

ДЗОТЦОЕВА ЭЛИНА СЕРГЕЕВНА

**КЛИНИКО-ПАТОГЕНЕТИЧЕСКОЕ ОБОСНОВАНИЕ КОРРЕКЦИИ
АНТИБИОТИК-АССОЦИИРОВАННЫХ НАРУШЕНИЙ МИКРОБИОМА
ПРИ ОСТРЫХ РЕСПИРАТОРНЫХ ИНФЕКЦИЯХ У ДЕТЕЙ**

3.1.22. Инфекционные болезни

Автореферат диссертации
на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

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

Научный руководитель:

Горелов Александр Васильевич - академик РАН, доктор медицинских наук, профессор, заместитель директора по научной работе ФБУН «Центральный научно-исследовательский институт эпидемиологии» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека

Официальные оппоненты:

Кокорева Светлана Петровна - доктор медицинских наук, доцент, заведующая кафедрой детских инфекционных болезней ФГБОУ ВО «Воронежский государственный медицинский университет имени Н.Н. Бурденко» Министерства здравоохранения РФ.

Бургасова Ольга Александровна - доктор медицинских наук, доцент, профессор кафедры инфекционных болезней с курсом эпидемиологии и фтизиатрии ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов имени Патриса Лумумбы»

Ведущая организация:

Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова» Министерства Здравоохранения Российской Федерации

Защита диссертации состоится «___» _____ 2024 года в _____ час. _____ мин. на заседании диссертационного совета Д 64.1.010.01 в Федеральном бюджетном учреждении науки «Центральный научно-исследовательский институт эпидемиологии» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека по адресу: 111123, Москва, ул. Новогиреевская, д.3а.

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

Автореферат разослан «___» _____ 2024 г.

Ученый секретарь
диссертационного совета,
доктор медицинских наук

Николаева Светлана Викторовна

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы исследования

Острые респираторные инфекции (ОРИ) занимают лидирующие позиции в структуре детской инфекционной патологии, им свойственен высокий процент заболеваемости и госпитализации, таким образом, они представляют серьезную угрозу здоровью детей [Lehtoranta L., 2014; Smith T.J., 2013]. По данным Роспотребнадзора, в 2023 году заболеваемость острыми инфекциями верхних дыхательных путей множественной и неуточненной локализации среди детского населения составляла 64213,01 на 100 тыс. населения Российской Федерации [Государственный доклад, 2023]. Среди ОРИ доминирующие позиции занимают инфекции нижних дыхательных путей (бронхит, пневмония) [Сергеева Е.В., 2016]. В 2023 году уровень заболеваемости внебольничными пневмониями среди детей достиг 803,6 случаев на 100 тысяч населения, максимальный показатель заболеваемости был зафиксирован в возрастной категории от 1 до 2 лет, где показатель составил 1465,5 на 100 тысяч [Государственный доклад, 2023]. ОРИ характеризуются значительным риском осложнений (23–28 %), вероятностью рецидивов, обострения хронических заболеваний и высокой смертностью. Одним из ключевых факторов, влияющих на развитие осложнений при инфекционных заболеваниях, включая ОРИ у детей, является колонизационная резистентность и состояние микробиома слизистых оболочек, среди которых микрофлора желудочно-кишечного тракта играет ключевую роль [Сурков А.Н., 2013]. Осложненное течение ОРИ, инфекции нижних дыхательных путей (ИНДП) требует назначения антибактериальной терапии (АБТ). Стоит отметить, что в педиатрической практике более чем в 50 % случаев назначают антибактериальный препарат (АБП) и в случаях неосложненного течения ОРИ в том числе, 24–27 % назначений АБТ у детей абсолютно не оправдано [Mantegazza C., 2018]. В связи с этим важно учитывать влияния на развитие и здоровье ребенка таких аспектов, как антибиотик-индуцированные нарушения микробиоты различных локусов. Среди известных негативных воздействий АБП на состав микробиоты кишечника можно выделить: широкомасштабное снижение разнообразия среди типов микроорганизмов, потенциальную потерю целых микробных сообществ, чрезмерный рост патогенных видов (например, *Clostridioides difficile*), а также рост распространения генов резистентности к АБП [Горелов А.В., 2024]. В связи с чем уменьшение частоты возникновения антибиотик-ассоциированного синдрома (ААС) с необходимостью предупреждения или коррекции нарушений микробиоценоза кишечника приобретает особо важное значение [Плоскирева А.А., 2018].

Внедрение новейших методов молекулярно-генетического анализа в идентификацию микроорганизмов открывает новые возможности для решения данной проблемы. Метод секвенирования 16S рибосомальной РНК бактерий, полученных из фекалий или биоптатов слизистой оболочки кишечника, предложенный в 1999 г., позволяет идентифицировать до 1500 представителей филогенетических групп микроорганизмов и с 2008 года считается «золотым стандартом», что значительно расширило представление о составе и функциях кишечного микробиоценоза, его метагеномике, метатранскриптомике, метапротеомике и даже метаболомике [Пестова Н. Е., 2011; Juste C., 2014]. Инновационные методы исследования микрофлоры [Фурина, Р.Р., 2014, Maier, T.V., 2017] позволяют глубже понять взаимодействия микроорганизмов. Эти методы позволяют изучить роль микробиома при

развитии осложнений ОРИ в педиатрической практике. Также они дают возможность своевременно корректировать изменения микробиоты, вызванные как воздействием патогена, так и проведением АБТ с помощью моно- или мультиштаммовых пробиотиков.

В настоящее время в педиатрии и инфектологии существует актуальная и малоизученная проблема, связанная с анализом влияния степени изменений микробиоценоза различных биотопов у детей на основе секвенирования гена 16S рРНК, что может помочь определить прогноз заболевания, длительность инфекционного процесса, вероятность возникновения осложнений, а также разработать комплексный подход к их профилактике с помощью пробиотиков. Запланированная работа посвящена решению данных задач.

Степень разработанности темы исследования

В настоящее время активно исследуется роль микробиома кишечника и дыхательных путей в развитии ОРИ, а также влияние АБТ на микробиом кишечника при ОРИ. В зарубежных научных изданиях опубликовано множество работ, посвящённых этой проблеме [Fendrick A. M.,2001, Lu Z.,2008, Chunxi L.,2020, Pérez-Cobas A. E.,2023, Vidlock E.J., 2012].

Уже имеющиеся нарушения разнообразия среди микроорганизмов респираторного тракта и кишечника при инфекционном заболевании могут влиять на защитные функции человека, а сам патологический процесс может усугубить течение заболевания и привести к осложнениям [Pérez-Cobas A. E.,2023]. Тем не менее, в научной литературе недостаточно представлены данные о зависимости спектра микробиома кишечника от течения заболевания и возраста детей. В доступных источниках описываются изменения микробиоты кишечника у взрослых и детей на фоне АБТ, а также состояние микробиома дыхательных путей у взрослых и детей. Имеющиеся данные получены в основном с помощью классических методов, которые в Европе уже 10 лет не используются [Кожевников А.А,2017; Ефимов Б.А.,2019; Bashiardes S., 2016; Le Gall. G,2011; Mizrahi-Man O.,2013; Franzosa E. A.,2014; Poretzky R.,2014]. В свою очередь одновременное рассмотрение изменения микробиоты кишечника, ротовой полости и наружных половых органов при АБТ не описаны в литературе. Внедрение прорывных технологий изучения микробиома открывает новые горизонты познания, такого массового заболевания, как ОРИ. Вместе с тем сведения об изменениях в составе микрофлоры, полученные с помощью молекулярно-генетических методов, до настоящего времени немногочисленны.

В последние годы активно изучается ААС. Однако, связь развития функциональных нарушений со стороны различных локусов с изменениями микробиоценоза определенных биотопов изучена недостаточно. Малоизучена частота его развития при осложнённом течении ОРИ у детей, требующих системной АБТ, оценка характера изменения микробиоты различных локусов (желудочно-кишечный тракт, полость рта) для разработки эффективной схемы пробиотикопревенции и восстановления микробиоты.

Цель исследования

Оптимизация лечения осложненных форм острых респираторных инфекций у детей на основании изучения изменений микробиома с применением молекулярно-генетических методов.

Задачи исследования

1. Оценить микробиоту кишечника, ротоглотки и наружных половых органов у детей с осложненным течением острых респираторных инфекций. Изучить влияние изменений микробиома различных биотопов на клинико-патогенетические особенности острых респираторных инфекций у детей.

2. Определить влияние антибактериальной терапии на состояние микробиома желудочно-кишечного тракта и развитие антибиотик-ассоциированного синдрома при острых респираторных инфекциях у детей.

3. Оценить эффективность моно- и мультиштаммовых пробиотиков в коррекции нарушений микробиома и профилактике антибиотик-ассоциированного синдрома при острых респираторных инфекциях, требующих назначения антибактериальной терапии.

4. Проследить катамнез детей, перенесших осложненное течение острых респираторных инфекций на предмет формирования рекуррентных респираторных и кишечных инфекций.

5. Разработать алгоритм применения пробиотиков у детей при острых респираторных инфекциях, требующих назначения антибактериальной терапии.

Научная новизна

Впервые проведено мультилокусное (фекальный, орофарингеальный, генитальный) исследование микробиома с применением метода секвенирования 16S рибосомальной РНК бактерий в дебюте осложненного течения острой респираторной инфекции. Выявлены неизвестные ранее патогенетические механизмы. Установлено значение дисбаланса микробиома на течение ОРИ, частоту и интенсивность желудочно-кишечных расстройств и внекишечных проявлений, возникающих при АБТ осложненного течения острых респираторных инфекций различной этиологии у детей.

Установлена частота ААС у детей, больных ОРИ на фоне применения АБТ (68,75%), среди которых превалируют гастроинтестинальные симптомы - 67,5 % детей: изолированно поражение желудочно-кишечного тракта (ЖКТ) выявлены у 28,75 %, у 17,5% отмечается сочетанные нарушения ЖКТ и кожных покровов, у 17,5 % - ЖКТ и вульвовагинит, 1,25 % - вульвовагинит и кожные покровы, у 3,75 % – ЖКТ, вульвовагинит, кожные покровы.

Впервые установлено, что в дебюте ОРИ до начала АБТ выявлены значимые отличия от микробиоты здоровых детей в микробиомах ротовой полости и наружных половых органов – снижение биоразнообразия микробиома, достоверное более низкие параметры альфа-разнообразия, также отличия по бета-разнообразию. При анализе генитальной микробиоты обнаружено близкое к статически значимому повышение общего числа микробов.

Анализ таксономического состава позволил выявить, что среди орофарингеальных микроорганизмов превалирует *Streptococcus pneumoniae*. При анализе образцов генитальной микробиоты детектировалось увеличение *Lactobacillus iners*, *Ureaplasma parvum*, *Mycoplasma hominis*, *Gardnerella vaginalis*. Фекальная микробиота оказалась единственным из изучавшихся локусов, который существенно не изменился.

Доказано, что у пациентов при назначении АБТ наиболее значимо реагирует микробиом ротовой полости, затем гениталий, в то время как кишечный микробиом остается наиболее стабильным.

Установлено, что у пациентов с осложненным течением ОРИ на фоне АБТ происходит снижение микроорганизмов продуцентов короткоцепочечных жирных кислот.

Впервые в результате комплексного клинико-лабораторного исследования с использованием молекулярно-генетических методов обоснована эффективность и безопасность дифференцированного применения пробиотиков в профилактике ААС.

Впервые проведены сравнительная оценка различных тактик пробиотической поддержки (моно- или мультиштаммовые препараты) и анализ изменения богатства микробиоты разных локусов с применением метода секвенирования 16S рРНК бактерий в динамике болезни у детей старше года с осложненным течением ОРИ на фоне АБТ.

Впервые проведен анализ структуры и динамики манифестации симптомов ААС у пациентов раннего и дошкольного возраста на фоне АБТ с применением мультиштаммового пробиотика при осложненном течении ОРИ. Установлено, что на фоне применения АБТ и после ее отмены у пациентов при применении мультиштаммового пробиотика достоверно реже регистрируются, такие симптомы ААС, как метеоризм, абдоминальные боли, жидкий стул и увеличение его кратности.

Установлено, что короткие курсы моноштаммовых пробиотиков на фоне антибактериальной терапии у детей старше года с инфекцией нижних дыхательных путей ускоряет разрешение симптомов интоксикации, катаральных явлений со стороны верхних дыхательных путей, региональной лимфаденопатии, симптомов со стороны ЖКТ, а также препятствует развитию внекишечных проявлений ААС, однако не оказывает существенного влияния на выраженность дисбиотических нарушений.

Теоретическая значимость

Описаны клинико-лабораторные особенности острых респираторных инфекций с осложненным течением на современном этапе.

Полученные данные о составе микробных сообществ на основе применения молекулярно-генетических методов у детей в дебюте острых респираторных инфекций с осложненным течением вносят существенный вклад в понимание патогенеза заболевания.

Установлено снижение альфа- и бета-разнообразия орофарингеального, генитального локусов и снижение бета-разнообразия фекального локуса у пациентов с острой инфекцией нижних дыхательных путей в дебюте болезни и их усугубление после начала АБТ терапии.

Впервые оценена клинико-лабораторная эффективность применения мульти- и моноштаммовых пробиотиков в профилактике развития ААС у детей с осложненным течением острых респираторных инфекций.

Продемонстрировано положительное влияние дифференцированной стартовой пробиотической поддержки при осложненном течении острой респираторной инфекции.

Установлено, что использование мультиштаммового пробиотика весь период АБТ и после ее завершения в течение 3 месяцев способствует сокращению частоты респираторных и кишечных инфекций.

Практическая значимость

Обоснована необходимость включения в обследование детей с острой респираторной инфекцией состояния микробиома ротовой полости в динамике болезни, молекулярно-генетическим методом 16s рРНК секвенирования.

Разработаны и обоснованы подходы к ранней диагностике ААС у детей с острой респираторной инфекцией на основании клинической симптоматики, анализе Бристольской шкалы, определения копрологических показателей.

Разработан и научно обоснован алгоритм подбора рациональной пробиотикопревенции острых респираторных инфекций у детей старше года на основании оценки выраженности ААС.

Обосновано использование мультиштаммового пробиотика весь период антибактериальной терапии и в течение 14 дней после ее завершения, для профилактики повторных респираторных и кишечных инфекций.

Положения, выносимые на защиту

1. На фоне антибактериальной терапии у 68,75 % пациентов с осложненным течением острых респираторных инфекций развиваются симптомы ААС, среди которых преобладают гастроинтестинальные симптомы – 67,5 % детей. У 28,75 % детей регистрируются изолированные нарушения ЖКТ, у 17,5 % – сочетанные нарушения ЖКТ и кожных покровов, у 17,5 % – ЖКТ и со стороны наружных половых органов, у 3,75 % – ЖКТ, гениталии, кожных покровов и у 1,25 % – со стороны наружных половых органов и кожных покровов.

2. В дебюте осложненной формы острой респираторной инфекции у детей с помощью метода секвенирования гена 16S рРНК регистрируют однотипные сдвиги состава микробиоты открытых микробных локусов – ротоглотки (выраженные нарушения альфа-разнообразия (индекс $Shao1=0$) и бета-разнообразия (расстояние Эйтчисона ($p=0,001$) и мера Брея-Кёртиса ($p=0,019$), и половых органов (индекс Шеннона $p=0,02$, индекс $Shao1=0,01$), расстояния Эйтчисона ($p=0,001$), мера Брея-Кёртиса ($p=0,001$)). Для микробиома кишечника статистически не выявлено значимых отличий в альфа-разнообразии между больными и здоровыми детьми, что позволяет говорить о большей его устойчивости к воздействию дисбиотических факторов.

3. В остром периоде заболевания у детей раннего и дошкольного возраста с осложненным течением ОРИ назначение АБТ усиливает выявленные дисбиотические изменения, способствуя снижению разнообразия микробиома: бифидобактерий, продуцентов короткоцепочечных жирных кислот, доли комменсальных кластридий, увеличение представленности условно-патогенных микробов.

4. Подключение мультипробиотического комплекса к АБТ пациентам старше одного года с осложненным течением ОРИ способствует более быстрому разрешению интоксикационного синдрома, препятствует развитию антибиотик-ассоциированного синдрома, обеспечивает восстановление нормальной функции кишечника, протективно влияет на микробиом. Включение в терапию полипробиотика с 1 дня и в течение 14 дней после завершения АБТ сокращает частоту респираторных и кишечных инфекций в течение последующих 3 месяцев наблюдения.

5. Короткий курс моноштаммового пробиотика *Saccharomyces boulardii* CNCM I-745 в сочетании с АБТ у детей старше 1 года с неотягощенным преморбидным фоном с инфекцией нижних дыхательных путей обеспечивает купирование симптомов интоксикации со 2 суток, катаральных явлений с 3 суток, региональной лимфоаденопатии с 3 суток, разрешению симптомов со стороны ЖКТ к 5 суткам, а так же препятствует

развитию внекишечных проявлений ААС, однако не оказывает значительного влияния на выраженность дисбиотических нарушений.

Личное участие автора в получении результатов

Автором сформулированы цель и задачи, определены материалы и методы исследования, проведен обзор имеющейся отечественной и зарубежной литературы по теме исследования. С участием диссертанта определены группы наблюдения с учетом всех критериев включения и невключения, создан дизайн исследования. Автором лично осуществлена курация всех пациентов, освоен и проведён сбор биологического материала для исследования; также автор самостоятельно провел анализ полученных данных, выполнение статистической обработки и подготовку публикаций по данной теме исследования.

Методология и методы исследования

Методология диссертационной работы спланирована согласно поставленной цели и задачам, использованы клинические, лабораторные, инструментальные и статистические методы исследования. Выполнено открытое сравнительное проспективное когортное исследование. Полученные автором результаты проанализированы, систематизированы, изложены в главах диссертационной работы. По результатам исследования разработан алгоритм биоценозсберегающей терапии (ОРИ) на современном этапе, сформулированы выводы и практические рекомендации, обозначены перспективы дальнейшей разработки темы.

Внедрение результатов исследования

Результаты исследования (алгоритм диагностики антибиотик-ассоциированного синдрома и подбора рациональной пробиотикопревенции у детей с инфекционными заболеваниями) внедрены в лечебно-диагностический процесс работы детского инфекционного и педиатрического отделений ГБУЗ Московской области Химкинской больницы. Получено свидетельство на регистрацию базы данных «Цифровой архив показателей для выявления клинико-лабораторных особенностей осложненного течения острой респираторной инфекции у детей старше 1 года и оптимизации пробиотикопревенции» № 2024623572. Опубликовано учебно-методическое пособие: Клинические формы коронавирусной инфекции COVID-19. Москва, 2024. – 48с. // Плоскирева А. А., Маржохова А.Р., Понежева Ж.Б., Лукьянов А.В., Алимова Л.К., Дзотцоева Э.С., Горелов А.В. ISBN 978-5-6047194-4-2.

Степень достоверности и апробация результатов

Достоверность результатов исследования основывается на использовании принципов доказательной медицины с применением научных методов, отвечающих поставленной цели исследования. Сопоставимость характеристик групп пациентов и достаточный объем выборки обеспечивают достоверность результатов. Фрагменты работы были представлены на XVIII Российском конгрессе «Инновационные технологии в педиатрии и детской хирургии» с международным участием (22-24 октября 2019 г.), на постерной сессии «Конкурса молодых ученых XXII Ежегодного конгресса детских инфекционистов России с международным участием «Актуальные вопросы инфекционной патологии и вакцинопрофилактики»» (4-5 декабря 2023 г.), на Конференции молодых ученых и

специалистов Центрального НИИ эпидемиологии, терапии и лабораторной диагностики инфекционных заболеваний» (29-30 мая 2024 г.).

Соответствие диссертации паспорту научной специальности

Научные положения диссертации соответствуют паспорту научной специальности 3.1.22. Инфекционные болезни. Результаты проведенного исследования соответствуют областям исследований специальности, а именно пунктам 2, 3, 4, 5 паспорта специальности 3.1.22. Инфекционные болезни.

Публикации

Научные положения и основные результаты по теме диссертации опубликованы в 9 печатных работах, в том числе 4 в журналах, рекомендованных ВАК РФ для публикации основных научных результатов диссертации, в соавторстве выполнено учебное пособие для врачей – 1, свидетельство на регистрацию базы данных – 1.

Объем и структура диссертации

Диссертация представлена на 230 страницах печатного текста и состоит из следующих разделов: введения, обзора литературы, описания материалов и методов, 3 глав собственных исследований, заключения, выводов, практических рекомендаций, списка литературы. Библиографический указатель содержит 290 источников, из них 47 отечественных и 243 зарубежных авторов. Работа проиллюстрирована 20 таблицами, 59 рисунками.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Материалы и методы исследования

Работа выполнена на базе клинического отдела инфекционной патологии ФБУН «ЦНИИЭ» Роспотребнадзора. Набор материала проводился в период 2019-2023 гг. на базе поликлинического и детского инфекционного отделения ГБУЗ МО «Химкинская больница». От всех пациентов было получено добровольное информированное согласие на участие в исследовании. В соответствии с поставленными задачами выполнялось двухэтапное открытое сравнительное проспективное когортное исследование. Набор пациентов осуществлялся сплошным скринингом с включением всех детей, соответствующих критериям включения при отсутствии критериев исключения. Проведено комплексное обследование 248 детей (Д134/М114): 200 (Д106/М94) госпитализированы с осложненным течением ОРИ и 48 условно здоровых детей (Д28/М20) обследованы амбулаторно врачом-педиатром перед вакцинацией или в процессе плановой диспансеризации (Рисунок 1). Методом конвертов при поступлении дети рандомизированы на основную (ОГ) и группу сравнения (ГС). Диагноз и этиология ОРИ устанавливались на основании клинических симптомов и лабораторных данных, включающих молекулярно-генетические (ПЦР), бактериологические и иммунологические методы исследования. Данные вносились в истории болезни и мультипараметрические таблицы. Через 3 месяца после выписки на основании данных телефонного опроса и изучения формы № 112/у выполнялся анализ катamnестических данных за указанный период с учетом числа перенесенных ОРИ и острых кишечных инфекций (ОКИ).

Критерии включения для пациентов: обращение в стационар в первые 3 суток детей 1–14 лет с подозрением на осложненное ОРИ. Отсутствие приема АБП или пробиотиков

за предшествующие 2 месяца, сопутствующих инфекционных хронических заболеваний, жалоб на расстройства ЖКТ; отказ от приема других препаратов и продуктов, содержащих пробиотические штаммы в период исследования; для условно здоровых детей: возраст 1-14 лет, отсутствие эпизодов ОРВИ последний месяц, приема пробиотиков за предшествующие 14 дней. Критериями невключения являются: не соответствие хотя бы одному из критериев включения, отказ от подписания информированного согласия. Критериями исключения являются: отказ пациента/его представителей следовать плану лечения, составленному согласно требованиям МЭС; не предоставление исследуемого материала в сроки. Все дети получали комплексную терапию ОРВИ в соответствии с клиническими рекомендациями Союза педиатров РФ и Национальной медицинской ассоциации оториноларингологов, Межрегиональной ассоциации по клинической микробиологии и антимикробной химиотерапии. Сравнимые группы пациентов были сопоставимы по возрастным, гендерным характеристикам, этиологии и характеру течения ОРВИ и проводимой терапии.

1 этап исследования оценка влияния моноштаммового пробиотика



2 этап исследования: оценка влияния мультиштаммового пробиотика

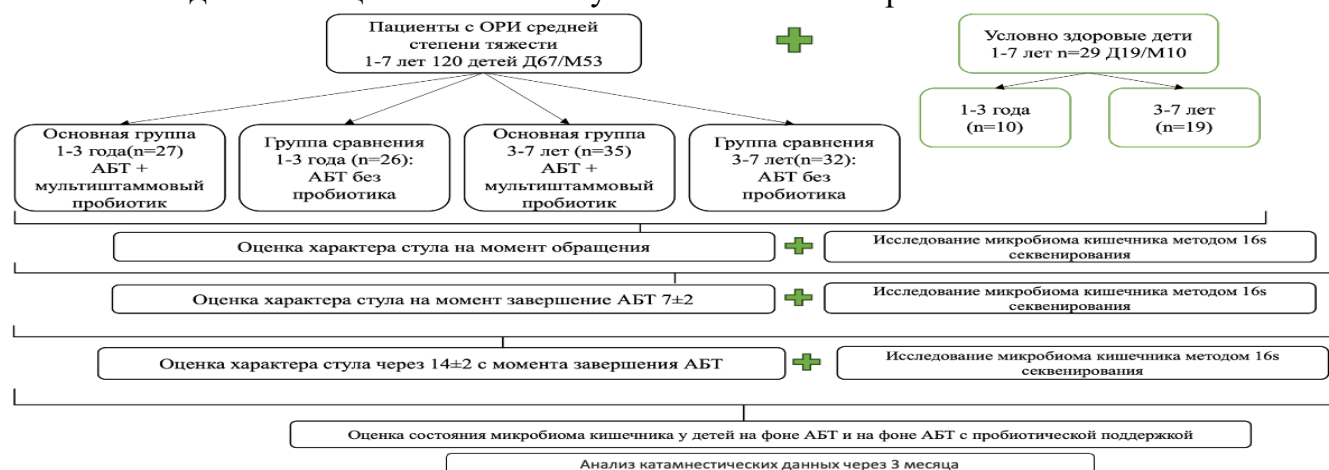


Рисунок 1 – Дизайн исследования 1 и 2 этапа [разработан автором]

На 1 этапе средний возраст пациентов составил $4,4 \pm 2,9$. Для оценки эффективности моноштаммовых пробиотиков в коррекции нарушений микробиома и профилактики ААС при ОРВИ, требующих назначения АБТ, применялся Энтерол, содержащий *Saccharomyces boulardii* CNCM I-745, в соответствующих возрастных дозировках с момента назначения АБТ курсом 7 ± 2 дня. На 2 этапе исследования пациенты были распределены на две возрастные группы: 53 ребенка раннего возраста от 1 до 3 лет (средний возраст $1,8 \pm 0,6$ года) и 67 детей дошкольного возраста от 3 до 7 лет (средний возраст $4,3 \pm 1,2$ года). В

качестве мультиштаммовых пробиотиков в коррекции нарушений микробиома и профилактике ААС при ОРИ, требующих назначения АБТ в соответствующих дозировках, назначался курсом 21 ± 2 дня у детей 3-7 лет – Бак-Сет® Форте, содержащий 14 пробиотических штаммов в высоких концентрациях. У детей 1-3 лет – Бак-Сет Беби, содержащий пребиотический компонент в виде фруктоолигосахаридов из инулина и 7 видов живых пробиотических бактерий в высоких концентрациях.

Описание методов исследования

Всем пациентам на обоих этапах проводилась оценка преморбидного фона, также оценивалось наличие в анамнезе признаков нарушений микробиоценоза. Выполнялось стандартное обследование: сбор жалоб, анамнеза заболевания и жизни, данных эпидемиологического анамнеза, объективный осмотр, рутинные клинические исследования (общий и биохимический анализы крови и мочи, копрограмма), а также выполнялась оценка кала по БШ в динамике, с целью определения этиологии ОРИ перед началом АБТ детям методом ПЦР определяли ДНК/РНК бактериальных возбудителей и респираторных вирусов (SARS-CoV-2, гриппа и комплекс ОРВИ), также методом ИФА определяли IgA, IgM, IgG к *Mycoplasma* и *Chlamydomphila pneumoniae*, методом ИХА - антигены SARS-CoV-2, гриппа А/В. При наличии дополнительных показаний больным проводились ЭКГ, рентгенография, УЗИ и КТ различных органов и систем. Консультации специалистов (хирург, невролог, оториноларинголог, кардиолог) назначались по показаниям.

Статистическая обработка данных клинических показателей выполнялась в StatTech v. 3.1.1 (Россия), а анализ данных, характеризующих состав микробиоты, в среде программирования R. Проверка гипотез выполнялась с порогом значимости 0,05. Поправка на множественное сравнение применялась с использованием метода Бенджамини-Хохберга. Проводилась проверка на соответствие нормальному распределению количественных показателей с помощью критерия Шапиро-Уилка или критерия Колмогорова-Смирнова. Количественные показатели при соответствии нормальному распределению описывались с помощью стандартных отклонений (SD), средних арифметических величин (M) и границ 95 % доверительного интервала (95 % ДИ), при несоответствии - медианы (Me) и нижнего и верхнего квартилей (Q1-Q3). Описание категориальных данных осуществлялось с указанием абсолютных значений и процентных долей. Для анализа количественных переменных использовались параметрические (t-критерия Стьюдента) и непараметрические методы (U-критерия Манна-Уитни, критерий Вилкоксона, критерий Фридмана с апостериорными сравнениями с помощью критерия Коновера-Имана с поправкой Холма-Бонферрони, тест МакНемара, Q-критерий Кохрена). Сравнение процентных долей осуществлялся с использованием критерия согласия Пирсона (хи-квадрат) и точного критерия Фишера. Для оценки альфа-разнообразия использовались индексы Шеннона и Chao1. Альфа-разнообразие и количество микроорганизмов анализировали с использованием метода Манна-Уитни для несвязанных выборок и критерия Вилкоксона для парных выборок, для регрессионного анализа использовалась квантильная регрессия. Сравнения изменений альфа-разнообразия у двух групп пациентов осуществлялся с помощью анализа ковариаций (ANCOVA). На первом этапе исследования для оценки бета-разнообразия использовались

мера Брея-Кертиса и расстояние Эйтчисона, а на втором этапе - метрика UniFrac. Результаты визуализировались при помощи метода главных координат РСоА. Для оценки значимости ассоциации бета-разнообразия с различными факторами использовалась метод PERMANOVA, в том числе для расстояния Эйтчисона. Идентификация наиболее вовлеченных в изменения микроорганизмов осуществлялась методом ближайшего баланса. Для анализа относительной представленности бактериальных таксонов и функционального состава на 2 этапе исследования использовался пакет ALDEx2 в среде R, применяя метод Монте-Карло для генерации образцов из мультиномиального распределения Дирихле. Образцы сравнивались с использованием критерия Уэлча и парного t-критерия Стьюдента, а изменения между группами оценивались с помощью анализа ковариаций ANCOVA. На 1 этапе исследование состава микробиоты методом 16S рРНК секвенирования проводилось на базе лаборатории «Атлас» (заведующий лабораторией - Карасев А. В.), на 2 этапе в лаборатории «КНОМИКС» (заведующий лабораторией - Кошечкин С.И.).

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ОБСУЖДЕНИЕ

1. Использование моноштаммового пробиотика для профилактики ААС у детей с инфекцией нижних дыхательных путей

1.1 Клинико-лабораторная характеристика больных острой инфекцией нижних дыхательных путей с применением моноштаммового пробиотического комплекса

Целью 1 этапа исследования стала оценка влияние *Saccharomyces boulardii* CNCM I-745 на состояние микробиома ЖКТ, ротовой полости, половых органов девочек, частоту развития расстройств ЖКТ, внекишечных проявлений у детей, получающих системную АБТ в связи с осложненным течением инфекций респираторного тракта. Исследование включало 80 детей (девочек - 39 (51,2%) и мальчиков - 41 (48,8%)) больных ВП средней степени тяжести. При обследовании пациентов с ВП не выявлено сопутствующих заболеваний у 95%, синусит - 2,5 %, аденоидит -1,25 %, тонзиллит-1,25 %. Этиологическая структура заболевания установлена у 50% и 54,8% больных ОГ и ГС. Основным этиологическим фактором развития ВП явилась *M. pneumoniae*, которая диагностирована у 18 (47,4%) ОГ и 23 (54,8%) ГС, также у 1 пациента ОГ - *S. pneumoniae*. АБТ была представлена следующими группами АБП: β-лактамы антибиотики (амоксциллин с клавулановой кислотой) получал – 1 (1,25%) ребенок из ГС, цефалоспорины – 19/50% ОГ & 17/40,5% ГС, макролиды и азалиды – 3 человека/ 7,9% ОГ & 2/4,7% ГС, АБТ со сменой антибиотика - 16 / 42,1% ОГ & 22/52,4% ГС. Длительность АБТ составила от 5 до 14 дней (Me 7 дней IQR (6-9) в ОГ & Me 7 IQR (6-8.25 дней) в ГС.

1.2 Динамика течения ВП у детей на фоне проводимой терапии

Изучены клинические симптомы ОРИ в сравниваемых группах. Установлено, что на 4 сутки гиперемия задней стенки глотки (ЗСГ) сохранялась у 15 (39,5%) ОГ & 28 (66,7%) ГС, $p=0,015$, зернистость ЗСГ была достоверно меньше в ОГ 12 (31,6%) & 28 (66,7%), $p=0,002$, а также региональная лимфаденопатия (ЛАП) сохранялись в ОГ у 8 (21,1%) & 19 (45,2%) в ГС. На момент выписки увеличение миндалин сохранялось только у 7 (16,7%) пациентов ГС, $p=0,012$. При поступлении в стационар у пациентов в сравниваемых группах отмечался кашель и снижение сатурации. Длительность кашля составила 6 суток

(IQR 6-8 суток) в обеих сравниваемых группах, $p=0,890$. В динамике у пациентов обеих групп наблюдалось возвращение сатурации к нормальным показателям в течение 3 дней.

Изучена ежедневная динамика лихорадочного синдрома в течение госпитализации. При поступлении в стационар у пациентов сравниваемых групп регистрировали повышение температуры одинаково часто, однако купирование лихорадки на 2 сутки происходило преимущественно у пациентов ОГ 15 человек (39,5 %) & 6 человек (14,3 %) ГС, $p=0,011$.

1.3 Динамика симптомов со стороны ЖКТ

У пациентов с осложненным течением ОРВИ на фоне проведения АБТ развиваются симптомы ААС 55 детей (68,75 % пациентов). При этом ААС развивался в 2 раза реже у детей, получавших пробиотик: в ОГ 17 детей (44,7 %), в ГС 38 детей (90,5 %), $p < 0,001$. При анализе динамики симптомов со стороны ЖКТ среди пациентов сравниваемых групп включение пробиотической коррекции в базисную терапию детей с ИНДП, достоверно способствовало нормализации аппетита, уменьшению вздутия живота, абдоминальных болей к 5 дню лечения. Так среди группы пациентов ОГ сниженный аппетит к 5 дню лечения отмечается реже – у 5 человек (13,2%), в то время как в ГС сохранялся в 2,5 раза чаще - 16 (38,1%), ($p=0,011$); метеоризм у пациентов, без пробиотической поддержки достигал максимальной выраженности в ГС – 13 человек (31,0 %) & ОГ – 4 человек (10,5%), $p=0,031$; боли в животе достоверно уменьшились у пациентов ОГ, и напротив, в ГС частота болей в животе среди пациентов выросла с 3 (7,1 %) до 8 человек (19,0 %), ($p=0,006$). Анализ характера стула в динамике по БШ позволил установить, что в ГС число пациентов с жидким стулом превышала 21,4% с 4-го по 8-й день наблюдения, а среди пациентов ОГ, получавших с первого дня АБТ пробиотик, регистрация жидкого стула не превышала 10,5% и была максимальной к 6-му дню АБТ, рисунок 2.

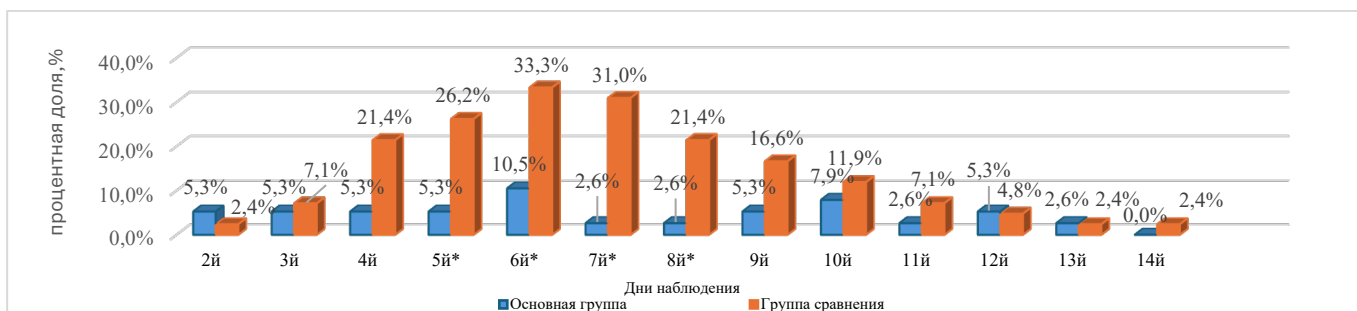


Рисунок 2 – Доля пациентов с регистрацией жидкого стула среди пациентов сравниваемых групп в динамике (* – $p < 0,05$)

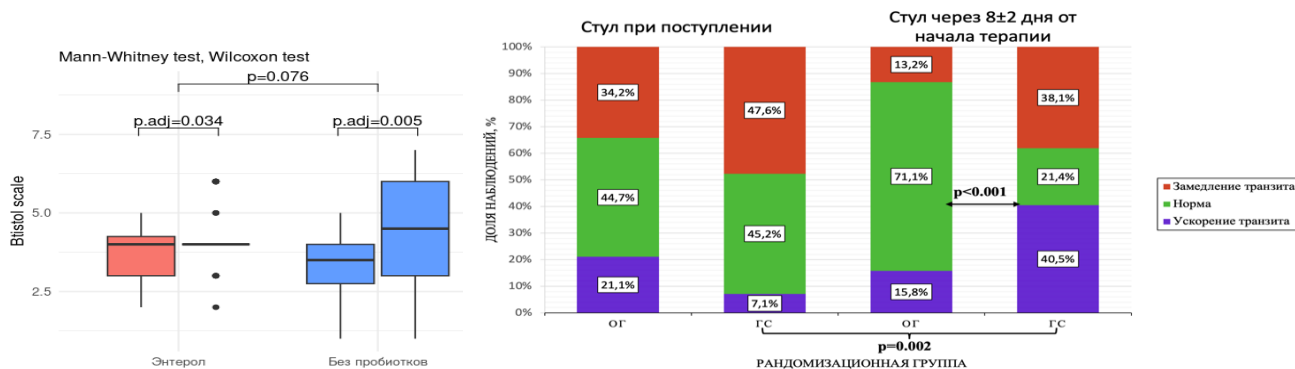


Рисунок 3 – Оценка кала в динамике по БШ у пациентов обследованных групп

Анализ характера стула по БШ в динамике представлен на рисунке 3. Анализ отклонения значений бальной оценки консистенции стула от нормы, согласно БШ, продемонстрировал значимое его улучшение в группе с включением пробиотика ($p=0,009$, критерий МакНемара) и не выявил улучшений у пациентов ГС ($p=0,169$). Влияние *S. boulardii* CNCM I-745 было статистически значимо ($p=0,005$, точный критерий Фишера).

Таким образом, тенденция к нормализации консистенции кала отмечалась у большинства пациентов ОГ, то время как в ГС показатель консистенции кала по БШ смещался в сторону умеренной диареи и проявлялась склонность к запорам.

1.4 Симптомы поражения кожных покровов и слизистых оболочек

Проанализированы в динамике, ассоциированные с изменением микробиоты поражения кожи и слизистых оболочек. Проявление сухости кожных покровов увеличилось в обеих сравниваемых группах, однако в ГС отмечалась чаще, $p=0,192$. Среди пациентов ОГ частота воспалительных изменения слизистой оболочки полости рта (стоматит) и наружных половых органов у девочек (гиперемия вульвы и выделения) оставалась без изменений в то время, как в ГС наблюдалось увеличение доли пациентов с данными симптомами на фоне проводимой АБТ, $p < 0,05$, Рисунок 4.

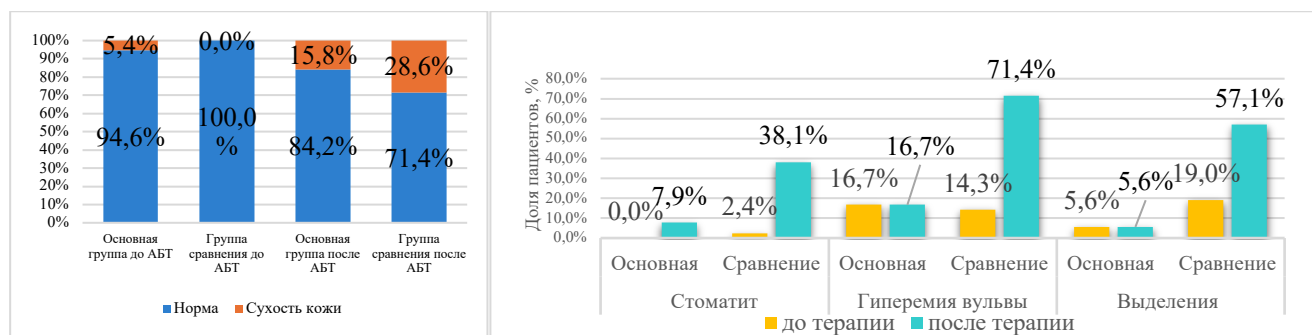


Рисунок 4 – Оценка состояния кожных покровов и симптомов поражения слизистых полости рта и гениталий у пациентов сравниваемых групп в динамике

Пациентам проводилось копрологическое исследование, которое включало оценку основных клиничко-лабораторных синдромов, отражающих нарушение полостного пищеварения, по данным которого, регистрировалось достоверно уменьшение креатореи, стеатореи 1 и 2 типа, лейкореи, выделения перевариваемой клетчатки, неперевариваемой клетчатки, что свидетельствует о том, что применение пробиотической коррекции достоверно купировало симптомы ААС и восстанавливало ферментативную активность поджелудочной железы.

1.5 Оценка изменения орофарингеальной, фекальной и генитальной (у девочек) микробиоты у детей с ИНДП

В дебюте осложненной формы ОРИ методом секвенирования гена 16S рНК установлено, что у пациентов до назначения АБТ существуют отличия от микробиоты условно здоровых детей. Они выражаются в грубых нарушениях альфа-разнообразия (индекс $Chao1=0$) и бета-разнообразия (расстояние Эйтчисона ($p=0,001$) и мера Брея-Кертиса ($p=0,019$ микробиоты ротовой полости, половых органов (индекс Шеннона $p=0,02$, индекс $Chao1=0,01$), расстояния Эйтчисона ($p=0,001$), мера Брея-Кертиса ($p=0,001$), в то время как кишечный микробиом остается более стабильным, что свидетельствует о большей ее устойчивости к внешним негативным воздействиям. Анализ

образцов микробиоты ротоглотки показал нарушения бета-разнообразия у пациентов в начале ИНДП: увеличилось количество условно-патогенных стрептококков. При этом среди орофарингеальных микроорганизмов, была обнаружена *Streptococcus pneumoniae*. При анализе образцов генитальной микробиоты детектировалось увеличение *Lactobacillus iners*, *Ureaplasma parvum*, *Mycoplasma hominis*, *Gardnerella vaginalis*. Фекальная микробиота оказалась единственным из изучавшихся локусов, которая не изменилась существенно, но в дебюте заболевания было отмечена тенденция к увеличению *Enterococcus faecium* и некоторых представителей рода *Bacteroides*. На фоне АБТ при исследовании орофарингеальной (рисунок 5), генитальной, фекальной микробиоты отмечается нарушение альфа- и бета-разнообразия микробиоты больных, а также отмечается углубление выраженности дисбиотических нарушений в особенности ротоглотки и гениталий. В то время как микробиота кишечника остается более стабильной, общее количество микроорганизмов в образцах кишечной микробиоты практически не изменилось. При анализе таксономического состава микробиоты ротоглотки после окончания АБТ выявили бактерии, доля которых существенно выросла, среди видов, преобладали различные *Streptococcus*, *Haemophilus* и *Rothia*. У пациентов с пробиотической коррекцией отмечается сохранение представителей комменсалов – стрептококков (*Streptococcus salivarius*, *Streptococcus viridans*, *Streptococcus A12*). У пациентов группы без пробиотической коррекции мы видим к моменту завершения АБТ снижение представителей нормальной микробиоты (комменсалов), таких как, *Streptococcus sanguinis*, *Abiotrophia defectiva*, *Neisseria mucosa*. Отметим, что общее количество бактерий в орофарингеальных образцах достоверно снизилось. Анализ орофарингеальной, кишечной и генитальной (у девочек) в сравниваемых группах на фоне АБТ одновременно с включением пробиотика *S. boulardii* CNCM I-745 не показал статистически значимых положительных или негативных изменений микробиоты образцов, собранных в одной и той же временной точке, в сравнении с собранными в разных временных точках. При оценке изменение соотношения микробов, ассоциированных со здоровьем и с заболеванием, у пациентов с ВП, получавших пробиотик во время АБТ, значимых изменений не обнаружено. Не изменилось и общее количество микроорганизмов в образцах.

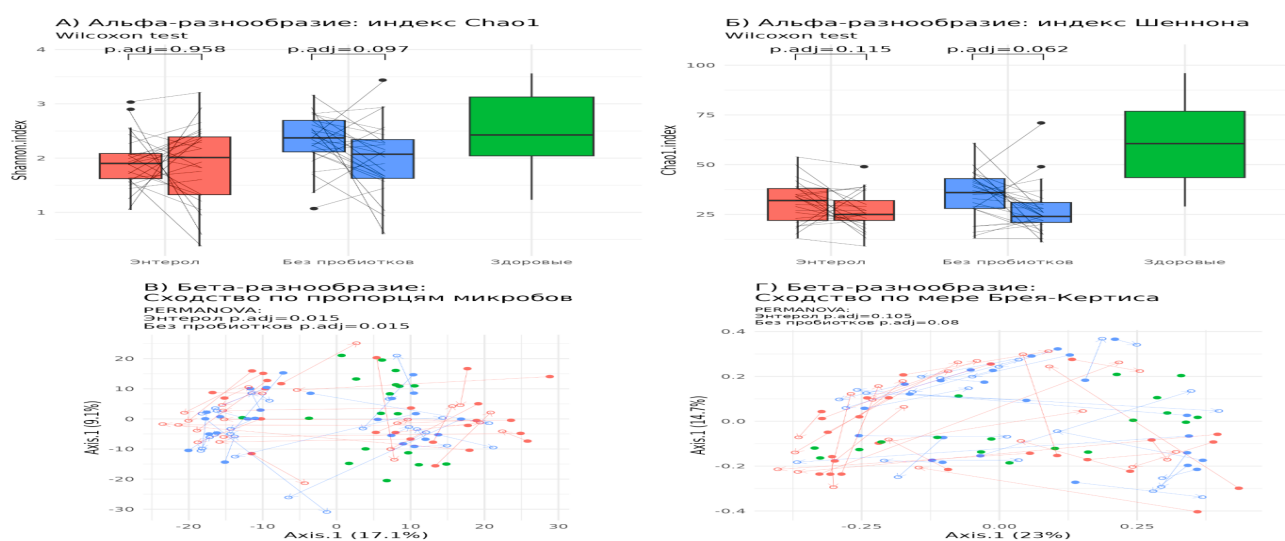


Рисунок 5 – Сравнение по альфа- и бета-разнообразию орофарингеальной микробиоты до и после АБТ

Таким образом, короткие курсы спородержающих пробиотиков в частности *S. boulardii* CNCM I-745 мало влияют на состояние микробиома, особенно ЖКТ. Данные о мультилокусном составе микробиоты, полученные с помощью новейших молекулярно-генетических методов свидетельствуют об изменениях, связанных как с болезнью, так и с АБТ.

Глава 2. Оценка профилактической эффективности мультикомпонентного пробиотика при аас у детей больных острой респираторной инфекцией

2.1. Оценка профилактической эффективности мультикомпонентного пробиотика при ААС у детей раннего возраста больных острой респираторной инфекцией

На данном этапе работы целью исследования явилось изучение протективных свойств мультикомпонентного пробиотика на фоне АБТ на состояние микробиома ЖКТ и развитие антибиотик-ассоциированных осложнений при ОРИ у детей. В исследование были включены 120 детей больных ОРИ средней степени тяжести, которые были распределены на 2 возрастные когорты. В 1 возрастную группу из 53 человек (44,2 %) входили дети от 1 года до 3 лет, во 2-ю возрастную группу из 67 человек (55,8 %) – от 3 до 7 лет. В терапию пациентов, в зависимости от возрастной характеристики, были включены мультиштаммовые пробиотические комплексы. В группе 1-3 лет распределение по гендерному признаку представлено 31 девочкой (58,5 %) и 22 мальчиками (41,5 %). В большинстве случаев у пациентов ОГ и ГС была диагностирована пневмония – их было 17 (63,0 %) и 20 человек (76,9 %) соответственно, $p > 0,05$. Синусит был диагностирован у пациентов обеих групп: у 4 детей (14,8 %) ОГ, против 3 детей (11,5 %) ГС, $p > 0,05$. У 4 пациентов (14,8 %) ОГ и 1 пациента (3,8 %) ГС наблюдался тонзиллит, $p > 0,05$. У 1 пациента (3,7 %) ОГ был диагностирован отит, $p > 0,05$. Пневмония с сопутствующим синуситом были диагностированы у 1 пациента (3,8 %) ГС, $p > 0,05$. Синусит с сопутствующим отитом наблюдался у 1 пациента (3,7 %) ОГ, $p > 0,05$. У 1 ребенка (3,8 %) ГС был диагностирован тонзиллит с сопутствующим ларингитом, $p > 0,05$. Пациенты 1 когорты сравниваемых групп получали АБТ, которая представлена следующими группами АБП: аминогликозиды (амикацин) получал 1 (3,7%) ОГ, цефалоспорины (цефотаксим, цефтриаксон) – 25 (92,6%) ОГ, 26 (100%) ГС, и АБТ со сменой АБП (цефотаксим на цефтриаксон) произошла у 1 (3,7 %) ОГ. Длительность АБТ составила от 5 до 15 дней (Me) 6 дней IQR (5-7 дней) в ОГ & Me 6 IQR (5-7 дней) в ГС.

При анализе клинических проявлений ОРИ у детей раннего возраста сравниваемых групп доминировали симптомы интоксикации. Купирование лихорадки, у пациентов ОГ в течение первых суток отмечали у 10 детей (37,0%), и только у 5 (19,2%) в ГС, уже на 3 сутки доля пациентов с лихорадкой была достоверно ниже в ОГ 22 (81,5%) & 14 (53,8%) ГС, $p=0.042$.

Изучены клинические симптомы ААС у пациентов с осложненным течением ОРИ средней степени тяжести в сравниваемых группах. При анализе самочувствия пациентов установлено, что до начала терапии, у 72% детей отметили повышенную раздражительность. К моменту выписки из стационара (7 ± 2 дня) выраженная раздражительность сохранялась в 11,1 % наблюдений в ОГ и в 57,7 % – в ГС, $p < 0,001$. В течение всего периода наблюдения (21 ± 2) мы оценивали выраженность симптомов со стороны ЖКТ у пациентов первой возрастной группы. Снижение аппетита наблюдали у

пациентов обеих сравниваемых групп раннего возраста. Однако на момент окончания АБТ терапии снижение аппетита наблюдалось в ГС – у 12 человек (46,2 %), в ОГ у 6 человек (22,2 %), $p = 0,086$. Продолжительность снижения аппетита за весь период наблюдения, представлена на рисунке 6. Анализ проявления симптома «боли в животе» в зависимости от рандомизационной группы за весь период наблюдения, представлен на рисунке 7. Продолжительность боли в животе (Me) у пациентов ОГ составила 0 суток (IQR от 0 до 1 суток), в ГС Me составила 1 сутки (IQR от 0 до 2 суток), $p=0,026$. Вздутие живота у пациентов фиксировали на протяжении всего периода наблюдения. Продолжительность проявления вздутия живота за весь период наблюдения (Me) в ОГ 2 суток (IQR 1-2 суток), в ГС Me составила 5 суток (IQR 3-6 суток), $p < 0,001$.

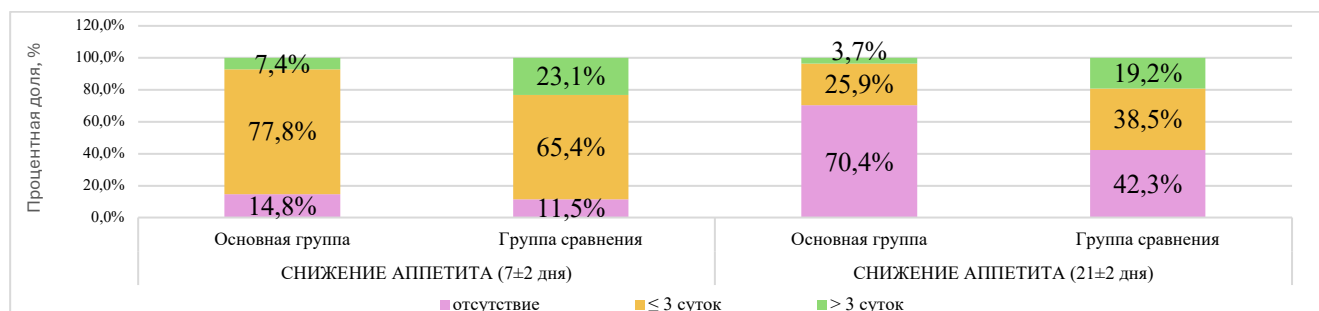


Рисунок 6 – Продолжительность снижения аппетита в зависимости от рандомизационной группы за весь период наблюдения

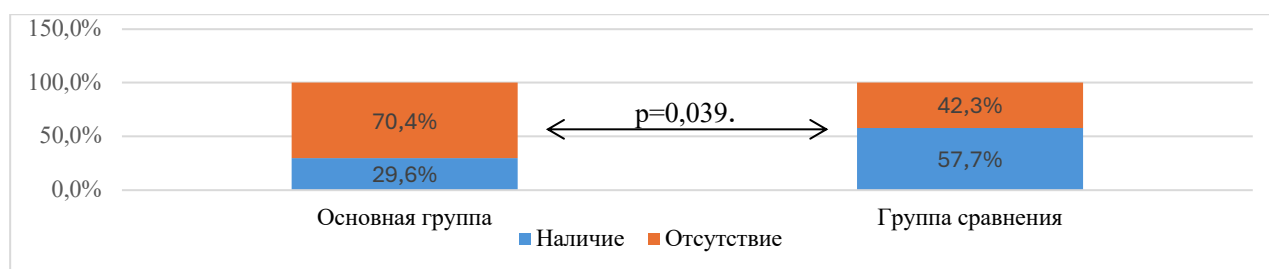


Рисунок 7 – Анализ проявления симптома «боли в животе» в зависимости от рандомизационной группы за весь период наблюдения

В период наблюдения за пациентами мы регистрировали увеличение или уменьшение кратности стула. До начала АБТ ни у одного из наблюдаемых детей частота стула не превышала 3 раз в сутки. По завершении АБТ учащение стула до пяти раз в сутки было отмечено у 2 пациентов (7,4 %) ОГ и у 22 детей (84,6 %) в ГС ($p < 0,001$). Через 21±2 дня от начала терапии у 7 детей (26 %) ГС, и у 2 детей (7,4 %) из ОГ сохранялось учащение стула, максимально до 3 раз в сутки, $p=0,08$. В ходе наблюдения задержка стула была зарегистрирована у 26 пациентов (96,3%) ОГ и у 23 пациентов (88,5%) ГС. Продолжительность (Me) задержки дефекации у детей возрастной когорты 1-3 года обеих групп составила 2 суток (IQR 2-3 суток).

У пациентов раннего возраста сравниваемых групп проводилась визуальная оценка характера стула по БШ, рисунок 8. При анализе консистенции кала по БШ в ОГ не было обнаружено статистически значимых изменений ($p>0,05$). В группе сравнения регистрировали значимое увеличение оценки к завершению АБТ ($p=0,0080$) и спад к первоначальным значениям к 21±2 дня от начала терапии ($t1$ и $t3$ $p=0,2174$). При оценке

кала по бристольской шкале в ГС показатель смещался в область умеренной диареи, тогда как в основной группе этого не наблюдалось.

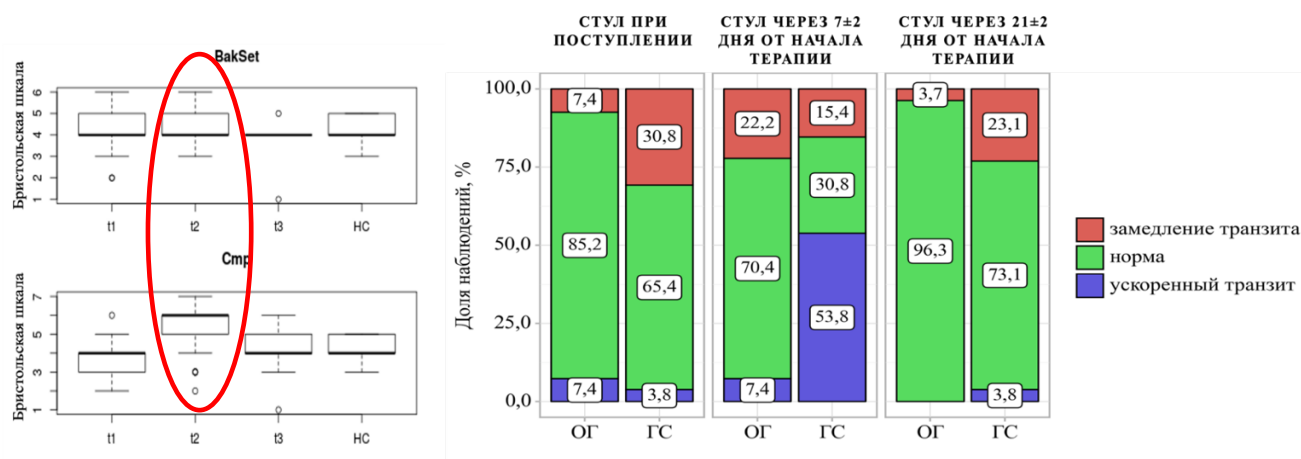


Рисунок 8 – Оценка кала в динамике по БШ у пациентов обследованных групп 1-3 лет

В период стационарного лечения пациентам проводилось копрологическое исследование. Применение пробиотической коррекции приводило к достоверному уменьшению креатореи, стеатореи 1 типа, лейкореи, выделения перевариваемой клетчатки, лиентореи, снижение йодофильной флоры что свидетельствует о восстановлении ферментативной активности поджелудочной железы, купировании симптомов ААС.

В ходе исследования установлено снижение альфа-разнообразия к моменту завершения АБТ (в ОГ $p=0,0951$, в ГС $p=0,1830$), однако в течение периода после окончания АБТ отмечалось повышение богатства микробиоты (парный тест Вилкоксона, в ОГ $p=0,0213$, в ГС $p=0,0230$) с достижением его значений до начала терапии (в ОГ $p=0,7241$, в ГС $p=0,5822$). При анализе бета-разнообразия ни в одной из сравниваемых групп не наблюдалось значимых изменений общего состава микробиоты (тест Манна-Уитни), рисунок 9, однако для каждой из групп были найдены таксономические единицы, доля которых значимо изменилась между любыми двумя временными точками.

На данном этапе исследования в ходе антибиотикотерапии в группе без пробиотической поддержки регистрировали изменение микробиоты дисбиотического характера: увеличение представленности рода *Enterococcus* и снижение представленности родов *Coprococcus*, *Collinsella*, *Bifidobacterium*. Однако данные изменения статистически значимо не отличались от изменений в ОГ (ANCOVA $p>0,05$). В период после АБТ происходило восстановление: снижение доли рода *Enterococcus* и увеличение представленности родов *Coprococcus*, *Dorea*, *Clostridium*, *SMB53* и неклассифицированного рода семейства *Clostridiaceae*. В группе с применением мультиштаммового пробиотика значимых изменений по какому-либо таксону не было детектировано ни для одной пары временных точек, что сопоставимо с незначительным изменением консистенции кала.

По результатам катamnестического наблюдения, в течение 3 месяцев, частота встречаемости эпизодов ОРИ (ОГ 6 человек (22,2 %) & в ГС 18 человек (69,2 %), $p < 0,001$) и ОКИ (5 человек (18,5 %) & ГС у 7 (26,9 %), $p < 0,05$) чаще наблюдалась у пациентов без пробиотической поддержки.

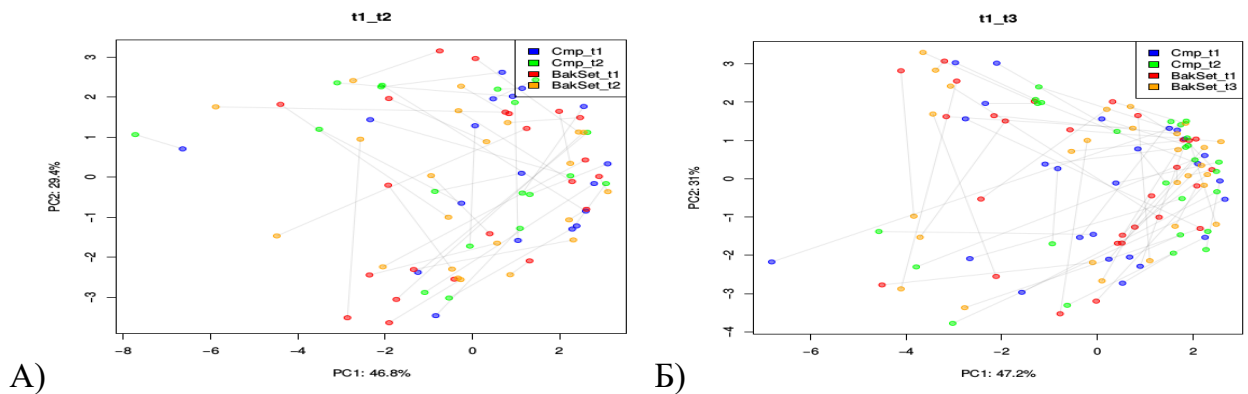


Рисунок 9 – Визуализация динамики состава микробиоты в возрастной группе 1-3 года между 3 временными точками по методу главных координат (PCoA)

2.2. Оценка профилактической эффективности мультикомпонентного пробиотика при ААС у детей дошкольного возраста больных острой респираторной инфекцией

При анализе возрастной когорты 3-7 лет пациенты были распределены ОГ – 35(52,2%), и ГС - 32 (47,8 %). В возрастной когорте 3-7 лет распределение по гендерному признаку представлено 36 девочками (53,7 %), 31 мальчиком (46,3 %). Группы сравнения были сопоставимы по сопутствующей патологии. В большинстве случаев у пациентов ОГ и ГС была диагностирована пневмония – 31 (88,6 %) и 19 (59,4 %) человек соответственно, $p > 0,05$. Синусит был диагностирован у пациентов обеих групп: у 3 (9 %) ОГ, против 9 (28%) ГС, $p > 0,05$. У 1 пациента (3 %) ОГ и 4 (13 %) ГС наблюдался тонзиллит, $p > 0,05$. Характер заболеваний в сравниваемых группах достоверных различий не имел. Пациенты обеих групп получали АБТ: цефалоспорины (цефотаксим, цефтриаксон) – 33 человека (94,3 %) в ОГ & 32 человека (100 %) ГС, и АБТ со сменой АБ (цефотаксим на цефтриаксон) произошла у 2 человек (5,7 %) ОГ. Длительность АБТ составила от 5 до 15 дней (Ме 6 дней IQR (6-7) в ОГ & Ме 6 IQR (5-7 дней) в ГС).

При анализе клинических проявлений болезни у детей дошкольного возраста в сравниваемых группах доминировали симптомы интоксикации. Продолжительность лихорадки в основной группе (Ме) составила 1 сутки (IQR 1–2 суток), в ГС – Ме 2 суток (IQR 1-3 суток), $p=0,076$. При анализе самочувствия пациентов до начала терапии повышенная раздражительность отмечалась в ОГ – 15 (42,9 %), ГС – 14 (43,8 %). К моменту завершения стационарного лечения (7 ± 2 дня) выраженная раздражительность сохранялась в 14,3 % наблюдений в ОГ, $p=0,004$ и в 34,4 % – в ГС, $p=0,084$.

Снижение аппетита наблюдали у пациентов обеих сравниваемых групп дошкольного возраста. Продолжительность снижения аппетита за все время наблюдения в ОГ (Ме) составила 2 сутки (IQR 0–3 суток), в ГС Ме составила 4 суток (IQR 2-6 суток), $p<0,001$. Боли в животе за все время наблюдения регистрировали у 4 человек (11,4 %) ОГ и у 11 человек (34,4 %) ГС, $p=0,039$. За время АБТ пациенты ГС в 2 раза чаще предъявляли жалобы на абдоминальные боли - 10 человек (31,2%), чем пациенты ОГ - у 4 человек (11,4%), $p=0,115$. После окончания АБТ в ГС боли в животе регистрировали у 8 человек (25 %), в ОГ - лишь у 2 человек (5,7 %), $p=0,039$. Вздутие живота у пациентов фиксировали на протяжении всего периода наблюдения. К моменту завершения стационарного лечения в ГС доля пациентов с метеоризмом увеличилась до 10 детей (31,2 %). В ОГ наблюдалась противоположная динамика: доля пациентов с этим симптомом снизилась в 2,5 раза и

составила 5 детей (14,3 %), $p=0,013$. При анализе продолжительности проявления вздутия живота за весь период наблюдения (Me) в ОГ 2 суток (IQR 0-2 суток), в ГС Me составила 4 суток (IQR 3-5 суток), $p < 0,001$. У обследуемых пациентов сравниваемых групп возрастной когорты 3-7 лет за время наблюдения отмечали замедление кишечного транзита и отсутствие стула в течение суток (запор). Продолжительность задержки стула (Me) в ОГ составила 2 суток (IQR 1-4 суток), в ГС 3 суток (IQR-2-4 суток), $p=0,058$. За весь период наблюдения за пациентами мы регистрировали увеличение или уменьшение кратности стула. На момент завершения АБТ учащение стула, максимально до 5 раз в сутки, было отмечено в ОГ у 7 пациентов (20 %) и в ГС у 20 (62,5 %), $p=0,002$. Через 21 ± 2 дня после начала терапии только у 9 детей (28,1 %) в ГС, и у 2 детей (5,7 %) в ОГ сохранялось повышение частоты стула максимально до 3 раз в сутки, $p=0,045$. При анализе консистенции кала по БШ в ОГ не было обнаружено статистически значимых изменений ($p > 0,05$). В ГС наблюдалось значимое увеличение оценки во 2 временной точке ($p=0,0127$) и спад к первоначальным значениям к 3 временной точке ($t1$ и $t3$ $p=0,3040$). Полученные данные представлены на рисунке 10. Для определения того, отличалась ли консистенция стула у пациентов от таковой у здоровых детей, было проведено сравнение образцов, полученных у детей из ОГ и ГС в каждой временной точке, с образцами группы здоровых. При межгрупповом анализе балл по БШ был статистически значимо выше в точке 2 у ГС, чем у детей ГЗ ($p=0,0037$, тест Манна-Уитни).

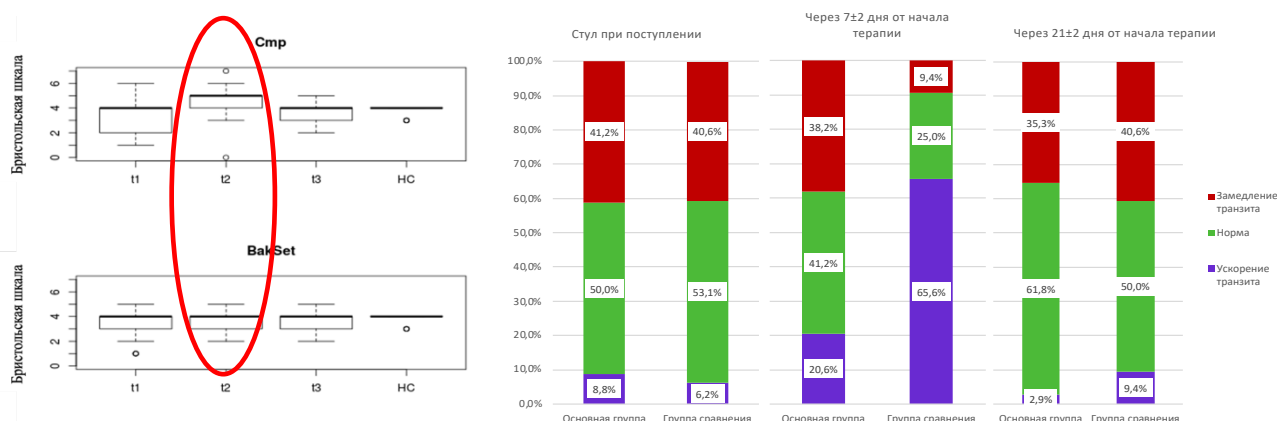


Рисунок 10 – Динамика характера стула при оценке по БШ в сравниваемых подгруппах детей дошкольного возраста

Пациентам проводилось копрологическое исследование, по данным которого регистрировали достоверное уменьшение креатореи, стеатореи 1 и 2 типа, слизи, выделения неперевариваемой клетчатки, что свидетельствует о восстановлении ферментативной активности поджелудочной железы, уменьшения проявления ААС.

Анализ возрастной группы 3-7 лет показал, что применение мультиштаммового пробиотического комплекса в течение антибактериальной терапии ($p > 0,05$), а также в течение периода после окончания этиологического лечения способствовало поддержанию богатства микробиоты (парный тест Вилкоксона, $p=0,0039$ в ОГ), и содействовало ее повышению в течение периода после окончания АБТ с достижением его значений до начала терапии ($t1-t3$, $p=0,2097$). Тем не менее эти изменения значимо не отличались от изменений в ГС, (ANCOVA, $p=0,1633$) p . shapiro 0,0528. В ГС не было установлено значимых изменений ни между одной из пар точек. При анализе бета-разнообразия ни в одной из сравниваемых групп не наблюдалось значимых изменений общего состава

микробиоты (рисунок 11), однако для каждой из групп были найдены таксономические единицы, доля которых значительно изменилась между любыми двумя временными точками. В ходе анализа бета-разнообразия возрастной когорты 3-7 лет у детей ГС более значительно снижалась доля *Bifidobacterium*, а также представителей, *Lachnospiraceae* семейства *Clostridiaceae*. В отличие от ГС, в группе с пробиотической коррекцией *Bifidobacterium* поддерживались на более постоянном уровне: значимых изменений во времени и отличия от группы здоровых детей для них не было найдено. Однако отмечалось снижение *Clostridiales*, представителей *Lachnospiraceae* и *Ruminococcaceae*, увеличение доли *Proteobacteria*, *Vacillales*. Отметим, что в постантibiотический период (от 7 ± 2 дня до 21 ± 2 дня) были установлены изменения, интерпретируемые как восстановление микробиома в каждой из групп (рост доли комменсальных таксонов; для ГС – снижение доли *Enterococcus*), особенно в группе, где применяли сочетание АБТ и мультиштаммового пробиотика. Полученные результаты сопоставимы с положительным воздействием мультиштаммового пробиотического комплекса на богатство микробиоты в течение АБТ, а также в течение периода после окончания этиологического лечения.

В ходе катamnестического наблюдения, в течение 3 месяцев, у пациентов с пробиотической терапией повторные ОРИ фиксировали у 11 человек (31,4%), в группе сравнения – у 23 человек (71,9%), $p < 0,001$. Эпизоды ОКИ в основной группе возникали у 4 человек (11,4%), в то время как в группе сравнения эпизоды ОКИ встречались в 2 раза чаще - 8 детей (25%).

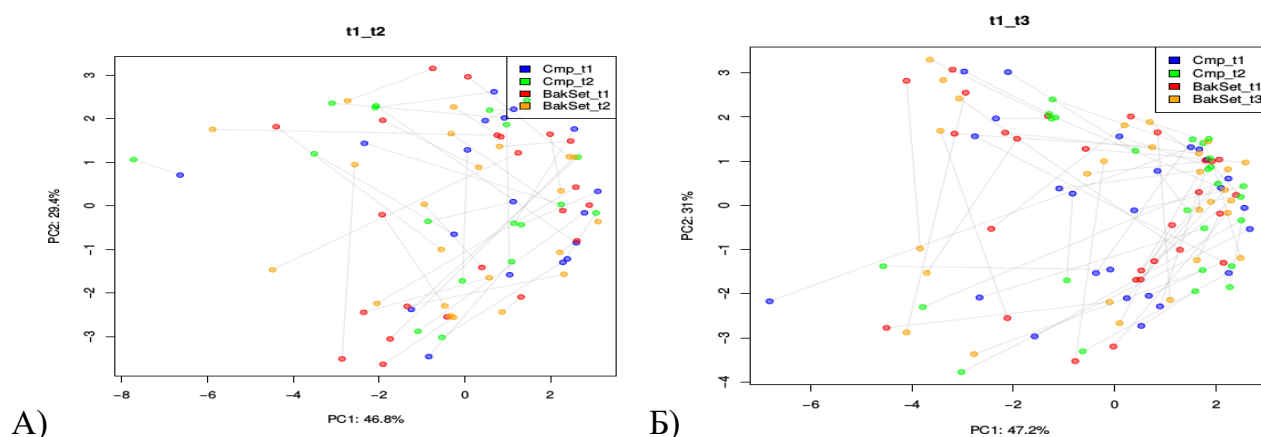


Рисунок 11 – Визуализация динамики состава микробиоты в возрастной группе 3-7 лет между 3 временными точками по методу главных координат (PCoA)

ГЛАВА 3. РАЗРАБОТКА АЛГОРИТМА ТАКТИКИ ВЕДЕНИЯ ДЕТЕЙ СТАРШЕ 1 ГОДА С ОСЛОЖНЕННЫМИ ФОРМАМИ ОРИ

Учитывая, что развитие ААС у пациентов с осложненной формой ОРИ влияет на качество жизни (снижение аппетита, жидкий стул, боли в животе, метеоризм), в период АБТ пациенты требуют персонализированный подход к медицинскому наблюдению и обследованию. Нами была разработан и апробирован в клинической практике алгоритм тактики ведения детей с осложненными формами ОРИ старше года, рисунок 12.

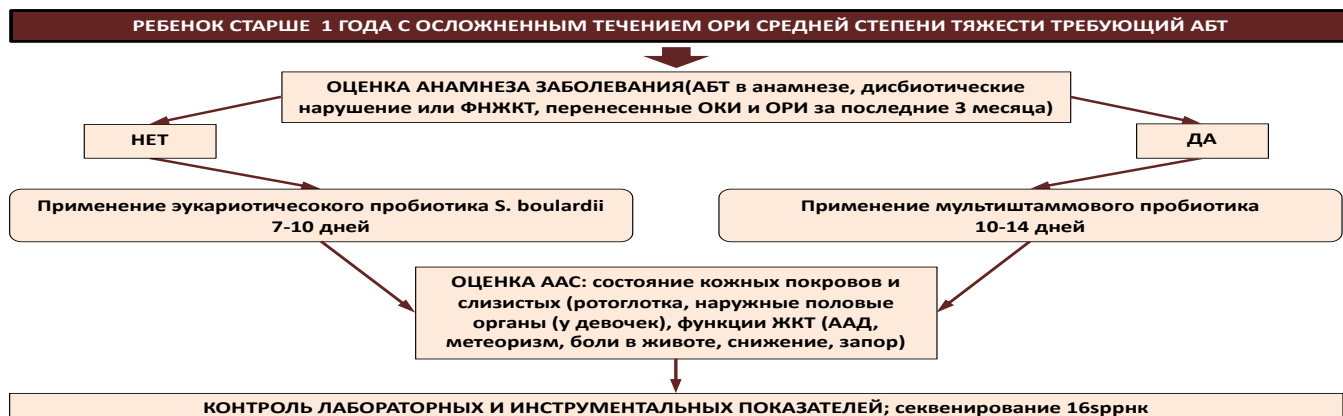


Рисунок 12 – Алгоритм тактики ведения детей с осложненной формой ОРИ средней степени тяжести

ВЫВОДЫ

1. У 68,75 % детей с осложненным течением ОРИ, на фоне назначения системной АБТ развиваются гастроинтестинальные и внекишечные (вульвовагинит, сухость кожных покровов) проявления ААС, которые у 11,25 % больных сохраняются на протяжении 5 суток и более. У 67,5 % детей развиваются гастроинтестинальные симптомы среди них изолированное нарушение ЖКТ-составило 28,75 %, у 17,5 % отмечается сочетанные нарушения ЖКТ и кожных покровов, у 17,5 % - ЖКТ и вульвовагинит, у 3,75 % нарушение одновременно со стороны ЖКТ, наружных половых органов и кожных покровов, 1,25 % детей вульвовагинит и сухость кожных покровов.

2. В дебюте острых респираторных инфекций у детей с помощью метода секвенирования гена 16S рНК образцов кала фиксируются мультилокусные нарушения микробиома наиболее выраженные в ротоглотке (индекс $Chao1=0$, расстояния Эйтчисона $p=0,001$, мера Брея-Кертиса $p=0,019$) и гениталиях (индекс Шеннона $p=0,02$, индекс $Chao1=0,01$, расстояния Эйтчисона $p=0,001$, мера Брея-Кертиса $p=0,001$), зависящих от возраста пациента, а также клинической формы заболевания, при этом микробиом ЖКТ более стабилен. Согласно методу ближайшего баланса микробы, ассоциированные со здоровьем, почти не встречались у пациентов, а микробы, ассоциированные с заболеванием, почти не встречались у здоровых.

3. Назначение АБТ у детей раннего возраста с осложненным течением ОРИ усугубляет выявленные изменения дисбиотического характера меняются соотношения микроорганизмов основного ядра микробиоты происходит увеличение представленности энтерококков, снижение количества бифидобактерий, родов копрококков, коллинселл, а также снижение доли ряда комменсальных клостридий. Тогда как у детей старшего возраста помимо снижения доли *Bifidobacterium*, представителей *Lachnospiraceae* (в том числе *Coproccoccus* и *Dorea formicigenerans*, *Dorea*, *Roseburia*), семейства *Clostridiaceae*, нескольких видов *Clostridiales* и *Ruminococcaceae*, увеличивается доля отдела *Proteobacteria*, порядка *Bacillales*.

4. Применение мультипробиотического комплекса в сочетании с антибактериальной терапией пациентам с осложненным ОРИ протективно влияет на длительность и выраженность симптомов интоксикации, а также частоту развития желудочно-кишечных расстройств, способствует восстановлению нормальной функции кишечника,

восстановлению микробиома, улучшает качество жизни пациентов, сокращая в течение 3 месяцев наблюдения частоту повторных респираторных и кишечных инфекций.

5. Включение эукариотического пробиотического препарата на основе штамма *Saccharomyces boulardii* CNCM I-745 коротким курсом в терапию детей старше одного года при инфекциях нижних дыхательных путей без фоновых заболеваний в период АБТ способствует более быстрому купированию симптомов интоксикации, катаральных явлений, региональной лимфоаденопатии, разрешению симптомов со стороны ЖКТ: боли в животе, диарейного синдрома, снижению склонности к запорам, а так же более редкому развитию внекишечных проявлений ААС, однако существенно не влияет на дисбиотические нарушения.

6. Разработанный и внедренный новый алгоритм терапевтической коррекции нарушений микробиома с использованием моно – или полиштаммовых пробиотиков и АБП при осложненных острых респираторных инфекциях у детей позволяет снизить риск неблагоприятного исхода, развития ААС, повторных инфекций, сократить сроки госпитализации и предложить пути реабилитации пациентов.

Практические рекомендации

1. Для своевременной профилактики антибиотик-ассоциированного синдрома у детей с осложненным течением острой респираторной инфекции необходимо проводить динамическую оценку проявления симптомов ААС, используя комплексный подход (клиническая симптоматика/объективный осмотр, оценка кала по Бристольской шкале).

2. Изменение таксономического состава кишечной микробиоты играет важную роль в развитии и прогрессировании ААС у пациентов с осложненным течением острой респираторной инфекции. Пациентам со среднетяжелой и тяжелой формой данного заболевания, рекомендовано исследование микробиома ротоглотки с использованием метода секвенирования бактериальных генов 16S рРНК в динамике болезни, что позволит привести к персонализированной терапии для коррекции микробного состава.

3. В стартовую терапию ОРИ с осложненным течением целесообразно включать мультиштаммовый пробиотический комплекс с *Lactobacillus* и *Bifidobacterium* начиная с первого дня антибактериальной терапии и на протяжении всего курса лечения, а также 14 дней после его завершения. что снижает риск возникновения антибиотик-ассоциированного синдрома, улучшает прогноз и повышает приверженность к терапии.

4. При инфекциях нижних дыхательных путей у детей с неотягощенным преморбидным фоном с первых дней АБТ курсом не менее 7 дней рекомендуется включать *Saccharomyces boulardii* CNCM I-745, что снижает риск возникновения симптомов поражения ЖКТ, а также экстраинтестинальных проявлений ААС.

Перспективы дальнейшей разработки темы

- Дальнейшее изучение и накопление данных о безопасности и эффективности более длительных курсов применения эукариотических штаммов пробиотиков и полиштаммовых пробиотических комплексов для профилактики и лечения различных инфекционных заболеваний.

- Использование современных технологий генетического секвенирования и метагеномики для детального анализа микробиоты и индивидуального подбора пробиотических препаратов.
- Продолжить изучение частоты развития ААС у детей различных возрастных групп с инфекционными заболеваниями.
- Продолжить накопление фактических данных по изменению микробиома различных локусов и их связи с инфекционными заболеваниями различной этиологии.
- Продолжить совершенствование и разработку схем рациональной пробиотикопревенции у пациентов с инфекционными заболеваниями различной этиологии на фоне АБТ для повышения ее эффективности и снижения антибиотикорезистентности.

СПИСОК ПУБЛИКАЦИЙ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Клинические формы коронавирусной инфекции COVID-19. Москва, 2024. – 48с. // Плоскирева А. А., Маржохова А.Р., Понежева Ж.Б., Лукьянов А.В., Алимова Л.К., **Дзотцоева Э.С.**, Горелов А.В.
2. **Дзотцоева, Э. С.** Профилактический потенциал *Saccharomyces boulardii* CNCM I-745 при антибиотик-ассоциированных осложнениях у детей с инфекцией нижних дыхательных путей / Э. С. Дзотцоева, А. В. Горелов // Проблемы эпидемиологии, терапии и лабораторной диагностики инфекционных заболеваний - 2024 : Сборник тезисов Научно-практической конференции молодых учёных и специалистов ФБУН ЦНИИЭ Роспотребнадзора, Москва, 29–30 мая 2024 года. – Москва: ЦНИИЭ Роспотребнадзора, 2024. – С. 38-39.
3. Влияние пробиотика *Saccharomyces boulardii* CNCM I-745 на развитие антибиотик-ассоциированного синдрома у детей, получающих системную антибактериальную терапию по поводу инфекций нижних дыхательных путей / А.В. Горелов, Д.В. Усенко, Е.В. Мелехина, А.Д.Музыка, **Дзотцоева Э.С.**, Кремплевская С.П., Крикун В.С. // Вопросы практической педиатрии. – 2024. – Т. 19, № 2. – С. 15-22. *
4. Влияние пробиотика *Saccharomyces boulardii* на частоту развития антибиотико-ассоциированного синдрома у детей / Д. В. Усенко, А. В. Горелов, Е. В. Мелехина, **Э.С. Дзотцоева**, С.П. Кремплевская // Сборник тезисов III Ежегодной конференции по инфекционным болезням "Покровские чтения", Москва, 30–31 октября 2023 года. – Москва. - 2023. – С. 72-73.
5. К вопросу о биоценозсберегающей терапии у детей с острыми респираторными инфекциями, получающих антибактериальную терапию / Е.В. Мелехина, **Э.С. Сидельникова**, А.Д. Музыка [и др.] // Инфекционные болезни в современном мире: эпидемиология, диагностика, лечение и профилактика: Сборник трудов XII Ежегодного Всероссийского интернет-конгресса по инфекционным болезням с международным участием, Москва, 07–09 сентября 2020 года / Под ред. В.И. Покровского. – Москва. - 2020. – С. 153-154.
6. Совершенствование превентивной микробиомсберегающей терапии при применении антибиотиков у детей с острыми респираторными инфекциями / А. В. Горелов, Е. В. Каннер, Е. В. Мелехина, **Э. С. Сидельникова** // Вопросы практической педиатрии. – 2020. - Т. 15, № 2. - С.41-50.*
7. **Дзотцоева, Э. С.** Оценка применения моноштаммовых и мультиштаммовых пробиотиков при респираторной патологии у детей / Э. С. Дзотцоева, А. В. Горелов // РМЖ. Медицинское обозрение. – 2020. – Т. 4, № 11. – С. 698-704. *
8. Горелов, А. В. Профилактика нарушений биоценоза у детей с острыми респираторными инфекциями, получающих антибактериальную терапию / А. В. Горелов, Е. В. Мелехина, **Э. С. Сидельникова** // РМЖ. – 2019. – Т. 27, № 10. – С. 26-31. – EDN SLNPOH.*
9. Горелов, А. В. Разработка патогенетически обоснованных подходов к терапии детей раннего возраста, больных острыми респираторными инфекциями, требующих назначения антибактериальных препаратов / А. В. Горелов, Е. В. Мелехина, **Э. С. Сидельникова** // Медицинский совет. – 2019. – № 17. – С. 208-216.

*поименованы в перечне ВАК Министерства образования и науки РФ

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

АБТ – антибактериальная терапия
АБП – антибактериальный препарат
ААД – антибиотик-ассоциированная диарея
ААС – антибиотик-ассоциированный синдром
БШ – Бристольская шкала
ВЗК – воспалительное заболевание кишечника
ВОЗ – Всемирная организация здравоохранения
ВП – внебольничная пневмония
ДНК – дезоксирибонуклеиновая кислота
ЖКТ – желудочно-кишечный тракт
ИНДП – инфекция нижних дыхательных путей
ИФА – иммуноферментный анализ
КЦЖК – короткоцепочечные жирные кислоты
ОКИ – острые кишечные инфекции
ОРИ – острые респираторные инфекции
ПЦР – полимеразная цепная реакция
РВИ – ротавирусная инфекция
РНК – рибонуклеиновая кислота
p-РНК – рибосомная рибонуклеиновая кислота
РФ – Российская Федерация
СРК – синдром раздраженного кишечника
СДИ – инфекция *Clostridioides difficile*