
- Внедрение алгоритмов подбора пробиотиков и синбиотиков с учётом характера нарушений микробиоценоза в клинические протоколы ведения больных.
- Изучение долгосрочных эффектов микробиом-ориентированной терапии, включая её влияние на риск постковидных осложнений и восстановление иммунного гомеостаза.
- Расширение исследований на другие инфекционные и воспалительные заболевания, сопровождающиеся дисбиотическими нарушениями, что открывает перспективы для развития прецизионной медицины.

Список публикаций по теме диссертации

1. **Быстрова Н.С.**, Понежева Ж.Б., Тагирова З.Г., Куликова Н.Г., Битюмина Л.А., Вдовина Е.Т. Особенности клиники и диагностики COVID-19 среднетяжёлого течения // Инфекционные болезни в современном мире: эволюция, текущие и будущие угрозы. Сборник трудов XV Ежегодного Всероссийского Конгресса по инфекционным болезням имени академика В.И. Покровского. Москва, 2023. С. 46.
2. **Быстрова Н.С.**, Понежева Ж.Б., Тагирова З.Г., Куликова Н.Г., Битюмина Л.А., Лийко Г.А., Вдовина Е.Т. Особенности лабораторной диагностики COVID-19 среднетяжёлого течения // Молекулярная диагностика и биобезопасность-2023. Сборник тезисов конгресса с международным участием. Москва, 2023. С. 215.
3. **Мартынова Н.С.**, Понежева Ж.Б., Тагирова З.Г., Гришаева А.А., Куликова Н.Г., Битюмина Л.А., Вдовина Е.Т. РНК SARS-CoV-2 в кале у пациентов с COVID-19 среднетяжёлого течения // Инфекционные болезни в современном мире: эволюция, текущие и будущие угрозы. Сборник трудов XVI Ежегодного Всероссийского Конгресса по инфекционным болезням имени академика В.И. Покровского. Москва, 2024. С. 250.
4. **Мартынова Н.С.**, Куликова Н.Г., Битюмина Л.А., Гришаева А.А., Вдовина Е.Т. Роль микробиоценоза в патогенезе COVID-19 // Проблемы эпидемиологии, терапии и лабораторной диагностики инфекционных заболеваний-2024. Сборник тезисов научно-практической конференции молодых учёных и специалистов. Москва, 2024. С. 84.
5. **Бурдакова Е.А., Мартынова Н.С., Алимова Л.К., Музыка А.Д., Понежева Ж.Б.** Оценка интегральных гематологических индексов у госпитализированных пациентов с COVID-19 // Эффективная фармакотерапия. – 2024. – № 20 (11). – С. 22–26.

6. Мартынова Н.С., Понежева Ж.Б., Куликова Н.Г., Битюмина Л.А., Усенко Д.В., Гришаева А.А., Вдовина Е.Т. Состояние микробиоценоза толстого кишечника у пациентов с COVID-19 средней степени тяжести // Эффективная фармакотерапия. – 2024. – № 20 (11). – С. 16–21.

7. Мартынова Н.С., Понежева Ж.Б., Александрова А.Ю., Вдовина Е.Т. Показатели иммунитета и микробиоценоз у пациентов с COVID-19 средней степени тяжести // Инфекционные болезни, микробиология и иммунология. Материалы Второго Гомельского международного конгресса. Гомель, 2024. С. 115.

8. Мартынова Н.С., Понежева Ж.Б., Александрова А.Ю., Вдовина Е.Т. Влияние количественного содержания РНК SARS-CoV-2 в мазках со слизистой ротоглотки и носоглотки на микробиоценоз толстого кишечника в остром периоде COVID-19 // Покровские чтения. Сборник тезисов IV Ежегодной конференции по инфекционным болезням. Москва, 2024. С. 80.

9. Мартынова Н.С., Понежева Ж.Б., Александрова А.Ю., Вдовина Е.Т. Показатели иммунитета и микробиоценоз кишечника у пациентов с COVID-19 средней степени тяжести // Актуальные вопросы инфекционной патологии Юга России. Материалы XVIII научно-практической конференции. Краснодар, 2025. С. 96.

10. Мартынова Н.С., Понежева Ж.Б., Лазарева Е.Н., Усенко Д.В., Николаева С.В., Швачкина Н.С., Герасимов А.Н., Вдовина Е.Т. Состояние микробиоценоза толстого кишечника у госпитализированных больных COVID-19 // Инфекционные болезни. – 2025. – Т. 23. – № 2. – С. 37–44.

11. Мартынова Н.С., Понежева Ж.Б., Куликова Н.Г., Битюмина Л.А., Лазарева Е.Н., Усенко Д.В., Вдовина Е.Т. Системное воспаление и кишечный микробиоценоз при COVID-19: роль макрофагальных белков воспаления в патогенезе заболевания // РМЖ. Медицинское обозрение. – 2025. – Т. 9. – № 5. – С. 259–265.

12. Понежева Ж.Б., Алимова Л.К., Бурдакова Е.А., Маннанова И.В., Мартынова Н.С., Каннер И.Д., Усенко Д.В. Клинико-лабораторные особенности COVID-19 у впервые и повторно госпитализированных больных с бактериальной коинфекцией // РМЖ. Медицинское обозрение. – 2025. – Т. 9. – № 12. – С. 846–852.

Список сокращений

ВН – вирусная нагрузка

ИГИ – интегральные гематологические индексы

ИСЛМ – индекс соотношения лимфоцитов и моноцитов

ИФА – иммуноферментный анализ

ПЦР – полимеразная цепная реакция

РНК – рибонуклеиновая кислота

СВН – средняя вирусная нагрузка

ТЛИ – тромбоцитарно –лимфоцитарный индекс

AISI – совокупный системный индекс воспаления

Bfr/Fprau – отношение *Bacteroides spp* и *Faecalibacterium prausnitzii*

CLR – отношение С-реактивного белка к лимфоцитам

IL – интерлейкин

МР – макрофагальный белок воспаления

sCD14 – растворимая форма рецептора CD14

SII – индекс системного воспаления

SIRI – индекс системного воспалительного ответа