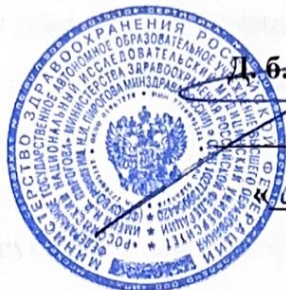


«УТВЕРЖДАЮ»

Проректор по научной работе  
ФГАОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова  
Минздрава России



Д. б. н., профессор, профессор РАН  
Д.В. Ребриков

«04» сентября 2023 г.

### ОТЗЫВ

Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова» Министерства здравоохранения Российской Федерации на диссертацию Долинного Сергея Владимировича на тему: «Совершенствование диагностики и этиотропной терапии осложненного течения COVID-19, обусловленного бактериальными патогенами», представленной на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальностям: 3.1.22 Инфекционные болезни, 1.5.11 Микробиология.

#### Актуальность темы выполненной работы.

Пандемия новой коронавирусной инфекции с ее стремительным распространением и показателями летальности продолжает быть серьезной проблемой для системы здравоохранения во всех регионах мира. Показатели летальности при COVID-19 в первые волны пандемии составляли от 4,3 до 15% [Wang D. // JAMA. 2020. Vol 323, № 11. P. 1061–1069]. Имеющиеся знания и накопленный клинический опыт по борьбе с заболеванием, а также знания о возбудителе инфекции (SARS-CoV-2) продолжают совершенствоваться и пополняют базы фундаментальной и прикладной медицины.

Актуальность темы данной работы обусловлена не только сохраняющейся значительной распространенностью COVID-19, но и высокими показателями летальности, связанными с развитием осложнений. Группой риска по развитию бактериальных осложнений являются пациенты с хроническими заболеваниями бронхо-легочной системы, поскольку у этих больных колонизация патогенными бактериями присутствует даже в стабильной фазе заболевания, а развитие COVID-19 происходит на фоне наличия в организме очагов бактериальной инфекции (Memish Z.A., 2020). Крайне важно также структурировать лечебно-диагностические алгоритмы при COVID-19, что в свою очередь, позволит оптимизировать терапевтические стратегии при лечении пациентов с осложненным течением коронавирусной инфекции.

Таким образом, разработка диагностических алгоритмов к тактике диагностики и этиотропной терапии осложненного течения COVID-19, обусловленного бактериальными патогенами, является актуальной, а научная новизна исследовательской работы С.В. Долинного «Совершенствование диагностики и этиотропной терапии осложненного течения COVID-19, обусловленного бактериальными патогенами» несомненна. Результаты проведенного исследования, полученные при комплексном анализе клинических, лабораторных и ряда бактериологических данных, позволили обосновать и применять персонализированный подход по лечению больных с COVID-19.

#### **Научная новизна исследования, полученных результатов, выводов.**

Научная новизна заключается в том, что впервые установлена градация штаммов *K. pneumoniae*, выделенных от больных с разной тяжестью течения COVID-19, по отношению к антибиотикам и бактериофагам: доля резистентных штаммов у пациентов с легкой формой COVID-19 составляла 0, у пациентов со средней степенью тяжести – 33,3%, у тяжелых больных – 82,4%. В то же время все штаммы *K. pneumoniae*, выделенные от пациентов с легкой и средней степенью тяжести заболевания, а также половина штаммов,

выделенных от тяжелых больных и резистентных к антибиотикам выбора, сохранили чувствительность к клебсиеллезному бактериофагу.

Впервые у пациентов с осложненным течением COVID-19 и развитием бактериальной инфекции предложена к использованию адаптированная шкала сепсис-индуцированной коагулопатии (СИК), позволяющая с высокой вероятностью предположить наличие бактериальной инфекции и с расчетом по online-калькулятору [<http://dolsip.ru/>].

В результате полногеномного секвенирования ДНК штаммов *K. pneumoniae* показана зависимость профиля вирулентности и резистентности штаммов от степени тяжести COVID-19 у пациента: наибольший набор генов вирулентности и антибиотикорезистентности отмечался у пациентов с тяжелым течением заболевания.

#### **Теоретическая и практическая значимость.**

Оценена эффективность применения клебсиеллезного бактериофага для профилактики бактериальных осложнений у пациентов амбулаторного звена при легкой и средней тяжести течения COVID-19 с коморбидной патологией.

Создана база данных с генетической и фенотипической характеристиками штаммов *K. pneumoniae*, циркулирующих в стационаре и являющихся причиной тяжелых осложнений COVID-19.

Научно обоснован и разработан алгоритм персонализированного подхода к диагностике и этиотропной терапии при COVID-19, состоящий из ряда диагностических элементов: оценки клинических, эпидемиологических, визуализационных, лабораторных, в том числе микробиологических, данных в динамике; апробирована возможность применения адаптированной шкалы СИК, исследования фенотипа и генотипа вирулентности и чувствительности у выделенных штаммов к антибиотикам и бактериофагам, выбора рациональной схемы антибактериальной терапии (антибиотики и бактериофаги), направленной на предупреждение развития тяжелых форм инфекции.

Разработанные положения современны и значимы. Результаты диссертационной работы создают основу для лечебно-диагностической тактики врачей-инфекционистов амбулаторно-поликлинического звена,

инфекционных отделений и врачей анестезиологов-реаниматологов отделения анестезиологии и реанимации ИКБ №1 ДЗ г. Москвы.

Предложенный алгоритм диссертационного исследования используются для подтверждения диагноза, оценки степени тяжести течения COVID-19, определения адекватной (рациональной) этиопатогенетической терапии у больных с COVID-19 на разных этапах заболевания.

#### **Оценка содержания диссертации, ее завершенности в целом.**

Основные результаты исследования отражены в 11 опубликованных научных работах, 6 из которых – в изданиях, рекомендованных ВАК Министерства образования и науки Российской Федерации, в том числе 2 статьи в журналах из перечня международной базы цитирования (Scopus-Q4), 4 статьи в журнале, рекомендованном ВАК РФ и РУДН.

Опубликованные работы и содержание автореферата полностью соответствуют основным положениям текста диссертационной работы.

Работа оформлена в соответствии с требованиями, предъявляемыми к рукописям диссертации. Структура диссертации состоит из следующих основных разделов: «Введение», «Обзор литературы», «Материалы и методы исследования», «Собственные исследования» представлены 4 главами, «Заключение», «Выводы», «Список литературы». Объем диссертации – 156 страниц машинописного текста. Работа иллюстрирована 36 рисунками, 35 таблицами и 3 клиническими примерами. Библиографический список содержит 189 источников, из них 65 ссылок на публикации отечественных авторов и 124 – иностранных авторов.

**Во введении** освещена актуальность исследования и степень разработанности темы, сформулированы цели и задачи исследования, научная новизна, теоретическая и практическая значимость, положения, выносимые на защиту и данные об апробации работы.

**В первой главе** проведен обзор литературы отечественных и зарубежных исследователей по представленной проблематике: клинические и

патогенетические аспекты развития бактериальных осложнений у пациентов с течением COVID-19, в том числе с коморбидной патологией; описана видовая и фенотипическая характеристика возбудителей бактериальных осложнений; описаны генетические и фенотипические маркеры патогенности выделяемой микрофлоры, которая является этиопатогенетическим триггером осложненного течения COVID-19; описана тактика этиотропной терапии в лечении осложненных форм, обусловленных бактериальными патогенами, и доказана эффективность бактериофагов в терапии и профилактике осложнений.

**Во второй главе** описаны материалы и методы, используемые при выполнении исследований. Помимо общеклинических, лабораторных и инструментальных методов исследования (диагностики) COVID-19 были применены бактериологические методы, масс-спектрометрический метод идентификации микроорганизмов MALDI-TOF, полногеномное секвенирование штаммов *K. pneumoniae*.

**В третьей главе** - дана оценка видового состава возбудителей верхних дыхательных путей у пациентов амбулаторной группы и чувствительность к этиотропным препаратам, в том числе к клебсиеллезному бактериофагу. Полученные результаты исследования у пациентов амбулаторной группы с COVID-19 показали, что микробный состав флоры верхних дыхательных путей, выделенный от больных, вариабелен. При микробиологическом мониторинге у 15 (50%) пациентов была выделена полирезистентная *K. pneumoniae*, а чувствительная к антибиотикам – только в 26,7% случаев наблюдения. Проведенные исследования показали эффективность поливалентного бактериофага, как *in vitro*, так и *in vivo*.

Показано, что применение поливалентного клебсиеллезного бактериофага в течение 10 дней у пациентов с COVID-19 амбулаторной группы с целью профилактики развития бактериальных осложнений способствовало элиминации патогена. Доказано, что процент выделения *K. pneumoniae* на 21-й день от лечения достоверно ( $p < 0,001$ ) уменьшился.

**В четвертой главе** дана клинико-лабораторная характеристика пациентов находившихся в ОРИТ с осложненным течением COVID-19 обусловленных бактериальными патогенами.

Наиболее тяжело COVID-19 протекал у пациентов ОРИТ в возрасте  $71,30 \pm 12,40$  и старше, имеющих сопутствующие заболевания. Структура коморбидной патологии пациентов ОРИТ с бактериальными осложнениями представлена следующим образом: подавляющее большинство составили пациенты с артериальной гипертензией – 84,6% и с другими сердечно-сосудистыми заболеваниями (ишемическая болезнь сердца, хроническая сердечная недостаточность, ишемическая кардиомиопатия, системный атеросклероз, нарушение ритма) – 63,5%. Микробиологический мониторинг пациентов ОРИТ в динамике заболевания показал, что наиболее частым бактериальным патогеном, ассоциированным с различными клиническими проявлениями, была *K. pneumoniae*, которая выделялась как в монокультуре, так и в ассоциации с *A. baumannii*.

Проведенная сравнительная оценка параметров шкалы сепсис-индуцированной коагулопатии (СИК) у пациентов двух групп (с бактериальной и без бактериальной инфекции) показала достоверное повышение балльного показателя у пациентов с бактериальной инфекцией, при сравнении с группой больных, не имеющих таковой. Диапазон баллов шкалы СИК от  $5,13 \pm 1,58$  ( $3,69 - 5,58$ ) соотносится с высокой вероятностью наличия бактериальной инфекции у пациентов с COVID-19, что можно рассчитать с помощью online-калькулятора по ссылке [<http://dolsip.ru/>].

Также в данной главе представлены 3 клинических примера с различным течением и исходом COVID-19.

**В пятой главе** проведен анализ микробиома респираторного тракта у пациентов с различным течением COVID-19. Согласно полученным результатам, при тяжелых формах COVID-19 чаще всего выделяли *K. pneumoniae* – в 55% случаев. При средней степени тяжести COVID-19 выделение штаммов *K. pneumoniae* было значительно реже – всего в 10% случаев. При легкой форме COVID-19 частота выделения *K. pneumoniae*

снижается до 8,3%. Исследование микробной флоры респираторного тракта пациентов ОРИТ в динамике (при поступлении в стационар, через 7 и через 14 дней) позволило установить неблагоприятную тенденцию: значительное увеличение выделяемых клинически значимых бактерий, в особенности *K. pneumoniae*, *Acinetobacter* spp, *P. aeruginosa*, *S. aureus*, *Candida* spp. В процессе пребывания пациентов в ОРИТ происходит присоединение внутрибольничной инфекции, что может усугубить и без того тяжелое течение COVID-19.

При оценке чувствительности выделенной флоры к антимикробным препаратам показано, что половина штаммов *K. pneumoniae*, выделенных от тяжелых больных и резистентных к антибиотикам выбора, сохранили чувствительность к бактериофагу клебсиеллезному поливалентному. В целом всего 42% штаммов *K. pneumoniae*, выделенных от пациентов с тяжелой формой течения COVID-19, оказались резистентными к указанному бактериофагу. Штаммы, выделенные от пациентов со средней степенью тяжести COVID-19, были резистентны к бактериофагу всего в 22% случаев, а выделенные при легкой форме – в 16% случаев.

Характеристика биологических свойств выделенных штаммов *K. pneumoniae* с помощью полногеномного секвенирования показала, что часть выделенных штаммов *K. pneumoniae* у пациентов с тяжелой формой COVID-19 имела набор генов вирулентности и антибиотикорезистентности, что подтверждалось в фенотипических тестах. При тяжелых формах преобладали сиквенс-типы ST395, ST 15, ST147.

**В шестой главе** предложен алгоритм персонализированного подхода к тактике диагностики и этиотропной терапии осложненного течения COVID-19, состоящий из 6 этапов.

Работа завершается заключением и выводами ( 6 ), которые логически вытекают из результатов собственных исследований и обобщают весь объем информации. В заключении отражены перспективы дальнейших исследований и практические рекомендации.

### **Обоснованность и достоверность полученных данных.**

В диссертационном исследовании Долинного С.В. были использованы данные статистически значимого объема выборок. Методологическая и теоретическая база исследования актуальны, объем обследованных пациентов достаточен для достоверных результатов, которые были получены с помощью соответствующей статистической обработки данных. Общее количество пациентов составило 203 человека, из них стационарных пациентов с COVID – 19 составило 161, а амбулаторная группа 42 пациента. Дизайн работы соответствует целям и задачам.

Результаты и практическая значимость выводов не вызывают сомнений, цели и задачи соответствуют требованиям.

Принципиальных замечаний к диссертационному исследованию нет. Работа отличается целостностью, соответствием содержания диссертации автореферату, опубликованным научным работам и паспорту научных специальностей 3.1.22 Инфекционные болезни, 1.5.11 Микробиология.

### **Рекомендации по использованию результатов, выводов и практических рекомендаций.**

Использование результатов исследовательской работы позволит повысить эффективность работы врачей – инфекционистов как амбулаторного, так и стационарного звена, а также врачей анестезиологов-реаниматологов, оказывающих помощь пациентам с проявлениями тяжелых бактериальных осложнений в отделениях реанимации и интенсивной терапии. Результаты исследования целесообразно использовать в практической деятельности врачей-инфекционистов с целью повышения эффективности бактериологической лабораторной диагностики у стационарных пациентов с новой коронавирусной инфекцией (COVID-19) с осложненным течением. Предложенный автором подход к бактериологической лабораторной диагностике позволит использовать на практике единый комплексный подход для этиологической расшифровки осложнений основного диагноза в разные периоды заболевания.



Результаты проведенных исследований могут послужить основой лекционного материала (аудио и видео лекций) для подготовки врачей-инфекционистов, врачей-ординаторов, врачей общей практики ДЗМ, аспирантов.

#### **Личное участие автора в получении результатов.**

Участие автора отмечено на всех этапах исследования. Разработан дизайн исследования, сформулированы цели и задачи. Лично проводился отбор биологического материала для лабораторных баз (лаборатории медицинской бактериологии ФБУН НИИЭМ им. Пастера Роспотребнадзора, ФГБУ Национального исследовательского центра эпидемиологии и микробиологии им. Н. Ф. Гамалеи). Лабораторные исследования осуществлялись при непосредственном участии автора. Анализ полученных результатов осуществлен лично автором.

#### **Заключение**

Таким образом, диссертационная работа Долинного Сергея Владимировича «Совершенствование диагностики и этиотропной терапии осложненного течения COVID-19, обусловленного бактериальными патогенами» является законченной научно-квалификационной работой, выполненной под руководством доктора медицинских наук Бургасовой Ольги Александровны и доктора медицинских наук Краевой Людмилы Александровны, в которой содержится новое решение научной задачи - предотвращение развития бактериальных осложнений, а также их терапии у пациентов с COVID-19, имеющей важное значение для практического здравоохранения.

Работа соответствует требованиям, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата медицинских наук, согласно п.2.2 раздела II. Положения о присуждении ученых степеней в федеральном государственном автономном образовательном учреждении высшего образования «Российский университет дружбы народов имени Патриса Лумумбы», утвержденного Ученым советом РУДН протокол № 12 от

