

**Долинный Сергей Владимирович**

**СОВЕРШЕНСТВОВАНИЕ ДИАГНОСТИКИ И  
ЭТИОТРОПНОЙ ТЕРАПИИ ОСЛОЖНЕННОГО ТЕЧЕНИЯ  
COVID-19, ОБУСЛОВЛЕННОГО БАКТЕРИАЛЬНЫМИ  
ПАТОГЕНАМИ**

3.1.22. Инфекционные болезни

1.5.11. Микробиология

**АВТОРЕФЕРАТ**

диссертации на соискание ученой степени  
кандидата медицинских наук

Москва – 2023

Работа выполнена в Федеральном государственном автономном образовательном учреждении высшего образования «Российский университет дружбы народов имени Патриса Лумумбы» Министерства образования Российской Федерации, медицинский институт, кафедра инфекционных болезней с курсами эпидемиологии и фтизиатрии; в лаборатории медицинской бактериологии Федерального бюджетного учреждения науки «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии имени Пастера» Роспотребнадзора.

**Научный руководитель: Бургасова Ольга Александровна**, доктор медицинских наук, профессор кафедры инфекционных болезней с курсами эпидемиологии и фтизиатрии медицинского института ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов имени Патриса Лумумбы» Министерства образования Российской Федерации.

**Научный руководитель: Краева Людмила Александровна**, доктор медицинских наук, заведующая лабораторией медицинской бактериологии ФБУН «НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера», профессор кафедры микробиологии ФГБВОУВО «Военно-медицинская академия им. С. М. Кирова».

**Официальные оппоненты:**

**Понежева Жанна Бетовна**, доктор медицинских наук, доцент, заведующая клиническим отделом инфекционной патологии Федерального бюджетного учреждения науки «Центральный научно-исследовательский институт эпидемиологии» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека.

**Жуховицкий Владимир Григорьевич**, кандидат медицинских наук, заведующий лабораторией индикации и ультраструктурного анализа микроорганизмов «НИЦЭМ им. академика Н.Ф.Гамалеи» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

**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 26 сентября 2023г. в 14.30 часов на заседании диссертационного совета ПДС 0300.010 в ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов имени Патриса Лумумбы» Министерства образования Российской Федерации по адресу: 117198, г. Москва, ул. Миклухо-Маклая, д. 8.

С диссертацией можно ознакомиться в Научной библиотеке РУДН (117198, г. Москва, ул. Миклухо-Маклая, д. 6) и на сайте <https://www.rudn.ru/science/dissovet>  
<https://vak.minobrнауки.gov.ru/>

Автореферат разослан «\_\_» \_\_\_\_\_ 2023г.

Ученый секретарь диссертационного совета ПДС 0300.010

кандидат медицинских наук, доцент

Подопригора Ирина Викторовна

## ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

**Актуальность темы диссертации.** В последние десятилетия вспышки и пандемии, вызываемые возбудителями вновь появляющихся инфекционных заболеваний, представляли собой непрерывную угрозу для глобального здравоохранения (Morens D. M., 2013). Данные метаанализа и накопленный клинический опыт в период пандемии COVID-19 (коронавирусная инфекция 2019) показали, что несмотря на достижения и успехи в организации медицинской помощи и лечении данного инфекционного заболевания, у значительной части пациентов старшей возрастной категории на фоне вирус-индуцированной иммуносупрессии развивались тяжелые бактериальные осложнения, приводящие к летальному исходу. Тяжелое течение заболевания у пациентов с COVID-19 обусловлено комплексом причин, в том числе развитием вирусно-бактериальных коинфекций или суперинфекций с присоединением бактериальных патогенов. У 20–30% пациентов имело место нарушение состава и количества микробиоты дыхательных путей, которое в ряде случаев и становилась причиной развития тяжелых бактериальных осложнений. Кроме того, существующая ось взаимодействия микробиома дыхательных путей и кишечника при определенных условиях также способствовала развитию осложненного течения болезни (Cutuli S. L. [et al.] 2021; Junior A. S. F. [et al.] 2021).

В период пандемии, особенно с 2020 года, наиболее распространенными бактериальными патогенами были микроорганизмы *Klebsiella pneumoniae*, продуцирующие карбапенемазу, которые регистрировались и ранее (Lazareva I. V. [et al.] 2016). Циркуляция таких штаммов в стационарах и контаминация/заражение ими пациентов с COVID-19 была практически неизбежна. Хорошо известно, что в человеческой популяции от 1 до 6% населения являются носителями штаммов *K. pneumoniae*, локализующихся в носоглотке; а 5-38% лиц являются носителями патогена с локализацией в кишечнике. Есть сообщения и о более высоких показателях носительства, особенно в группах иммунодефицитных пациентов (Fursova N. K. [et al.] 2020).

Бактериальные инфекции, обусловленные *Klebsiella spp*, характеризуются особенно тяжелым течением и высокой летальностью (до 50%) (Чеботарь И.В., 2020). Эмпирическое назначение антибиотиков широкого спектра действия у пациентов с COVID-19 приводило к нарушениям в микробиоме и дисбактериозу. В связи с этим, необходимы глубокие исследования клинических, лабораторных и микробиологических данных о пациентах с осложненным течением COVID-19, обусловленным бактериальными патогенами.

**Степень разработанности темы.** Анализ имеющихся научных исследований показал малый объем данных по изучению маркеров вирулентности и антибиотикорезистентности у бактериальных патогенов – основных возбудителей бактериальных осложнений при COVID-19. Требуются дальнейшие исследования клинико-микробиологических данных пациентов, находящихся в отделениях реанимации и интенсивной терапии (ОРИТ). Помимо этого, мало изучены генетические и фенотипические маркеры патогенности выделяемых бактерий, которые являются этиопатогенетическим триггером осложненного течения COVID-19. Необходимо постоянное обновление информации по оценке чувствительности бактериальных патогенов, выделенных от пациентов с осложненным течением COVID-19, к антибактериальным препаратам, в том числе – бактериофагам, с использованием современных методов исследования с целью профилактики развития осложнений.

**Цель исследования:** разработка персонализированного подхода к тактике диагностики и этиотропной терапии осложненного течения COVID-19, обусловленного бактериальными патогенами.

**Задачи исследования:**

1. Дать клиническую и микробиологическую характеристику пациентов с осложненным течением COVID-19, госпитализированных в ОРИТ.
2. Оценить прогностическое значение лабораторных маркеров осложненного течения COVID-19 и шкалы СИК (сепсис индуцированной коагулопатии) у пациентов с бактериальной инфекцией.
3. Изучить генетические и фенотипические маркеры патогенности микробиоты, являющиеся этиопатогенетическим фактором осложненного течения COVID-19.
4. Проанализировать чувствительность бактериальных патогенов, выделенных от пациентов с осложненным течением COVID-19 к основной панели антибактериальных препаратов и бактериофагов.
5. Оценить терапевтическую эффективность альтернативных направлений этиотропной терапии и профилактики на основании результатов динамического контроля бактериальных патогенов.
6. Разработать персонализированный диагностический алгоритм осложненного COVID-19.

**Научная новизна.** Впервые у пациентов с осложненным течением COVID-19 и развитием бактериальной инфекции предложено использовать адаптированную шкалу

сепсис-индуцированной коагулопатии (СИК) с возможностью расчета показателей по online-калькулятору [<http://dolsip.ru/>]. При определении значения СИК от 3 до 4,5 с высокой степенью достоверности можно констатировать наличие активной бактериальной инфекции.

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 стационарных пациентов с легкой формой COVID-19 составляла 0%, у пациентов со средней степенью тяжести – 33,3%, у тяжелых больных – 81,8%. В то же время 84% штаммов *K. pneumoniae*, выделенные от пациентов с легкой степенью тяжести заболевания, 78% - от пациентов со средней степенью тяжести заболевания и 58% - от тяжелых больных, сохранили чувствительность к клебсиеллезному поливалентному бактериофагу.

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.**

Впервые дана оценка эффективности применения клебсиеллезного поливалентного бактериофага для профилактики бактериальных осложнений у пациентов амбулаторного звена с легкой и средней степенью тяжести COVID-19. Апробирована эффективная схема терапии бактериофагом с целью профилактики развития бактериальных осложнений при COVID-19.

Создана база данных с генетической и фенотипической характеристикой штаммов *K. pneumoniae*, являющихся одной из основных причин тяжелых осложнений COVID-19.

Разработан персонализированный подход к диагностике и этиотропной терапии при COVID-19; апробировано применение шкалы СИК, исследования фенотипа и генотипа вирулентности и чувствительности у выделенных штаммов к антибиотикам и бактериофагам. Предложены и использованы схемы комбинированной антибактериальной терапии (антибиотики и бактериофаги), направленной на предупреждение развития тяжелых форм инфекции.

Дополнены данные о клинических особенностях осложненного течения COVID-19, имеющие значение при выборе режима диагностики и терапии осложненных форм заболевания.

Результаты диссертационной работы внедрены в практику работы врачей-инфекционистов амбулаторно-поликлинического звена, инфекционных отделений и врачей анестезиологов-реаниматологов ИКБ №1 ДЗ г. Москвы.

Полученные результаты работы донесены до научно-практического сообщества врачей, ординаторов, аспирантов. Основные положения диссертационного исследования могут использоваться с лечебно-диагностической целью, включая дифференциацию и оценку степени тяжести течения COVID-19, а также выбор адекватной (рациональной) этиопатогенетической терапии у больных с разными вариантами COVID-19 как в формате амбулаторной, так и стационарной помощи.

**Методология исследования.** Методологическая основа диссертационного исследования была спланирована на основании поставленной цели и включает применение методов научного познания с целью решения поставленных задач. Дизайн исследования структурирован и включил в себя современные методы исследования в различных когортах пациентов с COVID-19.

Предмет исследования — комплексная оценка и обоснование тактики обследования и лечения больных с COVID-19, а также определение факторов риска тяжелого течения болезни, характера и степени выраженности осложнений заболевания, на основании использования высокоинформативных методов диагностики для оптимизации алгоритма персонализированного подхода к тактике ведения осложненного течения COVID-19.

Объект исследования — стационарные пациенты с диагнозом «Коронавирусная инфекция COVID-19 (вирус идентифицирован)» в возрасте 18-85 лет, госпитализированные в ГБУЗ ИКБ № 1 ДЗМ в период с июня 2020 по сентябрь 2022 гг. Применен комплексный методологический подход с использованием данных эпидемиологического анамнеза, клинического обследования, результатов лабораторных исследований, в том числе микробиологических, обработанных современными статистическими методами.

**Положения, выносимые на защиту:**

1. Структура коморбидной патологии у пациентов ОРВИ с бактериальными осложнениями среди лиц старше 70 лет представлена широко распространенными сопутствующими заболеваниями: артериальной гипертензией и другими сердечно-сосудистыми заболеваниями. Летальный исход у пациентов старших возрастных групп с бактериальной инфекцией и развитием полиорганной недостаточности ассоциируется с сердечно-сосудистой патологией.

2. Результаты исследования генетических и фенотипических маркеров вирулентности и антибиотикорезистентности бактерий, выделяемых при осложненных

формах COVID-19, могут быть использованы для оценки тяжести заболевания и прогнозирования течения инфекционного процесса.

3. Профилактическое применение клебсиеллезного поливалентного бактериофага против чувствительных штаммов *K. pneumoniae*, выделенных у пациентов с COVID-19, позволяет в 2 раза уменьшить контаминацию верхних дыхательных путей бактериальными патогенами на ранних этапах болезни, уменьшить продолжительность лихорадки, прогрессирование катарально-респираторных проявлений. Фаготерапия может иметь потенциальное влияние на вторичную инфекцию и исходы у пациентов с COVID-19, предотвращая прогрессирование инфекции.

4. Для прогностической оценки присоединения бактериальной инфекции у пациентов с COVID-19 и расширения диагностических возможностей целесообразно применять сочетание рутинных маркеров воспаления и осложненного течения и адаптированной шкалы балльной оценки СИК.

5. Разработанный персонализированный диагностический алгоритм у пациентов с осложненным течением COVID-19 позволяет расширить возможности для диагностики и совершенствования тактики этиотропной терапии осложнений, обусловленных бактериальными патогенами.

**Степень достоверности полученных результатов.** Научные положения и выводы обоснованы достаточным объемом проведенных исследований, применением современных технологий клинико-лабораторной диагностики и методов статистической обработки данных, которые соответствуют поставленным задачам.

**Апробация работы.** Тема диссертационного исследования «Совершенствование диагностики и этиотропной терапии осложненного течения COVID-19, обусловленного бактериальными патогенами» обсуждена и утверждена на заседании Ученого совета медицинского факультета ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов имени Патриса Лумумбы», 20 апреля 2023 года, протокол № 8.

Материалы диссертационного исследования представлены на XIII Ежегодном Всероссийском Конгрессе по инфекционным болезням имени академика В. И. Покровского (Москва, Россия, 24–26 мая 2021 г.), «Клинико-микробиологическая характеристика осложненных форм COVID-19, подходы к терапии»; на VIII Всероссийской междисциплинарной научно-практической конференции с международным участием «Социально-значимые и особо опасные инфекционные заболевания», 26–29 октября, 2021 г. «Клинико-микробиологическая характеристика осложненных форм новой коронавирусной инфекции COVID-19», «Опыт применения селективной ЛПС-сорбции при

лечении критических больных COVID-19»; на Международной научно-практической конференции «Актуальные проблемы инфектологии, эпидемиологии паразитологии» Узбекистан, Бухара 21–23 апреля 2022 г. «Бактериальные осложнения у пациентов с COVID-19: подходы к терапии»; на Международном VIII Конгрессе Евро-Азиатского общества по инфекционным болезням (Санкт-Петербург, Россия, 17–19 мая 2022 г.), «Опыт применения бактериофага в амбулаторной практике у пациентов с COVID-19».

Материалы диссертационного исследования были апробированы на кафедре инфекционных болезней с курсами эпидемиологии и фтизиатрии медицинского института РУДН имени Патриса Лумумбы. Работа рекомендована к защите (Протокол заседания кафедры инфекционных болезней с курсами эпидемиологии и фтизиатрии ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов имени Патриса Лумумбы» от 02.05.2023 № 0300-14-04/10).

**Личный вклад автора.** Лично автором разработан дизайн, сформулированы цели и задачи исследования, собран биологический материал для лабораторных баз (лаборатории медицинской бактериологии ФБУН НИИЭМ им. Пастера Роспотребнадзора, ФГБУ Национального исследовательского центра эпидемиологии и микробиологии им. Н. Ф. Гамалеи), проведен анализ, обследование и лечение пациентов амбулаторно-поликлинического и стационарного звена. Лабораторные исследования осуществлялись при непосредственном участии автора. Автором проведен статистический анализ полученных результатов, сформулированы выводы и практические рекомендации, оформлена диссертационная работы. Личный вклад автора составляет не менее 80% работы.

**Соответствие диссертации паспорту научной специальности.** Согласно Приказу Минобрнауки России от 24.02.2021 N 118 "Об утверждении номенклатуры научных специальностей, по которым присуждаются ученые степени, и внесении изменения в Положение о совете по защите диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук, на соискание ученой степени доктора наук, утвержденное приказом Министерства образования и науки Российской Федерации от 10 ноября 2017 г. N 1093" (Зарегистрировано в Минюсте России 06.04.2021 N 62998), диссертационное исследование соответствует формуле специальностей: 3.1.22. Инфекционные болезни пункты 2, 3 и 1.5.11. Микробиология пункты 2, 3.

**Внедрение результатов исследования в практику.** Полученные научно обоснованные данные внедрены в практику работы врачей-инфекционистов амбулаторно-поликлинического звена, отделений респираторных инфекций и реанимационного



отделения ИКБ №1 ДЗ г. Москвы (Справка о внедрении результатов диссертационного исследования от 26.12.2022 № 01-4152/22).

Дана оценка эффективности применения клебсиеллезного поливалентного бактериофага для профилактики бактериальных осложнений у пациентов с легкой и средней степенью тяжести COVID-19 амбулаторного звена. Апробирована эффективная схема приема бактериофага с целью профилактики развития бактериальных осложнений при COVID-19.

Создана база данных с генетической и фенотипической характеристикой штаммов *K. pneumoniae*, являющихся триггером тяжелых осложнений COVID-19.

Разработан персонализированный подход к диагностике и этиотропной терапии при COVID-19, включающий в себя алгоритм из ряда диагностических элементов: оценки клинических, эпидемиологических, визуализационных, лабораторных, в том числе микробиологических данных, в динамике; применения адаптированной шкалы СИК; исследования фенотипа и генотипа вирулентности и чувствительности выделенных штаммов к антибиотикам и бактериофагам; выбора рациональной схемы антибактериальной терапии (антибиотики и/или бактериофаги), направленной на предупреждение развития тяжелых форм бактериальной инфекции.

**Публикации по теме диссертации.** Основные научные результаты по теме диссертации опубликованы в 6 научных работах, в том числе 2 статьи в журналах из перечня международной базы цитирования (Scopus-Q4), 4 статьи в журнале, рекомендованном ВАК РФ и РУДН.

**Объем и структура диссертации.** Диссертация изложена на 156 страницах печатного текста и состоит из введения, 4 глав собственных исследований, заключения, выводов и практических рекомендаций, списка использованной литературы, включающего 189 источников (65 отечественных и 124 зарубежных). Работа иллюстрирована 35 таблицами, 36 рисунками, 3 клиническими примерами.

## **ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ ДИССЕРТАЦИИ**

**Материалы и методы исследования.** Под наблюдением находилось 203 пациента, из них 161 - стационарные пациенты и 42 – амбулаторные. Пациентам стационарной группы n=161 проведен анализ микробиоты респираторного тракта. Отдельно проанализирована группа отделения реанимации и интенсивной терапии (ОРИТ) n=79, из которой 52 пациента с признаками бактериальной инфекции и 27 без бактериальных

осложнений. Амбулаторные пациенты с COVID-19 представлены легкой и средней тяжестью течения - 42 пациента (30-основная группа, получавшая клебсиелезный бактериофаг, и 12- контрольная группа). Все клинические случаи и истории болезни пациентов были проанализированы с учетом демографических данных, клинических и лабораторных показателей, результатов инструментальных методов диагностики. Дана оценка результатам лечебной тактики, в том числе с использованием бактериофага. Дизайн исследования представлен на Рисунке 1.

*Критерии включения:* согласие пациента на участие в исследовании; подтвержденный диагноз COVID-19; обнаружение РНК SARSCoV-2 в биоматериале методом полимеразной цепной реакции (ОТ-ПЦР) с обратной транскрипцией; обнаружение патогенных бактерий в биоматериале из респираторного тракта; возраст от 18 до 85 лет.

*Критерии исключения:* отказ пациента от исследования; отсутствие РНК SARS-CoV-2 и патогенных бактерий в биоматериале; наличие реакции гиперчувствительности к антибактериальным препаратам в анамнезе; возраст менее 18 и более 85 лет; алкогольная и наркотическая зависимость; системные заболевания.



Рисунок 1. Дизайн исследования.

Методы исследования:

- Общеклинические, лабораторные методы диагностики COVID-19 проводились согласно временным методическим рекомендациям «Профилактика, диагностика и лечение новой коронавирусной инфекции (COVID-19). Версия 7-16» применяли дополнительные методы диагностики, включая визуализационные.
- Вирусологическая диагностика: ОТ-ПЦР с целью выявления РНК вируса на тест-системах ФГБУ «НИЦЭМ им. Н.Ф.Гамалеи», РеалБест РНК SARS-CoV-2 (АО "Вектор-

Бест", Россия), Вектор-OneStepПЦР-CoV-RG ФБУН ГНЦ ВБ "Вектор" (Роспотребнадзор, Россия).

- Бактериологическое исследование проводили с использованием классических и современных методов диагностики. Материалом для исследования служили: мокрота при глубоком откашливании; бронхоальвеолярная жидкость, полученная при проведении бронхоальвеолярного лаважа (БАЛ) с помощью фибробронхоскопии; соскоб со слизистой задней стенки глотки. Отбор материала на исследование, транспортировку и работу с ним проводили согласно МУК 4.2.3115-13 «Лабораторная диагностика внебольничных пневмоний» (2013 г.), КР «Лабораторная диагностика внебольничных пневмоний» (2014 г.). Биохимическое типирование осуществляли с использованием тест-систем MIKROLATEST® для идентификации бактерий (ERBA LACHEMA), наборов для биохимической идентификации Microbact (BioVitrum), стрипов API® (BioMerieux)». Определение чувствительности микроорганизмов к антибиотикам проводили методом серийных разведений и диско-диффузионным методом согласно «МУК 4.12.1890-04». Определение чувствительности бактерий к бактериофагам выполняли в соответствии с Федеральными клиническими рекомендациями «Рациональное применение бактериофагов в лечебной и противоэпидемической практике», 2014 г., разработанными Национальной ассоциацией специалистов по контролю инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи (НП «НАСКИ»); использовали бактериофаги производства АО «НПО» «Микроген».
- Масс-спектрометрический метод идентификации бактерий - MALDI-TOF: спектры собирались в автоматическом режиме на масс-спектрометре Microflex™ LT MALDI-TOF (Bruker Daltonics, Германия) с применением адаптированной программы Flex Control. Анализ спектров и идентификацию микроорганизмов выполняли с использованием программного обеспечения MALDI Biotyper 3.0 (Bruker Daltonics).
- Метод полногеномного секвенирования штаммов *K. pneumoniae* и обработка полученных результатов осуществлялась в ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера. Определены локусы вирулентности, ассоциированные с транспозоном ICEKp: (*ybt, clb, iro, rmpA*), локусы вирулентности, ассоциированные с плазмидой: (*iro, iuc, rmpA, rmpA2*), детерминанты устойчивости к антибиотикам.
- Результаты исследований обрабатывали методами вариационной статистики и корреляционного анализа с использованием коммерческих пакетов стандартизированных программ Statistica 12.6, RGui (x64 bit), SPSS Statistics для Windows 7.0».

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ОБСУЖДЕНИЕ

**Оценка видового состава возбудителей верхних дыхательных путей у пациентов амбулаторной группы.** Амбулаторную группу наблюдения составили 42 пациента с COVID-19.

В результате бактериологического исследования мазков из ротоглотки и мокроты у 30 пациентов из основной группы ( $n = 30$ ) установлено, что в 77% случаев были выделены бактерии *K. pneumoniae*, в 17% – *Staphylococcus aureus*, в 6% – стрептококки (*Streptococcus agalactiae* и *Streptococcus pyogenes*). Клинически значимым считали выделение бактерий в количестве более  $10^4$  КОЕ/мл из мокроты и более  $10^5$  КОЕ/мл из ротоглоточных мазков. Пациентам основной группы была назначена комплексная терапия, в которую был включен клебсиеллезный бактериофаг: пероральный прием 3 раза в день по 15 мл бактериофага в течение 10 дней. Пациентам из группы контроля ( $n=12$ ) фаготерапия не проводилась. Повторное исследование материала на бактериальную микрофлору с целью оценки эрадикации патогенной микрофлоры респираторного тракта проводили на 21-й день от начала лечения. Анализ микробного состава респираторного тракта у пациентов основной группы после приема бактериофага показал элиминацию патогенов (на 21-й день) с достоверным снижением процента выделения *K. pneumoniae* ( $p < 0,001$ ) до 16,5 %. При этом 50% штаммов *K. pneumoniae* оказались резистентными к широко применяемым антибиотикам, а 100 % штаммов были чувствительны к бактериофагам. Проведенные исследования показали эффективность поливалентного бактериофага, как *in vitro*, так и *in vivo* (Таблица 1).

Таким образом, проведенные исследования показали эффективность применения поливалентного клебсиеллезного бактериофага в комплексной терапии у пациентов амбулаторной группы с целью профилактики развития бактериальных осложнений.

Таблица 1. Количественное содержание бактерий *K. pneumoniae* в респираторном тракте амбулаторных пациентов в сравниваемых группах COVID-19 в динамике (КОЕ/мл)

	В начале заболевания Me[IQR]	После фаготерапии или через 21 после начала лечения Me[IQR]	p (критерий Вилкоксона)
Контрольная группа ( $n = 12$ )	$5,5 \cdot 10^5$ [ $3,5 \cdot 10^5 - 1,0 \cdot 10^6$ ]	$4,0 \cdot 10^4$ [ $6,5 \cdot 10^3 - 1,4 \cdot 10^5$ ]	0,055 (2 положительных ранга)
Группа фаготерапии ( $n = 30$ )	$3,5 \cdot 10^5$ [ $2,0 \cdot 10^5 - 6,0 \cdot 10^5$ ]	0 [0 – 0]	< 0,001*
p (критерий Манна–Уитни)	0,045*	< 0,001*	

*Примечание: \* – изменения статистически значимы ( $p < 0,05$ )*

**Клинико-лабораторная характеристика пациентов ОРИТ с осложненным течением COVID-19, ассоциированным с бактериальными патогенами.** В рамках поставленных задач было проведено комплексное обследование и наблюдение за пациентами группы ОРИТ  $n=79$ . Основная группа - 52 пациента с этиологически подтвержденным диагнозом COVID-19 и наличием бактериальных осложнений. Группа сравнения ( $n=27$ ) - пациенты с COVID-19 без признаков бактериальной инфекции, находившихся в ОРИТ.

Согласно критериям степени тяжести ВОЗ, группы пациентов с бактериальными осложнениями при госпитализации были распределены следующим образом: группа пациентов с тяжелым течением – 42 человека (80,8%) и группа пациентов с критическим течением – 10 человек (19,2%). Группа сравнения (контроля) ( $n=27$ ) без признаков бактериальной инфекции включала 24 (88,9%) пациента с тяжелым и 3 (11,1%) с критическим течением заболевания. Пациенты с бактериальными осложнениями разделили на 2 подгруппы: 1 подгруппа - пациенты с благоприятным исходом ( $n=25$ ); 2-я подгруппа пациентов с летальным исходом ( $n=27$ ).

Структура коморбидной патологии пациентов ОРИТ с бактериальными осложнениями ( $n = 52$ ) представлена следующим образом: подавляющее большинство составили пациенты с артериальной гипертензией – 44 (84,6%) и сердечно-сосудистыми заболеваниями (ишемическая болезнь сердца, хроническая сердечная недостаточность, ишемическая кардиомиопатия, системный атеросклероз, нарушение ритма) – 33 (63,5%), менее – с сахарным диабетом 2-го типа – 13 (23,0%), с заболеваниями легких (хроническая обструктивная болезнь легких, бронхиальная астма, бронхоэктатическая болезнь легких) – 18 (34,6%), с заболеваниями ЖКТ (патология гепатобилиарного тракта, язвенное поражение желудка и двенадцатиперстной кишки, ГЭРБ) – 17 (32,7%), с заболеваниями почек (хроническая болезнь почек, хронические инфекции мочевыводящих путей) – 15 (28,8%), с новообразованиями (заболевания системы крови вне обострения, доброкачественные новообразования мочеполовой системы) – 7 (13,5%), с ожирением – 18 (34,6%). При сравнении коморбидной патологии в группах, ассоциированных с бактериальной инфекцией, показано, что в группе пациентов с летальным исходом частота встречаемости артериальной гипертензии составила 96,3% (26 пациентов) и других заболеваний сердечно-сосудистой системы -7.8 % (21 пациент), достоверно ( $p < 0,05$ ) превышая аналогичные показатели в группе с благоприятным исходом.

Анализ данных МСКТ в группах наблюдения свидетельствовал, что частота регистрируемых изменений варьировала и представлена изменениями от КТ 1 до КТ4. В первые 7 дней болезни достоверных различий по частоте выявляемых рентгенологических изменений в сравниваемых группах не было. Однако при динамическом наблюдении в группе пациентов с летальным исходом частота визуализации по типу КТ 4 была достоверно выше и достигла 46, 2%.

Анализ лабораторных показателей (Таблица 2) показал, что в группе пациентов с бактериальной инфекцией были получены достоверно более высокие показатели маркеров воспаления, коагулопатических маркеров: лейкоциты, лактат, прокальцитонин, интерлейкин, Д-димер ( $p < 0,05$ ).

Таблица 2. Воспалительные и коагулопатические лабораторные показатели у пациентов ОРИТ в сравниваемых группах.

Лабораторный показатель (единицы измерения)	Группа с бактериальной инфекцией (n=52)	Контрольная группа (n=27)	Достоверность, p
Количество лейкоцитов $M \pm m$ ( $\times 10^9/\text{л}$ )	9,74 $\pm$ 4,81 (8,22 – 11,26)	4,62 $\pm$ 1,70 (3,95 – 5,30)	<0,001* (критерий Уэлча)
СРБ (мг/л)	70,62 $\pm$ 81,66 (45,17 – 96,06)	51,19 $\pm$ 41,48 (34,78 – 67,59)	0,197 (критерий Уэлча)
Лактат (ммоль/л)	3,13 $\pm$ 2,22 (2,44 – 3,82)	2,04 $\pm$ 0,46 (1,86 – 2,22)	0,003* (критерий Уэлча)
Ферритин (мкг/л)	634 $\pm$ 474 (484 – 783)	732 $\pm$ 500 (534 – 930)	0,416 (Т-критерий Стьюдента)
Прокальцитонин (нг/мл)	1,23 $\pm$ 1,76 (0,67 – 1,79)	0,12 $\pm$ 0,11 (0,08 – 0,17)	<0,001* (критерий Уэлча)
Интерлейкин-6 (пг/л)	302 $\pm$ 345 (173 – 431)	96 $\pm$ 151 (34 – 158)	0,005* (критерий Уэлча)
Д-Димер (нг/мл)	1192 $\pm$ 1609 (690 – 1693)	264 $\pm$ 125 (214 – 313)	0,001* (критерий Уэлча)
МНО	1,66 $\pm$ 0,57 (1,48 – 1,84)	1,31 $\pm$ 0,18 (1,24 – 1,39)	0,001* (критерий Уэлча)

\* различия статистически значимы ( $p < 0,05$ ).

Пациентам с тяжелым течением COVID-19 и высоким риском развития синдрома ДВС (диссеминированное внутрисосудистое свертывание) и венозной тромбозной эмболии, рекомендовано включение в схемы терапии антикоагулянтов. Критерием для их назначения являются совокупные изменения в общем анализе крови (тромбоцитопения), коагулограмме (изменение уровня D-димера, АЧТВ) или установление риска развития коагулопатии, который был стратифицирован по шкале СИК (Таблица 3).

Таблица 3. Диагностические критерии сепсис-индуцированной коагулопатии.

Параметры	Оценка, баллы	Диапазон
-----------	---------------	----------

Тромбоциты ( $10^9/\text{л}$ )	2	< 100
	1	$\geq 100 < 150$
МНО	2	>1,4
	1	$>1,2 \leq 1,4$
Шкала SOFA	2	$\geq 2$
	1	1
Общее количество баллов для СИК		$\geq 4$

Присоединение бактериальной инфекции у пациентов в группе ОРИТ, подтверждался бактериологической верификацией патогенов с учетом изменений ряда лабораторных маркеров, включая Д- димера. Так, уровни показателя Д-димера в группе пациентов с бактериальной инфекцией составили в среднем  $1192 \pm 1609$ , что само по себе является типичным для подавляющего большинства генерализованных инфекционных заболеваний, поскольку патогены являются триггером развития ДВС-синдрома. В связи с этим нами предпринята попытка адаптировать шкалу СИК для подтверждения присоединения бактериальной инфекции на основании анализа параметров шкалы СИК в двух группах наблюдения (Таблица 4).

Показано, что в первые 24 часа баллы СИК в сравниваемых группах не имели достоверно значимых различий. В динамике заболевания в группе пациентов с вирусно-бактериальной инфекцией, при значении СИК  $5,13 \pm 1,58$  ( $3,69 - 5,58$ ) получена достоверная разница с группой контроля (не имеющей активной бактериальной инфекции). Для удобства подсчета диагностических критериев присоединения бактериальной инфекции целесообразным представляется практическое использование адаптированной шкалы СИК. Расчет параметров можно провести с помощью online-калькулятора, который доступен по ссылке <http://dolsip.ru>.

Таблица 4. Сравнительная оценка сепсис-индуцированной коагулопатии в группе пациентов ОРИТ с бактериальной инфекцией (n=52) и группы контроля (n=27).

параметр	Среднее значение [медиана] 52	Среднее значение [медиана] 27	P, достоверность
День болезни на момент перевода в ОРИТ			
День болезни, $M \pm m$ (95% CI)	$11,2 \pm 6,9$ (9,3 – 13,1)	$7,1 \pm 2,0$ (6,3 – 7,9)	<0,001* (критерий Уэлча)
Баллы СИК (поступление)	$4,04 \pm 1,12$ (2,73 – 4,35)	$2,70 \pm 0,78$ (2,30 – 3,01)	0,169 (Т-критерий Стьюдента)

Баллы СИК (перевод/смерть)	5,13±1,58 (3,69 – 5,58)	2,56±0,89 (2,20 – 2,91)	0,041* (критерий Уэлча)
----------------------------	-------------------------	-------------------------	-------------------------

\* различия статистически значимы ( $p < 0,05$ )

Этиотропная терапия бактериальных осложнений у пациентов с COVID-19 проводилась согласно Временным методическим рекомендациям «Профилактика, диагностика и лечение новой коронавирусной инфекции COVID-19 (версии 7-16).

**Оценка микробиоты, выделенной от пациентов с различной тяжестью течения COVID-19.** Для оценки микробиоты респираторного тракта нами был обследован 161 пациент стационаров г. Москвы и Санкт-Петербурга, у которых был выделен вирус SARS-CoV-2. Согласно полученным результатам при тяжелых формах COVID-19 чаще всего выделяли *K. pneumoniae* – в 55% случаев, *S. aureus* – в 13% случаев. *P. aeruginosa*, *Acinetobacter* и *Candida* были выделены с одинаковой частотой – в 9,7% случаев. При средней степени тяжести COVID-19 выделение штаммов *K. pneumoniae* было значительно реже – всего в 10% случаев, также уменьшилась доля выделяемых *S. aureus*, *P. aeruginosa*, *Acinetobacter* и *Candida*. При легкой форме COVID-19 частота выделения *K. pneumoniae* снижается до 8,3% и становится равной частоте выделения *S. aureus*, *P. aeruginosa*, *Acinetobacter* и *Candida*. Частота выделения *K. pneumoniae* при тяжелых формах COVID-19 была в 6,6 раза выше, чем при легких формах инфекции (Таблица 5).

Таблица 5. Характеристика бактериального состава отделяемого респираторного тракта в зависимости от степени тяжести течения COVID-19.

Форма течения заболевания	Абсолютное количество лиц	Доля от всех стационарных больных (%)	Выделенные бактерии	Абсолютное количество	Доля в данной форме течения (%)
Тяжелая форма	31	20	<i>K. pneumoniae</i>	17	55
			<i>S. aureus</i>	4	13
			<i>P. aeruginosa</i>	3	9,7
			<i>Acinetobacter</i>	3	9,7
			<i>Candida</i>	3	9,7
Средняя степень тяжести	118	73	<i>K. pneumoniae</i>	12	10
			<i>S. aureus</i>	2	1,7
			<i>P. aeruginosa</i>	1	0,8
			<i>Acinetobacter</i>	4	3,4
			<i>Candida</i>	9	7,6
Легкая форма	12	7	<i>K. pneumoniae</i>	1	8,3
			<i>S. aureus</i>	1	8,3
			<i>P. aeruginosa</i>	1	8,3
			<i>Candida</i>	1	8,3

Исследование микробиоты респираторного тракта пациентов ОРИТ в динамике (на момент поступления в стационар, через 7 и через 14 дней) позволило установить неблагоприятную тенденцию: значительное увеличение количества выделяемых



клинически значимых бактерий, в особенности *K. pneumoniae*, *Acinetobacter* spp, *P. aeruginosa*, *S. aureus*, *Candida* spp (Рисунок 2). Полученные результаты свидетельствуют о том, что в процессе пребывания пациентов в ОРИТ неизбежно происходит присоединение внутрибольничной инфекции, что может усугубить и без того тяжелое течение COVID-19.

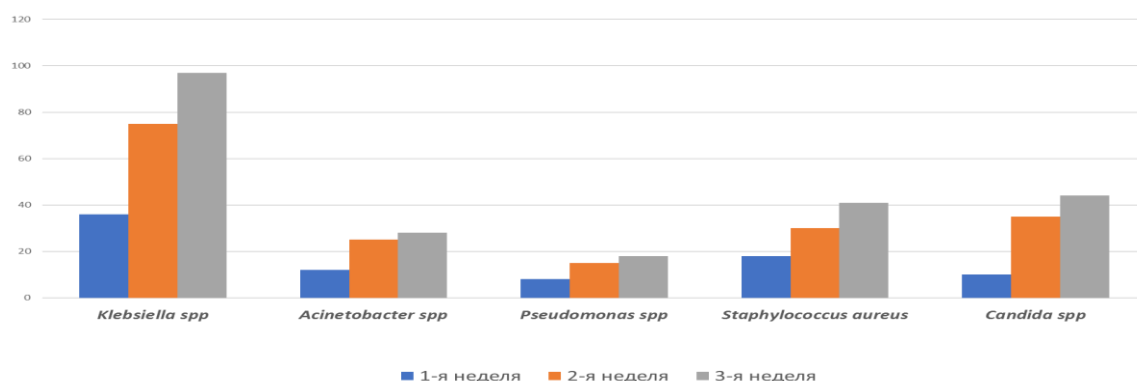


Рисунок 2. Динамика контаминации этиологически значимой бактериальной флорой респираторного тракта у пациентов ОРИТ в зависимости от сроков пребывания в стационаре

**Оценка чувствительности этиологически значимой микробиоты к антибиотикам и бактериофагам.** При выделении из соответствующей биопробы этиологически значимых бактерий определяли их чувствительность к антибиотикам и бактериофагам. Всего было проведено 62 исследования (Таблица 6).

Таблица 6. Показатель резистентности штаммов *K. pneumoniae* к карбапенемам, фторхинолонам, цефалоспорином III-IV поколений в зависимости от степени тяжести COVID-19 у стационарных больных.

Степень тяжести COVID-19	Доля резистентных штаммов (%)
Тяжелая форма	81,8
Средняя степень тяжести	33,3
Легкая форма	0

Штаммы *K. pneumoniae*, выделенные в нашем исследовании, обладали гораздо большей резистентностью, чем штаммы, выделяемые в мире. Так, если большинство зарубежных штаммов обладают МПК цефтриаксона на уровне 0,03 мг/л, то для наших штаммов МПК составляет 4 мг/л; МПК цефепима для зарубежных штаммов *K. pneumoniae* составляет 0,06 мг/л, в то время как для штаммов, выделенных в данной работе, составляет 8 мг/л. Это говорит о высоком уровне резистентности штаммов *K. pneumoniae*, особенно выделенных от больных с тяжелой формой инфекции COVID-19.

Штаммы *K. pneumoniae*, выделенные от тяжелых больных и резистентные к антибиотикам выбора, сохраняли 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. В связи с вышеизложенным необходимо отметить, что на фоне высокой резистентности штаммов *K. pneumoniae*, особенно выделенных от тяжелых больных, сохраняется резерв возможной терапевтической опции в виде использования бактериофагов.

**Характеристика биологических свойств выделенных штаммов *K. pneumoniae* с помощью полногеномного секвенирования.** Штаммы *K. pneumoniae*, выделенные от больных с разной тяжестью течения инфекции, были подвергнуты полногеномному секвенированию. От больных с тяжёлой формой исследовали 10 штаммов, от больных со средней тяжестью течения – 8 штаммов, от пациентов с лёгкой формой – 4 штамма (Рисунок 3).

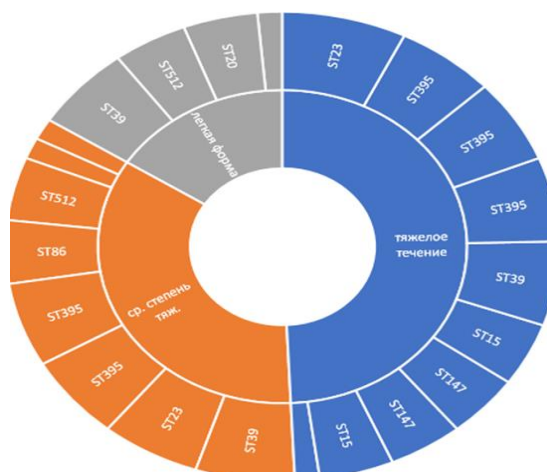


Рисунок 3. Распространённость сиквенс-типов *K. pneumoniae* в зависимости от степени тяжести COVID-19

При тяжёлых формах преобладали сиквенс-типы ST395, ST 15, ST147, которые характеризуются высокой вирулентностью и резистентностью к антибиотикам.

Известно, что оценка показателя/степени вирулентности варьируется от 0 до 5: 0 = нет локусов вирулентности; 1 = только иерсиниабактин; 2 = иерсиниабактин и колибактин или только колибактин; 3 = только аэробактин и/или сальмохелин (без иерсиниабактина или колибактина); 4 = аэробактин и / или сальмохелин с иерсиниабактином (без колибактина); 5 = иерсиниабактин, колибактин и аэробактин и / или сальмохелин.

Поэтому нами была исследована панель генов вирулентности и антибиотикорезистентности у штаммов *K. pneumoniae*. Оказалось, что штаммы,

выделенные у пациентов с тяжёлым течением коронавирусной инфекции, обладают наибольшим набором генов вирулентности и антибиотикорезистентности (Рисунок 4).



Рисунок 4. Распространённость генов вирулентности и антибиотикорезистентности у штаммов *K. pneumoniae* в зависимости от степени тяжести COVID-19

В то же время большинство выделенных штаммов обладали чувствительностью к клебсиеллезному поливалентному бактериофагу, как показано выше.

Поскольку известно, что ген *trpA* является регулятором гипермукоидного фенотипа у *K. pneumoniae*, а большинство выделенных штаммов содержали гены *trpA* и *trpA2* в своём геноме, то был изучен также их фенотип. Для этого применили стринг-тест (стринг-тест вирулентности штаммов является положительным тогда, когда нить бактериальной культуры тянется за петлей на расстояние более 5 мм).

Оказалось, что 80% штаммов, выделенных от пациентов с тяжёлой формой инфекции, имели не только генотип, но и фенотип гипермукоидности и вирулентности. Они принадлежали к капсульным типам K1 и K2. Поэтому крайне важно исследовать штаммы и мониторировать их распространение в лечебном учреждении для своевременной оценки ситуации и разработки тактики актуальной терапии, основанной на достоверных результатах.

#### Выводы:

1. Наиболее тяжелое течение COVID-19 отмечалось у пациентов ОРИТ старшей возрастной группы (71,30±12,40), имеющих широкий спектр сопутствующих заболеваний. В структуре коморбидной патологии у пациентов с бактериальными осложнениями значительно преобладали пациенты с артериальной гипертензией – 44 (84,6%) и другими сердечно-сосудистыми заболеваниями – 33 (63,5%). Неблагоприятный прогноз с развитием полиорганной недостаточности и летальным исходом у данной группы пациентов 19

непосредственно соотносились с указанным факторами (коморбидный статус и возрастная категория)

2. Для прогностической оценки присоединения бактериальной инфекции у пациентов с COVID-19 и расширения диагностических возможностей целесообразно использовать сочетание рутинных маркеров воспаления и осложненного течения (лейкоциты, прокальцитонин, Д-димер, лактат, СРБ, ИЛ-6) и адаптированной шкалы балльной оценки СИК. 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, доступного по ссылке [<http://dolsip.ru/>].

3. Секвенирование бактериальных геномов штаммов *K. pneumoniae* и исследование фенотипических маркеров патогенности позволило сформировать критерии включения бактериального патогена в группу этиопатогенетических факторов осложненного течения COVID-19: принадлежность к сиквенс-типам ST395, ST15, ST147, которые характеризуются высокой вирулентностью и резистентностью к антибиотикам; принадлежность к капсульным типам K1 и K2, наличие 2 и более локусов вирулентности, наличие фенотипа гипермукоидности.

4. В структуре бактериальных патогенов при осложненных формах COVID-19 *K. pneumoniae* была доминирующей. Доля антибиотикорезистентных штаммов, выделенных от тяжелых больных с COVID-19, составила 81,8%, в то время как 58% этих же штаммов сохранили чувствительность к бактериофагу клебсиеллезному поливалентному. От пациентов со средней степенью тяжести в 33,3% случаев выделялись мультирезистентные штаммы *K. pneumoniae*, из которых 78% были чувствительны к бактериофагу. Полученные профили резистом всех геномов, определивших развитие бактериальных осложнений, включали генетические детерминанты лекарственной устойчивости к респираторным фторхинолонам, цефалоспорином, макролидам, карбапенемам.

5. Дополнительное применение поливалентного клебсиеллезного бактериофага в стандартном терапевтическом режиме у пациентов с COVID-19 способствовало более ускоренной элиминации патогена (на 21-й день) с достоверным снижением процента выделения *K. pneumoniae* ( $p < 0,001$ ) до 16,5%. Полученные результаты и позитивный профиль безопасности препарата являются аргументацией в пользу расширенного применения фаготерапии в сочетании с базисной терапией в целях профилактики развития бактериальных осложнений у пациентов с COVID-19.

6. Разработан персонализированный диагностический алгоритм для пациентов с COVID-19, основанный на анализе совокупных объективных и лабораторно-инструментальных данных, включая генетические и фенотипические маркеры патогенности, антибиотикорезистентности и чувствительности бактерий к бактериофагам, с оценкой их в динамике заболевания.

#### **Практические рекомендации:**

С целью повышения эффективности индикации бактериальных патогенов респираторного тракта у пациентов с COVID-19, расширения подходов к этиотропной терапии и профилактики бактериальных осложнений целесообразно использовать алгоритм персонализированного подхода к тактике диагностики и этиотропной терапии осложненного течения COVID-19, обусловленного бактериальными патогенами (Рисунок 5). Для уменьшения контаминации респираторного тракта штаммами *K. pneumoniae* и профилактики развития бактериальных осложнений внедрить в практику применения поливалентный клебсиеллезный бактериофаг у пациентов амбулаторной группы с COVID-19 в режиме стандартного дозирования в течение 10 дней в ранние сроки заболевания. Для прогностической оценки присоединения бактериальной инфекции у пациентов с COVID-19, расширения диагностических лабораторных возможностей целесообразно использовать сочетание рутинных маркеров воспаления, коагулопатических маркеров (прокальцитонин/коагулопатические/острофазовые показатели) и адаптированной шкалы балльной оценки СИК, доступную по ссылке <https://dolsip.ru/>.



Рисунок 5. Алгоритм персонализированного подхода к тактике диагностики и этиотропной терапии осложненного течения COVID-19, обусловленного бактериальными патогенами.

**Перспективы дальнейшей разработки темы.** Проблема развития бактериальных осложнений касается не только инфекции, обусловленной вирусом SARS-CoV-2, но и

многими респираторными вирусами. Существует необходимость унифицировать диагностический и лечебный подход, проводимый в условиях стационара, начиная с момента поступления больного в медицинское учреждение.

Создание и расширение базы данных о всех выделенных в стационаре бактериальных штаммах, их вирулентности и отношении к антибактериальным препаратам, в том числе бактериофагам, позволит своевременно регистрировать появление и циркуляцию вирулентных и резистентных штаммов и проводить соответствующие профилактические мероприятия для предотвращения дальнейшего распространения инфекции, своевременно решать вопрос о назначении этиотропных препаратов.

### СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Бургасова О.А. Опыт применения тоцилизумаба у стационарных пациентов со среднетяжелым течением COVID-19. / О.А. Бургасова, **С.В. Долинный**, В.Б.Тетова, Д.А. Огаркова, М.А. Одноралов, В.В. Бакалин, С.В. Сметанина, Н.А. Антипят, М.В. Таранова // Вестник РГМУ. – 2022. - №2. С. 47–53.
2. Гончаров А.Е. Характеристика гипервирулентных мультиантибиотикорезистентных штаммов *Klebsiella pneumoniae* у стационарных пациентов с тяжелым течением COVID-19 / А.Е.Гончаров, Д.В.Азаров, А.С.Мохов, А.А.Почтовый, Д.Д.Кустова, В.А.Гущин, Е.А.Лебедева, В.В.Колоджиева, А.Г.Киреева, Л.А.Краева, **С.В.Долинный**, О.А.Бургасова, А.Р.Гончарова, Е.И.Белькова, А.В.Дмитриев // Инфекционные болезни. – 2022. – №2. – С. 32-39.
3. Конькова Л.С. Бактериофаги: прошлое, настоящее, будущее. / Л.С.Конькова, Л.А. Краева, О.А. Бургасова, **С.В. Долинный** // Врач. – 2022. - № 2 (33). – С. 21-26.
4. Раджабова Х.С. Фаготерапия: этапы изучения и применения бактериофагов в практической медицине. / Х.С. Раджабова, **С.В. Долинный**, О.А. Бургасова // Врач. - 2023. - № 1. - С. 64-67.
5. **Долинный С.В.** Оценка клинических данных и видового состава возбудителей верхних дыхательных путей у пациентов с COVID-19 с определением чувствительности к основным этиотропным препаратам. / **С.В. Долинный**, Л.А. Краева, О.А. Бургасова, Д.А. Огаркова // Врач. – 2023. - №2 (34). - С. 42-46.
6. Краева Л.А. Экспресс-метод определения чувствительности возбудителей бактериальных осложнений к бактериофагам при COVID-19/Л.А. Краева, Л.С. Конькова, О.А. Бургасова, **С.В. Долинный** // Эпидемиология и инфекционные болезни. 2023.Т28, №1. С. 15-22.

7. **Долинный С. В.** Оценка эффективности иммуносупрессивной стратегии лечения пациентов с COVID-19 в ассоциации с оксигенотерапией / **Долинный С.В.**, Одноралов М.А., Волкова М.А., Бургасова О.А. // В кн.: Материалы XIII Ежегодного Всероссийского Конгресса по инфекционным болезням имени академика В.И. Покровского.– 2022. С. 55.
8. **Долинный С. В.** Оптимизация тактики ведения пациентов с новой коронавирусной инфекцией (COVID-19) в условиях инфекционного стационара. / **Долинный С.В.**, Бургасова О.А. // В кн.: Материалы Международной научно-практической конференция «Современные проблемы инфектологии, эпидемиологии, микробиологии и медицинской паразитологии», (Узбекистан). – 2021. С. 19.
9. **Долинный С. В.** Бактериальная флора респираторного тракта у пациентов с осложненными формами новой коронавирусной инфекции / Л. А. Краева, **С. В. Долинный**, О. А. Бургасова [и др.] // Контроль и профилактика инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи (ИСМП-2021) : СБОРНИК ТЕЗИСОВ IX КОНГРЕССА С МЕЖДУНАРОДНЫМ УЧАСТИЕМ, Москва, 25–26 ноября 2021 года. – Москва: ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора, 2021. – С. 61-62. – EDN UWGGCK.
10. **Долинный, С. В.** Опыт применения селективной ЛПС-сорбции у пациентов с COVID-19 в условиях ОРИТ / **С. В. Долинный**, М. А. Одноралов, О. А. Бургасова // Контроль и профилактика инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи (ИСМП-2021) : СБОРНИК ТЕЗИСОВ IX КОНГРЕССА С МЕЖДУНАРОДНЫМ УЧАСТИЕМ, Москва, 25–26 ноября 2021 года. – Москва: ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора, 2021. – С. 50. – EDN EOXJUB.
11. **Долинный С. В.** Характеристика видового состава бактериальной микрофлоры у пациентов с различной тяжестью течения COVID-19/ **Долинный С.В.**, Краева Л.А., Бургасова О.А. // В кн.: Материалы XV Ежегодного Всероссийского Конгресса по инфекционным болезням имени академика В.И. Покровского.– 2023.С. 72.

#### **Аннотация**

Пандемия новой коронавирусной инфекции (COVID-19) актуализировала вопрос изыскания новых подходов в диагностике и терапии вирусно-бактериальных форм инфекции. Известно, что на поздних сроках заболевания большую роль в развитии осложнений при COVID-19 играет микробный фактор, а именно - бактерии (Morris D.E., 2017). При текущей пандемии у 50% умерших пациентов отмечено присоединение вторичных бактериальных осложнений (ZhouF.,2020). В результате проведенного

исследования было установлено, что при тяжелых формах COVID-19 чаще всего выделяли бактерии *K. pneumoniae* – в 55% случаев, при средней степени тяжести заболевания выделение штаммов *K. pneumoniae* было значительно реже – всего в 10% случаев, при легкой форме COVID-19 частота выделения *K. pneumoniae* снижалась до 8,3%.

Установлено, что доля резистентных штаммов у пациентов с легкой формой COVID-19 составляла 0, у пациентов со средней степенью тяжести – 33,3 %, то у тяжелых больных она доходила до 81,8 %. Причем 60 % штаммов *K. pneumoniae* проявляли резистентность к карбапенемам, 56,7 % - к фторхинолонам, 66,7 % - к цефалоспорином. В то же время штаммы *K. pneumoniae* отличались высокой чувствительностью к бактериофагу клебсиеллезному поливалентному: половина штаммов, выделенных от тяжелых больных и резистентных к антибиотикам выбора, сохранили чувствительность к этому бактериофагу.

В результате полногеномного секвенирования ДНК штаммов *K. pneumoniae* было установлено, что при тяжёлых формах COVID-19 преобладали сиквенс-типы ST395, ST15, ST147, которые характеризуются высокой вирулентностью и резистентностью к антибиотикам.

Данные исследования позволили нам сформулировать алгоритм персонализированного подхода к тактике диагностики и этиотропной терапии осложненного течения COVID-19, обусловленного бактериальными патогенами.

### Summary

The pandemic of a new coronavirus infection (COVID-19) has actualized the issue of finding new approaches in the diagnosis and treatment of viral and bacterial forms of infection. It is known that in the later stages of the disease, a microbial factor, namely bacteria, plays an important role in the development of complications in COVID-19 (Morris D.E., 2017). During the current pandemic, 50% of the deceased patients have secondary bacterial complications (ZhouF., 2020). As a result of the study, it was found that in severe forms of COVID-19, *K. pneumoniae* bacteria were most often isolated - in 55% of cases, with moderate severity of the disease, the isolation of *K. pneumoniae* strains was much less common - only in 10% of cases COVID-19 isolation rate of *K. pneumoniae* decreased to 8.3%.

It was found that the proportion of resistant strains in patients with a mild form of COVID-19 was 0, in patients with moderate severity - 33.3%, then in severe patients it reached 81,8%. Moreover, 60% of *K. pneumoniae* strains were resistant to carbapenems, 56.7% to fluoroquinolones, and 66.7% to cephalosporins. At the same time, strains of *K. pneumoniae* were



highly sensitive to bacteriophage *Klebsiella* polyvalent: half of the strains isolated from severely ill patients and resistant to antibiotics of choice retained sensitivity to this bacteriophage.

As a result of whole genome sequencing of DNA of *K. pneumoniae* strains, it was found that in severe forms of COVID-19, sequence types ST395, ST 15, ST147, which are characterized by high virulence and resistance to antibiotics, prevailed.

These studies allowed us to formulate an algorithm for a personalized approach to the tactics of diagnosis and etiotropic therapy of the complicated course of COVID-19 caused by bacterial pathogens.

### **СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ**

БАЛ – бронхоальвеолярный лаваж

ДВС – диссеминированное внутрисосудистое свертывание

МСКТ - мультиспиральная компьютерная томография

ОТ-ПЦР – полимеразная цепная реакция с обратной транскрипцией

СИК – сепсис индуцированная коагулопатия

СРБ – С-реактивный белок

АРАСНЕ II – The АРАСНЕ II score

COVID-19 – коронавирусная инфекция 2019

SOFA – Sequential Organ Failure Assessment

ДНК – дезоксирибонуклеиновая кислота

РНК – рибонуклеиновая кислота