

**ФЕДЕРАЛЬНОЕ БЮДЖЕТНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ НАУКИ
«ЦЕНТРАЛЬНЫЙ НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ
ИНСТИТУТ ЭПИДЕМИОЛОГИИ» ФЕДЕРАЛЬНОЙ СЛУЖБЫ
ПО НАДЗОРУ В СФЕРЕ ЗАЩИТЫ ПРАВ ПОТРЕБИТЕЛЕЙ И
БЛАГОПОЛУЧИЯ ЧЕЛОВЕКА**

На правах рукописи

МАРТЫНОВА НИНА СЕРГЕЕВНА

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

3.1.22. Инфекционные болезни

ДИССЕРТАЦИЯ

на соискание ученой степени кандидата медицинских наук

Научный руководитель:

Понежева Жанна Бетовна,

доктор медицинских наук, доцент

Москва – 2025

ВВЕДЕНИЕ	4
ГЛАВА I. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ.....	15
1.1. Этиология, патогенез и клинико-лабораторные особенности инфекции, вызванной SARS-CoV-2	15
1.2. Роль микробиоценоза кишечника и ось «кишечник – легкие – мозг».....	21
1.3. Влияние терапии COVID-19 на микробиоценоз кишечника: современные данные и перспективы коррекции	31
ГЛАВА II. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ.....	39
2.1. Материалы и дизайн исследования	39
2.2. Методы исследования	43
ГЛАВА III. ДИНАМИКА ПОКАЗАТЕЛЕЙ МИКРОБИОЦЕНОЗА КИШЕЧНИКА У ПАЦИЕНТОВ С COVID-19 СРЕДНЕТЕЖЕЛОГО ТЕЧЕНИЯ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ВИРУСНОЙ НАГРУЗКИ SARS-CoV-2 В РЕСПИРАТОРНОМ И КИШЕЧНОМ ЛОКУСАХ.....	55
3.1. Общая характеристика госпитализированных пациентов с COVID-19 среднетяжелого течения с анализом состава микробиоценоза кишечника.....	55
3.2. Состояние микробиоценоза кишечника у пациентов с COVID-19 среднетяжелого течения в зависимости от вирусной нагрузки РНК SARS-CoV-2 в ротоглотке.....	69
3.3. Особенности микробиоценоза кишечника у пациентов среднетяжелого течения в зависимости от наличия РНК SARS-CoV-2 в кале.....	72
ГЛАВА IV. ВЗАИМОСВЯЗИ КЛИНИЧЕСКИХ ПРОЯВЛЕНИЙ И ОСЛОЖНЕНИЙ COVID-19 СРЕДНЕТЕЖЕЛОГО ТЕЧЕНИЯ С ТАКСОНАМИ МИКРОБИОЦЕНОЗА КИШЕЧНИКА ПАЦИЕНТОВ	77
ГЛАВА V. ИММУННЫЕ ПОКАЗАТЕЛИ И ИХ ВЗАИМОСВЯЗИ С НАРУШЕНИЕМ МИКРОБИОЦЕНОЗА КИШЕЧНИКА ПРИ COVID-19	96
5.1. Показатели системного иммунного воспаления при COVID-19.....	96
5.2. Взаимосвязь иммунологических показателей с таксонами микробиоценоза кишечника у пациентов с COVID-19 среднетяжелого течения	113
ГЛАВА VI. АНАЛИЗ ВЛИЯНИЯ ФАРМАКОТЕРАПИИ НА КЛИНИКО-ИММУНОЛОГИЧЕСКИЕ, МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ И ОБОСНОВАНИЕ МЕТОДА ОПТИМИЗАЦИИ ТАКТИКИ ВЕДЕНИЯ ПАЦИЕНТОВ С COVID-19 СРЕДНЕТЕЖЕЛОГО ТЕЧЕНИЯ.....	125

6.1. Влияние терапии на состояние микробиоценоза кишечника и клинко-иммунологические параметры у больных COVID-19	125
6.2. Обоснование оптимизации тактики ведения пациентов с COVID-19	130
ЗАКЛЮЧЕНИЕ.....	141
ВЫВОДЫ.....	153
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ.....	155
ПЕРСПЕКТИВЫ ДАЛЬНЕЙШИХ НАУЧНЫХ РАБОТ.....	156
СПИСОК ИСПОЛЬЗУЕМЫХ СОКРАЩЕНИЙ.....	157
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ	160
ПРИЛОЖЕНИЕ А.....	187
ПРИЛОЖЕНИЕ Б.....	188
ПРИЛОЖЕНИЕ В	189

ВВЕДЕНИЕ

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 [18, 29]. 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 COVID-19 [15].

Появляющиеся в последние годы исследования указывают на то, что при 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.) [3]. 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 COVID-19 и отражают степень активации иммунной системы [15]. 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 исследования

Несмотря на растущий научный интерес к изучению роли кишечного микробиоценоза при 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 [5, 11, 12, 45, 47, 57, 84, 108, 113, 118, 119, 124, 141, 144, 193, 195, 203, 209, 217]. 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 [35, 37, 51, 80, 114, 123, 193, 195] 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 [11, 12, 47, 118, 119, 124, 154, 180, 200, 209], где демонстрируется связь между состоянием кишечного микробиоценоза и тяжестью течения COVID-19. В то же время, вопросы о влиянии микробиоценоза на специфические клинические проявления заболевания и её роли в прогнозировании осложнённого течения остаются недостаточно освещёнными и малоизученными.

Опубликованы ряд работ [11, 12, 51, 114, 118, 124, 195] по изучению взаимосвязи бактериального состава кишечника с ключевыми компонентами иммунного ответа при COVID-19. Однако, данные о влиянии микробиоценоза на активацию макрофагального звена и индексы системного воспаления остаются недостаточными и требуют дальнейшего углублённого изучения.

В ряде исследований [34, 38, 92, 93, 128, 168, 199] 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 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* СЕСТ7484/485/30292, *Pediococcus acidilactici* СЕСТ7483, 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 α > 85,5 пг/мл, AUC = 0,847, p = 0,003; MIP-1 β > 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 взаимосвязано 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 выраженность 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 $\alpha > 85,5$ пг/мл, MIP-1 $\beta > 114,8$ 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.

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.

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 апробация 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 2023г.);
- III Ежегодных конференциях 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 2024г.);
- 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 г.);
- 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 апробационного 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.

ГЛАВА I. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1. Этиология, патогенез и клинико-лабораторные особенности инфекции, вызванной SARS-CoV-2

В конце 2019 г. в городе Ухань (Китай) была зарегистрирована вспышка тяжёлой пневмонии, вызванной ранее неизвестным коронавирусом SARS-CoV-2, который стал причиной глобальной пандемии, официально объявленной Всемирной организацией здравоохранения 11 марта 2020 г. Подобно другим РНК-вирусам, SARS-CoV-2 характеризуется высокой генетической вариабельностью, что обеспечивает его способность к эволюции и изменению биологических свойств, включая патогенный потенциал.

SARS-CoV-2 относится к семейству *Coronaviridae*, роду *Betacoronavirus*, и представляет собой оболочечный вирус с одноцепочечной РНК положительной полярности. Вирион имеет размеры 60–140 нм и содержит четыре структурных белка: спайковый (S), белок оболочки (E), мембранный (M) и нуклеокапсидный (N). S-белок формирует гомотримерный гликопротеин, расщепляемый клеточными протеазами типа фурина на субъединицы S1 и S2. Субъединица S1 содержит N-концевой участок и рецептор-связывающий домен, обеспечивающий взаимодействие с рецептором ACE2 на поверхности клеток-мишеней, тогда как S2 опосредует слияние вирусной и клеточной мембран. Белок E участвует в формировании и выходе вирионов, белок M — в процессах сборки и морфогенеза, а белок N обеспечивает защиту и стабилизацию вирусной РНК внутри нуклеокапсида [30, 90, 183].

Рецептор ACE2 экспрессируется на поверхности клеток различных органов, включая сердце, эндотелий, печень, почки, яички, кишечник и лёгкие [26]. Кроме того, ACE2 обнаруживается на мембране моноцитов и макрофагов, что делает эти клетки потенциальными мишенями SARS-CoV-2 и способствует активации провоспалительных сигнальных путей [160]. Экспрессия ACE2 была выявлена на CD68⁺ и CD169⁺ макрофагах в лимфатических узлах и селезёнке пациентов с

COVID-19, что свидетельствует о возможности системного поражения ACE2-положительных миелоидных клеток [160].

Лёгкие остаются одной из ключевых мишеней вируса. ACE2 находится на альвеолярных эпителиоцитах, мерцательных клетках и бокаловидных клетках второго типа дыхательных путей [187]. Инфекция SARS-CoV-2 в лёгких вызывает гиперпродукцию цитокинов, что ведёт к повреждению ткани, развитию острого респираторного дистресс-синдрома и выраженной дыхательной недостаточности [70, 78].

Одновременно накоплены убедительные данные о том, что SARS-CoV-2 способен поражать центральную нервную систему как напрямую, через вирусную инвазию, так и опосредованно, через массивный системный воспалительный ответ, известный как «цитокиновый шторм» [85, 152]. Предполагается, что вирус проникает в ЦНС двумя основными путями: гематогенно или локально через решетчатую пластинку решетчатой кости, что может объяснять высокую частоту anosмии у пациентов с COVID-19 [162]. Экспериментальные исследования на мышинной модели показали, что субъединица S1 спайкового белка способна преодолевать гематоэнцефалический барьер. При интраназальном введении S1 белок проникал в мозг, с преимущественным накоплением в обонятельных луковицах и гиппокампе, хотя концентрации оставались примерно в десять раз ниже по сравнению с внутривенной инъекцией [151, 214].

Наряду с поражением дыхательных путей и ЦНС, SARS-CoV-2 активно инфицирует органы желудочно-кишечного тракта. Основным механизмом является взаимодействие S-белка с ACE2, который в значительных количествах экспрессирован на энтероцитах тонкой кишки [26, 27, 68]. Эксперименты на кишечных органоидах и тканевых культурах подтвердили продуктивную репликацию вируса в энтероцитах, а также возможность выделения инфекционных вирионов с фекалиями [163]. Поражение энтероцитов сопровождается активацией локального цитокинового ответа и повреждением эпителиального барьера, что повышает проницаемость слизистой, стимулирует инфильтрацию иммунными клетками и усиливает системное воспаление [125,

149]. Кроме того, захват вирусом ACE2 приводит к его функциональной блокаде, нарушая регуляцию ренин-ангиотензиновой системы и транспорт аминокислот, что усугубляет дисбаланс гомеостаза кишечника и микробиоценоза [54].

РНК SARS-CoV-2 обнаруживается в фекалиях значительной части инфицированных пациентов (20 – 50%) [67, 155, 161], причём вирус может выделяться с калом дольше, чем из дыхательных путей и сыворотки, что указывает на его персистенцию в желудочно-кишечном тракте [66, 194, 206]. Наибольшая вирусная нагрузка в кишечнике отмечается у пациентов с гастроинтестинальными симптомами, особенно с диареей. Данные симптомы встречались по разным данным у 8 - 50% пациентов [104, 164, 165]. Важную роль играет и состав микробиоценоза кишечника. Представители рода *Bacteroides* ассоциируются с более низкой вирусной нагрузкой, тогда как *Erysipelotrichaceae* связаны с её повышением [47, 105]. Предполагается, что такие бактерии формируют провоспалительную среду и повышают экспрессию ACE2, что может способствовать репликации вируса. Эти механизмы могут объяснять развитие желудочно-кишечных симптомов даже при заражении вариантами SARS-CoV-2 с относительно низкой энтеротропностью, такими как Omicron [101]. У пациентов с положительным анализом кала на РНК SARS-CoV-2 наблюдались более выраженные изменения в структуре микробного сообщества. Установлено, что у пациентов с выявляемой РНК SARS-CoV-2 в фекалиях микробиоценоз кишечника характеризуется повышенным содержанием ряда условно-патогенных и воспалительно-ассоциированных микроорганизмов, включая *Collinsella aerofaciens*, *Collinsella tanakaei*, *Streptococcus infantis* и *Morganella morganii*, *Candida*, *Fusarium*, *Penicillium*, *Aspergillus* и *Saccharomyces*. В то же время у пациентов, у которых РНК SARS-CoV-2 в кале не обнаруживалась, микробный профиль отличался преобладанием бактерий, продуцирующих короткоцепочечные жирные кислоты, в частности *Parabacteroides merdae*, *Bacteroides stercoris*, *Alistipes onderdonkii* и представителей семейства *Lachnospiraceae* [35, 80, 119].

Воспаление является одним из ключевых патогенетических механизмов COVID-19 и играет определяющую роль в формировании клинической картины заболевания, во многом предопределяя тяжесть его течения и исходы. Активация врождённого и адаптивного иммунного ответа в ответ на инфекцию SARS-CoV-2 сопровождается выраженной продукцией провоспалительных цитокинов и хемокинов, что приводит к развитию локального и системного воспалительного процесса. Дисрегуляция иммуновоспалительных реакций способствует повреждению эндотелия, нарушению микроциркуляции и активации коагуляционного каскада, создавая предпосылки для формирования полиорганных поражений. Выраженность и продолжительность воспалительного ответа рассматриваются как важные детерминанты неблагоприятного течения COVID-19, ассоциированные с повышенным риском развития дыхательной недостаточности и системных проявлений заболевания. [33, 39, 77, 131]. MIP-1 α , MIP-1 β , sCD14 и IL-12 являются ключевыми медиаторами врождённого иммунитета и отражают степень активации макрофагов. При COVID-19 макрофаги в лёгких и кишечнике активно секретируют хемокины MIP-1 α и MIP-1 β , которые привлекают Т-лимфоциты и нейтрофилы в очаг воспаления [15]. У пациентов с COVID-19 наблюдается повышенный уровень MIP-1 α/β , причём их концентрация положительно коррелирует с необходимостью госпитализации в ОИТ и летальным исходом [15, 52, 73, 137]. Ряд авторов установили, что хемокины могут служить биомаркерами тяжести заболевания и предикторами развития постковидного синдрома [94, 130, 153]. Повышенный уровень MIP-1 α также обнаружен в слизистой оболочке тонкого кишечника у пациентов с COVID-19, что подтверждает роль кишечного компонента в общей воспалительной реакции [156].

Растворимый CD14 (sCD14) – это свободная форма клеточного рецептора CD14, ко-рецептора TLR4 для бактериального ЛПС, которая выделяется моноцитами/макрофагами при их активации. При действии ЛПС и других бактериальных компонентов на моноциты происходит высвобождение sCD14 в кровь, поэтому его уровень служит маркером активации этих клеток. Помимо

ЛПС воспалительные цитокины также индуцируют выброс sCD14, а различные TLR-лиганды приводят к снижению экспрессии мембранного CD14 на моноцитах, что подтверждает, что sCD14 отражает общую активацию моноцитов, а не только ЛПС-стимуляцию. Повышение sCD14 тесно связано с транслокацией микробных продуктов из кишечника. Высокие концентрации sCD14 используются как индикатор усиленной микробной транслокации через кишечный барьер и связанной с ней системной воспалительной реакцией [33, 136]. В контексте COVID-19 также получены данные, что у госпитализированных пациентов с SARS-CoV-2 уровень sCD14 был достоверно выше, чем у здоровых [184].

Интерлейкин-12 (IL-12) – ключевой медиатор врождённого иммунного ответа, продуцируемый активированными макрофагами и дендритными клетками. IL-12 стимулирует выработку IFN- γ NK-клетками и Т-лимфоцитами и направляет наивные CD4⁺ Т-лимфоциты в Th1-подтип. IL-12 играет также важную роль в кишечном воспалении. При болезни Крона и других ВЗК IL-12 индуцирует Th1-ответ и повышает продукцию IFN- γ в слизистой кишечника, усиливая воспаление [132, 216]. Таким образом, совокупность данных маркёров в комплексе отражает выраженную активацию макрофагального звена врождённого иммунитета и его ключевую роль в формировании воспалительного ответа при COVID-19.

У пациентов с затяжными симптомами COVID-19 выявлены особенности вирусной и иммунной динамики. Вирусная нагрузка при постановке диагноза у них была ниже, чем у пациентов без постковидного синдрома, при этом анализ цитокинов показал различия в уровнях IL-18, MIG и IP-10, а также задержку нормализации этих показателей. Корреляционный анализ выявил связь между вирусной нагрузкой и IP-10, а также взаимосвязь между цитокинами IL-1 β , IL-18, MIG и IP-10 [189]. Эти данные подчеркивают роль дисбаланса цитокиновой регуляции в формировании постковидного синдрома.

Дополнительно для оценки системного воспаления при COVID-19 применяются интегральные гематологические индексы, рассчитываемые по данным общего анализа крови: ИСЛМ, ТЛИ, SIRI, SII, CLR и AISI [6, 8, 10, 25,

211]. Эти показатели экономичны, просты в применении и позволяют оперативно оценить иммуновоспалительный статус. В ряде исследований показано, что тяжёлое течение COVID-19 сопровождается повышением уровня лейкоцитов и нейтрофилов при одновременном снижении тромбоцитов и лимфоцитов [211]. Особое внимание привлекают новые индексы воспаления, такие как соотношение С-реактивного белка к лимфоцитам (CLR), системный иммуновоспалительный индекс (SII) и интегральный индекс AISI, которые рассматриваются как потенциальные биомаркеры тяжести и прогноза заболевания [61, 97, 178, 191]. При COVID-19 более высокие значения этих индексов ассоциированы с тяжёлым течением заболевания и неблагоприятным прогнозом [63, 129]. Например, Tahavvori A. установил, что повышенные показатели AISI, SII и SIRI у пациентов с COVID-19 связаны с худшими исходами [63]. В исследовании Бурдаковой Е.А. ИСНМ, ИСЛ, ИСНЛ и ЛГИ продемонстрировали свою значимость в качестве предикторов летального исхода и развития бактериальных осложнений [25]. Эти данные подтверждают целесообразность использования интегральных гематологических индексов как дополнительных прогностических маркёров в клинической практике. Совокупность этих иммунных и лабораторных изменений формирует основу клинической картины заболевания.

В ходе пандемии были выделены несколько генетических вариантов вируса, представляющих наибольшую угрозу для общественного здравоохранения: Alpha, Beta, Gamma, Delta и Omicron [188]. Геновариант Omicron (B.1.1.529) впервые был обнаружен в ноябре 2021 г. в Южной Африке и Ботсване и вскоре распространился по миру, вызвав резкий рост заболеваемости в Европе и Америке [186]. В России Omicron был зарегистрирован в декабре 2021 г. и уже с января 2022 г. стал доминирующим. Распространение этого варианта и его субвариантов определяло эпидемиологическую ситуацию до завершения пандемии, о котором ВОЗ официально объявила в мае 2023 г. [22].

Коронавирусная болезнь (COVID-19) характеризуется выраженной гетерогенностью клинических проявлений, варьирующих от картины острой респираторной вирусной инфекции до тяжёлых форм заболевания, включающих

пневмонию без дыхательной недостаточности, острый респираторный дистресс-синдром, сепсис и развитие диссеминированного внутрисосудистого свёртывания [21]. Клиническое течение COVID-19 в значительной степени определяется циркулирующим геновариантом SARS-CoV-2. Установлено, что инфекция, вызванная вариантом Omicron, существенно отличается по клиническим и лабораторным характеристикам от заболеваний, ассоциированных с вариантами Delta и Beta, и в целом сопровождается более мягким фенотипом течения. Среди пациентов, перенёсших инфекцию, вызванную геновариантом Omicron, преобладают лица более молодого возраста. Лабораторный профиль таких пациентов нередко характеризуется выраженной лейкопенией, повышенными значениями тромбокрита, указывающими на активацию тромбоцитарного звена гемостаза и потенциально повышенный риск тромботических осложнений, а также увеличением уровней маркёров системного воспаления, включая С-реактивный белок и IL-6. Эти изменения отражают сохранение воспалительного ответа даже при относительно благоприятном клиническом течении заболевания. Клиническая картина инфекции, вызванной вариантом Omicron, отличается преобладанием симптомов поражения верхних дыхательных путей. У таких пациентов чаще отмечаются лихорадка, кашель, боль в горле, заложенность носа и ринит. В то же время, по сравнению с предыдущими вариантами вируса, реже развиваются anosmia и ageusia, менее выражены симптомы общей интоксикации и значительно реже наблюдаются гастроинтестинальные проявления, включая диарею [32].

1.2. Роль микробиоценоза кишечника и ось «кишечник-легкие-мозг»

На протяжении многих лет микробиом человека привлекал пристальное внимание исследователей по всему миру, поскольку стало очевидно, что микробиоценоз различных органов — особенно кишечника — играет ключевую роль в поддержании гомеостаза и здоровье хозяина. Кишечная микробная экосистема представляет собой сложное сообщество бактерий, грибов, вирусов и других микроорганизмов, взаимодействие которых с эпителием и иммунной системой обеспечивает ряд жизненно важных функций: ферментацию

неперевариваемых компонентов пищи, синтез витаминов и биоактивных метаболитов и поддержание барьерной функции слизистой оболочки. В норме симбионты способствуют колонизационной резистентности против патогенов, стимулируют созревание местного и системного иммунитета и поддерживают баланс провоспалительных и противовоспалительных сигналов. [14, 19, 69, 218]. Кроме того, они вырабатывают различные метаболиты, в том числе короткоцепочечные жирные кислоты (SCFA), которые оказывают положительное влияние на организм [2, 9, 14].

Под термином «микробиоценоз» понимают совокупность микроорганизмов (бактерий, архей, грибов, вирусов, простейших), тогда как «микробиом» — их генетический материал, включающий бактериом, микобиом и виром [29]. Степень видового богатства сообщества, а именно количество различных видов микроорганизмов, населяющих данное сообщество, определяется термином «альфа-разнообразие». Стабильность микробного сообщества отражается в богатстве его таксономического состава; напротив, снижение разнообразия микробиоценоза в каком-либо органе живого организма часто указывает на наличие патологического процесса [13, 31]. Структура микробиоценоза индивидуальна и формируется под влиянием факторов раннего онтогенеза, характера питания, приёма антибиотиков, образа жизни и сопутствующих заболеваний [7, 76, 83, 212], а её нарушения отмечаются при различных инфекционных и неинфекционных патологиях [48, 59, 87, 197]. Кроме того, с возрастом бактериальный состав кишечника претерпевает значительные изменения [212].

Особое внимание в современных исследованиях уделяется микробиоценозу кишечника как наиболее крупному и таксономически разнообразному микробному сообществу организма человека. Кишечный микробиоценоз представляет собой сложную экосистему, включающую до 10^{14} микробных клеток [105]. В его состав входят не только бактерии, но также археи, вирусы (включая бактериофаги), грибы и другие эукариотические микроорганизмы, формирующие многокомпонентную и динамичную микробную сеть. Эти сообщества находятся

в постоянном взаимодействии между собой и с организмом хозяина, обеспечивая поддержание структурной целостности кишечного барьера и регуляцию метаболических процессов [17, 145]. Наиболее многочисленную и хорошо изученную группу составляют бактерии, которые играют ключевую роль в поддержании иммунного гомеостаза организма [16, 105].

Современные исследования кишечного микробиоценоза играют ключевую роль в понимании влияния микроорганизмов на здоровье и возможных механизмах развития заболеваний. Однако выбор метода анализа бактериального состава остается актуальной задачей, так как от правильности этого выбора зависит качество и достоверность полученных результатов. Основными методами исследования, широко применяемыми в современной медицинской практике являются классический микробиологический метод, метод полимеразной цепной реакции, секвенирование, масс-спектрометрия, каждый из которых обладает своими особенностями и преимуществами [14, 24, 143]. Развитие современных молекулярно-генетических методов позволило существенно расширить знания о таксономическом составе и функциональной роли этих микроорганизмов. На сегодняшний день идентифицировано более 5000 видов, однако около 90% из них остаются некультивируемыми в лабораторных условиях [95]. Из выявленных бактерий преобладают представители типов *Actinobacteria* (род *Bifidobacterium* и *Colinsella*), *Bacteroidetes* (*Bacteroides*, *Prevotella*), *Firmicutes* (*Lactobacillus*, *Clostridium*, *Eubacterium*, *Ruminococcus*) и *Proteobacteria* (*Enterobacter* spp.) [64].

В условиях инфицирования SARS-CoV-2 микробное сообщество кишечника подвергается выраженным изменениям [5, 20, 46, 49, 144]. Так, в остром периоде COVID-19 многочисленные систематические обзоры показывают характерный сдвиг микробиоценоза: сокращении количества представителей родов *Ruminococcus*, *Alistipes*, *Eubacterium*, *Bifidobacterium*, *Faecalibacterium*, *Roseburia*, *Fusicathenibacter* и *Blautia* и увеличении количества представителей родов *Eggerthella*, *Bacteroides*, *Actinomyces*, *Clostridium*, *Streptococcus*, *Rotia* и *Collinsella* [40, 82, 143, 157]. Снижение богатства и разнообразия фиксировалось уже на ранних этапах инфекции и сохранялось после выздоровления [37, 106, 125,

142,157]. Несколько исследований показали, что микробиоценоз кишечника играет важную роль в определении тяжести течения COVID-19. При тяжёлых формах заболевания отмечалось повышение относительной численности *Bacteroides* spp., *Parabacteroides* spp., *Clostridium* spp., *Bifidobacterium* spp., *Ruminococcus* spp., *Campylobacter* spp., *Rothia* spp., *Corynebacterium* spp., *Megasphaera* spp., *Enterococcus* spp. и *Aspergillus* spp., тогда как содержание *Roseburia* spp., *Eubacterium* spp., *Lachnospira* spp., *Faecalibacterium* spp., а также соотношение *Firmicutes/Bacteroidetes* было значительно снижено. Напротив, у пациентов с лёгким течением заболевания наиболее выраженным изменением было увеличение численности *Eubacterium* spp. [107, 119, 195].

В периоде реконвалесценции изменения в микробиоме кишечника сохраняются в течение многих месяцев и приводят к увеличению количества потенциально патогенных бактерий, таких как *Erysipelatoclostridium ramosum* и *R. gnavus*, и уменьшению количества полезных бактерий, таких как *B. adolescentis* и *B. Pseudocatenulatum* [81, 127, 149, 159]. В систематическом обзоре описано, что у лиц с постковидным синдромом сохраняется нарушение микробиоценоза кишечника: уменьшается число SCFA-продуцирующих бактерий (*Faecalibacterium*, *Ruminococcus*, *Dorea*, *Bifidobacterium*) и растёт количество *Corynebacterium*, *Streptococcus*, *Enterococcus*, что совместно с повышенной проницаемостью кишечника способствует хроническому воспалению и сохранению симптомов [4, 60, 121, 126]. Oh S., 2025 в систематическом обзоре отмечает, что пациентов с постковидным синдромом был выявлен особый состав микробиоценоза кишечника. В их микробном профиле чаще встречались *Leuconostoc*, *Actinomyces* и *Granulicatella*, причём именно эти бактерии чётко отличали их от здоровых людей. Это позволяет рассматривать их как возможные биомаркеры постковидного синдрома [108].

В последние годы особое внимание уделяется исследованию взаимосвязи микробиоценоза кишечника с органами и системами, включая дыхательную систему (Рисунок 1).

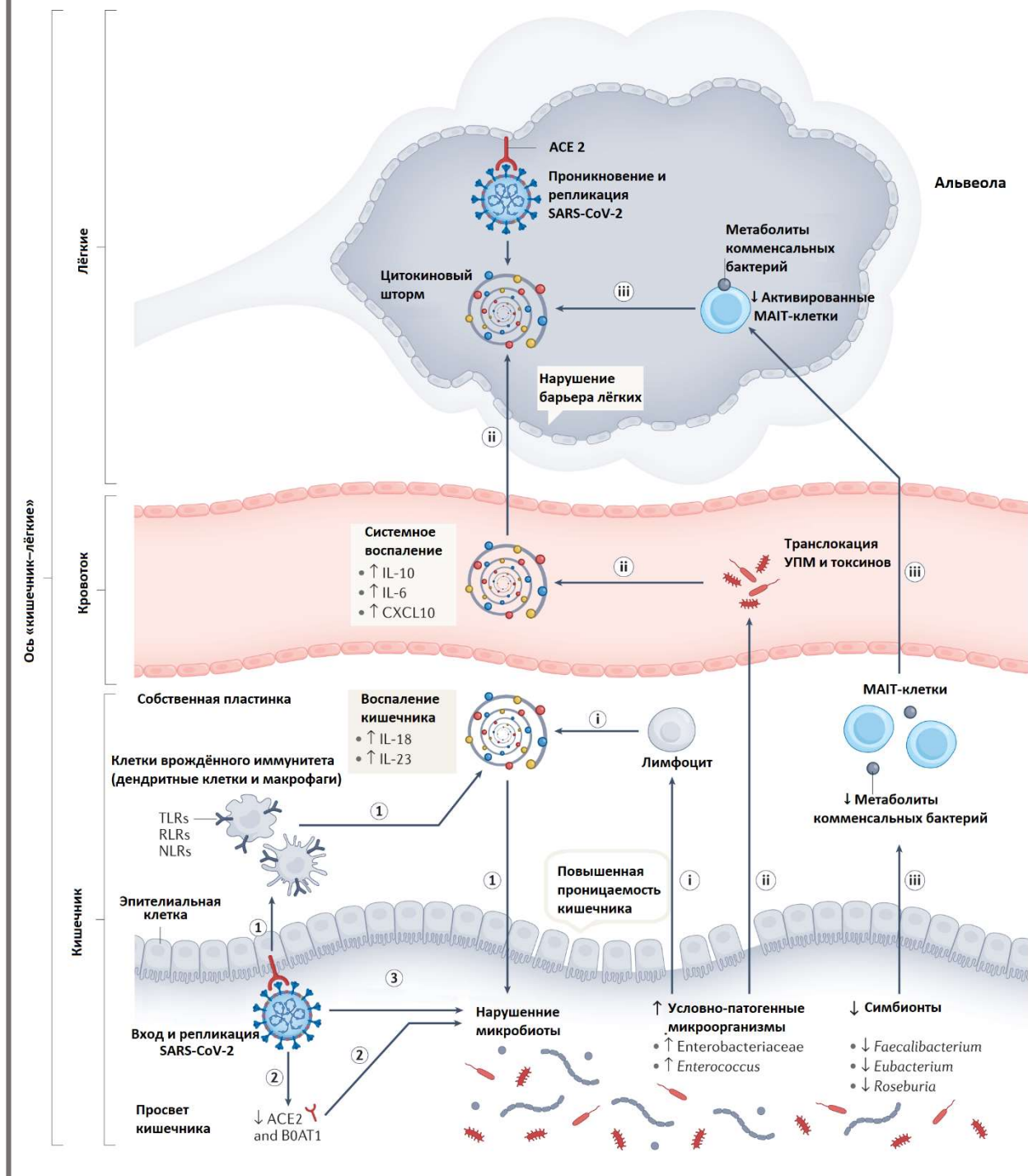


Рисунок 1. Роль микробиоценоза кишечника в патогенезе COVID-19 [125]
 Примечание: - SARS-CoV-2 приводит к нарушению кишечного микробиоценоза

1. Инвазия SARS-CoV-2 активирует рецепторы распознавания паттернов (Toll-подобные рецепторы — TLRs, RLRs, NLRs), которые распознаются клетками врождённого иммунитета и запускают высвобождение провоспалительных цитокинов. Эти иммунные реакции нарушают проницаемость кишечного барьера, приводят к снижению численности комменсальных симбионтов (*Faecalibacterium*, *Eubacterium*, *Roseburia*) и

увеличению числа условно-патогенных микроорганизмов (например, *Enterobacteriaceae* и *Enterococcus*).

2. SARS-CoV-2 снижает экспрессию ангиотензин-превращающего фермента 2 (ACE2) и B0AT1 (молекулярного шаперона ACE2) на апикальной поверхности энтероцитов, что способствует росту патогенных микроорганизмов.

3. В экспериментальных условиях показано, что SARS-CoV-2 способен действовать как бактериофаг и напрямую поражает на бактерии.

Кишечный микробиоценоз определяет характер иммунного ответа и тяжесть течения COVID-19:

i) Увеличенное количество условно-патогенных микроорганизмов дополнительно распознается врожденными лимфоцитами, что способствует усилению провоспалительных реакции в кишечнике

ii) Условно-патогенные микроорганизмы и их токсины проникают в систему кровообращения, вызывая бактериемию и усугубляя системное воспаление и тяжесть заболевания;

iii) Снижение численности комменсальных симбионтов негативно влияет на привлечение иммунных клеток, таких как мукозо-ассоциированные инвариантные T-клетки (MAIT), что повышает восприимчивость и утяжеляет течение респираторных инфекций.

Пандемия COVID-19 наглядно продемонстрировала необходимость более глубокого понимания механизмов межорганной коммуникации при инфекционных заболеваниях, в том числе процессов системного взаимодействия между различными органами. В этом контексте особый интерес представляет ось «кишечник–лёгкие», которая в последние годы рассматривается как одно из ключевых направлений фундаментальных и клинических исследований при инфекции SARS-CoV-2. Установлено, что состояние микробиоценоза кишечника может оказывать существенное влияние на формирование иммунного ответа в дыхательных путях за счёт модуляции врождённых и адаптивных иммунных

механизмов, продукции микробных метаболитов и регуляции системного воспалительного фона. В то же время воспалительные процессы в лёгких, развивающиеся при COVID-19, способны инициировать вторичные изменения в составе и функциональной активности кишечного микробиоценоза. Эти изменения опосредуются нейроэндокринными, иммунными и метаболическими путями, включая высвобождение провоспалительных цитокинов, нарушение барьерной функции слизистых оболочек и изменение перистальтики кишечника. Таким образом, взаимодействие между кишечником и лёгкими носит двусторонний характер, формируя единое патофизиологическое пространство, в рамках которого дисбаланс микробиоценоза и системное воспаление могут взаимно усиливать друг друга [18, 79, 99, 105, 213]. Данный механизм реализуется посредством комплекса факторов – иммунных, микробных, метаболических и барьерных [18, 113, 147]. Кишечные микробы оказывают опосредованное влияние на лёгкие через стимуляцию выработки цитокинов, продукцию бактериальных метаболитов (в первую очередь короткоцепочечных жирных кислот, SCFA), а также за счёт транслокации микробных компонентов и регуляции экспрессии рецепторов клетки хозяина [109, 125, 139, 138].

Особое значение в регуляции иммунного ответа и поддержании гомеостаза организма имеют короткоцепочечные жирные кислоты (SCFA) – ацетат, пропионат и бутират, которые синтезируются микробами кишечника при ферментации пищевых волокон. Эти метаболиты способны проникать в системный кровоток и оказывать модулирующее воздействие на активность различных клеток, в том числе эпителиальных клеток дыхательных путей. В исследованиях показано, что бутират снижает экспрессию рецепторов ACE2 и TMPRSS2 в клетках хозяина, препятствуя эффективному связыванию спайкового белка SARS-CoV-2 с клеточной поверхностью, а также усиливает активность ферментов, регулирующих плотность этих рецепторов, что снижает восприимчивость к вирусной инфекции [28, 113]. Одновременно SCFA способствуют созреванию иммунных клеток, поддерживают баланс провоспалительных и регуляторных Т-клеток, ограничивая развитие

«цитокинового шторма» [115]. У пациентов с COVID-19 на фоне выраженного дисбиоза кишечника часто наблюдается снижение продукции SCFA, что ведёт к усилению воспалительной реакции, нарушению иммунной регуляции и повышению риска прогрессирования заболевания [112]. Таким образом, поддержание нормального уровня SCFA является важным фактором, способствующим модуляции воспаления и улучшению исходов при SARS-CoV-2 инфекции.

Не менее важным компонентом оси «кишечник–лёгкие» является состояние кишечного барьера, который выполняет ключевую функцию в поддержании иммунного и метаболического гомеостаза. При COVID-19 воспалительные процессы сопровождаются нарушением целостности слизистой оболочки, повышением её проницаемости и дисфункцией межклеточных контактов эпителия. Это создаёт предпосылки для транслокации микробных продуктов и эндотоксинов в системный кровоток, усиливая системное воспаление и модулируя иммунный ответ в других органах, включая лёгкие [18, 204]. Установлено, что накопление липополисахаридов (ЛПС) в крови тесно связано с тяжёлым течением COVID-19, способствуя активации системного воспалительного ответа, развитию полиорганной дисфункции и повышенному риску формирования острого респираторного дистресс-синдрома (ОРДС). Это отражает критическую роль микробной транслокации и нарушения барьерной функции кишечника в усилении воспалительных процессов и тяжести клинического течения инфекции [126].

Ключевым звеном в формировании этой взаимосвязи является также экспрессия ACE2. Данный рецептор, через который SARS-CoV-2 проникает в клетки, высоко экспрессирован в кишечном эпителии. Состав микробиоценоза способен модулировать его уровень: так, некоторые представители рода *Bacteroides* ассоциированы со снижением экспрессии ACE2 и меньшей вирусной нагрузкой [126]. В то же время сама инфекция приводит к угнетению ACE2 в кишечнике, что нарушает транспорт аминокислот, продукцию антимикробных пептидов и способствует дальнейшему дисбиозу [112]. Таким образом

формируется замкнутый круг: дисбаланс микробиоценоза усиливает восприимчивость кишечника и лёгких к SARS-CoV-2, а вирусная инфекция усугубляет нарушения микробного сообщества и барьерной функции.

Взаимосвязь между кишечником и лёгкими носит двунаправленный характер. COVID-19 приводит к системной активации воспалительных медиаторов, гипоксии тканей и нарушению микроциркуляции [36, 113]. В ответ на эти системные изменения развивается воспаление слизистой кишечника, нарушается целостность эпителиального барьера, снижается выработка защитных факторов, таких как муцины и антимикробные пептиды, что дополнительно усугубляет дисбаланс микробиоценоза и повышает риск микробной транслокации. Эти процессы создают порочный круг, при котором кишечная дисфункция может усиливать воспаление в лёгких и системное иммунное напряжение, усиливая тяжесть течения инфекции [102]. Нарушение барьерной функции и снижение кислородного снабжения тканей формируют благоприятные условия для избыточного роста условно-патогенной флоры, что ведёт к углублению дисбиоза. Таким образом формируется замкнутый патологический круг: системное воспаление и гипоксия усиливают кишечные нарушения, а дисфункция микробиоценоза и барьера, в свою очередь, поддерживают хроническое воспаление и усугубляют поражение как в кишечнике, так и в лёгких в рамках оси «кишечник–лёгкие».

При этом влияние кишечного дисбиоза не ограничивается дыхательной системой. Изменения микробиоценоза затрагивают и ось «кишечник–мозг», оказывая влияние на нейроиммунные и метаболические процессы. У пациентов отмечается снижение количества бактерий, продуцирующих короткоцепочечные жирные кислоты, дефицит которых связывают с нарушениями функций мозга, изменениями когнитивной активности и повышенной восприимчивостью к нервно-психическим расстройствам. Нарушение микробиоценоза может способствовать развитию тревожности, когнитивных нарушений и общей нейровоспалительной реакции, что подчеркивает системный характер влияния кишечника на состояние организма при COVID-19 [182]. SARS-CoV-2 нарушает

целостность кишечного барьера, что сопровождается снижением экспрессии ACE2 и отрицательно сказывается на транспорте триптофана и экспрессии антимикробных пептидов, в конечном счёте изменяет состав микробиоценоза кишечника [41]. Нарушение барьерной функции кишечника создаёт предпосылки для транслокации различных микробных метаболитов, включая ЛПС, в системный кровоток, что в свою очередь провоцирует системное воспаление и сопровождается неконтролируемым повышением уровней ключевых провоспалительных цитокинов, таких как IL-6, TNF- α , CRP, IL-1 и IL-2, усиливая риск осложнений и усугубляя течение заболевания [202]. Такая активация воспалительного ответа повышает проницаемость гематоэнцефалического барьера и усиливает нейровоспаление. ЛПС связывают с развитием нейродегенеративных заболеваний, включая болезнь Альцгеймера и болезнь Паркинсона, где они способствуют накоплению A β и α -синуклеина в нейронах [58]. Дополнительно проникновение SARS-CoV-2 в центральную нервную систему активирует микроглию, вызывая устойчивое нейровоспаление и нейродегенерацию [74].

Микробиоценоз кишечника играет важную роль не только в поддержании местного иммунного и метаболического гомеостаза, но и в регуляции функций центральной нервной системы, во многом за счёт синтеза нейромедиаторов, таких как серотонин, гистамин, мелатонин, ацетилхолин и катехоламины, которые оказывают влияние на настроение, когнитивные процессы, сон и общий нервно-психический статус организма [71]. В совокупности описанные изменения микробиоценоза и кишечного барьера способны объяснить широкий спектр неврологических проявлений у пациентов с COVID-19 — включая головные боли, бессонницу, астению, а также повышенную тревожность — которые, по всей видимости, обусловлены нарушением нормального функционирования оси «кишечник–мозг» и дисбалансом синтеза ключевых нейромедиаторов.

Таким образом, системное воспаление, инициированное дисфункцией осей «кишечник–лёгкие» и «кишечник–мозг», проявляется и через корреляции между микробиоценозом кишечника и цитокиновым профилем. В ряде исследований

показано, что у пациентов с COVID-19 кишечный дисбиоз напрямую связан с изменением цитокинового профиля: *Veillonella* отрицательно коррелировала с IL-1ra, IL-1 β , IL-8, IFN- γ и IP-10, тогда как комменсалы (*Bifidobacterium*, *Faecalibacterium*, *Akkermansia*) — с TNF- α , IL-9, MIP-1 α и MIP-1 β ; при этом уровень *Faecalibacterium* обратно взаимосвязан с IL-8 и IL-12(p40) [124]. Обогащение *Actinobacteria* и *Propionibacteriaceae* ассоциировалось с повышением gp130/sIL-6Rb, а *Clostridia* — с понижением IFN- γ и IL-28A/IFN-I2 [65]. *B. adolescentis*, *E. rectale* и *F. prausnitzii* отрицательно коррелировали с CXCL10, IL-10, TNF- α и CCL2, тогда как *B. dorei* и *A. muciniphila* положительно с IL-1 β , IL-6 и CXCL8 [118]. Количество *Enterococcus* связано с повышением D-димера, ферритина и IL-6 [134]. У пациентов с лихорадкой численность *Enterococcus faecium* коррелировала с IL-6, IL-10, ЛДГ и D-димером, а *Ruminococcus gnavus* — с TNF- α ; у пациентов без лихорадки *B. adolescentis* связывалась с показателями протромбинового индекса, ЛДГ, АСТ и АЛТ, *Eubacterium ramulus* — с IL-6, а *Erysipelotrichaceae bacterium* — с TNF- α и ЛДГ [11]. Установлены корреляции численности *B. dorei* с IL-6, *F. prausnitzii* — с IL-10 и IL-17, *R. gnavus* — с TNF- α , а *E. faecium* — одновременно с IL-6 и TNF- α [12].

1.3. Влияние терапии COVID-19 на микробиоценоз кишечника: современные данные и перспективы коррекции

В эпоху циркуляции геноварианта Omicron, согласно Временным методическим рекомендациям Минздрава РФ (версия 17, 2022), для этиотропной терапии COVID-19 применялись противовирусные препараты, направленные на блокирование репликации SARS-CoV-2 или препятствие проникновению вируса в клетку [26]. К ним относились молнупиравир, нирматрелвир/ритонавир, фавипиравир, ремдесивир, малая интерферирующая РНК и моноклональные антитела, эффективность которых была наиболее высокой при раннем начале терапии. Для патогенетического лечения использовались препараты, влияющие на ключевые звенья воспалительного каскада, включая ингибиторы янус-киназ (Барицитиниб, Тофацитиниб, Упадацитиниб), антагонисты рецепторов IL-6

(Левилимаб и Олокизумаб), антагонист рецептора $IL-1\alpha/IL-1\beta$ (Анакинра), а также глюкокортикостероиды и антикоагулянты. Целью такой терапии было снижение выраженности гипервоспалительного ответа и профилактика тромботических осложнений [26].

Пандемия COVID-19 сопровождалась широким и часто необоснованным применением антибактериальных препаратов: согласно мета-анализу Yang и соавт., 2024 обобщившему данные почти 900 000 пациентов из 173 исследований, антибиотики получали в среднем 76,2% госпитализированных больных с COVID-19 [103]. При этом реальная частота бактериальных инфекций оказалась существенно ниже. Так, по результатам мета-анализа 24 исследований ($n = 3338$) доля пациентов с бактериальной ко-инфекцией на момент поступления составила лишь 3,5% (95% ДИ: 0,4–6,7%), а вторичные бактериальные инфекции развивались у 14,3% (95% ДИ: 9,6–18,9%). В целом бактериальные осложнения были зафиксированы у 6,9% пациентов (95% ДИ: 4,3–9,5%), при этом чаще у лиц с тяжёлым течением болезни (8,1%, 95% ДИ: 2,3–13,8%) [26].

Массовое применение антибиотиков при COVID-19 сопровождалось неблагоприятными эффектами в отношении микробиоценоза кишечника. Известно, что антибактериальные препараты широкого спектра действия вызывают глубокие сдвиги в её структуре: снижается альфа-разнообразие, элиминируются комменсальные штаммы, нарушается барьерная функция кишечника [122]. В частности, Bernard-Raichon и соавт., 2022 показали, что у пациентов с COVID-19, получавших антибактериальную терапию, увеличивалась проницаемость кишечной стенки, что ассоциировалось с транслокацией бактерий в системный кровоток и развитием бактериемии [111].

На фоне COVID-19 антибиотикотерапия способствовала углублению дисбиотических изменений. Было продемонстрировано, что у пациентов, получавших антибактериальные препараты, отмечалось более выраженное истощение полезных видов (*Bifidobacterium*, *Akkermansia*) и рост условно-патогенных микроорганизмов. В то же время отдельные исследования показали, что изменения носили ограниченный характер и затрагивали преимущественно

спорадические бактерии типа *Firmicutes* [55, 134]. В период реконвалесценции нарушения сохранялись: микробиоценоз кишечника пациентов, перенёсших COVID-19, существенно отличалась от таковой у неинфицированных лиц, причём различия были более выражены у больных, получавших антибактериальную терапию. Для них было характерно обогащение такими видами, как *Bifidobacterium dentium* и *Lactobacillus ruminis*, при одновременном снижении численности *E. rectale*, *R. bromii*, *F. prausnitzii* и *B. longum* [118]. Ещё одним следствием антибиотикотерапии стало увеличение доли условно-патогенной флоры. В ряде работ отмечено возрастание численности *Bacteroides nordii*, *Actinomyces viscosus*, *Clostridium hathewayi* у пациентов, получавших антибактериальные препараты [50]. Кроме того, фиксировалось повышение концентрации энтерококков, особенно в ранние сроки болезни, что связывается именно с проведением антибактериальной терапии [96, 134]. Следует подчеркнуть, что исходным фактором, нарушающим состояние кишечного микробиоценоза, является сам вирус SARS-CoV-2, тогда как антибактериальная терапия лишь усиливает уже существующие изменения, усугубляя дисбаланс микробиоценоза кишечника и способствуя истощению её защитного потенциала.

Дополнительно, всё больше внимания уделяется потенциальному влиянию противовирусной терапии на состояние микробиоценоза кишечника. Имеются экспериментальные данные, что ремдесивир способен оказывать модулирующее действие на микробиоценоз кишечника через регуляцию метаболизма желчных кислот и уменьшение воспалительного ответа. Так, в исследовании на мышинной модели колита применение ремдесивира сопровождалось снижением уровня провоспалительных цитокинов (IL-1 β , IL-6, TNF- α), восстановлением экспрессии белков плотных контактов (occludin, claudin-1), нормализацией профиля желчных кислот и улучшением структуры микробиоценоза [177]. Фавипиравир также проявляет защитные эффекты в отношении кишечного эпителия: показано, что препарат способен снижать апоптоз и воспалительный ответ энтероцитов при индуцированном цитокиновом шторме, что может косвенно поддерживать барьерную функцию кишечника и оказывать влияние на состав микробиоценоза

кишечника [43]. Эти данные позволяют предположить, что некоторые противовирусные средства, применяемые при COVID-19, могут оказывать опосредованное воздействие на кишечный микробиоценоз, однако данный аспект остаётся малоизученным и требует подтверждения в клинических исследованиях у человека.

Учитывая значимую роль микробиоценоза кишечника в патогенезе COVID-19, растёт интерес к возможностям его коррекции как части комплексной терапии заболевания. Одним из перспективных направлений является использование пробиотиков. В соответствии с современным определением, пробиотики представляют собой живые микроорганизмы, которые при введении в адекватных количествах способны оказывать положительное влияние на здоровье организма хозяина. Они способствуют восстановлению и поддержанию баланса микробиоценоза, усиливают барьерную функцию слизистой, модулируют местный и системный иммунный ответ, участвуют в подавлении колонизации патогенов и регулируют воспалительные процессы. В контексте COVID-19 применение пробиотиков рассматривается не только как способ нормализации кишечной микрофлоры, но и как потенциальный инструмент снижения выраженности системного воспаления [220]. Пробиотики реализуют свои эффекты через несколько взаимосвязанных механизмов, обеспечивая комплексное влияние на микробиоценоз и иммунную систему хозяина. Они поддерживают колонизационную резистентность кишечника, препятствуя размножению патогенных микроорганизмов за счёт конкуренции за питательные субстраты, адгезии к эпителиальным клеткам и продукции различных антимикробных соединений, включая органические кислоты, пероксиды водорода и бактериоцины. Кроме того, пробиотики способны модулировать местный иммунный ответ, усиливая секрецию иммуноглобулинов класса А, регулируя активность макрофагов и дендритных клеток, а также способствовать синтезу короткоцепочечных жирных кислот, которые укрепляют эпителиальный барьер и поддерживают противовоспалительный микроклимат в кишечнике [2, 28, 89, 148]. Кроме того, пробиотические штаммы метаболизируют пищевые

компоненты, желчные кислоты и лактат, а также способны расщеплять некоторые ксенобиотики благодаря наличию специфических ферментов. В процессе жизнедеятельности они синтезируют биологически активные метаболиты, в частности короткоцепочечные жирные кислоты (ацетат, пропионат, бутират), регулирующие энергетический обмен и противовоспалительные реакции, витамины группы В и триптофан [28, 100, 135]. Важным звеном их действия является иммуномодуляция: пробиотики стимулируют продукцию противовоспалительных цитокинов (IL-4, IL-10), способствуют дифференцировке Т-регуляторных клеток и снижению активности провоспалительных реакций [98, 99]. Таким образом, пробиотики оказывают системное влияние на организм, однако их эффект во многом зависит от времени экспозиции, так как они не способны к устойчивой колонизации кишечника [28].

Помимо классических пробиотиков, всё больше внимания уделяется синбиотикам и постбиотикам, которые могут обладать более предсказуемыми эффектами за счёт прямой доставки метаболитов (например, короткоцепочечных жирных кислот) или сочетания с пребиотиками, стимулирующими рост полезных бактерий [2, 169, 170].

При различных острых респираторных инфекциях показано, что пробиотики способны усиливать иммунный ответ и облегчать течение заболевания. Так, *Lactobacillus rhamnosus* повышал Т-клеточный иммунный ответ у мышей с пневмококковой инфекцией [140] и снижал выраженность симптомов у детей с ОРВИ [171]; *Lactococcus lactis* JCM 5805 активировал противовирусный иммунитет против вируса гриппа [91], а пероральный прием *Bacteroides breve* YIT4064 усиливал продукцию антиген-специфических IgG [174]. Согласно данным метаанализа, использование пробиотиков (*Lactobacillus*, *Bifidobacterium*) снижает частоту респираторно-ассоциированной пневмонии, что связывают с ограничением роста оппортунистических патогенов и стимуляцией иммунных реакций [172].

Клинические наблюдения включают результаты многоцентрового рандомизированного плацебо-контролируемого исследования Gutiérrez-Castrellón

Р., 2022 амбулаторных пациентов с лёгким–умеренным течением COVID-19: 300 участников получали в течение 30 дней пробиотическую смесь (*Lactiplantibacillus plantarum* КАВР022, КАВР023, КАВР033 и *Pediococcus acidilactici* КАВР021), терапия ассоциировалась с клиническим уменьшением выраженности основных симптомов (лихорадка, кашель, миалгия, диспноэ, диарея), снижением маркеров воспаления (СРБ) и коагуляции (D-димер) и улучшением рентгенологических признаков поражения лёгких [34]. Результаты двойного-слепого исследования Wischmeyer Р.Е., 2024 показывают, что *Lacticaseibacillus rhamnosus* GG (LGG), применённый в постконтактной профилактике у 182 участников, которые находились в одном доме с человеком, у которого был подтверждён COVID-19, показал, что лечение LGG снижает вероятность развития симптомов заболевания по сравнению с плацебо [93]. В популяции пациентов с пост-ковидным синдромом крупное двойное-слепое исследование рандомизировано 463 человека для приёма синбиотика SIM01 (содержит специально отобранные штаммы *Bifidobacterium* и пребиотики) продемонстрировало, что через 6 месяцев в группе SIM01 статистически значимо чаще отмечалось ослабление усталости, когнитивных нарушений и ЖКТ-симптомов [38]. Данные мета-анализа на 1027 участниках из восьми РКИ указывают, что пробиотические добавки снижают частоту диареи, уменьшают кашель и одышку и могут улучшать клинический исход по сравнению с плацебо терапией [181]. Другой мета-анализ, объединивший результаты 10 исследований с участием 1198 пациентов, продемонстрировал, что применение пробиотиков способствует общему улучшению самочувствия и сокращает продолжительность заболевания. При этом пробиотики уменьшали выраженность диареи, кашля и одышки, но не влияли на лихорадку, головную боль и слабость. Дополнительно установлено, что они снижают уровень С-реактивного белка в сыворотке крови и способствуют сокращению сроков госпитализации по сравнению с пациентами, не получавшими такую терапию [173].

Кроме того, в последние годы развивается отдельное направление исследований — психобиотики, представляющее собой пробиотические штаммы

микроорганизмов, способные оказывать опосредованное влияние на психоэмоциональное состояние человека через сложную ось «микробиоценоз кишечника — мозг». Эти штаммы способны модулировать выработку нейромедиаторов и биологически активных метаболитов, участвующих в регуляции настроения, когнитивных функций и стрессовой реакции организма. Данное направление приобретает особую актуальность для пациентов с постковидным синдромом, у которых нередко наблюдаются депрессия, тревожность, бессонница, а также различные когнитивные нарушения, включая снижение концентрации, ухудшение памяти и замедление психомоторных реакций. Психобиотики могут способствовать восстановлению нормального микробного баланса и смягчению проявлений неврологических и психоэмоциональных расстройств, формируя перспективное направление для комплексной терапии и реабилитации таких пациентов [133, 150].

Таким образом, современные данные свидетельствуют о том, что инфекция SARS-CoV-2 вызывает значительные изменения в составе микробиоценоза кишечника, которые сопровождаются активацией воспалительных процессов и ухудшением клинического состояния пациентов. Одним из ключевых патогенетических механизмов COVID-19 является гипervоспаление, или так называемый «цитокиновый шторм», характеризующийся чрезмерной продукцией провоспалительных медиаторов, что приводит к повреждению тканей, полиорганной дисфункции и повышению риска летального исхода. В то же время взаимосвязь между нарушениями микробиоценоза и избыточной цитокиновой продукцией остаётся недостаточно изученной. Следует отметить, что накопленные клинические данные подтверждают перспективность применения пробиотиков, как одного из возможных инструментов модуляции микробиоценоза и иммунного ответа. В ряде рандомизированных контролируемых исследований и метаанализов установлено, что пробиотические препараты способны улучшать течение острых респираторных инфекций, сокращать длительность симптомов, снижать частоту осложнений и выраженность системного воспаления. Более того, уже показано, что при COVID-

19 применение отдельных пробиотических штаммов и их комбинаций может сопровождаться уменьшением симптоматики, снижением уровня маркеров воспаления, улучшением лабораторных и рентгенологических показателей, а также более быстрым клиническим восстановлением. Однако, на сегодняшний день отсутствуют чётко стандартизированные подходы к коррекции этих изменений, а эффективные схемы восстановления нормального микробного баланса и снижения гипервоспалительного ответа пока не разработаны, что определяет актуальность дальнейших исследований в данном направлении.

ГЛАВА II. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1. Материалы и дизайн исследования

Исследование проводилось 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 2022 - 2023 гг. в государственном бюджетном учреждении здравоохранения города Москвы «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; НИОКТР 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; НИОКТР АААА-А21-121011890137-6]

Исследования проводили с соблюдением требований биомедицинской этики согласно Женевской конвенции о правах человека (1997 г.) и Хельсинской декларации Всемирной медицинской ассоциации (2000 г.) при одобрении локального этического комитета ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора, протокол № 127 от 27. 09. 2022 г., а также протоколом работы, согласованным и одобренным в локальном этическом комитете ГБУЗ «ИКБ №2» ДЗМ. От всех госпитализированных пациентов с COVID-19, соответствующих критериям включения, было получено добровольное информированное согласие на участие в исследовании.

В исследование включены 100 пациентов, находившиеся на стационарном лечении в государственном бюджетном учреждении здравоохранения г. Москвы «Инфекционная клиническая больница №2 Департамента здравоохранения г.

Москвы» с диагнозом: коронавирусная инфекция COVID-19 среднетяжелого течения.

Критериями включения пациентов в исследуемую группу послужили:

- возраст от 18 до 75 лет;
- подтвержденный лабораторно COVID-19 среднетяжелого течения у пациента;
- наличие информированного согласия на обработку персональных данных и участие в исследовании.

Критерии невключения:

- возраст младше 18 и старше 75 лет;
- отсутствие лабораторно подтвержденного диагноза COVID-19;
- наличие беременности, ВИЧ-инфекции;
- наличие на момент болезни аутоиммунных и онкологических заболеваний в стадии обострения, требующих приема ГКС, иммунно/ химиотерапии.
- отсутствие информированного добровольного согласия от больного на обработку персональных данных и медицинское вмешательство.

Исследование было проспективным и на некоторых этапах ретроспективным, в него включались все пациенты, соответствующие критериям включения при отсутствии критериев невключения, и проходило в 4 этапа.

На начальном этапе была проведена идентификация госпитализированных больных, отвечающих заданным критериям. В исследование было включено 100 пациентов, их них 59 мужчин и 41 женщина, медиана возраста составила 55 [18; 75] лет. После получения информированного согласия, всем пациентам было проведено стандартное обследование. Обязательным было выявление РНК SARS-CoV-2 в мазках из носо/ротоглотки методом ПЦР для верификации диагноза коронавирусная инфекция COVID-19 среднетяжелое течение, лабораторное подтверждение было обязательным и для включения в исследование.

Оценка степени тяжести COVID-19, а также стандартные лабораторные и инструментальные методы исследования осуществлялись согласно действующим ВМР «Профилактика, диагностика и лечение новой коронавирусной инфекции

(COVID-19)». Версия 17 (24.12.2022). Среднетяжелым течением COVID-19 считалось заболевания с температурой тела более 38°C, ЧДД выше 22 в мин., одышкой при физической нагрузке, изменения при КТ (рентгенографии) типичные для вирусного поражения, SpO₂ менее 95%, СРБ в сыворотке крови более 10мг/л [21].

Пациенты находились под наблюдением весь период стационарного лечения в ИКБ№2 ГБУЗ г. Москва. Осмотр лечащим врачом проводился ежедневно, оценивался общесоматический статус с термометрией, пульсоксиметрией, измерением АД, ЧДД, а также оценивалось наличие и выраженность характерных клинических симптомов COVID-19 (лихорадка, кашель, одышка, слабость). Консультации узких специалистов проводились по показаниям.

На втором этапе проводилось ПЦР исследование количественного содержания РНК SARS-CoV-2 в мазке со слизистой из носо/ротоглотке, фекалиях и в сыворотке венозной крови в остром периоде с забором материала в 1 день госпитализации и в период реконвалесценции при выписке из стационара. В рамках исследования пациенты были разделены на две группы в зависимости от количества РНК SARS-CoV-2 в мазках со слизистой носо/ротоглотки: первая группа - 57 больных, у которых концентрация вирусной РНК была определена как низкая и не превышала порог в $5 \cdot 10^4$ ГЭ/мл. Вторая группа со средней вирусной нагрузкой - 43 пациента, у которых количество вирусной РНК выше уровня $5 \cdot 10^4$ ГЭ/мл.

Методом ИФА у госпитализированных пациентов определены показатели цитокинов и хемокинов (MIP-1 α , MIP-1 β , sCD14, IL-12) в динамике, проведена оценка количественного состава микробиоценоза толстого кишечника методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) набором «КОЛОНОФЛОР-16 (биоценоз)», а также бактериальный посев клинического материала на питательные среды.

На третьем этапе определяли клинико-лабораторные особенности COVID-19 в зависимости от вирусной нагрузки в мазках со слизистой

носо/ротоглотки и наличия РНК вируса в фекалиях. Проведен анализ взаимосвязи нарушений микробиоценоза с клиническими, иммунологическими параметрами.

Дизайн исследования представлен на рисунке 2.



Рисунок 2. Дизайн исследования

На четвёртом этапе исследования проанализирован состав кишечного микробиоценоза при COVID-19 с учётом влияния различных вариантов терапии, включая антибактериальные, противовирусные препараты и ингибиторы янус-киназ. Обоснована необходимость коррекции выявленных нарушений микробиоценоза.

При выписке из стационара пациенты проходили анкетирование, в ходе которого оценивалось наличие сохраняющихся клинических симптомов: астенизация, снижение работоспособности, нарушение концентрации внимания и памяти, пастозность и отёки нижних конечностей, мышечные и суставные боли, дискомфорт в животе, повышенное газообразование, неустойчивый стул, тошноту, снижение аппетита, потеря вкуса и обоняния, кашель и одышка. Выраженность тревоги (>10 баллов) и депрессии (>11 баллов) оценивались по шкале HADS.

В момент выписки из стационара 42 пациентам был назначен препарат для коррекции выявленных нарушений «Ковирвин (AB21 D+)», обладающий пробиотическим свойством. Пробиотический препарат выпускается в капсулах, содержит мальтодекстрин, (гипромеллоза (E464, загуститель); *Lactiplantibacillus plantarum* CECT7484; *Lactiplantibacillus plantarum* CECT7485, *Pediococcus acidilactici* CECT7483, *Lactiplantibacillus plantarum* CECT 30292, холекальциферол (витамин D3), стеарат магния (E470b), агент антислеживающий. Среднее содержание в одной капсуле *Lactiplantibacillus* $1,66 \cdot 10^9$ КОЕ, *Pediococcus acidilactici* $3,33 \cdot 10^8$ КОЕ, витамин D3 10 мкг. Производителем является AB-BIOTICS S.A., Av. de la Torre Blanca 57 (Esade Creapolis) — 3B11, 08172 Sant Cugat del Valles (Barcelona) Spain, (Испания) [75], зарегистрирован в РФ. Приём Ковирвина (AB21 D+) проводился в соответствии с инструкцией: по одной капсуле один раз в сутки во время приёма пищи в течение 30 дней. Для оценки эффективности проводимой коррекции в период с третьего по седьмой день после завершения курса выполнялось контрольное обследование с анализом иммунологических показателей и состояния кишечного микробиоценоза. Группа сравнения составила 34 пациента.

2.2. Методы исследования

Всем больным COVID-19 проводилось стандартное обследование согласно действующим ВМР «Профилактика, диагностика и лечение новой коронавирусной инфекции (COVID-19)» Версия 17 (24.12.2022) [21] сбор анамнеза заболевания и жизни, эпидемиологического анамнеза, ежедневный объективный осмотр, лабораторные исследования, включающие в себя клинический и биохимический анализ крови, коагулограмму, клинический анализ мочи, верификацию COVID-19 методом ПЦР, инструментальные методы (КТ органов грудной клетки и пульсоксиметрия, ЭКГ), а также ЭХО-КГ, УЗИ органов брюшной полости и почек по показаниям.

Объем проведенных работ и методы исследований представлены в Таблица 1.

Таблица 1. Материалы и методы обследования

<i>Направление исследования</i>	<i>Методы исследования</i>	<i>Количество пациентов</i>
Работа с медицинской документацией	Медицинская карта стационарного больного (форма 003/у)	324 карты пациентов
	Анкетирование пациентов	100 в ОП 76 - ЧМ
Сбор анамнеза и жалоб	Пациенты с COVID-19 среднетяжелого течения	134
Физикальный осмотр	Осмотр кожных покровов и слизистых, измерение ЧДД	134
Общие лабораторные исследования	Клинический анализ крови (уровень гемоглобина, лейкоцитов, тромбоцитов, эритроцитов, лейкоцитарная формула)	100 в ОП, 100 в ОП 76 - ЧМ
	Биохимический анализ крови (мочевина, креатинин, глюкоза, АЛТ, АСТ, альбумин, ЛДГ, ферритина, СРБ)	100 в ОП, 100 в ОП 76 - ЧМ
	Коагулограмма (фибриноген, протромбиновое время, Д-димер)	100 в ОП, 100 в ОП 76 - ЧМ
Интегральные гематологические индексы и показатели системного воспаления	ИСЛМ, ТЛИ, МП, CLR, SIRI, SII, AISI	100 в ОП, 100 в ОП 76 - ЧМ
Иммуноферментный анализ (ИФА)	MIP-1 α , MIP-1 β , IL-12, sCD14	100 в ОП, 100 в ОП 76 - ЧМ
Молекулярно-генетические исследования (ПЦР)	Качественный анализ на выявление РНК SARS-CoV-2 в мазках из носо/ротоглотки	100 в ОП, 100 в ОП
	Количественный анализ на выявление РНК SARS-CoV-2 в мазках из носо/ротоглотки	100 в ОП

Продолжение таблицы 1

	Количественный анализ на выявление РНК SARS-CoV-2 в сыворотке крови	100 в ОП, 100 в ПР
	Количественный анализ на выявление РНК SARS-CoV-2 в фекалиях	100 в ОП, 100 в ПР
	Количественная оценка состояния микробиоценоза толстого кишечника	100 в ОП, 100 в ПР, 76 - ЧМ
Микробиологические исследования	Определение дисбактериоза толстого кишечника	100 в ОП, 100 в ПР, 76 - ЧМ
	Микробиологическое исследование биологических сред (крови, бронхиального аспирата, бронхоальвеолярного лаважа, мочи)	18 мокрота 6 моча
Индексы разнообразия кишечного микробиоценоза	Индекс разнообразия Шеннона, индекс разнообразия Симпсона, индекс колонизационной резистентности (ИКР)	100 в ОП, 100 в ПР, 76 - ЧМ
Инструментальные методы исследования	Пульсоксиметрия	100
	КТ органов грудной клетки	100
	ЭКГ	По показаниям
	Эхокардиография	По показаниям
	УЗИ органов брюшной	По показаниям
Статистическая обработка материала		100

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

Помимо стандартных методов были проведены специальные исследования: определение количества РНК SARS-CoV-2 методом ПЦР в мазках из носо/ротоглотки, сыворотки крови и в фекалиях; анализ иммунологических показателей (MIP-1 α , MIP-1 β , sCD14, IL-12) методом ИФА; оценка количественного состава микробиоценоза толстого кишечника проведена методом ПЦР набором «КОЛОНОФЛОР-16 (биоценоз)», а также с помощью посева клинического материала на различные питательные среды.

Общеклиническая лабораторная диагностика выполнена на базе лабораторий ГБУЗ «ИКБ №2 ДЗМ». Исследование клинического анализа крови проводилось на автоматическом гематологическом анализаторе DxH 800 фирмы Beckman Coulter (США) с определением гемоглобина, эритроцитов, лейкоцитов, лимфоцитов (абсолютное число и %), нейтрофилов (абсолютное число и %), моноцитов (абсолютное число и %), тромбоцитов.

Материалом для исследования служила венозная кровь, полученная закрытым способом. Полученные данные общего анализа крови оценивались в сравнении с референсными значениями (Приложение А1). Для оценки активности неспецифических клеточных факторов макроорганизма использованы интегральные гематологические индексы и показатели системного воспаления, которые были рассчитаны из клинического анализа крови пациентов [8, 25]. Формулы расчета интегральных гематологических индексов и индексов системного воспаления представлены в приложении (Приложение А2).

Исследование биохимических показателей крови в динамике проводилось при помощи биохимического анализатора AU-480 Beckman Coulter (США) с определением мочевины, креатинина, глюкозы, АЛТ, АСТ, общего билирубина, общего белка, альбумина, ЛДГ, ферритина, СРБ. Полученные данные биохимических показателей крови оценивались в сравнении с референсными показателями (Приложение А3).

Коагулограмма выполнялась с использованием автоматического анализатора гемостаза (коагулометра) ACL TOP 300 фирмы Instrumentation Laboratory Co. (США). Для сравнительного анализа результатов обследования использовались референсные значения (Приложение А3).

Для определения иммунологических маркеров показателей использовали метод твердофазного иммуноферментного анализа ИФА, в сыворотке крови определяли уровни MIP-1 α , MIP-1 β , IL-12, sCD14. Количественное измерение цитокинов определялось с использованием наборов: RayBio® «Human MIP-1 Alpha ELISA» и «Human MIP-1beta ELISA» (США), Hycult Biotech «sCD14, Human, ELISA» (США), Invitrogen™ «Human IL-12 p70» (США). Обработка

данных ИФА проведена микропланшетным ридером Anthos 2020 (Anthos Labtec Instruments GmbH, Австрия) при длине волны 450 нм с коррекцией 620 нм с построением стандартной кривой оптической плотности и определением концентрации исследуемых цитокинов согласно инструкциям производителей.

Методика постановки основывается на «сендвич»-методе твердофазного иммуноферментного анализа с применением моноклональных антител (МКА) к двум различным эпитопам антигена. Материалом для ИФА диагностики послужила сыворотка венозной крови. Метод ИФА включал три стадии: на первой — инкубация калибровочных и исследуемых образцов в лунках с иммобилизованными моноклональными антителами, промывка; на второй — добавление вторичных биотин-меченых антител и повторная инкубация; на третьей — внесение стрептавидин-пероксидазного конъюгата, затем субстрата (ОФД + H_2O_2), остановка реакции и измерение оптической плотности при 450 нм.

Нормы исследуемых цитокинов определялись в соответствии с инструкцией производителя (Таблица 2).

Таблица 2. Референсные значения показателей цитокинового статуса

<i>Материал</i>	<i>Единицы измерения</i>	<i>Референсные значения</i>
МIP-1α	пг/мл	<15,6
МIP-1β	пг/мл	<7,8
IL-12	пг/мл	<4,9
sCD14	мкг/мл	2-4

Для измерения насыщения кислородом крови и ЧСС использовали пульсоксиметр медицинский Choicemmed MD300C21C (Китай). ЭКГ проведена электрокардиографом «АКСИОН» ЭКЗТЦ 3/6-04 (Россия), а эхокардиография - аппаратом Philips EPIQ 7G (Нидерланды). Ультразвуковое исследование органов брюшной полости, почек, лимфатических узлов и сосудов проведено аппаратом GE HealthCare Vivid E 90 (США). Компьютерная томография проводилась с использованием мультиспирального компьютерного томографа Toshiba Aquilion 64 (Япония).

Степень поражения легочной ткани определялась согласно действующим ВМР «Профилактика, диагностика и лечение новой коронавирусной инфекции

(COVID-19)» Версия 17 (24.12.2022) (Таблица 3).

Таблица 3. Шкала поражения легких при COVID-19

<i>Тяжесть заболевания</i>	<i>КТ-признаки</i>
Норма (КТ – 0)	Отсутствие характерных проявлений
Легкая (КТ – 1)	Минимальный объем - <25% объема легких
Средняя (КТ – 2)	Средний объем - 25 – 50% объема легких
Тяжелая (КТ – 3)	Значительный объем - 50 – 75% объема легких
Критическая (КТ – 4)	Субтотальный объем >75% объема легких

Для верификации диагноза использовали качественное определение РНК SARS-CoV-2 в мазках со слизистых из рото/носоглотки методом амплификации нуклеиновых кислот в режиме реального времени амплификатором Real-Time CFX96 C10000 Touch Thermal Cycler, Bio-Rad (США) с применением набора реагентов «АмплиТест SARS-CoV-2» ФГБУ «ЦСП» ФМБА России. Забор материала из ротоглотки и носоглотки осуществляли с помощью стерильных тампонов, далее тампоны помещали в одну стерильную пластиковую пробирку с транспортной средой (с учетом рекомендаций производителя применяемых наборов реагентов). Исследование проводилось на базе лаборатории ГБУЗ «ИКБ №2 ДЗМ».

Количественное определение РНК SARS-CoV-2 в мазках со слизистых из рото/носоглотки, в сыворотке венозной крови и в фекалиях проведено методом ОТ-ПЦР с гибридационно-флуоресцентной детекцией продуктов амплификации в режиме реального времени с применением набора реагентов «АмплиСенс® COVID-19-FL» ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора, Россия. Исследование проводилось на базе ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора.

Принцип метода: метод основан на экстракции РНК из образцов с добавлением внутреннего контрольного образца (ВКО-FL), последующей обратной транскрипции и амплификации кДНК выявляемого микроорганизма и ВКО с гибридационно-флуоресцентной детекцией в режиме реального времени. ВКО-FL позволяет контролировать эффективность всех этапов ПЦР и выявлять

ингибиторы. Определение концентрации РНК-мишени проводится на основе сравнения с положительным контролем (ПКО) и линейной зависимости между логарифмом исходной концентрации и ростом флуоресценции. В одной пробирке осуществляется одновременная амплификация двух кДНК-мишеней с регистрацией результатов по каналам детекции.

Забор материала из ротоглотки и носоглотки осуществляли с помощью стерильных тампонов, далее тампоны помещали в одну стерильную пластиковую пробирку с транспортной средой. Пробирки однократно замораживались и хранились при температуре минус 70°C. Взятие венозной крови проводили закрытым способом в пробирку с активатором свертывания и гелем. Для получения сыворотки пробирку центрифугировали не позднее 2 часов с момента взятия крови при 3500 об/мин 10 минут при температуре 18-25 °C. Далее аликвоту сыворотки переносили в пробирку 2,0 мл. Пробирки однократно замораживались и хранились при температуре минус 70°C.

Забор фекалий осуществляли из продезинфицированного судна с помощью стерильных тампонов, далее тампоны помещали в стерильную пластиковую пробирку с транспортной средой. Пробирки однократно замораживались и хранились при температуре минус 70°C.

Полученные данные количественного определения РНК SARS-CoV-2 оценивались согласно референсным значениям (Таблица 4).

Таблица 4. Референсные значения количественного определения РНК SARS-CoV-2 в различных биологических материалах

<i>Материал</i>	<i>Единицы измерения</i>	<i>Референсные значения</i>
Мазок/отделяемое носоглотки и ротоглотки	ГЭ/мл	$\geq 10^3$ - $< 5 \cdot 10^4$ - низкая нагрузка; $\geq 5 \cdot 10^4$ - $< 10^6$ - средняя нагрузка; $\geq 10^6$ - $< 10^8$ - высокая нагрузка;
Сыворотка венозной крови	ГЭ/мл	Не обнаружено
Фекалии	ГЭ/мл	$\geq 10^3$ - $< 5 \cdot 10^4$ - низкая нагрузка; $\geq 5 \cdot 10^4$ - $< 10^6$ - средняя нагрузка; $\geq 10^6$ - $< 10^8$ - высокая нагрузка;

Для комплексной оценки состава и функционального состояния микробиоценоза толстого кишечника у пациентов с новой коронавирусной инфекцией (COVID-19) в остром периоде заболевания и в периоде реконвалесценции применены два взаимодополняющих метода: полимеразная цепная реакция (ПЦР) с использованием тест-системы «КОЛОНОФЛОР-16 (Биоценоз)» и классический культуральный метод. Метод ПЦР позволил провести количественную и качественную идентификацию основных представителей микробиоценоза кишечника, обеспечив оценку микробиологического профиля на молекулярном уровне. Применение микробиологического метода обеспечило возможность анализа жизнеспособности и метаболической активности выделенных микроорганизмов, что позволило более полно охарактеризовать функциональное состояние микробиоценоза.

Для количественной оценки состояния микробиоценоза толстого кишечника использован метод полимеразной цепной реакции с флуоресцентной детекцией результатов амплификации в режиме реального времени с применением набора реагентов ООО «Альфалаб» «КОЛОНОФЛОР-16 (биоценоз)» (Россия). Анализ результатов проведен с помощью программного обеспечения «Колонофлор v.2.1.5.0». Набор позволяет выявлять 23 показателя, включая 21 группу/вид микроорганизмов, общее бактериальное число и наличие генов патогенности, определяющих энтероинвазивные свойства *E. coli*. Исследование проводилось на базе ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора.

Забор проб фекалий для ПЦР-анализа осуществлялся в объёме 1–3 г (1–3 мл) из продезинфицированного судна с использованием стерильных лопаточек, после чего материал помещали в стерильный пластиковый контейнер. Пробирки с образцами однократно замораживались и хранились при температуре -70°C до момента анализа.

Принцип анализа:

Анализ микробной флоры фекалий включает два этапа:

1. экстракция ДНК из образцов;

2. амплификация специфических участков ДНК с гибридационно-флуоресцентной детекцией в режиме реального времени методом ПЦР.

ПЦР основана на многократной амплификации ДНК, включающей циклы денатурации, отжига праймеров и синтеза цепей с использованием Таq-полимеразы. Полученные данные сопоставлялись с референсными значениями, указанными в инструкции к набору «КОЛОНОФЛОР-16 (биоценоз)» (Приложение Б).

Параллельно с молекулярно-генетическим методом проводилось выявление нарушений микробиоценоза толстого кишечника классическим микробиологическим методом. Для этого забор проб фекалий осуществлялся в объёме 5 г (5 мл) аналогичным способом, после чего материал доставлялся в лабораторию в течение двух часов с момента взятия. Далее 0,5 г клинического материала эмульгировали в солевом буфере с редуцирующими компонентами, готовили серию десятикратных разведений и засевали на чашки Петри с питательными средами.

Посев материала и учёт результатов осуществляли в соответствии с ОСТ 91500.11.0004-2003 «Протокол ведения больных. Дисбактериоз кишечника» с использованием следующих питательных сред: агар Эндо и агар Плоскирева — для выделения бактерий семейства *Enterobacterales*, желточно-солевой агар — для представителей *Staphylococcaceae*, энтерококковый агар — для *Enterococcus* spp., среда MRS с сорбиновой кислотой — для лактобактерий (*Lactobacillus acidophilus* group, *Lactobacillus casei* group (включая *L. casei*, *L. paracasei*, *L. rhamnosus*), *Lactobacillus plantarum* group, *Lactobacillus fermentum*, *Lactobacillus salivarius* group, *Lactobacillus reuteri*, *Limosilactobacillus reuteri* (ранее *L. reuteri*), *Lacticaseibacillus rhamnosus* (ранее *L. rhamnosus*), *Lactiplantibacillus plantarum* (ранее *L. plantarum*), *Ligilactobacillus salivarius* (ранее *L. salivarius*)), бифидум-среда — для бифидобактерий (*Bifidobacterium adolescentis*, *Bifidobacterium longum* group, *Bifidobacterium bifidum*, *Bifidobacterium breve*, *Bifidobacterium catenulatum* group, *Bifidobacterium dentium*, *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis*), среда Шедлера — для основной группы анаэробных бактерий, а также 5% кровяной агар

— для *Streptococcus* spp., *Clostridium* spp. и других гемолитических или кровезависимых микроорганизмов. Для повышения эффективности выделения клостридий применялся метод этанолового шока.

Анаэробные микроорганизмы культивировали в специальных анаэробных системах ГазПак (Oxoid, Thermo Fisher Scientific, США), работающих на основе химической адсорбции кислорода. Идентификацию полученных штаммов осуществляли с применением традиционных биохимических методов, а при необходимости — методом MALDI-TOF масс-спектрометрии с использованием системы Microflex LT и ПО MALDI Biotyper Compass v.4.1.80 (Bruker Daltonics, Германия). После определения вида микроорганизма проводился пересчёт количества колониеобразующих единиц на 1 г фекалий (КОЕ/г). Исследование микробиологическим методом также выполнялось на базе ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора.

Референсные значения определялись согласно ОСТ 91500.11.0004-2003 «Протокол ведения больных. Дисбактериоз кишечника» (Приложение В) [24].

Степень видового богатства кишечного микробиоценоза было оценено с помощью индексов разнообразия Шеннона и Симпсона, которые позволяют оценить альфа-разнообразие и позволяют комплексно характеризовать структуру микробного сообщества. Индекс Шеннона отражает как общее число таксонов (богатство видов), так и равномерность их распределения, что делает его чувствительным к наличию редких бактериальных групп.

В то же время индекс Симпсона акцентирует внимание на доминирующих таксонах и менее чувствителен к редким видам, обеспечивая дополнительную информацию о преобладании отдельных представителей микробиоценоза. Совместное применение этих индексов позволяет более точно оценить степень нарушений микробиоценоза и выявить особенности бактериального разнообразия у пациентов с COVID-19 [31].

Индекс разнообразия Шеннона обозначается как H и рассчитывается по формуле:

$$H = -\sum p_i * \ln(p_i), \text{ где:}$$

- Σ — греческий символ, означающий «сумма»;
- \ln — натуральный логарифм;
- p_i — Доля всего сообщества, состоящего из видов i .

Значение индекса разнообразия Шеннона находится в диапазоне от 0 до 1. Чем ниже значение, тем ниже разнообразие [13, 31].

Индекс разнообразия Симпсона, обозначаемый как D , рассчитывается по формуле:

$$D = \Sigma n_i (n_i - 1) / N (N - 1), \text{ где:}$$

- n_i — Количество организмов, принадлежащих к виду i ;
- N — Общее количество организмов.

Значение индекса разнообразия Симпсона находится в диапазоне от 0 до 1. Чем выше значение, тем ниже разнообразие [13, 31].

Индекс колонизационной резистентности (ИКР) представляет собой соотношения разности показателей микроорганизмов (бифидобактерий, лактобацилл, *E.coli*, *E.faecalis*, *E.faecium*), повышающих колонизационную резистентность, и показателей условно-патогенных и патогенных микроорганизмов (*Candida*, *St.anginosus*, *Enterobacter* spp., *Proteus* spp., *Citrobacter* spp., *Pseudomonas* spp., *K.pneumoniae*, *S.aureus*, *E.coli* гемолитическая, *E.coli* лактозонегативная, Клостридии) ее снижающих, к показателям микроорганизмов, повышающих колонизационную резистентность [26].

Индекс колонизационной резистентности (ИКР) рассчитывается как:

$$\text{ИКР} = \Sigma ((\log (NM) - \Sigma ((\log \text{УПФ} + \text{ПФ}))) / \Sigma ((\log \text{УПФ} + \text{ПФ}))), \text{ где:}$$

- NM — компоненты нормальной микрофлоры;
- УПФ — компоненты условно-патогенной микрофлоры;
- ПФ — компоненты патогенной микрофлоры.

Значения ИКР от 0,81 до 1,0 указывают на норму; значения 0 — 0,81, свидетельствуют о преобладании микроорганизмов, повышающих колонизационную резистентность, над микроорганизмами, её снижающими, что расценивается как благоприятное состояние. Отрицательные значения ИКР указывают на преобладание условно-патогенных и патогенных микроорганизмов

и говорят о снижении колонизационной резистентности микробиоценоза кишечника.

Для решения поставленных задач использовались стандартные методы статистического анализа, применяемые в медицине. Анализ проводили в программе StatTech v.4.2.8 (ООО «Статтех», Россия).

Проверку количественных показателей на нормальность выполняли с помощью критерия Шапиро–Уилка (при числе наблюдений <50) или критерия Колмогорова–Смирнова (при числе наблюдений >50). При ненормальном распределении использовали медиану (Me) и квартильный размах (Q1–Q3).

Для сравнения количественных показателей между двумя независимыми группами применяли U-критерий Манна–Уитни, а в двух связанных группах — критерий Уилкоксона.

При анализе четырехпольных таблиц использовали критерий χ^2 Пирсона (при ожидаемых частотах >10), точный критерий Фишера (при частотах <10) и критерий Мак-Немара для связанных выборок.

Корреляции между клиническими, лабораторными и микробиологическими показателями определяли с помощью коэффициента Спирмена. Связь считали слабой при значении $\leq 0,3$, умеренной — при $0,4–0,7$, и сильной — при $\geq 0,7$.

Для оценки влияния факторов риска рассчитывали относительный риск (RR) и отношение шансов (OR) с 95% доверительным интервалом.

Прогностическую значимость показателей оценивали с помощью ROC-анализа с расчётом площади под кривой (AUC). Значения AUC трактовали следующим образом: $0,9–1,0$ — отличная модель, $0,8–0,9$ — очень хорошая, $0,7–0,8$ — хорошая, $0,6–0,5$ — низкая информативность.

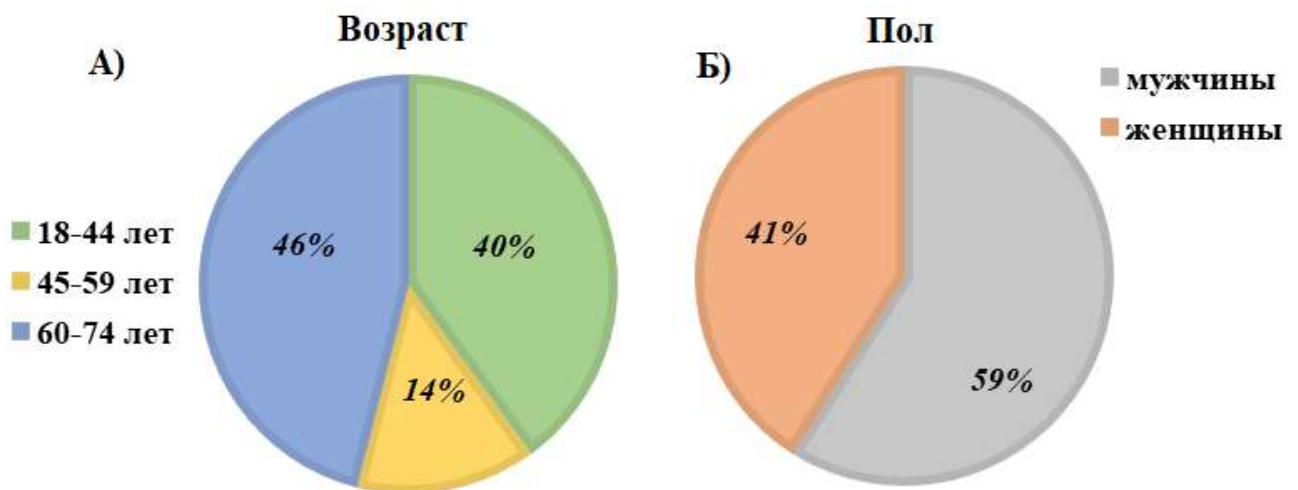
Дополнительная обработка данных проводилась в Microsoft Excel 2016.

ГЛАВА III. ДИНАМИКА ПОКАЗАТЕЛЕЙ МИКРОБИОЦЕНОЗА КИШЕЧНИКА У ПАЦИЕНТОВ С COVID-19 СРЕДНЕТЯЖЕЛОГО ТЕЧЕНИЯ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ВИРУСНОЙ НАГРУЗКИ SARS-CoV-2 В РЕСПИРАТОРНОМ И КИШЕЧНОМ ЛОКУСАХ.

3.1. Общая характеристика госпитализированных пациентов с COVID-19 среднетяжелого течения с анализом состава микробиоценоза кишечника

Из числа госпитализированных в ГБУЗ «ИКБ №2» ДЗМ в период с 01.10.2022г. по 01.05.2023г пациентов с COVID-19 среднетяжелого течения в возрасте от 18 до 75 лет, соответствующих критериям включения. В группу наблюдения включены 100 больных, из них 59 (59%) мужчин и 41 (41%) женщина (Рисунок 3А), при этом максимальное количество больных было в возрасте от 60 до 74 лет (n=46) (Рисунок 3Б).

В среднем пациенты поступали на 4 сутки с момента появления симптомов, длительность госпитализации составила 7-10 койко-дней.



**Рисунок 3. Распределение госпитализированных пациентов с COVID-19
среднетяжелого течения по возрасту (Рисунок 3А)
и гендерному признаку (Рисунок 3Б)**

Все пациенты отмечали острое начало заболевания. На момент госпитализации самыми частыми жалобами были: лихорадка (87%), кашель (57%), астенический синдром (51%), боль и першение в горле (28%), одышка

(24%), ринит (16 %), тошнота/ дискомфорт в животе (10%), диарея (8%), синкопе (6%), кожные сыпи (5%) (Рисунок 4).

Стоит отметить, что диарея наиболее часто встречалась у пациентов молодого возраста 18–44 лет (17,5%) по сравнению с группой 45–59 лет (7,1%) и пожилыми пациентами 60–74 лет (0,0%), $p = 0,012$.

Вирусное поражение легких является частым осложнением COVID-19, поэтому для своевременного выявления пневмонии пациентам при поступлении в стационар проводилось исследование легких методом компьютерной томографии.

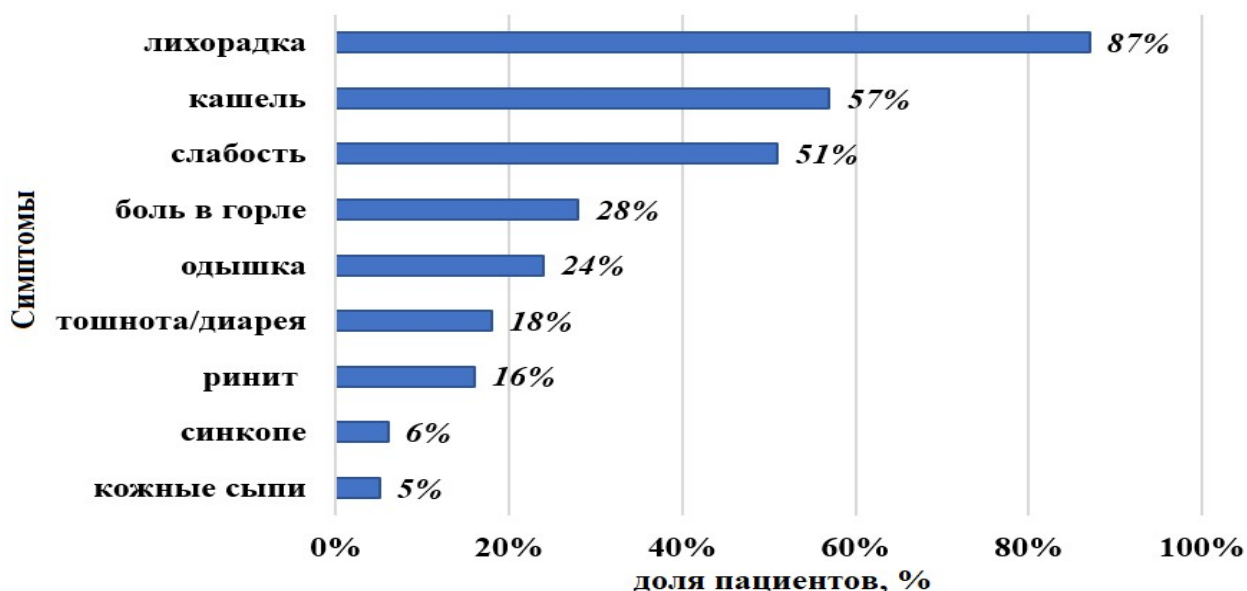


Рисунок 4. Жалобы у пациентов COVID-19 среднетяжелого течения при госпитализации

По данным компьютерной томографии органов грудной клетки у 59% пациентов не выявлено поражения легочной ткани, а признаки вирусного поражения лёгочной ткани установлены у 24% пациентов: у 16% отмечались изменения, соответствующие КТ-1, у 8% — КТ-2. Диагноз вирусно-бактериальная пневмония установлен 17% обследованных, наиболее часто поражения носили двусторонний полисегментарный характер (Рисунок 5).



Рисунок 5. Поражение легких у госпитализированных пациентов с COVID-19 среднетяжелого течения по данным КТ ОГК

Пневмония чаще протекала без дыхательной недостаточности, либо она носила легкую степень тяжести (1 степень). В сравнении с больными без поражения дыхательной системы показатели насыщение кислородом были ниже $Me\ 96,00$ ($Q1 - 3: 94 - 97$), $p < 0,001$. У 29,2% (12 человек) уровень сатурации отмечался ниже 95% $Me\ 92,5$ ($Q1 - 3: 90,8 - 93,0$). Частота дыхательных движений была достоверно выше у пациентов с воспалением легких, $p < 0,001$ (Рисунок 6).

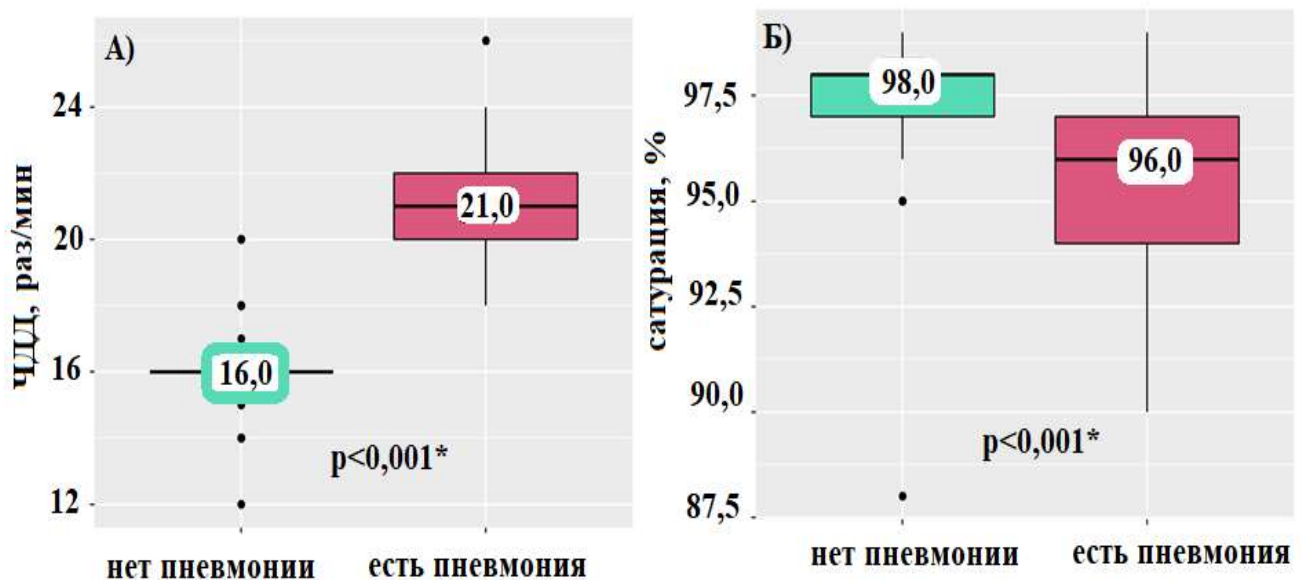


Рисунок 6. Сравнительная характеристика ЧДД (Рисунок 6А) и сатурации (Рисунок 6Б) у пациентов с COVID-19 в зависимости от наличия пневмонии
Примечание: * - различия показателей статистически значимы $p < 0,001$

При микробиологическом исследовании мокроты у 5% пациентов идентифицированы бактериальные патогены: *Klebsiella pneumoniae*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Streptococcus pneumoniae*. Уровень SpO₂ ниже 95% отмечался у 13% пациентов.

Несмотря на то, что клинические проявления COVID-19 у большинства пациентов обусловлены непосредственным действием вируса SARS-CoV-2, в ряде случаев определяющим фактором для госпитализации выступает не выраженность инфекционного процесса как такового, а наличие сопутствующих заболеваний и отягощающих состояний, которые существенно влияют на течение и прогноз инфекции.

В изученной когорте преобладают пациенты с сердечно-сосудистыми заболеваниями: артериальной гипертензией (41%), ишемической болезнью сердца (12%) и фибрилляцией предсердий или желудочков (5%), что в совокупности составляет 42% выборки.

Эндокринные заболевания выявляются у 16% пациентов, включая ожирение (11%) и сахарный диабет 2 типа (11%).

Патология органов дыхания представлена у 12% больных: хроническая обструктивная болезнь лёгких (5%), бронхиальная астма (3%) и хронический бронхит (3%).

Заболевания желудочно-кишечного тракта вне фазы обострения обнаруживаются у 10% пациентов: хронические гепатиты различной этиологии (4%), желчекаменная болезнь (2%), гастрит (4%), язвенная болезнь желудка и двенадцатиперстной кишки (2%), хронический панкреатит (2%).

Онкологические заболевания в стадии стойкой ремиссии выявляются у 7%, анемия различного генеза — у 5%, посттравматические состояния, включая переломы конечностей, — у 5%.

При этом у 46% госпитализированных пациентов отмечается сочетанная сопутствующая патология (Рисунок 7).

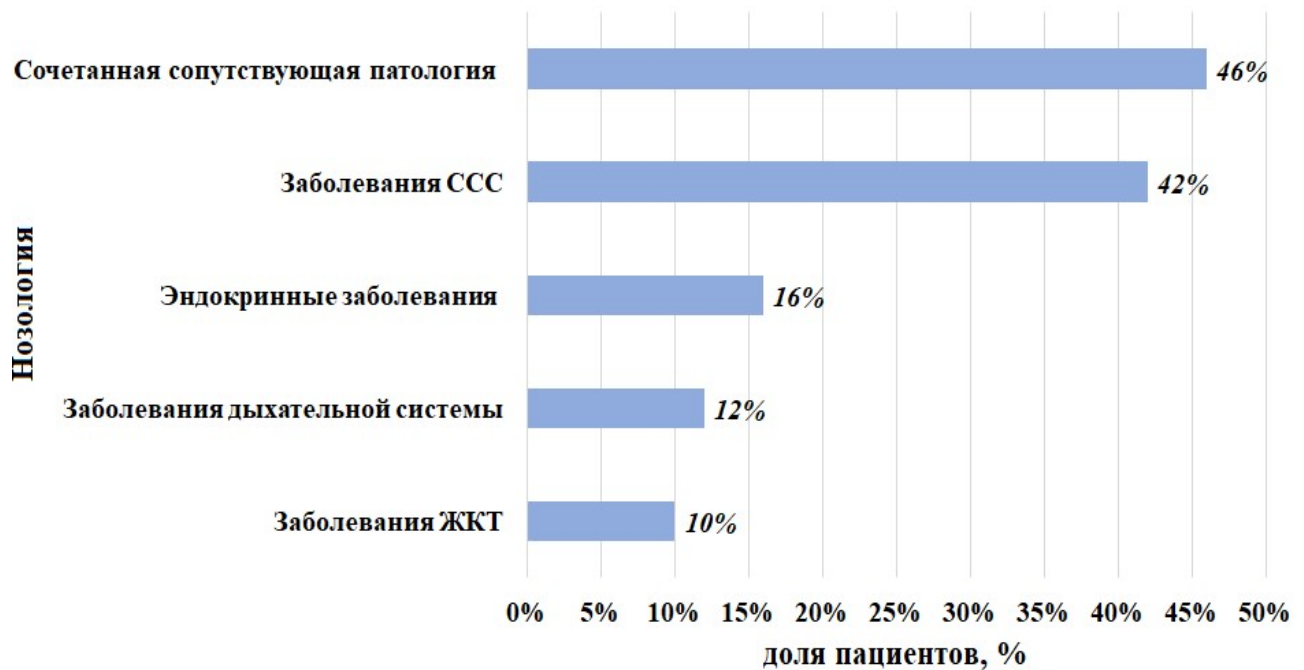


Рисунок 7. Сопутствующие заболевания у пациентов с COVID-19 среднетяжелого течения

У всех госпитализированных пациентов (100%) с COVID-19 проведено количественное определение РНК SARS-CoV-2 в мазках со слизистой из носо/ротоглотки и показано, что 57% пациентов имеют низкую концентрацию вирусной РНК, не превышающую порога в $5 \cdot 10^4$ ГЭ/мл, в то время как у 43% пациентов - средняя вирусная нагрузка (выше $5 \cdot 10^4$ ГЭ/мл). В ходе исследования высокая вирусная нагрузка у пациентов в остром периоде не выявлена. При выписке из стационара у 100% больных мазки на наличие РНК SARS-CoV-2 со слизистой из носо/ротоглотки были отрицательны.

Установлено, что пациенты с более высокой вирусной нагрузкой поступали в стационар достоверно раньше — медиана времени от начала заболевания до госпитализации составила 2,0 дня (Q1-3: 2,0 - 4,0) против 5,0 дней (Q1-3: 3,75 - 8,25) ($p = 0,001$). В этой группе также наблюдались достоверно более короткий срок госпитализации Me 5,0 (Q1-3: 3,0 - 6,0) против 6,0 (Q1-3: 5,0 - 9,0); $p = 0,011$ и меньшая общая длительность заболевания 7,5 (Q1-3: 5,0 - 12,0) против 12,5 (Q1-3: 9,0 - 15,0), $p = 0,001$ (Рисунок 8).

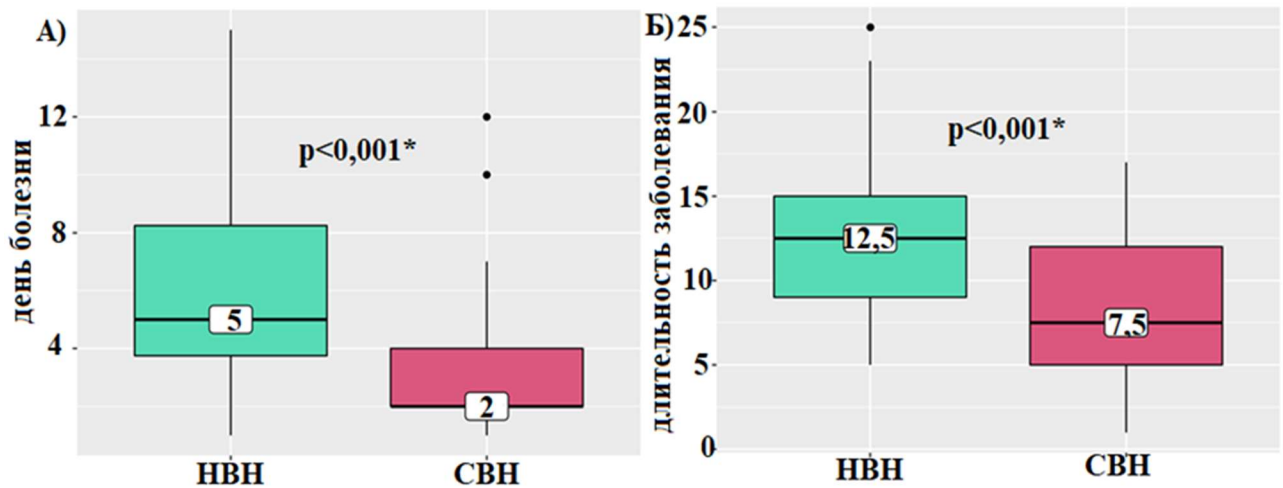


Рисунок 8. Зависимость вирусной нагрузки в респираторном тракте от дня болезни с момента появления первых симптомов (Рисунок 8А) и длительности заболевания (Рисунок 8Б)

*Примечание: * - различия показателей статистически значимы $p < 0,001$; HBV – низкая вирусная нагрузка; CBV – средняя вирусная нагрузка*

В сыворотке крови РНК SARS-CoV-2 не обнаружена ни у одного пациента в оба периода заболевания. Проведённый ПЦР-анализ содержания РНК SARS-CoV-2 в образцах кала показал, что вирусный геном определяется с сопоставимой частотой как в остром периоде COVID-19 (22%), так и в периоде реконвалесценции (21%).

Во всех положительных пробах регистрировалась низкая вирусная нагрузка. В периоде реконвалесценции наличие РНК SARS-CoV-2 достоверно чаще выявлялось у пациентов молодого возраста: медиана возраста составила 37,0 лет (Q1–Q3: 35,25–55,50) по сравнению с 60,0 годами (Q1–Q3: 44,50 – 65,00); $p = 0,040$.

В ходе работы проведено комплексное исследование микробиоценоза толстого кишечника у госпитализированных пациентов среднетяжелого течения, учитывая всё более активно обсуждаемую роль кишечного микробиоценоза в патогенезе COVID-19. Оценка бактериального состава проводилась ПЦР-методом и микробиологическим методом. Основной акцент сделан на результатах ПЦР-анализа, как наиболее чувствительного и охватывающего широкий спектр таксонов, включая труднокультивируемые бактерии, а данные

микробиологического метода использованы для верификации жизнеспособных бактерий и расчёта индекса колонизационной резистентности (ИКР).

ПЦР-анализ выявил выраженные дисбиотические нарушения у 95% пациентов в остром периоде COVID-19 и у 100% в периоде реконвалесценции (Таблица 5).

Таблица 5. Анализ состава кишечного микробиоценоза, исследованный методом ПЦР в остром периоде COVID-19

Показатели	Референсный интервал (копий/мл)	Me	Q ₁ – Q ₃	Доля пациентов с выявленными нарушениями, %
<i>Akkermansia muciniphila</i>	$\leq 10^{11}$	$2,5 \times 10^6$	$0,0 - 1,0 \times 10^8$	Не обнаружена у 45%
<i>Bacteroides</i> spp.	$10^9 - 10^{12}$	$4,0 \times 10^9$	$2,0 \times 10^9 - 7,5 \times 10^{10}$	17% ↓ нормы
<i>Bacteroides thetaomicronn</i>	любое количество	0,0	$0,0 - 3,75 \times 10^6$	0
<i>Bfr/Fprau</i>	0,01 - 100	30,0	$6,67 - 100,0$	23% ↑ нормы
<i>Bifidobacterium</i> spp.	$10^9 - 10^{10}$	$8,0 \times 10^7$	$6,2 \times 10^7 - 1,0 \times 10^8$	80% ↓ нормы
<i>Candida</i> spp.	$\leq 10^4$	0,0	$0,0 - 0,0$	8 % ↑ нормы
<i>Citrobacter</i> spp.	$\leq 10^4$	0,0	$0,0 - 0,0$	5% ↑ нормы
<i>Clostridium difficile</i>	Не обнаружено	0,0	$0,0 - 0,0$	14% ↑ нормы
<i>Clostridium perfringens</i>	Не обнаружено	0,0	$0,0 - 0,0$	5% ↑ нормы
<i>Enterobacter</i> spp.	$\leq 10^4$	$1,0 \times 10^6$	$7,2 \times 10^5 - 3,0 \times 10^6$	81% ↑ нормы
<i>Enterococcus</i> spp.	$\leq 10^8$	0,0	$0,0 - 0,0$	0
<i>Escherichia coli</i>	$10^6 - 10^8$	$9,5 \times 10^6$	$3,0 \times 10^5 - 5,0 \times 10^7$	34% ↓ нормы 12 ↑ нормы
<i>Escherichia coli enteropathogenic</i>	$\leq 10^4$	0,0	$0,0 - 0,0$	2 % ↑ нормы
<i>Faecalibacterium prausnitzii</i>	$10^8 - 10^{11}$	$2,5 \times 10^8$	$5,5 \times 10^7 - 1,75 \times 10^9$	30 % ↓ нормы
<i>Fusobacterium nucleatum</i>	Не обнаружено	0,0	$0,0 - 0,0$	5% ↑ нормы
<i>Klebsiella oxytoca</i>	$\leq 10^4$	0,0	$0,0 - 0,0$	5% ↑ нормы
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	$\leq 10^4$	0,0	$0,0 - 0,0$	6% ↑ нормы

Продолжение таблицы 5.

<i>Lactobacillus</i> spp.	10^7-10^8	$9,0 \times 10^7$	$7,0 \times 10^7 - 1,0 \times 10^8$	15% ↑ нормы
<i>Proteus</i> <i>vulgaris/mirabilis</i>	$\leq 10^4$	0,0	0,0 – 0,0	0
<i>Staphylococcus</i> <i>aureus</i>	$\leq 10^4$	0,0	0,0 – 0,0	2 % ↑ нормы
Общая бактериальная масса	$10^{11}-10^{13}$	$1,0 \times 10^{10}$	$5,0 \times 10^9 - 6,5 \times 10^{10}$	81% ↓ нормы

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

В остром периоде инфекции у пациентов отмечался выраженный дисбаланс кишечного микробиоценоза, характеризующийся достоверным снижением численности ключевых представителей симбиотической микрофлоры по сравнению с референсными значениями.

ПЦР-анализ микробиоценоза показал, что у 80% обследованных имелся дефицит *Bifidobacterium* spp., у 34% — *Escherichia coli*, у 30% — уменьшение численности *Faecalibacterium prausnitzii* и у 17% снижение уровня *Bacteroides* spp., что указывает на выраженное истощение состава нормального микробиоценоза кишечника при COVID-19 в остром периоде. Отмечено по результатам ПЦР тестирования превышение количества *Lactobacillus* spp. у 15% пациентов по отношению к референсным значениям (Рисунок 9).

Наряду с угнетением симбиотической флоры у значительной части пациентов COVID-19 среднетяжелого течения наблюдалось увеличение численности условно-патогенных и патогенных микроорганизмов. Наиболее выраженным было повышение уровня *Enterobacter* spp. (81%), что свидетельствует о дисбактериальном сдвиге в сторону грамотрицательных бактерий. Также был зарегистрирован рост численности *Clostridium difficile* (14%), *Candida* spp. (8%), *Klebsiella pneumoniae* (6%) (Рисунок 9).

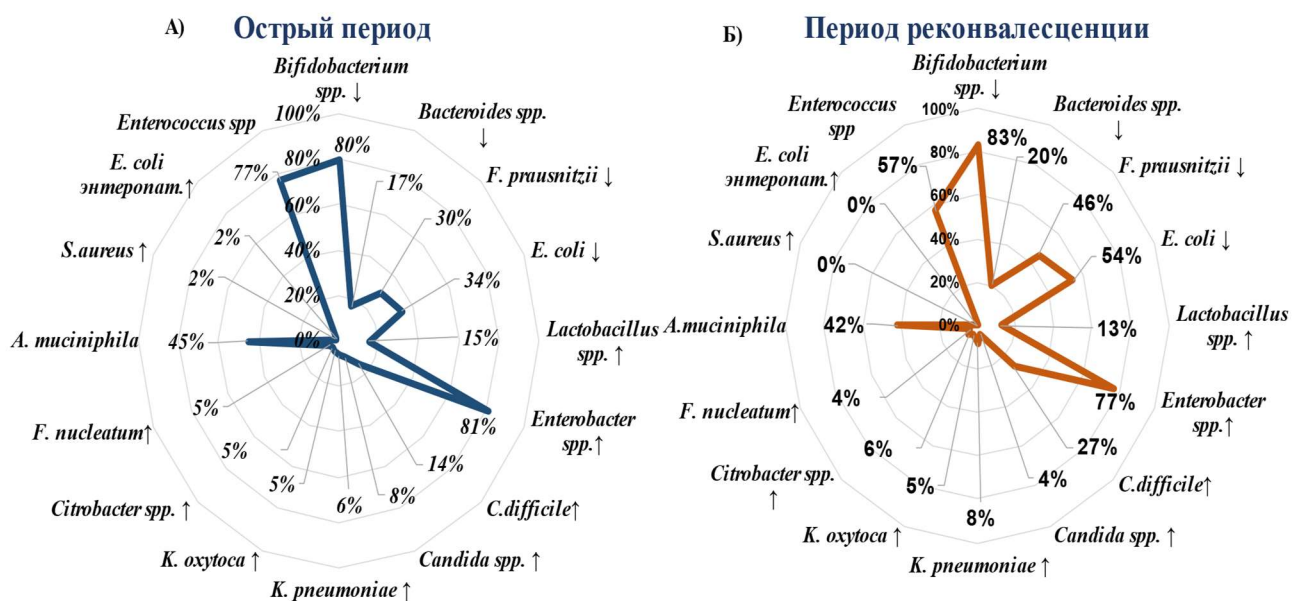


Рисунок 9. Частота выявления нарушений микробиоценоза толстого кишечника при COVID-19 среднетяжелого течения ПЦР методом в остром периоде (Рисунок 9А) и периоде реконвалесценции (Рисунок 9Б)

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

Следует отметить разные результаты анализа количества *Lactobacillus spp.* методами ПЦР и бактериального посева.

По данным ПЦР-анализа при госпитализации ни у одного пациента не отмечено снижения численности лактобацилл, а у 15% - обнаружено повышение референсных значений, в то время как микробиологический метод выявил дефицит *Lactobacillus spp.* у 85% пациентов в остром периоде (Рисунок 10).

Вероятным объяснением данного расхождения является то, что ПЦР определяет, как живые, так и фрагментированные клетки, включая нежизнеспособные формы, а также возможно и участие отдельных штаммов *Lactobacillus spp.* в замещении утраченной симбиотической флоры. Микробиологический метод, в свою очередь, определяет жизнеспособные бактерии и при этом ограничен набором специфичных питательных сред, ориентированных на определённые виды *Lactobacillus spp.* (см. раздел «Материалы и методы»).

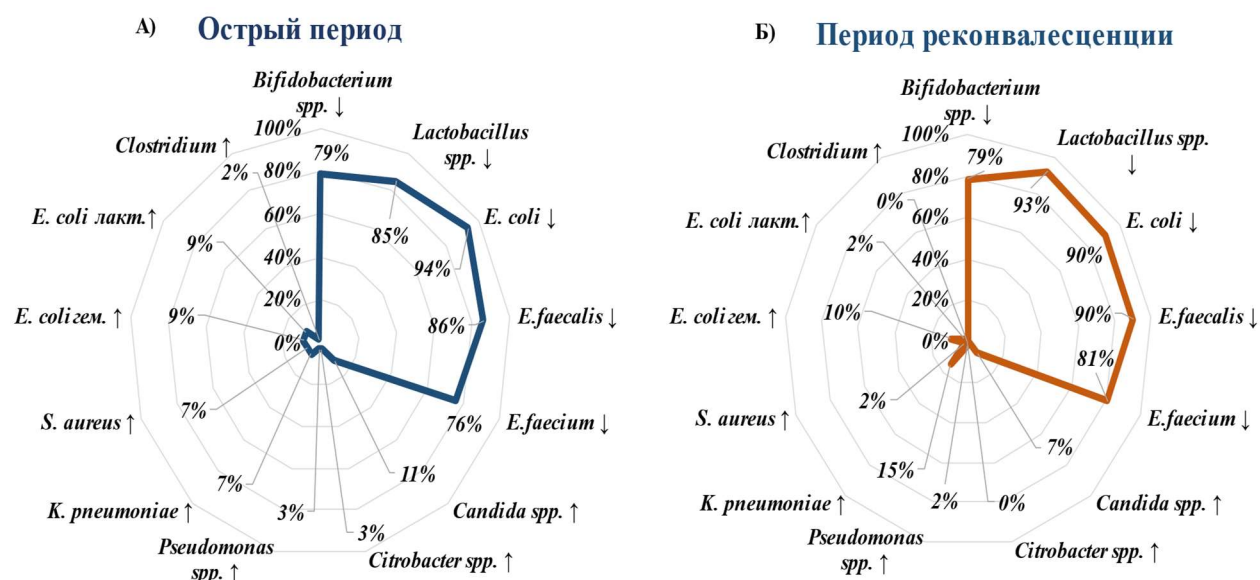


Рисунок 10. Частота выявления нарушений микробиоценоза толстого кишечника при COVID-19 среднетяжелого течения микробиологическим методом в остром периоде (Рисунок 10А) и периоде реконвалесценции (Рисунок 10Б)

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

Результаты исследования микробиоценоза кишечника в динамике демонстрируют усугубление дисбиотических нарушений в периоде реконвалесценции, наблюдается достоверное снижение копий/мл *Bifidobacterium spp.* до $Me\ 2,5 \times 10^7$ ($Q1 - 3: 2,0 \times 10^6 - 3,7 \times 10^8$ копий/мл, $p=0,047$), *Faecalibacterium prausnitzii* до $1,0 \times 10^8$ ($Q1 - 3: 4,5 \times 10^6 - 1,0 \times 10^9$ $p=0,021$) и *Escherichia coli* до $6,0 \times 10^5$ ($Q1 - 3: 2,0 \times 10^5 - 1,0 \times 10^7$, $p=0,012$), при значимом повышении количества *Enterococcus spp.* до $1,0 \times 10^7$ ($Q1 - 3: 0,0 - 2,0 \times 10^7$, $p=0,003$). Микробиологический анализ выявил достоверное снижение количества *Enterococcus faecalis* ($p = 0,049$) в период реконвалесценции с $Me\ 1,0 \times 10^4$ КОЕ/г ($Q1-3: 0,0 - 1,0 \times 10^5$) до $1,0 \times 10^3$ ($Q1-3: 0,0 - 1,0 \times 10^4$) (Рисунок 11).

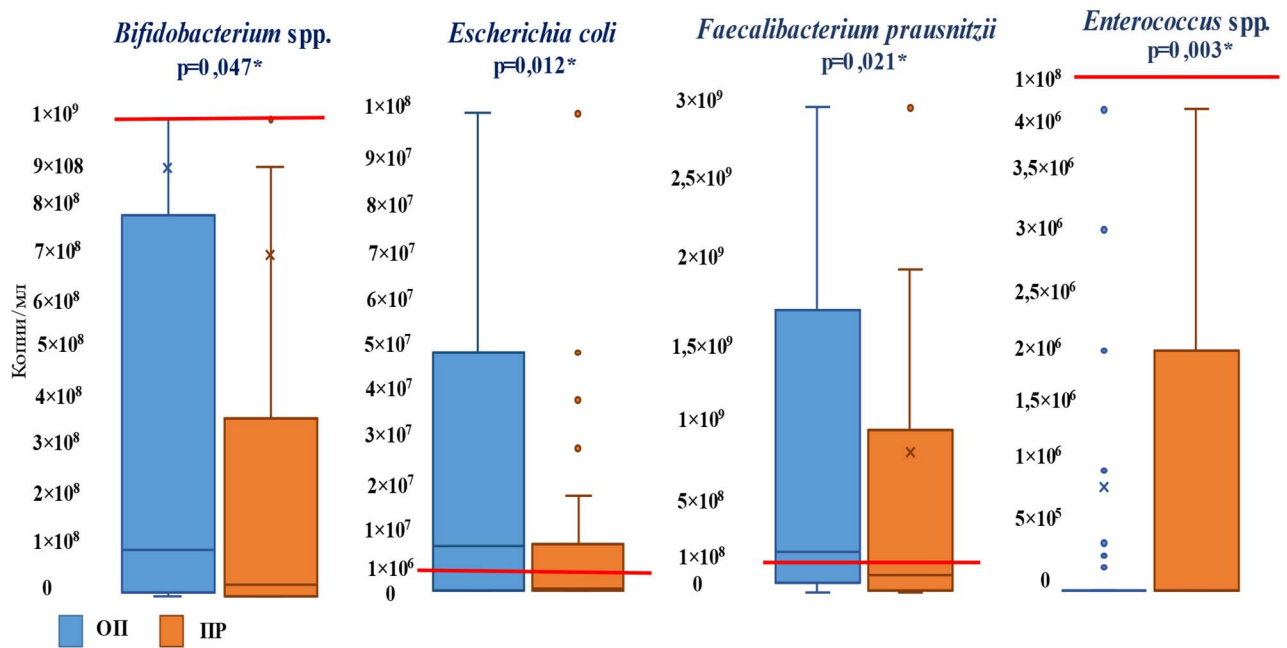


Рисунок 11. Динамика нарушений микробиоценоза кишечника при COVID-19

Примечание: *- различия показателей статистически значимы $p < 0,05$; ОП – острый период; ПР – период реконвалесценции; красный – нижняя граница референса

У пациентов с COVID-19 была проведена оценка альфа-разнообразия микробиоценоза кишечника, отражающее богатство и равномерность видового состава микробного сообщества. Для этого рассчитывались индексы Шеннона и Симпсона, характеризующие общий уровень микробного разнообразия и степень доминирования отдельных таксонов. В остром периоде заболевания медиана индекса разнообразия Шеннона составила 0,53 (Q1 – 3: 0,54 - 0,09), индекса Симпсона - 0,77 (Q1 – 3: 0,56 - 0,92). В периоде реконвалесценции достоверных изменений индексов не наблюдалось ($p=0,286$, $p=0,476$). Отсутствие значительных изменений индексов в динамике подтверждает сохранение дисбиотических изменений после прекращения активной фазы инфекции (Рисунок 12А).

ИКР у большей части пациентов (70%) в остром периоде индекс находится в пределах от 0 до 0,81, что интерпретируется как благоприятное соотношение защитной и патогенной микрофлоры, при этом в динамике достоверных изменений ИКР не выявлено (Рисунок 12Б).

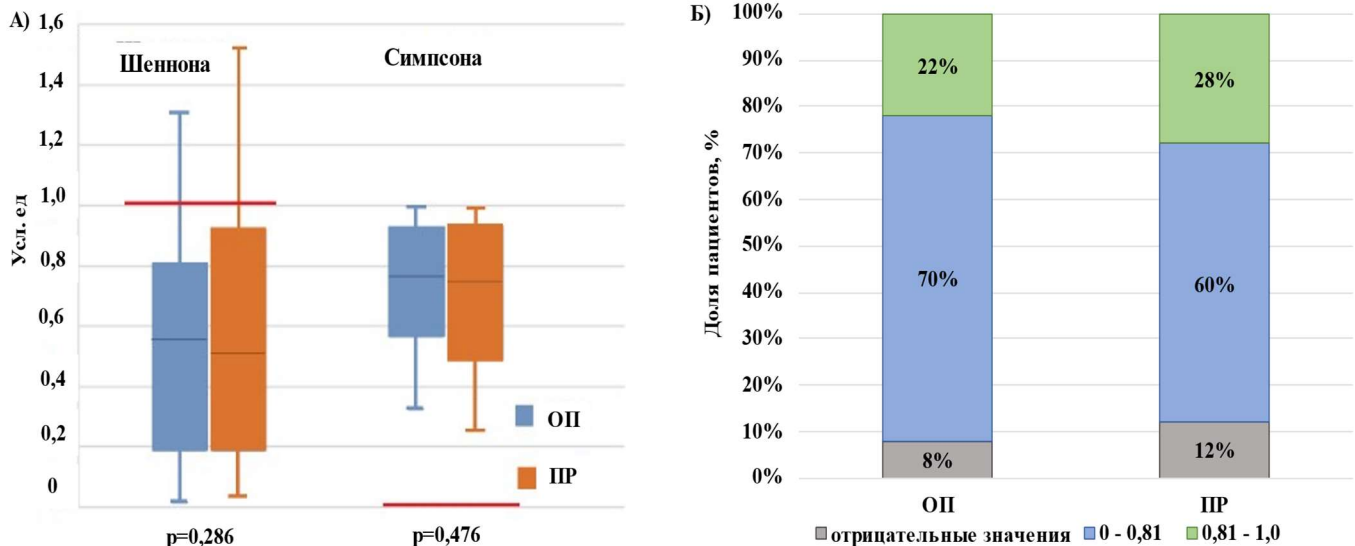


Рисунок 12. Сравнительный анализ индексов разнообразия (Рисунок 12А) и ИКР (Рисунок 12Б) в динамике COVID-19

Примечание: ОП – острый период; ПР – период реконвалесценции; красный - норма

Учитывая, что помимо инфекционного процесса, на состав кишечного микробиоценоза могут оказывать влияние и возрастные особенности, в связи с чем в рамках исследования была проведена оценка микробиоценоза кишечника в зависимости от возрастных групп пациентов. В соответствии с классификацией ВОЗ, пациенты были распределены на три возрастные категории: 18–44 года (молодой возраст), 45–59 лет (средний возраст) и 60–74 года (пожилой возраст). В остром периоде у пациентов различных возрастных групп состав микробиоценоза толстого кишечника достоверно не различается (Таблица 6).

В период реконвалесценции у пациентов молодого возраста (18–44 лет) выявлено достоверно более низкое содержание *Bifidobacterium* spp.: $Me\ 6,0 \times 10^6$ ($Q1-3: 4,0 \times 10^5 - 2,0 \times 10^8$), тогда как у пациентов 45–59 лет медиана существенно выше — $5,0 \times 10^8$ ($Q1-3: 2,4 \times 10^8 - 1,68 \times 10^9$), а у лиц 60–74 лет — $2,0 \times 10^7$ ($Q1-3: 2,0 \times 10^6 - 9,5 \times 10^7$), $p = 0,041$. Также у пациентов 18 - 44 лет регистрируется наиболее скудное альфа-разнообразие микробиоценоза, что отражается в достоверно более низком значении индекса Шеннона — 0,33 (0,18–0,85) против 0,94 (0,76–1,22) у пациентов 45–59 лет и 0,50 (0,15–0,70) у лиц в возрасте от 60 до 74 лет ($p = 0,022$). При этом у лиц молодого возраста индекс Симпсона достоверно

выше — 0,85 (0,52–0,94) по сравнению с 0,49 (0,35–0,55) у пациентов среднего возраста и 0,76 (0,56–0,95) у пожилых больных (Таблица 6). У лиц пожилого возраста (60–74 лет) в период реконвалесценции регистрируется повышенное количество копий *Bacteroides* spp. - $8,0 \times 10^9$ (Q1–Q3: $1,5 \times 10^9$ – $3,5 \times 10^{10}$) по сравнению с $3,0 \times 10^9$ ($6,0 \times 10^8$ – $1,0 \times 10^{10}$) у пациентов молодого возраста (18–44 лет) и $8,5 \times 10^8$ ($3,8 \times 10^8$ – $3,3 \times 10^9$) у лиц среднего возраста ($p = 0,041$) (Таблица 6).

По результатам микробиологического анализа статистически значимых различий в составе кишечной микрофлоры между возрастными группами в остром периоде заболевания не выявлено. Однако, в периоде реконвалесценции наиболее низкое содержание *Enterococcus faecalis* зафиксировано у пациентов молодого возраста (18–44 лет) - медиана составила 0 КОЕ/г (Q1–Q3: 0 – $7,5 \times 10^3$) по сравнению с $1,0 \times 10^4$ КОЕ/г (Q1–Q3: $1,0 \times 10^4$ – $7,75 \times 10^4$ у людей среднего возраста и $1,0 \times 10^3$ КОЕ/г (Q1–Q3: 0 – $1,0 \times 10^4$) пожилых лиц ($p=0,040$). Кроме возрастных особенностей, состав кишечного микробиоценоза может подвергаться влиянию ряда других факторов, в том числе наличию сопутствующих заболеваний.

У пациентов с сочетанными сопутствующими заболеваниями (артериальная гипертензия/сахарный диабет 2 типа/ожирение/ИБС) выявлялись особенности микробиоценоза кишечника. Так, при выписке у данной группы больных наблюдалась тенденция к снижению уровня *Bifidobacterium* spp.: медиана составила $2,0 \times 10^6$ копий/мл (Q1–Q3: $1,0 \times 10^5$ – $2,0 \times 10^7$) по сравнению с $5,0 \times 10^7$ копий/мл (Q1–Q3: $4,5 \times 10^6$ – $5,0 \times 10^8$) у пациентов без сочетанной патологии ($p = 0,053$). Кроме того, содержание *Klebsiella pneumoniae* в этой группе оказалось статистически значимо выше: медиана составила 0,0 копий/мл (Q1–Q3: 0,0 – $8,0 \times 10^5$) против 0,0 (Q1–Q3: 0,0 – 0,0) у пациентов без сочетанных заболеваний ($p = 0,002$). Полученные данные позволяют предположить, что сочетанная коморбидная патология ассоциирована с более выраженными нарушениями микробиоты кишечника, в том числе за счёт снижения содержания облигатных анаэробов и повышения условно-патогенных микроорганизмов.

Таблица 6. Сравнительный анализ микробиоценоза кишечника в зависимости от возрастной группы

Показатели (копии/мл)	Острый период (Ме; Q1-3)				Период реконвалесценции (Ме; Q1-3)			
	18 - 44 лет	45 – 59 лет	60 – 74 лет	Р - значения	18 – 44 лет	45 – 59 лет	60 – 74 лет	Р - значения
<i>Lactobacillus spp.</i>	$9,0 \times 10^7$ ($7,0 \times 10^7 - 1,0 \times 10^8$)	$6,5 \times 10^7$ ($6,0 \times 10^7 - 9,8 \times 10^7$)	$9,0 \times 10^7$ ($7,0 \times 10^7 - 1,7 \times 10^8$)	0,538	$7,0 \times 10^7$ ($6,0 \times 10^7 - 9,0 \times 10^7$)	$9,5 \times 10^7$ ($7,0 \times 10^7 - 1,0 \times 10^8$)	$8,0 \times 10^7$ ($6,5 \times 10^7 - 1,0 \times 10^8$)	0,184
<i>Bifidobacterium spp.</i>	$7,0 \times 10^7$ ($6,5 \times 10^6 - 5,7 \times 10^8$)	$1,0 \times 10^8$ ($1,6 \times 10^7 - 3,7 \times 10^8$)	$8,0 \times 10^7$ ($1,2 \times 10^7 - 7,5 \times 10^8$)	0,845	$6,0 \times 10^6$ ($4,0 \times 10^5 - 2,0 \times 10^8$)	$5,0 \times 10^8$ ($2,4 \times 10^8 - 1,68 \times 10^9$)	$2,0 \times 10^7$ ($2,0 \times 10^6 - 9,5 \times 10^7$)	0,010
<i>Escherichia coli</i>	$6,0 \times 10^6$ ($2,7 \times 10^5 - 4,0 \times 10^7$)	$7,0 \times 10^5$ ($1,2 \times 10^5 - 8,2 \times 10^6$)	$2,0 \times 10^7$ ($2,2 \times 10^6 - 9,0 \times 10^7$)	0,059	$2,0 \times 10^5$ ($2,0 \times 10^5 - 4,0 \times 10^6$)	$5,1 \times 10^6$ ($2,0 \times 10^5 - 2,7 \times 10^7$)	$2,0 \times 10^6$ ($3,0 \times 10^5 - 1,5 \times 10^7$)	0,141
<i>Bacteroides spp.</i>	$3,0 \times 10^9$ ($2,0 \times 10^9 - 3,0 \times 10^{10}$)	$3,5 \times 10^9$ ($2,5 \times 10^8 - 7,8 \times 10^9$)	$5,0 \times 10^9$ ($2,0 \times 10^9 - 6,3 \times 10^{10}$)	0,487	$3,0 \times 10^9$ ($6,0 \times 10^8 - 1,0 \times 10^{10}$)	$8,5 \times 10^8$ ($3,8 \times 10^8 - 3,3 \times 10^9$)	$8,0 \times 10^9$ ($1,5 \times 10^9 - 3,5 \times 10^{10}$)	0,041
<i>Faecalibacterium prausnitzii</i>	$5,0 \times 10^8$ ($1,0 \times 10^8 - 1,0 \times 10^9$)	$1,4 \times 10^8$ ($0 - 2,0 \times 10^8$)	$3,0 \times 10^8$ ($6,0 \times 10^7 - 2,8 \times 10^9$)	0,082	$9,0 \times 10^7$ ($1,0 \times 10^6 - 3,0 \times 10^8$)	$6,0 \times 10^7$ ($2,3 \times 10^7 - 7,3 \times 10^8$)	$2,0 \times 10^8$ ($7,5 \times 10^6 - 1,5 \times 10^9$)	0,444
<i>Akkermansia muciniphila</i>	0 ($0 - 7,7 \times 10^7$)	$1,5 \times 10^8$ ($2,2 \times 10^4 - 4,0 \times 10^8$)	$9,5 \times 10^6$ ($0 - 7,2 \times 10^7$)	0,315	0 ($0 - 5,0 \times 10^7$)	$2,5 \times 10^7$ ($7,0 \times 10^5 - 6,2 \times 10^8$)	$3,0 \times 10^6$ ($0 - 7,5 \times 10^7$)	0,217
<i>Enterococcus spp.</i>	0 (0 – 0)	0 (0 – $1,5 \times 10^6$)	0 (0 – 0)	0,674	$5,0 \times 10^5$ (0 – $2,0 \times 10^6$)	0 (0 – $2,8 \times 10^6$)	0 (0 – $1,8 \times 10^6$)	0,783
Bfr/Fprau	10,6 (3,5–100)	50,0 (20,0 – 110)	35,0 (7,5 – 100,0)	0,248	30 (6,0 – 221,6)	13,6 (5,2 – 28,5)	66,6 (8,5 – 110,0)	0,226
Индекс Шеннона	0,55 (0,22–0,88)	0,54 (0,44–0,59)	0,43 (0,17–0,82)	0,894	0,33 (0,18–0,85)	0,94 (0,76–1,22)	0,50 (0,15–0,70)	0,022
Индекс Симпсона	0,73 (0,55–0,92)	0,77 (0,73–0,81)	0,80 (0,57–0,93)	0,879	0,85 (0,52–0,94)	0,49 (0,35–0,55)	0,76 (0,56–0,95)	<0,050

3.2. Состояние микробиоценоза кишечника у пациентов COVID-19 среднетяжелого течения в зависимости от вирусной нагрузки РНК SARS-CoV-2 в ротоглотке

Острый период COVID-19 характеризуется сложным взаимодействием между макроорганизмом и вирусом SARS-CoV-2, который преимущественно поражает дыхательные пути. Однако, в последнее время доступны все больше данных, указывающих на важную роль микробиоценоза кишечника в патогенезе COVID-19.

Для понимания патофизиологии этой инфекции необходимо исследовать потенциальное взаимодействие между вирусной нагрузкой в верхних дыхательных путях - уровнем РНК SARS-CoV-2 в носо- и ротоглотке и составом кишечного микробиоценоза. Изучение этой взаимосвязи проведено путем сравнительного анализа нарушений микробиоценоза в зависимости от уровня вирусной нагрузки РНК SARS-CoV-2 в носо/ротоглотки: группа с НВН, где концентрация РНК вируса менее $<5 \times 10^4$ и группа с содержанием РНК вируса более $\geq 5 \times 10^4$ ГЭ/мл- средняя вирусная нагрузка. Высокая вирусная нагрузка не была выявлена ни у одного пациента.

Установлено, что в остром периоде заболевания уровень *Escherichia coli* был достоверно ниже у пациентов со СВН ($p = 0,012$) по сравнению с пациентами с НВН: медиана составила $9,0 \times 10^5$ копий/мл (Q1– Q3: $1,5 \times 10^5 - 2,5 \times 10^7$) против $2,0 \times 10^7$ копий/мл (Q1–Q3: $2,0 \times 10^6 - 6,0 \times 10^7$), а количество *Akkermansia muciniphila* оказалось значимо выше ($p = 0,045$) у пациентов со СВН - $2,0 \times 10^7$ копий/мл (Q1– Q3: $0,00 - 2,0 \times 10^7$) при сравнении с пациентами с НВН (Рисунок 13).

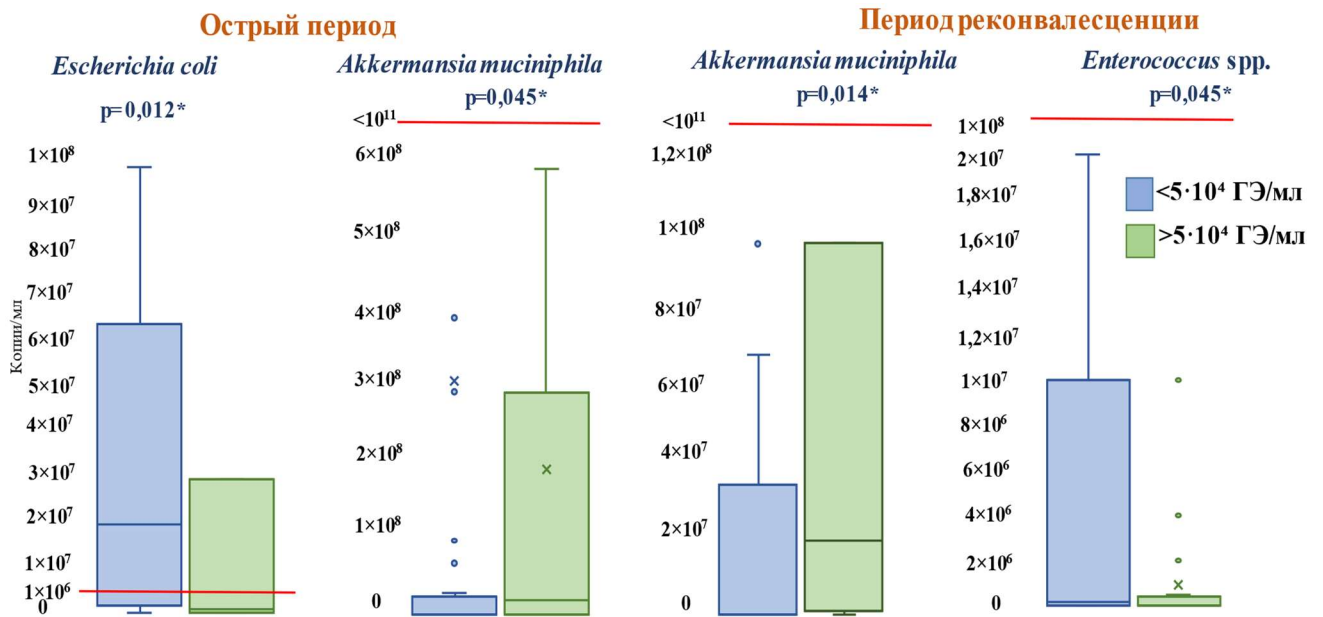


Рисунок 13. Сравнительный анализ значимых таксонов микробиоценоза кишечника в зависимости от вирусной нагрузки SARS-CoV-2 в ротоглотке
 Примечание: *- различия показателей статистически значимы $p < 0,05$; красный – нижняя граница референса

В динамике у пациентов с НВН наблюдалось более выраженное снижение ключевых компонентов симбиотической флоры: 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* — с $2,0 \times 10^7$ (Q1–Q3: $3,0 \times 10^6$ – $6,0 \times 10^7$) до $4,0 \times 10^5$ копий/мл (Q1–Q3: $2,0 \times 10^5$ – $1,0 \times 10^7$; $p = 0,004$) и по количеству *Faecalibacterium prausnitzii* — с $4,0 \times 10^8$ (Q1–Q3: $1,0 \times 10^8$ – $2,0 \times 10^9$) до $1,0 \times 10^8$ (Q1–Q3: $3,0 \times 10^6$ – $1,0 \times 10^9$, $p = 0,034$), *Enterobacter* spp. также снижался — с $2,0 \times 10^6$ (Q1–Q3: $8,0 \times 10^5$ – $3,0 \times 10^6$) до $1,0 \times 10^6$ копий/мл (Q1–Q3: $0,0$ – $2,0 \times 10^6$), $p = 0,031$. В то же время отмечается статистически значимое увеличение количества *Enterococcus* spp. с $0,0$ (Q1–Q3: $0,0$ – $2,0 \times 10^5$) до $2,0 \times 10^5$ копий/мл (Q1–Q3: $0,0$ – $1,0 \times 10^7$), $p = 0,006$ (Рисунок 14).

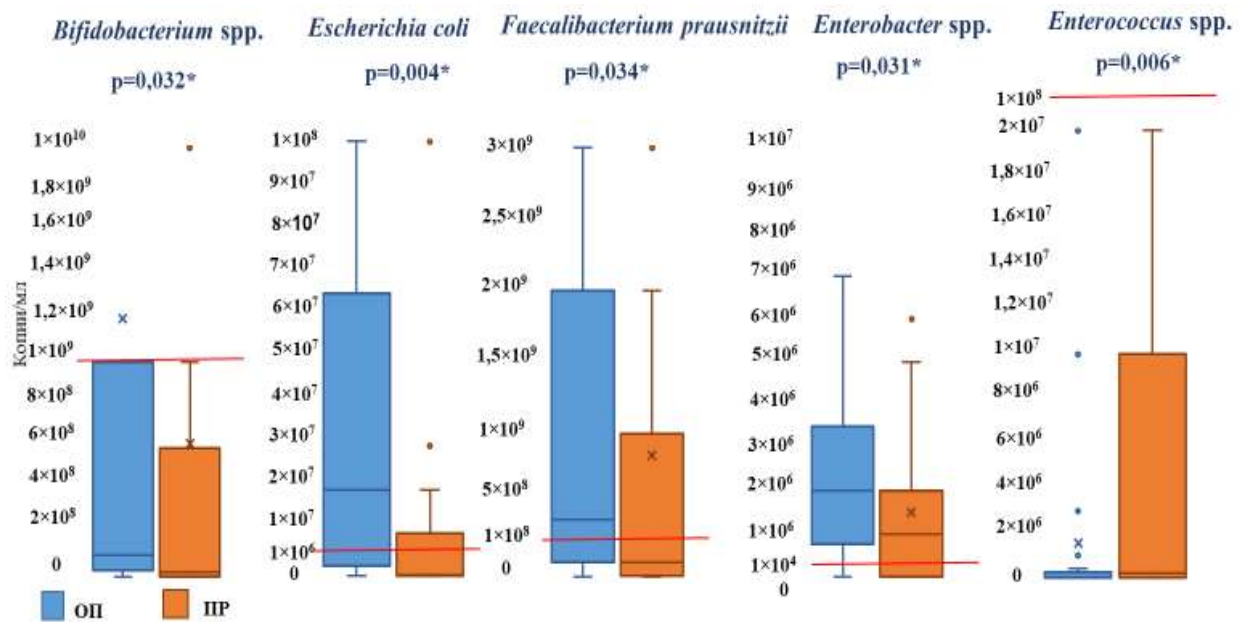


Рисунок 14. Динамика состава микробиоценоза кишечника при низкой вирусной нагрузке SARS-CoV-2 в ротоглотке

Примечание: * - различия показателей статистически значимы $p < 0,05$; ОП – острый период; ПР – период реконвалесценции; красный – нижняя граница референса

В период реконвалесценции у пациентов со СВН 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 НВН ($p=0,014$), а количество *Enterococcus spp.* было значимо выше у пациентов с НВН Me $2,0 \times 10^5$ копий/мл (Q1–Q3: 0,0 – $1,0 \times 10^7$) против 0,00 (Q1–Q3: 0,0 – $2,0 \times 10^5$), $p = 0,045$.

Полученные различия в составе кишечного микробиоценоза между группами пациентов послужили основанием для дальнейшего анализа взаимосвязей между количеством РНК SARS-CoV-2 в респираторном локусе и таксонами микробиоценоза кишечника (Таблица 7).

Таблица 7. Корреляционные взаимосвязи РНК SARS-CoV-2 в респираторном тракте с микробиоценозом

<i>Показатели</i>	<i>Характеристика корреляционной связи</i>		
	<i>r</i>	<i>p</i>	<i>Теснота связи</i>
РНК SARS-CoV-2 – <i>Escherichia coli</i> (копии/мл) в ОП	-0,372	0,015	слабая
РНК SARS-CoV-2 – <i>Candida spp.</i> (КОЕ/г) в ОП	-0,403	0,012	умеренная
РНК SARS-CoV-2 – <i>A. muciniphila</i> (копии/мл) в ПР	0,437	0,014	умеренная
РНК SARS-CoV-2 – <i>Enterococcus spp.</i> (копии/мл) в ПР	-0,372	0,039	слабая

Примечание: ОП – острый период; ПР – период реконвалесценции

Выявлены разнонаправленные корреляционные связи между количеством РНК SARS-CoV-2 в ротоглотке и количеством копий отдельных представителей кишечного микробиоценоза: *Escherichia coli* ($r = -0,372$; $p = 0,015$); *Candida spp.* ($r = -0,403$; $p = 0,012$); *Akkermansia muciniphila* ($r = 0,437$; $p = 0,014$); *Enterococcus spp.* ($r = -0,372$; $p = 0,039$). Полученные данные подтверждают взаимосвязь уровня вирусной нагрузки с изменениями таксономического состава микробиоценоза толстого кишечника.

3.3. Особенности микробиоценоза кишечника у пациентов среднетяжелого течения в зависимости от наличия РНК SARS-CoV-2 в кале

Желудочно-кишечный тракт играет важную роль в патогенезе многих инфекционных заболеваний, а его микробиоценоз всё чаще признаётся важнейшим фактором, влияющим на течение заболевания. В ходе работы показано, что наличие РНК SARS-CoV-2 в кале обнаруживается одинаково часто, как во время острого периода COVID-19 (22%), так и в периоде реконвалесценции (21%).

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 содержания *Bifidobacterium* spp. с $1,0 \times 10^8$ (Q1–Q3: $1,0 \times 10^7 - 6,0 \times 10^8$) до $2,0 \times 10^7$ (Q1–Q3: $2,0 \times 10^6 - 3,5 \times 10^8$; $p = 0,045$) и *Escherichia coli* — с $3,0 \times 10^7$ (Q1–Q3: $5,0 \times 10^5 - 6,0 \times 10^8$) до $7,0 \times 10^5$ (Q1–Q3: $2,0 \times 10^5 - 1,0 \times 10^7$; $p = 0,015$), при одновременном достоверном увеличении численности *Enterococcus* spp. с $1,0 \times 10^5$ (Q1–Q3: $0 - 2,0 \times 10^5$) до $1,0 \times 10^6$ (Q1–Q3: $0 - 2,0 \times 10^6$; $p = 0,014$) (Рисунок 15). В группе, где вирусная РНК впервые определялась в периоде реконвалесценции, отмечаются характерные сдвиги микробиоценоза, выражающиеся в снижении *Bifidobacterium* spp. с $2,5 \times 10^8$ (Q1-3: $1,0 \times 10^7 - 2,3 \times 10^9$) до $1,8 \times 10^7$ (Q1-3: $1,7 \times 10^5 - 8,7 \times 10^7$; $p = 0,014$) и нарастании количества *Enterococcus* spp. с $0,0$ (Q1-3: $0,0 - 0,0$) до $6,0 \times 10^5$ (Q1-3: $0,0 - 8,0 \times 10^6$; $p = 0,027$) (Рисунок 15).

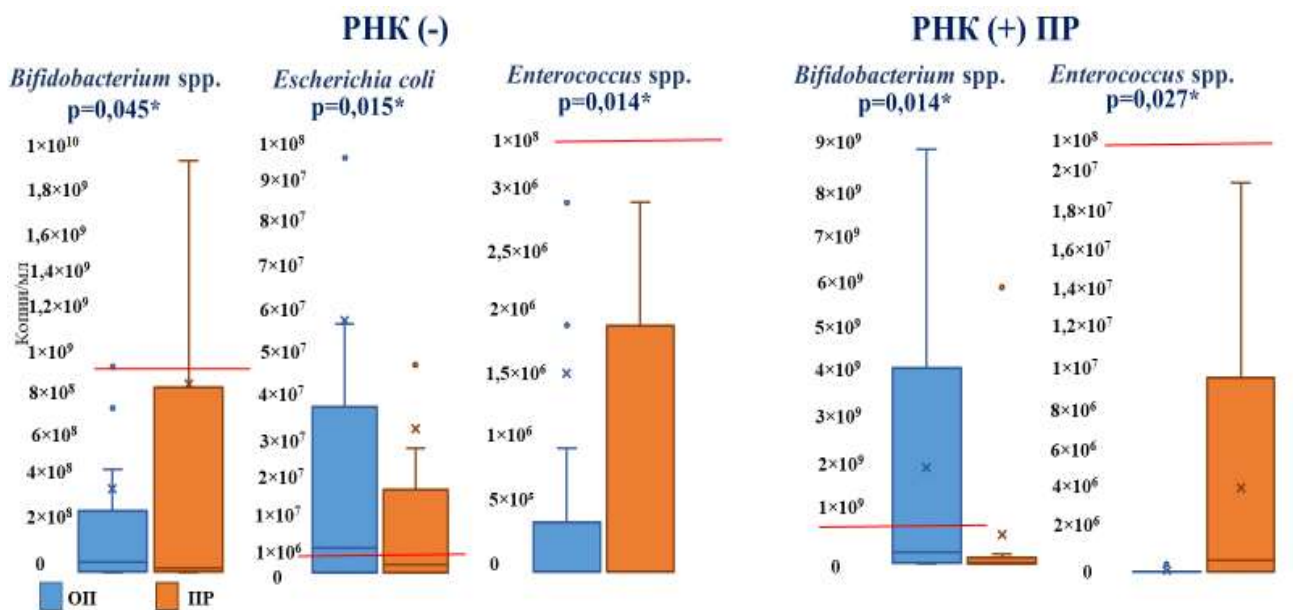


Рисунок 15. Динамика состава микробиоценоза кишечника в зависимости от наличия РНК SARS-CoV-2 в кале

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 (Рисунок 16).

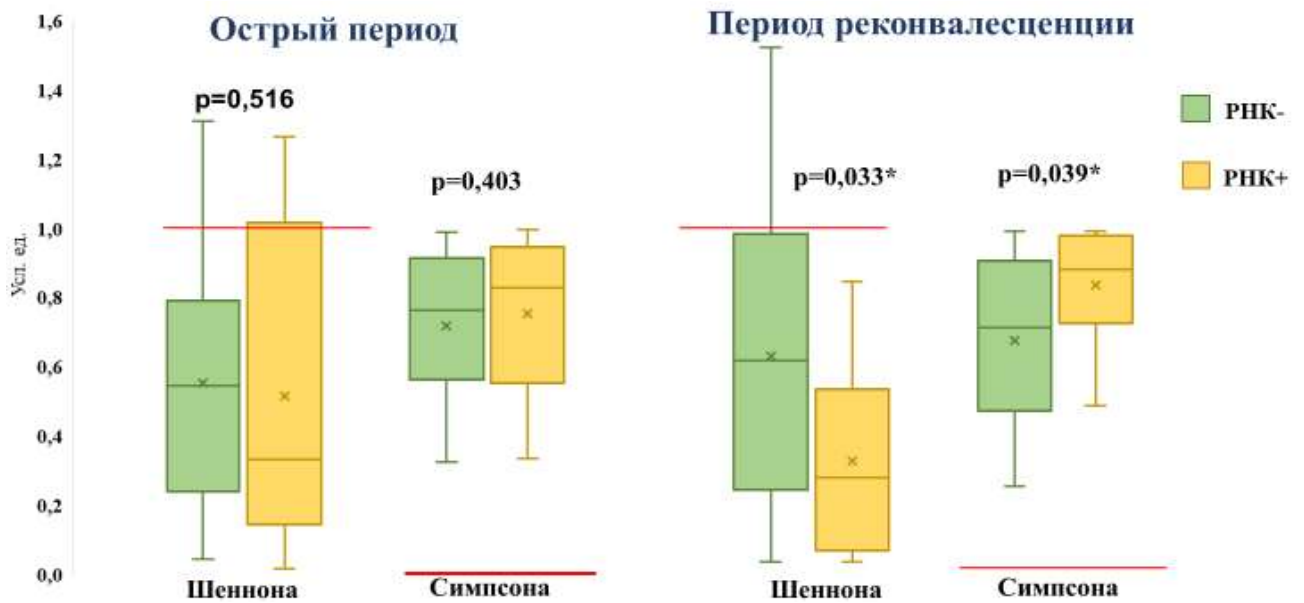


Рисунок 16. Альфа-разнообразие кишечника в зависимости от наличия РНК SARS-CoV-2 в кале

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 (Q1–Q3: 0,48–0,90), $p = 0,039$, что отражает снижение видового богатства таксонов и более выраженное доминирование отдельных групп микроорганизмов при наличии вирусной РНК в кишечном локусе (Рисунок 16).

Вместе с тем, по результатам микробиологического метода в группе РНК (–) наблюдались более высокие уровни *Enterococcus faecalis* (Ме $1,0 \times 10^4$ КОЕ/г; Q1–Q3: 2,5 – $1,0 \times 10^5$ против 0,0 КОЕ/г; Q1–Q3: 0,0 – $1,0 \times 10^4$; $p = 0,027$) и *Enterococcus faecium* (Ме $1,0 \times 10^2$ КОЕ/г; Q1–Q3: 0,0 – $5,5 \times 10^3$ против 0,0 КОЕ/г; $p = 0,007$).

Дополнительно установлены достоверные ассоциации между уровнем энтерококков в остром периоде и вирусной нагрузкой в кале в периоде реконвалесценции. Так, содержание *E. faecium* демонстрировало обратную корреляционную связь умеренной силы с количеством РНК SARS-CoV-2 в кале ($r = -0,421$; $p = 0,005$), в то время как для *E. faecalis* зафиксирована слабая отрицательная корреляция ($r = -0,304$; $p = 0,050$).

Установлена связь между вирусной нагрузкой в кале и разнообразием микробиоценоза кишечника. Так, индекс разнообразия Шеннона статистически значимо коррелировал с уровнем РНК SARS-CoV-2 в кале в периоде реконвалесценции: выявлена слабая обратная корреляция ($r = -0,315$; $p = 0,029$), тогда как для индекса Симпсона установлена слабая положительная корреляция ($r = 0,306$; $p = 0,034$), что свидетельствует о возможной ассоциации между снижением микробного разнообразия и персистенцией вируса в кишечнике.

Резюмируя 3 главу, необходимо отметить, что в группе наблюдения ($n=100$) 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%). НВН в мазках из ротоглотки выявлена у 57%, СВН — у 43%. РНК SARS-CoV-2 в кале регистрировалась с одинаковой частотой в оба периода заболевания (22% в остром периоде и 21% в периоде реконвалесценции).

Микробиоценоз кишечника у пациентов с COVID-19 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%). В динамике отмечалось снижение *Bifidobacterium* spp. ($p = 0,047$), *Faecalibacterium prausnitzii* ($p = 0,021$), *E. coli* ($p=0,012$), *E. faecalis* ($p = 0,049$) и рост *Enterococcus* spp. ($p = 0,003$).

У пациентов со СВН в остром периоде уровень *E. coli* был ниже ($p = 0,012$), а *Akkermansia muciniphila* — выше ($p = 0,045$), чем у больных с НВН. В динамике у пациентов с НВН отмечалось более выраженное снижение *Bifidobacterium* spp. ($p=0,032$), *E. coli* ($p = 0,004$), *F. prausnitzii* ($p = 0,034$), *Enterobacter* spp. ($p = 0,031$) и рост *Enterococcus* spp. ($p = 0,006$). В период реконвалесценции у пациентов со СВН сохранялся повышенный уровень *A. muciniphila* ($p = 0,014$), тогда как у пациентов с НВН увеличивались *Enterococcus* spp. ($p = 0,045$).

Обнаружение РНК SARS-CoV-2 в кале сопровождалось снижением альфа-разнообразия (Индекс Шеннона $p = 0,033$; индекс Симпсона $p = 0,039$) и в динамике уменьшением *Bifidobacterium* spp. ($p = 0,014$) и ростом *Enterococcus* spp. ($p = 0,027$). При этом индекс Шеннона ($r = -0,315$; $p = 0,029$) и индекс Симпсона ($r = 0,306$; $p = 0,034$) коррелировали с уровнем вирусной РНК в кале.

Таким образом, микробиоценоз кишечника у пациентов с COVID-19 претерпевает значимые изменения, характеризующиеся потерей ключевых симбионтов, ростом условно-патогенной флоры и зависимостью выраженности этих сдвигов от уровня вирусной нагрузки SARS-CoV-2 в респираторном и кишечном локусах.

ГЛАВА IV. ВЗАИМОСВЯЗИ КЛИНИЧЕСКИХ ПРОЯВЛЕНИЙ И ОСЛОЖНЕНИЙ COVID-19 СРЕДНЕТЯЖЕЛОГО ТЕЧЕНИЯ С ТАКСОНАМИ МИКРОБИОЦЕНОЗА КИШЕЧНИКА ПАЦИЕНТОВ

Инфекция COVID-19, вызванная вирусом SARS-CoV-2, сопровождается широким спектром клинических проявлений, включая лихорадку, сухой кашель, одышку, боль в горле, ринит и диспепсические расстройства. Ведущим симптомом на фоне системной воспалительной реакции выступает лихорадка, отражающая активацию врождённого иммунного ответа и продукцию провоспалительных медиаторов — интерлейкинов, хемокинов и белков острой фазы.

В последние годы всё большее внимание уделяется роли микробиоценоза кишечника как модулятора иммунных и воспалительных процессов при вирусных инфекциях, в том числе при COVID-19. Учитывая её участие в поддержании барьерной функции и регуляции цитокинового ответа, актуальным является анализ взаимосвязи между клиническими проявлениями COVID-19 среднетяжелого течения и микробиоценозом кишечника.

Ведущим симптомом на фоне системной воспалительной реакции выступает лихорадка, отражающая активацию врождённого иммунного ответа и продукцию провоспалительных медиаторов. Установлено, что температурная реакция ассоциируется со снижением копий *Lactobacillus* spp. ($r = -0,426$; $p < 0,001$), что согласуется с результатами ROC-анализа, согласно которым повышение температуры выше $38,0\text{ }^{\circ}\text{C}$ выступает предиктором снижения уровня *Lactobacillus* spp. менее 1×10^7 копий/мл (AUC = 0,764; 95% ДИ: 0,626 – 0,902; $p < 0,001$) (Рисунок 17).

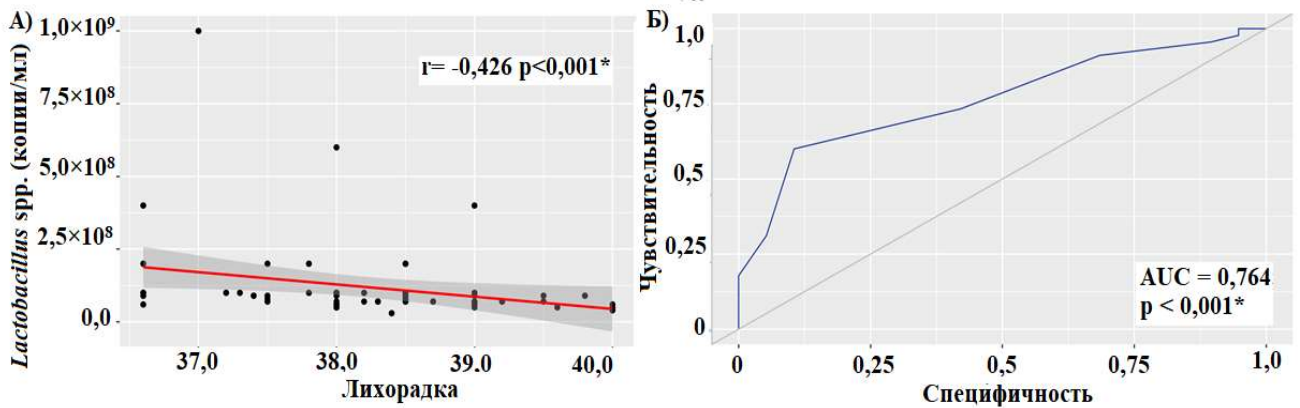


Рисунок 17. Взаимосвязь лихорадки с *Lactobacillus* spp. (Рисунок 17А) и ее прогностическая значимость (Рисунок 17Б) у пациентов с COVID-19
 Примечание: *-различия показателей статистически значимы $p < 0,05$

Установлена связь между лихорадкой и снижением альфа-разнообразия, что отражает уменьшение таксономического состава на фоне выраженного воспаления. Температура тела в острой фазе COVID-19 достоверно обратно коррелировала с индексом Шеннона ($r = -0,493$; $p < 0,001$) (Рисунок 18А, Таблица 8) и прямо - с индексом Симпсона ($r = 0,518$; $p < 0,001$) в период реконвалесценции (Рисунок 18В, Таблица 8).

Согласно ROC-анализу, лихорадка выступает значимым прогностическим признаком снижения индекса Шеннона менее 0,588 усл. ед. (AUC = 0,777; 95% ДИ: 0,627–0,927; $p = 0,002$) (Рисунок 18Г, Таблица 8) и повышении Симпсона более 0,724 усл. ед. (AUC = 0,773; 95% ДИ: 0,641–0,906; $p = 0,002$) (Рисунок 18Д, Таблица 8)

Каждый второй пациент в остром периоде COVID-19 отмечает выраженную слабость. Проведённый анализ показал, что у этих пациентов содержание *Enterobacter* spp. в периоде реконвалесценции достоверно выше. Так, медианное значение количества *Enterobacter* spp. составляет $2,0 \times 10^6$ копий/мл (Q1–Q3: $1,0 \times 10^6 - 2,0 \times 10^6$) у пациентов с жалобами на слабость и $7,5 \times 10^5$ копий/мл (Q1–Q3: 0,0 – $2,0 \times 10^6$) у остальных, $p = 0,047$ (Рисунок 19А, Таблица 8).

Таблица 8. Прогностическая значимость клинических проявлений и осложнений COVID-19 в отношении таксонов микробиоценоза кишечника (по результатам ROC-анализа)

Прогностический признак	Прогнозируемый параметр	Чувствительность	Специфичность	Пороговое значение
Лихорадка	<i>Lactobacillus</i> spp. ОП	60,0%	89,5%	1×10^7 копий/мл
Лихорадка	Индекс Шеннона ПР	71,9%	81,2%	0,588 усл. ед.
Лихорадка	Индекс Симпсона ПР	71,9%	81,2%	0,724 усл. ед.
Слабость	<i>Enterobacter</i> spp. ПР	86,4%	57,7%	1×10^6 копий/мл
Гастроинтестинальные симптомы	<i>Bifidobacterium</i> spp. ОП	80,0%	68,5%	1×10^7 копий/мл
Диарея	<i>Faecalibacterium prausnitzii</i> ОП	100,0%	53,3%	1×10^8 копий/мл
Пневмония	Индекс Шеннона ОП	76,9%	63,2%	0,573 усл. ед.
Пневмония	Индекс Симпсона ОП	76,9%	65,8%	0,764 усл. ед.
Вирусно-бактериальная пневмония	<i>Bifidobacterium</i> spp. ПР	84,6%	57,1%	1×10^7 копий/мл
Вирусно-бактериальная пневмония	<i>Escherichia coli</i> ПР	92,3%	54,3%	1×10^6 копий/мл
Гидроторакс	<i>Bfr/Fprau</i> ОП	77,8%	75,9%	100,0 копий/мл
Гидроторакс	<i>Escherichia coli</i> ПР	88,9%	61,5%	$5,0 \times 10^5$ копий/мл

Примечание: ОП – острый период; ПР – период реконвалесценции

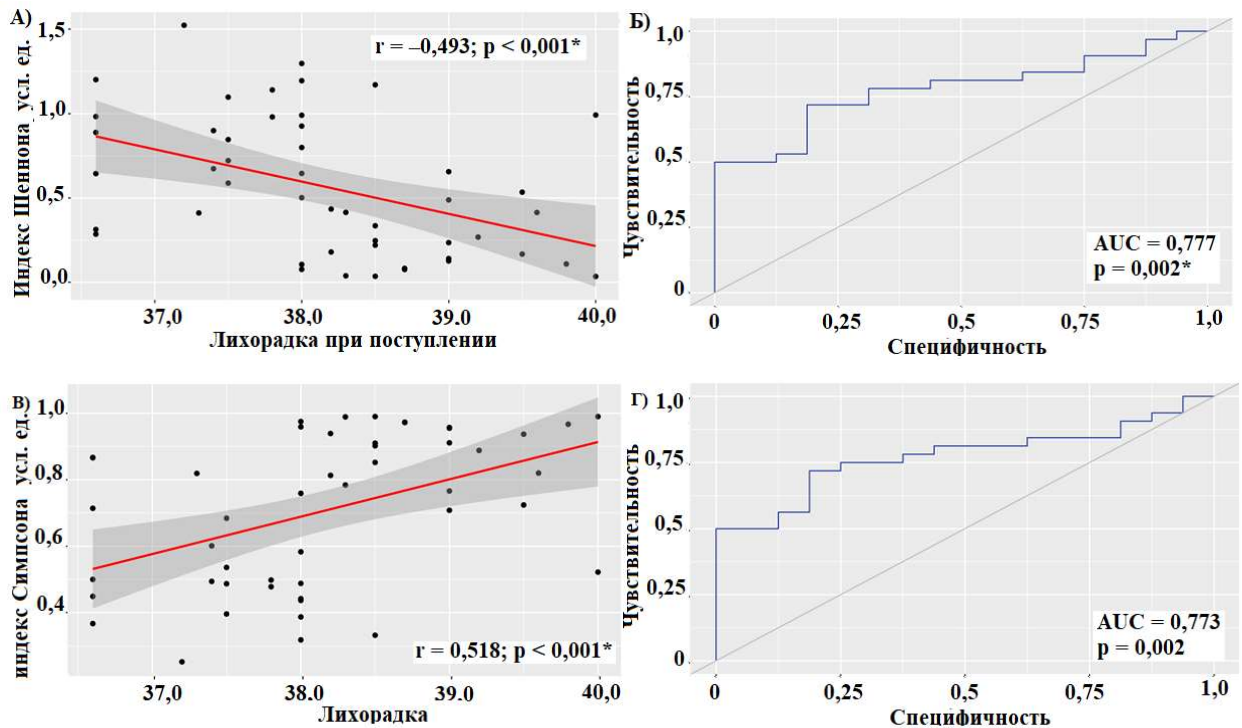


Рисунок 18. Взаимосвязь лихорадки с индексом разнообразия Шеннона (Рисунок 18А), Симпсона (Рисунок 18В) и ее прогностическая значимость (Рисунок 18Б, Г)

Кроме того, установлено, что астения является предиктором повышения *Enterobacter* spp. более 1×10^6 копий/мл ($AUC = 0.665$; 95% ДИ: 0,509–0,821; $p = 0.047$) (Рисунок 19Б, Таблица 8).

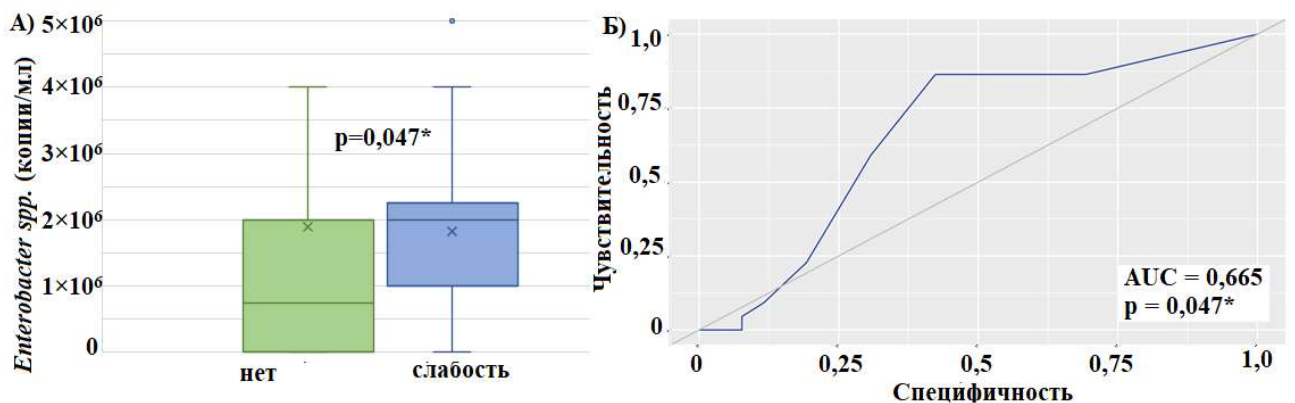


Рисунок 19. Анализ уровня *Enterobacter* spp. в зависимости от наличия астении (Рисунок 19А) и его прогностической значимости (Рисунок 19Б)

Жалобы на диспепсические явления — дискомфорт в животе, тошноту, диарея — отмечаются у каждого пятого пациента (18%). У этих больных содержание *Bifidobacterium* spp. в остром периоде достоверно ниже: $7,5 \times 10^6$ копий/мл (Q1–Q3: $9,2 \times 10^5$ – $2,0 \times 10^7$) против 1×10^8 копий/мл (Q1–Q3: $1,0 \times 10^7$ – $1,0 \times 10^8$), $p = 0,009$. Гастроинтестинальные симптомы ассоциируются с дефицитом *Bifidobacterium* spp. менее 1×10^7 копий/мл (AUC = 0,761; 95% ДИ: 0,621–0,901; $p = 0,009$). (Рисунок 20, Таблица 8).

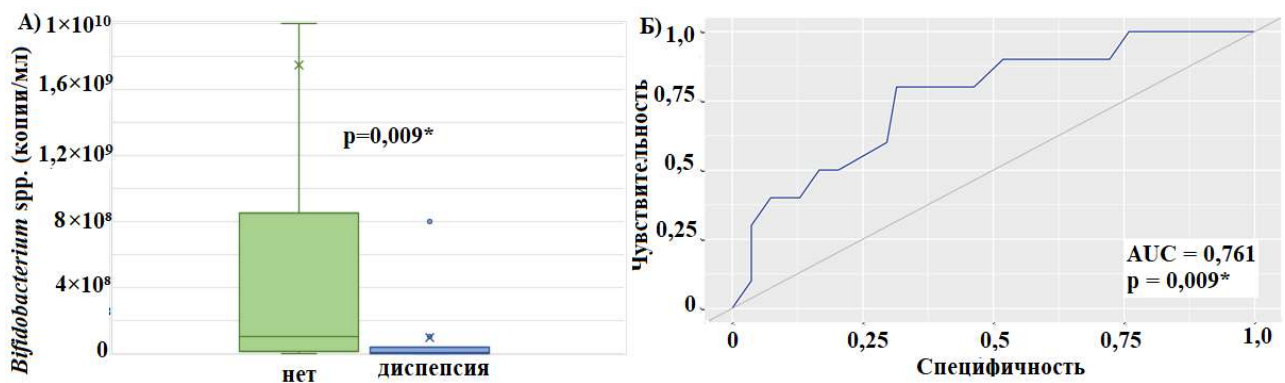


Рисунок 20. Анализ *Bifidobacterium* spp. в зависимости от наличия диспепсических явлений (Рисунок 20А) и его прогностической значимости (Рисунок 20Б)

У пациентов, предъявляющих жалобы на диарею *Faecalibacterium prausnitzii* в остром периоде достоверно. Так, медиана содержания данного комменсала в кале у пациентов с диареей составляет $3,5 \times 10^7$ копий/мл (Q1 – Q3: 0,0 – $1,0 \times 10^8$), тогда как у лиц без подобных симптомов — $3,0 \times 10^8$ копий/мл (Q1 – Q3: $9,0 \times 10^7$ – $2,0 \times 10^9$), $p = 0,031$. Диарея ассоциируется с дефицитом *Faecalibacterium prausnitzii* (менее $1,0 \times 10^8$) в остром периоде, что подтверждается результатами ROC-анализа (AUC = 0,823; 95% ДИ: 0,661–0,985; $p = 0,031$) (Рисунок 21, Таблица 8).

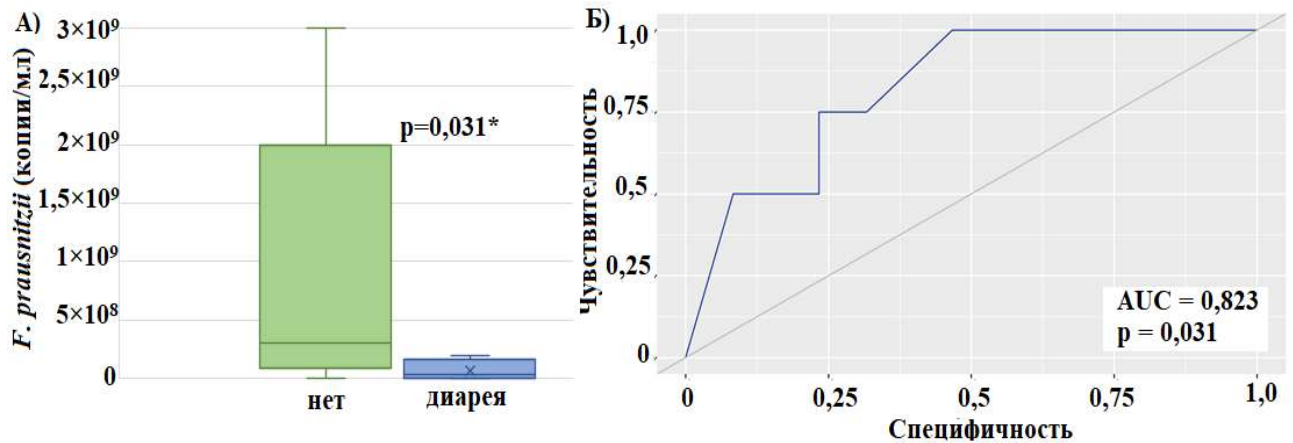


Рисунок 21. Анализ уровня *Faecalibacterium prausnitzii* в зависимости от наличия диареи (Рисунок 21А) и его прогностической значимости (Рисунок 21Б)

Наиболее частым осложнением у пациентов с COVID-19 среднетяжелого течения является пневмония, диагностированная по данным КТ органов грудной клетки в момент госпитализации у 41% пациентов. У 17% установлено вирусно-бактериальное поражение легких.

Выявлен ряд клинических и лабораторных показателей, достоверно различающихся в зависимости от наличия поражения легких. Так, пациенты с пневмонией чаще на догоспитальном этапе обращались в поликлинику (63,4% против 28,8%, $p < 0,001$), поступали в стационар на более поздних сроках от начала заболевания (Me = 7,0 суток (Q1 – Q3: 4,0 – 9,0) против Me = 3,0 суток (Q1 – Q3: 2,0 – 5,7, $p = 0,002$) и имели, соответственно, более продолжительный период стационарного лечения Me = 14,0 дней (Q1 – Q3: 10,0 – 15,0) против Me = 9,0 дней (Q1 – Q3: 7,0 – 13,0; $p = 0,002$) (Рисунок 22).

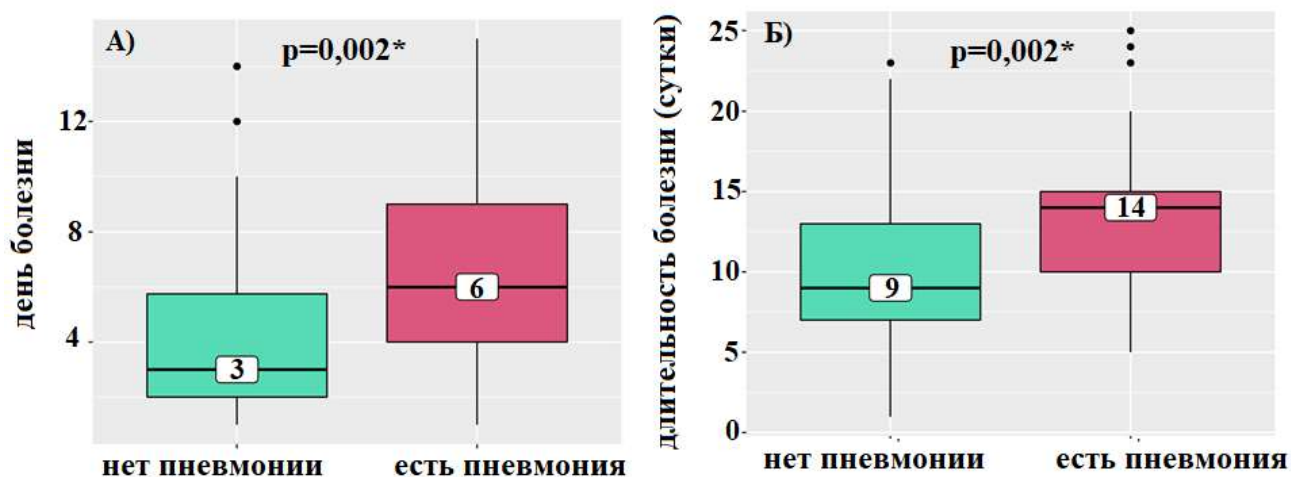


Рисунок 22. Сравнительный анализ сроков госпитализации (Рисунок 22А) и длительности заболевания (Рисунок 22Б) у пациентов с COVID-19 в зависимости от наличия пневмонии

У больных с вирусно-бактериальной пневмонией в момент госпитализации выявлена наиболее низкая вирусная нагрузка в ротоглотке (Me = 1,0 ГЭ/мл.; Q1–Q3: $0,0–1,0 \times 10^4$; $p = 0,047$), как по сравнению с пациентами без признаков поражения лёгких ($n=59$) - медиана $3,6 \times 10^4$ ГЭ/мл (Q1–Q3: $0,0–1,0 \times 10^6$), так и по сравнению с пациентами, у которых вирусное поражение ($n=24$) Me = $3,1 \times 10^4$ ГЭ/мл. (Q1–Q3: $2,4 \times 10^3–4,4 \times 10^5$) (Рисунок 23).

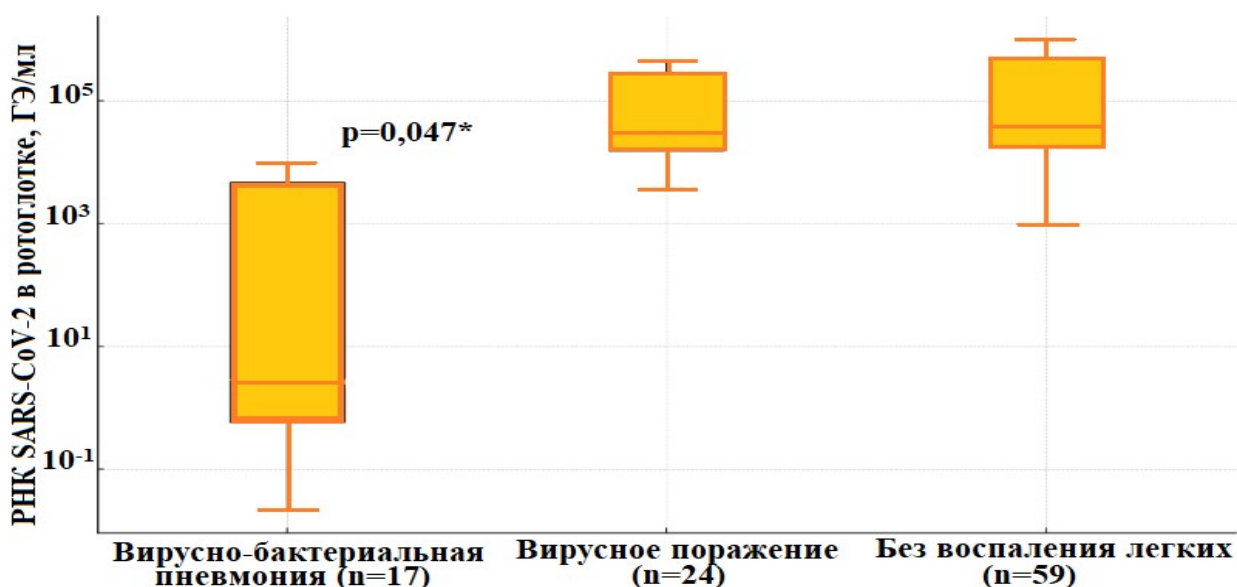


Рисунок 23. Вирусная нагрузка SARS-CoV-2 в ротоглотке у пациентов с различным характером поражения лёгких

При этом частота назначения противовирусной и антибактериальной терапии не различалась в группах сравнения. Анализ жалоб при COVID-19 показал, что пациенты с поражением легких чаще жаловались на кашель и одышку ($p < 0,001$) и значительно реже – на дискомфорт в животе, тошноту и диарею (Рисунок 24).

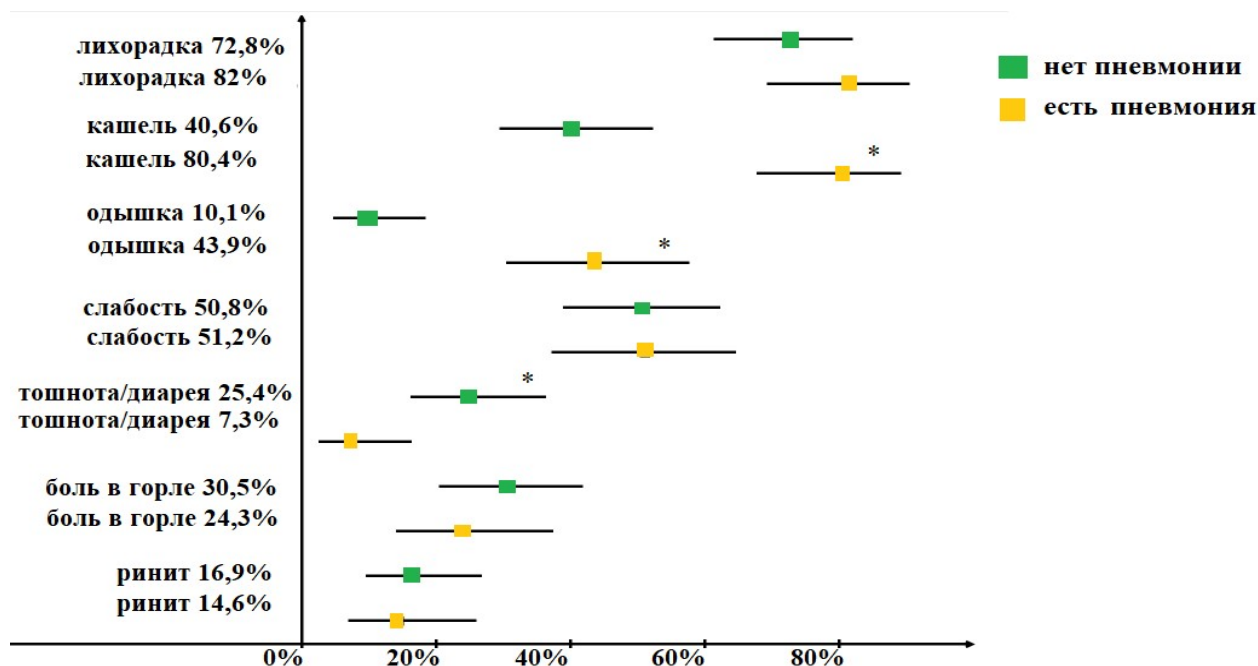


Рисунок 24. Сравнительный анализ жалоб у пациентов с COVID-19 в зависимости от наличия пневмонии

*Примечание: * - различия показателей статистически значимы $p < 0,05$*

Кроме респираторных нарушений поражение лёгких сопровождается изменением ряда лабораторных показателей: в остром периоде у пациентов с пневмонией зафиксированы достоверно более высокие уровни тромбоцитов ($p = 0,027$) (Таблица 9). А также у больных с воспалением легких установлены достоверно более высокие уровни С-реактивного белка ($p = 0,007$) и индекса CLR ($p = 0,038$), что свидетельствует о более интенсивном системном воспалительном ответе по сравнению с пациентами без пневмонии (Таблица 9).

В периоде реконвалесценции между группами сохранялись достоверные различия в показателях общего анализа крови и интегральных индексах воспаления, при этом более выраженные изменения наблюдались у пациентов с пневмонией (Таблица 9).

Таблица 9. Сравнительный анализ гематологических показателей и индексов в периоде реконвалесценции у пациентов с COVID-19 среднетяжелого течения в зависимости от наличия пневмонии

Показатель	Без пневмонии, Me [Q1–Q3]	С пневмонией, Me [Q1–Q3]	p
Лейкоциты ОП ($\times 10^9/\text{л}$)	7,60 [5,9–10,0]	9,30 [6,2–14,7]	0,074
Лейкоциты ПР ($\times 10^9/\text{л}$)	5,95 [4,7–7,1]	7,40 [5,0–9,3]	0,026
Нейтрофилы ОП ($\times 10^9/\text{л}$)	4,70 [3,4 – 7,3]	6,80 [3,4 – 0,2]	0,105
Нейтрофилы ПР ($\times 10^9/\text{л}$)	3,10 [2,1–4,3]	4,30 [2,6 – 6,8]	0,010
Моноциты ОП ($\times 10^9/\text{л}$)	0,75 [0,571–,05]	0,99 [0,53–1,24]	0,242
Моноциты ПР ($\times 10^9/\text{л}$)	0,43 [0,37–0,60]	0,60 [0,40–0,84]	0,042
Тромбоциты ПР ($\times 10^9/\text{л}$)	190 [170,0–231]	220 [169–331]	0,027
Тромбоциты ПР ($\times 10^9/\text{л}$)	240 [195–296]	310 [257–435]	0,001
CLR ОП	15,1[8,95– 45,43]	24,7 [10,2 - 89,8]	0,038
CLR ПР	2,0 [0,0 – 5,75]	3,23 [0,83– 6,42]	0,110
SIRI ОП	3,18 [1,71–5,04]	3,22 [1,42– 8,09]	0,544
SIRI ПР	0,87 [0,41– 1,79]	1,38 [0,51– 3,11]	0,154
SII ОП	650[447– 1156]	1173 [411– 1921]	0,206
SII ПР	409[287–798]	588 [342–1407]	0,032
AISI ОП	537 [321 – 1037]	723 [312– 2272]	0,168
AISI ПР	185 [100–421]	289[163–998]	0,028
СРБ ОП	21,7 [8,3-62]	51[27-134]	0,007
Ферритин ОП	191,5 [146-215]	278 [190-423]	0,054

Примечание: p - статистически значимые различия показателей; ОП – острый период; ПР – период реконвалесценции

Установлено, что развитие пневмонии сопряжено с выраженным снижением таксономического разнообразия кишечного микробиоценоза. У пациентов с воспалением лёгких показатели альфа-разнообразия в остром периоде существенно отличаются от таковых у пациентов без пневмонии: медианное значение индекса Шеннона в два раза ниже — 0,30 (Q1–Q3: 0,16–0,54) против 0,65 (Q1–Q3: 0,33–0,86; $p = 0,009$), тогда как индекс Симпсона, напротив, достоверно выше — 0,83 (Q1–Q3: 0,77–0,94) против 0,70 (Q1–Q3: 0,55–0,84; $p = 0,018$), что отражает снижение микробного разнообразия у данной группы пациентов (Рисунок 25).

Пневмония у пациентов с COVID-19 является достоверным предиктором снижения индекса Шеннона менее 0,573 усл. ед. (AUC = 0,693; 95% ДИ: 0,565–

0,822; $p = 0,009$) (Рисунок 25, Таблица 8) и одновременно — повышения индекса Симпсона более 0,764 усл. ед. ($AUC = 0,675$; 95% ДИ: 0,537–0,812; $p = 0,018$) (Рисунок 26, Таблица 8).

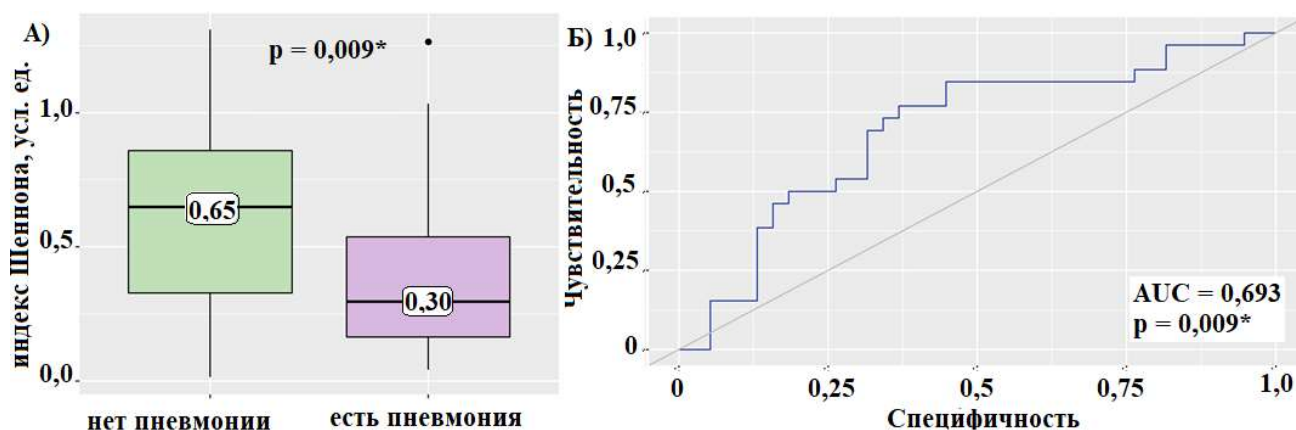


Рисунок 25. Сравнительный анализ индекса Шеннона в зависимости от наличия пневмонии (Рисунок 25А) и прогностическая значимость индекса Шеннона (Рисунок 25Б)

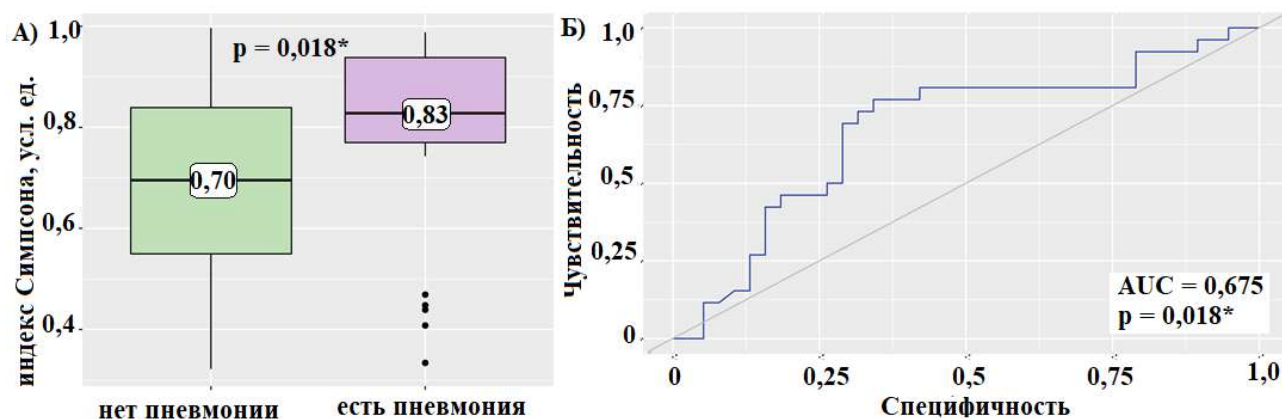


Рисунок 26. Сравнительный анализ индекса Симпсона в зависимости от наличия пневмонии (Рисунок 26А) и прогностическая значимость индекса Симпсона (Рисунок 26Б)

Кроме снижения микробного разнообразия, развитие пневмонии сопровождается нарушением представительства отдельных таксонов. В остром периоде у пациентов с пневмонией значительно реже выявляется *Akkermansia*

muciniphila (38%), тогда как в группе без пневмонии — у 65,8%, $p = 0,031$ (Рисунок 27).

В период реконвалесценции у пациентов с пневмонией также наблюдаются признаки микробиологического дисбаланса. В частности, в этой группе достоверно чаще отмечается снижение уровня *Escherichia coli* — у 72,7% против 34,6% в группе без пневмонии, $p = 0,010$ (Рисунок 27).

При этом у пациентов с вирусно-бактериальной пневмонией выявлены характерные особенности изменения состава микробиоценоза кишечника. В остром периоде у этой группы достоверно чаще регистрируется превышение допустимого уровня *Klebsiella pneumoniae* (21,4% против 2,0%; $p = 0,013$) (Рисунок 27).

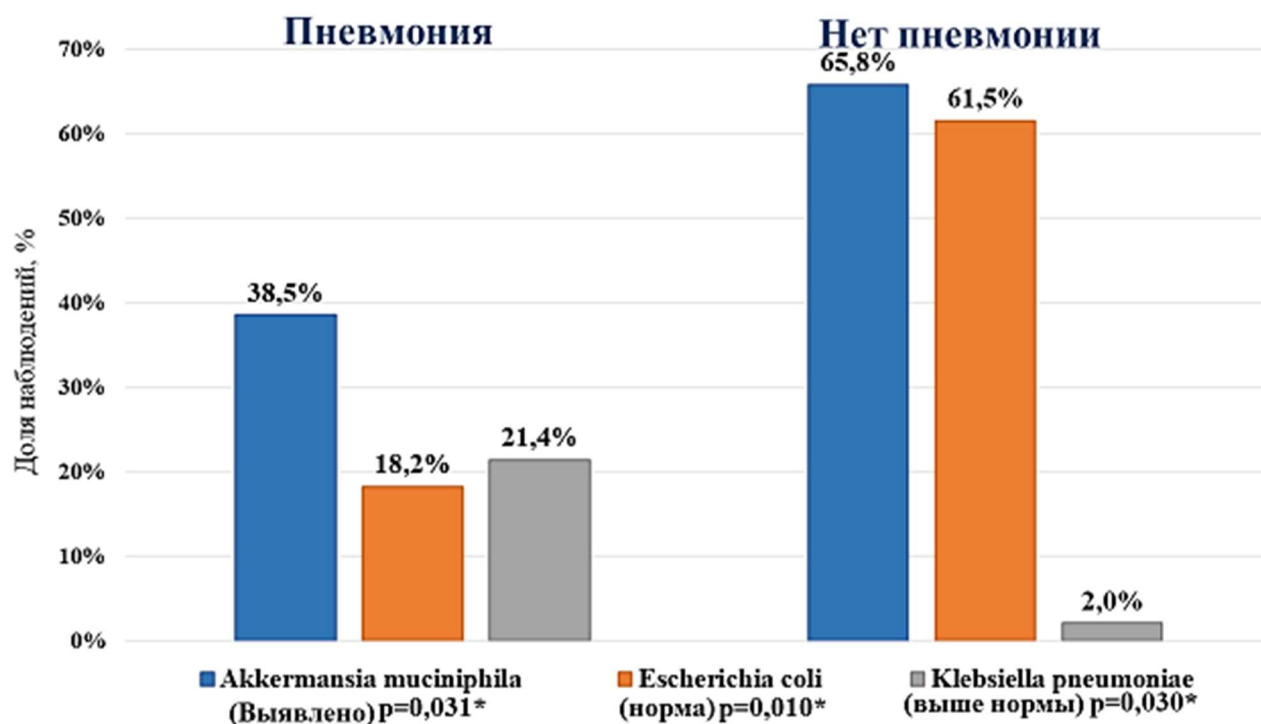


Рисунок 27. Сравнительный анализ частоты выявления *Akkermansia muciniphila*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* в зависимости от наличия пневмонии

В период реконвалесценции у пациентов с вирусно-бактериальной пневмонией отмечается более выраженное снижение численности облигатных симбиотных микроорганизмов по сравнению с пациентами без данного

осложнения. Так, уровни *Bifidobacterium* spp. у данной категории больных достоверно ниже: медианное значение составило 2×10^6 копий/мл ($0,4 \times 10^6 - 2,0 \times 10^7$) против 5×10^7 ($5,5 \times 10^7 - 7,0 \times 10^8$); $p = 0,026$. Наличие вирусно-бактериальной пневмонии прогнозирует уровень *Bifidobacterium* spp. менее 1×10^7 копий/мл в периоде реконвалесценции, что подтверждается результатами ROC-анализа ($AUC = 0,711$; 95% ДИ: 0,557–0,865; $p = 0,026$) (Рисунок 28, Таблица 8).

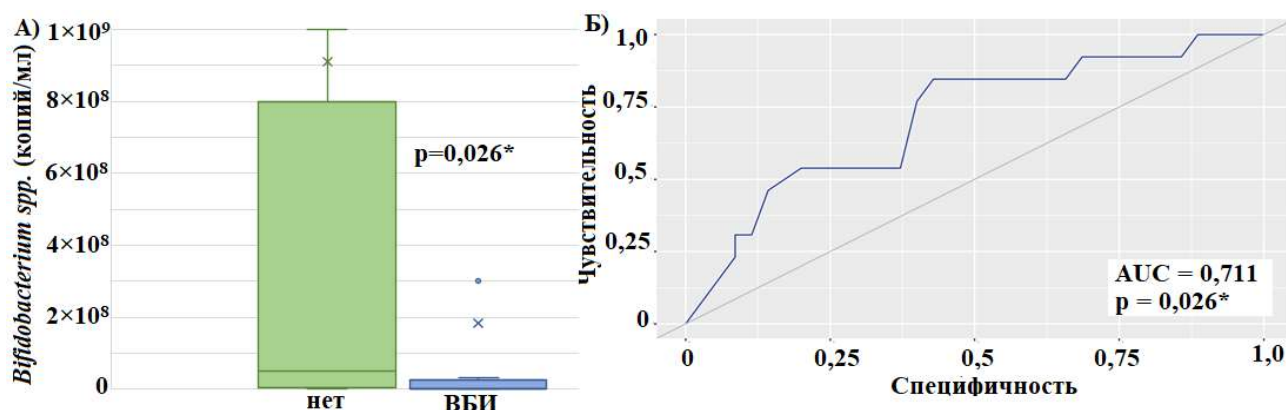


Рисунок 28. Сравнительный анализ *Bifidobacterium* spp. в зависимости от наличия вирусно-бактериальной пневмонии (Рисунок 28А) и его прогностическая значимость (Рисунок 28Б)

Аналогично, содержание *Escherichia coli* в периоде реконвалесценции ниже у пациентов с вирусно-бактериальной пневмонией: медиана составляет 3×10^5 копий/мл (Q1–Q3: $2 \times 10^5 - 4 \times 10^5$) против 4×10^6 копий/мл (Q1–Q3: $2 \times 10^5 - 1,5 \times 10^7$; $p = 0,023$). Наличие вирусно-бактериальной пневмонии ассоциируется с выраженным снижением количества *E. coli* менее 1×10^6 копий/мл ($AUC = 0,713$; 95% ДИ: 0,560–0,866; $p = 0,023$) (Рисунок 29, Таблица 8).

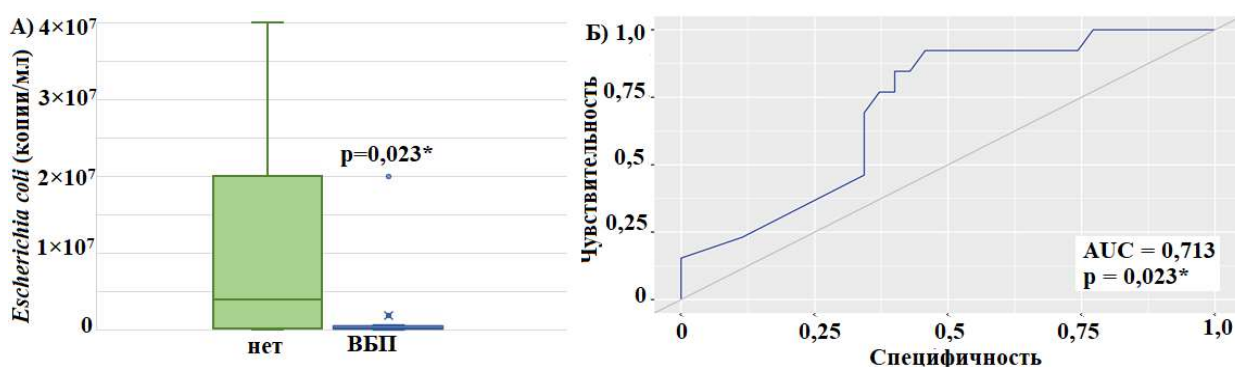


Рисунок 29. Анализ уровня *Escherichia coli* в зависимости от наличия вирусно-бактериальной пневмонии (Рисунок 29А) и ее прогностическая значимость (Рисунок 29Б)

Кроме того, у пациентов с осложнённым течением COVID-19, сопровождавшимся развитием гидроторакса, в остром периоде выявлено достоверно более высокое соотношение *Bacteroides* spp. к *Faecalibacterium prausnitzii* ($Bfr/Fprau$), что отражает дисбаланс ключевых симбиотических представителей микробиоценоза: медиана составила 110,0 (Q1–Q3: 100,0 – 400,0) против 20,4 (Q1–Q3: 6,17 – 85,36); $p = 0,012$. Наличие гидроторакса взаимосвязано повышением $Bfr/Fprau$ более 100 копий/мл ($AUC = 0,761$; 95% ДИ: 0,570 – 0,953; $p = 0,012$) (Рисунок 30, Таблица 8).

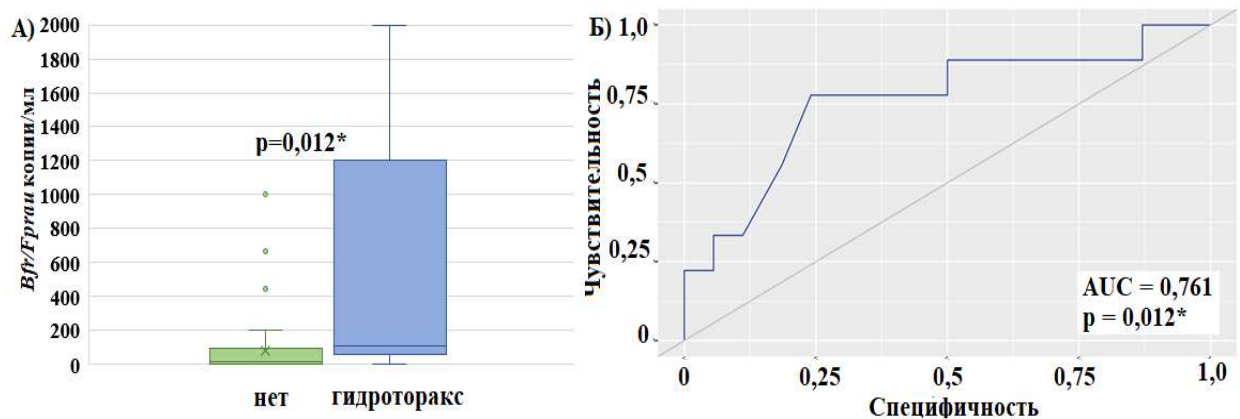


Рисунок 30. Сравнительный анализ $Bfr/Fprau$ в зависимости от наличия гидроторакса (Рисунок 30А) и прогностическая значимость (Рисунок 30Б)

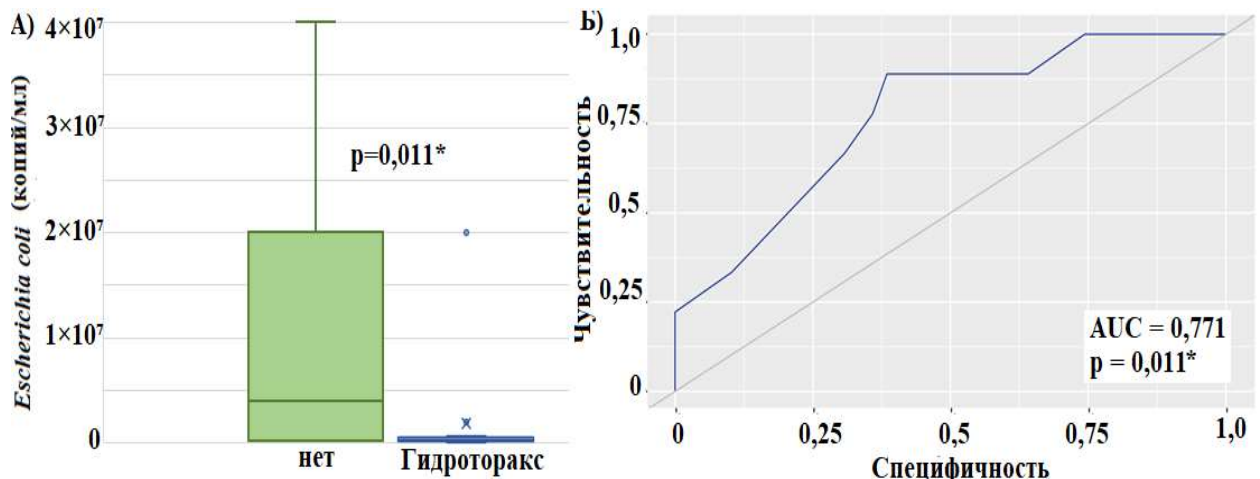


Рисунок 31. Сравнительный анализ *Escherichia coli* в зависимости от наличия гидроторакса (Рисунок 31А) и прогностическая значимость (Рисунок 31Б)

В периоде реконвалесценции у данной категории пациентов также регистрируется более низкая концентрация *Escherichia coli* — 2×10^5 копий/мл (Q1–Q3: 1×10^5 – 3×10^5) по сравнению с 2×10^6 копий/мл (Q1–Q3: 2×10^5 – $1,5 \times 10^7$; $p = 0,011$). При этом гидроторакс является статистически значимым предиктором снижения *E. coli* менее 1×10^5 копий/мл (AUC = 0,771; 95% ДИ: 0,621 – 0,920; $p = 0,011$) (Рисунок 31, Таблица 8).

Ниже приведён клинический случай, демонстрирующий нарушение состава микробиоценоза толстого кишечника у пациентки с COVID-19 среднетяжёлого течения, осложнённого внебольничной левосторонней вирусно-бактериальной пневмонией с малым левосторонним гидротораксом (ДН – 1).

Клинический пример №1

Пациентка С., 64 лет, была доставлена бригадой СМП в приемное отделение ИКБ 2 с жалобами на повышение температуры тела, выраженную слабость, кашель со скудной мокротой желтого цвета.

Со слов пациентки известно, что 6 дней назад отметила слабость, снижение аппетита, повышение температуры тела до 38,5С, кашель. К врачу не обращалась, принимала самостоятельно парацетамол. В связи с нарастанием слабости, сохранением кашля и лихорадки вызвала СМП и была госпитализирована в стационар. Не вакцинирована от COVID-19, антибактериальные препараты не принимала последние 6 месяцев.

Сопутствующие заболевания: Артериальная гипертензия III степени, II стадии, высокий риск ССО. Ожирение 2 ст. (ИМТ = 35,2 кг/м²). Сахарный диабет 2 типа.

При поступлении состояние средней степени тяжести. Температура тела 38,0 °С. Кожные покровы физиологической окраски, цианоз отсутствует. ЧДД - 22 в минуту. SPO2 - 95 % на атмосферном воздухе. Пульс 102 уд. в минуту. АД - 130/80 мм. рт. ст. Оценка по шкале NEWS2 = 3 баллов.

Живот при пальпации мягкий, безболезненный. Стул регулярный, диурез не нарушен.

Мазок из носо/ротоглотки методом ПЦР на РНК SARS-CoV-2 при поступлении – обнаружен. ПЦР-тесты на респираторные вирусы и вирусы гриппа – не обнаружено. В общем анализе крови при поступлении (6 день болезни) выявлен лейкоцитоз ($18,3 \times 10^9/\text{л}$) с нейтрофильным сдвигом ($15,7 \times 10^9/\text{л}$), моноцитоз ($1,11 \times 10^9/\text{л}$). ИСЛМ установлен ниже установленной нормы, а ТЛИ выше референсных значений. В периоде реконвалесценции изменения индексов сохранялись (Таблица 10).

Таблица 10. Динамика иммунологических показателей

Показатели	ОП	ПР
ИСЛМ, усл. ед.	1,19	2,97
ТЛИ, усл. ед.	158,3	260
CLR, усл. ед.	344,5	44,2
SIRI, усл. ед.	13,2	2,52
SII, усл. ед.	2485	1951
AISI, усл. ед.	2759	741,5

Примечание: ОП – острый период; ПР – период реконвалесценции

Результаты биохимического анализа показали значительное увеличение СРБ (455 мг/л), ферритина (456 нг/мл), Д-димера (1071 нг/мл, ЛДГ (260 ЕД/л), протромбинового времени (13с).

КТ ОГК: на серии томографических срезов в S6 левого лёгкого выявлен участок консолидации средней плотности, прилежащий к междолевой плевре с видимыми просветами бронхов. В левой плевральной полости определяется небольшое количество жидкости (по аксиальным срезам полоска, размером слева 10мм), свободного газа не выявлено. Средостение расположено по средней линии, не смещено, не расширено. Заключение: КТ картина левосторонней плевропневмонии, левостороннего малого плеврального выпота.

УЗИ плевральной полости: слева отмечается расхождение листков плевры за счет анэхогенного содержимого толщиной слоя по средне-лопаточной линии до

5-10мм, по средне-подмышечной линии до 3-4мм. Сплав расхождение листков плевры не выявлено. Заключение: малый гидроторакс слева.

На основании осмотра, лабораторных и инструментальных исследований выставлен диагноз: Коронавирусная инфекция, вызванная вирусом SARS-CoV-2, вирус идентифицирован (подтвержден лабораторным тестированием независимо от тяжести клинических признаков или симптомов).

Осложнение: Внебольничная левосторонняя вирусно-бактериальная пневмония. ДН -1 ст.

Количественное определение РНК SARS-CoV-2 мазок из носо/ротоглотки в остром периоде (при поступлении на 6 день болезни) – 2×10^3 ГЭ/мл (низкая нагрузка). Количественное определение РНК SARS-CoV-2 в образце кала и сыворотки крови как в остром периоде (6 день болезни), так и в периоде реконвалесценции (13 день болезни) – не обнаружено.

Микробиологическое исследование мокроты выявило рост *Streptococcus pneumoniae*. Антибиотикограмма: Ампициллин = S; Левофлоксацин = S; Пенициллин = S; Триметоприм/сульфаметоксазол = R; Хлорамфеникол = S; Эритромицин = S. Для этиотропной терапии были назначены Фавипиравир и Левофлоксацин.

В остром периоде (при поступлении в стационар на 6-й день болезни) по данным ПЦР-исследования кала выявлено снижение содержания комменсальных бактерий — *Bifidobacterium spp.* — на фоне избыточного роста условно-патогенной флоры — *Enterobacter spp.* *Bfr/Fprau* превышал референсные значения. Индекс биоразнообразия Шеннона составил 0,43 усл. ед., индекс Симпсона — 0,78 усл. ед (Таблица 11).

В период реконвалесценции (при выписке из стационара на 13-й день болезни) по данным ПЦР сохранялось снижение *Bifidobacterium spp.* и *Escherichia coli* при одновременном увеличении *Klebsiella pneumoniae*. Индекс Шеннона составил 0,48 усл. ед.; индекс Симпсона — 0,70 усл. ед. (Таблица 11).

**Таблица 11. Анализ микробиоценоза кишечника в динамике заболевания
ПЦР методом**

Показатели (копий/мл)	Референсный интервал	ОП	ПР
<i>Akkermansia muciniphila</i>	$\leq 10^{11}$	0	0
<i>Bacteroides spp.</i>	10^9-10^{12}	$5,0 \times 10^9$	$1,0 \times 10^9$
<i>Bacteroides thetaomicronn</i>	любое количество	Не обнаружено	Не обнаружено
<i>Bfr/Fprau</i>	0,01 - 100	166	10
<i>Bifidobacterium spp.</i>	10^9-10^{10}	$2,0 \times 10^7$	$2,0 \times 10^6$
<i>Candida spp.</i>	$\leq 10^4$	Не обнаружено	Не обнаружено
<i>Citrobacter spp.</i>	$\leq 10^4$	Не обнаружено	Не обнаружено
<i>Clostridium difficile</i>	Не обнаружено	Не обнаружено	Не обнаружено
<i>Clostridium perfringens</i>	Не обнаружено	Не обнаружено	Не обнаружено
<i>Enterobacter spp.</i>	$\leq 10^4$	$3,0 \times 10^6$	Не обнаружено
<i>Enterococcus spp.</i>	$\leq 10^8$	Не обнаружено	Не обнаружено
<i>Escherichia coli</i>	10^6-10^8	$3,0 \times 10^6$	$5,0 \times 10^4$
<i>Escherichia coli enteropathogenic</i>	$\leq 10^4$	Не обнаружено	Не обнаружено
<i>F. prausnitzii</i>	10^8-10^{11}	$3,0 \times 10^7$	$1,0 \times 10^8$
<i>Fusobacterium nucleatum</i>	Не обнаружено	Не обнаружено	Не обнаружено
<i>Klebsiella oxytoca</i>	$\leq 10^4$	Не обнаружено	Не обнаружено
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	$\leq 10^4$	Не обнаружено	$3,0 \times 10^7$
<i>Lactobacillus spp.</i>	10^7-10^8	$9,0 \times 10^7$	$9,0 \times 10^7$
<i>Proteus vulgaris/mirabilis</i>	$\leq 10^4$	Не обнаружено	Не обнаружено
<i>Staphylococcus aureus</i>	$\leq 10^4$	Не обнаружено	Не обнаружено

Примечание: ОП – острый период; ПР – период реконвалесценции

При микробиологическом исследовании кала в остром периоде COVID-19 отмечалось отсутствие *Bifidobacterium spp.*, *Enterococcus faecalis* и *Enterococcus faecium*, снижение численности *Lactobacillus spp.* и *Escherichia coli*, повышение уровня *Pseudomonas spp.* (Таблица 12). ИКР находился в пределах референсных значений и составил 0,13 усл. ед.

Таблица 12. Анализ микробиоценоза кишечника в динамике, исследованный микробиологическим методом

Показатели	Референсный интервал (КОЕ/г)	ОП	ПР
<i>Bifidobacterium spp</i>	до 60 лет: 10^9-10^{10} ; 60+ лет: $10^8 - 10^9$	0	0
<i>Candida</i>	$\leq 10^4$	0	0
<i>Citrobacter spp.</i>	$< 10^4$	0	0
<i>Clostridium</i>	до 60 лет $\leq 10^5$; 60+лет $\leq 10^6$	0	0
<i>E. faecalis</i>	до 60 лет: 10^5-10^8 ; 60+ лет: $10^6 - 10^7$	0	$1,0 \times 10^5$
<i>E. faecium</i>	до 60 лет: 10^5-10^8 ; 60+ лет: $10^6 - 10^7$	0	$1,0 \times 10^4$
<i>Enterobacter spp.</i>	$< 10^4$	0	0
<i>Escherichia coli</i>	10^7-10^8	$1,0 \times 10^4$	$1,0 \times 10^4$
<i>Escherichia coli</i> гемолитические	0	0	0
<i>Escherichia coli</i> лактозонегативные	$\leq 10^4$	$1,0 \times 10^3$	$1,0 \times 10^4$
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	$< 10^4$	0	$1,0 \times 10^5$
<i>Lactobacillus spp.</i>	до 60 лет: 10^7-10^8 ; 60+ лет: $10^6 - 10^7$	$1,0 \times 10^4$	$1,0 \times 10^4$
<i>Proteus spp.</i>	$< 10^4$	0	0
<i>Pseudomonas spp.</i>	$\leq 10^3$	$1,0 \times 10^4$	$1,0 \times 10^4$
<i>Staphylococcus aureus</i>	0	0	0

Примечание: ОП – острый период; ПР – период реконвалесценции

В динамике сохранялось отсутствие *Bifidobacterium spp.*, снижение численности *Lactobacillus spp.*, *Escherichia coli*, *Enterococcus faecalis* и *Enterococcus faecium*, а также увеличение содержания *Pseudomonas spp.* и *Klebsiella pneumoniae* (Таблица 12). ИКР находился в пределах референсных значений (0,47 усл. ед).

Резюмируя 4 главу, необходимо отметить, что 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-разнообразием 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; $p = 0,002$). Выраженная слабость выступает прогностическим признаком повышения уровня *Enterobacter* spp. (AUC = 0,665; $p = 0,047$), диспепсические жалобы ассоциированы 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; $p = 0,031$).

При поступлении в стационар у 41% пациентов выявлено поражение лёгочной ткани по данным КТ, в том числе у 17% - вирусно-бактериальная пневмония, сопровождающаяся выраженными сдвигами в составе кишечного микробиоценоза. Эти воспалительные изменения сопровождаются выраженными сдвигами в составе кишечного микробиоценоза. Развитие пневмонии ассоциировано со сниженным альфа-разнообразием (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* ($p = 0,031$) и дефицита *Escherichia coli* ($p = 0,010$). Вирусно-бактериальная пневмония характеризовалась более высокой частотой обнаружения *Klebsiella pneumoniae* в остром периоде ($p = 0,013$) и выступала предиктором последующего снижения уровня *Bifidobacterium* spp. (AUC = 0,711; $p = 0,026$) и *E. coli* (AUC = 0,713; $p = 0,023$) в периоде реконвалесценции. Развитие гидроторакса связано с повышением индекса соотношения *Bacteroides* spp. и *Faecalibacterium prausnitzii* более 100 копий/мл (AUC = 0,761; $p = 0,012$). (AUC = 0,761; $p = 0,012$), а также со снижением уровня *E. coli* менее 1×10^5 копий/мл (AUC = 0,771; $p = 0,011$). Полученные данные демонстрируют, что характер клинических проявлений и развитие осложнений при COVID-19 тесно связаны с нарушением кишечного микробиоценоза, что подчёркивает его значимую роль в патогенезе заболевания.

ГЛАВА V. ИММУННЫЕ ПОКАЗАТЕЛИ И ИХ ВЗАИМОСВЯЗИ С НАРУШЕНИЕМ МИКРОБИОЦЕНОЗА КИШЕЧНИКА ПРИ COVID-19

5.1. Показатели системного иммунного воспаления при COVID-19

В патогенезе коронавирусной инфекции COVID-19 ключевое значение имеет активация врождённого и адаптивного звеньев иммунного ответа, сопровождающаяся развитием системного воспаления. В связи с этим в исследовании особое внимание уделялось рутинным лабораторным показателям. Данные общего анализа крови позволяют оценить состояние врождённого (нейтрофилы, моноциты) и адаптивного (лимфоциты) иммунитета, тогда как показатели биохимического анализа крови отражают выраженность системного воспалительного ответа и степень вовлечения органов-мишеней. Дополнительно использовались интегральные гематологические индексы и концентрации маркеров иммунного воспаления (MIP-1 α , MIP-1 β , IL-12, sCD14), что обеспечило комплексную характеристику иммуновоспалительных изменений при COVID-19.

При анализе гематологических показателей у пациентов со среднетяжелым течением COVID-19 выявлен лейкоцитоз в 41% случаев, с медианой количества лейкоцитов $12,5 \times 10^9/\text{л}$ (Q1–Q3: $11,0\text{--}18,0 \times 10^9/\text{л}$), нейтрофилез — у 35% (Me $10,5 \times 10^9/\text{л}$; Q1–Q3: $8,8\text{--}14,5 \times 10^9/\text{л}$), моноцитоз — у 41% (Me $1,20 \times 10^9/\text{л}$; Q1–Q3: $1,12\text{--}1,48 \times 10^9/\text{л}$); лимфопения определена у 36% пациентов (Me $0,86 \times 10^9/\text{л}$; Q1–Q3: $0,63\text{--}1,04 \times 10^9/\text{л}$), а тромбоцитопения — у 15% (Me $132 \times 10^9/\text{л}$; Q1–Q3: $125,5\text{--}134,5 \times 10^9/\text{л}$) (Рисунок 32).

В периоде реконвалесценции выявлена динамика по уменьшению доли пациентов с повышенным количеством лейкоцитов, нейтрофилов, моноцитов и выраженности тромбоцитопении, лимфопении: лейкоцитоз - у 20% (Me $10,7 \times 10^9/\text{л}$; Q1–Q3: $9,3\text{--}11,5 \times 10^9/\text{л}$), нейтрофилез — у 12% (Me $7,9 \times 10^9/\text{л}$; Q1–Q3: $7,6\text{--}9,4 \times 10^9/\text{л}$), лимфопения — у 20% (Me $0,9 \times 10^9/\text{л}$; Q1–Q3: $0,54\text{--}1,03 \times 10^9/\text{л}$),

моноцитоз — у 11% (Ме $1,21 \times 10^9/\text{л}$; Q1–Q3: $1,13\text{--}1,42 \times 10^9/\text{л}$), тромбоцитопения — у 10% пациентов (Ме $127 \times 10^9/\text{л}$; Q1–Q3: $110,5\text{--}131,5 \times 10^9/\text{л}$) (Рисунок 32).

На основании показателей клинического анализа крови были рассчитаны интегральные гематологические индексы (формулы и методика вычисления представлены в главе 2, таб.4): индекс соотношения лимфоцитов и моноцитов (ИСЛМ), тромбоцитарно - лимфоцитарный индекс (ТЛИ), системный индекс воспалительного ответа (SIRI), индекс иммунного воспаления (SII), суммарный индекс системного воспаления (AISI), а также CLR — соотношение нейтрофилов к лимфоцитам и тромбоцитам (Таблица 13).

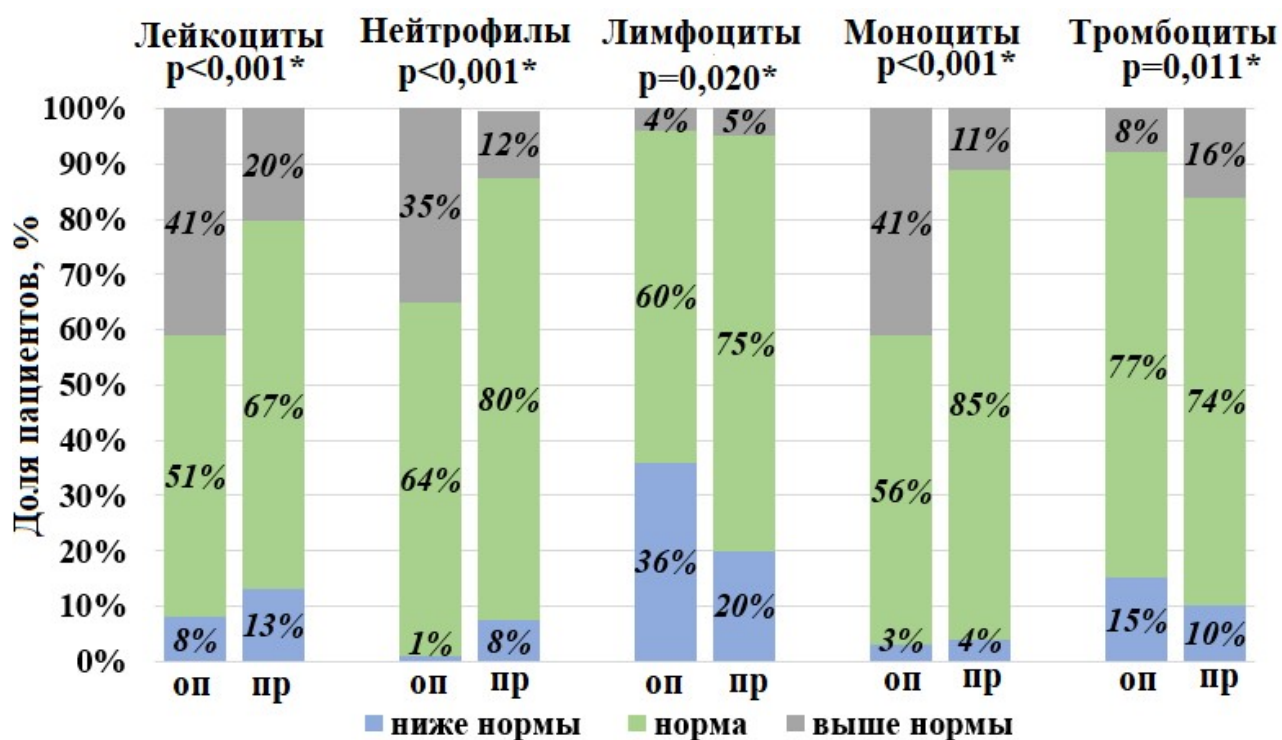


Рисунок 32. Показатели клинического анализа крови у пациентов с COVID-19 среднетяжелого течения в динамике
Примечание; ОП – острый период; ПР – период реконвалесценции

Таблица 13. Гематологические индексы и показатели системного воспалительного ответа при COVID-19 среднетяжелого течения в динамике

Показатель	Референс	Острый период заболевания (n=100)		Период ранней реконвалесценции (n=93)		Различие в группах сравнения (p)
		Me	Q ₁ – Q ₃	Me	Q ₁ – Q ₃	
ИСЛМ	5,34 ±0,59 у.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

Одним из индикаторов, позволяющих косвенно оценить характер и интенсивность воспалительного ответа при вирусной инфекции, является индекс соотношения лимфоцитов к моноцитам (ИСЛМ), отражающий баланс между лимфоцитами и моноцитами. В остром периоде COVID-19 у 99% пациентов исследуемой группы наблюдалось значительное снижение данного показателя, медиана ИСЛМ составила 1,9 (Q₁–Q₃: 1,3–2,3 усл. е.), что в три раза ниже референсных значений, а в период реконвалесценции - значимое повышение (Me = 3,2; Q₁–Q₃: 2,0– 4,9 усл. е., p < 0,001) при этом у 72% пациентов сохранялся низкий показатель ИСЛМ (Рисунок 33А).

Для дополнительной оценки системного воспалительного ответа определяли индекс соотношения тромбоцитов к лимфоцитам (ТЛИ), в момент госпитализации медиана которого составила 215,4 (Q₁–Q₃: 172,0–275,6 усл. е.), при этом индекс превышал верхнюю границу нормы у 51% пациентов; значимых изменений в динамике к периоду реконвалесценции не наблюдалось (Рисунок 33Б).

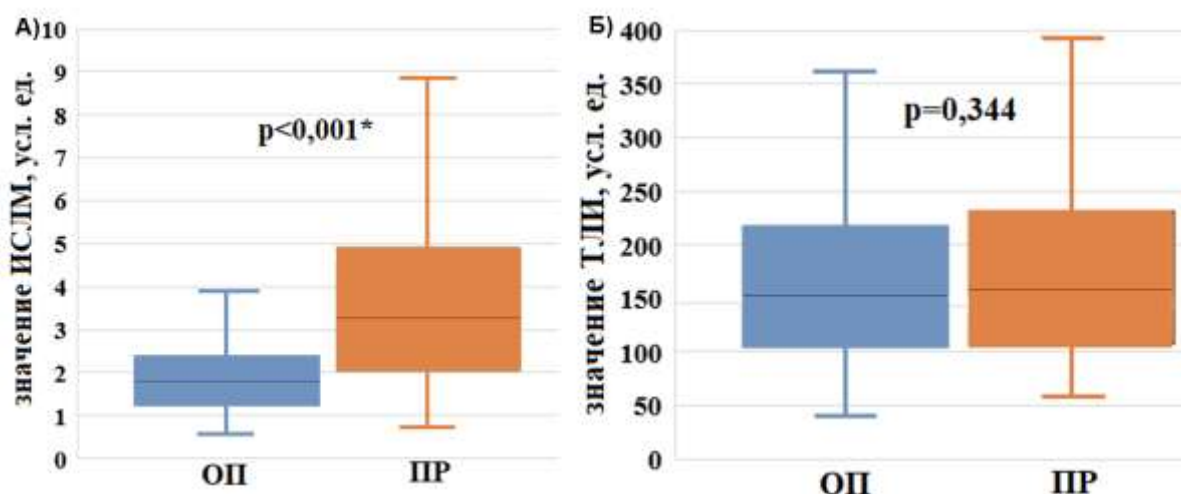


Рисунок 33. Динамика гематологических индексов ИСЛМ (Рисунок 33А) и ТЛИ (Рисунок 33Б) в разные периоды COVID-19

Примечание: ОП – острый период; ПР – период реконвалесценции

Анализ индексов системного воспаления позволяет оценить степень и динамику воспалительного процесса в разные периоды. В остром периоде COVID-19 среднетяжелого течения медиана суммарного индекса системного воспаления (AIS) составила 567,9 усл. ед. (Q1–Q3: 317,2–1317,3), с последующим достоверным снижением почти в два раза к выписке (Me до 261,1 усл. ед.; Q1–Q3: 137,1–823,8, $p < 0,001$) (Рисунок 34А).

Аналогичная динамика отмечалась по индексу системного воспалительного ответа (SIRI, Me=3,2 (Q1–Q3: 1,6–5,8 до Me=1,1 (Q1–Q3: 0,5–2,5, $p < 0,001$) в период реконвалесценции (Рисунок 34Б), а также индексу иммунного воспаления (SII), медиана которого в остром периоде составила 740,2 (Q1–Q3: 441,3–1430,1), а в период реконвалесценции - 488,9 (Q1–Q3: 313,7–1116,6; $p = 0,007$) (Рисунок 34В).

Наиболее выраженные изменения в динамике при COVID-19 у пациентов среднетяжелого течения были зафиксированы по индексу CLR. На пике заболевания медиана CLR составила 16,7 (Q1–Q3: 9,0–60,3), а в динамике заболевания медиана снизилась в 6,5 раз (Me 2,6; Q3: 0,0–6,3), $p < 0,001$ (Рисунок 34Г).

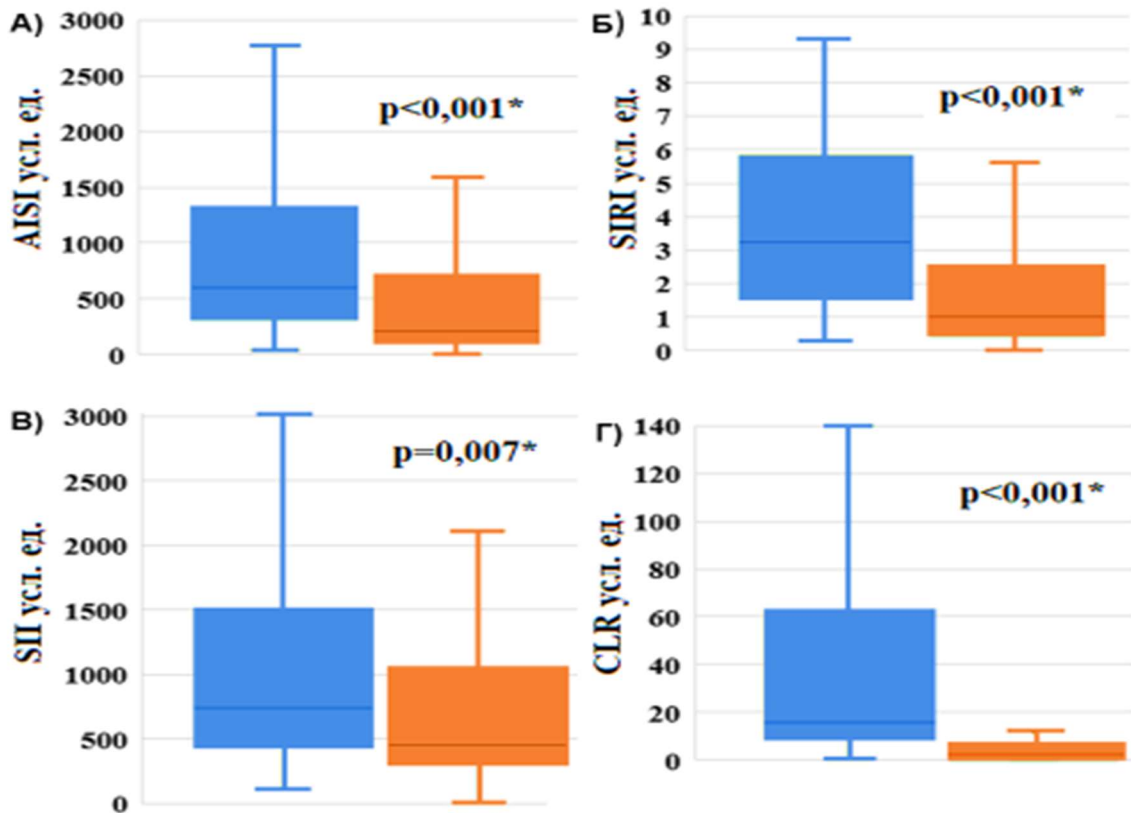


Рисунок 34. Индексы системного воспаления в разные периоды COVID-19 AISI (Рисунок 34А), SIRI (Рисунок 34Б), SI (Рисунок 34В), CLR (Рисунок 34Г)

Примечание: ОП – острый период; ПР – период реконвалесценции;

Биохимические показатели крови при COVID-19 среднетяжелого течения демонстрировали ряд отклонений, отражающих системный характер воспалительного процесса (Рисунок 35).

В 90% случаев у пациентов с COVID-19 уровень СРБ превышал референсные значения (Ме=32,6 мг/л; Q1–Q3: 13,4–87,7 мг/л), повышенный уровень ферритина встречался у 32% пациентов (Ме =472 нг/мл; Q1–Q3: 346–688 нг/мл), снижение уровня общего белка и альбумина у 52% (Ме= 63,4 г/л; Q1–Q3: 61,2–65,0 г/л) и 18% (Ме =31,4 г/л; Q1–Q3: 29,3–33,3 г/л) пациентов соответственно. Исследования коагулограммы показали повышенный уровень D-димера в половине случаев (50%), медиана составила 454 нг/мл Q1–Q3: 329–711 нг/мл, повышенный уровень фибриногена у 55% и удлиненное протромбиновое время у 52% пациентов Ме = 13,8 с; Q1–Q3: 13,1–16,3 (Рисунок 35).

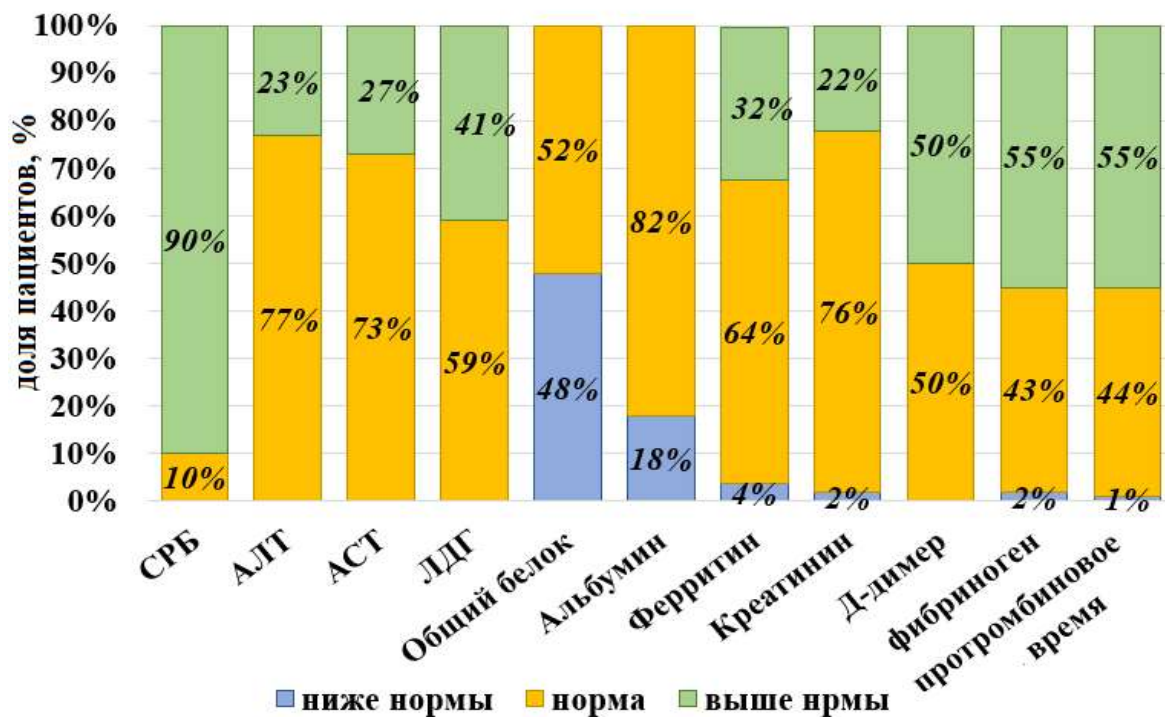


Рисунок 35. Показатели биохимического анализа крови и коагулограммы в остром периоде COVID-19

У пациентов с НВН SARS-CoV-2 в ротоглотке ($< 5 \times 10^4$ ГЭ/мл) отмечались признаки более выраженного системного воспаления как в остром периоде заболевания, так и в периоде реконвалесценции (Таблица 14).

Таблица 14. Сравнительный анализ показателей клинического анализа крови в зависимости от вирусной нагрузки РНК SARS-CoV-2 в ротоглотке

Показатель	НВН		СВН		Различие в группах сравнения (p)
	Me	Q ₁ – Q ₃	Me	Q ₁ – Q ₃	
Лейкоциты ОП, 10 ⁹ /л	9,9	6,2 – 15,4	7,3	6,1 – 9,0	0,046
Лейкоциты ПР, 10 ⁹ /л	7,1	4,9 – 9,3	6,0	4,8 – 7,1	0,058
Нейтрофилы ОП, 10 ⁹ /л	7,3	3,7 – 10,7	4,6	3,5 – 6,4	0,056
Нейтрофилы ПР, 10 ⁹ /л	4,1	2,6 – 6,6	3,4	2,5 – 4,3	0,099
Лимфоциты ОП, 10 ⁹ /л	1,44	0,99 – 1,99	1,46	1,09 – 1,9	0,865
Лимфоциты ПР, 10 ⁹ /л	1,49	1,07 – 2,24	1,77	1,30 – 2,75	0,396
Моноциты ОП, 10 ⁹ /л	0,91	0,56 – 1,16	0,72	0,57 – 1,17	0,673
Моноциты ПР, 10 ⁹ /л	0,57	0,4 – 0,83	0,53	0,34 – 0,69	0,240
Тромбоциты ОП, 10 ⁹ /л	209	169 – 306	186	156 – 227	0,092
Тромбоциты ПР, 10 ⁹ /л	295	206 – 435	257,5	192 – 311	0,072
ИСЛМ ОП	1,8	1,1 – 2,3	1,9	1,3 – 2,6	0,876
ИСЛМ ПР	2,8	1,8 – 3,3	4,0	1,8 – 5,4	0,177

В остром периоде у пациентов с НВН регистрируется более высокий уровень лейкоцитов — $Me = 9,9$ (Q_1 – Q_3 : $6,2$ – $15,4 \times 10^9/л$), что статистически значимо превышает показатель в группе СВН — $Me = 7,3$ (Q_1 – Q_3 : $6,1$ – $9,0 \times 10^9/л$; $p = 0,046$).

Таблица 15. Интегральные гематологические индексы и индексы системного воспаления у пациентов в зависимости от вирусной нагрузки РНК SARS-CoV-2 в ротоглотке

Показатель	НВН		СВН		Различие в группах сравнения (p)
	Me	$Q_1 - Q_3$	Me	$Q_1 - Q_3$	
ТЛИ ОП	158	108,5 – 229	131,9	87,6 – 176,9	0,172
ТЛИ ПР	218,7	146,6 – 260,2	144,4	113,6 – 170,0	0,012
CLR ОП	22,7	5,6 – 97,7	11,6	7,1 – 23,7	0,219
CLR ПР	4,4	0,8 – 18,5	2,0	0,3 – 3,4	0,057
SIRI ОП	4,2	1,4 – 8,1	3,0	1,7 – 3,7	0,168
SIRI ПР	1,5	0,8 – 3,6	0,9	0,5 – 2,4	0,047
SII ОП	1172,4	466 – 1921,9	494,5	366,0 – 918,0	0,042
SII ПР	992,1	377 – 1771,2	411,9	298,2 – 690,8	0,017
AISI ОП	734,7	318 – 2272,5	475,0	274,7 – 694,6	0,046
AISI ПР	522,7	183 – 1421,6	240,8	104,2 – 369,0	0,016

Примечание: НВН – низкая вирусная нагрузка; СВН – средняя вирусная нагрузка; ОП – острый период; ПР – период реконвалесценции

Кроме того, у лиц с НВН выявлены существенные различия показателей системного воспаления: SII составляет Me 1172,4 (Q_1 – Q_3 : 466,7–1921,9; $p = 0,042$), а AISI достигает Me 734,7 (Q_1 – Q_3 : 318,6–2272,5; $p = 0,046$) (Рисунок 36).

В период реконвалесценции сохранялась аналогичная тенденция: уровень лейкоцитов оставался достоверно выше у пациентов с НВН (Me 7,1; Q_1 – Q_3 : 4,9–9,4) по сравнению с пациентами со СВН (Me 6,0; Q_1 – Q_3 : 4,8–6,1). Статистически значимо различались показатели индексов: ТЛИ — Me 218,7 (Q_1 – Q_3 : 146,6–260,2), SIRI — Me 1,5 (Q_1 – Q_3 : 0,8–3,6), SII — Me 992,1 (Q_1 – Q_3 : 377–1771,2) и AISI — Me 522,7 (Q_1 – Q_3 : 183,4–1421,6), $p < 0,05$ по всем системным воспалительным индексам (Рисунок 37).

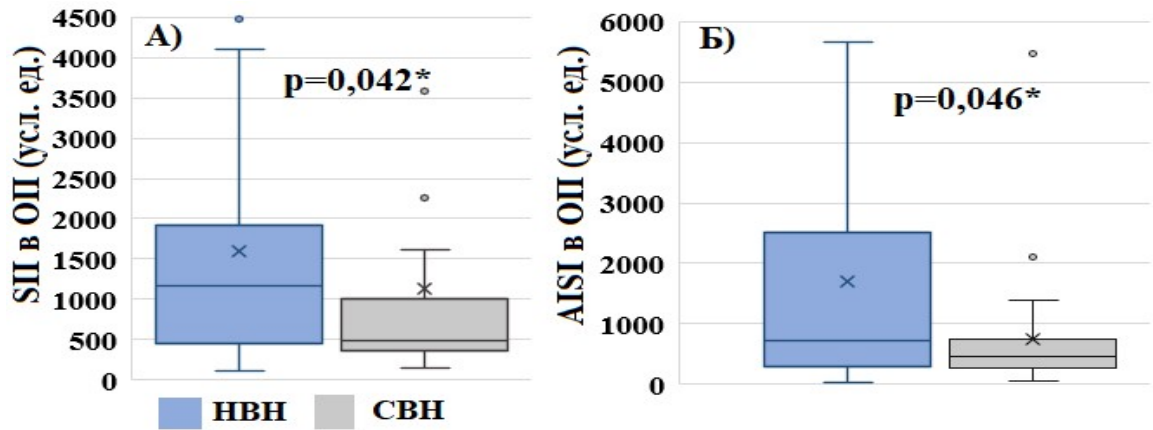


Рисунок 36. Сравнительный анализ индексов SII (Рисунок 36А) и AISI (Рисунок 36Б) в остром периоде COVID-19 в зависимости от вирусной нагрузки SARS-CoV-2

Примечание: ОП – острый период

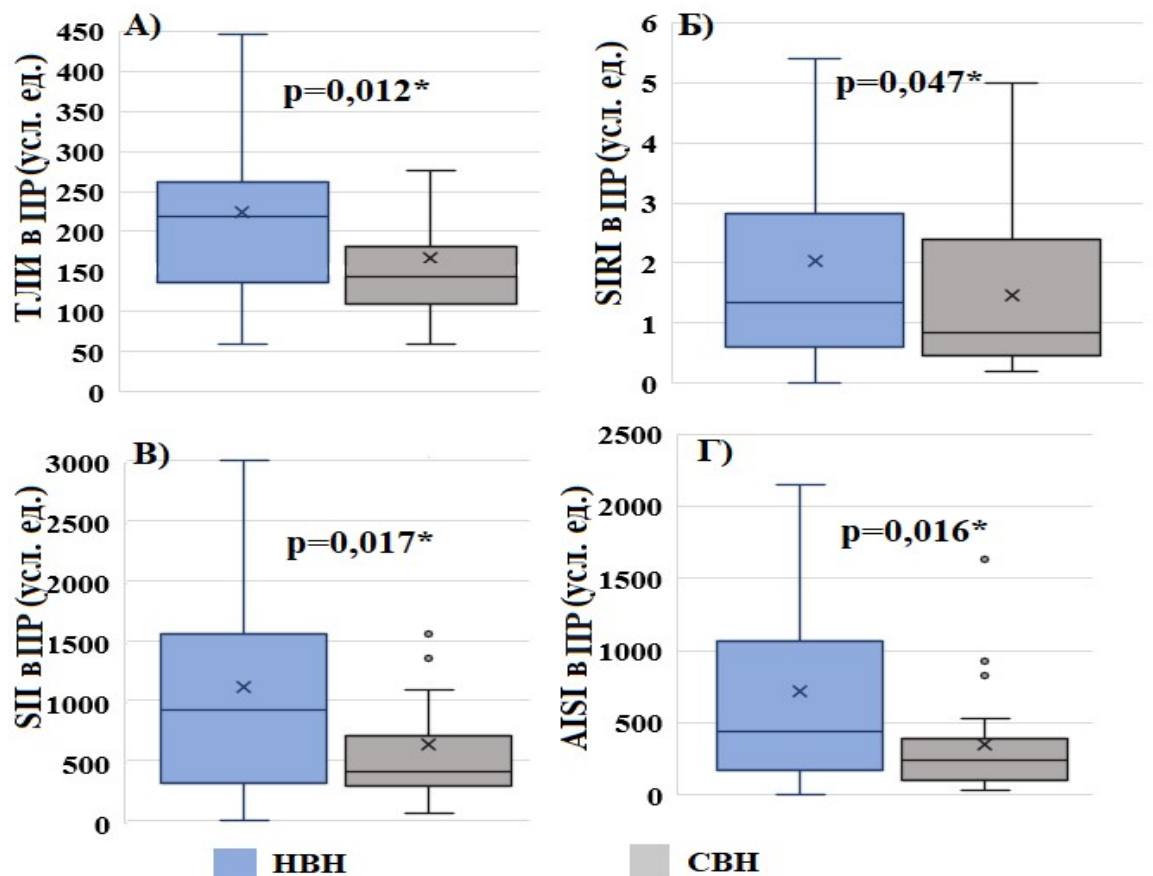


Рисунок 37. Сравнительный анализ ТЛИ (Рисунок 37А), SIRI (Рисунок 37Б), SII (Рисунок 37В), AISI (Рисунок 37Г) при COVID-19 в зависимости от вирусной нагрузки в ротоглотке

Примечание: ПР – период реконвалесценции

Более выраженные изменения биохимических показателей отмечались в группе с низкой вирусной нагрузкой (Таблица 16).

У пациентов с НВН в остром периоде ЛДГ ($p = 0,025$), D-димер ($p = 0,002$) и протромбиновое время ($p = 0,027$) были достоверно выше, а общий белок ниже ($p = 0,031$). В период реконвалесценции концентрация СРБ также была достоверно выше у пациентов с НВН ($p = 0,025$).

Таблица 16. Сравнительный анализ биохимических показателей крови у пациентов в зависимости от вирусной нагрузки РНК SARS-CoV-2 в ротоглотке

Показатель	НВН		СВН		Различие в группах сравнения (p)
	Me	Q ₁ – Q ₃	Me	Q ₁ – Q ₃	
СРБ ОП, мг/л	38,4	6,9 – 119,0	13,4	7,1 – 32,4	0,090
СРБ ПР, мг/л	11,4	5,2 – 27,8	6,0	2,9 – 9,5	0,025
ЛДГ, ЕД/л	273,5	208,6 – 407,7	191,0	160,0 – 311,0	0,025
Общий белок, г/л	65,2	61,3 – 68,3	66,8	64,4 – 71,1	0,035
Ферритин, нг/мл	230,2	113,7 – 339,0	205,0	158,8 – 377	0,868
Д-димер, нг/мл	381,5	224,7 – 524,5	209,0	101,5 – 297,5	0,002
Концентрация фибриногена, г/л	4,21	3,35 – 6,04	3,63	3,39 – 4,61	0,272
Протромбиновое время, с	13,2	12,7 – 14,8	12,2	11,5 – 13,5	0,027

Примечание: НВН – низкая вирусная нагрузка; СВН – средняя вирусная нагрузка; ОП – острый период; ПР – период реконвалесценции

У пациентов с РНК SARS-CoV-2 в кале в остром периоде различий в уровнях системных воспалительных показателей не выявлено. Однако у пациентов, у которых РНК вируса в кале определялось в периоде реконвалесценции, в остром периоде регистрировались достоверно более высокие значения ТЛИ и СИ, что отражает более выраженную системную воспалительную реакцию. У пациентов с РНК SARS-CoV-2 в кале в периоде реконвалесценции ТЛИ в остром периоде составил 229 (Q₁–Q₃: 148–304), тогда как у пациентов без РНК вируса он был

достоверно ниже — 133 (Q1–Q3: 95–172), $p = 0,010$. СИ — 2599 (Q1–Q3: 788–4545) против 667 (Q1–Q3: 383–1335), $p=0,022$ (Рисунок 38).

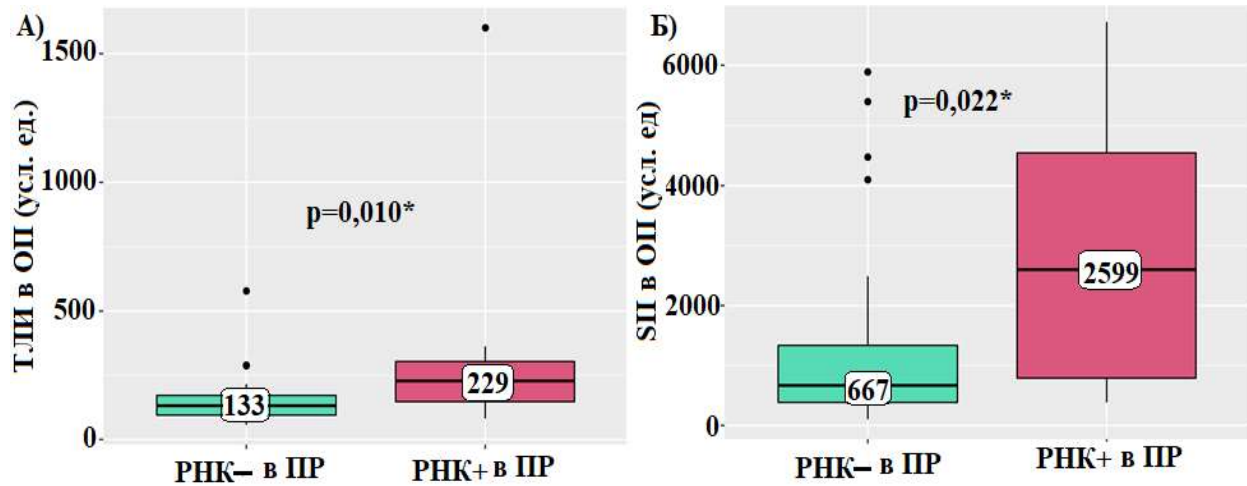


Рисунок 38. Сравнительная характеристика ТЛИ (Рисунок 38А) и СИ (Рисунок 38Б) в остром периоде в зависимости от наличия РНК SARS-CoV-2 в кале в периоде реконвалесценции

Примечание: ОП – острый период; ПР – период реконвалесценции

В рамках исследования были проанализированы уровни МР-1 α , МР-1 β , IL-12 и sCD14, что позволило более детально охарактеризовать иммуновоспалительные изменения у пациентов с COVID-19 (Рисунок 39). Примечательно, что у всех (100%) обследованных пациентов наблюдались уровни МР-1 α , превышающие референсные значения ($p < 0,001$), что свидетельствует о выраженной активации макрофагального звена иммунной системы на фоне вирусной инфекции.

В остром периоде заболевания у пациентов с COVID-19 медиана концентрации МР-1 α в сыворотке крови составила 126,8 пг/мл (Q1 - 3 62,5–309,7 пг/мл). В период реконвалесценции уровень МР-1 α оставался стабильно высоким и медиана составила 129,3 пг/мл (Q1–Q3: 79,3–236,8 пг/мл), при этом наблюдалась тенденция к снижению его концентрации у 86% (Q1–Q3: 96,8–244,5 пг/мл, $p=0,214$) пациентов, оставаясь значимо выше референсных значений, $p<0,001$ (Рисунок 40).

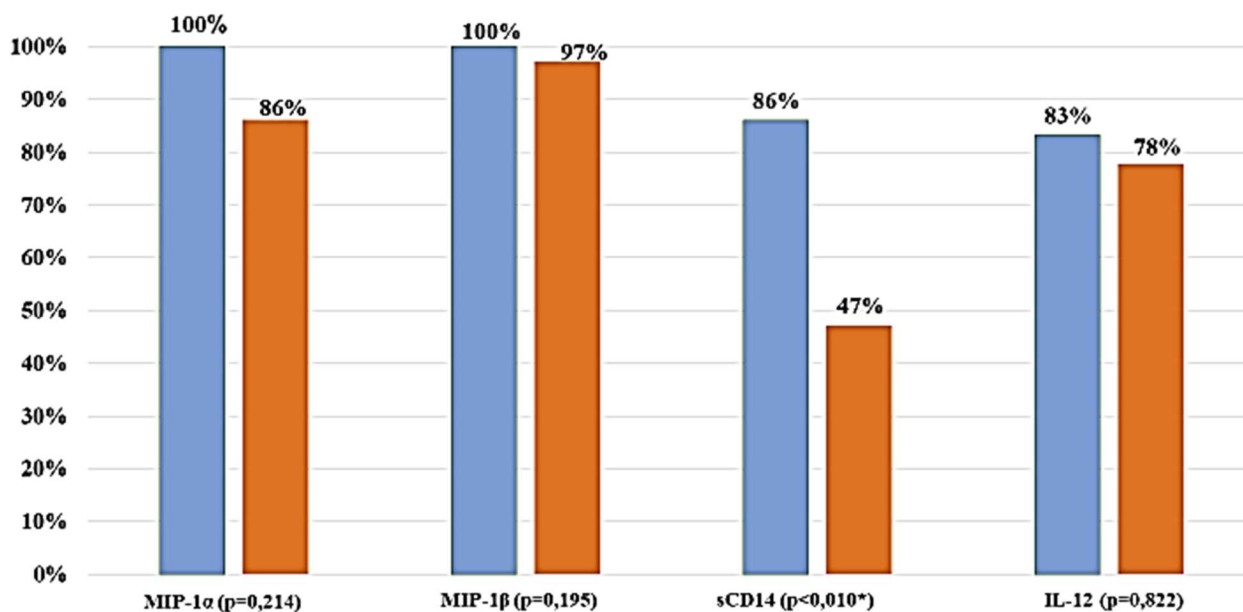


Рисунок 39. Оценка частоты нарушения цитокинового статуса и маркеров активации моноцитарно-макрофагальной системы в динамике при COVID-19

Примечание: * - различия показателей статистически значимы $p < 0,05$;
ОП – острый период; ПР – период реконвалесценции

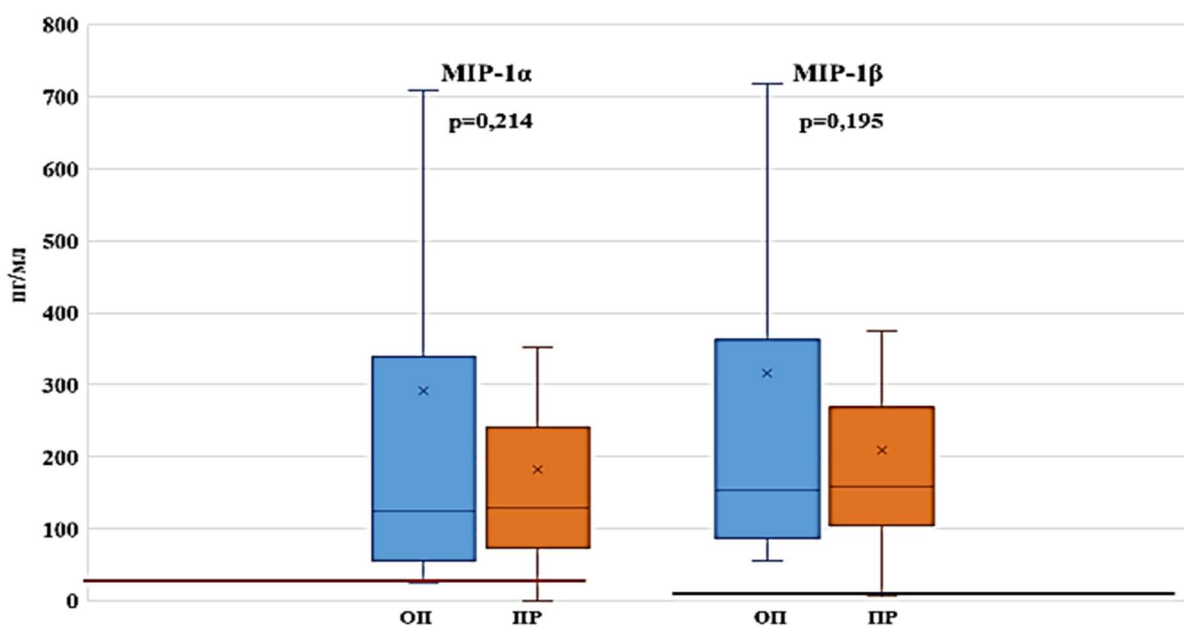


Рисунок 40. Уровень макрофагальных воспалительных белков (MIP-1α и MIP-1β) в динамике у пациентов COVID-19 среднетяжелого течения

Примечание: ОП – острый период; ПР – период реконвалесценции; референс MIP-1α (красный) <15,6 пг/мл; референс MIP-1β (синий) <7,8 пг/мл

MIP-1β, наряду с MIP-1α, хемокин, являющийся одним из ключевых медиаторов воспаления, активно вовлечённый в регуляцию клеточного иммунного

ответа. Повышенная продукция МІР-1 β способствует активации цитокинового каскада и может усиливать тканевое воспаление. В остром периоде COVID-19 концентрация МІР-1 β достоверно повышена в 100% случаев (Ме 156,85; Q1–Q3: 93,3–334,8 пг/мл), что подтверждает наличие системного воспалительного ответа. В период реконвалесценции концентрация МІР-1 β составила Ме 59,1 пг/мл (Q1–Q3: 109,7–263,3 пг/мл) в 97% случаев оставалась значимо выше условной нормы, $p < 0,001$ (Рисунок 40).

Показатели хемокинов достоверно выше у лиц среднего возраста (45 - 59 лет) - медиана МІР-1 α составила 85,2 пг/мл (Q1–Q3: 54,7–315,5), тогда как у пациентов пожилого возраста (60–74 лет) — 69,5 пг/мл (Q1–Q3: 55,1 – 129,7), а в возрасте 18–44 лет — 54,2 пг/мл (Q1–Q3: 35,5–191,8), $p=0,022$.

Концентрация МІР-1 β достоверно выше у пожилых пациентов медиана составила 88,2 пг/мл (Q1–Q3: 47,8–160,0), в то время как в группах среднего возраста (45–59 лет) и у молодых лиц (18–44 лет) — 86,2 (Q1–Q3: 55,9–339,8) и 46,2 (Q1–Q3: 23,1–102,5) пг/мл соответственно, $p=0,025$ (Рисунок 41).

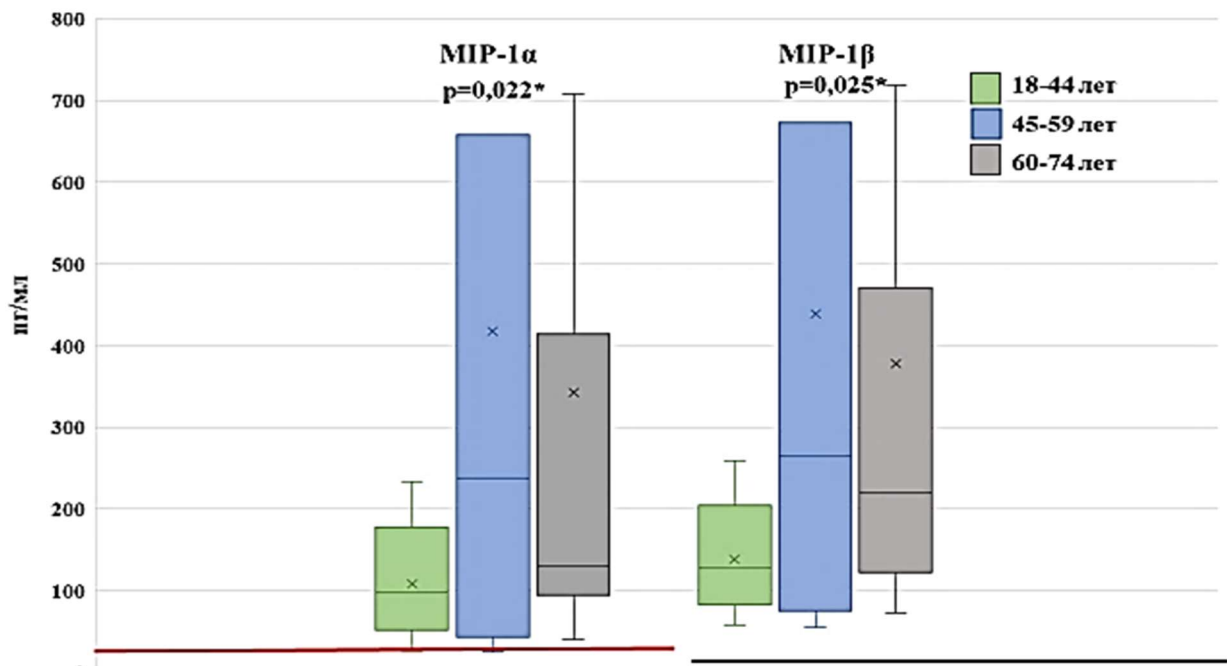


Рисунок 41. Сравнительный анализ концентрации хемокинов в зависимости от возраста пациента с COVID-19 среднетяжелого течения
 Примечание: референс МІР-1 α (красный) $< 15,6$ пг/мл; референс МІР-1 β (синий) $< 7,8$ пг/мл

Растворимая форма рецептора CD14 (sCD14) является важным маркером активации моноцитов и макрофагов. В остром периоде у пациентов медиана концентрации sCD14 составляет 8,1 мкг/мл (Q1–Q3: 3,2–7,7 мкг/мл), при этом у 86% (Me 8,3 Q1–Q3: 6,4–8,4 мкг/мл, $p < 0,001$) больных уровень данного маркера превышает референсные значения. В динамике отмечается двукратное снижение уровня sCD14 до 4,0 мкг/мл (Q1–Q3: 3,4–7,9 мкг/мл) и в периоде реконвалесценции концентрация sCD14 сохраняется выше нормы у 47% исследуемых, что статистически достоверно ($p < 0,001$). При этом уровень sCD14 не зависит от возраста, $p=0,247$ (Рисунок 42).

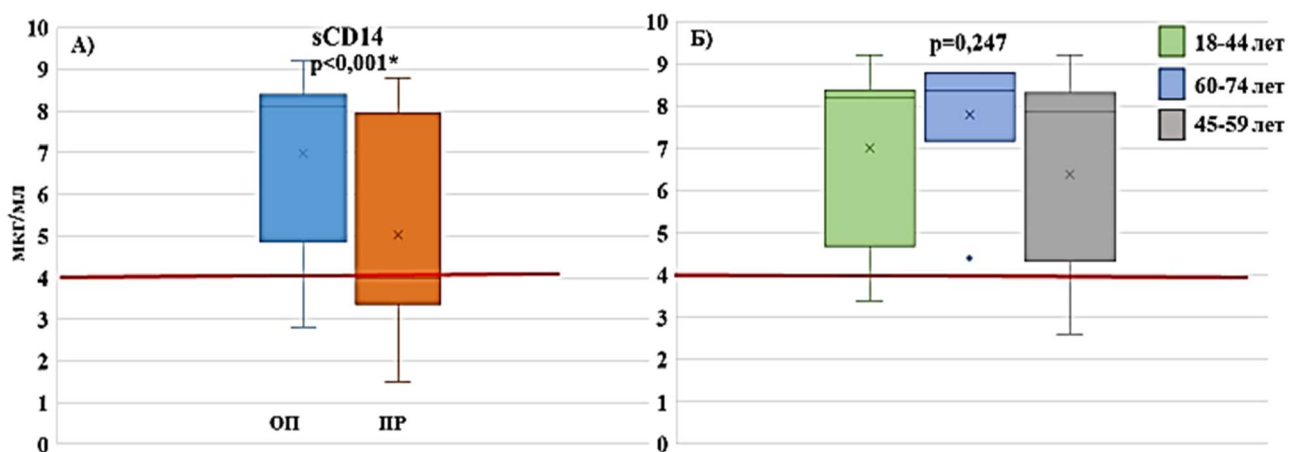


Рисунок 42. Концентрация sCD14 в зависимости от периода болезни (Рисунок 42А) и возраста (Рисунок 42Б) пациентов с COVID-19

Примечание: референс (красный) – 2-4 мкг/мл; ОП – острый период; ПР – период реконвалесценции

Интерлейкин-12 (IL-12) представляет собой ключевой провоспалительный цитокин, стимулирующий дифференцировку Т-хелперов типа 1 (Th1) и продукцию интерферона- γ , играющего важную роль в антивирусной защите. В остром периоде заболевания у пациентов медиана концентрации IL-12 составила 18,0 пг/мл (Q1–Q3: 6,0–35,4 пг/мл), при этом у 83% (Me 21,8 пг/мл; Q1–Q3: 12,9–37,3 пг/мл, $p < 0,001$) обследованных регистрировался уровень, превышающий нормальные значения, а в периоде реконвалесценции медиана IL-12 несколько снизилась и

составила 13,7 пг/мл (Q1–Q3: 6,7–28,8 пг/мл), однако повышенные значения сохранялись у 78% пациентов (Me 16,3 пг/мл; Q1–Q3: 12,9–56,3 пг/мл, $p < 0,001$) (Рисунок 43).

Наибольшая концентрация интерлейкина-12 (IL-12) была зафиксирована у пациентов среднего возраста (45–59 лет), где медианное значение составило 35,0 пг/мл (Q1–Q3: 6,0–50,3). У лиц пожилого возраста (60–74 года) уровень IL-12 оказался несколько ниже — медиана 23,1 пг/мл (Q1–Q3: 15,0–41,8), а минимальные значения зарегистрированы в группе 18–44 лет — медиана 5,6 пг/мл (Q1–Q3: 3,27–17,15) (Рисунок 43).

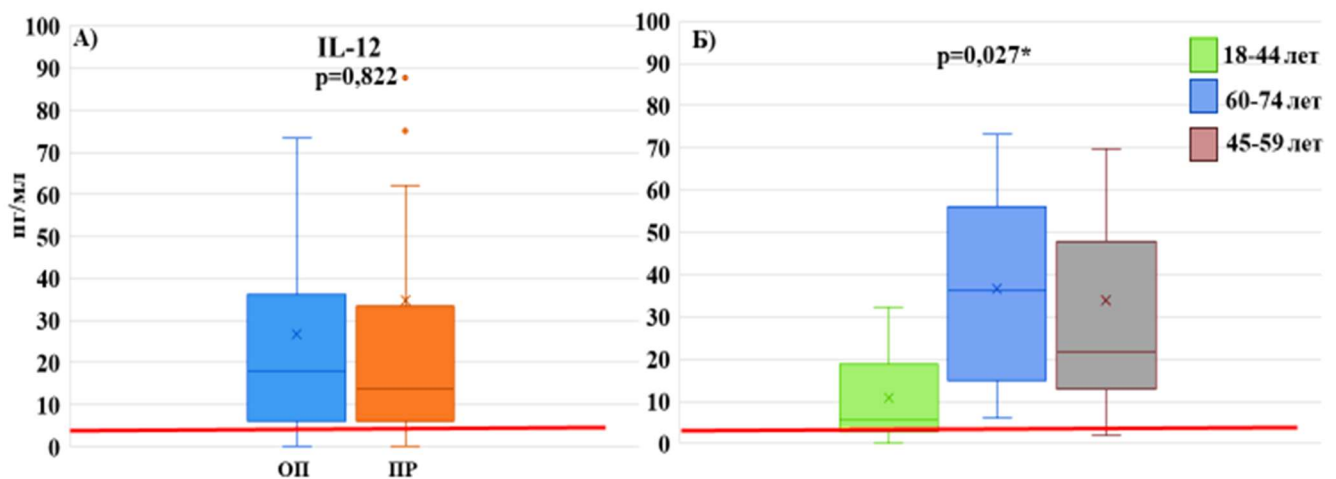


Рисунок 43. Концентрация IL-12 в зависимости от периода COVID-19 (Рисунок 43А) и возраста пациента (Рисунок 43Б)

Примечание: референс (красный) <4,9 пг/мл; ОП – острый период; ПР – период реконвалесценции

Следует отметить, что наличие вирусно-бактериальной пневмонии не оказало существенного влияния на уровень МІР-1α. Так, медианное значение МІР-1α составляет 70,9 пг/мл (Q1–Q3: 55,1 - 195,5) у пациентов с вирусно-бактериальной пневмонией и 64,3 пг/мл (Q1–Q3: 49,0 - 103,4) — в группе без неё ($p = 0,410$). А МІР-1β достоверно выше в группе пациентов с вирусно-бактериальным поражением легких — 94,8 пг/мл (Q1–Q3: 79,7 - 221,9) против 66,3 пг/мл (Q1–Q3: 27,2 - 134,9), $p = 0,041^*$ (Рисунок 44). У пациентов с вирусной

пневмонией и больных без осложнений достоверных различий концентрации хемокинов не обнаружено.

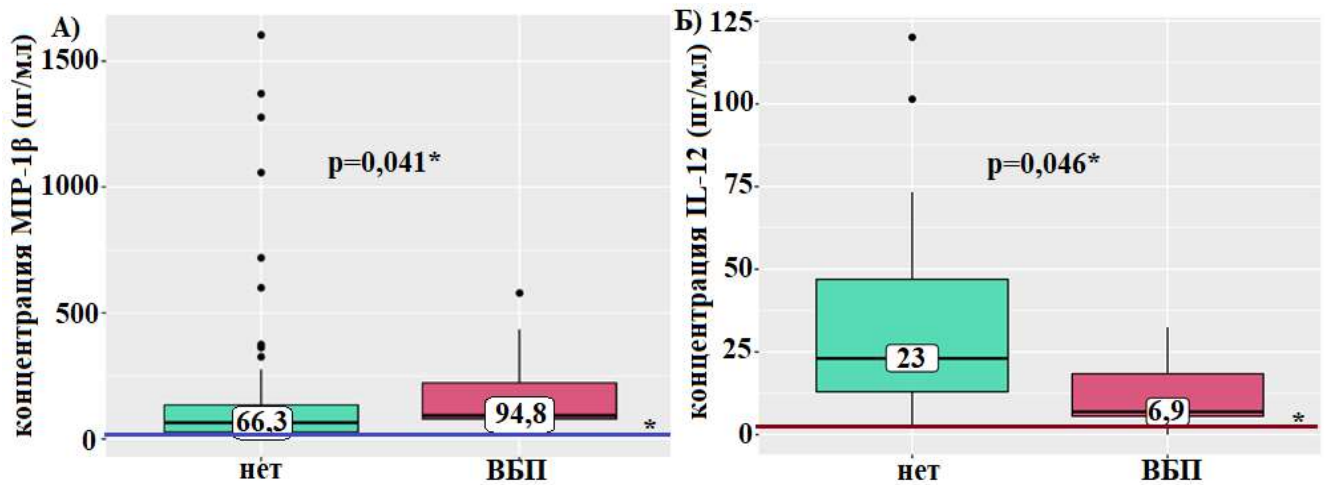


Рисунок 44. Концентрация MIP-1β (Рисунок 44А) и IL-12 (Рисунок 44Б) в зависимости от наличия вирусно-бактериальной пневмонии

Примечание: референс MIP-1β (синий) <7,8 пг/мл; референс IL-12 (красный) <4,9 пг/мл; ВБП – вирусно-бактериальная пневмония

В то же время выявлена достоверная взаимосвязь между уровнем интерлейкина-12 и наличием вирусно-бактериального поражения лёгких. У пациентов без ко-инфекции медианное значение IL-12p70 было существенно выше — 23,1 пг/мл (Q1–Q3: 12,9–46,9), по сравнению с пациентами с пневмонией — 6,9 пг/мл (Q1–Q3: 5,6–18,4) ($p = 0,046^*$) (Рисунок 44).

У пациентов с вирусно-бактериальной пневмонией медианное значение sCD14 составило 8,0 (Q1–Q3: 4,4–8,3), тогда как в группе без неё — 8,1 (Q1–Q3: 4,9–8,4); различие между группами не достигло статистической значимости ($p = 0,559$).

Также в рамках исследования проведена оценка цитокинового профиля в зависимости от вирусной нагрузки в ротоглотке. При сравнении концентраций провоспалительных медиаторов у пациентов, стратифицированных по уровню РНК SARS-CoV-2, достоверных различий в содержании хемокинов MIP-1α, MIP-1β, интерлейкина-12 и sCD14 не выявлено (Таблица 17).

Таблица 17. Сравнительная характеристика иммунологических показателей в зависимости от количества РНК SARS-CoV-2 в ротоглотке

Показатель	Референс	НВН			СВН			p
		Me	Q ₁ – Q ₃	Частота выявленных нарушений от нормы %	Me	Q ₁ – Q ₃	Частота выявленных нарушений от нормы %	
MIP-1α ОП	<15,6 пг/мл	94,7	55,5 – 231,1	100% ↑нормы	63,5	34,9 – 121,2	100% ↑нормы	0,205
MIP-1α ПР		178,4	84,1 – 247,5	86,3% ↑нормы	103,2	77,0 – 147,0	84% ↑нормы	0,428
MIP-1β ОП	<7,8 пг/мл	114,8	77,4 – 257,6	100% ↑нормы	81,1	46,2 – 160,0	100% ↑нормы	0,270
MIP-1β ПР		207,1	114,7 – 273,9	95,4% ↑нормы	136,3	107,8 – 174,4	100% ↑нормы	0,408
sCD14 ОП	2 – 4 мкг/мл	8,1	4,5 – 8,4	83,3% ↑нормы	8,05	4,8 – 8,3	91,6% ↑нормы	0,856
sCD14 ПР		3,9	3,1 – 7,1	45,4% ↑нормы	4,1	3,6 – 7,7	53,8% ↑нормы	0,389
IL-12 ОП	<4,9 пг/мл	17,6	5,8 – 36,9	83,3% ↑нормы	18,9	11,1 – 31,7	83,3% ↑нормы	0,856
IL-12 ПР		14,6	4,1 – 59,7	72,7% ↑нормы	13,7	6,9 – 18	84,6% ↑нормы	0,853

Примечание: НВН – низкая вирусная нагрузка; СВН – средняя вирусная нагрузка; ОП – острый период; ПР – период реконвалесценции

Вместе с тем, учитывая значимость кишечного тракта как потенциального резервуара вируса, представлялся интересным анализ иммунологических параметров в зависимости от наличия РНК SARS-CoV-2 в кале. Проведённый анализ выявил статистически значимые различия концентрации MIP-1α между группами. У пациентов с положительным анализом кала на РНК SARS-CoV-2 как в остром периоде, так и в периоде реконвалесценции концентрация MIP-1α ниже. Однако концентрация IL-12 и sCD14 не различались между пациентами с положительным и отрицательным результатом на вирусную РНК в фекалиях (Таблица 18).

Таблица 18. Сравнительная характеристика иммунологических показателей в зависимости от наличия РНК SARS-CoV-2 в кале

Показатель	Референс	РНК SARS-CoV-2 «-» в кале в остром периоде			РНК SARS-CoV-2 «+» в кале в остром периоде			p
		Me	Q ₁ – Q ₃	Частота выявленных нарушений от нормы %	Me	Q ₁ – Q ₃	Частота выявленных нарушений от нормы %	
МIP-1α ОП	<15,6 пг/мл	102,4	55,3 – 247	100% ↑нормы	50,4	33,4– 74,4	100% ↑нормы	0,005
МIP-1α ПР		142,8	83,8– 247	83,3% ↑нормы	97,4	30,5– 99,7	100% ↑нормы	0,299
МIP-1β ОП	<7,8 пг/мл	123,2	62,1 – 274	100% ↑нормы	91,3	51,6– 120,2	100% ↑нормы	0,133
МIP-1β ПР		170,2	113 – 272,	96,6% ↑нормы	127, 4	65,6– 131,1	100% ↑нормы	0,277
sCD14 ОП	2 – 4 мкг/мл	7,9	4,6 – 8,3	83,8% ↑нормы	8,4	8,3– 8,4	100% ↑нормы	0,059
sCD14 ПР		3,9	3,3 – 7,1	43,3% ↑нормы	4,4	3,6 – 8,3	60 % ↑нормы	0,448
IL-12 ОП	<4,9 пг/мл	17,1	6,0 – 31,6	83,8% ↑нормы	37,5	19,7– 46,9	80% ↑нормы	0,175
IL-12 ПР		13,7	4,1– 20,8	73,3% ↑нормы	27,3	18,0– 33,3	100% ↑нормы	0,108

Примечание: p - различия показателей статистически значимы; ОП – острый период; ПР – период реконвалесценции

Вероятной причиной различий в концентрации МIP-1α/β может быть то, что РНК SARS-CoV-2 чаще обнаруживалась у пациентов молодого возраста. Ранее проведённое нами исследование показало, что именно у этой группы пациентов концентрации МIP-1α/β характеризуются достоверно наиболее низкими значениями.

5.2. Взаимосвязь иммунологических показателей с таксонами микробиоценоза кишечника у пациентов с COVID-19 среднетяжелого течения

Изучение прогностической значимости иммунологических и воспалительных маркеров при COVID-19 представляет особый интерес в контексте поиска индикаторов, способных отражать не только активность системного воспаления, но и состояние кишечного микробиоценоза. Анализ взаимосвязей между иммуновоспалительными показателями и бактериальным составом позволяет рассматривать хемокины и интегральные индексы воспаления в качестве потенциальных прогностических признаков течения заболевания и последующего восстановления.

Проведённый ROC-анализ позволил выявить ряд статистически значимых предикторов, отражающих взаимосвязь иммуновоспалительных показателей с состоянием кишечного микробиоценоза и выделением SARS-CoV-2.

Установлено, что концентрация MIP-1 α в остром периоде обладает высокой прогностической ценностью в отношении содержания *Lactobacillus* spp., выявленной микробиологическим методом (AUC = 0,847; 95% ДИ: 0,718–0,975; p = 0,003) (Рисунок 45А, Таблица 19). Аналогично, MIP-1 β является предиктором дефицита *Lactobacillus* spp. (AUC = 0,819; 95% ДИ: 0,677–0,961; p = 0,006) (Рисунок 45Б, Таблица 19).

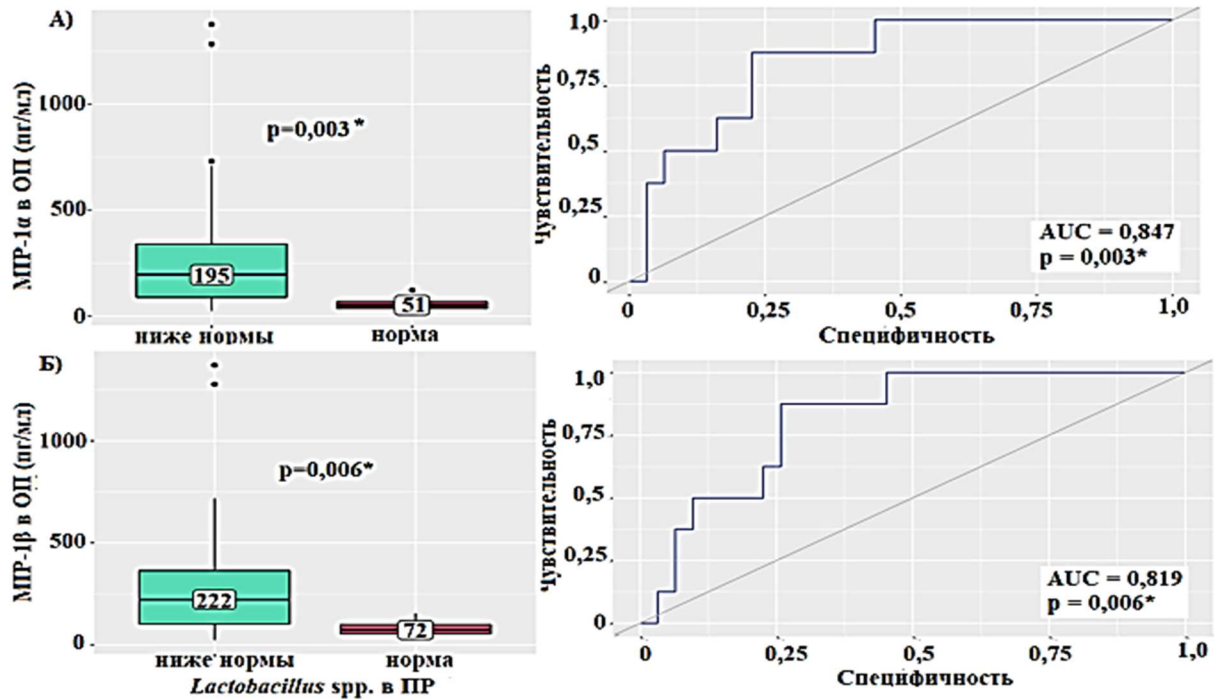


Рисунок 45. Прогностическая значимость МІР-1α (Рисунок 45А) и МІР-1β (Рисунок 45Б) как предиктора дефицита *Lactobacillus* spp.

Примечание: ОП – острый период; ПР – период реконвалесценции

Таблица 19. 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.	МІР-1α	77,4%	87,5%	85,5 пг/мл
<i>Lactobacillus</i> spp.	МІР-1β	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.

Среди интегральных иммуновоспалительных индексов отмечена прогностическая роль SIRI (Рисунок 46А) и AISI (Рисунок 46Б), оба из которых ассоциируются с содержанием *Bifidobacterium* spp. (AUC = 0,731; 95% ДИ: 0,561–

0,901; $p = 0,041$ и $AUC = 0,772$; 95% ДИ: 0,617–0,926; $p = 0,016$ соответственно).

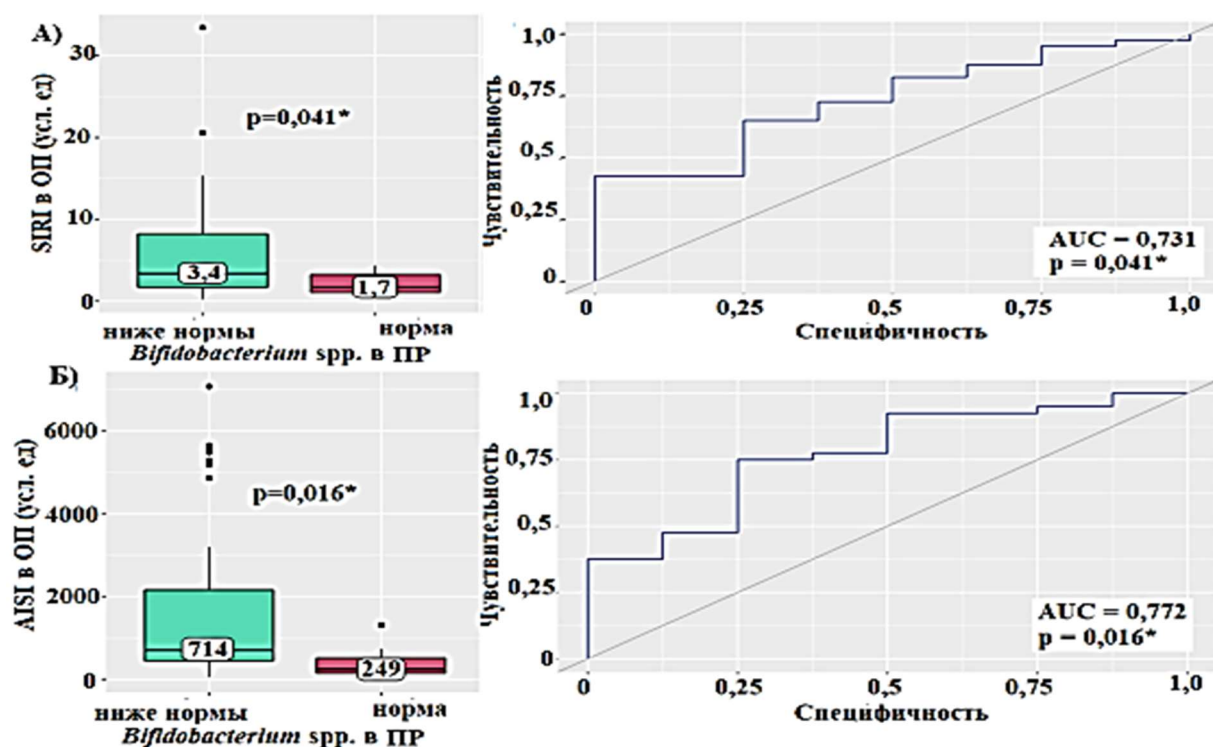


Рисунок 46. Прогностическая значимость SIRS (Рисунок 46А) и AISI (Рисунок 46Б) в отношении дефицита *Bifidobacterium* spp.

Примечание: ОП – острый период; ПР – период реконвалесценции

Кроме того, ТЛИ показал прогностическую значимость в отношении выделения РНК SARS-CoV-2 с фекалиями ($AUC = 0,766$; 95% ДИ: 0,581–0,950; $p = 0,010$)

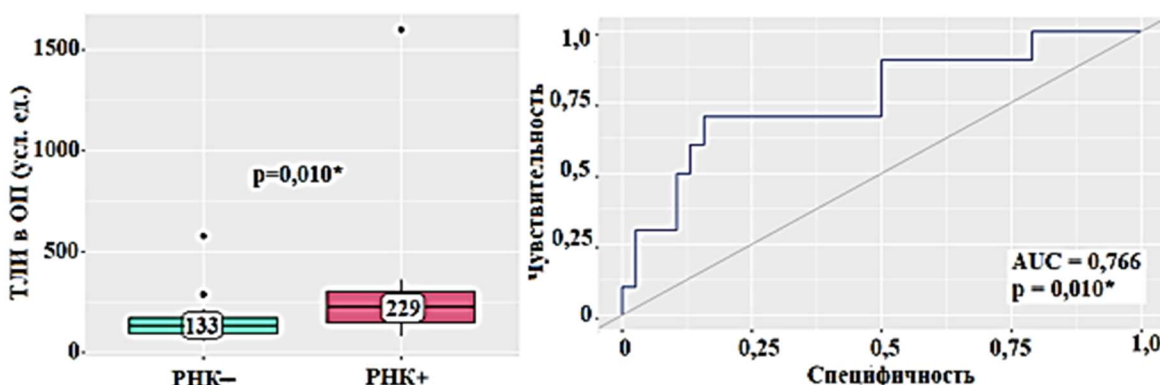


Рисунок 47. Прогностическая значимость ТЛИ в отношении выделения РНК SARS-CoV-2 в кале

Примечание: ОП – острый период

Микробиоценоз кишечника играет ключевую роль в поддержании гомеостаза, участвует в регуляции иммунных ответов и формировании противовирусной защиты. При коронавирусной инфекции были продемонстрированы изменения бактериального состава толстого кишечника, характеризующиеся снижением численности комменсальных бактерий и увеличением доли условно-патогенных микроорганизмов. Состояние микробиоценоза кишечника у пациентов с COVID-19 может отражать как особенности течения инфекции, так и компенсаторно-приспособительные реакции организма.

Лихорадка является одной из наиболее частых жалоб при COVID-19 и отражает наличие системного воспалительного ответа. У пациентов с фебрильной лихорадкой установлены достоверные корреляции между иммунными показателями и содержанием отдельных представителей микробиоценоза кишечника, что подчёркивает значимость оси «кишечник — иммунитет» в патогенезе заболевания (Рисунок 48).

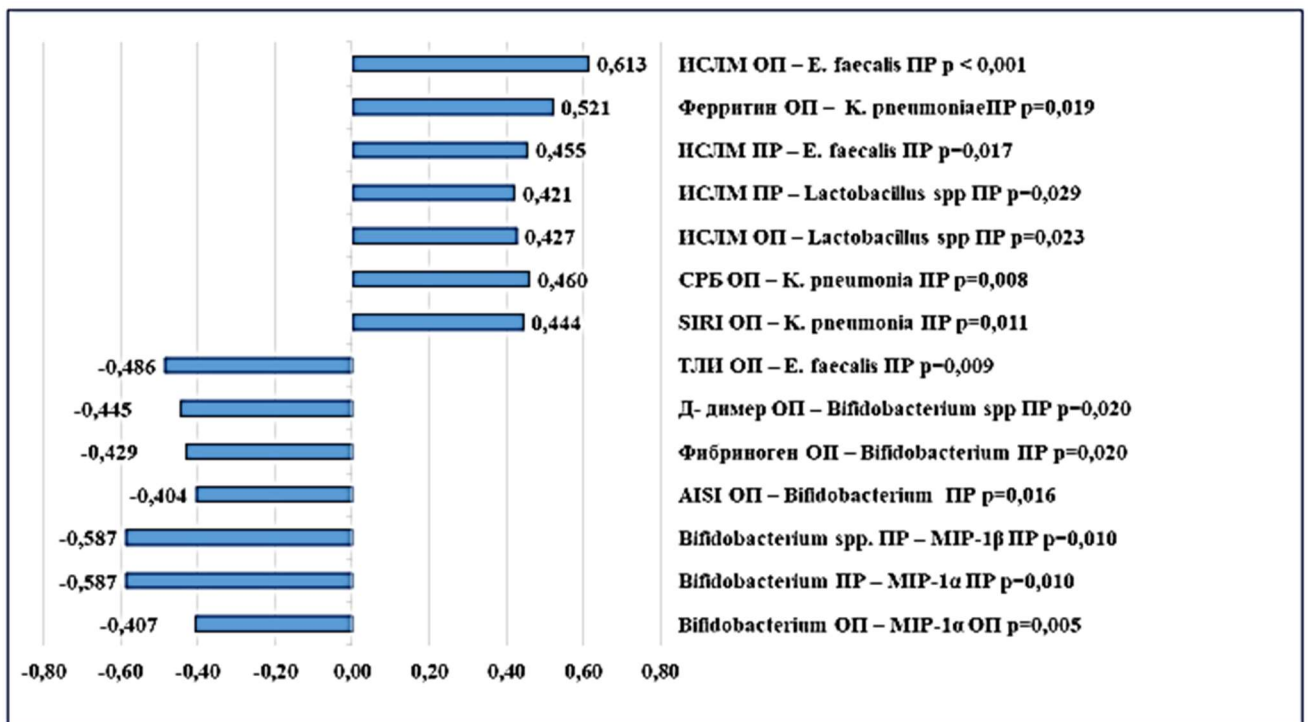


Рисунок 48. Корреляционные взаимосвязи иммунологических показателей и таксонов микробиоценоза кишечника у пациентов с лихорадкой

Примечание: ОП – острый период; ПП – период реконвалесценции

У пациентов с лихорадкой хемокины демонстрируют обратную связь с представителями симбиотической флоры. Так, содержание *Bifidobacterium* spp. в периоде реконвалесценции имеет отрицательную корреляцию умеренной тесноты с уровнями MIP-1 α и MIP-1 β ($r = -0,587$; $p = 0,010$). Напротив, уровень ферритина в остром периоде демонстрирует положительную корреляцию с количеством *Klebsiella pneumoniae* в кишечнике ($r = 0,521$; $p = 0,019$). Дополнительно установлена связь бактерий с воспалительными индексами: ИСЛМ положительно коррелирует с *Enterococcus* spp. ($r = 0,613$; $p < 0,001$) (Рисунок 48).

В подгруппе пациентов с фебрильной лихорадкой также выявлены корреляции меньшей силы между иммунологическими показателями и составом микробиоценоза кишечника, что отражено на Рисунок 48. Полученные данные подтверждают наличие взаимосвязи между выраженностью воспалительного процесса и снижением численности представителей нормофлоры. На фоне повышения воспалительных маркеров отмечено уменьшение содержания полезных комменсальных бактерий, что, вероятно, отражает неблагоприятное влияние системного воспаления на микробиоценоз кишечника.

Подобные закономерности прослеживаются и в подгруппе пациентов с внебольничной пневмонией, у которых также установлены достоверные корреляции между иммунологическими показателями и составом микробиоценоза кишечника. Эти данные дополнительно подтверждают наличие взаимосвязи между системным воспалением и состоянием микробиоценоза кишечника, отражая участие бактерий в патогенезе респираторной патологии. Полученные результаты согласуются с концепцией оси «кишечник–лёгкие», согласно которой состояние микробиоценоза кишечника может оказывать влияние на воспалительные процессы в дыхательной системе (Рисунок 49).

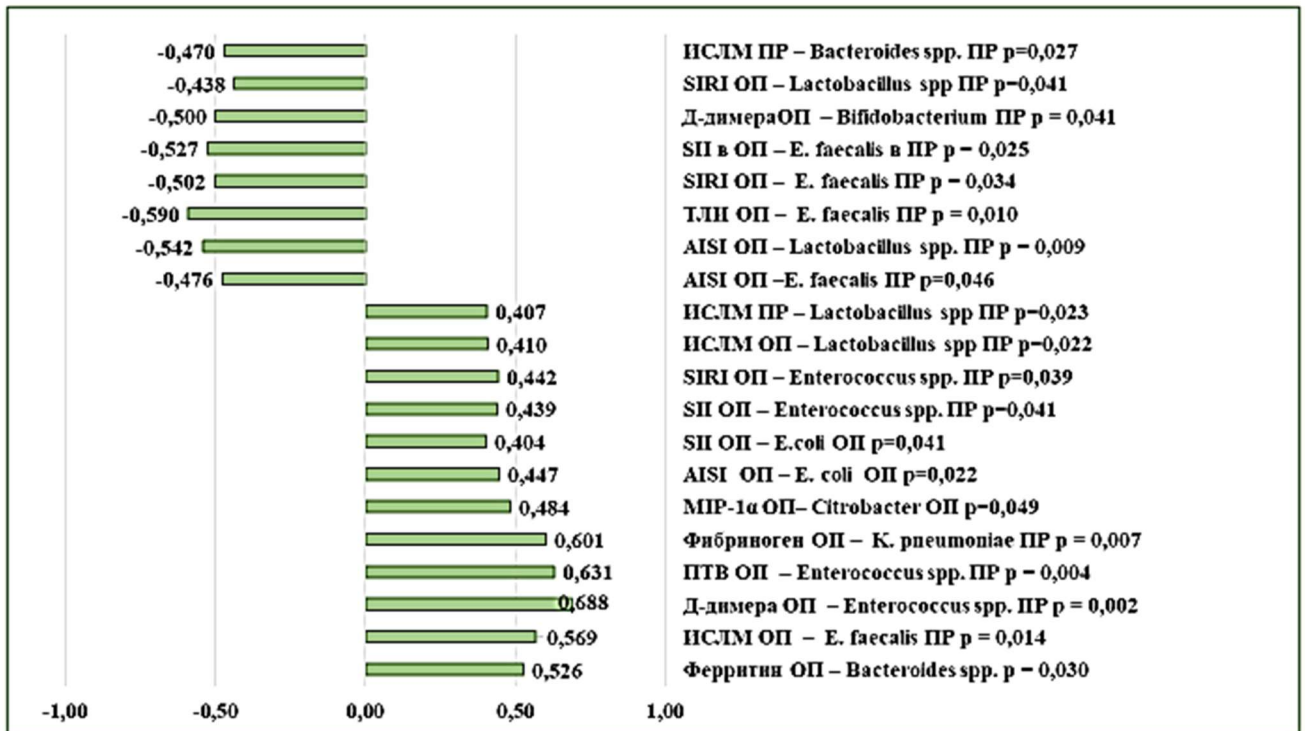


Рисунок 49. Корреляционные взаимосвязи иммунологических показателей и таксонов микробиоценоза кишечника у пациентов с COVID-19 и пневмонией

Примечание: ОП – острый период; ПП – период реконвалесценции

У пациентов с внебольничной пневмонией выявлены статистически значимые корреляции между показателями системного воспаления и составом микробиоценоза кишечника, что подтверждает участие оси «кишечник–лёгкие» в патогенезе заболевания. Индекс системного воспаления (AISI) отрицательно коррелирует с содержанием *Lactobacillus* spp. в кишечнике ($r = -0,542$; $p = 0,009$). Уровень ферритина достоверно положительно коррелирует с числом копий *Bacteroides* spp. ($r = 0,526$; $p = 0,030$). У пациентов с лихорадкой AISI является достоверным предиктором снижения *Bifidobacterium* spp. ($AUC = 0,844$; $p = 0,016$).

Среди иммуновоспалительных индексов (ИСЛМ, ТЛИ, SIRI и SII) выявлены взаимосвязи с содержанием *Enterococcus faecalis*. Повышение ИСЛМ ассоциируется с увеличением численности *E. faecalis* ($r = 0,569$; $p = 0,014$). В то же время ТЛИ обратно коррелирует с числом *E. faecalis* ($r = -0,590$; $p = 0,010$). Повышение SIRI сопровождается достоверным снижением содержания *Enterococcus faecalis* в кишечнике $r = -0,502$; $p = 0,034$. Аналогичная обратная зависимость установлена для SII ($r = -0,527$; $p = 0,025$).

У пациентов с пневмонией выявлены разнонаправленные взаимосвязи между показателями гемостаза в остром периоде и содержанием отдельных представителей микробиоценоза кишечника в периоде реконвалесценции. Так, уровень Д-димера ($r = 0,688$; $p = 0,002$) и ПТВ ($r = 0,631$; $p = 0,004$) достоверно ассоциируется с числом копий *Enterococcus* spp. Также установлена положительная корреляция между уровнем фибриногена и численностью *Klebsiella pneumoniae* ($r = 0,601$; $p = 0,007$). В то же время концентрация Д-димера демонстрирует отрицательную корреляцию с содержанием *Bifidobacterium* spp. ($r = -0,500$; $p = 0,041$).

Дополнительно на Рисунок 49 представлены корреляционные связи меньшей силы, однако также статистически достоверные. Эти данные укрепляют общую закономерность ассоциаций между микробиологическими и иммунологическими параметрами и подчеркивают комплексный характер взаимодействий между воспалительным ответом и микробиоценозом кишечника.

Ниже представлен клинический случай, демонстрирующий изменения микробиоценоза кишечника и иммунологических параметров у пациента с COVID-19 среднетяжёлого течения: сочетание выраженного дефицита комменсальных бактерий с избыточным ростом условно-патогенной флоры, а также значимое повышение провоспалительных иммунологических показателей, сохраняющееся и в период реконвалесценции.

Клинический пример №2.

Пациент Т., 38 лет. При осмотре фельдшером скорой медицинской помощи выявлено снижение сатурации до 94%. Доставлен в ИКБ №2 с подозрением на пневмонию, жалуется на повышение температуры тела и боль в горле.

Со слов пациента известно, что вчера отметил повышение температуры тела до 39,8С, першение в горле. К врачу не обращался, принимал самостоятельно Терафлю. В связи с фебрильной лихорадкой вызвал СМП и был госпитализирован в стационар. Не вакцинирован от COVID-19, антибактериальные препараты не

принимал последние 6 месяцев, дочь с симптомами ОРВИ. Сопутствующие заболевания отрицает.

При поступлении состояние средней степени тяжести. Температура тела 39,2°C. Кожные покровы физиологической окраски, цианоз отсутствует. ЧДД - 18 в минуту. SPO2 - 98 % на атмосферном воздухе. Пульс 92 уд. в минуту. АД - 120/70 мм. рт. ст. Оценка по шкале NEWS2 = 3 баллов. Живот при пальпации мягкий, безболезненный. Стул регулярный, диурез не нарушен.

Мазок из носо/ротоглотки методом ПЦР на РНК SARS-CoV-2 при поступлении – обнаружено. ПЦР-тесты на респираторные вирусы и вирусы гриппа при поступлении – не обнаружено. В клиническом анализе крови в остром периоде выявлена лимфопения ($1,1 \times 10^9/\text{л}$) и моноцитоз ($1,2 \times 10^9/\text{л}$). При этом индекс соотношения лимфоцитов и моноцитов был ниже установленной нормы, а ТЛИ выше (Таблица 20).

В биохимическом анализе крови установлено повышение СРБ до 10 мг/л и ферритина-305 нг/мл.

У пациента установлено значительное (в 2–10 раз) превышение референсных значений MIP-1 α , MIP-1 β , sCD-14 и IL-12. Отмеченные изменения, за исключением sCD-14, сохранялись и в период реконвалесценции, при этом уровень sCD-14 нормализовался (Таблица 20).

Таблица 20. Динамика иммунологических показателей

Показатели	ОП (2 день болезни)	ПР (7 день болезни)
ИСЛМ, усл. ед.	0,92	5,77
ТЛИ, усл. ед.	154,5	123
CLR, усл. ед.	9,0	0,72
SIRI, усл. ед.	3,4	0,52
SH, усл. ед.	494	371
AISI, усл. ед.	593	178
MIP-1α, пг/мл	50,9	30,5
MIP-1β, пг/мл	83,3	65,6
sCD14, мкг/мл	8,1	3,8
IL-12, пг/мл	16,3	10,9

Примечание: ОП – острый период; ПР – период реконвалесценции

КТ ОГК: на фоне парасептальных булл, расположенных в верхушках лёгких и в отделах лёгких, прилежащих к куполу диафрагмы, визуализируются соединительнотканые сращения между париетальной плеврой и внутренней поверхностью грудной стенки, а также соединительнотканые сращения между париетальной плеврой и диафрагмой. Заключение: данных о наличии пневмонии на момент исследования не выявлено. Эмфизема легких. Тяжистый пневмофиброз.

Количественное определение РНК SARS-CoV-2 в мазке из носо/ротоглотки в остром периоде (при поступлении в стационар на 2 день болезни) – $3,2 \times 10^5$ ГЭ/мл (средняя нагрузка). Количественное определение РНК SARS-CoV-2 в образце кала и сыворотки крови как в остром периоде (при поступлении в стационар на 2 день болезни), так и в периоде реконвалесценции (при выписке из стационара на 7 день болезни) – не обнаружено.

На основании осмотра, лабораторных и инструментальных исследований выставлен диагноз: Коронавирусная инфекция, вызванная вирусом SARS-CoV-2, вирус идентифицирован (подтвержден лабораторным тестированием независимо от тяжести клинических признаков или симптомов). Для этиотропной терапии были назначен Фавипиравир.

*По результатам исследования кала в остром периоде (при поступлении в стационар на 2-й день болезни) методом ПЦР выявлено снижение содержание *Bifidobacterium spp.* и повышение *Enterobacter spp.* Индекс Шеннона составил 0,67 усл. ед, а Симпсона - 0,75 усл. ед (Таблица 21.)*

*При исследовании микробиологическим методом выявлено отсутствие *Lactobacillus spp.*, *E. faecium*, снижение *Bifidobacterium spp* и *Escherichia coli*, ИКР составил 1,0 усл. ед. (Таблица 22).*

*К моменту выписки (7-й день болезни) сохранялось снижение количества *Bifidobacterium spp.* при одновременном увеличении уровня *Enterobacter spp.* Индекс Шеннона составил 0,57 усл. ед., индекс Симпсона — 0,73 усл. ед. А при исследовании кала микробиологическим методом отмечалось отсутствие *Lactobacillus spp.*, *Enterococcus faecalis* и *Enterococcus faecium*, сохранялось*

снижение численности *Bifidobacterium spp.* (и *Escherichia coli*, при этом ИКР составил 0,28 усл. ед (Таблица 22).

Таблица 21. Анализ микробиоценоза кишечника в динамике заболевания ПЦР методом

Показатели (копий/мл)	Референсный интервал	ОП	ПР
<i>Akkermansia muciniphila</i>	$\leq 10^{11}$	$1,0 \times 10^7$	$9,0 \times 10^7$
<i>Bacteroides spp.</i>	10^9-10^{12}	$1,0 \times 10^{10}$	$1,0 \times 10^9$
<i>Bacteroides thetaomicronn</i>	любое количество	$2,0 \times 10^5$	$2,0 \times 10^8$
<i>Bfr/Fprau</i>	0,01 - 100	50	10
<i>Bifidobacterium spp.</i>	10^9-10^{10}	$2,0 \times 10^8$	$1,0 \times 10^7$
<i>Candida spp.</i>	$\leq 10^4$	Не обнаружено	Не обнаружено
<i>Citrobacter spp.</i>	$\leq 10^4$	Не обнаружено	Не обнаружено
<i>Clostridium difficile</i>	Не обнаружено	Не обнаружено	Не обнаружено
<i>Clostridium perfringens</i>	Не обнаружено	Не обнаружено	Не обнаружено
<i>Enterobacter spp.</i>	$\leq 10^4$	$7,0 \times 10^5$	$1,0 \times 10^6$
<i>Enterococcus spp.</i>	$\leq 10^8$	Не обнаружено	Не обнаружено
<i>Escherichia coli</i>	10^6-10^8	$1,0 \times 10^8$	$1,0 \times 10^7$
<i>Escherichia coli enteropathogenic</i>	$\leq 10^4$	Не обнаружено	Не обнаружено
<i>Faecalibacterium prausnitzii</i>	10^8-10^{11}	$2,0 \times 10^8$	$1,0 \times 10^8$
<i>Fusobacterium nucleatum</i>	Не обнаружено	Не обнаружено	Не обнаружено
<i>Klebsiella oxytoca</i>	$\leq 10^4$	Не обнаружено	Не обнаружено
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	$\leq 10^4$	Не обнаружено	Не обнаружено
<i>Lactobacillus spp.</i>	10^7-10^8	$8,0 \times 10^7$	$9,0 \times 10^7$
<i>Proteus vulgaris/mirabilis</i>	$\leq 10^4$	Не обнаружено	Не обнаружено
<i>Staphylococcus aureus</i>	$\leq 10^4$	Не обнаружено	Не обнаружено

Примечание: ОП – острый период; ПР – период реконвалесценции

Таблица 22. Анализ микробиоценоза кишечника в динамике, исследованный микробиологическим методом

Показатели	Референсный интервал (КОЕ/г)	ОП	ПР
<i>Bifidobacterium</i> spp.	до 60 лет: 10^9-10^{10} ; 60+ лет: 10^8-10^9	$7,0 \times 10^7$	$1,0 \times 10^7$
<i>Candida</i>	$\leq 10^4$	0	0
<i>Citrobacter</i> spp.	$< 10^4$	0	0
<i>Clostridium</i>	до 60 лет $\leq 10^5$; 60+лет $\leq 10^6$	0	0
<i>E. faecalis</i>	до 60 лет: 10^5-10^8 ; 60+ лет: 10^6-10^7	$1,0 \times 10^5$	0
<i>E. faecium</i>	до 60 лет: 10^5-10^8 ; 60+ лет: 10^6-10^7	0	0
<i>Enterobacter</i> spp.	$< 10^4$	0	0
<i>Escherichia coli</i>	10^7-10^8	$1,0 \times 10^4$	$1,0 \times 10^4$
<i>Escherichia coli</i> гемолитические	0	0	0
<i>Escherichia coli</i> лактозонегативные	$\leq 10^4$	0	$1,0 \times 10^4$
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	$< 10^4$	0	0
<i>Lactobacillus</i> spp.	до 60 лет: 10^7-10^8 ; 60+ лет: 10^6-10^7	0	0
<i>Proteus</i> spp.	$< 10^4$	0	0
<i>Pseudomonas</i> spp.	$\leq 10^3$	0	0
<i>Staphylococcus aureus</i>	0	0	0

Примечание: ОП – острый период; ПР – период реконвалесценции

Таким образом изучение иммунологических маркеров системного воспаления и их взаимосвязей с кишечным микробиоценозом при COVID-19 выявило ряд закономерностей, отражающих динамику воспалительных процессов и взаимосвязь с таксономическим составом кишечника в разные периоды заболевания. В остром периоде ИСЛМ был снижен у 99% пациентов, а в период реконвалесценции отмечалась стабилизация показателя у 1/3 ($p < 0,001$). ТЛИ был выше нормы у 51% пациентов и достоверных изменений к моменту выписки не наблюдалось ($p = 0,344$). Наиболее выраженная динамика наблюдалась по

индексам системного воспаления, при этом значимое снижение отмечалось по индексу CLR — медиана снизилась в 6,5 раз ($p < 0,001$).

В остром периоде заболевания иммунологические показатели МІР-1 α (100%), МІР-1 β (100%), sCD14 (86%) и ІL-12 (83%) многократно превышают референсные значения, при этом высокая концентрация сохраняется и после клинического выздоровления у большинства пациентов ($p < 0,001$), за исключением sCD14 ($p > 0,05$).

Проведённый ROC-анализ позволил выявить ряд статистически значимых предикторов, отражающих взаимосвязь иммуновоспалительных показателей с некоторыми таксонами микробиоценоза кишечника и выделением SARS-CoV-2 в кале. Так, ТЛІ выше 195 усл. ед ($AUC = 0,766$; $p = 0,010$) показал прогностическую значимость в отношении выделения вируса SARS CoV-2 с калом в период реконвалесценции. Установлено, что SІRІ 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 МІР-1 α выше 85,5 пг/мл ($AUC = 0,847$; $p = 0,003$) и МІР-1 β выше 114,8 пг/мл ($AUC = 0,819$; $p = 0,006$) прогнозировало дефицит *Lactobacillus* spp., выявленных микробиологическим методом.

ГЛАВА VI. АНАЛИЗ ВЛИЯНИЯ ФАРМАКОТЕРАПИИ НА КЛИНИКО-ИММУНОЛОГИЧЕСКИЕ, МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ И ОБОСНОВАНИЕ МЕТОДА ОПТИМИЗАЦИИ ТАКТИКИ ВЕДЕНИЯ ПАЦИЕНТОВ С COVID-19 СРЕДНЕТЯЖЕЛОГО ТЕЧЕНИЯ

6.1 Влияние терапии на состояние микробиоценоза кишечника и клинико-иммунологические параметры у больных COVID-19

Исследования последних лет показывают, что течение COVID-19 сопровождается не только системным воспалительным ответом, но и изменениями кишечного микробиоценоза, что отражает существование функциональной «оси кишечник–лёгкие». Нарушение бактериального состава ассоциировало с дисбалансом врождённого и адаптивного иммунитета, включая изменения уровня цитокинов (MIP-1 α , MIP-1 β , sCD14, IL-12) и интегральных гематологических индексов (CLR, SII, SIRI, AISI). Считается, что терапия на амбулаторном и стационарном этапах (противовирусные, антибактериальные препараты, ингибиторы янус-киназы) 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 с применением Левофлоксацина) 18%. При этом 2% получали более одного препарата на догоспитальном этапе, а 4% — одновременно противовирусную и антибактериальную терапию (Рисунок 50).

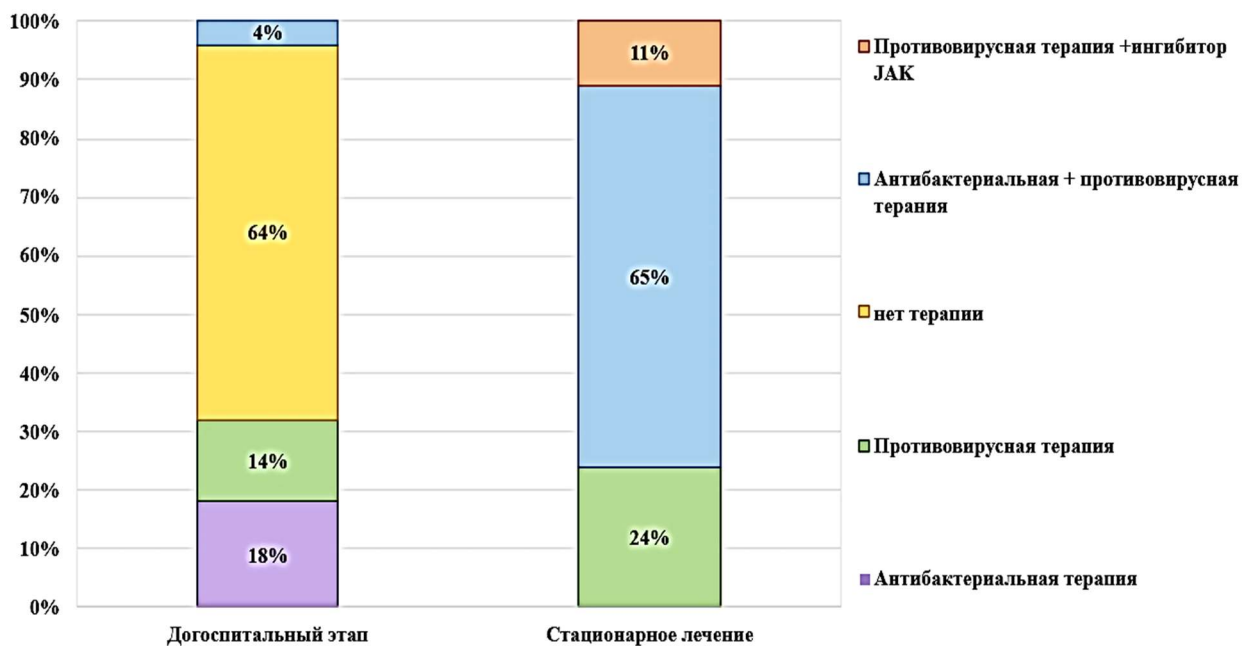


Рисунок 50. Схемы терапии у пациентов с COVID-19 на амбулаторном и госпитальном этапах

Анализ основных показателей крови и маркеров воспаления в зависимости от проводимой терапии значимых различий не выявил.

При сравнительном анализе иммунологических показателей установлено, что уровни МР-1 α , МР-1 β , sCD14, IL-12 не демонстрируют достоверных различий в зависимости от применяемой терапии на амбулаторном этапе (Таблица 23).

Таблица 23. Сравнительный анализ иммунологических показателей в зависимости от схем лечения на амбулаторном этапе

Показатель	Нет терапии (n=64)	АБ (n=18)	АБ+ПВ (n=4)	ПВ (n=14)	Различие в группах сравнения (p)
	Me, Q1-3	Me, Q1-3	Me, Q1-3	Me, Q1-3	
МР-1α, пг/мл	124 56 – 300	104 65 – 173	109 67 – 139	450 312 – 742	0,138
МР-1β, пг/мл	154 89 – 326	134 95 – 200	124 101 – 286	471 337 – 754	0,131
sCD14, мкг/мл	8,0 4,8 – 8,4	8,3 8,15 – 8,38	8,1 8,2 – 8,5	6,2 4,3 – 7,9	0,479
IL-12, пг/мл	18 7 – 35, 2	12 3 – 29, 6	19 8 – 47, 1	15 5 – 36, 4	0,615

Примечание: АБ – антибактериальная терапия; ПВ – противовирусная терапия

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 (Рисунок 51).

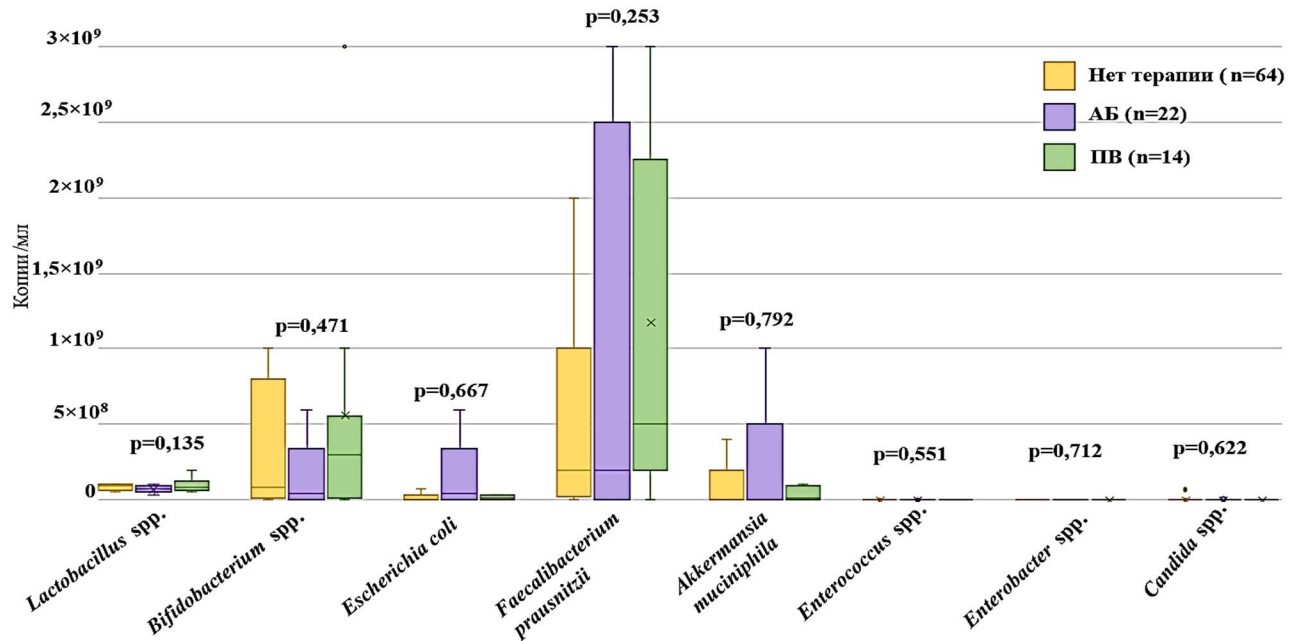


Рисунок 51. Сравнительный анализ микробиоценоза кишечника в зависимости от схем лечения на амбулаторном этапе

Примечание: АБ – антибактериальная терапия; ПВ – противовирусная терапия

В условиях стационара противовирусные препараты назначены всем пациентам (100%), в основном Фавипиравир, противовирусную терапию совместно с антибактериальной - 65% (преимущественно назначали Левофлоксацин/Цефтриаксон), только противовирусные и ингибиторы янус-киназ (Барицитиниб) получали 11% пациентов (Рисунок 50).

Проведённый анализ основных интегральных гематологических индексов и показателей системного воспаления — индекса соотношения тромбоцитов к лимфоцитам (ТЛИ), индекса соотношения лимфоцитов к моноцитам (ИСЛМ), соотношения С-реактивного белка к лимфоцитам (CLR), индекса системного воспалительного ответа (SIRI), индекса системного воспаления (SII) и индекса

совокупного системного воспаления (AISI) — показал, что проводимая в стационаре терапия не оказывала статистически значимого влияния на их значения. Изменений иммунологических показателей зависимости от назначенной терапии в стационаре зафиксировано не было (Таблица 24).

Таблица 24. Сравнительный анализ иммунологических показателей в зависимости от схем лечения в стационаре

Показатель (копии/мл)	ПВ+АБ (n=65)	ПВ+ИЯК (n=11)	ПВ (n=24)	Различие в группах сравнения (p)
	Me, Q1-3	Me, Q1-3	Me, Q1-3	
МІР-1α, пг/мл	178 97 – 248	63 23 – 106	106 80 – 190	0,210
МІР-1β, пг/мл	207 128 – 274	95 51 – 135	137 111 – 217	0,201
sCD14, мкг/мл	4,40 3,30 – 8,03	3,30 2,70 – 4,83	3,75 3,62 – 4,88	0,602
ІL-12, пг/мл	16 12 – 26	13 10 – 19	8 4 – 60	0,677

Примечание: АБ – антибактериальная терапия; ПВ – противовирусная терапия; ИЯК – ингибиторы янус-киназ

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: Me=0,0 копий/мл (Q1-3: 0,0–1,0×10⁷). В группе противовирусной терапии в сочетании с ингибиторами янус-киназ концентрация *Akkermansia muciniphila* значительно выше - 7,5×10⁷ копий/мл (Q1-3: 3,2×10⁷–1,5×10⁸), а при применении только противовирусной терапии Me составляла 3,0×10⁷ копий/мл (Q1-3: 4,2×10⁶–1,0×10⁹). Различия между группами были статистически значимыми (p = 0,042), что указывает на существенное угнетение данного комменсала при включении антибиотиков в терапевтическую схему. В этой же группе пациентов отмечено достоверно наиболее высокое содержание *Enterococcus* spp., достигающее 5,0×10⁸ копий/мл (Q1-3: 0,0–1,0×10⁷). В группах сравнения концентрация данного рода бактерий была существенно

ниже: Ме= 0,0 копий/мл (Q1-3: 0,0–0,0 и Ме =0,0 копий/мл (Q1-3: 0,0–1,0×10⁸) (Рисунок 52).

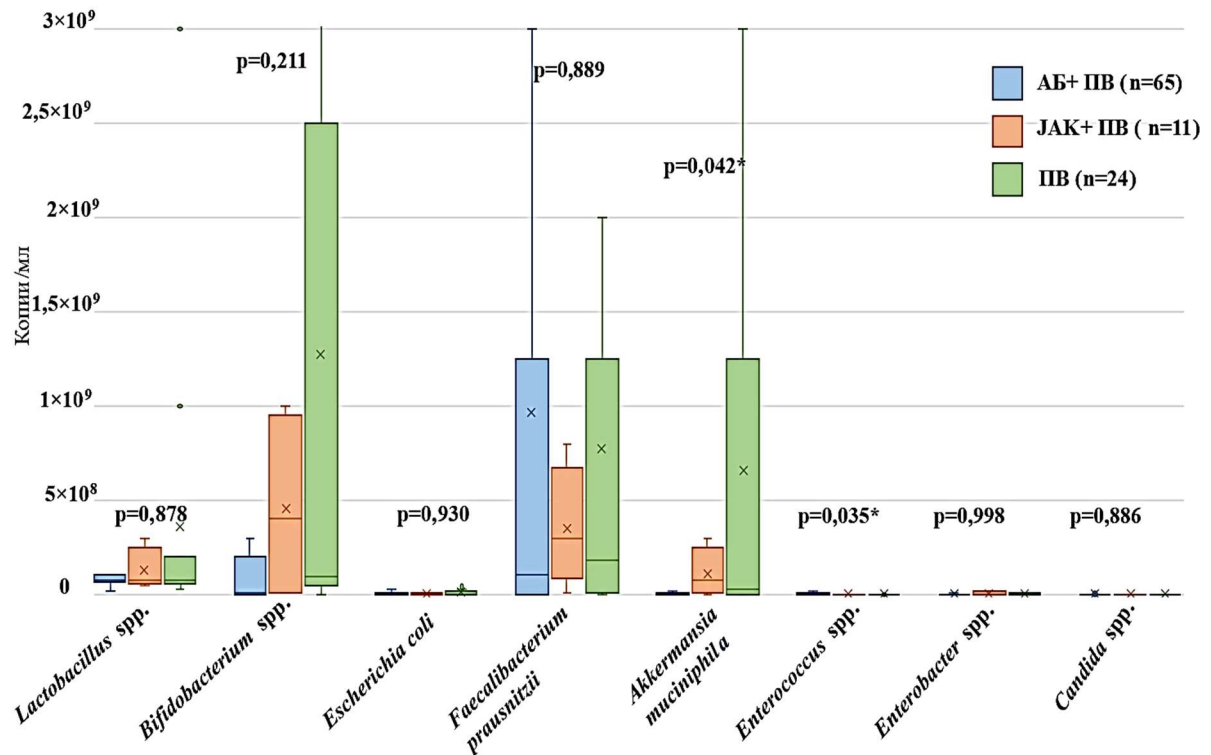


Рисунок 52. Сравнительный анализ микробиоценоза кишечника в зависимости от схем лечения COVID-19 в стационаре

Примечание: АБ – антибактериальная терапия; ПВ – противовирусная терапия; ИЯК – ингибиторы янус-киназ

Следует подчеркнуть, что на количество копий ключевых представителей симбиотической флоры — таких как *Bifidobacterium spp.* (p=0,211), *Lactobacillus spp.* (p=0,878) и *Faecalibacterium prausnitzii* (p=0,889) — проводимая антибактериальная терапия статистически значимого влияния не оказывает.

В рамках исследования также оценивалось влияние применявшихся схем терапии на развитие осложнений COVID-19, в частности пневмонии (Таблица 25).

Статистически значимых различий между группами по частоте развития воспаления легких в зависимости от назначенной терапии на амбулаторном этапе не выявлено.

Таблица 25. Схемы терапии COVID-19 среднетяжелого течения на амбулаторном этапе в зависимости от наличия пневмонии у пациентов

Показатель	Группы	Частота назначения	OR/RR (95% ДИ)	p
АБ амбулаторно	Пневмония	31,7%	OR: 2,579; 95% ДИ: 0,980 – 6,788 RR: 2,079; 95% ДИ: 0,981 – 4,403	0,084
	Нет	15,3%		
ПВ амбулаторно	Пневмония	17,1%	OR: 0,898; 95% ДИ: 0,316 – 2,553 RR: 0,916; 95% ДИ: 0,388 – 2,164	1,000
	Нет	18,6%		
Нет терапии	Пневмония	53,7%	OR: 2,134; 95% ДИ: 0,927 – 4,909 RR: 1,608; 95% ДИ: 0,957 – 2,702	0,072
	Нет	71,2%		

Примечание: АБ – антибактериальная терапия; ПВ – противовирусная терапия

6.2. Обоснование оптимизации тактики ведения пациентов с COVID-19

Современные исследования подтверждают, что пробиотики восстанавливают стабильность микробиоценоза кишечника за счёт взаимодействия и согласованной работы врожденного и адаптивного иммунитета кишечника. Иммунный баланс кишечника, предположительно, влияет на иммунитет лёгких через «ось кишечник-легкие», что связано с нарушением регуляции иммунного ответа через цитокиновый механизм, затрагивающий как дыхательную систему, так и желудочно-кишечный тракт. Признание микробиома человека как биологической системы открыло новые возможности, способные значительно влиять на здоровье и болезни [34, 92, 98].

Полученные результаты исследования свидетельствуют о существенных связях между иммунологическими биомаркёрами воспаления и бактериальными компонентами кишечника, демонстрируя системный характер воспалительного процесса при COVID-19 и его влияние на микробиоценоз кишечника. Корреляции иммунного воспаления с различными представителями клинико-лабораторными проявлениями COVID-19 с разной направленностью и силой подтверждают патогенетическую значимость взаимодействий между иммунной системой и

микробиоценозом пациента. В периоде реконвалесценции (в день выписки) участникам исследования выдавали исследуемый пробиотический препарат (Ковирвин (AB21 D+), который надо было принимать по одной капсуле перорально ежедневно с 1-го по 30-й день утром во время еды.

Для более полной оценки переносимости и эффективности пробиотического продукта были разработаны опросник пациента и подобрана оценочная шкала тревоги и депрессии (HADS), которые заполнялись пациентом на приеме у врача перед началом курса и через 1 месяц после терапии. План обследования через месяц от начала приема препарата включал кроме опросника контроль динамики всех контролируемых клинико-лабораторных показателей:

- клинический, биохимический, иммунологический анализ крови;
- бактериологическое и ПЦР исследование кала на дисбактериоз;
- заполнения опросника и оценка наличия и выраженности проявлений тревоги и депрессии (шкала HADS).

В ходе исследования показано, что в период реконвалесценции COVID-19 среднетяжелого течения в 88% случаев отмечается выраженная астенизация, более чем у половины мышечные боли, ломота и боли в суставах, в 42% случаев снижения 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 выявляются у 21,5% пациентов.

Данные пациентов по опроснику в периоде реконвалесценции и в динамике на фоне терапии представлены на рисунке (Рисунок 53). Отмечено, что прием пробиотического комплекса улучшает течение периода реконвалесценции и ускоряет восстановление с нормализацией показателей иммунного воспаления. Так, достоверно быстрее купируются клинические постинфекционные проявления: кашель (7,1% против 17,6% до терапии), слабость (36,8% против 70,6%), тошнота

(7,1% против 23,5%), боль и дискомфорт в животе (2,4% против 20,6%), тревога (11,9% против 36,8%). В то же время отсутствие приема пробиотика ухудшает период восстановления после перенесенной коронавирусной инфекции.

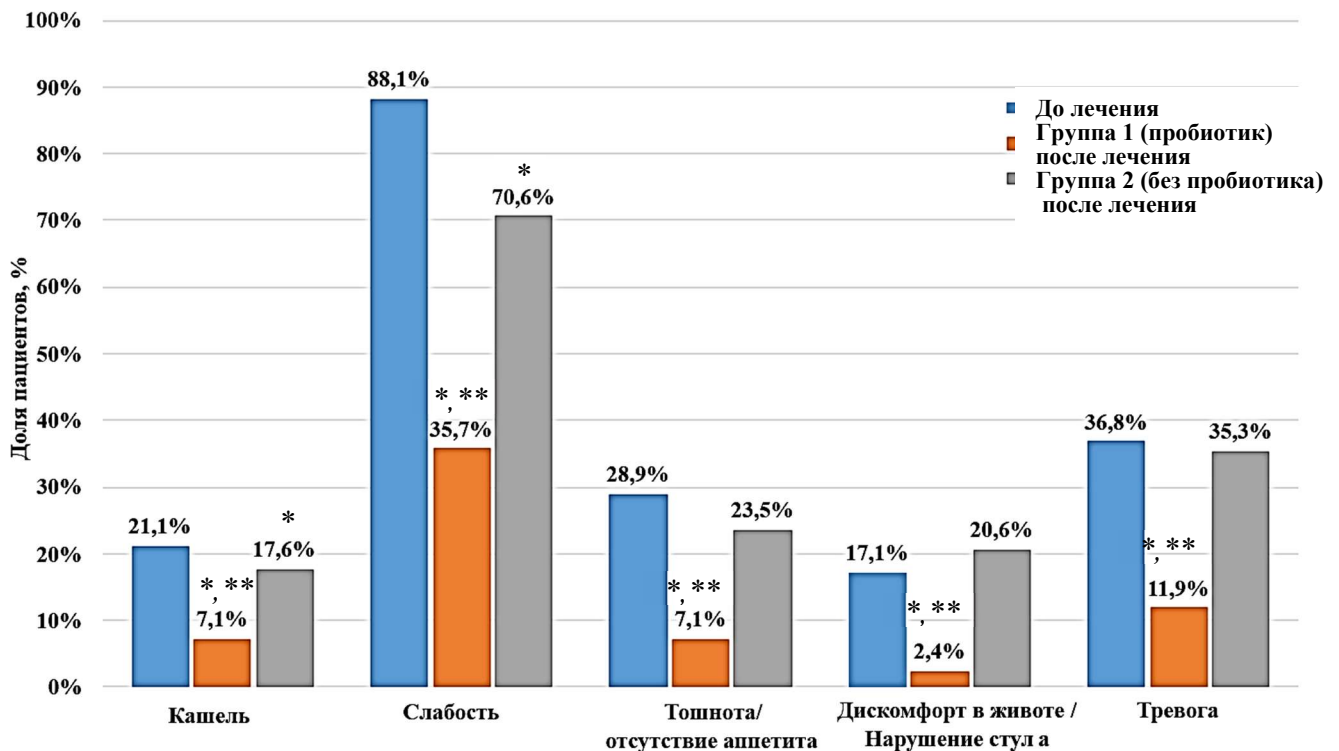


Рисунок 53. Анализ динамики симптомов у реконвалесцентов COVID-19 в группах сравнения

*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 индекса соотношения тромбоцитов к лимфоцитам (ТЛИ), а также ключевых индексов системного воспаления, включая CLR, SIRI, SII и AISI, показал, что назначение пробиотического комплекса не оказывало существенного влияния на большинство изучаемых параметров. Значения этих индексов оставались сопоставимыми в обеих группах и не демонстрировали статистически значимых изменений. Исключением оказался индекс соотношения лимфоцитов к моноцитам (ИСЛМ): у пациентов, получавших пробиотический комплекс, отмечалось достоверное улучшение данного показателя

($p=0,029$), что может свидетельствовать о благоприятном влиянии пробиотической терапии на клеточные компоненты иммунного ответа. А также у пациентов, получавших терапию, отмечено достоверное снижение выраженности системной воспалительной реакции, что выражается в уменьшении уровней хемокинов MIP-1 α ($p < 0,001$), MIP-1 β ($p < 0,001$) и цитокина IL-12 ($p=0,027$). Полученные результаты подтверждают взаимосвязь между состоянием микробиоценоза кишечника и иммунным ответом, а также демонстрируют иммуномодулирующее действие пробиотиков, направленное на коррекцию системных нарушений и снижение воспалительного стресса при COVID-19. Результаты исследования представлены в таблице (Таблица 26).

Применение пробиотического комплекса не только оказывает значимое влияние на качество жизни реконвалесцентов, уменьшает иммунное воспаление, но и способствует нормализации таксономического состава микробиоценоза кишечника. Это подтверждается результатами ПЦР-анализа и микробиологического исследования, согласно которым у пациентов, получавших Ковирвин (AB21 D+), формируется более благоприятный микробный профиль, чем у лиц без пробиотической поддержки (Таблица 27, Таблица 28).

По данным ПЦР исследования микробиоценоза толстой кишки установлено, что в группе после лечения отмечалась тенденция к более высоким уровням основных симбионтов — *Lactobacillus* spp., *Faecalibacterium prausnitzii*, а также к снижению доли условно-патогенных микроорганизмов, преимущественно *Enterobacter* spp. и *Enterococcus* spp., при этом *Bifidobacterium* spp. достоверно выше у пациентов, получавших Ковирвин ($p=0,050$) (Таблица 27). Микробиологический метод показывает, что терапия с использованием пробиотического комплекса способствует восстановлению микробного баланса и формированию более устойчивого эубиотического состояния кишечного микробиоценоза, что проявляется тенденцией к увеличению численности представителей облигатной симбиотической флоры (Таблица 28).

Таблица 26. Сравнительный анализ динамики иммунологических показателей и гематологических индексов в зависимости от приема Ковирвина (AB21 D+)

Показатель	В момент выписки (n=76)			Группа 1 (n=42) после лечения			Группа 2 (n=34) без лечения			p
	Me	Q ₁ – Q ₃ (копии/мл)	Частота выявленных нарушений %	Me	Q ₁ - Q ₃ (копии/мл)	Частота выявленных нарушений %	Me	Q ₁ – Q ₃ (копии/мл)	Частота выявленных нарушений %	
MIP-1α	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
MIP-1β	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
ИСЛМ	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

Таблица 27. Показатели микробиоценоза кишечника методом ПЦР у реконвалесцентов COVID-19 на фоне приема Ковирвина (AB21D+)

Показатель	В момент выписки (n=76)			Группа 1 (n=42) после лечения			Группа 2 (n=34) без лечения			p
	Me	Q ₁ – Q ₃ (копии/мл)	Частота выявленных нарушений %	Me	Q ₁ - Q ₃ (копии/мл)	Частота выявленных нарушений %	Me	Q ₁ – Q ₃ (копии/мл)	Частота выявленных нарушений %	
<i>Lactobacillus</i> spp.	$8,0 \times 10^7$	$6,25 \times 10^7$ – $1,0 \times 10^8$	12,5 % ↑ нормы	$1,0 \times 10^8$	$7,5 \times 10^7$ – $2,0 \times 10^8$	9,8 % ↑ нормы	$2,5 \times 10^7$	$3,25 \times 10^7$ – $1,0 \times 10^8$	13,5 % ↑ нормы	p1=0,250 p2=0,156 p3=0,150
<i>Bifidobacterium</i> spp.	$2,5 \times 10^7$	$2,0 \times 10^6$ – $3,75 \times 10^8$	83,3% ↓ нормы	$3,1 \times 10^8$	$2,4 \times 10^7$ – $1,1 \times 10^9$	59,5% ↓ нормы	$9,0 \times 10^6$	$1,0 \times 10^6$ – $2,5 \times 10^8$	86,3% ↓ нормы	p1=0,050 p2=0,260 p3<0,001
<i>Escherichia coli</i>	$6,0 \times 10^5$	$2,0 \times 10^5$ – $1,0 \times 10^7$	54,1% ↓ нормы	$1,5 \times 10^6$	$2,8 \times 10^6$ – $1,1 \times 10^7$	31,8% ↓ нормы	$2,0 \times 10^6$	$2,9 \times 10^5$ – $1,0 \times 10^7$	51,4% ↓ нормы	p1=0,100 p2=0,280 p3=0,187
<i>Bacteroides</i> spp	$3,0 \times 10^9$	$6,25 \times 10^8$ – $1,0 \times 10^{10}$	16,6% ↓ нормы	$3,7 \times 10^9$	$6,8 \times 10^8$ – $2,0 \times 10^{10}$	9,4% ↓ нормы	$1,0 \times 10^9$	$3,2 \times 10^8$ – $1,0 \times 10^{10}$	10,6% ↓ нормы	p1=0,343 p2=0,250 p3=0,083
<i>Faecalibacterium</i> <i>prausnitzii</i>	$1,0 \times 10^8$	$4,5 \times 10^6$ – $1,0 \times 10^9$	45,8% ↓ нормы	$2,9 \times 10^8$	$3,9 \times 10^7$ – $1,0 \times 10^9$	28,6% ↓ нормы	$1,0 \times 10^7$	$4,1 \times 10^6$ – $1,0 \times 10^9$	34,8% ↓ нормы	p1=0,120 p2=0,157 p3=0,223
<i>Enterobacter</i> spp.	$1,0 \times 10^6$	$2,5 \times 10^5$ – $2,0 \times 10^6$	77,0% ↑ нормы	$1,0 \times 10^5$	$1,8 \times 10^5$ – $2,5 \times 10^6$	52,4% ↑ нормы	$8,0 \times 10^5$	$2,6 \times 10^5$ – $2,0 \times 10^6$	67,0% ↑ нормы	p1=0,120 p2=0,320 p3=0,280
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										

Таблица 28. Показатели микробиоценоза кишечника у реконвалесцентов COVID-19 на фоне приема Ковирвина (AB21 D+) (микробиологическим методом)

Показатель (копии/мл)	В момент выписки (n=76)			Группа 1 (n=42) после лечения			Группа 2 (n=34) без лечения			p
	Me	Q ₁ – Q ₃ (КОЕ/г)	Частота выявленных нарушений %	Me	Q ₁ – Q ₃ (КОЕ/г)	Частота выявленных нарушений %	Me	Q ₁ – Q ₃ (КОЕ/г)	Частота выявленных нарушений %	
<i>Lactobacillus</i> spp.	1,0×10 ⁴	0,0 – 1,0×10 ⁵	90,4 % ↓ нормы	1,0×10 ⁵	0,0– 1,0 ×10 ⁶	64,3% ↓ нормы	1,0×10 ⁴	0,0 – 1,0×10 ⁵	84,6% ↓ нормы	p1=0,153 p2=1,000 p3=0,187
<i>Bifidobacterium</i> spp	1,0×10 ⁵	0,0 – 1,0×10 ⁸	78,5% ↓ нормы	1,0×10 ⁶	1,0× 10 ⁵ – 1,0 × 10 ⁸	52,4% ↓ нормы	1,0×10 ⁵	0,0 – 1,0×10 ⁷	65,4% ↓ нормы	p1=0,120 p2=0,453 p3=0,127
<i>Escherichia</i> <i>coli</i>	1,0×10 ⁴	1,0×10 ² -1,0×10 ⁶	88,0% ↓ нормы	1,0×10 ⁵	1,0×10 ⁴ - 1,0×10 ⁶	57,1% ↓ нормы	1,0×10 ³	1,0×10 ² - 1,0×10 ⁵	63,1% ↓ нормы	p1=0,150 p2=0,500 p3=0,087
<i>E. faecalis</i>	1,0×10 ³	0,0 – 1,0×10 ⁴	88,0% ↓ нормы	1,0×10 ⁴	1,0 × 10 ³ – 1,0 × 10 ⁶	45,2% ↓ нормы	1,0×10 ⁴	0,0 – 1,0×10 ⁵	58,6% ↓ нормы	p1=0,123 p2=0,157 p3=0,380
<i>E. faecium</i>	1,0×10 ⁴	0,0 – 1,0×10 ⁵	83,3% ↓ нормы	1,0×10 ⁵	1,0 × 10 ⁴ – 1,0 × 10 ⁶	54,8% ↓ нормы	1,0×10 ³	0,0 – 1,0×10 ⁵	64,8% ↓ нормы	p1=0,217 p2=0,182 p3=0,195
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										

Полученные результаты исследования показывают, что дисбиоз ослабляет иммунную защиту и способствует усилению системного воспаления и нарушению продукции цитокинов через механизм транслокации. Показано, что сама коронавирусная инфекция, сопровождается системным воспалением и любые схемы терапии (антибактериальные либо противовирусные препараты) усугубляют дисбиоз. Перспективным направлением считается использование препаратов для восстановления здорового микробиоценоза и смягчения иммунного ответа при COVID-19.

Изменение микробиоценоза кишечника (дисбиоз) и его связь с уровнем системного воспаления при COVID-19 является ключевым аспектом патогенеза болезни, а обратное влияние иммунного воспаления на микробиоценоз кишечника проявляется высоким уровнем маркеров системного иммунного воспаления, прием лекарств (особенно антибиотиков) усугубляет дисбиоз, замыкая порочный круг. Клинически значимые маркеры иммунного воспаления имеют выраженные корреляции с клинико-лабораторными показателями указывают на системность иммунного воспалительного ответа, что требует дальнейшего изучения, но подчеркивает сложность иммуно-микробного взаимодействия, характеризующегося двунаправленной связью между микробиоценозом кишечника и иммунным воспалением при COVID-19. Это подчеркивает важность применения пробиотических комплексов для коррекции дисбиоза как перспективного направления оптимизации тактики ведения пациентов, способствующий ускоренной реабилитации и профилактики постковидного синдрома.

Результаты исследования позволили научно обосновать и разработать алгоритм тактики ведения пациентов с COVID-19 для восстановления микробиоценоза, нормализации системного воспаления и поддержки иммунной защиты у пациентов (Рисунок 54).

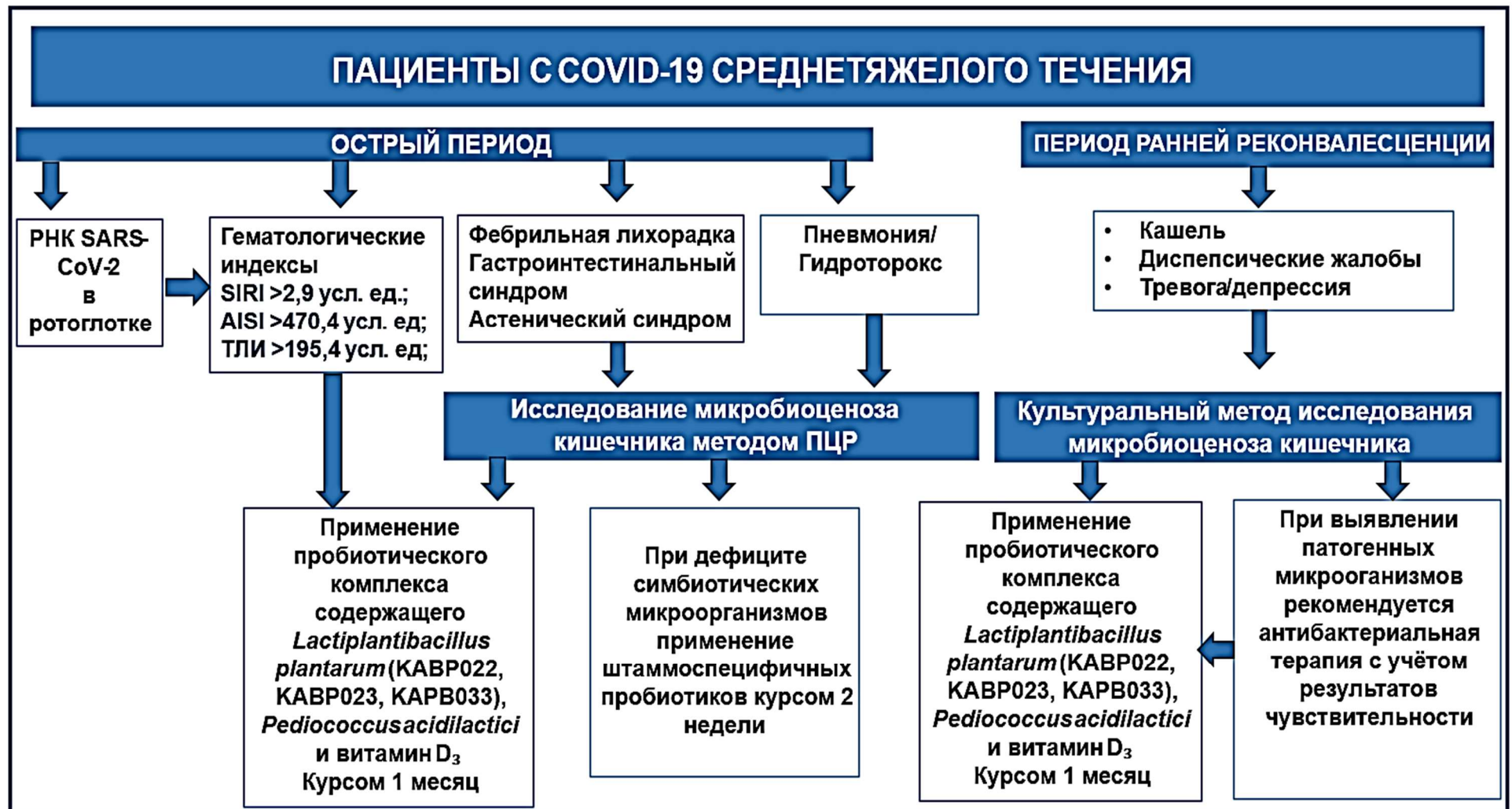


Рисунок 54. Алгоритм тактики ведения пациентов с COVID-19

На основании проведённого исследования разработан алгоритм персонализированного подхода к ведению пациентов с COVID-19 среднетяжелого течения. 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 жалобами рекомендуется исследование бактериального состава кишечника микробиологическим методом. При выявлении нарушений микробного баланса показано назначение пробиотического комплекса курсом по 1 капсуле в день на протяжении 30 дней. При обнаружении патогенной флоры или избыточного роста условно-патогенной флоры требует курса противомикробной терапии с учётом результатов чувствительности микроорганизмов к препаратам (антибиотикам, бактериофагам, противогрибковым препаратам)

Таким образом, в ходе исследования показано, что у пациентов с COVID-19 выраженность системного воспаления взаимосвязана с нарушением микробиоценоза кишечника. Терапия в стационаре, включающая противовирусные и антибактериальные препараты, сопровождается снижением численности *Akkermansia muciniphila* ($p=0,042$) и увеличением *Enterococcus* spp. ($p=0,035$). Применение пробиотического комплекса приводит к достоверному улучшению микробиологических и иммунологических показателей: снижаются уровни провоспалительных хемокинов и цитокинов ($MIP-1\alpha$ $p < 0,001$; $MIP-1\beta$ $p < 0,001$; $IL-12$ $p=0,027$), нормализуется интегральный гематологический индекс системного воспаления (ИСЛМ; $p=0,029$). По данным ПЦР-анализа, после курса терапии отмечается достоверное увеличение содержания *Bifidobacterium* spp. ($p=0,050$).

На фоне этих изменений улучшаются клинические проявления постинфекционного состояния: уменьшается выраженность кашля ($p=0,008$),

слабости, усталости и быстрой утомляемости ($p < 0,001$), снижается частота тошноты и потери аппетита ($p=0,004$), болей и дискомфорта в животе, нарушений стула ($p=0,016$), а также регистрируется снижение уровня тревоги ($p=0,002$) и депрессии ($p=0,031$) по шкале HADS.

Таким образом, полученные результаты подтверждают взаимосвязь системного воспаления и нарушения микробиоценоза кишечника при COVID-19 и демонстрируют, что применение пробиотического комплекса способствует восстановлению микробного баланса, снижению воспалительного ответа и улучшению качества жизни реконвалесцентов, выступая перспективным направлением профилактики и коррекции постковидного синдрома.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Всемирная организация здравоохранения объявила о начале пандемии COVID-19 11 марта 2020 года, а её официальное завершение было зафиксировано 5 мая 2023 года [22]. Несмотря на завершение пандемического этапа, заболевание сохраняет высокую медицинскую и социальную значимость в силу продолжающейся циркуляции омикрона и возможности появления новых генетических вариантов вируса, различающихся по вирулентности, тропности и патогенетическим характеристикам [1]. В этой связи особое значение приобретает углублённое изучение механизмов патогенеза, определяющих клиническое течение и исход COVID-19.

Современные научные данные всё более убедительно свидетельствуют о том, что кишечный микробиоценоз играет важнейшую роль в регуляции иммунного ответа и поддержании системного метаболического гомеостаза [9, 29, 72, 179, 208]. Нарушения микробиоценоза, в том числе дисбаланс между облигатной и условно-патогенной микрофлорой, ассоциированы с активацией провоспалительных сигнальных путей и дисфункцией иммунной системы. Это особенно важно при заболевании COVID-19, сопровождающегося «цитокиновым штормом» [26, 112, 117]. Растёт число работ, указывающих на связь между отдельными таксонами микроорганизмов, концентрацией провоспалительных медиаторов и тяжестью клинических проявлений заболевания [44, 196, 210]. Тем не менее, данные о клинико-патогенетической роли изменений кишечного микробиоценоза при COVID-19 остаются фрагментарными и часто противоречивыми. Недостаточно изучены особенности микробиоценоза кишечника в динамике у пациентов с различной вирусной нагрузкой в мазках со слизистой из носо/ротоглотки и в кале, взаимосвязь бактерий с иммунными маркёрами и клиническими проявлениями. Кроме того, требует обоснования возможность целенаправленной коррекции микробиоценоза как патогенетического подхода к лечению и реабилитации больных.

У пациентов с COVID-19 установлено, что на фоне снижения численности комменсальных бактерий наблюдается избыточный рост условно-патогенной

флоры, а также выявляется присутствие патогенных микроорганизмов. При поступлении выявлено значительное снижение комменсальных бактерий *Bifidobacterium* spp (80%), *Escherichia coli* (34%), *Faecalibacterium prausnitzii* (30 %) и увеличение условно-патогенных *Enterobacter* spp. (81%), *Clostridium difficile* (14 %), *Candida* spp. (8%). Стоит отметить, что лидирующими условно-патогенными бактериями, уровень которых превышает норму у пациентов исследуемой группы, были представители семейства *Enterobacteriaceae*, которые, как известно, вырабатывают эндотоксины, подавляющие синтез белка в эпителиальных клетках и способствующие повреждению лёгких [198].

Динамическое наблюдение в периоде реконвалесценции показало достоверное усугубление дисбиотических изменений: отмечается дальнейшее снижение численности симбионтной микрофлоры при сохранении или незначительном снижении уровня условно-патогенных микроорганизмов: достоверно снижается содержание *Bifidobacterium* spp. ($p = 0,047$), *Faecalibacterium prausnitzii* ($p = 0,021$), *Escherichia coli* ($p = 0,012$) и *Enterococcus faecalis* ($p = 0,049$), при этом отмечается повышение уровня *Enterococcus* spp. ($p = 0,003$). Полученные данные согласуются с результатами отечественных и зарубежных исследований [4, 5, 9, 12, 16, 23, 60, 125]. А также у пациентов с COVID-19 установлено снижение α -разнообразия микробиоценоза кишечника, что отражает обеднение таксономического состава [84]. При этом индекс колонизационной резистентности у большинства больных находится в пределах нормы либо отражает относительное преобладание микроорганизмов, ассоциированных с её повышением. Данный результат может объясняться особенностями контингента, включавшего преимущественно пациентов без признаков тяжёлого течения заболевания.

Отдельного внимания заслуживают различия в численности *Lactobacillus* spp., выявленные в зависимости от применяемого метода. Так, при ПЦР-исследовании снижение уровня *Lactobacillus* spp. не зафиксировано ни у одного пациента, а у 15% их содержание превышает референсные значения. Между тем при бактериологическом посеве этих же образцов снижение численности *Lactobacillus* spp. отмечено у 85% пациентов. Эти различия, вероятно, обусловлены

методологическими особенностями. ПЦР детектирует ДНК как живых, так и мёртвых клеток, а также бактерий в метаболически неактивном состоянии, которые не растут на питательных средах. Кроме того, многие виды лактобактерий имеют высокие требования к составу среды и условиям инкубации, что может ограничивать их рост при посеве. ПЦР обычно отражает относительное содержание бактериальной ДНК, поэтому при снижении общей бактериальной массы доля лактобактерий может казаться выше, даже если их абсолютное количество не увеличилось, тогда как посев определяет именно число жизнеспособных клеток. Исследования, посвящённые *Lactobacillus* spp. у пациентов с COVID-19, также демонстрируют противоречивые результаты. Некоторые авторы отмечают снижение или полное отсутствие лактобацилл [40, 47, 62], тогда как другие указывают на их повышение [51, 53, 201].

В настоящее время отсутствуют данные о взаимосвязи между изменениями микробиоценоза кишечника и уровнем вирусной нагрузки SARS-CoV-2 в респираторном тракте. Впервые нами проведён подобный анализ, который показал, что у большинства пациентов (57%) при поступлении регистрируется низкая вирусная нагрузка в ротоглотке ($<5 \times 10^4$ ГЭ/мл). Эта группа характеризовалась более поздней госпитализацией с момента появления симптомов и большей длительностью заболевания на момент включения в исследование, что сопровождается более выраженными нарушениями состава микробиоценоза кишечника. У таких пациентов отмечается достоверно более выраженное снижение численности *Bifidobacterium* spp. ($p = 0,032$), *E. coli* ($p = 0,004$), *Faecalibacterium prausnitzii* ($p = 0,034$), *Enterobacter* spp. ($p = 0,031$) и одновременный рост *Enterococcus* spp. ($p = 0,006$).

Результаты корреляционного анализа подтвердили выявленные различия: *Escherichia coli* ($r = -0,372$; $p = 0,015$) и *Candida* spp. ($r = -0,403$; $p = 0,012$) в остром периоде, а также *Akkermansia muciniphila* ($r = 0,437$; $p = 0,014$) и *Enterococcus* spp. ($r = -0,372$; $p = 0,039$) в период реконвалесценции значимо ассоциируются с вирусной нагрузкой. В то же время у пациентов со средней вирусной нагрузкой (43%) госпитализация происходила на более ранних сроках болезни, что

сопровождалось меньшими изменениями микробного состава и сохранением более высокого уровня *Akkermansia muciniphila* ($p = 0,014$).

Таким образом, полученные данные позволяют предположить, что более выраженные нарушения микробиоценоза у пациентов с низкой вирусной нагрузкой обусловлены не столько количеством вируса на момент госпитализации, сколько длительностью его персистенции в организме и выраженностью иммунного ответа. Пациенты с более высокой вирусной нагрузкой поступали раньше, быстрее достигали отрицательного результата ПЦР и выписывались, тогда как у больных с низкой нагрузкой SARS-CoV-2 сохранялся дольше вследствие более поздней госпитализации и затяжного течения заболевания. В результате именно продолжительное присутствие вируса, а не его исходная концентрация, могло оказывать более выраженное повреждающее влияние на микробиоценоз кишечника. Эти наблюдения согласуются с опубликованными данными, свидетельствующими о постепенном снижении концентрации SARS-CoV-2 по мере течения болезни, что отражает динамику элиминации вируса из дыхательных путей и других тканей, при этом у пациентов с более тяжёлым течением его выделение сохраняется дольше [176, 190, 219].

Поскольку SARS-CoV-2 способен персистировать не только в верхних дыхательных путях, но и в кишечнике, представляло интерес оценить взаимосвязь вирусной нагрузки в кале с микробным составом. Доля пациентов с положительным результатом ПЦР на SARS-CoV-2 в кале составляет в остром периоде (22%) и в периоде реконвалесценции (21%), после элиминации вируса из респираторного тракта, что согласуется с данными недавнего систематического обзора [163]. Корреляционный анализ показал, что уровень *E. faecium* ($r = -0,421$; $p = 0,005$) и *E. faecalis* ($r = -0,304$; $p = 0,050$) в остром периоде обратно коррелируют с количеством РНК SARS-CoV-2 в кале при выписке. Кроме того, индексы разнообразия Шеннона ($r = -0,315$; $p = 0,029$) и Симпсона ($r = 0,306$; $p = 0,034$) в периоде реконвалесценции статистически значимо ассоциируются с уровнем вирусной РНК, что подтверждает связь между снижением микробного разнообразия и нахождением SARS-CoV-2 в кишечнике. Эти изменения могут быть

обусловлены прямым действием вируса: SARS-CoV-2 инфицирует энтероциты через рецепторы ACE2, вызывает образование синцитиев и разрушение эпителия, а также активирует врождённый и адаптивный иммунный ответ. В совокупности это приводит к воспалению и нарушению барьерной функции кишечника, что способствует дисбиозу и поддержанию вирусной репликации в кишечной среде [66].

Ранее в исследованиях было показано, что состав микробиоценоза кишечника влияет на репликацию SARS-CoV-2 в энтероцитах. *Bacteroides* (*B. dorei*, *B. thetaiotaomicron*, *B. massiliensis*, *B. ovatus*) препятствует проникновению вируса через ACE2, оказывая потенциально защитное действие [126], тогда как представители рода *Erysipelotrichaceae* прямо коррелируют с вирусной нагрузкой, создавая провоспалительную среду [47, 88]. Наше исследование согласуется с работами коллег, в которых показано, что положительный анализ кала на РНК SARS-CoV-2 сопровождается снижением микробного разнообразия, увеличением условно-патогенных бактерий и уменьшением симбиотических микроорганизмов [35, 80]. В то же время следует подчеркнуть, что указанные исследования были выполнены до периода циркуляции геноварианта Omicron, тогда как наше исследование отражает особенности именно в этот эпидемиологический период.

Наряду с выявленными ассоциациями между микробиоценозом и вирусной нагрузкой, особое внимание заслуживает её связь с клиническими проявлениями и осложнениями COVID-19. Результаты проведённого исследования показали, что изменения состава микробиоценоза кишечника у пациентов с COVID-19 среднетяжелого течения оказывают достоверное влияние как на клиническое течение заболевания, так и на развитие осложнений, что подчёркивает их патогенетическое значение. Впервые выявлены статистически значимые взаимосвязи между характеристиками микробиоценоза и отдельными клиническими проявлениями, которые не только отражают текущий статус пациента, но и обладают прогностическим потенциалом. Так, лихорадка сопровождается более выраженным снижением уровня *Lactobacillus* spp. и показывает высокую прогностическую ценность (AUC = 0,764). Наличие

лихорадочного синдрома у пациентов сопровождалось более выраженным снижением альфа-разнообразия микробиоценоза кишечника, что проявлялось достоверно более низкими значениями индекса Шеннона и более высокими значениями индекса Симпсона, что подтверждается ROC-анализом ($AUC = 0,777$ и $AUC = 0,773$ соответственно). В работе Юлдашева М. Н., 2022 г. и зарубежных авторов ранее было установлено, что у пациентов с лихорадкой состав микробиома кишечника был значительно изменен по сравнению с пациентами без лихорадки. [11, 180]. Однако, прогностическая значимость показана в нашем исследовании впервые.

Следует подчеркнуть, что полученные результаты касаются не только лихорадочного синдрома, но и других клинических проявлений. Так, у пациентов с выраженной слабостью в остром периоде COVID-19 в фазе реконвалесценции выявлено повышение уровня *Enterobacter* spp. ($AUC = 0,665$; 95% ДИ: 0,509–0,821; $p = 0,047$). Представители этого рода могут усиливать воспалительный ответ за счёт продукции липополисахарида, что ведёт к эндотоксемии, нарушению клеточного энергетического обмена и проявлениям астенического синдрома [158]. Полученные результаты согласуются с данными проспективных клинических исследований, демонстрирующих длительное сохранение дисбиотических изменений микробиоценоза кишечника после перенесённого COVID-19. В частности, отмечено персистирующее увеличение *Enterobacteriaceae* при одновременном снижении количества симбиотических бактерий, что ассоциировано с поддержанием системного воспаления и нарушением регуляции оси «кишечник–мозг» [125]. Согласно полученным результатам, подобные сдвиги в составе микробиоценоза могут быть предикторами клинических проявлений постковидного синдрома.

У пациентов с диспепсическими проявлениями чаще регистрируется дефицит *Bifidobacterium* spp. ($AUC = 0,761$; $p = 0,009$), а диарея ассоциирована с уменьшением численности *Faecalibacterium prausnitzii* ($AUC = 0,823$; $p = 0,031$). Эти данные согласуются с наблюдениями Лазаревой Е.Н., 2025 г., где у пациентов с жалобами со стороны ЖКТ отмечались выраженные изменения бактериального

состава [23]. Таким образом, выявленные изменения микробиоценоза кишечника отражают патогенетическую значимость бактериального состава кишечника при COVID-19 и обладают прогностической ценностью в отношении появления гастроинтестинального синдрома у пациентов.

У пациентов с пневмонией на фоне COVID-19 наблюдаются более выраженные воспалительные реакции и значительные изменения в составе микробиоценоза кишечника. При поступлении у 41% пациентов выявлено поражение лёгочной ткани по данным КТ, из которых 17% имели вирусно-бактериальную пневмонию. У больных с пневмонией регистрируются признаки более выраженного системного воспаления: повышение тромбоцитов ($p = 0,027$), С-реактивного белка ($p = 0,007$), индекса CLR ($p = 0,038$) и ферритина ($p = 0,054$). В периоде реконвалесценции сохраняются статистически значимые различия по уровню лейкоцитов ($p = 0,026$), нейтрофилов ($p = 0,010$), моноцитов ($p = 0,042$), тромбоцитов ($p = 0,001$), индексов SII ($p = 0,032$) и AISI ($p = 0,028$). Эти воспалительные изменения сопровождаются характерными сдвигами в составе микробиоценоза кишечника: у пациентов с пневмонией индекс Шеннона достоверно ниже ($AUC = 0,693$; $p = 0,009$), индекс Симпсона — выше ($AUC = 0,675$; $p = 0,018$), реже выявляется *Akkermansia muciniphila* ($p = 0,031$), а в период реконвалесценции снижается содержание *Escherichia coli* ($p = 0,010$).

При вирусно-бактериальной пневмонии чаще определяется *Klebsiella pneumoniae* ($p = 0,013$), а в периоде реконвалесценции установлены более низкие уровни *Bifidobacterium* spp. ($AUC = 0,711$; $p = 0,026$) и *Escherichia coli* ($AUC = 0,713$; $p = 0,023$). У пациентов с гидротораксом выявлено повышение индекса *Bacteroides* spp./*Faecalibacterium prausnitzii* ($AUC = 0,761$; $p = 0,012$) и снижение *E. coli* в период реконвалесценции ($AUC = 0,771$; $p = 0,011$). Эти данные подтверждают существование оси «кишечник–лёгкие» и её влияние на воспалительные реакции и тяжесть заболевания. Согласно мета-анализу, изменения микробиоценоза кишечника могут оказывать влияние на исходы COVID-19, включая тяжесть заболевания и иммунный ответ организма [56]. В ходе исследования показано, что системное изучение изменений микробиоценоза кишечника и его связи с риском

развития пневмонии позволило выявить прогностические маркёры и определить группы риска осложненного течения COVID-19.

В исследовании Бурдаковой Е.А. и соавт., 2024г., показано, что интегральные гематологические индексы имеют прогностическое значение для бактериальной пневмонии у госпитализированных больных с COVID-19 [25]. В нашем исследовании установлено, что ИСЛМ снижен у 99% пациентов в остром периоде, в период реконвалесценции наблюдается положительная динамика по снижению, как доли пациентов с низким ИСЛМ, так и повышению самого индекса ($p < 0,001$). ТЛИ превышает норму у 51% при поступлении, не демонстрируя достоверных изменений при выписке ($p = 0,344$). Наиболее выраженное снижение показателей зафиксировано по индексам системного воспаления AISI, SIRI, SII и CLR, при этом наиболее значимая динамика отмечается по CLR - медиана снизилась в 6,5 раза ($p < 0,001$). В ходе исследования впервые установлено, что данные индексы имеют прогностическую значимость по состоянию микробиоценоза кишечника: так, SIRI (AUC = 0,731; 95% ДИ: 0,561–0,901; $p = 0,041$) и AISI (AUC = 0,772; 95% ДИ: 0,617–0,926; $p = 0,016$) предсказывают содержание *Bifidobacterium* spp. в периоде реконвалесценции; ТЛИ (AUC = 0,766; 95% ДИ: 0,581–0,950; $p = 0,010$) и SII (AUC = 0,737; 95% ДИ: 0,546–0,928; $p = 0,022$) прогнозируют наличие РНК SARS-CoV-2 в кале.

У пациентов с фебрильной лихорадкой ИСЛМ взаимосвязан с уровнем *Enterococcus faecalis* ($r = 0,613$; $p < 0,001$), а у пациентов с пневмонией AISI обратно коррелировал с содержанием *Lactobacillus* spp. ($r = -0,542$; $p = 0,009$), а концентрация ферритина — с численностью *Bacteroides* spp. ($r = 0,526$; $p = 0,030$). Повышение ИСЛМ сопровождается увеличением количества *E. faecalis* ($r = 0,569$; $p = 0,014$), тогда как высокий ТЛИ ассоциируется с их снижением ($r = -0,590$; $p = 0,010$). Индекс SIRI обратно коррелирует с содержанием *E. faecalis* ($r = -0,502$; $p = 0,034$), аналогичная зависимость установлена и для индекса SII ($r = -0,527$; $p = 0,025$). Полученные результаты расширяют представления о клинической значимости интегральных гематологических индексов. Если ранее их роль рассматривалась преимущественно в контексте прогнозирования исхода инфекции и риска бактериальных осложнений, то в нашем исследовании впервые показано,

что они ассоциированы также с составом микробиоценоза и динамикой его изменений в ходе COVID-19.

В ряде исследований была установлена взаимосвязь маркеров воспаления и бактерий [62, 117, 134]. Наши данные согласуются с этой картиной и расширяют её: мы обнаружили, что при поступлении концентрация D-димера положительно коррелирует с численностью *Enterococcus* spp. ($r = 0,688$; $p = 0,002$), а также с протромбиновым временем ($r = 0,631$; $p = 0,004$); фибриноген связан с содержанием *K. pneumoniae* ($r = 0,601$; $p = 0,007$); D-димер обратно коррелирует с количеством *Bifidobacterium* spp. ($r = -0,500$; $p = 0,041$). Эти результаты впервые демонстрируют прямые иммуно-микробиотные связи между маркерами коагуляции/воспаления и определёнными бактериальными родами при COVID-19, что подчёркивает потенциал использования таких показателей как прогностических маркёров не только тяжести, но и состава микробиоценоза кишечника.

В патогенезе COVID-19 ключевую роль играет избыточная выработка провоспалительных цитокинов, формирующая так называемый «цитокиновый шторм». В исследовании Гришаевой А.А. и соавт., 2022г., показано, что тяжёлые формы заболевания в большинстве случаев ассоциировалось со значительным повышением концентраций MIP-1 α и MIP-1 β в сыворотке крови, что позволяет рассматривать эти белки в качестве потенциальных маркёров неблагоприятного течения COVID-19 [15]. В других работах установлено, что уровень sCD14 положительно коррелировал с концентрацией зонулина, маркёра целостности кишечного барьера, а также с уровнем IL-6, что свидетельствует о возможности микробной транслокации даже при лёгких формах инфекции SARS-CoV-2 и её участии в развитии системного воспалительного ответа [185]. Важное значение имеет и IL-12, который, по данным недавних исследований, был повышен у пациентов с COVID-19 и рассматривался как компонент патогенетической активации макрофагально-дендритного звена иммунитета [207].

В нашем исследовании показано, что у пациентов с COVID-19 среднетяжелого течения в остром периоде заболевания иммунологические

показатели MIP-1 α (100%), MIP-1 β (100%), sCD14 (86%) и IL-12 (83%) многократно превышают референсные значения, причём высокая концентрация сохраняется у большинства пациентов и после клинического выздоровления ($p < 0,001$), за исключением sCD14 ($p > 0,05$). В период реконвалесценции медиана уровня sCD14 снижается, однако повышенные значения сохраняются почти у половины обследованных (47%; $p < 0,001$). Дополнительно установлено, что MIP-1 α значимо выше у пациентов среднего возраста ($p < 0,05$), MIP-1 β - у пожилых больных и при вирусно-бактериальной пневмонии ($p = 0,041$), концентрация IL-12 также оказалась выше у пациентов среднего возраста ($p < 0,05$).

Впервые проведённый ROC-анализ позволил выявить прогностическую значимость иммунных маркёров в отношении микробиоценоза кишечника: MIP-1 α (AUC = 0,847; $p = 0,003$) и MIP-1 β (AUC = 0,819; $p = 0,006$) в остром периоде предсказывали содержание *Lactobacillus* spp., выявленной микробиологическим методом, в реконвалесценцию. Также установлено, что в период реконвалесценции концентрации MIP-1 α и MIP-1 β отрицательно коррелируют с количеством *Bifidobacterium* spp. ($r = -0,587$; $p = 0,010$). Таким образом, наши результаты демонстрируют иммуно-микробиотные взаимосвязи, отражающие ось «кишечник–лёгкие» при COVID-19. Комплексное обследование, включающее анализ MIP-1 α , MIP-1 β , sCD14 и IL-12 в сопоставлении с профилем микробиоценоза кишечника, позволяет не только оценить степень макрофагальной активации, но и проследить роль бактерий в развитии системного воспаления. Полученные данные указывают на то, что маркёры могут обладать прогностической значимостью в отношении восстановления микробиоценоза кишечника и исходов COVID-19, что ранее в подобных исследованиях не демонстрировалось. Это подчёркивает новизну нашего исследования и расширяет представления о механизмах оси «кишечник–лёгкие» в патогенезе SARS-CoV-2-инфекции.

Опираясь на выявленную взаимосвязь между иммунологическими маркерами и таксономическим профилем микробиоценоза кишечника, следующим этапом анализа проведена оценка влияния терапии COVID-19 на микробиоценоз и иммунный статус пациентов, чтобы уточнить, являются ли обнаруженные

дисбиотические сдвиги следствием самой инфекции или дисбиоз кишечника модифицируются терапевтическими вмешательствами.

Ранее исследователями было показано, что ключевым фактором, нарушающим состояние кишечного микробиоценоза при COVID-19, является сам вирус SARS-CoV-2, тогда как назначаемая антибактериальная терапия лишь усугубляет уже имеющиеся сдвиги, способствуя дальнейшему нарушению микробного баланса и истощению его защитного потенциала [47, 50, 134]. В рамках нашего исследования установлено, что применение противовирусных и антибактериальных препаратов в стационаре сопровождается достоверным снижением численности *Akkermansia muciniphila* ($p=0,042$) и одновременным увеличением доли *Enterococcus* spp. ($p=0,035$), что указывает на углубление дисбиотических нарушений. В то же время количество копий ключевых представителей симбионтной микробиоты - *Bifidobacterium* spp. ($p=0,211$), *Lactobacillus* spp. ($p=0,878$) и *Faecalibacterium prausnitzii* ($p=0,889$) - статистически значимого изменения под влиянием проводимой терапии не демонстрирует. Кроме того, сравнительный анализ показателей пациентов, получавших различные схемы стационарной терапии, достоверных различий в гематологических показателях, уровнях MIP-1 α , MIP-1 β , sCD14, IL-12 и интегральных гематологических индексов системного воспаления не выявил.

Учитывая имеющиеся данные зарубежных исследователей, где сообщалось о благоприятном влиянии пробиотических вмешательств при COVID-19 в отдельных рандомизированных и наблюдательных работах, которые продемонстрировали положительную динамику клинических проявлений и иммунологических показателей. Эти работы показали перспективность микробиоценоз-ориентированных стратегий, однако в опубликованных работах чаще оценивались либо клинические параметры, либо отдельные микробиологические или иммунологические маркёры, что ограничивало понимание взаимосвязи между составом микробиоценоза, иммунным ответом и клинической картиной постинфекционного периода.

В связи с этим в нашем исследовании выполнен комплексный анализ: одновременно оценивались таксономический состав микробиоценоза кишечника методом ПЦР, уровни ключевых провоспалительных хемокинов и цитокинов (MIP-1 α , MIP-1 β , IL-12), показатель sCD14, интегральные гематологические индексы, а также клинические симптомы, включающая соматические проявления постинфекционного синдрома и показатели тревоги/депрессии. Применение пробиотического комплекса Ковирвин в когорте исследуемых пациентов ассоциировалось с достоверным улучшением лабораторных и клинических параметров: показано значимое снижение выраженности системного воспаления - уменьшение уровней MIP-1 α ($p < 0,001$), MIP-1 β ($p < 0,001$) и IL-12 ($p = 0,027$) и нормализация интегрального гематологического индекса системного воспаления (ИСЛМ; $p = 0,029$). По данным ПЦР-анализа (Колонофлор-16), после курса терапии регистрируется увеличение содержания *Bifidobacterium* spp. ($p = 0,050$), что рассматривается как маркер восстановления микробиоценоза и улучшения функционального состояния кишечной микрофлоры. На фоне перечисленных иммунологических и микробиологических сдвигов наблюдается выраженная положительная клиническая динамика у пациентов, получающих Ковирвин: достоверно уменьшается 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 снижение уровня тревоги ($p = 0,002$) и депрессии ($p = 0,031$) по шкале HADS. Совокупность полученных результатов, как подтверждает ранее выявленные преимущества пробиотических подходов, так и расширяет имеющиеся данные за счёт интеграции таксономического, иммунологического и клинико-психологического профилей пациентов.

В ходе диссертационного исследования разработан и предложен научно обоснованный метод патогенетической коррекции с применением комплексного пробиотического препарата для оптимизации тактики ведения пациента, что способствует восстановлению выявленных нарушений микробиоценоза кишечника и модуляции системного иммунновоспалительного ответа.

ВЫВОДЫ

1. 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 усиливался в группе с низкой вирусной нагрузкой. Обнаружение вируса SARS-CoV-2 в кале, преимущественно у пациентов молодого возраста (Me = 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 MIP-1 α ,

MIP-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 MIP-1 α > 85,5 пг/мл (AUC = 0,847; p = 0,003) и MIP-1 β > 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 MIP-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 MIP-1 α (Me = 129,3 пг/мл; Q1–Q3: 79,3 – 236,8 пг/мл) и MIP-1 β (Me = 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/КАРВ033 и *Pediococcus acidilactici* КАВР021. Предложенный метод оптимизации тактики ведения больных позволяет улучшить иммунологические показатели (MIP-1 α (p < 0,001), MIP-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 диспепсическим синдромами целесообразно проведение патогенетической терапии с применением пробиотического комплекса, содержащего *Lactiplantibacillus plantarum* (КАВР022, КАВР023, КАВР033), *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 ДАЛЬНЕЙШИХ НАУЧНЫХ РАБОТ

- 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 ИСПОЛЬЗУЕМЫХ СОКРАЩЕНИЙ

АБ – антибактериальная терапия

АГ – артериальная гипертензия

АЛТ – аланинаминотрансфераза

АСТ – аспартатаминотрансфераза

ВБП – вирусно–бактериальная пневмония

ВМР – временные методические рекомендации

ВОЗ – всемирная организация здравоохранения

ГБУЗ – государственное бюджетное учреждение здравоохранения

ГКС – глюкокортикостероиды

ДВС–синдром – синдром диссеминированного внутрисосудистого свертывания

ДИ – доверительный интервал

ДН – дыхательная недостаточность

ДНК – дезоксирибонуклеиновая кислота

ЖКТ – желудочно–кишечный тракт

ИБС – ишемическая болезнь сердца

ИКБ№2 – инфекционная клиническая больница №2

ИКР – индекс колонизационной резистентности

ИМТ – индекс массы тела

ИС– индекс Симпсона

ИСЛ – индекс сдвига лейкоцитов

ИСЛМ – индекс соотношения лимфоцитов и моноцитов

ИСНЛ – индекс соотношения нейтрофильных гранулоцитов и лимфоцитов

ИСНМ – индекс соотношения нейтрофильных гранулоцитов и моноцитов

ИФА – иммунофлюоресцентный анализ

ИШ – индекс Шеннона

ИЯК – ингибитор янус–киназ

КТ– компьютерная томография

ЛГИ – лимфоцитарно–гранулоцитарный индекс

ЛДГ – лактатдегидрогеназа

ЛПС – Липополисахарид
МКА – моноклональные антитела
НВН – низкая вирусная нагрузка
НИР – научно–исследовательская работа
ОП – острый период
ОРВИ – острая респираторная вирусная инфекция
ОРДС – острый респираторный дистресс–синдром
ОРИ – острые респираторные инфекции
ОСТ – отраслевой стандарт
ПВ – противовирусная терапия
ПВТ – противовирусная терапия
ПР – период реконвалесценции
ПЦР – обратнo–транскриптазная полимеразная цепная реакция
РНК – рибонуклеиновая кислота
СВН – средняя вирусная нагрузка
СД – сахарный диабет
СПП – сочетанная сопутствующая патология
СРБ – С–реактивный белок
ССС – сердечно–сосудистая система
США – Соединённые Штаты Америки
ТЛИ – тромбоцитарно – лимфоцитарный индекс
УЗИ – ультразвуковое исследование
ФБУН – федеральное бюджетное учреждение науки
ЦНИИ – центральный научно–исследовательский институт
ФМБА – федеральное медико–биологическое агентство
ХОБЛ – хроническая обструктивная болезнь легких
ЦНИИ – центральный научно–исследовательский институт
ЦНС – центральная нервная система
ЦСП – центр стратегического планирования и управления
ЧДД – частота дыхательных движений

ЧСС – частота сердечных сокращений

Эхо КГ – эхокардиография

ACE2 – ангиотензинпревращающий фермент 2 типа

AISI – совокупный системный индекс воспаления

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

CLR – отношение C-реактивного белка к лимфоцитам

CXCL – хемокиновый лиганд

IFN – интерферон

IL – интерлейкин

IP-10 – интерферон-гамма-индуцируемый белок 10

LGG – *Lactocaseibacillus rhamnosus* GG

MIG – монокин

MIP – макрофагальный белок воспаления

RR – относительный риск OR – отношение шансов

SARS-CoV-2 – Severe Acute Respiratory Syndrome-related CoronaVirus-2

SCFA – короткоцепочечные жирные кислоты

sCD14 – растворимая форма рецептора CD14

SII – индекс системного воспаления

SIRI – индекс системного воспалительного ответа

TNF- α – фактор некроза опухоли- α

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. COVID-19: эволюция пандемии в России. Сообщение II: динамика циркуляции геновариантов вируса SARS-CoV-2 / В.Г. Акимкин, А.Ю. Попова, К.Ф. Хафизов [и др.] // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. – 2022. – Т. 99. – № 4. – С. 381–396. – DOI 10.36233/0372-9311-295.
2. Ардатская, М. Д. Пробиотики, пребиотики и метабиотики в клинической практике: руководство для врачей / М. Д. Ардатская. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2024. – 264 с.
3. Ахмедов, В. А. COVID-19 и кишечная микробиота: учебное пособие / В.А. Ахмедов, О.В. Гаус. – М.: Прима Принт, 2022. – 72 с.: цв. ил. – ISBN 978-5-6046640-8-7.
4. Взаимодействие SARS-CoV-2 с кишечной микробиотой / О.В. Солдатова, И.Я. Горянская, Л.Э. Намазова, К.И. Абрамова // Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. – 2023. – № 220 (12). – С. 59–67. – DOI: 10.31146/1682-8658-esg-220-12-59-67.
5. Влияние пандемии COVID-19 на структуру микробиоценоза кишечника / Л.А. Битюмина, Н.Г. Куликова, А.А. Плоскирева, А.В. Горелов [и др.] // Эпидемиология и инфекционные болезни. – 2023. – № 2. – С. 70–75.
6. Возрастные аспекты изменения лейкоцитарных индексов при COVID-19 / И.В. Гребенникова, О.В. Лидохова, А.В. Макеева [и др.] // Научно-медицинский вестник Центрального Черноземья. – 2022. – № 87. – С. 9–15.
7. Всемирная организация здравоохранения. Информационная панель ВОЗ по COVID-19 [Электронный ресурс]. – URL: <https://covid19.who.int/> (дата обращения: 19.09.2025).
8. Гематологические интегральные показатели в оценке клеточной реактивности организма при коронавирусной инфекции COVID-19 / Р.М. Смолякова, Е.А. Козырева, Е.М. Шпадарук [и др.] // Экология. – 2021. – Т. 1. – С. 77–84.

9. Загадочная *Akkermansia muciniphila*. Что мы знаем о ней сегодня? / И.Н. Захарова, И.В. Бережная, Н.Ф. Дубовец [и др.] // Педиатрия. Consilium Medicum. – 2023. – № 1. – С. 74–80. – DOI: 10.26442/26586630.2023.1.202190.
10. Значение системных маркеров воспаления в оценке степени тяжести пациентов COVID-19 / С.П. Казаков, С.Б. Путков, В.П. Мудров [и др.] // Лабораторная медицина. – 2022. – № 13. – С. 7–14. – DOI: 10.58953/15621790-2022-13-7.
11. Изменения микробиоты кишечника и их связь с сывороточными биомаркерами у пациентов с COVID-19 среднетяжёлого течения с лихорадкой / М.Н. Юлдашев, М.С. Суюнова, Р.Р. Вейсова, Л.Н. Асанова // Медицина. Социология. Философия. Прикладные исследования. – 2022. – № 4. – С. 104–110.
12. Изменения микробиоты кишечника и их связь с тяжестью заболевания и некоторыми показателями цитокинового профиля у пациентов с COVID-19 / Л.Н. Гуменюк, М.В. Голод, Н.В. Силаева [и др.] // Вестник РГМУ. – 2022. – № 1. – С. 23–30. – DOI: 10.24075/vrgmu.2022.006.
13. Использование индексов биологического разнообразия для анализа микробиоты человека / А.С. Кройдер, М.В. Комарова // Медицина и фармакология. – 2022. – № 3 (86). – С. 27–31.
14. Кишечная микробиота: современные представления о видовом составе, функциях и методах исследования / А.А. Кожевников, К.В. Раскина, Е.Ю. Мартынова [и др.] // Русский медицинский журнал. – 2017. – № 17. – С. 1244–1247.
15. Макрофагальные белки воспаления как маркеры тяжелого течения COVID-19 / А.А. Гришаева, Ж.Б. Понежева, М.Д. Чанышев [и др.] // Эпидемиология и инфекционные болезни. Актуальные вопросы. – 2022. – № 1. – С. 35–38. – DOI: 10.18565/epidem.2022.12.1.35-8.
16. Методические рекомендации НСОИМ и РГА по применению пробиотиков, пребиотиков, синбиотиков, метабиотиков и обогащённых ими функциональных пищевых продуктов для лечения и профилактики заболеваний гастроэнтерологического профиля у взрослых и детей / В.Т. Ивашкин, А.В. Горелов, Д.И. Абдулганиева [и др.] // Российский журнал гастроэнтерологии,

гепатологии, колопроктологии. – 2024. – Т. 117. – № 3. – С. 12–31. – DOI: 10.22416/1382-4376-2024-117-312.

17. Микробиом кишечника: от эталона нормы к патологии / С.А. Шевелева, И.Б. Куваева, Н.Р. Ефимочкина, [и др.] // Вопросы питания. – 2020. – Т. 89. – № 4. – С. 35–51. – DOI: 10.24411/0042-8833-2020-10040.

18. Микробиом при новой коронавирусной инфекции (COVID-19) / А.В. Горелов, Д.В. Усенко // Педиатрия им. Г.Н. Сперанского. – 2022. – Т. 101. – № 3. – С. 149–156. – DOI: 10.24110/0031-403X-2022-101-3-149-156.

19. Микробиота кишечника как отдельная система организма / Ю.В. Юдина, А.А. Корсунский, А.И. Аминова [и др.] // Доказательная гастроэнтерология. – 2019. – Т. 8. – № 4. – С. 36–43. – DOI: 10.17116/dokgastro2019804-05136.

20. Микробный пейзаж у госпитальных больных с новой коронавирусной инфекцией COVID-19, сравнительная антибиотикорезистентность с «доковидным» периодом: проспективное исследование / М.Г. Авдеева, М.И. Кулбужева., С.В. Зотов [и др.] // Кубанский научный медицинский вестник. – 2021. – Т. 28. – № 5. – С. 14–28. – DOI 10.25207/1608-6228- 2021-28-5-14-28.

21. Министерство здравоохранения РФ. Профилактика, диагностика и лечение новой коронавирусной инфекции (COVID-19). Версия 17: временные методические рекомендации, 14.12.2022. – Москва: (б. и.), 2022. – 243 с.

22. Министерство иностранных дел Российской Федерации. Об отмене Генеральным директором Всемирной организации здравоохранения статуса пандемии COVID-19: сообщение для СМИ, 06.05.2023, № 877-06-05-2023 [Электронный ресурс]. – URL: https://www.mid.ru/ru/foreign_policy/news/1867841/ (дата обращения: 19.09.2025).

23. Особенности микробиома желудочно-кишечного тракта у больных COVID-19 / Е.Н. Лазарева, В.В. Малеев, Ж.Б. Понежева [и др.] // Лечащий врач. – 2025. – Т. 28. – № 3. – С. 51–57. – DOI: 10.51793/OS.2025.28.3.008.

24. ОСТ 91500.11.0004-2003. Протокол ведения больных. Дисбактериоз кишечника. – М.: Стандартиформ. – 58 с.

25. Оценка интегральных гематологических индексов у госпитализированных пациентов с COVID-19 / Е. А. Бурдакова, Н. С. Мартынова, Л. К. Алимова [и др.] // Эффективная фармакотерапия. – 2024. – Т. 20, № 11. – С. 22-26. – DOI 10.33978/2307-3586-2024-20-11-22-26
26. Патент № 2381504 С1 Российская Федерация, МПК G01N 33/48. Способ оценки состояния колонизационной резистентности микробиоценоза биотопа организма человека (варианты) : № 2008130937/15 : заявл. 29. 07. 2008: опубл. 10.02.2010 / А. В. Горелов, А. А. Плоскирева; заявитель Федеральное государственное учреждение науки Центральный научно-исследовательский институт эпидемиологии Роспотребнадзора РФ.
27. Патогенетические аспекты развития новой коронавирусной инфекции COVID-19 / И.А. Мисирова, И. Х. Борукаева, Л. Д. Карданова // Современные проблемы науки и образования. – 2023. – № 3. – С. 107. – DOI 10.17513/spno.32637.
28. Резолюция Совета экспертов «Дисбиоз. Ближайшие и отдаленные последствия нарушения микробиома и варианты их коррекции с помощью пробиотиков» / А.В. Горелов, И.Н. Захарова, А.И. Хавкин [и др.] // Вопросы практической педиатрии. – 2022. – Т. 17. – № 1. – С. 213–221. – DOI: 10.26442/26586630.2022.1.201535.
29. Стома И.О. Микробиом в медицине: руководство для врачей / И.О. Стома. – Москва: ГЭОТАР-Медиа, 2024. – 320 с.
30. Харченко Е.П. Коронавирус SARS-CoV-2: особенности структурных белков, контагиозность и возможные иммунные коллизии // Эпидемиология и вакцинопрофилактика. – 2020. – Т. 19. – № 2. – С. 13–30. – DOI: 10.31631/2073-3046-2020-19-2-13-30
31. Шайхутдинова А.А. Методы оценки биоразнообразия: методические указания / А.А. Шайхутдинова. – Оренбург: ОГУ, 2019. – 37 с.
32. Эволюция клинико-патогенетических особенностей коронавирусной инфекции COVID-19 / А.В. Горелов, А.А. Плоскирева, А.Д. Музыка // РМЖ. Медицинское обозрение. – 2022. – Т. 6. – № 11. – С. 626–634. – DOI: 10.32364/2587-6821-2022-6-11-626-634

33. Increased serum levels of sCD14 and sCD163 indicate a preponderant role for monocytes in COVID-19 immunopathology / J. Gómez-Rial, M.J. Currás-Tuala, I. Rivero-Calle, [et al.] // *Frontiers in Immunology*. – 2020. – T. 11. – Art. 560381. – DOI: 10.3389/fimmu.2020.560381.
34. Probiotic improves symptomatic and viral clearance in COVID-19 outpatients: a randomized, quadruple-blinded, placebo-controlled trial / P. Gutiérrez-Castrellón, T. Gandara-Martí, Y. Abreu, [et al.] // *Gut Microbes*. – 2022. – Vol. 14. – № 1. – Art. 2018899. – DOI: 10.1080/19490976.2021.2018899.
35. Taxonomical and functional changes in COVID-19 faecal microbiome could be related to SARS-CoV-2 faecal load / L. Grenga, O. Pible, G. Miotello, [et al.] // *Environmental Microbiology*. – 2022. – Vol. 24. – № 9. – P. 4299–4316. – DOI: 10.1111/1462-2920.16028..
36. A high-risk gut microbiota configuration associates with fatal hyperinflammatory immune and metabolic responses to SARS-CoV-2 / W.C. Albrich, T.S. Ghosh, S. Ahearn-Ford [et al.] // *Gut Microbes*. – 2022. – Vol. 14, № 1. – Art. 2073131. – DOI: 10.1080/19490976.2022.2073131.
37. A pro-inflammatory gut microbiome characterizes SARS-CoV-2 infected patients and a reduction in the connectivity of an anti-inflammatory bacterial network associates with severe COVID-19 / J. Reinold, F. Farahpour, C. Fehring, [et al.] // *Front Cell Infect Microbiol*. – 2021. – Vol. 11. – Art. 747816. – DOI: 10.3389/fcimb.2021.747816.
38. A synbiotic preparation (SIM01) for post-acute COVID-19 syndrome in Hong Kong (RECOVERY): a randomised, double-blind, placebo-controlled trial / R.I. Lau, Q. Su, I.S.F. Lau, [et al.] // *Lancet Infectious Diseases*. – 2024. – Vol. 24. – № 3. – P. 256–265. – DOI: 10.1016/S1473-3099(23)00685-0.
39. A systematic review and meta-analysis on blood levels of cytokines/chemokines in COVID-19 cases / M. Ramezani, H.N.F. Najafi, B. Sayad, [et al.] // *Gulhane Medical Journal*. – 2022. – Vol. 64, № 1. – P. 1–10. – DOI: 10.4274/gulhane.galenos.2021.25733.
40. A systematic review of gut microbiota profile in COVID-19 patients and among those who have recovered from COVID-19 / D.M. Simadibrata, E. Lesmana, J. Gunawan,

- [et al.] // *Journal of Digestive Diseases*. – 2023. – Vol. 24, № 4. – P. 244–261. – DOI: 10.1111/1751-2980.13195.
41. ACE2 links amino acid malnutrition to microbial ecology and intestinal inflammation / T. Hashimoto, T. Perlot, A. Rehman, [et al.] // *Nature*. – 2012. – Vol. 487. – № 7408. – P. 477–481. – DOI: 10.1038/nature11228.
42. Aggregate index of systemic inflammation (AIS), disease severity, and mortality in COVID-19: a systematic review and meta-analysis / A. Zinellu, P. Paliogiannis, A.A. Mangoni // *Journal of Clinical Medicine*. – 2023. – Vol. 12. – № 14. – Art. 4584. – DOI: 10.3390/jcm12144584.
43. Ahmed H., Elgohary N., Ibrahim M., et al. Favipiravir protects against sodium arsenite-induced intestinal injury via modulation of inflammatory and apoptotic pathways // *Environmental Toxicology and Pharmacology*. – 2023. – Vol. 105. – Art. 104240. – DOI: 10.1016/j.etap.2023.104240.
44. Akkermansia muciniphila and Faecalibacterium prausnitzii in Immune-Related Diseases / R.M.R.A. Effendi, M. Anshory, H. Kalim, [et al.] // *Microorganisms*. – 2022. – Vol. 10. – № 12. – Art. 2382. – DOI: 10.3390/microorganisms10122382.
45. Alterations in gut microbiome composition and increased inflammatory markers in post-COVID-19 individuals / T. Barichello, B. Kluwe-Schiavon, L.A. Borba, [et al.] // *Mol Neurobiol*. – 2025. – Vol. 62, № 6. – P. 8038–8047. – DOI: 10.1007/s12035-025-04769-w..
46. Alterations in Gut Microbiota Composition in Patients with COVID-19: A Pilot Study of Whole Hypervariable 16S rRNA Gene Sequencing / D. Mańkowska-Wierzbicka, J. Zuraszek, A. Wierzbicka, [et al.] // *Biomedicines*. – 2023. – Vol. 11. – № 2. – Art. 367. – DOI: 10.3390/biomedicines11020367.
47. Alterations in gut microbiota of patients with COVID-19 during time of hospitalization / T. Zuo, F. Zhang, G.C.Y. Lui, [et al.] // *Gastroenterology*. – 2020. – Vol. 159. – № 3. – P. 944–955. – DOI: 10.1053/j.gastro.2020.05.048.
48. Alterations of the Gut Microbiota in Patients With Coronavirus Disease 2019 or H1N1 Influenza / S. Gu, Y. Chen, Z. Wu, [et al.] // *Clinical Infectious Diseases*. – 2020. – Vol. 71. – № 10. – P. 2669–2678. – DOI: 10.1093/cid/ciaa709.

49. Altered gut microbiota composition in children and their caregivers infected with the SARS-CoV-2 Omicron variant / Y. Z. Wang, J. G. Zhou, Y. M. Lu, [et al.] // *World Journal of Clinical Pediatrics*. – 2023. – Vol. 19, № 5. – P. 478–488. – DOI: 10.1007/s12519-022-00659-6.
50. Altered gut microbiota patterns in COVID-19: markers for inflammation and disease severity / C. Chakraborty, A.R. Sharma, M. Bhattacharya, [et al.] // *World Journal of Gastroenterology*. – 2022. – Vol. 28. – № 25. – P. 2802–2822. – DOI: 10.3748/wjg.v28.i25.2802.
51. Altered oral and gut microbiota and its association with SARS-CoV-2 viral load in COVID-19 patients during hospitalization / Y. Wu, X. Cheng, G. Jiang, [et al.] // *NPJ Biofilms and Microbiomes*. – 2021. – Vol. 7, № 1. – Art. 61. – DOI: 10.1038/s41522-021-00232-5.
52. Analysis of SARS-CoV-2 isolates, namely the Wuhan strain, Delta variant, and Omicron variant, identifies differential immune profiles / S. Shahbaz, N. Bozorgmehr, J. Lu, [et al.] // *Microbiol Spectr*. – 2023. – Vol. 11. – № 5. – Art. e0125623. – DOI: 10.1128/spectrum.01256-23.
53. Analysis of the intestinal microbiota in COVID-19 patients and its correlation with the inflammatory factor IL-18 / W. Tao, G. Zhang, X. Wang, [et al.] // *Medical Microbiology*. – 2020. – Vol. 5. – Art. 100023. – DOI: 10.1016/j.medmic.2020.100023.
54. Angiotensin-converting enzyme 2: SARS-CoV-2 receptor and regulator of the renin-angiotensin system: celebrating the 20th anniversary of the discovery of ACE2 / M. Gheblawi, K. Wang, A. Viveiros, [et al.] // *Circulation Research*. – 2020. – Vol. 126. – № 10. – P. 1456–1474. – DOI: 10.1161/CIRCRESAHA.120.317015.
55. Association between antibiotics and gut microbiome dysbiosis in children: systematic review and meta-analysis / L. McDonnell, A. Gilkes, M. Ashworth, [et al.] // *Gut Microbes*. – 2021. – Vol. 13. – № 1. – P. 1–18. – DOI: 10.1080/19490976.2020.1870402.
56. Association between gut microbiota and pneumonia risk: a systematic review and Mendelian randomization / Q. Deng, Y. Liu, H. Rong, Q. Liu, R. Yang // *International Journal of Medical Sciences*. – 2025. – Vol. 22. – № 14. – P. 3511–3527. – DOI: 10.7150/ijms.114372.

57. Association between gut microbiota dysbiosis and poor functional outcomes in acute ischemic stroke patients with COVID-19 infection / J. Chen, X. Gao, J. Liang, [et al.] // *mSystems*. – 2024. – DOI: 10.1128/msystems.00185-24.
58. Bayesian modeling of multiple structural connectivity networks during the progression of Alzheimer's disease / C.B. Peterson, N. Osborne, F.C. Stingo, [et al.] // *Biometrics*. – 2020. – Vol. 76. – № 4. – P. 1120–1132. – DOI: 10.1111/biom.
59. Beneficial Bacteria in the Gut Microbiota May Lead to Improved Metabolic and Immunological Status in Chronic Obstructive Pulmonary Disease / F.C. Passos, L.M.G. Oliveira, F.R. Jesus, [et al.] // *Medical Science (Basel)*. – 2024. – Vol. 12. – № 3. – Art. 41. – DOI: 10.3390/medsci12030041.
60. Chronic inflammation in post-acute sequelae of COVID-19 modulates gut microbiome: a review of literature on COVID-19 sequelae and gut dysbiosis / N.T. Iqbal, H. Khan, A. Khalid [et al.] // *Molecular Medicine (Cambridge, Mass.)*. – 2025. – Vol. 31. – № 1. – Art. 22. – DOI: 10.1186/s10020-024-00986-6.
61. Clinical significance and diagnostic utility of NLR, LMR, PLR and SII in the course of COVID-19: a literature review / J.W. Kosidło, B. Wolszczak-Biedrzycka, J. Matowicka-Karna, [et al.] // *Journal of Inflammation Research*. – 2023. – Vol. 16. – P. 539–562. – DOI: 10.2147/JIR.S395331.
62. Clinical significance of the correlation between changes in the major intestinal bacteria species and COVID-19 severity / L. Tang, S. Gu, Y. Gong, [et al.] // *Engineering*. – 2020. – Vol. 6. – № 10. – P. 1178–1184. – DOI: 10.1016/j.eng.2020.05.013.
63. Combined systemic inflammatory indexes as reflectors of outcome in patients with COVID-19 infection admitted to ICU / A. Tahavvori, R. Mosaddeghi-Heris, F. Ghanbari Sevari // *Inflammopharmacology*. – 2023. – Vol. 31. – № 5. – P. 2337–2348. – DOI: 10.1007/s10787-023-01308-8.
64. Comprehensive analysis of gut microbiota of a healthy population and covariates affecting microbial variation in two large Japanese cohorts / J. Park, K. Kato, H. Murakami, [et al.] // *BMC Microbiology*. – 2021. – Vol. 21. – Art. 151. – DOI: 10.1186/s12866-021-02215-0.

65. Correlation analysis between gut microbiota alterations and the cytokine response in patients with coronavirus disease during hospitalization / T. Mizutani, A. Ishizaka, M. Koga, [et al.] // *Microbiology Spectrum*. – 2022. – Vol. 10. – № 2. – Art. e0168921. – DOI: 10.1128/spectrum.01689-21.
66. COVID-19 and gastrointestinal tract: from pathophysiology to clinical manifestations / F. Vernia, H. Ashktorab, N. Cesaro, [et al.] // *Medicina (Kaunas)*. – 2023. – Vol. 59, № 10. – Art. 1709. – DOI: 10.3390/medicina59101709.
67. COVID-19 and gastrointestinal tract: from pathophysiology to clinical manifestations / F. Vernia, H. Ashktorab, N. Cesaro, [et al.] // *Medicina (Kaunas)*. – 2023. – Vol. 59, № 10. – Art. 1709. – DOI: 10.3390/medicina59101709.
68. COVID-19 and Gut Injury / S. Shen, M. Gong, G. Wang, [et al.] // *Nutrients*. – 2022. – Vol. 14. – № 20. – Art. 4409. – DOI: 10.3390/nu14204409.
69. COVID-19 and the forgotten organ: prolonged changes to the metabolic output of the gut microbiome / M. Venzon, K. Cadwell // *Gastroenterology*. – 2022. – Vol. 162, № 2. – P. 394–396. – DOI: 10.1053/j.gastro.2021.11.017.
70. COVID-19 and the lungs: a review / W.L. Su, K.C. Lu, C.Y. Chan, Y.C. Chao // *Journal of Infection and Public Health*. – 2021. – Vol. 14. – № 11. – P. 1708–1714. – DOI: 10.1016/j.jiph.2021.09.024.
71. COVID-19 as a Trigger of Brain Autoimmunity / M. Gupta, D.F. Weaver // *ACS Chemical Neuroscience*. – 2021. – Vol. 12. – № 14. – P. 2558–251. – DOI: 10.1021/acscchemneuro.1c00403.
72. COVID-19 influenced gut dysbiosis, post-acute sequelae, immune regulation, and therapeutic regimens / S.T. Raj, A.W. Bruce, M. Anbalagan, [et al.] // *Front Cell Infect Microbiol*. – 2024. – Vol. 14. – Art. 1384939. – DOI: 10.3389/fcimb.2024.1384939.
73. COVID-19 modulates inflammatory and renal markers that may predict hospital outcomes among African American males / W. Fonseca, N. Asai, K. Yagi, [et al.] // *Viruses*. – 2021. – Vol. 13. – № 12. – Art. 2415. – DOI: 10.3390/v13122415.
74. COVID-19-associated encephalopathy: connection between neuroinflammation and microbiota-gut-brain axis / K. Duve, P. Petakh, O. Kamyshnyi // *Frontiers in Microbiology*. – 2024. – Vol. 15. – Art. 1406874. – DOI: 10.3389/fmicb.2024.1406874.

75. CovirVin.ru [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://covirvin.ru> (дата обращения: 19.09.2025).
76. Current understanding of antibiotic-associated dysbiosis and approaches for its management / D. Kesavelu, P. Jog // *Ther Adv Infect Dis*. – 2023. – Vol. 10. – Art. 20499361231154443. – DOI: 10.1177/20499361231154443.
77. Cytokine elevation in severe and critical COVID-19: a rapid systematic review, meta-analysis, and comparison with other inflammatory syndromes / D.E. Leisman, L. Ronner, R. Pinotti, [et al.] // *Lancet Respir Med*. – 2020. – Т. 8, № 12. – С. 1233–1244. – DOI: 10.1016/S2213-2600(20)30404-5.
78. Cytokine Storm: The Primary Determinant for Disease Severity and Mortality in COVID-19 / R. Chen, L. Sang, M. Jiang, [et al.] // *Front Immunol*. – 2021. – Vol. 12. – Art. 589095. – DOI: 10.3389/fimmu.2021.589095.
79. Decoding the bidirectional relationship between gut microbiota and COVID-19 / T. Ralli, Z. Saifi, A. Rathee, [et al.] // *Heliyon*. – 2023. – Vol. 9. – № 3. – Art. e13801. – DOI: 10.1016/j.heliyon.2023.e13801.
80. Depicting SARS-CoV-2 faecal viral activity in association with gut microbiota composition in patients with COVID-19 / T. Zuo, Q. Liu, F. Zhang, [et al.] // *Gut*. – 2021. – Vol. 70. – № 2. – P. 276–284. – DOI: 10.1136/gutjnl-2020-322294.
81. Detection of intestinal dysbiosis in post-COVID-19 patients one to eight months after acute disease resolution / A.S. Ferreira-Junior, T.F. Borgonovi, L.V.V. De Salis, [et al.] // *International Journal of Environmental Research and Public Health*. – 2022. – Vol. 19. – № 16. – Art. 10189. – DOI: 10.3390/ijerph191610189.
82. Diagnostic, prognostic, and therapeutic roles of gut microbiota in COVID-19: a comprehensive systematic review / Y. Farsi, A. Tahvildari, M. Arbabi, [et al.] // *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*. – 2022. – Vol. 12. – Art. 804644. – DOI: 10.3389/fcimb.2022.804644.
83. Diet-microbiota associations in gastrointestinal research: a systematic review / K. Duncanson, G. Williams, E.C. Hoedt, [et al.] // *Gut Microbes*. – 2024. – Vol. 16. – № 1. – Art. 2350785. – DOI: 10.1080/19490976.2024.2350785.

84. Dysbiosis of gut microbiota in patients with severe COVID-19 / K. Shimizu, H. Hirata, N. Tokuhira, [et al.] // *Acute Medicine & Surgery*. – 2024. – Vol. 11. – № 1. – Art. e923. – DOI: 10.1002/ams2.923.
85. Early evidence of pronounced brain involvement in fatal COVID-19 outcomes / C. Weyhern, I. Kaufmann, F. Neff, M. Kremer // *Lancet*. – 2020. – Vol. 395, № 10241. – P. e109. – DOI: 10.1016/S0140-6736(20)31282-4.
86. Early transmission dynamics in Wuhan, China, of novel coronavirus-infected pneumonia / Q. Li, X. Guan, P. Wu, [et al.] // *N Engl J Med*. – 2020. – Vol. 382. – № 13. – P. 1199–1207. – DOI: 10.1056/NEJMoa2001316.
87. Early-life interactions between the microbiota and immune system: impact on immune system development and atopic disease / K. Donald, B.B. Finlay // *Nature Reviews Immunology*. – 2023. – Vol. 23. – № 11. – P. 735–748. – DOI: 10.1038/s41577-023-00874-w.
88. Editorial: The gut microbiome and COVID-19 / T. Lin, J. Lin, A. Sims, [et al.] // *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*. – 2023. – Vol. 13. – Art. 1213346. – DOI: 10.3389/fcimb.2023.1213346.
89. Effect of bacteriocins on the intestinal microbiota: production by commensals and potential to inhibit pathogens / S.M. Dogan, H.I. Guler, B. Senturk, S. Ozdemir, K. Sahin // *Microorganisms*. – 2023. – Vol. 11. – № 11. – P. 2714. – DOI: 10.3390/microorganisms11112714.
90. Effects of common mutations in the SARS-CoV-2 spike RBD and its ligand, the human ACE2 receptor on binding affinity and kinetics / M.I. Barton, S.A. MacGowan, M.A. Kutuzov, [et al.] // *Elife*. – 2021. – Vol. 10. – Art. e70658. – DOI: 10.7554/eLife.70658.
91. Effects of *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* JCM5805 on colonization dynamics of gut microbiota and regulation of immunity in early ontogenetic stages of tilapia / Y. Xia, J. Cao, M. Wang, [et al.] // *Fish & Shellfish Immunology*. – 2019. – Vol. 86. – P. 53–63.
92. Efficacy of a multistrain synbiotic treatment in acute and post-acute COVID-19 patients: a double-blind, placebo-controlled randomized trial / M.L. Giancola,

- A. Fontana, C. Panebianco, [et al.] // *Microorganisms*. – 2024. – Vol. 12. – № 7. – Art. 1443. – DOI: 10.3390/microorganisms12071443.
93. Efficacy of probiotic treatment as post-exposure prophylaxis for COVID-19: a double-blind, placebo-controlled randomized trial / P.E. Wischmeyer, H. Tang, Y. Ren, [et al.] // *Clinical Nutrition*. – 2024. – Vol. 43, № 1. – P. 259–267. – DOI: 10.1016/j.clnu.2023.11.043.
94. Elevated Anti-SARS-CoV-2 Antibodies and IL-6, IL-8, MIP-1 β , Early Predictors of Severe COVID-19 / H. Codina, I. Vieitez, A. Gutierrez-Valencia, [et al.] // *Microorganisms*. – 2021. – Vol. 9. – № 11. – Art. 2259. – DOI: 10.3390/microorganisms9112259.
95. Ensembl genome browser [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <http://www.ensembl.org> (дата обращения: 28.05.2025).
96. Enterococcus and COVID-19: The Emergence of a Perfect Storm? / D.A. Тос, R.M. Mihaila, A. Botan, [et al.] // *International Journal of Translational Medicine*. – 2022. – Vol. 2. – P. 220–229. – DOI: 10.3390/ijtm2020020.
97. Evaluation of individual and combined NLR, LMR and CLR ratio for prognosis disease severity and outcomes in patients with COVID-19 / A. Ben Jemaa, N. Salhi, M. Ben Othmen, [et al.] // *International Immunopharmacology*. – 2022. – Vol. 109. – Art. 108781. – DOI: 10.1016/j.intimp.2022.108781.
98. Exploring the interplay between COVID-19 and gut health: the potential role of prebiotics and probiotics in immune support / M. Giovanetti, G. Pannella, A. Altomare, [et al.] // *Viruses*. – 2024. – Vol. 16. – № 3. – Art. 370. – DOI: 10.3390/v16030370.
99. Exploring the Pathoprofiles of SARS-COV-2 Infected Human Gut–Lungs Microbiome Crosstalks / S. Nandi, S. Ahmed, A. Saxena, [et al.] // In: V. Kothari, P. Kumar, S. Ray (eds). *Probiotics, Prebiotics, Synbiotics, and Postbiotics*. – Singapore: Springer, 2023. – P. 217–235. – DOI: 10.1007/978-981-99-1463-0_12.
100. Faecalibacterium: a bacterial genus with promising human health applications / R. Martín, D. Rios-Covian, E. Huillet, [et al.] // *FEMS Microbiology Reviews*. – 2023. – Vol. 47. – № 4. – Art. fuad039. – DOI: 10.1093/femsre/fuad039.

101. Gastrointestinal symptoms, pathophysiology, and treatment in COVID-19 / J. Zhang, S. Garrett, J. Sun // *Genes Dis.* – 2021. – Vol. 8. – № 4. – P. 385–400. – DOI: 10.1016/j.gendis.2020.08.013.
102. Genetic support of the causal association between gut microbiome and COVID-19: a bidirectional Mendelian randomization study / Z. Li, G. Zhu, X. Lei, [et al.] // *Front Immunol.* – 2023. – Vol. 14. – Art. 1217615. – DOI: 10.3389/fimmu.2023.1217615.
103. Global antimicrobial resistance and antibiotic use in COVID-19 patients within health facilities: a systematic review and meta-analysis of aggregated participant data / X. Li, S. Qiu, C. Liu, [et al.] // *Review.* – 2024. – Vol. 89. – Art. 1106183. – DOI: 10.1016/j.review.2024.1106183.
104. Global research production pertaining to gastrointestinal involvement in COVID-19: A bibliometric and visualised study / S.H. Zyoud, S.W. Al-Jabi, M.J. Shahwan, [et al.] // *World J Gastrointest Surg.* – 2022. – Vol. 14. – № 5. – P. 494–505. – DOI: 10.4240/wjgs.v14.i5.494.
105. Gut and airway microbiota dysbiosis and their role in COVID-19 and long-COVID / G. Ancona, L. Alagna, C. Alteri [et al.] // *Frontiers in Immunology.* – 2023. – Vol. 14. – Art. 1080043. – DOI: 10.3389/fimmu.2023.1080043.
106. Gut bacterial dysbiosis and instability is associated with the onset of complications and mortality in COVID-19: a prospective study / D. Schult, S. Reitmeier, P. Koyumdzhieva, [et al.] // *Gut Microbes.* – 2022. – Vol. 14. – № 1. – P. 1–12. – DOI: 10.1080/19490976.2022.2031840.
107. Gut Dysbiosis and IL-21 Response in Patients with Severe COVID-19 / M. Khan, B.J. Mathew, P. Gupta, [et al.] // *Microorganisms.* – 2021. – Vol. 9. – № 6. – Art. 1292. – DOI: 10.3390/microorganisms9061292.
108. Gut microbial signatures in long COVID: potential biomarkers and therapeutic targets / S. Oh, S. An, K. Park, [et al.] // *Infectious Diseases and Therapy.* – 2025. – Vol. 14. – № 7. – P. 1461–1475. – DOI: 10.1007/s40121-025-01167-6.
109. Gut microbiome alterations and gut barrier dysfunction are associated with host immune homeostasis in COVID-19 patients / Z. Sun, Z.G. Song, C. Liu, [et al.] // *BMC Medicine.* – 2022. – T. 20. – № 1. – C. 24. – DOI: 10.1186/s12916-021-02212-0.

110. Gut microbiome dysbiosis and immune activation correlate with somatic and neuropsychiatric symptoms in COVID-19 patients / P.L. Scalzo, A.G. Marshall, S. Soriano, [et al.] // J Transl Med. – 2025. – Vol. 23. – № 1. – P. 327. – DOI: 10.1186/s12967-025-06348-y.
111. Gut microbiome dysbiosis in antibiotic-treated COVID-19 patients is associated with microbial translocation and bacteremia / L. Bernard-Raichon, M. Venzon, J. Klein, [et al.] // Nature Communications. – 2022. – Vol. 13. – Art. 5926. – DOI: 10.1038/s41467-022-33395-6.
112. Gut microbiota and COVID-19: unraveling the gut–lung axis and immunomodulatory therapies / M.C.S. Alves, M.S. Rego, R.C.C.D. Silva [et al.] // ACS Infectious Diseases. – 2025. – Vol. 11, № 7. – P. 1844–1853. – DOI: 10.1021/acsinfecdis.5c00250.
113. Gut microbiota and its metabolic products in acute respiratory distress syndrome / D. Zhang, J. Lu, B. Dong, [et al.] // Frontiers in Immunology. – 2024. – Vol. 15. – Art. 1330021. – DOI: 10.3389/fimmu.2024.1330021.
114. Gut microbiota and metabolites in patients with COVID-19 are altered by the type of SARS-CoV-2 variant / Y. Yokoyama, M. Ichiki, R. Yamakawa, [et al.] // Frontiers in Microbiology. – 2024. – DOI: 10.3389/fmicb.2024.1358530.
115. Gut microbiota as a key regulator of intestinal mucosal immunity / J. Wang, M. He, M. Yang, X. Ai // Life Sciences. – 2024. – T. 345. – Art. 122612. – DOI: 10.1016/j.lfs.2024.122612.
116. Gut microbiota composition during hospitalization is associated with 60-day mortality after severe COVID-19 / M. Trøseid, J.C. Holter, K. Holm, [et al.] // Crit Care. – 2023. – Vol. 27. – № 1. – P. 69. – DOI: 10.1186/s13054-023-04356-2.
117. Gut microbiota composition is associated with disease severity and host immune responses in COVID-19 / R. Fan, S. Liu, N. Sun, [et al.] // Frontiers in Cellular and Infection Microbiology. – 2023. – Vol. 13. – Art. 1274690. – DOI: 10.3389/fcimb.2023.1274690..

118. Gut microbiota composition reflects disease severity and dysfunctional immune responses in patients with COVID-19 / Y. Yeoh, T. Zuo, G. Lui, [et al.] // *Gut*. – 2021. – Vol. 70, № 4. – P. 698–706. – DOI: 10.1136/gutjnl-2020-323020.
119. Gut Microbiota Diversity and C-Reactive Protein Are Predictors of Disease Severity in COVID-19 Patients / A. Moreira-Rosário, C. Marques, H. Pinheiro, [et al.] // *Frontiers in Microbiology*. – 2021. – Vol. 12. – Art. 705020. – DOI: 10.3389/fmicb.2021.705020.
120. Gut microbiota dynamics in a prospective cohort of patients with post-acute COVID-19 syndrome / Q. Liu, J. Mak, Q. Su, [et al.] // *Gut*. – 2022. – Vol. 71. – № 3. – P. 544–552. – DOI: 10.1136/gutjnl-2021-325989.
121. Gut microbiota dysbiosis correlates with long COVID-19 at one-year after discharge / D. Zhang, Y. Zhou, Y. Ma, [et al.] // *Journal of Korean Medical Science*. – 2023. – Vol. 38, № 15. – Art. e120. – DOI: 10.3346/jkms.2023.38.e120.
122. Gut microbiota dysbiosis in COVID-19: modulation and approaches for prevention and therapy / V.M. Martín Giménez, J. Modrego, D. Gómez-Garre, W. Manucha, N. de las Heras // *International Journal of Molecular Sciences*. – 2023. – Vol. 24. – Art. 12249. – DOI: 10.3390/ijms241512249.
123. Gut microbiota dysbiosis is associated with altered tryptophan metabolism and dysregulated inflammatory response in COVID-19 / M. Essex, B. Millet Pascual-Leone, U. Löber, [et al.] // *NPJ Biofilms Microbiomes*. – 2024. – Vol. 10, № 1. – Art. 66. – DOI: 10.1038/s41522-024-00538-0.
124. Gut Microbiota Improves Prognostic Prediction in Critically Ill COVID-19 Patients Alongside Immunological and Hematological Indicators / J. Zhong, L. Guo, Y. Wang, [et al.] // *Research (Wash D.C.)*. – 2024. – Vol. 7. – Art. 0389. – DOI: 10.34133/research.0389.
125. Gut microbiota in COVID-19: key microbial changes, potential mechanisms and clinical applications / F. Zhang, R. Lau, Q. Liu, [et al.] // *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology*. – 2023. – Vol. 20, № 5. – P. 323–337. – DOI: 10.1038/s41575-022-00698-4.

126. Gut microbiota in post-acute COVID-19 syndrome: not the end of the story / Y. An, L. He, X. Xu [et al.] // *Frontiers in Microbiology*. – 2024. – Vol. 15. – Art. 1500890. – DOI: 10.3389/fmicb.2024.1500890.
127. Gut microbiota may not be fully restored in recovered COVID-19 patients after 3-month recovery / Y. Tian, K.Y. Sun, T.Q. Meng, [et al.] // *Frontiers in Nutrition*. – 2021. – T. 8. – Art. 638825. – DOI: 10.3389/fnut.2021.638825.
128. Gut microbiota-derived synbiotic formula (SIM01) as a novel adjuvant therapy for COVID-19: An open-label pilot study / L. Zhang, Z. Xu, J. Mak, [et al.] // *Gastroenterol Hepatol*. – 2022. – DOI: 10.1111/jgh.15796.
129. Hematological, inflammatory, and novel biomarkers assessment as an eminent strategy for clinical management of COVID-19 / S.Rezaeian, F.Razmjooei, M. Pourmokhtari, [et al.] // *Heliyon*. – 2023. – Vol. 9. – № 12. – Art. e22896. – DOI: 10.1016/j.heliyon.2023.e22896.
130. High levels of IL-1 β , TNF- α and MIP-1 α one month after the onset of the acute SARS-CoV-2 infection, predictors of post COVID-19 in hospitalized patients / J. Alonso-Domínguez, M. Gallego-Rodríguez, I. Martínez-Barros [et al.] // *Microorganisms*. – 2023. – Vol. 11, № 10. – Art. 2396. – DOI: 10.3390/microorganisms11102396.
131. Hyperinflammatory Response in COVID-19: A Systematic Review / M.J.A. Silva, L.R. Ribeiro, M.I.M. Gouveia, [et al.] // *Viruses*. – 2023. – Vol. 15, № 2. – Art. 553. – DOI: 10.3390/v15020553.
132. IL-12 and IL-23 pathway inhibition in inflammatory bowel disease / B. Verstockt, A. Salas, B.E. Sands, [et al.] // *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology*. – 2023. – Vol. 20, № 7. – P. 433–446. – DOI: 10.1038/s41575-023-00768-1.
133. Immune Response and Cognitive Impairment in Post-COVID Syndrome: A Systematic Review / J. Holland, D. Sheehan, S. Brown, [et al.] // *Am J Med*. – 2025. – Vol. 138. – № 4. – P. 698–711.e2. – DOI: 10.1016/j.amjmed.2024.09.022.
134. Impact of COVID-19 and antibiotic treatments on gut microbiome: a role for *Enterococcus* spp / E. Righi, L. Lambertenghi, A. Gorska, [et al.] // *Biomedicines*. – 2022. – Vol. 10. – № 11. – Art. 2786. – DOI: 10.3390/biomedicines10112786.

135. Impact of short-chain fatty acids on antimicrobial defence and colonization resistance in the gut / A.A. Kadry, A. Hassan, E.H. El-Shatoury [et al.] // *Frontiers in Microbiology*. – 2023. – Vol. 14. – Art. 1155102. – DOI: 10.3389/fmicb.2023.1155102.
136. Increased sCD163 and sCD14 plasmatic levels and depletion of peripheral blood pro-inflammatory monocytes, myeloid and plasmacytoid dendritic cells in patients with severe COVID-19 pneumonia / M. Zingaropoli, P. Nijhawan, A. Carraro, [et al.] // *Frontiers in Immunology*. – 2021. – Vol. 12. – Art. 627548. – DOI: 10.3389/fimmu.2021.627548.
137. Inflammatory mediators profile in patients hospitalized with COVID-19: a comparative study / A. Tufa, T.H. Gebremariam, T. Manyazewal, [et al.] // *Front Immunol*. – 2022. – Vol. 13. – Art. 964179. – DOI: 10.3389/fimmu.2022.964179.
138. Integrated analysis of gut microbiome and host immune responses in COVID-19 / X. Xu, W. Zhang, M. Guo, [et al.] // *Front Med*. – 2022. – T. 16, № 2. – C. 263–275. – DOI: 10.1007/s11684-022-0921-6.
139. Interplay between severities of COVID-19 and the gut microbiome: implications of bacterial co-infections? / J. Chhibber-Goel, S. Gopinathan, A. Sharma // *Gut Pathogens*. – 2021. – Vol. 13. – № 1. – Art. 14. – DOI: 10.1186/s13099-021-00407-7.
140. *Lactobacillus rhamnosus* CRL1505 nasal administration improves recovery of T-cell mediated immunity against pneumococcal infection in malnourished mice / N. Barbieri, M. Herrera, S. Salva, [et al.] // *Beneficial Microbes*. – 2017. – Vol. 8. – P. 393–405.
141. Long-term alterations in gut microbiota following mild COVID-19 recovery: bacterial and fungal community shifts / D. Li, D.Y. Zhang, S.J. Chen, [et al.] // *Front Cell Infect Microbiol*. – 2025. – Vol. 15. – Art. 1565887. – DOI: 10.3389/fcimb.2025.1565887.
142. Lost microbes of COVID-19: *Bifidobacterium*, *Faecalibacterium* depletion and decreased microbiome diversity associated with SARS-CoV-2 infection severity / S. Hazan, N. Stollman, H.S. Bozkurt, [et al.] // *BMJ Open Gastroenterology*. – 2022. – Vol. 9. – № 1. – Art. e000871. – DOI: 10.1136/bmjgast-2022-000871.

143. Meta-analysis of 16S rRNA microbial data identified alterations of the gut microbiota in COVID-19 patients during the acute and recovery phases / X. Cheng, Y. Zhang, Y. Li, [et al.] // BMC Microbiology. – 2022. – Vol. 22. – Art. 274. – DOI: 10.1186/s12866-022-02686-9.
144. Microbial Signatures in COVID-19: Distinguishing Mild and Severe Disease via Gut Microbiota / J.S. Galeeva, D.E. Fedorov, E.V. Starikova [et al.] // Biomedicines. – 2024. – Vol. 12, № 5. – Art. 996. – DOI: 10.3390/biomedicines12050996.
145. Microbiome and human health: current understanding, engineering, and enabling technologies / N. Aggarwal, S. Kitano, G.R.Y. Pua [et al.] // Chemical Reviews. – 2023. – Vol. 123. – № 1. – P. 31–72. – DOI: 10.1021/acs.chemrev.2c00431.
146. MicrobiomePost. Probiotic Strain Database [Электронный ресурс]. – URL: <https://microbiomepost.com/probiotic-strain-database> (дата обращения: 26.10.2025).
147. Microbiota Modulation of the Gut-Lung Axis in COVID-19 / G.L.V. de Oliveira, C.N.S. Oliveira, C.F. Pinzan, [et al.] // Front Immunol. – 2021. – Vol. 12. – Art. 635471. – DOI: 10.3389/fimmu.2021.635471.
148. Microbiota-mediated colonization resistance: mechanisms and therapeutic implications / S. Caballero, E.G. Pamer // Nature Reviews Immunology. – 2022. – Vol. 22. – P. 635–648. – DOI: 10.1038/s41577-022-0072.
149. Mild SARS-CoV-2 infection results in long-lasting microbiota instability / V. Upadhyay, R.K. Suryawanshi, P. Tasoff, [et al.] // mBio. – 2023. – Vol. 14, № 4. – P. e0088923. – DOI: 10.1128/mbio.00889-23.
150. Neurocognitive Impairment in Long COVID: A Systematic Review / E. Panagea, L. Messinis, M.C. Petri, [et al.] // Arch Clin Neuropsychol. – 2025. – Vol. 40. – № 1. – P. 125–149. – DOI: 10.1093/arclin/acae042.
151. Neuroinvasion of SARS-CoV-2 in human and mouse brain / E. Song, C. Zhang, B. Israelow, [et al.] // Journal of Experimental Medicine. – 2021. – Vol. 218, № 3. – Art. e20202135. – DOI: 10.1084/jem.20202135.
152. Neuropathology of patients with COVID-19 in Germany: a post-mortem case series / J. Matschke, M. Lütgehetmann, C. Hagel, [et al.] // Lancet Neurology. – 2020. – Vol. 19. – № 11. – P. 919–929. – DOI: 10.1016/S1474-4422(20)30308-2.

153. Novel clinical and immunological features associated with persistent post-acute sequelae of COVID-19 after six months of follow-up: a pilot study / J. Torres-Ruiz, J. Lomelín-Gascón, J. Lira Luna, [et al.] // *Infectious Diseases*. – 2023. – Vol. 55. – № 4. – P. 243–254. – DOI: 10.1080/23744235.2022.2158217.
154. Opportunistic pathogens increased and probiotics or short-chain fatty acid-producing bacteria decreased in the intestinal microbiota of pneumonia inpatients during SARS-CoV-2 Omicron variant epidemic / F. Huang, M. Luo, J. Peng, [et al.] // *Lett Appl Microbiol*. – 2024. – Vol. 77. – № 3. – Art. ovae022. – DOI: 10.1093/lambio/ovae022.
155. Oro-faecal transmission of SARS-CoV-2: a systematic review of studies employing viral culture from gastrointestinal and other potential oro-faecal sources and evidence for transmission to humans / S. Gandini, J. Conly, E.A. Spencer, [et al.] // *Epidemiology and Infection*. – 2024. – Vol. 152. – Art. e138. – DOI: 10.1017/S0950268824001481.
156. Oxymatrine alleviates NSAID-associated small bowel mucosal injury by regulating MIP-1/CCR1 signalling and gut microbiota / M. Chen, H. Zhou, J. Shen, [et al.] // *Journal of Pharmacological Sciences*. – 2024. – Vol. 156. – № 3. – P. 149–160. – DOI: 10.1016/j.jphs.2024.08.003..
157. Perturbations in gut and respiratory microbiota in COVID-19 and influenza patients: a systematic review and meta-analysis / X.J. Chu, D.D. Song, M.H. Zhou, [et al.] // *Frontiers in Medicine (Lausanne)*. – 2024. – Vol. 11. – Art. 1301312. – DOI: 10.3389/fmed.2024.1301312.
158. Plasma microbiome in COVID-19 subjects: an indicator of gut barrier defects and dysbiosis / R. Prasad, M.J. Patton, J.L. Floyd, [et al.] // *bioRxiv* – 2021. – Art. 2021.04.06.438634. – DOI: 10.1101/2021.04.06.438634. – Update in: *Int J Mol Sci*. – 2022. – Vol. 23. – № 16. – Art. 9141. – DOI: 10.3390/ijms23169141.
159. Post-acute COVID-19 syndrome and gut dysbiosis linger beyond 1 year after SARS-CoV-2 clearance / Q. Su, R.I. Lau, Q. Liu, F. Chan, S.C. Ng // *Gut*. – 2023. – Vol. 72. – P. 1230–1232. – DOI: 10.1136/gutjnl-2022-328319.

160. Predictors of survival in older adults hospitalized with COVID-19 / B. Tyson, L. Erdodi, A. Shahein, [et al.] // *Neurol Sci.* – 2021. – Vol. 42, № 10. – P. 3953–3958. – DOI: 10.1007/s10072-021-05435-4.
161. Presence of SARS-CoV-2 in abdominal tissues and biologic fluids during abdominal surgery: a systematic review / G. Romero-Velez, G. Ponce de Leon-Ballesteros, M. Al Zubaidi, [et al.] // *Surg Endosc.* – 2023. – Vol. 37. – № 7. – P. 5011–5021. – DOI: 10.1007/s00464-023-10130-w.
162. Presence of SARS-CoV-2 in abdominal tissues and biologic fluids during abdominal surgery: a systematic review / G. Romero-Velez, G. Ponce de Leon-Ballesteros, M. Al Zubaidi, [et al.] // *Surg Endosc.* – 2023. – Vol. 37. – № 7. – P. 5011–5021. – DOI: 10.1007/s00464-023-10130-w.
163. Presence of SARS-CoV-2 RNA in COVID-19 survivors with post-COVID symptoms: a systematic review of the literature / C. Fernández-de-Las-Peñas, J. Torres-Macho, R. Macasaet, [et al.] // *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine.* – 2024. – Vol. 62. – № 6. – P. 1044–1052. – DOI: 10.1515/cclm-2024-0036.
164. Prevalence of gastrointestinal symptoms after recovery from COVID-19: A questionnaire-based study in the Aseer region / M.A. Alzahrani, K.S. Altalhiyyah, M.M. Albariqi [et al.] // *SAGE Open Med.* – 2025. – Vol. 13. – Art. 20503121251314067. – DOI: 10.1177/20503121251314067.
165. Prevalence of gastro-intestinal symptoms among COVID-19 patients and the association with disease clinical outcomes / H. Al-Momani, I. Aolymat, M. Almasri, [et al.] // *Future Sci OA.* – 2023. – Vol. 9, № 5. – Art. FSO858. – DOI: 10.2144/fsoa-2023-0040.
166. Probiotic blend of *L. plantarum* and *P. acidilactici* (AB21) stimulates type-I interferon response in phagocytes with the participation of the IRF7 transcription factor, possibly involving both MyD88-dependent and independent mechanisms / T. Altadill, E. Armengol [et al.] // *Journal of Biological Chemistry.* – 2024. – Vol. 300, № 3. – Art. 105827. – DOI: 10.1016/j.jbc.2024.105827.
167. Probiotic effect on SARS-CoV-2 immunity is associated to type-1 interferons: a post-hoc analysis of a randomized, placebo-controlled trial / P. Gutierrez-Castrellón,

- T. Gandara-Martí, J. Espadaler-Mazo, [et al.] // *FASEB Journal*. – 2022. – Vol. 36. – Suppl. 1. – P. R2343. – DOI: 10.1096/fasebj.2022.36.S1.
168. Probiotic therapy of gastrointestinal symptoms during COVID-19 infection: a randomized, double-blind, placebo-controlled, remote study / A. Horvath, R. Haller, N. Feldbacher, [et al.] // *Nutrients*. – 2024. – Vol. 16. – Art. 3970. – DOI: 10.3390/nu16223970.
169. Probiotic, prebiotic, synbiotic and fermented food supplementation in psychiatric disorders: a systematic review of clinical trials / C. Ribera, J.V. Sánchez-Ortí, G. Clarke, [et al.] // *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*. – 2024. – Vol. 158. – P. 105561. – DOI: 10.1016/j.neubiorev.2024.105561.
170. Probiotics and postbiotics as the functional food components affecting the immune response / A. Szydłowska, B. Sionek // *Microorganisms*. – 2022. – Vol. 11. – № 1. – Art. 104. – DOI: 10.3390/microorganisms11010104.
171. Probiotics for respiratory tract infections in children attending day care centers: a systematic review / R.P. Laursen, I. Hojsak // *European Journal of Pediatrics*. – 2018. – Vol. 177. – № 7. – P. 979–994. – DOI: 10.1007/s00431-018-315.
172. Probiotics for the prevention of ventilator-associated pneumonia: a meta-analysis of randomized controlled trials / M. Su, Y. Jia, Y. Li, [et al.] // *Respiratory Care*. – 2020. – Vol. 65. – P. 673–685.
173. Probiotics improve symptoms of patients with COVID-19 through gut-lung axis: a systematic review and meta-analysis / Y. Tian, H. Ran, X. Wen, [et al.] // *Frontiers in Nutrition*. – 2023. – T. 10. – Art. 1179432. – DOI: 10.3389/fnut.2023.1179432.
174. Protection against influenza virus infection of mice fed *Bifidobacterium breve* YIT4064 / H. Yasui, J. Kiyoshima, T. Hori, [et al.] // *Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology*. – 1999. – Vol. 6. – P. 186–192.
175. Randomized double-blind placebo-controlled proof-of-concept trial of resveratrol for outpatient treatment of mild coronavirus disease (COVID-19) / M.R. McCreary, P.M. Schnell, D.A. Rhoda, [et al.] // *Sci Rep*. – 2022. – Vol. 12. – № 1. – Art. 10978. – DOI: 10.1038/s41598-022-13920-9.

176. Relationship between the Viral Load in Patients with Different COVID-19 Severities and SARS-CoV-2 Variants / A. Santos Coy-Arechavaleta, J. E. Alvarado-Yaah, L. A. Uribe-Noguez, [et al.] // *Microorganisms*. – 2024. – Vol. 12, № 3. – Art. 428. – DOI: 10.3390/microorganisms12030428.
177. Remdesivir alleviates dextran sulfate sodium-induced colitis in mice by regulating gut microbiota and bile acid metabolism / Y. Xu, W. Chen, J. Jiang, [et al.] // *Research Square*. – 2024. – DOI: 10.21203/rs.3.rs-4976035/v1.
178. Role of NLR, PLR, ELR and CLR in differentiating COVID-19 patients with and without pneumonia / T.D. Çakırca, A. Torun, G. Çakırca, [et al.] // *International Journal of Clinical Practice*. – 2021. – Vol. 75. – № 11. – P. e14781. – DOI: 10.1111/ijcp.14781.
179. Role of the microbiome in the pathogenesis of COVID-19 / R. De, S. Dutta // *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*. – 2022. – Vol. 12. – Art. 736397. – DOI: 10.3389/fcimb.2022.736397.
180. Safety and efficacy of probiotic supplements as adjunctive therapies in patients with COVID-19: a systematic review and meta-analysis / J. Zhu, T. Pitre, C. Ching, [et al.] // *PLoS One*. – 2023. – Vol. 18. – № 3. – Art. e0278356. – DOI: 10.1371/journal.pone.0278356.
181. Safety and efficacy of probiotic supplements as adjunctive therapies in patients with COVID-19: a systematic review and meta-analysis / J. Zhu, T. Pitre, C. Ching, [et al.] // *PLoS One*. – 2023. – Vol. 18. – № 3. – Art. e0278356. – DOI: 10.1371/journal.pone.0278356.
182. Sajdel-Sulkowska E.M. Neuropsychiatric ramifications of COVID-19: short-chain fatty acid deficiency and disturbance of microbiota-gut-brain axis signaling // *BioMed Research International*. – 2021. – Vol. 2021. – Art. 7880448. – DOI: 10.1155/2021/7880448.
183. SARS-CoV-2 entry related viral and host genetic variations: implications on COVID-19 severity, immune escape, and infectivity / S.W. Huang, S.F. Wang // *International Journal of Molecular Sciences*. – 2021. – Vol. 22. – № 6. – Art. 3060. – DOI: 10.3390/ijms22063060.

184. SARS-CoV-2 infection is associated with intestinal permeability, systemic inflammation, and microbial dysbiosis in hospitalized patients / C.M. Basting, R. Langat, C.A. Broedlow, [et al.] // *Microbiology Spectrum*. – 2024. – Vol. 12. – № 11. – Art. e0068024. – DOI: 10.1128/spectrum.00680-24.
185. SARS-CoV-2 infection perturbs the gastrointestinal tract and induces modest microbial translocation across the intestinal barrier / K. Brooks, C.E. Nelson, C. Aguilar, [et al.] // *Journal of Virology*. – 2024. – Vol. 98. – № 10. – Art. e0128824. – DOI: 10.1128/jvi.01288-24.
186. SARS-CoV-2 Omicron variant: recent progress and future perspectives / Y. Fan, X. Li, L. Zhang, [et al.] // *Signal Transduction and Targeted Therapy*. – 2022. – Vol. 7. – № 1. – Art. 141. – DOI: 10.1038/s41392-022-00997-x.
187. SARS-CoV-2 receptor ACE2 is an interferon-stimulated gene in human airway epithelial cells and is detected in specific cell subsets across tissues / C. Ziegler, S. Allon, S. Nyquist, [et al.] // *Cell*. – 2020. – Vol. 181. – № 5. – P. 1016–1035.e19. – DOI: 10.1016/j.cell.2020.04.035.
188. SARS-CoV-2 Variants of Concern and Variants of Interest Receptor Binding Domain Mutations and Virus Infectivity / H. Liu, P. Wei, J.W. Kappler, [et al.] // *Frontiers in Immunology*. – 2022. – Vol. 13. – Art. 825256. – DOI: 10.3389/fimmu.2022.825256.
189. SARS-CoV-2 viral load and cytokine dynamics profile as early signatures of long COVID condition in hospitalized individuals / J. Alonso Domínguez, I. Martínez Barros, I. Viéitez [et al.] // *Influenza and Other Respiratory Viruses*. – 2025. – Vol. 19, № 1. – Art. e70068. – DOI: 10.1111/irv.70068.
190. SARS-CoV-2 viral load and shedding kinetics / O. Puhach, B. Meyer, I. Eckerle // *Nat Rev Microbiol*. – 2023. – Vol. 21. – № 3. – P. 147–161. – DOI: 10.1038/s41579-022-00822-w.
191. Serial changes in blood-cell-count-derived and CRP-derived inflammatory indices of COVID-19 patients / M.B. Khadzhieva, A.S. Gracheva, O.B. Belopolskaya, [et al.] // *Diagnostics (Basel)*. – 2023. – Vol. 13. – № 4. – Art. 746. – DOI: 10.3390/diagnostics13040746.

192. Simplified procedure for the routine isolation of *Clostridium difficile* from faeces / S.P. Borriello, P. Honour // *Journal of Clinical Pathology*. – 1981. – Vol. 34. – № 10. – P. 1124–1127.
193. Temporal changes in fecal microbiota of patients infected with COVID-19: a longitudinal cohort / T. Galperine, Y. Choi, J.L. Pagani, [et al.] // *BMC Infectious Diseases*. – 2023. – DOI: 10.1186/s12879-023-08511-6.
194. Temporal dynamics of SARS-CoV-2 shedding in feces and saliva: a longitudinal study in Norfolk, United Kingdom during the 2021-2022 COVID-19 waves / L. Kellingray, G.M. Savva, E. Garcia-Gutierrez, [et al.] // *Microbiol Spectr*. – 2025. – Vol. 13. – № 5. – Art. e0319524. – DOI: 10.1128/spectrum.03195-24.
195. Temporal landscape of human gut RNA and DNA virome in SARS-CoV-2 infection and severity / T. Zuo, Q. Liu, F. Zhang, [et al.] // *Microbiome*. – 2021. – T. 9. – № 1. – C. 91. – DOI: 10.1186/s40168-021-01008-x.
196. The causal relationship between gut microbiota and COVID-19: A two-sample Mendelian randomization analysis / S. Tian, W. Huang // *Medicine (Baltimore)*. – 2024. – Vol. 103, № 5. – Art. e36493. – DOI: 10.1097/MD.00000000000036493.
197. The causal relationship between gut microbiota and nine infectious diseases: a two-sample Mendelian randomization analysis / S. Wang, F. Yin, W. Sun, [et al.] // *Frontiers in Immunology*. – 2024. – Vol. 15. – Apr. 1304973. – DOI: 10.3389/fimmu.2024.1304973.
198. The effect of microbiome therapy on COVID-19-induced gut dysbiosis: a narrative and systematic review / M. Yousef, M. Rob, S. Varghese, [et al.] // *Life Sciences*. – 2024. – Vol. 342. – Art. 122535. – DOI: 10.1016/j.lfs.2024.122535.
199. The effects of 3-month supplementation with synbiotic on patient-reported outcomes, exercise tolerance, and brain and muscle metabolism in adult patients with post-COVID-19 chronic fatigue syndrome (STOP-FATIGUE): a randomized placebo-controlled clinical trial / M. Ranisavljev, V. Stajer, N. Todorovic, [et al.] // *Eur J Nutr*. – 2024. – Vol. 64, № 1. – P. 28. – DOI: 10.1007/s00394-024-03546-0.

200. The gut microbiota as an early predictor of COVID-19 severity / M. Fabbrini, F. D'Amico, B.T.F. Gun, [et al.] // *mSphere*. – 2024. – Vol. 9, № 10. – Art. e0018124. – DOI: 10.1128/msphere.00181-24.
201. The gut microbiota of critically ill patients with COVID-19 / P. Gaibani, F. D'Amico, M. Bartoletti, [et al.] // *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*. – 2021. – Vol. 11. – Art. 670424. – DOI: 10.3389/fcimb.2021.670424.
202. The impact of gut microbiota disorders on the blood-brain barrier / W. Tang, H. Zhu, Y. Feng, R. Guo, D. Wan // *Infectious Diseases and Drug Resistance*. – 2020. – Vol. 13. – P. 3351–3363. – DOI: 10.2147/IDR.S254403.
203. The intestinal microbiota predicts COVID-19 severity and fatality regardless of hospital feeding method / V. Bucci, D.V. Ward, S. Bhattarai, [et al.] // *mSystems*. – 2023. – Vol. 8. – № 4. – Art. e0031023. – DOI: 10.1128/msystems.00310-23.
204. The intestine in acute and long COVID: pathophysiological insights and key lessons / A. Zollner, M. Meyer, A. Jukic, T. Adolph, H. Tilg // *Yale Journal of Biology and Medicine*. – 2024. – Vol. 97. – № 4. – P. 447–462. – DOI: 10.59249/PMIE8461.
205. The microbiota in long COVID / C. Álvarez-Santacruz, S.D. Tyrkalska, S. Candel [et al.] // *International Journal of Molecular Sciences*. – 2024. – Vol. 25, № 2. – Art. 1330. – DOI: 10.3390/ijms25021330.
206. The persistence of SARS-CoV-2 in tissues and its association with long COVID symptoms: a cross-sectional cohort study in China / W. Zuo, D. He, C. Liang, [et al.] // *Lancet Infect Dis*. – 2024. – Vol. 24, № 8. – P. 845–855. – DOI: 10.1016/S1473-3099(24)00171-3.
207. The prognostic utility of cytokines in hospitalized COVID-19 patients / Á.V. Andrejkovits, A. Huțanu, E.J. Susányi [et al.] // *Journal of Critical Care Medicine (Targu Mures)*. – 2023. – Vol. 9. – № 4. – P. 208–217. – DOI: 10.2478/jccm-2023-0025.
208. The relationship between gut microbiota and COVID-19 progression: new insights into immunopathogenesis and treatment / M. Wang, Y. Zhang, C. Li, [et al.] // *Frontiers in Immunology*. – 2023. – Vol. 14. – Art. 1180336. – DOI: 10.3389/fimmu.2023.1180336.

209. The relationship between pediatric gut microbiota and SARS-CoV-2 infection / L. Romani, F. Del Chierico, G. Macari, [et al.] // *Front Cell Infect Microbiol.* – 2022. – Vol. 12. – Art. 908492. – DOI: 10.3389/fcimb.2022.908492.
210. The Role of Bifidobacterium in COVID-19: A Systematic Review / C.R. Taufer, P.H. Rampelotto // *Life (Basel).* – 2023. – Vol. 13, № 9. – Art. 1847. – DOI: 10.3390/life13091847.
211. The Role of Sequentially Monitored Laboratory Values and Inflammatory Biomarkers in Assessing the Severity of COVID-19 / B. Baran, N.A. Yetkin, N. Tutar, [et al.] // *Cureus.* – 2024. – Vol. 16. – № 1. – Art. e51458. – DOI: 10.7759/cureus.51458..
212. The Role of the Gut Microbiome in Health and Disease in the Elderly / L.A. Chen, K. Boyle // *Current Gastroenterology Reports.* – 2024. – Vol. 26. – № 9. – P. 217–230. – DOI: 10.1007/s11894-024-00932-w.
213. The role of the gut–lung axis in COVID-19 infections and its modulation to improve clinical outcomes / J. Chen, L. Vitetta // *Frontiers in Bioscience-Scholar.* – 2022. – Vol. 14. – № 3. – Art. 23. – DOI: 10.31083/j.fbs1403023.
214. The S1 protein of SARS-CoV-2 crosses the blood-brain barrier in mice / E.M. Rhea, A.F. Logsdon, K.M. Hansen, [et al.] // *Nature Neuroscience.* – 2021. – Vol. 24. – № 3. – P. 368–378. – DOI: 10.1038/s41593-020-00771-8.
215. The volatile and heterogeneous gut microbiota shifts of COVID-19 patients over the course of a probiotics-assisted therapy / C. Wu, Q. Xu, Z. Cao, [et al.] // *Clinical and Translational Medicine.* – 2021. – Vol. 11, № 12. – Art. e643. – DOI: 10.1002/ctm2.643.
216. Trinchieri G. Interleukin-12: a proinflammatory cytokine with immunoregulatory functions that bridge innate resistance and antigen-specific adaptive immunity // *Annual Review of Immunology.* – 1995. – Vol. 13. – P. 251–276. – DOI: 10.1146/annurev.iy.13.040195.001343.
217. Two-year follow-up of gut microbiota alterations in patients after COVID-19: from the perspective of gut enterotype / Q. Xie, J. Ni, W. Guo, [et al.] // *Microbiol Spectr.* – 2025. – DOI: 10.1128/spectrum.02774-24.
218. Unraveling the microbiome-human body axis: a comprehensive examination of therapeutic strategies, interactions and implications / G. Olteanu, M.A. Ciucă-Pană,

Ş.S. Busnatu, [et al.] // International Journal of Molecular Sciences. – 2024. – Vol. 25. – № 10. – Art. 5561. – DOI: 10.3390/ijms25105561.

219. Viral and antibody dynamics of acute infection with SARS-CoV-2 omicron variant (B.1.1.529): a prospective cohort study from Shenzhen, China / Y. Yang, L. Guo, J. Yuan, [et al.] // Lancet Microbe. – 2023. – Vol. 4, № 8. – P. e632–e641. – DOI: 10.1016/S2666-5247(23)00139-8.

220. World Gastroenterology Organisation. Probiotics and prebiotics. – 2023. – URL: <https://www.worldgastroenterology.org/guidelines> (дата обращения: 19.09.2025).

ПРИЛОЖЕНИЕ А

А.1. Референсные значения клинического анализа крови

Показатели	Единицы измерения	Референсные значения
Количество лейкоцитов	$10^9/\text{л}$	4,0 - 9,0
Абсолютное количество нейтрофилов	$10^9/\text{л}$	1,6 - 7,0
Относительное количество нейтрофилов	%	47,0 - 72,0
Абсолютное количество лимфоцитов	$10^9/\text{л}$	1,20 - 3,80
Относительное количество лимфоцитов	%	19 - 45
Абсолютное количество моноцитов	$10^9/\text{л}$	0,25 - 0,95
Относительное количество моноцитов	%	3,0 - 11,0
Количество тромбоцитов	$10^9/\text{л}$	150 - 400

А. 2. Интегральные гематологические индексы и показатели системного воспаления

Название	Формула расчета	Референсные значения
Индекс соотношения тромбоцитов к лимфоцитам (ТЛИ)	тромбоциты ÷ лимфоциты	106 - 150 у.е.
Индекс соотношения лимфоцитов к моноцитам (ИСЛМ)	лимфоциты ÷ моноциты	$5,34 \pm 0,59$ усл.ед.
Соотношение С-реактивного белка к лимфоцитам (CLR)	СРБ ÷ лимфоциты	—
Индекс системного воспалительного ответа (SIRI)	нейтрофилы × моноциты ÷ лимфоциты	—
Индекс системного воспаления (SII)	нейтрофилы × тромбоциты ÷ лимфоциты	—
Совокупный системный индекс воспаления (AISI)	нейтрофилы × моноциты × тромбоциты ÷ лимфоциты.	—

А.3. Референсные значения биохимического анализа крови и коагулограммы

Показатели	Единицы измерения	Референсные значения
АЛТ	ЕД/л	10,0 - 40,0
АСТ	ЕД/л	15,0 - 40,0
Ферритин	нг/мл	20,0 - 300,0
Общий белок	г/л	66,0 - 83,0
ЛДГ	ЕД/л	1,0 - 247,0
СРБ	мг/л	0,00 - 5,00
Д-димер	нг/мл	50,0 - 250,0
Концентрация фибриногена	г/л	2,0 - 3,93
Протромбиновое время	с	9,4 - 12,5

ПРИЛОЖЕНИЕ Б

Референсные значения показателей набора «КОЛОНОФЛОР-16
(биоценоз)»

Показатели	Единицы измерения	Референсные значения
Общая бактериальная масса	копии/мл	$10^{11} - 10^{13}$
<i>Lactobacillus</i> spp	копии/мл	$10^7 - 10^8$
<i>Bifidobacterium</i> spp	копии/мл	$10^9 - 10^{10}$
<i>Escherichia coli</i>	копии/мл	$10^6 - 10^8$
<i>Bacteroides</i> spp	копии/мл	$10^9 - 10^{12}$
<i>Faecalibacterium prausnitzii</i>	копии/мл	$10^8 - 10^{11}$
<i>Bacteroides thetaomicronn</i>	копии/мл	допустимо любое количество
<i>Akkermansia muciniphila</i>	копии/мл	$\leq 10^{11}$
<i>Enterococcus</i> spp	копии/мл	$\leq 10^8$
<i>Escherichia coli</i> <i>enteropathogenic</i>	копии/мл	$\leq 10^4$
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	копии/мл	$\leq 10^4$
<i>Klebsiella oxytoca</i>	копии/мл	$\leq 10^4$
<i>Candida</i> spp	копии/мл	$\leq 10^4$
<i>Staphylococcus aureus</i>	копии/мл	$\leq 10^4$
<i>Clostridium difficile</i>	копии/мл	не обнаружено
<i>Clostridium perfringens</i>	копии/мл	не обнаружено
<i>Proteus vulgaris/mirabilis</i>	копии/мл	$\leq 10^4$
<i>Citrobacter</i> spp	копии/мл	$\leq 10^4$
<i>Enterobacter</i> spp	копии/мл	$\leq 10^4$
<i>Fusobacterium nucleatum</i>	копии/мл	не обнаружено
<i>Parvimonas micra</i>	копии/мл	не обнаружено
<i>Salmonella</i> spp	копии/мл	не обнаружено
<i>Shigella</i> spp	копии/мл	не обнаружено
Отношение <i>Bacteroides</i> spp и <i>Faecalibacterium prausnitzii</i> (Bfr/Fprau)	копии/мл	0,01 - 100

ПРИЛОЖЕНИЕ В

Качественный и количественный состав основной микрофлоры толстого кишечника

Виды микроорганизмов	Единицы измерения	Референсные значения	
		18-60 лет	старше 60 лет
Облигатные микроорганизмы			
Бифидобактерии	КОЕ/г	$10^9 - 10^{10}$	$10^8 - 10^9$
Лактобактерии	КОЕ/г	$10^7 - 10^8$	$10^6 - 10^7$
Клостридии	КОЕ/г	$\leq 10^5$	$\leq 10^6$
<i>Escherichia coli</i> типичные	КОЕ/г	$10^7 - 10^8$	$10^7 - 10^8$
<i>Escherichia coli</i> лактозонегативные	КОЕ/г	$< 10^5$	$< 10^5$
<i>Escherichia coli</i> гемолитические	КОЕ/г	0	0
Условно-патогенные энтеробактерии			
<i>Klebsiella spp.</i>	КОЕ/г	$< 10^4$	$< 10^4$
<i>Citrobacter spp.</i>	КОЕ/г	$< 10^4$	$< 10^4$
<i>Enterobacter spp.</i>	КОЕ/г	$< 10^4$	$< 10^4$
<i>Hafnia spp.</i>	КОЕ/г	$< 10^4$	$< 10^4$
<i>Serratia spp.</i>	КОЕ/г	$< 10^4$	$< 10^4$
<i>Proteus spp.</i>	КОЕ/г	$< 10^4$	$< 10^4$
<i>Morganella spp.</i>	КОЕ/г	$< 10^4$	$< 10^4$
<i>Providencia spp.</i>	КОЕ/г	$< 10^4$	$< 10^4$
<i>Raoultella spp.</i>	КОЕ/г	$< 10^4$	$< 10^4$
Неферментирующие бактерии			
<i>Pseudomonas spp.</i>	КОЕ/г	$\leq 10^3$	$\leq 10^3$
<i>Acinetobacter spp.</i>	КОЕ/г	$\leq 10^3$	$\leq 10^3$
Другие неферментирующие бактерии	КОЕ/г	$\leq 10^3$	$\leq 10^3$
Патогенные микроорганизмы			
Энтерококки	КОЕ/г	$10^5 - 10^8$	$10^6 - 10^7$
Стафилококк золотистый	КОЕ/г	0	0
<i>Staphylococcus saprophyticus</i> , <i>S. epidermidis</i>	КОЕ/г	$\leq 10^4$	$\leq 10^4$
Дрожжеподобные грибы рода <i>Candida</i>	КОЕ/г	$\leq 10^4$	$\leq 10^4$