

## РЕЗУЛЬТАТЫ ПРИМЕНЕНИЯ КОМБИНИРОВАННОЙ ПРОБИОТИЧЕСКОЙ ТЕРАПИИ ДЛЯ КОРРЕКЦИИ НАРУШЕНИЙ МИКРОБИОЦЕНОЗА КИШЕЧНИКА БОЛЬНЫХ ТУБЕРКУЛЕЗОМ С МНОЖЕСТВЕННОЙ ЛЕКАРСТВЕННОЙ УСТОЙЧИВОСТЬЮ ВОЗБУДИТЕЛЯ

**ХОЛОДОВ АРТЁМ АНДРЕЕВИЧ**, ORCID ID: 0000-0001-5249-8822; клинический ординатор кафедры фтизиатрии ФГБОУ ВО «Кемеровский государственный медицинский университет» Минздрава России, Россия, 650029, Кемерово, улица Ворошилова, 22 А,

тел.: 8-384-2-54-56-51, e-mail: artyomkass96@gmail.com

**БРЮХАЧЕВА ЕКАТЕРИНА ОЛЕГОВНА**, ORCID ID: 0000-0001-5212-9234; ассистент кафедры фтизиатрии ФГБОУ ВО «Кемеровский государственный медицинский университет» Минздрава России, Россия, 650029, Кемерово, улица Ворошилова, 22 А

**ОТДУШКИНА ЛАРИСА ЮРЬЕВНА**, ORCID ID: 0000-0003-4126-4312; ассистент кафедры микробиологии, иммунологии и вирусологии ФГБОУ ВО «Кемеровский государственный медицинский университет» Минздрава России, Россия, 650029, Кемерово, улица Ворошилова, 22 А

**ЗАХАРОВА ЮЛИЯ ВИКТОРОВНА**, ORCID ID: 0000-0002-3475-9125; докт. мед. наук, доцент, доцент кафедры микробиологии, иммунологии и вирусологии ФГБОУ ВО «Кемеровский государственный медицинский университет» Минздрава России, Россия, 650029, Кемерово, улица Ворошилова, 22 А

**ПРИМКУЛОВА МАРИНА ВИКТОРОВНА**, ORCID ID: 0000-0003-1776-2098; ассистент кафедры фтизиатрии ФГБОУ ВО «Кемеровский государственный медицинский университет» Минздрава России, Россия, 650029, Кемерово, улица Ворошилова, 22 А

**ПЬЯНЗОВА ТАТЬЯНА ВЛАДИМИРОВНА**, ORCID ID: 0000-0002-4854-5734; проректор по научной, лечебной работе и развитию регионального здравоохранения, докт. мед. наук, доцент, заведующий кафедрой фтизиатрии ФГБОУ ВО «Кемеровский государственный медицинский университет» Минздрава России, Россия, 650029, Кемерово, улица Ворошилова, 22 А

**Реферат. Введение.** Около 90% пациентов фтизиатрического профиля имеют побочные реакции противотуберкулезной терапии в виде гастроинтестинальных нарушений. В настоящее время доказана роль нарушений кишечного микробиоценоза в формировании диспепсии. В свою очередь, диспептический синдром приводит к снижению приверженности пациентов к лечению, что отражается на эффективности лечения туберкулеза. Наиболее опасными в этом плане являются противотуберкулезные препараты II ряда, используемые в лечении лекарственно устойчивого туберкулеза. Длительный прием данных препаратов требует разработки и внедрения алгоритмов коррекции микробиологических нарушений кишечника. **Цель исследования** – оценить микробиологические результаты применения комбинированного пробиотика у лиц с туберкулезом и множественной лекарственной устойчивостью возбудителя в процессе противотуберкулезной терапии. **Материал и методы.** В проспективное линейное исследование включены 30 пациентов с туберкулезом органов дыхания и множественной лекарственной устойчивостью возбудителя. Исследование заключалось в двухэтапном исследовании микробиоценоза кишечного биотопа данных пациентов количественным бактериологическим методом до и после комбинированной пробиотической терапии с дальнейшим сравнением количества микроорганизмов. Статистическая обработка данных выполнена при помощи программы IBM SPSS. Качественные признаки представлены абсолютными и относительными частотами, выраженными в процентах с рассчитанными для них 95% доверительными интервалами по методу Уилсона (отн. % [95%ДИ]). Количественные данные представлены в работе в формате медианы и интерквартильного размаха (Ме (25-й; 75-й)). Для переменных, относящихся к порядковой шкале, и непараметрических количественных переменных использовали U-тест Манна-Уитни для сравнения двух групп наблюдений. Различия в сравниваемых группах считали статистически значимыми при статистической значимости менее 0,05. **Результаты и их обсуждение.** Применение комбинированной пробиотической терапии у больных туберкулезом с множественной лекарственной устойчивостью возбудителя не привело к компенсации дефицита облигатных микроорганизмов – *Bifidobacterium* spp., *Lactobacillus* spp. Однако, в процессе пробиотической терапии отметили снижение концентрации *Enterococcus* spp., *E. Coli* lac-, *E. Coli* hly+, *Streptococcus* spp., а также снижение титров и видовой структуры грибов рода *Candida*. Приведен клинический пример, показывающий микробиологическую и клиническую эффективность применения пробиотической терапии у пациента с ко-инфекцией ТБ/ВИЧ. Несмотря на полученные изменения не достигнуты среднелюляционные показатели по региону. **Выводы.** Установлено, что применение комбинированной пробиотической терапии у больных туберкулезом с множественной лекарственной устойчивостью возбудителя привело к снижению пула условно-патогенных микроорганизмов в просвете кишечника и оказало положительный клиническо-микробиологический эффект у пациента с ко-инфекцией ТБ/ВИЧ.

**Ключевые слова:** коррекция кишечной микрофлоры, микробиоценоз, диспептический синдром, туберкулез, множественная лекарственная устойчивость

**Для ссылки:** Результаты применения комбинированной пробиотической терапии для коррекции нарушений микробиоценоза кишечника больных туберкулезом с множественной лекарственной устойчивостью возбудителя / А.А. Холодов, Е.О. Брюхачева, Л.Ю. Отдушкина [и др.] // Вестник современной клинической медицины. — 2022. — Т. 15, вып. 2. — С.81—88. DOI: 10.20969/VSKM.2022.15(2).81-88

## RESULTS OF THE USE OF COMBINED PROBIOTIC THERAPY FOR THE CORRECTION OF INTESTINAL MICROBIOCENOSIS DISORDERS IN PATIENTS WITH MULTIDRUG-RESISTANT TUBERCULOSIS OF THE PATHOGEN

**KHOLODOV ARTYOM A.**, ORCID ID: 0000-0001-5249-8822; Clinical Resident of the Department of Phthiology, Kemerovo State Medical University, Russia, 650029, Kemerovo, Voroshilova Street 22 A, tel.: 8-384-2-54-56-51, e-mail: artiomkass96@gmail.com

**BRYUKHACHEVA EKATERINA O.**, ORCID ID: 0000-0001-5212-9234; Assistant of the Department of Phthiology, Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education "Kemerovo State Medical University" of the Ministry of Health of Russia, Russia, 650029, Kemerovo, Voroshilova Street 22 A, Department of Phthiology

**OTDUSHKINA LARISA Y.**, ORCID ID: 0000-0003-4126-4312; Assistant Professor of the Department of Microbiology, Immunology and Virology of the Kemerovo State Medical University, Russia, 650029, Kemerovo, Voroshilova Street 22 A

**ZAKHAROVA YULIA V.**, ORCID ID: 0000-0002-3475-9125; Doctor of Medical Sciences, Associate Professor, Associate Professor of the Department of Microbiology, Immunology and Virology of the Kemerovo State Medical University, Russia, 650029, Kemerovo, Voroshilova Street 22 A

**PRIMKULOVA MARINA V.**, ORCID ID: 0000-0003-1776-2098; Assistant Professor of the Department of Phthiology, Kemerovo State Medical University, Russia, 650029, Kemerovo, Voroshilova Street 22 A

**PYANZOVA TATYANA V.**, ORCID ID: 0000-0002-4854-5734; Vice-rector for scientific, medical work and the development of regional health care, Doctor of Medical Sciences, Associate Professor, Head of the Department of Phthiology of the Kemerovo State Medical University, Russia, 650029, Kemerovo, Voroshilova Street 22 A

**Abstract. Introduction.** About 90% of TB patients have side effects of anti-TB therapy in the form of gastrointestinal disorders. Currently, the role of disorders of the intestinal microbiocenosis in the formation of dyspepsia has been proven. In turn, dyspeptic syndrome leads to a decrease in patient adherence to treatment, which affects the effectiveness of tuberculosis treatment. The most dangerous in this regard are second-line anti-tuberculosis drugs used in the treatment of drug-resistant tuberculosis. Long-term use of these drugs requires the development and implementation of algorithms for the correction of microecological disorders of the intestine. The aim of the study was to evaluate the microbiological results of using a combined probiotic in persons with tuberculosis and multidrug-resistant pathogen in the course of anti-tuberculosis therapy. **Material and methods.** A prospective linear study included 30 patients with respiratory tuberculosis and multidrug-resistant pathogen. The study consisted in a two-stage study of the microbiocenosis of the intestinal biotope of these patients by a quantitative bacteriological method before and after combined probiotic therapy with a further comparison of the number of microorganisms. Statistical data processing was performed using the IBM SPSS program. Qualitative signs are represented by absolute and relative frequencies, expressed as a percentage, with 95% confidence intervals calculated for them by the Wilson method (rel.% [95% CI]). Quantitative data are presented in the work in the format of the median and interquartile range (Me (25th; 75th)). For variables related to the ordinal scale and nonparametric quantitative variables, the Mann-Whitney U test was used to compare the two groups of observations. The compared groups were considered statistically significant with a statistical significance of less than 0.05. **Results and discussion.** The use of combined probiotic therapy in patients with multidrug-resistant tuberculosis did not compensate for the deficiency of obligate microorganisms - Bifidobacterium spp., Lactobacillus spp. However, in the process of probiotic therapy noted a decrease in the concentration of Enterococcus spp., E. Coli lac-, E. Coli hly +, Streptococcus spp., as well as a decrease in the titers and species structure of fungi of the genus Candida. A clinical example showing the microbiological and clinical efficacy of probiotic therapy in a patient with co-infection TB / HIV. Despite the changes received, the average population indicators for the region have not been achieved. **Conclusion.** It was found that the use of combined probiotic therapy in patients with multidrug-resistant tuberculosis led to a decrease in the pool of opportunistic microorganisms in the intestinal lumen and had a positive clinical effect in a patient with TB / HIV co-infection.

**Key words:** correction of intestinal microflora, microbiocenosis, dyspeptic syndrome, tuberculosis, multidrug resistance

**For reference:** Kholodov EO, Bryukhacheva LYu, Otdushkina AA, Zakharova YuV, Primkulova MV, Pyanzova TV. Results of the use of combined probiotic therapy for the correction of intestinal microbiocenosis disorders in patients with multidrug-resistant tuberculosis of the pathogen. The Bulletin of Contemporary Clinical Medicine. 2022; 15 (2): 81—88. DOI: 10.20969/VSKM.2022.15(2).81-88

**В**ведение. Значимой проблемой при проведении противотуберкулезной терапии является необходимость профилактики и коррекции гастроинтестинальных расстройств, которые регистрируются с частотой до 90% пациентов, получающих противотуберкулезные препараты (ПТП) [1]. Рядом исследователей отмечается, что такие нарушения связаны с изменением кишечной микробиоты [2, 3]. Исходное состояние микробиоценоза у больных с впервые выявленным туберкулезом характеризовалось снижением количества облигатной микрофлоры кишечника и увеличением количества условно-патогенных микроорганизмов [4]. Нарушения микробиоценоза выявлены и при латентной туберкулезной инфекции при проведении химиопрофилактики [5]. Состояние микробиоценоза прогрессивно ухудшается с приемом ПТП и формированием необратимых изменений в биотопе.

Достаточно изучено влияние на степень нарушений микробиоценоза препаратов основного ряда [6, 7], однако проведение химиотерапии больных туберкулезом с множественной и широкой устойчивостью (МЛУ и ШЛУ) возбудителя характеризуется расширением спектра и длительности приема ПТП [8, 9, 10]. При этом вопросы состояния микробиоценоза кишечника у больных туберкулезом, получающих данную терапию изучено недостаточно. На современном этапе кишечный микробиом рассматривается как отдельный орган человека, который требует защиты, в том числе на законодательном уровне [11]. Разработка и внедрение алгоритмов коррекции гастроинтестинальных расстройств и нарушений микробиоценоза различных биотопов организма человека приведет к улучшению качества жизни пациента [12] и позволит избежать необратимых изменений микробиома [13, 14]. Кроме того, персо-

нифицированный подход к подбору пробиотических препаратов позволит таргетно компенсировать недостаток определенного пула бактерий без изменений основного состава микробиоценоза [15]. Вопрос влияния пробиотической терапии на закономерности формирования биотопа толстого кишечника, в том числе у пациентов, получающих противотуберкулезную терапию, остается неизученным.

**Цель исследования:** Оценить микробиологические результаты применения комбинированного пробиотика у лиц с туберкулезом и множественной лекарственной устойчивостью возбудителя в процессе противотуберкулезной терапии.

**Материал и методы.** Проведено проспективное линейное исследование на базе Кузбасского клинического фтизиопульмонологического медицинского центра им. И.Ф. Копыловой и научной лаборатории ФГБОУ ВО КемГМУ Минздрава России. Всеми пациентами подписано информированное добровольное согласие на исследование. В исследование включены 30 пациентов с туберкулезом органов дыхания, из них 9 женщин (30,0%) и 21 мужчина (70,0%). Средний возраст составил 45 (35,25; 50,75) лет. В структуре клинических форм туберкулеза преобладала инфильтративная у 13 чел. (43,3%) и диссеминированная у 11 чел. (36,7%), единичными случаями (по 3,3%) представлены туберкулез внутригрудных лимфоузлов, казеозная пневмония, фиброзно-кавернозный туберкулез легких, туберкулема, очаговый и цирротический туберкулез. В структуре сопутствующей патологии наблюдали синдром зависимости от алкоголя у 5 чел. (16,7%), а также в единичных случаях (по 3,3%) язвенную болезнь желудка, сахарный диабет 2 типа, псориаз и железодефицитную анемию. Среди исследуемой группы пациентов у 17 чел. (56,7%) установлен диагноз ВИЧ-инфекция. Медиана CD4+ лимфоцитов составила 230 (202,75; 279,25) кл/мкл. В среднем пациенты на момент развития СКД приняли 34,5 (30; 57,5) доз ПТП. В схемах химиотерапии пациентов присутствовали следующие ПТП: фторхинолоны принимали все пациенты (100%), бекваксин - 20 чел. (66,7%), протионамид - 27 чел. (90,0%), линезолид - 4 чел. (13,3%), аминогликозиды/полипептид - 26 чел. (86,7%), парааминосалициловая кислота - 6 чел. (20,0%), пипразинамид - 22 чел. (73,3%), циклосерин - 26 чел. (86,7%), этамбутол - 3 чел. (10,0%). Критериями включения в исследование явились наличие у пациента клинических проявлений синдрома кишечной диспепсии (СКД), туберкулез с МЛУ возбудителя, прием не менее 30-ти доз ПТП по IV или V режиму химиотерапии. Критериями исключения из исследования служили выраженный иммунодефицит (CD4 мене 200 кл/мкл), выраженные когнитивные нарушения, хронический вирусный гепатит, прием пробиотических препаратов в течение последних 2-х месяцев, отказ пациента от исследования. При развитии СКД противотуберкулезная терапия не прекращалась.

Исследование кала на микробиоценоз проводили в 2 этапа. На первом этапе определяли со-

стояние микрофлоры кишечника на момент развития СКД. Затем пациент проходил курс лечения комбинированным пробиотическим препаратом по 1 капсуле 2 раза в сутки в течение 21 дня под контролем медицинского персонала. Перечень пробиотических штаммов препарата представлен в таблице 1.

Таблица 1

**Перечень пробиотических штаммов препарата**

Table 1

**Composition of the probiotic preparation**

| Пробиотические микроорганизмы                      | Количество в суточной дозе |
|--|----------------------------|
| <i>Bifidobacterium bifidum</i>                     | 1,6x10 <sup>9</sup> КОЕ    |
| <i>Bifidobacterium animalis</i>                    | 6x10 <sup>8</sup> КОЕ      |
| <i>Bifidobacterium spp.</i> , <i>vcero</i>         | 2,2x10 <sup>9</sup> КОЕ    |
| <i>Lactobacillus casei</i>                         | 1,2x10 <sup>9</sup> КОЕ    |
| <i>Lactobacillus plantarum</i>                     | 6x10 <sup>8</sup> КОЕ      |
| <i>Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus</i> | 6x10 <sup>8</sup> КОЕ      |
| <i>Lactobacillus acidophilus</i>                   | 2x10 <sup>8</sup> КОЕ      |
| <i>Lactobacillus spp.</i> , <i>vcero</i>           | 2,6x10 <sup>9</sup> КОЕ    |

На 2-ом этапе, через 7 дней после завершения комбинированной пробиотической терапии (время полного выведения пробиотических микроорганизмов из просвета кишечника), проводили повторное микробиологическое исследование кала.

В исследовании использовали количественный культуральный метод. Материал забирали в стерильный контейнер и транспортировали в лабораторию в течение 2 часов. Сначала готовили разведения материала от 10<sup>-1</sup> до 10<sup>-9</sup> и определяли pH материала. Затем производили посев на селективные питательные среды. Для выделения бифидофлоры засеивали на Бифидум-среду, для лактобактерий – Тиогликолевую среду, для энтерококков – Энтерококк-агар, для энтеробактерий – среду Эндо, для стафилококков – желточно-солевой агар, для грибов – среду Сабуро, для клостридий – среду Вильсона-Блэра. Микробы идентифицировали по особенностям биохимических свойств (тест-системы АНАЭРО-TEST 23 Lachemadiagnostica s.r.o., Чехия, STAPHYtest 16 Lachema diagnostica s.r.o, Чехия, ENTEROtest 24 Lachema diagnostica s.r.o, Чехия, AUXOCOLOR BioRad, Франция), а также комплекса морфологических, культуральных и тинкториальных свойств. Результаты выражали в Ig КОЕ/г с пересчетом на грамм

материала. Интерпретацию результатов осуществляли на основании статистических методов исследования и региональных норм и отраслевого стандарта [16, 17].

Статистическая обработка данных выполнена при помощи программы IBM SPSS. Качественные признаки представлены абсолютными и относительными частотами, выраженными в процентах с рассчитанными для них 95% доверительными интервалами по методу Уилсона (отн. % [95%ДИ]). Количественные данные представлены в работе в формате медианы и интерквартильного размаха (Me (25-й; 75-й)). Для переменных, относящихся к порядковой шкале, и непараметрических количественных переменных использовали U-тест Манна-Уитни для сравнения двух групп наблюдений. Различия в сравниваемых группах считали статистически значимыми при значении  $p$  менее 0,05.

**Результаты и их обсуждение.** При оценке pH исследуемого материала установлено, что кислотно-основное состояние в процессе комбинированной пробиотической терапии не изменилось – 6 (6; 6,75) против 6,5 (5; 7) ( $p=0,143$ ).

Количество представителей облигатной микрофлоры кишечного биотопа также оставалось неизменным. Например, концентрация *Bifidobacterium* spp. в процессе наблюдения увеличилась с 7,5 (4; 9) IgKOE/г до 8 (7; 8) IgKOE/г, что не являлось статистически значимым ( $p=0,249$ ). Различий в концентрации *Lactobacillus* spp. также не выявлено, концентрация этих бактерий до пробиотикотерапии была в пределах 4 (4; 6) IgKOE/г, а после нее – в пределах 6 (5; 8) IgKOE/г ( $p=0,052$ ). После эксперимента количество данных представителей облигатной микрофлоры кишечника оставалось ниже средних по региону (9,5 (9; 10) IgKOE/г для бифидофлоры и 7,5 (7; 8) IgKOE/г для лактофлоры).

В ходе исследования наблюдали положительные сдвиги в количестве различных штаммов *E. coli*. Достоверные различия регистрировали среди *E. coli lac-* ( $p=0,028$ ) и *E. coli hly+* ( $p=0,001$ ). Однако, концентрация типичной кишечной палочки (*E. coli lac+*) не изменилась под действием биологических препаратов ( $p=0,127$ ). Несмотря на выраженную положительную динамику состояния микробиоценоза, концентрации его представителей отличались от средних по региону (см. таблицу 2).

Сравнительная характеристика количества представителей группы кишечной палочки при применении комбинированной пробиотической терапии

Таблица 2

Comparative characteristics of the number of representatives of the *E. coli* group when using combined probiotic therapy

Table 2

| Кишечная палочка (n=30) | Штамм               | Концентрация до эксперимента, IgKOE/г | Концентрация после эксперимента, IgKOE/г | Значимость различий (p) | Региональная норма, IgKOE/г |
|-------------------------|---------------------|---------------------------------------|--|-------------------------|-----------------------------|
|                         | <i>E. coli lac+</i> | 6,5 (5; 7)                            | 7 (6; 7)                                 | 0,127                   | 7,5 (7; 8)                  |
|                         | <i>E. coli lac-</i> | 4 (4; 7)                              | 4 (4; 5)                                 | 0,028                   | 3 (2; 4)                    |
|                         | <i>E. coli hly+</i> | 4 (4; 4)                              | 4 (4; 5,75)                              | 0,001                   | 3 (2; 4)                    |

Количество прочих представителей грамотрицательной микробиоты кишечного биотопа после проведения терапии пробиотиками статистически значимо не изменилось. Такая закономерность была отмечена для представителей родов *Klebsiella* spp., *Proteus* spp., для условно-патогенных клостридий, а также для других, не идентифицированных до рода, условно-патогенных энтеробактерий.

Для ряда грамположительных представителей условно-патогенной кишечной микрофлоры в результате проведенной пробиотической терапии были получены статистически значимые отличия. Отмечено значительное снижение концентрации стрептококков, особенно с гемолитической активностью, с 4 (4; 4) IgKOE/г до 2 (2; 4) IgKOE/г ( $p=0,0001$ ), что приблизило данный показатель к среднепопуляционному. Также чувствительными

к пробиотической терапии оказались представители рода *Enterococcus* spp., количество которых до эксперимента было снижено по сравнению с нормой – 5 (4; 6) IgKOE/г, а после терапии стало нормальным – 6 (5; 7) IgKOE/г ( $p=0,033$ ). Однако, изменения не коснулись пула стафилококков. Концентрация *S. epidermidis* до комбинированной пробиотикотерапии была 2 (2; 4) IgKOE/г, а после нее стала равна 4 (2; 4) IgKOE/г ( $p=0,204$ ). *S. aureus* до и после эксперимента наблюдали в количестве  $<10^2$  IgKOE/г ( $p=0,639$ ). Стафилококки с гемолитической активностью высевали в концентрации 4 (4; 4) IgKOE/г до исследования, а после эксперимента их концентрация составила 4 (3,25; 4) IgKOE/г ( $p=0,114$ ). Сравнение полученных значений с региональными нормами представлено в таблице 3.

Концентрации представителей грамположительной микрофлоры под воздействием комбинированной пробиотической терапии

Table 3

Concentrations of representatives of gram-positive microbiota under the influence of combined probiotic therapy

| Род                 | Вид         | Концентрация до эксперимента, IgKOE/г | Концентрация после эксперимента, IgKOE/г | Значимость различий (p) | Региональная норма, IgKOE/г |
|---------------------|-------------|---------------------------------------|--|-------------------------|-----------------------------|
| Staphylococcus spp. | epidermidis | 2 (2; 4)                              | 4 (2; 4)                                 | 0,204                   | 4 (3; 5)                    |
|                     | aureus      | 2 (2; 2)                              | 2 (2; 2)                                 | 0,639                   | 2 (1; 3)                    |
|                     | Hly+        | 4 (4; 4)                              | 4 (3,25; 4)                              | 0,114                   | 3 (2; 4)                    |
| Streptococcus spp.  | Hly+        | 4 (4; 4)                              | 2 (2; 4)                                 | 0,0001                  | 3 (2; 4)                    |
| Enterococcus spp.   |             | 5 (4; 6)                              | 6 (5; 7)                                 | 0,033                   | 6,5 (6; 7)                  |

Основным и легко диагностируемым индикатором микробиологических нарушений является выделение микромицет рода *Candida* из различных биотопов организма человека. На до- и пост- экспериментальном этапе грибы рода *Candida* выделены у всех пациентов, включенных в исследование. Однако, до приема пробиотика идентифицировать до рода удалось 24 (80,0%) штамма кандид, а после его приема – 20 (66,7%) штаммов этого рода. Концентрация представителей данного рода в исследуемом материале до эксперимента составила 4 (4; 5) IgKOE/г, а после него – 4 (2; 4) IgKOE/г ( $p=0,029$ ). Под влиянием комбинированной пробиотической терапии концентрация *Candida* spp. приблизилась к региональной норме, которая составляет 3 (2; 4) IgKOE/г. Изучение видового разнообразия выделенных грибов рода *Candida* позволяет сказать об эффективности биологических препаратов на основе *Bifidobacterium* spp. и *Lactobacillus* spp. в комбинации с пребиотиками. До эксперимента *C. albicans* выделяли у 17 (70,8%) пациентов, *C. kefyr* у 5 (20,8%) пациентов, *C. ciferii* у 2 (8,4%) пациентов. После эксперимента *C. albicans* регистрировали в 19 (95,0%) случаях, и единичном случае (5,0%) находили *C. ciferii* (см. рисунок).

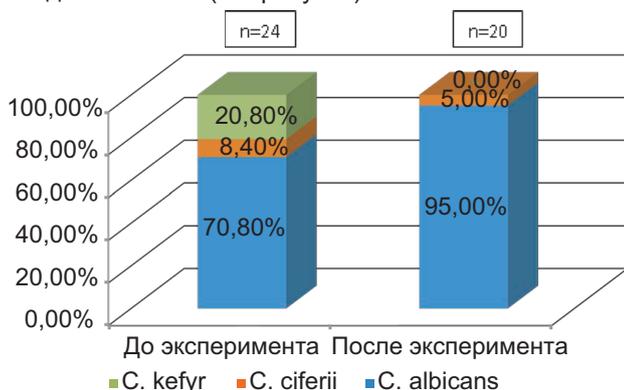


Рисунок 1. Динамика видового разнообразия грибов рода *Candida* в процессе пробиотической терапии больных туберкулезом

Figure 1. The dynamics of the species diversity of fungi of the genus *Candida* in the process of probiotic therapy of patients with tuberculosis

Концентрация плесневых грибов, так же как аэробных бактерий, не менялась и не превышала пороговых значений на протяжении всего эксперимента -  $<102$  IgKOE/г ( $p=0,056$  и  $p=0,462$  соответственно).

Таким образом, при комплексном анализе микробиоценоза кишечника больных туберкулезом определена степень дисбиоза на до- и после экспериментальном этапе. До проведения курса комбинированной пробиотической терапии равновесие склонялось в сторону III степени нарушений, которую наблюдали у 15 чел. (50,0%), со II степенью – 12 чел. (40,0%), с I степенью 3 пациента (10,0%). После курса пробиотической терапии отмечено преобладание I степени дисбиоза. С ней наблюдали 12 чел. (40,0%), так же как и со второй степенью микробиологических нарушений, а III степень встречали у 6 чел. (20,0%).

Статистически значимых различий не получено при сравнении количества представителей микрофлоры кишечника у лиц с различным ВИЧ статусом. Количество *Bifidobacterium* spp. выросло на 2 (1; 3) IgKOE/г у лиц с ко-инфекцией ТБ/ВИЧ и на 1 (2; 3) IgKOE/г у лиц с моноинфекцией туберкулеза ( $p=0,648$ ). Средняя прибавка *Lactobacterium* spp. составила 1 (1,25; 2,5) IgKOE/г и 1 (2; 3) IgKOE/г соответственно ( $p=0,254$ ). Также значимых различий не получено при исследовании грамотрицательных: *E. Coli* ( $p=0,859$ ), *Klebsiella* spp. ( $p=0,258$ ), *Proteus* spp. ( $p=0,115$ ), другие энтеробактерии ( $p=0,090$ ) и грамположительных: *Enterococcus* spp. ( $p=0,106$ ), *Streptococcus* spp. ( $p=1,000$ ), *Staphylococcus* spp. ( $p=0,089$ ). Грибы рода *Candida* уменьшились в количестве в среднем на 2 (1; 3) в группе пациентов с ВИЧ инфекцией и на 2 (2; 2) IgKOE/г у ВИЧ негативных пациентов ( $p=0,856$ ).

Приводим клиническое наблюдение коррекции синдрома кишечной диспепсии у больного туберкулезом с МЛУ возбудителя, получавшего лечение по IV режиму химиотерапии. Пациент 46 лет проходил стационарное лечение с 16.03.2021г. по 31.08.2021г. в отделении терапии туберкулеза легких с диагнозом диссеминированный туберкулез легких в фазе инфильтрации с выделением ми-

кробактерий туберкулеза и МЛУ (лекарственная устойчивость к изониазиду, рифампицину, стрептомицину, этамбутолу и пиперазину), I группа диспансерного учета. С 2017 года у пациента установлена ВИЧ-инфекция, в настоящее время фаза вторичных заболеваний IVB, фаза стабилизации на фоне антиретровирусной терапии (получает терапию с 2019 года). Уровень CD4+ лимфоцитов на момент начала приема ПТП составляла 320 кл/мкл, вирусная нагрузка – 4516 коп/мл.

Из анамнеза установлено, что пациент ранее туберкулезом не болел, контакта с больным туберкулезом не выявлено. Туберкулез диагностирован при обращении в поликлинику с жалобами на повышение температуры до 38°C, слабость, установлены рентгенологические признаки диссеминированного процесса в легких, в мокроте обнаружена ДНК МБТ,

лекарственная устойчивость МБТ к рифампицину. Госпитализирован в противотуберкулезный стационар, начато лечение по IV режиму химиотерапии с 16.03.2021 по схеме: бедаквилин 0,4г 14 дней, затем 0,2 г через день, пиперазинид 2,0, спарфлоксацин 0,2, капреомицин 1,0 внутримышечно, протионамид 0,75, парааминосалициловая кислота 10,0 (вес 60,2 кг). Антиретровирусная терапия продолжена по прежней схеме: ламивудин 0,3, тенофовир 0,3, эфавиренз 0,05. На фоне лечения с 23.03.2021 появились боли в животе, чередование диареи и запоров. Прием спазмолитической терапии и лоперамида эффекта не дал. В результате посева кала на микрофлору от 01.04.2021 выявлено снижение концентрации облигатных микроорганизмов, повышение концентрации транзиторных и условно-патогенных бактерий, II степень дисбиоза кишечника (см. таблицу 4).

Таблица 4

**Динамика концентрации представителей микробиоценоза кишечника в результате комбинированной пробиотической терапии**

Table 4

**Dynamics of the concentration of representatives of intestinal microbiocenosis as a result of combined probiotic therapy**

| микроорганизм        | Количество микроорганизмов в 1 грамме материала (до курса) | Количество микроорганизмов в 1 грамме материала (после курса) | Норма                             |
|----------------------|--|---|-----------------------------------|
| Bifidobacterium spp. | 1*10 <sup>7</sup>  | 1*10 <sup>9</sup>   | 10 <sup>9</sup> -10 <sup>10</sup> |
| Lactobacillus spp.   | 1*10 <sup>6</sup>  | 1*10 <sup>6</sup>   | 10 <sup>7</sup> -10 <sup>8</sup>  |
| Clostridium spp.     | 3*10 <sup>5</sup>  | <10 <sup>4</sup>  | <10 <sup>5</sup>                  |
| E. coli lac+         | 1,5*10 <sup>5</sup>  | 1*10 <sup>8</sup>   | 10 <sup>7</sup> -10 <sup>8</sup>  |
| E. coli lac-         | <10 <sup>4</sup>   | <10 <sup>4</sup>  | <10 <sup>4</sup>                  |
| E. coli hly+         | <10 <sup>4</sup>   | <10 <sup>4</sup>  | <10 <sup>4</sup>                  |
| S. epidermidis       | <10 <sup>4</sup>   | <10 <sup>4</sup>  | <10 <sup>5</sup>                  |
| S. aureus            | <10 <sup>2</sup>   | <10 <sup>2</sup>  | <10 <sup>3</sup>                  |
| E. faecalis          | 2*10 <sup>5</sup>  | 1*10 <sup>6</sup>   | 10 <sup>6</sup> -10 <sup>7</sup>  |
| Candida spp.         | 3*10 <sup>4</sup>  | <10 <sup>4</sup>  | <10 <sup>4</sup>                  |
| Плесневые грибы      | <10 <sup>2</sup>   | <10 <sup>2</sup>  | <10 <sup>1</sup>                  |
| Klebsiella spp.      | <10 <sup>4</sup>   | <10 <sup>4</sup>  | <10 <sup>4</sup>                  |
| Др. УПЭБ1            | 3*10 <sup>5</sup>  | <10 <sup>5</sup>  | <10 <sup>4</sup>                  |
| pH                   | 6,5  | 5,0   | 4,8-5,0                           |

Примечание: 1 - Др. УПЭБ – другие условно-патогенные энтеробактерии.

С 08.04.2021 по 28.04.2021 пациент получал комбинированную пробиотическую терапию. На фоне лечения клинические проявления диспепсии купированы на 7-е сутки от старта терапии, при динамическом наблюдении за пациентом рецидив диспептического синдрома в течение 30-ти дней от окончания пробиотической терапии не отмечен. После выведения препарата из кишечника, 03.05.2021 выполнено повторное бактериологическое исследование кала, по результатам которого нормализовалась концентрация большинства представителей микробиоценоза кишечника.

В вышеописанном примере показана клиническая и микробиологическая эффективность использования комбинированной пробиотической терапии у больного туберкулезом с множествен-

ной лекарственной устойчивостью возбудителя в сочетании с ВИЧ-инфекцией для купирования возникшего на фоне приема противотуберкулезной терапии СКД, не поддававшегося симптоматической терапии.

Таким образом, под влиянием комбинированной пробиотической терапии отмечены положительные сдвиги в составе облигатной микрофлоры кишечника, особенно в пуле Bifidobacterium spp. (p=0,040). Также, положительная динамика отмечалась в разнообразии представителей E. coli, а именно E. Coli lac- (p=0,028), hly+ (p=0,001). Необходимо отметить значимую микробиологическую динамику среди грамположительной микрофлоры. Так, положительные сдвиги отмечали среди представителей Streptococcus spp. (p=0,0001), Enterococcus

spp. ( $p=0,033$ ). Отдельного внимания заслуживают показатели наличия грибов рода *Candida*, которые в процессе пробиотикотерапии уменьшились как количественно ( $p=0,029$ ), так и качественно, в плане видового разнообразия. В целом, снизилось количество регистрируемых микробиологических нарушений III степени (с 50% до 20%), при росте количества нарушений I степени (с 10% до 40%).

В представленном клиническом наблюдении показана как микробиологическая, так и клиническая эффективность использования комбинированной пробиотической терапии у пациента с ко-инфекцией ТБ/ВИЧ и МЛУ возбудителя туберкулеза в ситуации развившегося СКД на фоне приема ПТП, неподдающегося симптоматической терапии.

**Выводы:** На фоне комбинированной пробиотической терапии у больных туберкулезом с МЛУ возбудителя отмечено снижение выраженности дисбиотических изменений кишечного биотопа с преобладанием I степени микробиологических нарушений.

При применении комбинированного пробиотика у больных туберкулезом с МЛУ возбудителя не отмечено восстановление количественного состава представителей облигатной микробиоты кишечника.

При приеме курса комбинированной пробиотической терапии снижалась концентрация грамположительных стрептококков ( $p=0,0001$ ), энтерококков ( $p=0,033$ ) и представителей группы кишечной палочки с разной активностью – lac- ( $p=0,028$ ), hly+ ( $p=0,001$ ).

В процессе пробиотической терапии отмечено как снижение количества грибов рода *Candida* ( $p=0,029$ ), так и уменьшение их видового разнообразия.

**Прозрачность исследования.** Исследование не имело спонсорской поддержки. Авторы несут полную ответственность за предоставление окончательной версии рукописи в печать.

**Декларация о финансовых и других взаимоотношениях.** Все авторы принимали участие в разработке концепции и дизайна исследования и в написании рукописи. Окончательная версия рукописи была одобрена всеми авторами. Авторы не получали гонорар за исследование.

## Литература/ References

1. Щегерцов Д.Ю., Филинук О.В., Буйнова Л.Н., и др. Нежелательные побочные реакции при лечении больных туберкулезом с множественной лекарственной устойчивостью возбудителя // Туберкулез и болезни легких. – 2018. – Т. 96. – №. 3. – С. 35-43. [Shchegercov DYU, Filinyuk OV, Bujnova LN, et al. Nezhelatel'nye pobochnye reakcii pri lechenii bol'nyh tuberkulezom s mnozhestvennoj lekarstvennoj ustojchivost'yu vozбудitelya [Adverse reactions in the treatment of patients with multidrug-resistant tuberculosis]. Tuberkulez i bolezni legkih [Tuberculosis and lung disease]. 2018; 96 (3): 35-43. (In Russ.)].
2. Линева З.Е., Гуляева Н.А., Романова Н.А. и др. Клинико-бактериологические проявления дисбактериоза кишечника у больных туберкулезом легких, осложненным сопутствующей патологией со стороны желудочно-кишечного тракта // Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований. – 2013. – № 12. – С. 88-93. [Lineva ZE, Gulyaeva NA, Romanova MV, et al. Kliniko-bakteriologicheskie proyavleniya disbakterioza kishechnika u bol'nyh tuberkulezom legkih, oslozhnennym soputstvuyushchej patologiej so storony zheludochno-kishechnogo trakta [Clinical and bacteriological manifestations of intestinal dysbiosis in patients with pulmonary tuberculosis complicated by concomitant pathology from the gastrointestinal tract]. Mezhdunarodnyj zhurnal prikladnyh i fundamental'nyh issledovanij [International Journal of Applied and Basic Research]. 2013; 12: 88-93. (In Russ.)].
3. Пузанов В.А., Комиссарова О.Г., Никоненко Б.В. Бактериальная микробиота нижних отделов кишечника и бронхов у больных туберкулезом // Туберкулез и болезни легких. – 2020. – Т. 98. – №. 5. – С. 37-43. [Puzanov VA, Komissarova OG, Nikonenko BV. Bakterial'naya mikrobiota nizhnih otdelov kishechnika i bronhov u bol'nyh tuberkulezom [Bacterial microbiota of the lower intestines and bronchi in patients with tuberculosis]. Tuberkulez i bolezni legkih [Tuberculosis and lung disease]. 2020; 98 (5): 37-43. (In Russ.)].
4. Комиссарова О.Г., Шорохова В.А., Абдуллаев Р.Ю., и др. Состояние кишечной микробиоты у пациентов с впервые выявленным туберкулезом легких // Врач. – 2021. – Т. 32, №4. – С. 71-76. [Komissarova OG, Shorohova VA, Abdullaev RYu, et al. Sostoyanie kishechnoj mikrobioty u pacientov s vpervye vyyavlennym tuberkulezom legkih [The state of the intestinal microbiota in patients with newly diagnosed pulmonary tuberculosis]. Vrach [Doctor]. 2021; 32 (4): 71-76. (In Russ.)].
5. Адамова В.Д.; рук. работы Н.А. Гуляева. Изменения микрофлоры кишечника и верхних дыхательных путей у детей с латентной туберкулезной инфекцией // Студент года: материалы международной учебно-исследовательской конференции (Петрозаводск, 19 мая 2021 г.), ред.: Л. М. Героева. – Петрозаводск, 2021. – С. 89-94. [Adamova VD. Izmeneniya mikroflory kishechnika i verhnih dyhatel'nyh putej u detej s latentnoj tuberkuleznoj infekciej [Changes in the intestinal and upper respiratory tract microflora in children with latent tuberculosis infection]. Student goda: materialy mezhdunarodnoj ubebno-issledovatel'skoj konferencii [Student of the Year: Proceedings of the International Research Conference]. 2021; 89-94. (In Russ.)].
6. Jung SW, Jeon SW, Do BH, et al. Clinical aspects of rifampicin-associated pseudomembranous colitis. J Clin Gastroenterol. 2007; 41: 38-40.
7. Park JY, Kim JS, Jeung SJ, et al. A case of pseudomembranous colitis associated with rifampin. Korean J Intern Med. 2004; 19: 261-265.
8. Пьянцова, Т.В., Конончук О.Н., Примкулова М.В. Туберкулез с множественной лекарственной устойчивостью возбудителя у пациентов с сочетанием туберкулеза и ВИЧ-инфекции // Туберкулез и болезни легких. – 2014. – Т. 91, № 8. – С. 57-58. [P'yanzova TV, Kononchuk ON, Primkulova MV. Tuberkulez s mnozhestvennoj lekarstvennoj ustojchivost'yu vozбудitelya u pacientov s sochetaniem tuberkuleza i VICH-infekcii [Multidrug-resistant tuberculosis in patients with a combination of tuberculosis and HIV infection]. Tuberkulez i bolezni legkih [Tuberculosis and lung disease]. 2014; 91 (8): 57-58. (In Russ.)].

- kulez i bolezni legkih [Tuberculosis and lung disease]. 2014; 91 (8): 57-58. (In Russ.).
9. *Ahuja SD, Ashkin D, Avendano M.* Multidrug resistant pulmonary tuberculosis treatment regimen and patient outcomes: an individual patient data meta-analysis of 9153 patients. *PLoS Med.* 2012; 9 (8): 1-16.
  10. *Batyrshina Y.* Development of resistance of *M. tuberculosis* to second-line antituberculosis drugs during multi-drug-resistant tuberculosis treatment. *Int J Tuberc Lung Dis.* 2013; 17, 12 (suppl 2): 560-566.
  11. Федеральный закон от 30.12.2020г. №492-ФЗ «О биологической безопасности в РФ». Статья 8.5. [Federalnyj zakon ot 30.12.2020g. №492-FZ «O biologicheskoy bezopasnosti v RF». Statya 8.5 [Federal Law of December 30, 2020 №492-FZ «About biological safety». (In Russ.)].
  12. *Соловьева И.В., Белова И.В., Точилина А.Г., и др.* Изменение микробиоценоза кишечника у больных туберкулезом легких, страдающих множественной лекарственной устойчивостью к противотуберкулезным препаратам // Сборник статей профилактической медицина как научно-практическая основа сохранения и укрепления здоровья населения. / ред.: М. А. Позднякова. – Нижний Новгород, 2019. – С. 70-74. [*Solov'eva IV, Belova IV, Tochilina AG, et al.* Izmenenie mikrobiocenoza kischechnika u bol'nyh tuberkulezom legkih, stradayushchih mnozhestvennoj lekarstvennoj ustojchivost'yu k protivotuberkuleznym preparatam [Changes in intestinal microbiocenosis in pulmonary tuberculosis patients suffering from multidrug resistance to anti-tuberculosis drugs]. *Sbornik statej profilakticheskaya medicina kak nauchno-prakticheskaya osnova sohraneniya i ukrepleniya zdorov'ya naseleniya* [Collection of articles preventive medicine as a scientific and practical basis for maintaining and strengthening the health of the population]. 2019; 70-74. (In Russ.)].
  13. *Shen ZH, Zhu Ch, et al.* Relationship between intestinal microbiota and ulcerative colitis: mechanisms and clinical application of probiotics and fecal microbiota transplantation. *World J. Gastroenterol.* 2018; 1 (24): 5–14.
  14. *Stiksrud S, Nowak P, et al.* Reduced levels of D-dimer and changes in gut microbiota composition after probiotic intervention in HIV-infected individuals on stable ART. *J Acquired Immune Deficiency Syndromes.* 2015; 4 (70): 329-337.
  15. *Плотникова Е. Ю., Захарова Ю.В.* Место пробиотиков в современной клинической практике. // Педиатрия. Приложение к журналу Consilium Medicum. – 2018. – № 1. – С. 95-99. [*Plotnikova EYu, Zaharova YuV.* Mesto probiotikov v sovremennoj klinicheskoy praktike [The place of probiotics in modern clinical practice]. *Pediatrics; Prilozhenie k zhurnalu Consilium Medicum* [Pediatrics; Consilium Medicum Magazine Supplement]. 2018; 1: 95-99. (In Russ.)]
  16. *Леванова Л.А.* Микроэкология кишечника жителей Западной Сибири, коррекция дисбиотических состояний: дисс. ... д-ра мед. наук: 03.00.07 // [Место защиты: Государственное учреждение «Московский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии». - Москва, 2003.- 289 с. [*Levanova LA.* Mikroekologiya kischechnika zhiteley Zapadnoy Sibiri, korrektsiya disbioticheskikh sostoyaniy: dissertatsiya doktora meditsinskikh nauk: 03.00.07 [Microecology of the intestines of the inhabitants of Western Siberia, correction of dysbiotic conditions: dissertation Doctor of Medical Sciences: 03.00.07]. Moskva: Gosudarstvennoye uchrezhdeniye «Moskovskiy nauchno-issledovatel'skiy institut epidemiologii i mikrobiologii» [Moscow: State Institution «Moscow Research Institute of Epidemiology and Microbiology»]. 2003; 289 p. (In Russ.)]
  17. Приказ об утверждении отраслевого стандарта «Протокол ведения больных. Дисбактериоз кишечника»: приказ МЗ РФ № 231 от 9 июня 2003 г. [Приказ об утверждении отраслевого стандарта «Протокол ведения больных. Дисбактериоз кишечника»: приказ МЗ РФ № 231 от 9 июня 2003 г. [Order on approval of the industry standard «Protocol of management of patients. Intestinal dysbiosis»: Order of the Ministry of Health of the Russian Federation № 231 of June 9, 2003 (In Russ.)].