

Федеральное государственное автономное образовательное учреждение  
высшего образования «Российский университет дружбы народов  
имени Патриса Лумумбы»

*На правах рукописи*

**Долинный Сергей Владимирович**

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

3.1.22. Инфекционные болезни

1.5.11. Микробиология

Диссертация  
на соискание ученой степени  
кандидата медицинских наук

Научные руководители:  
**Бургасова Ольга Александровна,**  
доктор медицинских наук;  
**Краева Людмила Александровна,**  
доктор медицинских наук

## ОГЛАВЛЕНИЕ

<b>ВВЕДЕНИЕ.....</b>	<b>4</b>
<b>Глава 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ.....</b>	<b>12</b>
1.1. Клинико-патогенетические аспекты развития бактериальных осложнений у пациентов с COVID-19 .....	12
1.2. Характеристика возбудителей бактериальных осложнений у пациентов с COVID-19 .....	18
1.2.1. Видовой состав возбудителей ко-инфекции при COVID-19.....	21
1.2.2. Фенотипическая характеристика возбудителей бактериальных осложнений.....	23
1.2.3. Генетические факторы патогенности и антибиотикорезистентности у возбудителей бактериальных осложнений.....	29
1.3. Современная тактика этиотропной терапии и профилактики бактериальных осложнений COVID-19 .....	32
1.4. Роль бактериофагов в терапии и профилактике бактериальных осложнений при респираторных инфекциях.....	40
<b>Глава 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ.....</b>	<b>49</b>
2.1. Общеклинические, лабораторные и визуализационные методы диагностики COVID-19 .....	50
2.2. Вирусологическая диагностика .....	51
2.3. Бактериологические методы исследования материала от больных.....	511
2.4. Масс-спектрометрический метод идентификации бактерий MALDI-TOF .....	52
2.5. Метод полногеномного секвенирования штаммов <i>K. pneumoniae</i> .....	53
2.6. Определение чувствительности выделенных возбудителей к антибактериальным препаратам .....	533
2.7. Статистические методы обработки полученных данных .....	544
<b>СОБСТВЕННЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ .....</b>	<b>59</b>
<b>Глава 3. ОЦЕНКА ВИДОВОГО СОСТАВА ВОЗБУДИТЕЛЕЙ ВЕРХНИХ ДЫХАТЕЛЬНЫХ ПУТЕЙ У ПАЦИЕНТОВ АМБУЛАТОРНОЙ ГРУППЫ С ОПРЕДЕЛЕНИЕМ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ К ОСНОВНЫМ ЭТИОТРОПНЫМ ПРЕПАРАТАМ.....</b>	<b>59</b>
<b>Глава 4. КЛИНИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ПАЦИЕНТОВ С COVID-19 .....</b>	<b>74</b>
4.1 Клинико-лабораторная характеристика пациентов ОРИТ с осложненным течением COVID-19, ассоциированным с бактериальными патогенами.....	74
4.2. Клинические примеры пациентов с COVID-19 .....	97

<b>Глава 5. АНАЛИЗ МИКРОБИОМА РЕСПИРАТОРНОГО ТРАКТА У ПАЦИЕНТОВ С COVID-19.....</b>	<b>116</b>
5.1. Оценка бактериальной микрофлоры, выделенной от пациентов с различной тяжестью течения COVID-19 .....	116
5.2. Оценка чувствительности бактериальной микрофлоры к антибиотикам и бактериофагам .....	119
5.3. Характеристика биологических свойств выделенных штаммов <i>K. pneumoniae</i> с помощью полногеномного секвенирования .....	125
<b>Глава 6. ПЕРСОНАЛИЗИРОВАННЫЙ ПОДХОД К ДИАГНОСТИКЕ И ЭТИОТРОПНОЙ ТЕРАПИИ ОСЛОЖНЕННОГО ТЕЧЕНИЯ COVID-19...</b>	<b>131</b>
6.1. Алгоритм персонализированного подхода к тактике диагностики и этиотропной терапии осложненного течения COVID-19, обусловленного бактериальными патогенами.....	132
<b>ЗАКЛЮЧЕНИЕ .....</b>	<b>135</b>
Выводы .....	141
Практические рекомендации.....	142
Перспективы дальнейшей разработки темы.....	144
<b>СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ .....</b>	<b>145</b>
<b>СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ .....</b>	<b>147</b>

## ВВЕДЕНИЕ

**Актуальность темы исследования.** В последние десятилетия эпидемические вспышки и даже пандемии, вызываемые возбудителями вновь появляющихся инфекционных заболеваний, представляли собой практически непрерывную угрозу для глобального здравоохранения [1].

Данные метаанализа и накопленный клинический опыт в период пандемии COVID-19 показал, что клиническое течение новой коронавирусной инфекции COVID-19, несмотря на достижения и успехи в организации медицинской помощи и лечении заболевания, у значительной части возрастных пациентов на фоне вирус-индуцированной иммуносупрессии развивались тяжелые бактериальные осложнения, приводящие к летальному исходу. Тяжелое течение COVID-19 у стационарной группы пациентов с COVID-19 обусловлено комплексом причин, и в том числе развитием вирусно-бактериальных ко-инфекций или суперинфекций с присоединением бактериальных патогенов. У 20–30% пациентов имело место нарушение эндогенной микробиоты, 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 [2, 3].

Применение ряда лекарственных препаратов, использование эмпирически назначенных антибиотиков широкого спектра действия у пациентов с COVID-19 приводили к нарушениям в микробиоме и дисбактериозу. В сочетании с невозможностью идеального соблюдения инфекционного контроля это способствовало эпидемическому распространению. Исследования ряда ученых как в РФ, так и за рубежом, свидетельствуют о том, что в структуре лихорадок у стационарных пациентов нозокомиальные инфекции составляют вне пандемического периода от 30 до 50%. В период пандемии с 2020 года наиболее распространенными бактериальными патогенами были бактерии *K. pneumoniae*, продуцирующие карбапенемазу, которые регистрировались в российских больницах и ранее [4].

Циркуляция таких штаммов в стационарах и встреча с ними пациентов с COVID-19 была практически неизбежна. Кроме того, хорошо известно, что в человеческой популяции от 1 до 6% населения являются носителями *K. pneumoniae*, локализованной в носоглотке; 5–38% лиц являются носителями *K. pneumoniae* в кишечнике. Есть сообщения и о более высоких показателях носительства, особенно в группах иммунодефицитных пациентов (лиц, страдающих метаболическими нарушениями, хронической обструктивной болезнью легких, пациентов с циррозом печени и пр.) [5].

Заболевания, вызываемые клебсиеллами, характеризуются тяжелым течением, а при нозокомиальных инфекциях – высокой летальностью (до 50%) [6]. Однако рациональная антибактериальная терапия в борьбе с бактериальной ко-инфекцией невозможна без знаний антибиотико- и фагочувствительности возбудителя, без глубокого понимания биологических свойств бактериального патогена.

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**

При анализе научной литературы становится очевидно, что степень разработанности темы исследования в настоящее время недостаточна, особенно в вопросах вирусно-бактериального мониторинга. Мало изучены маркеры вирулентности и антибиотикорезистентности у бактериальных патогенов – основных возбудителей бактериальных осложнений при COVID-19. Необходимо внедрение в практическое здравоохранение быстрых и доступных экспресс-тестов, позволяющих подтвердить или предположить бактериальную инфекцию. Недостаточно освящается вопрос клинко-микробиологической характеристики пациентов, находящихся в ОРИТ, с глубоким изучением генетических и фенотипических маркеров патогенности выделяемых бактерий, которые являются этиопатогенетическим триггером осложненного течения COVID-19. Требуется постоянное обновление информации по оценке чувствительности имеющихся бактериальных патогенов, выделенных от пациентов с

осложненным течением COVID-19, к антибактериальным препаратам, в том числе — бактериофагам, с использованием современных методов исследования.

**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 результатов 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 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 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.

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 бактериофага для профилактики бактериальных осложнений у пациентов с легкой и средней 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 причиной 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; 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.

Полученные результаты дополняют клинические представления об осложненном течении COVID-19, а также могут быть использованы в диагностике и терапии осложненных форм заболевания.

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

Полученные результаты работы донесены до научно-практического сообщества, врачей-ординаторов, аспирантов. Основные положения 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.

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.

### **Методология и методы исследования**

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

### **Положения, выносимые на защиту**

1. Структура коморбидной патологии у пациентов ОРИТ с бактериальными осложнениями среди лиц старше 70 лет представлена широко распространёнными 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 сепсис-индуцированной коагулопатии (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.

**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.

## **Степень достоверности полученных результатов**

Научные положения и выводы обоснованы достаточным объемом клинических и лабораторных исследований, применением современных технологий и методов статистической обработки полученных 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 и обсуждены на XIII Ежегодном Всероссийском Конгрессе по инфекционным болезням имени академика В. И. Покровского (Москва, Россия, 24–26 мая 2021 г.), доклад «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., доклад «Клинико-микробиологическая характеристика осложненных форм новой коронавирусной инфекции COVID-19», доклад «Опыт применения селективной ЛПС-сорбции при лечении критических больных COVID-19»; на Международной научно-практической конференции «Актуальные проблемы инфектологии, эпидемиологии и паразитологии» (Узбекистан, Бухара, 21–23 апреля 2022 г.), доклад «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.), доклад «Опыт применения бактериофага в амбулаторной практике у пациентов с COVID-19».

Материалы диссертационного исследования были доложены и представлены к апробации на кафедре инфекционных болезней с курсами эпидемиологии и фтизиатрии РУДН. 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.

**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, выводов и практических рекомендаций, списка использованной литературы, включающего 189 источников (65 отечественных и 124 зарубежных). Работа иллюстрирована 35 таблицами, 36 рисунками, 3 клиническими примерами.

## Глава 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

### 1.1. Клинико-патогенетические аспекты развития бактериальных осложнений у пациентов с COVID-19

Многолетние наблюдения за особенностями течения различных острых респираторных вирусных инфекций (ОРВИ) свидетельствуют о том, что нередко ОРВИ протекают с выраженной иммунной супрессией, длительной вирусемией и активацией бактериальных патогенов с развитием бактериальных осложнений в виде ко- или суперинфекций. Классическим примером острой респираторной инфекции может служить грипп; так, при первой пандемии 1918–1919 года, вызванной вирусом гриппа, большинство летальных исходов в человеческой популяции было связано с присоединением бактериальных осложнений. Аналогичные клинические наблюдения были «зарегистрированы во время последующих трех пандемий гриппа, вызванных различными вариантами вируса: H2N2 в 1957 г., H3N2 в 1968–1969 гг. и H1N1 в 2009–2010 гг.» [7]

Не стала исключением и новая коронавирусная инфекция, вызванная SARS-CoV-2 (COVID-19), также относящаяся к респираторным инфекциям. В самом начале пандемии COVID-19 исследователи описывали «три не исключаящих друг друга сценария взаимодействия ко-инфекций и SARS-CoV-2: (1) заражение SARS-CoV-2 после инфицирования/колонизации бактериями; (2) комбинированная вирусно-бактериальная пневмония; (3) вторичная бактериальная суперинфекция после инфицирования SARS-CoV-2. Возбудитель SARS-CoV-2 может способствовать распространению и тканевой адгезии бактерий у инфицированного человека, а комбинация инфекций – усилению деструктивных процессов в различных тканях и утяжелению патологического процесса» [178].

Респираторная дисфункция, вовлечение в патологический процесс различных клеток, включая эндотелиоциты с выраженной их деструкцией и нарушением проницаемости, с повреждением и гипоперфузией тканей вследствие инфицирования SARS-CoV-2 и сочетанной вирусно-бактериальной ко-инфекцией, могут прогрессировать до системного распространения вируса и/или бактериальных ко-патогенов и развития бактериемии и сепсиса [8].

Показатели летальности отличались в различные периоды пандемии COVID-19, в различных регионах и варьировали в зависимости от различных демографических и других факторов. Случаи тяжелого и осложненного течения инфекции отмечались преимущественно у лиц старшей возрастной группы, а также у лиц с хроническими соматическими заболеваниями. Необходимо отметить, что у подавляющего большинства лиц, инфицированных SARS-CoV-2, отмечалось легкое или субклиническое течение болезни. Однако у пациентов старше 60–65 лет, имеющих различную сопутствующую патологию, COVID-19 протекал с развитием осложнений, с синдромом полиорганной недостаточности, сепсисом, инфекционно-токсическим шоком [9]. По некоторым данным, «уровень госпитализации превышал 8% и мог достигать 20% в группе наиболее высокого риска (средний возраст составил 72 года)» [10]. Среди серьезных осложнений у пациентов с COVID-19 нередко регистрировались такие как вторичная инвазивная бактериальная инфекция, декомпенсация хронических заболеваний, септический шок, почечная недостаточность, миокардит, энцефалит.

«Из ряда коморбидных патологий, отягощающих течение COVID-19, можно выделить хроническую обструктивную болезнь легких (ХОБЛ), которая занимала одно из ведущих мест в структуре сочетанной патологии среди пациентов с тяжелым течением заболевания» [186]. Анализ клинических случаев на начальных и последующих этапах пандемии COVID-19 продемонстрировал, что вторичные бактериальные инфекции развивались «у 50% умерших пациентов с ХОБЛ» [11], «у которых также имело место развитие сочетанных бактериальных и грибковых инфекций» [12]. Даже в стабильном состоянии пациентов с ХОБЛ, вне обострения основного заболевания, у них происходит колонизация бактериальными патогенами. А при присоединении COVID-19 с высокой вероятностью происходит активация этих патогенов. На фоне выраженной иммуносупрессии, обусловленной внедрением вируса SARS-CoV-2, может происходить инфицирование различными бактериальными агентами, особенно в условиях стационара, где сохраняется определенный профиль микрофлоры, как причинный фактор сочетанных госпитальных инфекций. Достаточно высок риск развития внутрибольничных пневмо-

ний, особенно у пациентов ОРИТ, находящихся на ИВЛ [13], который напрямую зависит от сроков нахождения пациентов в стационаре. У пациентов ОРИТ с инфекцией, обусловленной MERS-CoV, были также зарегистрированы бактериальные ко-инфекции [14]. Большая часть современных исследований посвящена изучению микробиоты пациента и ее влиянию не только на сбалансированное функционирование нормального организма, но и ее изменение при различных патологических состояниях. Известно, что изменения микробиоты усугубляют течение заболевания. Важной патогенетической составляющей, объясняющей присоединение бактериальных осложнений при острых респираторных инфекциях, является наличие изменений микробиома кишечника, что в свою очередь может «способствовать активации оси «кишечник – легкие», которая необходима для противодействия развитию бактериальной пневмонии» [15]. Нарушение этих взаимосвязей приводит к контаминации структур органов дыхательной системы и собственно легочной ткани [15].

Изменения в микробиоте легких были «выявлены у пациентов с COVID-19, и «обогащение» микробиоты легких бактериями, обнаруженными в кишечном тракте, коррелирует с началом острого респираторного дистресс-синдрома и отдаленными неблагоприятными исходами» [178]. Ангиотензин-превращающий фермент 2 (ACE2) представляет собой фермент, который может быть обнаружен либо прикрепленным к мембране клеток (mACE2) в кишечнике, почках, яичках, желчном пузыре и сердце (ACE2) регулирует микробиоту кишечника, косвенно контролируя секрецию антимикробных пептидов. Кроме того, кишечная микробиота усиливает и поддерживает противовирусный иммунитет, увеличивая количество и функцию иммунных клеток, а также уменьшая иммунопатологию и стимулируя выработку интерферона. В свою очередь, известно, что респираторные вирусы влияют на микробный состав легких и кишечника. Таким образом, анализ изменений микробиоты во время инфекции SARS-CoV-2 может помочь предсказать исходы заболевания пациентов и позволить разработать терапию с учетом микробиотического состава.

ОРДС (острый респираторный дистресс синдром) является распространенным и тяжелым осложнением COVID-19, и многолетний практический опыт показывает, что микробиоты в легких у пациентов с ОРДС отличается от таковых у больных без ОРДС, что позволяет считать, что изменения микробного состава в легких пациента с COVID-19 могут предсказать развитие ОРДС [14, 15, 16]. В исследовании Диксона и соавторов было использовано высокопроизводительное секвенирование для идентификации микробиоты вБАЛ (бронхо-альвеолярный лаваж) 68 пациентов с ОРДС. Результаты секвенирования показали, что кишечочно-ассоциированные виды бактериоидов присутствовали у 41% пациентов против 3,8% здоровых контрольных лиц, а обогащение микробиоты легких бактериями кишечника коррелировало с повышенными маркерами воспаления в плазме [17]. Другое исследование показало, что обилие кишечочно-ассоциированных энтеробактерий *spp.* было повышено у тяжелобольных пациентов с ОРДС по сравнению с пациентами без ОРДС. Кроме того, увеличение количества кишечочно-ассоциированных лакноспираз и энтеробактерий предсказывало меньшее количество дней без ИВЛ, а также увеличение количества лакноспираз являлось сильным предиктором снижения выживаемости у пациентов с ОРДС [15]. Эти результаты свидетельствуют о том, что микробиота может быть использована в качестве надежного маркера для прогнозирования ОРДС и исходов COVID-19.

Как врожденная, так и адаптивная иммунная системы участвуют в контроле инфекции, вызванной SARS-CoV-2. Лимфопения с резко сниженным количеством В-клеток, CD4+ и CD8+ Т-клеток и моноцитов, а также регуляция запрограммированной клеточной гибели-1, биомаркера истощения Т-клеток, встречаются часто у тяжелых пациентов COVID-19 [18]. Кроме того, микробиота модулирует иммунную систему [19, 20], влияя на развитие иммунных клеток, таких как регуляторные Т-клетки и врожденные лимфоидные клетки, которые помогают поддерживать гомеостаз кишечника и легких [21, 22, 23]. Хотя данные о взаимодействии нормальной микробиоты с вирусами ограничены, накопление данных о различных вмешательствах, таких как воздействие антибиотиков и перенос микробиоты, показало, что микробиота усиливает противовирусный иммунитет. Эти результа-

ты могут позволить разработать эффективные методы лечения инфекции, ассоциированной с SARS-CoV-2. [18].

На состояние пациентов с COVID-19 оказывали определенное влияние и используемые стратегические варианты терапии. Особенно активно обсуждался вопрос о целесообразности применения глюкокортикостероидов, с надеждой на их высокую эффективность. Ряд авторов отмечал, что «применение ГКС значительно увеличивает риск числа случаев бактериальной пневмонии» [24]. Аналогичные высказывания «свидетельствуют о том, что высокие дозы глюкокортикостероидов повышают риск вторичных бактериальных инфекций у пациентов с острым респираторным дистресс-синдромом (ОРДС)» [25]. Другой опыт использования глюкокортикостероидов при лечении пациентов с пневмониями, вызванными COVID-19, без гипоксемии показал, что раннее применение малых доз метилпреднизолона в терапии пациентов со среднетяжелой и тяжелой пневмонией, вызванной COVID-19, без гипоксемии снижает частоту возникновения жизнеугрожающих осложнений и улучшает исходы заболевания [26]. При наличии у пациента в анамнезе хронической патологии с синдромом бронхиальной обструкции авторы исследования рекомендуют раннее назначение глюкокортикостероидов в сочетании с антибактериальной и противовирусной терапией с первых дней болезни [27].

Сохраняет актуальность и по-прежнему сложно регулируема такая проблема в разделе терапии бактериальных осложнений у пациентов с COVID-19, как излишне широкое применение антибактериальных препаратов и стремительный рост устойчивости микроорганизмов к антибиотикам. Проникновение антибактериальных фрагментов в организм человека усугубляется также другими вредоносными факторами: широко распространенной в практическом здравоохранении полипрагмазией; самолечением, обусловленным различными причинами; широким применением антибиотиков для профилактики заболеваний животных.

Группой исследователей подсчитано, что только в 2019 г. было зарегистрировано 4,95 млн смертей, связанных с устойчивостью к антибактериальным пре-



паратам [28]. Антибиотики не только угнетают рост бактерий, но также способствуют селекции резистентности и ее распространению [29].

Тактика терапии пациентов с новой коронавирусной инфекцией, особенно на начальном этапе пандемии, была сопряжена с чрезмерным применением антибиотиков еще на догоспитальном этапе. «Иррациональное эмпирическое применение антибиотиков широкого спектра действия было ассоциировано с более высокой летальностью, по крайней мере, в случае развития сепсиса. Рост антибиотикорезистентности имеет место также в связи с массированным применением антибиотиков у пациентов с COVID-19. Даже при нормальном сценарии развития событий отделения интенсивной терапии будут оставаться эпицентром развития антибиотикорезистентности. Это обстоятельство может иметь катастрофические последствия в тех клиниках, где уже наблюдается высокая частота выявления штаммов с множественной лекарственной устойчивостью. Очевидно, что в стационарах происходит распространение как SARS-CoV-2, так и бактерий с множественной лекарственной устойчивостью, что приводит к увеличению числа летальных исходов» [30].

С начала пандемии в России развернута сеть новых инфекционных стационаров, которые, по определению Ch. Brun-Buisson, представляют собой особую экологическую нишу, где группируются ослабленные больные и применяются инвазивные методы лечения [31]. По современной терминологии, новые инфекционные госпитали относятся к учреждениям высокого эпидемиологического риска инфицирования госпитальной флорой [32].

Наиболее часто идентифицированными ко-патогенами SARS-CoV-2 являются бактерии, такие как *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pneumoniae*, *Klebsiella pneumoniae*, *Haemophilus influenzae*, *Mycoplasma pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Legionella pneumophila* и *Chlamydia pneumoniae* и редко — другие респираторные вирусы. Взаимодействие между сопутствующими патогенами, SARS-CoV-2 и «хозяином» приводит к комплексу иммунопатологических процессов, осложненному течению новой коронавирусной инфекции, усложняет раннюю диагностику, что в свою очередь дает основание к применению только

эмпирической терапии, а отсутствие этиологически обоснованной тактики ухудшает прогноз.

Исход новой коронавирусной инфекции (COVID-19), ассоциированной с *Klebsiella pneumoniae*, являющейся одним из наиболее распространенных внутрибольничных патогенов, зависит от обоснованной этиотропной тактики ведения больных, поиска новых подходов к терапии осложненного течения COVID-19 [33].

Учитывая высокие риски штаммов *K. pneumoniae*, их мониторинг крайне важен для прогноза развития ситуации и минимизации бактериальных осложнений в стационарах у пациентов с COVID-19. Появление гиперрезистентных патогенов усугубляет необходимость регулярного эпидемиологического мониторинга и строгих мер инфекционного контроля в стационарах Российской Федерации, особенно в отделениях интенсивной терапии (ОРИТ), где концентрация тяжелобольных пациентов с высокими рисками летального исхода значительна.

Тактика ведения этой группы пациентов с тяжелыми бактериальными осложнениями, полиорганной недостаточностью, сепсисом, обусловленными гиперрезистентными или панрезистентными штаммами патогенов с высокой лекарственной устойчивостью и эндемическим потенциалом, требует поиска новых подходов к терапии и стратегий профилактики формирования этих бактериальных осложнений.

Анализ проведенной доступной литературы показал, что в настоящее время нет точных ответов на все вопросы, которые касаются патогенеза новой коронавирусной инфекции. Изучено множество аспектов патогенеза бактериальных осложнений при COVID-19, однако остаются нерешенными еще множество вопросов. Полученный опыт и проведенные исследования продолжают подвергаться анализу и мета-анализу, в том числе и на территории РФ.

## **1.2. Характеристика возбудителей бактериальных осложнений у пациентов с COVID-19**

В настоящее время накоплен большой объем клинических данных, а также «подтверждающих их результатов фундаментальных исследований на животных,

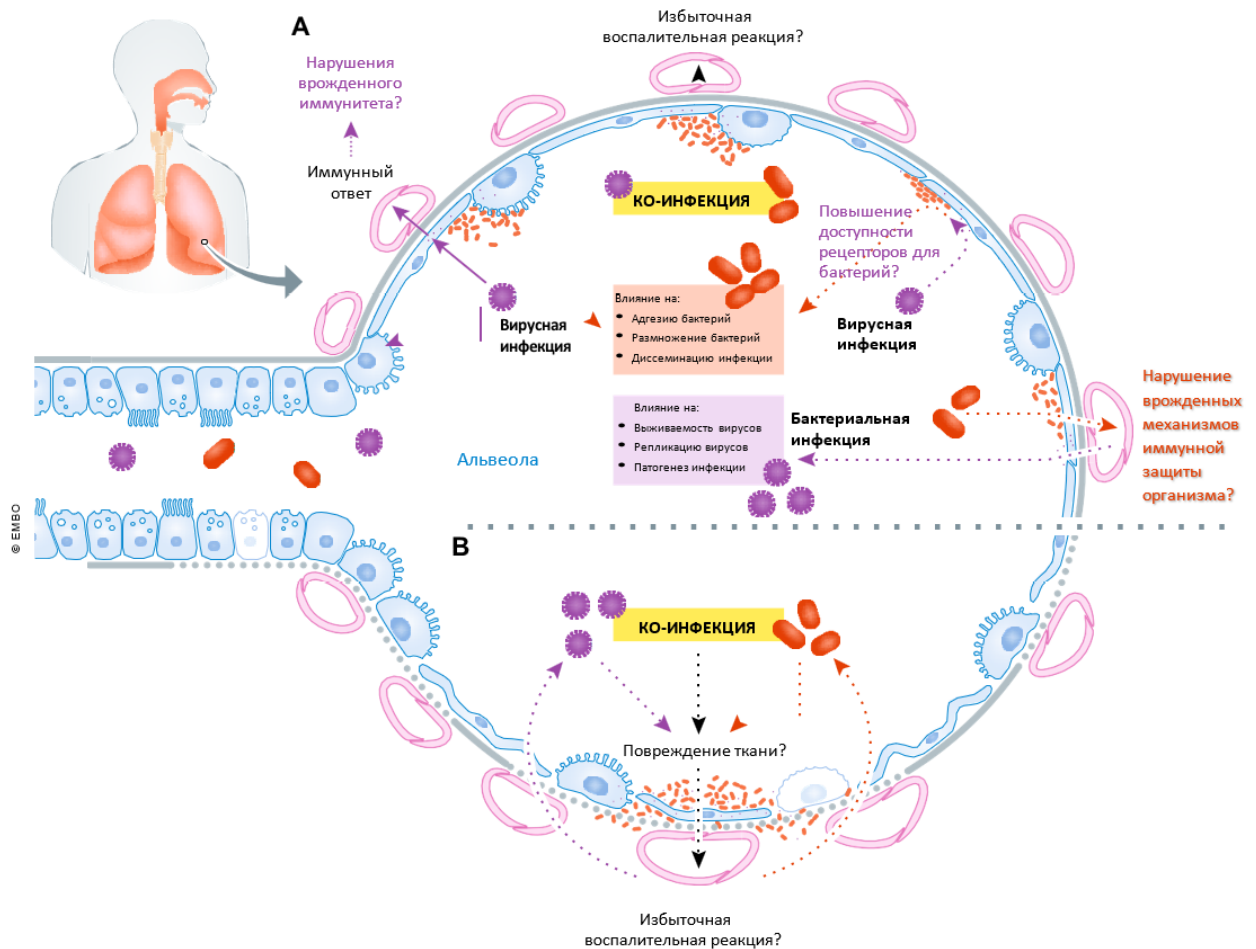
которые демонстрируют, что респираторные вирусные инфекции предрасполагают пациентов к бактериальным ко-инфекциям и суперинфекциям» [178]. Например, «до 90% случаев смерти во время пандемии гриппа 1918 года и трёх последующих в 1957 г., 1968–1969 гг. и 2009–2010 гг. были обусловлены бактериальными патогенами» [7].

Поэтому изучение ко-инфекций при COVID-19 очень важно и своевременно. Так, «известно, что хроническая обструктивная болезнь легких (ХОБЛ) является одним из тех вариантов коморбидности, которые предрасполагают к тяжелому течению COVID-19» [9, 10]. «У пациентов с ХОБЛ колонизация патогенными бактериями присутствует даже в стабильной фазе заболевания, и при этом развитие инфекции, вызванной SARS-CoV-2, происходит на фоне наличия в организме очагов бактериальной инфекции. Также весьма высока вероятность того, что пациенты с тяжелым течением COVID-19 могут в то же время или впоследствии подвергаться инфицированию бактериями. Средняя продолжительность госпитализации пациентов с COVID-19 составляет 7 дней, но может достигать 14 дней и более» [10], а «риск возникновения нозокомиальной пневмонии значительно возрастает по мере увеличения сроков госпитализации. Кроме того, более чем 90% пациентов с госпитальными пневмониями нуждаются в искусственной вентиляции легких. Данное инвазивное вмешательство стало одним из методов лечения пациентов с COVID-19, поступающих в отделение интенсивной терапии.

Кроме того, на необходимость изучения ко-инфекций при COVID-19 указывают результаты первых исследований, в которых показано наличие вторичных бактериальных инфекций у половины умерших пациентов» [11], «а также бактериальных и грибковых инфекций у пациентов с тяжелым течением COVID-19» [12].

Мы можем предположить, «какое влияние на течение COVID-19 оказывают ко-инфекции. При этом могут наблюдаться различные сценарии взаимодействия ко-инфекций и SARS-CoV-2: от одновременного заражения вирусами и бактериями до последовательного» [8] (Рисунок 1).

«Механизмы, на которых основываются эти процессы, в очень большой степени зависят от сопутствующих обстоятельств и временного фактора, а также включают сложные взаимодействия между тремя структурами (вирус, макроорганизм и бактерии). Хотя ясно, что иммунный ответ на SARS-CoV-2 при комбинированной вирусно-бактериальной пневмонии, скорее всего, будет отличаться, однако в конечном итоге любой из вышеперечисленных сценариев ухудшит клинический исход и усугубит тяжесть течения COVID-19» [178].



**Рисунок 1** – Взаимодействие между SARS-CoV-2, бактериями и организмом человека при ко-инфекциях

SARS-CoV-2 может способствовать распространению и адгезии бактерий к тканям инфицированного человека, а комбинация инфекций – усилению деструкции тканей и утяжелению патологического процесса. Дисфункция дыхательных путей, патология на клеточном уровне и разрушение тканей, вызванные инфицированием SARS-CoV-2 или бактериальной ко-инфекцией, могут приводить к системному распространению вируса и/или бактериальных ко-патогенов, резко по-

вышая риск гемоинфекций и сепсиса. Опосредованное вирусом ухудшение течения бактериальной инфекции не представляет собой какое-то новое явление. Инфекции, вызванные риновирусами и вирусами гриппа, усиливают способность респираторных патогенов проникать в эпителий дыхательных путей» [7].

«Исследования весьма близкого новому патогену вируса SARS-CoV установили, что его многочисленные структурные и неструктурные белки являются антагонистами интерферонов» [34]. А «снижение уровня интерферонов I типа ассоциировано с повышенной восприимчивостью к вторичным бактериальным инфекциям. Предполагается, что SARS-CoV-2 также оказывает воздействие на многие белки, такие как NSP1, ORF6 и N, нарушая продукцию интерферонов и препятствуя активации соответствующих сигнальных путей» [35].

### ***1.2.1. Видовой состав возбудителей ко-инфекции при COVID-19***

«Бактериальные ко-инфекции могут ослаблять способность организма человека к активации защитных механизмов, следствием чего может быть повышение восприимчивости к инфицированию SARS-CoV-2 и последующему развитию патологического процесса» [178]. Так, «респираторные патогены, включая *Klebsiella pneumoniae*, ограничивают активацию противовирусной защиты организма» [36]. Кроме того, интерфероны I и III типов, продуцируемые в ответ на бактериальную инфекцию, могут способствовать заражению SARS-CoV-2, поскольку используемый вирусом рецептор АПФ2 кодируется геном, экспрессия которого стимулируется интерферонами [37]. В то же время «до сих пор неизвестно, способствует ли опосредованное интерфероном увеличение количества рецепторов АПФ2 проникновению вируса в клетки и развитию инфекции» [38].

Необходимо «рассмотреть вопрос о том, может ли инфицирование SARS-CoV-2 нарушать гомеостаз кишечника, способствуя тем самым развитию респираторной бактериальной инфекции. Хорошо известна роль оси «кишечник–легкие», которая важна для противодействия развитию бактериальной пневмонии» [12]. «Известно, что гастроинтестинальные симптомы являются довольно распространенным явлением среди пациентов с COVID-19» [9, 10]. «Было пока-

зано, что SARS-CoV-2 поражает энтероциты *in vitro* и вызывает при этом иммунный ответ» [39]. Следовательно, «весьма вероятно, что у пациентов с тяжелым течением COVID-19 нарушен состав микробиоты кишечника, и это, как минимум, может повлиять на исходы заболевания, в том числе и на предрасположенность к вторичным бактериальным инфекциям легких» [178].

Поэтому «изучение ко-инфекций при COVID-19 является весьма актуальным. Так, в самом начале пандемии в Китае сопутствующие бактериальные инфекции доминировали у тяжелых пациентов с COVID-19. Наиболее распространенными были *Streptococcus pneumoniae*, за ним следовали *K. pneumoniae* и *Haemophilus influenzae*» [40]. По мнению ряда российских авторов [41], наиболее часто при COVID-19 выделяли бактерии рода *Streptococcus*, особенно *S. pneumoniae*.

Через несколько месяцев после указанных ранее исследований следующая группа российских авторов сообщила о том, что «в этиологическом пейзаже пневмоний, развивающихся при COVID-19 (основная группа), в сравнении с внебольничными пневмониями, регистрируемыми ранее (группа сравнения), произошли существенные изменения. В структуре выделенных микроорганизмов основная доля стала приходиться на грамотрицательную флору» [176]. «Если в «доковидный» период основным возбудителем внебольничных пневмоний являлся *S. pneumoniae* (72,9% культур), то в 2020 году этот возбудитель встречался в 10 раз реже и на его долю приходилось только 7,1% из выделенных культур. В одной четверти случаев положительных культур (24%) у больных с COVID-19 в мокроте выделялись грибы *Candida albicans*, в то время как в предшествующий период культуры грибов выделялись в единичных случаях. В группе больных с COVID-19 увеличился процент выделения *Pseudomonas aeruginosa* до 11,1%. На долю *K. pneumoniae* пришлось 19,5% культур в основной группе» [13]. «Относительно уменьшилась доля *Staphylococcus aureus* с 9,2% в «доковидный» период до 2,3% в 2020 году» [176].

Несмотря на то, что в популяции 1–6% населения являются носителями *K. pneumoniae*, локализованной в носоглотке, и 5–38% – в кишечнике, у госпитализированных с COVID-19 пациентов носительство *K. pneumoniae* составляет 23%

[41]. Более того, представители группы *Enterobacteriaceae* (*K. pneumoniae*) являются прогностическими маркерами неблагоприятного течения процесса в лёгких [42].

*K. pneumoniae* «в феврале 2017 г. была включена Всемирной организацией здравоохранения (ВОЗ) в группу микроорганизмов критического приоритета по разработке новых лекарственных препаратов, представляющих наибольшую угрозу для человечества в связи с высокой устойчивостью к часто используемым антибиотикам. В настоящее время она входит в список «приоритетных патогенов», так называемый ESKAPE. Возбудители из этого списка представляют угрозу безопасности населения в целом, особенно той категории, которая часто контактирует с больничной средой, и чаще других вызывают инфекции, связанные с оказанием медицинской помощи (ИСМП)» [43, 44]. Например, «в многопрофильном стационаре Санкт-Петербурга в 2016 году более четверти всех внутрибольничных гнойно-септических инфекций были вызваны одним видом – *K. pneumoniae*» [45, 46]. «В США в 2014 г. этот микроорганизм оказался причиной 10% всех зарегистрированных инфекций. При этом для заболеваний, вызываемых клебсиеллами, характерно тяжелое течение; так, при инфекциях кровотока погибает 20% больных, при нозокомиальных пневмониях летальность достигает 50%» [47].

### **1.2.2. Фенотипическая характеристика возбудителей бактериальных осложнений**

«*K. pneumoniae* выделяется среди энтеробактерий тем, что является наиболее активным среди них коллектором генов и плазмид резистентности» [48], «что наряду с выраженной способностью микроорганизмов этого вида к колонизации и повышенной способностью к образованию биопленок позволило ей стать актуальным возбудителем нозокомиальных инфекций еще с 70 гг. прошлого столетия» [47, 48]. «Кроме полирезистентности к антибиотикам клебсиелла привлекает к себе внимание микробиологов своей вирулентностью. Факторы вирулентности *K. pneumoniae* включают в себя: пили 1-го типа, отвечающие за адгезию, пили 3-го типа, отвечающие за образование биопленки, капсула, липополисахарид, кото-

рый признан самым мощным медиатором септического шока, вызываемого бактериями» [47, 49]. «*K. pneumoniae* также способна синтезировать сидерофоры – низкомолекулярные вещества, хелатирующие ионы, выделяемые различными микроорганизмами при наличии у них дефицита железа. Сидерофоры связывают железо с более высокой аффинностью по сравнению с железосвязывающими белками макроорганизма, что приводит к его перераспределению в пользу микроба» [50]. «*K. pneumoniae* способна продуцировать 4 варианта сидерофоров: энтеробактин, иерсиниабактин, сальмохелин, аэробактин. Большинство генов, кодирующих факторы вирулентности, заключены в большой плазмиде вирулентности. Известно, что бактериальные пневмонии часто осложняют течение вирусных инфекций на фоне развивающегося иммунодефицита. Так, во время предыдущих эпидемий гриппа бактериальная коинфекция выявлялась в 30% случаев, прежде всего у пациентов отделений интенсивной терапии» [51]. «Особенно актуальной является такая коинфекция в контексте текущей пандемии COVID-19 и использования огромного количества антимикробных препаратов (АМП), создающих селективные преимущества для антибиотикорезистентных штаммов» [187].

Важный аспект – это «влияние COVID-19 на резистентность к противомикробным препаратам. Во всем мире пандемия коронавирусной инфекции накладывается на продолжающуюся пандемию инфекций, вызванных полирезистентными бактериями. В Великобритании, согласно руководству Национального института охраны здоровья и совершенствования медицинской помощи (NICE), для лечения тяжелой пневмонии вне зависимости от ее этиологии пациенты получают антибиотики широкого спектра действия, такие как доксициклин или, в качестве альтернативного варианта, амоксициллин. В большинстве европейских стран 15–50% штаммов бактерий устойчивы по крайней мере к одному антибактериальному препарату, и сочетание резистентности к нескольким группам препаратов также представляет собой частое явление. Исходя из этого, эмпирическое использование антибиотиков широкого спектра окажет слабый эффект при госпитальных инфекциях. В этом случае почти все пациенты с тяжелым течением COVID-19, к сожалению, могут получать лечение антибиотиками, имеющими ограниченную эф-



фективность. Вызывают беспокойство клинические данные, свидетельствующие о том, что такое нерациональное эмпирическое применение антибиотиков широкого спектра действия может быть ассоциировано с более высокой летальностью, по крайней мере, в случае сепсиса» [30, 31]. «К сожалению, в настоящее время следует ожидать значительный рост антибиотикорезистентности из-за массированного применения антибиотиков у пациентов с COVID-19. Даже при нормальном сценарии развития событий отделения интенсивной терапии будут оставаться эпицентром развития антибиотикорезистентности. Это может иметь катастрофические последствия в тех больницах, где уже наблюдается высокая частота выявления штаммов с множественной лекарственной устойчивостью» [178].

«В стационарах происходит распространение как SARS-CoV-2, так и бактерий с множественной лекарственной устойчивостью, что приводит к увеличению числа летальных исходов вследствие ограниченности арсенала антибиотиков для лечения внутрибольничных инфекций. Это может поставить под угрозу лечение пациентов после операций, трансплантаций или химиотерапии. Помимо непосредственных последствий для работы медицинских учреждений, существует большая вероятность распространения антибиотикорезистентности во внебольничной среде. Например, повышение содержания антимикробных препаратов в сточных водах больниц изменит их концентрацию в окружающей среде. Это, в свою очередь, приведет к повышению вероятности антибиотикорезистентности микроорганизмов у животных (диких и домашних), а также в сельском хозяйстве и естественных экосистемах. В целом принципы контроля за использованием антибиотиков нельзя ослаблять даже в такое непростое время, как сейчас» [178].

Однако существует большая проблема: «нередко, несмотря на широкий спектр болезненных состояний, начиная от очень легких симптомов инфекции верхних дыхательных путей и заканчивая опасным для жизни вирусным поражением легких, COVID-19 ассоциируется с высоким уровнем маркеров воспаления» [52] (см. также [53, 54]). Поэтому «на амбулаторном этапе или на момент поступления в стационар очень трудно однозначно определить, имеет ли пациент с подтвержденной коронавирусной инфекцией и диагностическими признаками вне-

больничной пневмонии (ВП) бактериальную коинфекцию или нет. Во время госпитализации также трудно порой отличить тяжелое течение COVID-19 от вторичной бактериальной суперинфекции» [55] (см. также [56, 57]). «В начале и в разгар пандемии COVID-19 отсутствовали согласованные представления о частоте, видах возбудителей и исходах бактериальной суперинфекции у пациентов, переносящих вирусную пневмонию, вызванную новым коронавирусом SARS-CoV-2» [58]. Поэтому по аналогии «с пандемией SARS (тяжелый острый респираторный синдром), вызванной коронавирусом в ноябре 2002 – июле 2003 гг.» [59], «уже в одной из первых публикаций, освещавших роль и место антибактериальной терапии (АБТ) больных COVID-19, ее авторы ушли от обсуждения вопроса об аргументации назначения антибиотиков и предложили вместо этого алгоритм, учитывающий отсутствие или наличие известных факторов риска инфицирования рядом проблемных потенциально патогенных микроорганизмов» [187] (*P. aeruginosa*, MRSA).

С большой долей вероятности сегодня можно «предположить, что применение антибиотиков в период пандемии COVID-19 произведет «детонационный» эффект, обусловив значительный рост антибиотикорезистентности. Даже по самым скромным подсчетам, в настоящее время до 70% амбулаторных и госпитализированных больных с новой коронавирусной инфекцией получают антибиотики» [60, 61]. «Более того, текущая пандемия может привести к появлению большого числа выживших после COVID-19 со стойкими остаточными постковидными изменениями в легких» [62]. «Долгосрочные последствия у лиц, выздоровевших от среднетяжелого и тяжелого COVID-19, в настоящее время неизвестны, но обширные структурные повреждения легких, обнаруживаемые спустя несколько недель или месяцев при повторной компьютерной томографии (КТ) органов грудной клетки, могут послужить причиной для повторных курсов АБТ и госпитализаций, что в свою очередь также будет способствовать колонизации и инфицированию устойчивыми к антибиотикам возбудителями» [63].

Необходимо отметить, что инфекции, вызванные устойчивыми штаммами, чаще требуют госпитализации и увеличивают продолжительность пребывания в

стационаре, ухудшают прогноз для пациента по сравнению с заболеваниями, обусловленными чувствительными микроорганизмами, результатом чего является более высокий показатель летальности [64].

Ряд исследователей констатируют факт роста антибиотикорезистентности бактерий-коинфектантов в 2020 году по сравнению с 2019 годом [42]. «У больных новой коронавирусной инфекцией, наряду с другими возбудителями, выделяются полирезистентные штаммы *A. baumannii* и *P. aeruginosa*. Ацинетобактер демонстрировал сохранение чувствительности к тигециклину, синегнойная палочка – к азтреонаму, амикацину, цефтазидим/авибактаму» [176]. В отношении *K. pneumoniae* активными оставались тигециклин, цефтазидим/авибактам, меропенем, амикацин, пиперациллин/тазобактам. *K. pneumoniae* оказалась резистентной к амоксициллину/клавуланату в 71% случаев. «Среди выделенной бактериологическим методом микрофлоры у больных COVID-19 преобладали грамотрицательные бактерии (58%), грамположительная флора составила 15%, грибы – 27%. Среди грамотрицательных бактерий примерно равные доли составили *A. baumannii* (35%) и *K. pneumoniae* (33%). В два раза реже регистрировались штаммы *P. aeruginosa* (19%) и прочие микроорганизмы. Грамположительная флора была представлена в 48% случаев *S. pneumoniae* и в 15% – *S. aureus*. Выделенные в мокроте грибы в подавляющем большинстве (89%) идентифицированы как *Candida albicans*» [176]. «Частота выделения *S. pneumoniae* среди всех микроорганизмов в 2020 году снизилась до 7%, что в 10 раз ниже «доковидного» уровня, при этом частота выделения грибов резко возросла. Рост антибиотикорезистентности возбудителей, выделенных от больных с новой коронавирусной инфекцией, отмечается по всему миру и имеет ряд прямых и косвенных причин» [65, 66]. «Тяжелое течение коронавирусной инфекции, требующее интенсивной терапии, ведет к увеличению риска присоединения или активации условно-патогенной флоры, в том числе и повышает риски заражения госпитальными штаммами. В то же время тотальное применение антибиотиков для лечения коронавирусной инфекции с предполагаемой «пневмонией», безусловно, оказывает негативное влияние, вызывая рост резистентности «диких» штаммов микроорганизмов» [67, 68].

Клиническую картину усугубляет развитие вторичных инфекционных осложнений, которое имеет место, по данным ряда авторов [69], «у 47% пациентов ОРИТ инфекционного стационара, что соответствует общемировой статистике» [182]. Например, в Европе «частота нозокомиальной инфекции (НИ) у пациентов с тяжелым течением COVID-19 достигает 46%. При тяжелом течении COVID-19 высок риск развития внутрибольничной инфекции, особенно вентилятор-ассоциированной пневмонии и инфекции кровотока, вызванных микроорганизмами с множественной лекарственной устойчивостью. Развитие септического шока при проведении инвазивной искусственной вентиляции легких у таких пациентов практически удваивает смертность» [65, 70].

«По данным метаанализа североамериканских исследователей, бактериальная коинфекция была выявлена у 3,5%, а вторичная суперинфекция – у 14,3% всех пациентов с COVID-19» [71]. «При тяжелом течении заболевания, требующем проведения инвазивной респираторной поддержки, до 21% пациентов на момент интубации уже имели признаки присоединения бактериальной инфекции, а частота возникновения вентилятор-ассоциированной пневмонии достигала у них 44,4%» [72]. «Главным предиктором развития неблагоприятного исхода является непосредственно присоединение нозокомиальных инфекционных осложнений. Крайне высокие цифры летальности у таких пациентов (несопоставимые с таковыми при других нозологиях, приводящих к развитию критического состояния и присоединению НИ) заставляют думать о неэффективности антибактериальной терапии в случае, когда НИ осложняет течение COVID-19» [182].

Особенно большое беспокойство вызывает тот факт, что во время пандемии «значительно возросло количество пациентов с дыхательной недостаточностью, нуждающихся в лечении в условиях отделения реанимации и интенсивной терапии (ОРИТ)» [52, 73]. При этом НИ выявляли у 48,8% пациентов [74]. Наиболее частыми патогенами у пациентов с инфекцией кровотока были *A. baumannii* (34,0%) и *K. pneumoniae* (25,0%). Грамположительные бактерии выявляли значительно реже (*Coagulase-negative staphylococci* – 15,0%, *E. faecium* – 8,0%, *E. faecalis* – 3,0%), *C. albicans* определили в 1,0% случаев. Грамотрицательные бактерии также являлись

наиболее частыми возбудителями инфекции дыхательных путей, включая вентилятор-ассоциированную пневмонию (ВАП) и внутрибольничную пневмонию/трахеобронхит (*A. baumannii* – 51,0%, *K. pneumoniae* – 27,0%, *P. aeruginosa* – 12,0%). *Aspergillus spp.* был изолирован в одном случае ВАП. Все штаммы *A. baumannii*, *K. pneumoniae* и *Stenotrophomonas maltophilia* были полирезистентными [74].

Несмотря на распространенность штаммов *A. baumannii* и *K. pneumoniae*, резистентных к большинству антибиотиков в Российской Федерации [75], определенную роль в развитии резистентности могло сыграть необоснованное применение антибактериальных препаратов при рекомендованном лечении COVID-19 [76, 77]. Согласно первым рекомендациям по диагностике и лечению пациентов с COVID-19 [76], более чем 90% пациентов до поступления в ОРИТ получали эмпирическую антибактериальную терапию цефалоспоридами III поколения и макролидами.

### ***1.2.3. Генетические факторы патогенности и антибиотикорезистентности у возбудителей бактериальных осложнений***

Как мы видим, наиболее частым представителем коинфекции при COVID-19, как и при развитии ИСМП, является бактерия *K. pneumoniae*. «Основной геном *K. pneumoniae* состоит из ~2000 генов, в то же время она имеет большое число дополнительных генов, локализованных, прежде всего, на плазмидах, при этом более 78 из них отвечают за формирование вирулентности. В зависимости от набора плазмид различают три эволюционные группы этого микроорганизма, которые называются патоварами (Таблица 1): условно-патогенные, классические (госпитальные) и гипервирулентные, при этом для каждого характерны свои сиквенс-типы» [78] (см. также [79, 80]). «Классические *K. pneumoniae* вызывают заболевания у детей и у лиц пожилого возраста, а также у лиц с ослабленным иммунитетом, и ассоциируются прежде всего с внутрибольничными инфекциями, так как для них характерна множественная лекарственная устойчивость. Являясь коллекторами генов антибиотикорезистентности, эти микроорганизмы первыми из энтеробактерий стали устойчивыми к карбапенемам. В 2012 г. первые карбапе-

нем-резистентные штаммы *K. pneumoniae*, продуцирующие карбапенемазы VIM-4, OXA-48 и NDM, были выявлены в России» [81, 82]. А «уже в 2015–16 гг. удельный вес таких культур в Санкт-Петербурге увеличился до 30%» [81, 82]; «в 2018 г. – до 50% и более, что демонстрирует крайне быструю селекцию устойчивых штаммов в ответ на начало широкого использования АМП определенной группы, в данном случае карбапенемов» [46]. «*K. pneumoniae* возглавляет список возбудителей ИСМП в многопрофильных стационарах. На настоящий момент единственным эффективным препаратом в отношении таких штаммов в случае их устойчивости еще и к полимиксидам являются комбинации цефтазидима и азтреонама с новым ингибитором бета-лактамаз авибактамом, который повышает активность этих антибиотиков в 6–8 раз» [44, 45]. «Факторами риска, связанными с колонизацией и инфекцией *K. pneumoniae*, устойчивой к антибиотикам, являются предшествующее лечение антибиотиками, нарушение функции почек, пожилой возраст, хирургические процедуры и госпитализация в отделение интенсивной терапии» [07].

«Гипервирулентные *K. pneumoniae* имеют специфические генетические характеристики с увеличением числа генов, отвечающих за вирулентность, и, соответственно, самих факторов вирулентности. Например, ген *kfu*, важность которого для вирулентности была показана в экспериментах *in vivo* при использовании hvKp с делецией гена. Имеются также гены, отвечающие за синтез протеазы HtrA и фосфолипазы D» [47, 79]. «Штаммы hvKp обладают дополнительными факторами вирулентности, наиболее важным из которых является гипермукоидный фенотип, за который отвечают гены *rmpA* и *rmpA2*, связанный преимущественно с капсулами серотипов K1 и K2, которые придают клебсиеллам устойчивость к защитным факторам организма, в частности, к действию комплемента и фагоцитозу» [83]. «Такие штаммы вырабатывают также дополнительные сидерофоры – аэробактин (ген *aer*, локализованный на плазмиде pLVPK hvKp) и сальмохелин в значительно большем количестве и в более активной форме, чем классические» [187]. «При этом гипервирулентные *K. pneumoniae* до недавнего времени были чувствительны к большинству антимикробных препаратов» [187].

«Неоднократно высказывались опасения в отношении появления штаммов клебсиелл, совмещающих свойства hvKp и классических патоваров. Выдвигались две теории возможного формирования таких культур – приобретение гипервирулентными изолятами плазмид антибиотикорезистентности или, напротив, заимствование генов вирулентности классическим патоваром у гипервирулентного» [79]. «И такие клебсиеллы не заставили себя ждать. В последние годы стала появляться тревожная информация о формировании нового патовара *K. pneumoniae*, который является гипервирулентным и одновременно панрезистентным, подтвержденная геномным анализом, выявившим конвергенцию генов гипервирулентности и карбапенемазы в ряде изолятов» [79, 84]. «Скорее всего, его возникновение пошло по второму сценарию – приобретению генов вирулентности классическим патоваром, что подтверждается промежуточной между гипервирулентными и классическими штаммами вирулентностью нового патовара. Это связано, вероятно, с невозможностью гипервирулентных штаммов сохранять и поддерживать в клетке плазмиды антибиотикорезистентности» [79]. «Гипервирулентные штаммы клебсиелл в настоящее время начинают занимать экологическую нишу в стационарах, как взрослых, так и детских» [85, 86]. «Необходимо признать, что, несмотря на важность проблемы, частота вторичных легочных коинфекций у госпитализированных пациентов с COVID-19 недостаточно изучена» [87]. «Имеются данные, что при исследовании смывов из дыхательных путей у 94% таких больных выявляется вторичная бактериальная микрофлора» [88].

\*\*\*

«*K. pneumoniae* в настоящее время вышла в «лидеры» среди возбудителей внутрибольничных инфекций. Пластичность генома позволяет ей сочетать дополнительные факторы вирулентности и панрезистентность к большинству антимикробных препаратов, что в условиях широкого их использования на фоне массового снижения иммунитета при непрекращающейся пандемии COVID-19 делает этот микроорганизм чрезвычайно опасным и требует ужесточения системы инфекционного контроля со своевременным выявлением колонизированных такими

штаммами лиц, а также ставит новые задачи, которые необходимо решать в ближайшие сроки» [187].

«Антибактериальная терапия должна оперативно оцениваться с точки зрения ее необходимости и отменяться в случае нецелесообразности» [178]. Рациональная антибактериальная терапия в борьбе с коинфекцией при COVID-19 невозможна без современных знаний этиологической структуры заболевания, антибиотико- и фагочувствительности возбудителя.

### **1.3. Современная тактика этиотропной терапии и профилактики бактериальных осложнений COVID-19**

Взгляды клиницистов и исследователей на этиотропную терапию новой коронавирусной инфекции менялись в процессе развития пандемии. До настоящего времени тактика этиотропной терапии регламентирована Временными методическими рекомендациям (версия 16 от 18.08.2022) [89]. Представлены «этиотропные препараты, которые могут быть использованы при лечении COVID-19. Лечение COVID-19 в соответствии с протоколами настоящих рекомендаций проводится в подтвержденных и вероятных случаях COVID-19. Пациенты, инфицированные SARS-CoV-2, должны получать поддерживающую патогенетическую и симптоматическую терапию» [96]. Однако при развитии бактериальных осложнений тактика терапии принципиально меняется. Лечение бактериальных осложнений проводится согласно протоколам лечения этих нозологий. Одним из распространенных осложнений, ассоциированных с респираторными инфекциями, в том числе и при COVID-19, является внебольничная пневмония. По данным ряда авторов, «ежегодно в США регистрируется более 5 млн случаев внебольничных пневмоний, из которых более 1,2 млн нуждаются в госпитализации. Из числа последних непосредственно от ВП умирают более 60 тыс. человек» [90]. В РФ среди людей старше 18 лет регистрируется 440 000 случаев ВП в год. «Заболеваемость ВП, согласно расчетам, может достигать 14–15%, а общее число больных ежегодно превышает 1,5 млн человек. Летальность в группах амбулаторных пациентов обычно не превышает 1–2%» [92]. Однако у лиц с иммуносупрессией, пожилых, особенно



жителей социальных домов, находящихся в условиях отделения интенсивной терапии смертность резко возрастает и составляет 15–40% [92]. «При развитии пневмонии вне стационара или в первые 48 ч пребывания в стационаре антибактериальная терапия соответствует таковой при внебольничной пневмонии» [184].

Хорошо известно, что вирусные инфекции являются основным фактором риска развития бактериальных осложнений. Многие авторы [90] считают, что крайне важно охарактеризовать патологические изменения в легких, вызываемые вирусами, их также следует дифференцировать от бактериальных пневмоний в силу того, что тактика терапии при этих двух нозоформах принципиально отличается.

В самом начале пандемии новой коронавирусной инфекции были подняты вопросы этиотропной терапии пневмоний. Рядом авторов был проведен анализ влияния использования антибиотиков в алгоритмах фармакотерапии пациентов с COVID-19 на результаты лечения. Исходя из этого анализа, а также наиболее масштабных публикаций 2020–2021 гг., можно сделать вывод, что опыт применения антимикробных препаратов (в качестве компонента схем лечения у пациентов с COVID-19) не выявил их эффективности [91].

Традиционной и общепринятой сегодня является тактика назначения антибактериальной терапии при респираторных инфекциях при отсутствии эффекта и сохранении клинических и лабораторных признаков бактериальной инфекции, что соответствовало 4–5-му дню с момента начала респираторной инфекции. «COVID-19, как и любая другая вирусная инфекция, не является показанием для применения антибиотиков. Антибактериальная терапия назначается только при наличии убедительных признаков присоединения бактериальной инфекции (повышение ПКТ более 0,5 нг/мл, появление гнойной мокроты, лейкоцитоз  $> 12 \times 10^9/\text{л}$  (при отсутствии предшествующего применения глюкокортикоидов), повышение числа палочкоядерных нейтрофилов более 10%)» [89].

Развитие бактериальных осложнений при новой коронавирусной инфекции, так же, как и при других инфекционных и неинфекционных заболеваниях, как правило требует незамедлительного назначения антибактериальных препаратов

эмпирически без или до определения чувствительности микроорганизма, вызвавшего инфекцию, к этому препарату.

Уже в самом начале пандемии COVID-19 российскими экспертами были представлены рекомендации по диагностике и антимикробной терапии инфекций, обусловленных резистентными штаммами бактерий, для применения их в практическом здравоохранении [93].

Авторы настоятельно указывают на необходимость применения антибактериальных препаратов «только в случае наличия клинических и лабораторных признаков бактериальной инфекции. В то же время появление у пациента клинических, лабораторных и/или инструментальных признаков инфекции тоже не всегда должно становиться достаточным основанием для назначения АМП. Оценка должна проводиться комплексно, применение АМП должно быть максимально избирательным и направленным преимущественно на подавление жизнедеятельности возбудителей инфекционных заболеваний» [93]. Условия работы в практическом здравоохранении, а также возможности врача-реаниматолога, врача общей практики поликлиники или стационара зачастую ограничены рамками и возможностями этиологической диагностики. Рекомендации по выделению возбудителя приветствуют авторы рекомендаций, указывая на острую необходимость забора биоматериала до применения антибиотиков, так как последующее выделение и определение чувствительности к антибактериальным препаратам зависит именно от сроков взятия материала [94]. Соблюдение этих правил на практике во многом определит успехи в терапии бактериальных осложнений.

Согласно обновленным данным [95], «адекватная эмпирическая антимикробная терапия (ЭАМТ) предполагает эффективное действие в отношении всех этиологически значимых возбудителей инфекции данной локализации с учетом риска инфицирования полирезистентными возбудителями. Выбор ЭАМТ основан на знании ряда факторов, определяющих особенности этиологической структуры возбудителей инфекции. К ним относятся:

– условия возникновения инфекции: внебольничная или инфекция, связанная с оказанием медицинской помощи (ИСМП);

- локализация инфекции (определение ключевых возбудителей инфекции, выбор АМП с учетом фармакокинетических особенностей);
- факторы риска наличия полирезистентных микроорганизмов, основным из которых является неблагоприятная локальная эпидемиология антибиотикорезистентности» [95].

Выполнение этих рекомендации не всегда представляется возможным, особенно в условиях практической работы. Провести дифференциальную диагностику внебольничной инфекции и внутрибольничной также составляет определенную трудности, особенно с лихорадящими пациентами. Опытные врачи, клинические фармакологи также должны основываться на идентифицированных возбудителях, их фенотипических и генотипических характеристиках, а также учитывать факторы резистентности к традиционным антимикробным препаратам. Решение этих вопросов зависит также от наличия не только современных методов лабораторной диагностики, но в первую очередь от имеющихся на вооружении врача экспресс-методов диагностики [95].

Вторым важным аспектом при реализации успешного лечения бактериальных осложнений является «глобальный рост резистентности возбудителей к антибиотикам. Значимыми возбудителями инфекции, с точки зрения их распространенности и потенциала формирования антибиотикорезистентности, являются энтеробактерии, продуцирующие карбапенемазы, энтеробактерии, продуцирующие БЛРС, неферментирующие грамотрицательные бактерии (НФГОб) – *P. aeruginosa*, *Acinetobacter spp.*, *Stenotrophomonas maltophilia* и *Burkholderia cepacia complex*, обладающие множественной устойчивостью к антибиотикам, а также метициллинорезистентные штаммы *Staphylococcus aureus* (MRSA) и ванкомицинорезистентные штаммы *Enterococcus spp.*» [95].

Анализ литературы и существующих методических рекомендации для практического здравоохранения без сомнения требует обязательного соблюдения программы бактериологической диагностики, которая была и остается золотым стандартом при идентификации возбудителей. Изменения структур патогенов, появление новых бактериальных патогенов, рост полирезистентных штаммов о необ-

ходимости их мониторинга, дифференциации в условиях имеющейся мощной лабораторной базы и применения основ бактериологии в сочетании с современными методами диагностики.

Принцип профилактики развития бактериальных осложнений оставался актуальным и на протяжении всей пандемии, основные эпидемиологические стратегии по обеспечению безопасности оказания медицинской помощи включали комплекс мероприятий, подробно изложенный в ВМР (Версия 16 (18.08.2022) [89].

В комплексной терапии COVID-19 «при тяжелом течении заболевания рекомендовано применение экстракорпоральных методов лечения при развитии не купируемого медикаментозными средствами цитокинового шторма и септического шока» (ВМР, Версия 12 от 21.09.2021) [96]. «Применение этих методов проводится с целью селективной гемосорбции цитокинов и эндотоксинов; заместительной почечной терапии с использованием мембран с повышенной адсорбционной способностью и высокой точкой отсечки – для купирования цитокинового шторма и лечения острого почечного повреждения; плазмообмена с замещением свежзамороженной донорской плазмой (СЗП) или селективной плазмофильтрации при отсутствии достаточного объема СЗП — при наличии признаков синдрома активации макрофагов, ДВС синдрома, тромботической микроангиопатии» [96, 97].

Одним из направлений лечения пациентов с осложненными формами COVID-19 является использование мембран для гемофильтров с повышенной сорбционной емкостью. В эксперименте мембрана oXiris (Baxter) сорбировала эндотоксин с клиренсом 8 мл/мин, а селективный гемосорбент липополисахарида Toraymuхin (Toray Industries) — 20 мл/мин [98]. Имеются исследования, где оценивают колонку oXiris у пациентов с COVID-19 и отмечают снижение уровня интерлейкинов (ИЛ-6, ИЛ-8, ИЛ-10), СРБ, стабилизацию гемодинамики и увеличение респираторного индекса [99, 100].

При осложненном течении COVID-19 с развитием сепсиса, вызванного грамотрицательными бактериями, возможно применение селективной сорбции эндотоксина (ЛПС сорбции).

Некоторые рандомизированные контролируемые исследования оценивали эффективность ЛПС-сорбции у пациентов с сепсисом с использованием сорбента Toraymuхin (Toray) (PMX). Опубликованное исследование EUPHAS в 2009 году, в котором PMX применялся у больных с абдоминальным сепсисом [101], продемонстрировало статистически значимое снижение тяжести органной дисфункции в группе с PMX за счет улучшения гемодинамического профиля и почечной функции и снижения 28-дневной летальности. В 2018 г. доложены результаты рандомизированного контролируемого исследования EUPHRATES [102,103], в которое были включены 450 пациентов с септическим шоком и уровнем активности эндотоксина (ЕАА) выше 0,6 у.е. Авторы выявили статистически значимое различие в 28-дневной летальности (26,1 и 36,8% соответственно). Нужно подчеркнуть, что в исследовании EUPHRATES, бактериемия отмечена лишь у 33% пациентов в исследуемой группе с PMX и 28,1% в группе контроля, грамотрицательные патогены выделены в 23,9% и 13,3% случаев соответственно. Использование PMX приводит к снижению маркеров воспаления: СРБ, ИЛ-6, ИЛ-8, ИЛ-10, TNF- $\alpha$ , High-mobility group box 1 [104].

Описано применение PMX у пациентов с COVID-19 в виде единичных наблюдений. Отмечено снижение уровня ИЛ-6, ферритина, снижение вирусной нагрузки, улучшение оксигенирующей функции легких [105, 106]. Процедура по времени составила до 5 часов. Применение сорбционной колонки Alteco LPS Adsorber (Alteco Medical) у пациентов с сепсисом доказало статистически значимое снижение ЕАА через сутки после процедуры (с 0,70 до 0,56 у.е.), но не дало снижения летальности: 33% в основной против 30% в контрольной группе [107]. До настоящего времени нет единых критериев применения методов экстракорпоральной гемокоррекции в терапии тяжелых форм COVID-19 в отделениях реанимации и интенсивной терапии. Международная согласительная конференции ADQI 25 рекомендует применение ЛПС-сорбции для элиминации эндотоксина в случаях вторичной бактериальной инфекции, а также для удаления цитокинов и профилактики прогрессирования полиорганной недостаточности (ПОН) [108]. Таким образом, показана эффективность применения экстракорпоральных методов лечения в комплексной терапии тяжелых па-

циентов с COVID-19, тактика такой терапии требует дальнейшего совершенствования.

Проблема глобального распространения мульти- и панрезистентных к антибиотикам микроорганизмов в практическом здравоохранении может быть решена более широким внедрением в стандартные методики лечения препаратов бактериофагов [109]. Обширный анализ трудов российских авторов доказывает, что в подавляющем большинстве случаев был получен положительный опыт использования бактериофагов для терапии бактериальных инфекций [110–113].

Еще в СССР терапия бактериофагами получила высокую оценку. «Большое количество образцов бактерий отправлялись на фаговые производства со всего Советского Союза с целью выделения наиболее эффективных штаммов фагов для приготовления лечебно-профилактических препаратов, которые эффективно использовались в борьбе с рядом инфекционных заболеваний» [177]. Например, «применение поливалентного дизентерийного бактериофага в эпидемических очагах позволило снизить заболеваемость дизентерией в среднем в 3–12 раз. Лечение подвергались работники пищеблоков, военнослужащие, дети в дошкольных учреждениях и лица, занятые обслуживанием водопроводных сооружений и хозяйственно-бытовых объектов. Использование сальмонеллезного бактериофага в аналогичных целях привело к снижению заболеваемости сальмонеллезом по стране в 2–4 раза. Борьба с острыми кишечными инфекциями – бактериальной дизентерией, сальмонеллезными энтероколитами, брюшным тифом и паратифами – продолжает оставаться одной из важнейших задач современной медицины. Кроме того, в последние годы значительно возросло количество внутригоспитальных инфекций, вызванных условно-патогенными возбудителями, в частности бактериями рода *Klebsiella*, *Escherichia*, *Proteus*, *Pseudomonas*, *Staphylococcus*, *Streptococcus*. Эти бактерии являются причиной хирургических и кишечных инфекций, урогенитальной патологии, гнойно-септических и энтеральных заболеваний детей и взрослых. Летальность при этих инфекциях, особенно у ослабленных больных и детей раннего возраста, достигает 30–60%» [177].

В то же время «лечение данных заболеваний затруднено высокой частотой (50–99%) антибиотикорезистентности и резистентности возбудителей перечисленных болезней к химиотерапевтическим препаратам, проявлением токсических и многочисленных аллергических реакций, тератогенным действием на плод в процессе беременности, а также осложнениями в виде явлений дисбактериоза при воздействии на организм антибиотических средств. В настоящее время в России и странах СНГ препараты бактериофагов продолжают использовать наряду с антибиотиками для лечения и профилактики острых кишечных инфекций, гнойно-септических и других заболеваний. Современные лечебно-профилактические бактериофаги представляют собой комплекс поликлональных высоковирулентных бактериальных вирусов, специально подобранных против наиболее часто встречающихся групп возбудителей бактериальных инфекций» [177].

«Использование препаратов бактериофагов стимулирует также факторы специфического и неспецифического иммунитета, поэтому фаготерапия особенно эффективна при лечении хронических воспалительных заболеваний на фоне иммунодепрессивных состояний» [114].

Применение бактериофагов в качестве моноштамма не всегда оправдывает себя в связи с недостатком накопленных данных о формировании резистентности [114]. Однако препараты коктейлей бактериофагов, состоящих из различных штаммов, в т. ч. в комбинации с антибиотиками, способны проявлять эффект синергизма, что приводит к усилению действия обоих агентов и возможному позитивному эффекту терапии [112]. Когда два или более фага в коктейле воздействуют на одну и ту же бактерию, такая комбинация может привести к лучшему эффекту, чем при воздействии отдельным фагом на бактериальный патоген [115].

С момента открытия фагов их применение столкнулось с проблемами, которые сделали антибиотики более подходящими для борьбы с патогенными бактериями. В последнее время, благодаря новым технологиям секвенирования, дающим новое представление о природе бактериофагов, они получили второй шанс на более широкое использование. Однако для разработки надлежащих стратегий их практического применения необходимо решить новые задачи. Авторы прогно-

зируют, что использование фагов не будет единственной стратегией борьбы с патогенными бактериями. Поэтому необходимо провести дополнительные исследования в отношении методов борьбы с бактериями, устойчивыми к противомикробным препаратам, с низким уровнем риска [116].

«Учитывая накопленную доказательную базу эффективности бактериофагов, их применение в целях профилактики и лечения инфекционных болезней может быть одним из перспективных направлений для борьбы с проблемой антибиотикорезистентности бактерий» [111].

В настоящее время при респираторных инфекциях у лиц пожилого возраста «с целью профилактики внебольничных пневмоний, обусловленных *S. Pneumoniae*, используются пневмококковые вакцины. Целесообразность применения пневмококковой вакцины объясняется прежде всего высокой заболеваемостью и летальностью. С целью специфической профилактики инвазивных пневмококковых инфекций, в том числе и пневмококковой ВП с вторичной бактериемией, применяют 23-валентную неконъюгированную вакцину, содержащую очищенные капсулярные полисахаридные антигены 23 серотипов *S. pneumoniae*» [117]. Применение профилактических препаратов «у лиц в возрасте 65 лет и старше оказывается умеренно эффективным, но при этом вакцинация способна снизить частоту эпизодов инфекции верхних дыхательных путей» [117].

#### **1.4. Роль бактериофагов в терапии и профилактике бактериальных осложнений при респираторных инфекциях**

В последние годы наблюдается пандемия устойчивости к антибиотикам, которая усиливается из-за повсеместного использования антибиотиков при терапии пациентов с новой коронавирусной инфекцией. Группой исследователей подсчитано, что в 2019 г. было зарегистрировано 4,95 млн смертей, связанных с устойчивостью к антибактериальным препаратам [28,110]. При этом шесть возбудителей были ответственны за более чем 250 000 смертей, связанных с устойчивостью к антибиотикам: *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Streptococcus pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii* и *Pseudomonas aeruginosa*. Рас-



пространение резистентных к антибиотикам штаммов наблюдается повсеместно. Однако наибольшую обеспокоенность вызывает распространение в Российской Федерации штаммов *A. baumannii* и *K. pneumoniae*, из которых более 80% резистентны к карбапенемам.

Проблема глобального распространения мульти- и панрезистентных к антибиотикам микроорганизмов может быть решена более широким внедрением в стандартные методики лечения препаратов бактериофагов. «Учитывая накопленную доказательную базу эффективности бактериофагов, их применение в целях профилактики и лечения инфекционных болезней может быть одним из перспективных направлений для борьбы с проблемой антибиотикорезистентности бактерий» [111].

Тенденция формирования устойчивости к антибиотикам у микроорганизмов такова, что уже через 10 лет возбудители инфекционных болезней станут абсолютно невосприимчивы к ним. Очень часто применение антимикробных препаратов неоправданно, неэффективно и нерационально, а также сопровождается нарушением нормальной микрофлоры организма. Это говорит в пользу поиска новых средств профилактики и лечения инфекционных болезней. Замена профилактического применения антибиотиков в животноводстве и растениеводстве на препараты бактериофагов, внедрение этих препаратов в методики лечения больных инфекционными заболеваниями, их комплексное и широкое применение, разработка и производство новых препаратов бактериофагов может стать решением проблемы антибиотикорезистентности [118].

Бактериофаги высоко специфичны к целевым микроорганизмам, благодаря чему они не будут оказывать воздействие на нормальную микрофлору организма человека и животных. Совместимость с другими препаратами в комплексной терапии инфекционных болезней и отсутствие противопоказаний к приему бактериофагов, – все это обусловило возросший интерес к производству и разработке новых препаратов лечебных бактериофагов [119]. В пищевой промышленности благодаря специфичности воздействия фаги можно эффективно использовать в

обеззараживании пищевой продукции, а также в ее консервации – во избежание микробиологической порчи.

Исследования бактериофагов начались в 1896 г., когда британский химик Э. Ханкин обнаружил некий агент, который с легкостью миновал бактериальные мембранные фильтры, а также вызывал гибель бактерий. Название «бактериофаг», т.е. *пожиратель бактерий* было предложено Ф. Д'Эреллем. Он же в 1917 г. обнаружил, что бактериофаги представляют собой вирусы, обуславливающие специфический лизис бактериальной клетки. В первой же своей публикации ученый показал, что бактериофаг способен к неограниченному размножению, исследовал специфичность по отношению к хозяевам и описал образование фаговых бляшек на газоне бактериальной культуры на питательных средах [120]. До середины прошлого века сохранялась тенденция активного изучения и применения фагов в медицинских учреждениях, но она не сохранилась в связи с несколькими факторами:

– инфекции, вызываемые несколькими возбудителями, лечились фагами, целевыми только для одного микроорганизма;

– «допускались ошибки при выборе бактериофагов для производства препаратов: лечебные средства изготавливались на основе умеренных фагов, а не литических;

– открытие пенициллина в 1929 г., стремительное развитие антибиотикотерапии и ее успешное применение привели к тому, что от фагов отказались, и их дальнейшее изучение приостановилось» [120].

Инфекция бактериальной клетки бактериофагом – это доставка в нее вирусного кода, который, как правило, приводит к синтезу новых фаговых частиц и их высвобождению. Фаг лишает клетку-хозяина возможности поддерживать свой гомеостаз за счет захвата всех доступных ресурсов, т.к. направляет их исключительно на размножение вирусных частиц [120].

«Выделяют умеренные и литические бактериофаги. В ходе литического цикла сначала происходит репликация генетического материала бактериофага, а затем синтез его структурных белков, из которых происходит сборка дочерних

частиц бактериофага» [121]. Вновь синтезируемые фаги разрушают бактериальную клетку, выходят из нее и вновь инфицируют здоровые клетки-мишени.

Умеренные бактериофаги, инфицируя бактериальную клетку, встраивают свою нуклеиновую кислоту в генетический материал бактерии. При этом бактерия не погибает, а генетическая информация фага сохраняется в ней в качестве профага. В связи с тем, что профаги могут нести в себе гены, способствующие эволюции бактерии в направлениях укрепления антибиотикорезистентности и усиления патогенности, умеренные фаги не используются при разработке лечебных и профилактических препаратов. Однако они нашли своё место и широко применяются в качестве векторов в геномной инженерии. Под воздействием облучения ультрафиолетом или других физических и химических факторов профаг, т.е. «спящий» генетический материал фага, может активироваться и вновь перейти на литический цикл [121].

Химический состав бактериофагов представлен минимум двумя компонентами: белками и нуклеиновыми кислотами. Они содержатся в структуре вириона в приблизительно равных пропорциях. «Генетический материал разных видов бактериофагов может быть представлен одноцепочечными или двухцепочечными нитями как ДНК, так и РНК» [122]. «Белки являются структурными компонентами, формирующими капсид. Рецептор-связывающие белки также играют ключевую роль в процессе адсорбции бактериофагов на поверхность клетки-хозяина» [123].

Ключевым фактором взаимодействия бактериофагов и бактериальных клеток является совместимость фаговой частицы с определенными структурами на поверхности бактерий. Многие фаги имеют хвосты, которые способны прикрепляться к конкретным рецепторам на поверхности бактерии-хозяина: молекулы углеводов, белков, липополисахаридов [124]. При этом эти рецепторы для грамположительных и грамотрицательных микроорганизмов различаются в зависимости от строения клеточной стенки. У грамотрицательных бактерий такими рецепторами могут быть мембранные липополисахариды, капсульные полисахариды, порины и другие мембранные белки. У грамположительных же бактерий основная

масса клеточной стенки представлена многослойным пептидогликаном, в толще которого находятся тейхоевые кислоты. Они очень часто являются рецепторами для бактериофагов [120]. Рецепторы должны обладать биохимическим и физиологическим потенциалами для того, чтобы бактериофаг смог внедрить и реплицировать свою наследственную информацию [125].

Специфическая адсорбция бактериофагов является реализацией одной из ключевых функций вириона. Т.е. фаговая частица опознает пригодную для репликации вируса клетку-хозяина, чтобы доставить в неё свою нуклеиновую кислоту. Обычно это нековалентное связывание фаговых рецептор-узнающих адгезивных белков с определёнными молекулами на поверхности бактериальной клетки [120].

«Фаги обладают строгой специфичностью, т.е. способны паразитировать только в определенном виде микроорганизмов. Фаги с более строгой специфичностью, которые паразитируют только на определенных представителях данного вида, называются типовыми» [126]. Также существуют бактериофаги, которые способны взаимодействовать с микроорганизмами нескольких близких видов – поливалентные [126].

«Использование препаратов бактериофагов стимулирует активизацию факторов специфического и неспецифического иммунитета» [177]. «Исследователями показано, что препараты бактериофагов при местном введении снижали интенсивность воспалительного процесса и способствовали восстановлению адекватного иммунного ответа слизистых оболочек. Благодаря способности бактериофагов активировать фагоцитоз и повышать метаболическую активность нейтрофилов удается предотвращать рецидивы инфекции и переход воспалительного процесса в хроническую форму.

Описано также, что фаги снижают чрезмерную продукцию активных форм кислорода при бактериальных инфекциях, предупреждая дальнейшее повреждение тканей и прогрессирование воспалительного процесса» [181]. «Фаги обладают защитным потенциалом, не только уничтожая патогены, но и подавляя местные иммунные и воспалительные реакции в кишечнике, тем самым способствуя поддержанию иммунного гомеостаза» [181].

«В России и странах СНГ препараты бактериофагов нередко применяют для профилактики и лечения: инфекций желудочно-кишечного тракта, гнойно-воспалительных заболеваний глаз, ушей, носа, ротовой полости, хирургических инфекций, урогенитальных инфекций и других заболеваний» [127].

«Универсальной формой выпуска препаратов бактериофагов является жидкость, которую удобно принимать через рот, а также в виде клизм и орошений полостей, сообщающихся с внешней средой (носовая, раны, ожоги, влагалище и полость матки, уретра; дренирование брюшной, плевральной полостей, мочевого пузыря)» [127].

«Показательно в своей эффективности сочетание фаготерапии и антибиотикотерапии при ассоциированных инфекциях, вызванных полирезистентными штаммами микроорганизмов, а также опыт одновременного применения фагов, озонированных растворов и сорбционных повязок при гнойно-воспалительных поражениях мягких тканей, что позволяло почти в два раза по сравнению с традиционной антибактериальной терапией сократить сроки лечения и восстановления» [127].

«Производство препаратов фагов должно базироваться на следующих важнейших критериях: препараты должны включать только вирулентные бактериофаги с литическим жизненным циклом; фаги, входящие в препарат, должны активно воспроизводиться в клетке-мишени и давать высокий выход дочерних частиц фага; фаги, входящие в препарат, должны сохранять литическую активность при длительном хранении; фаги, входящие в препарат, не должны взаимодействовать с представителями нормальной микрофлоры человека и животных» [128].

Большая история практического использования бактериофагов говорит о том, что в эпоху ослабления действия антибиотиков альтернативным методом борьбы с бактериями могут служить бактериофаги. Они нашли свое применение в различных разделах медицинской практики [129].

Широкое использование бактериофаги получили при раневых инфекциях в виде местных аппликаций [130]. Даже в случаях развития инфекционного процесса, обусловленного резистентными штаммами *P. aeruginosa*, удавалось получить хороший антибактериальный эффект [131].

В целом раневые инфекции, ожоги, трофические язвы с успехом saniруются с помощью бактериофагов [132]. У ожоговых больных, там, где зачастую неэффективны антибиотики, возможна элиминация бактерий на раневых поверхностях с помощью специфических бактериофагов [133]. Современные технологии позволяют создавать и использовать специальные гидрогелевые покрытия и материалы для местного применения [134].

Очень хорошие результаты достигаются при использовании бактериофагов у лиц с диабетической стопой, позволяя консервативными методами, избегая травматичных хирургических вмешательств, достигать лечебного эффекта [135]. Многочисленные исследования говорят о том, что бактериофаги могут быть использованы для борьбы с бактериальными биопленками [136]. В терапевтической практике бактериофаги широко используются для борьбы с различными патогенами бактериальной природы с выраженной резистентностью к антибиотикам [137]. Даже в случаях бактериемии отмечаются положительные результаты использования бактериофагов [138]. В ряде случаев использование бактериофагов приводило к успешному лечению некротического панкреатита, который характеризуется высокой летальностью [139].

В последние годы все большую популярность приобретают бактериофаги при инфекционных процессах мочевыводящих путей [140, 141]. Особенно эффективными они становятся в случаях инфицирования резистентными штаммами *K. pneumoniae* [142], а также резистентными штаммами *E. coli* [143].

Использование бактериофагов при лечении бактериальных простатитов позволяет сокращать период лечения и препятствует рецидиву инфекции [144, 145].

Также хорошая эффективность фаговой терапии отмечена при черепно-мозговых травмах [146]. Их используют для лечения инфекций, связанных с трансплантацией в сердечно-сосудистой медицине [147]. Предварительно адаптированная фаговая терапия в сочетании с антибиотиками используется для лечения инфекции, связанной с переломами и обусловленной резистентной к лекарственным препаратам *K. pneumoniae* [148]. Сочетанная терапия бактериофагами и антибиотиками все

больше внедряется в медицинскую практику [149]. При этом большое значение имеет соблюдение дозировок и способов введения препаратов [150].

Возможно появление бактерий-мутантов, устойчивых к бактериофагам. В таких случаях целесообразно использование фаговых коктейлей [151].

В течение многих лет и с большим успехом используются бактериофаги при лечении желудочно-кишечных инфекций [152, 153]. Также бактериофаги могут быть использованы с профилактической целью, когда они встраиваются в просвет кишечника [154].

Существуют данные «об успешном использовании литических бактериофагов для инактивации основных возбудителей пищевых инфекций, а также бактерий, вызывающих микробиологическую порчу продуктов. Преимуществом литических бактериофагов является их специфичность в отношении целевых микроорганизмов без воздействия на представителей других видов микрофлоры. Производятся также профилактические препараты от кишечных инфекций» [69] на основе бактериофагов.

«Перспективным направлением является использование бактериофагов в иммобилизованном состоянии на носителях, которые обеспечивают постепенное высвобождение частиц фага, а также позволяют сохранить их литическую активность в течение определенного времени. Например, бактериофаг, иммобилизованный на органо-неорганических покрытиях совместно с наночастицами оксидов металлов» [180].

Известно, что бактериофаги способны синтезировать ферменты эндолизинны, которые вызывают лизис бактериальной клетки в конце литического жизненного цикла. Очищенные фаговые эндолизинны имеют более широкий спектр специфичности, чем сами литические бактериофаги, из которых они выделены. Проблема доставки эндолизиннов к клеткам-мишеням решается с помощью методов генной инженерии.

Необходимость поиска альтернативы антибактериальным препаратам на сегодняшний день очень острая, так как в последние годы наблюдается катастрофический рост резистентности штаммов бактерий к антибактериальным препаратам.

Уже сейчас в мире регистрируются миллионы смертей в год, связанных с устойчивостью к антибиотикам. Распространение пандемии новой коронавирусной инфекции COVID-19 способствовало значительному увеличению нагрузки на медицинские учреждения, чрезмерному упреждительному использованию антибиотиков, что в свою очередь привело к еще более широкому распространению резистентных штаммов в стационарах. Поэтому наилучшим вариантом является разработка и промышленное производство новых препаратов бактериофагов, которые можно использовать как в комбинации с антибиотиками, так и в качестве самостоятельного терапевтического средства.

При всем том, что существуют слабые места в практике лечения бактериофагами, их нужно изучать и обходить, используя современные методы исследования [155]. В то же время многочисленные успешные результаты использования бактериофагов в клинической и профилактической медицине позволяют надеяться на их эффективное применение в качестве альтернативой этиотропной терапии, особенно в случаях угрозы распространения резистентных штаммов бактерий.



## Глава 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Работа выполнена на клинической базе кафедры инфекционных болезней с курсами эпидемиологии и фтизиатрии РУДН, в ГБУЗ «ИКБ №1 ДЗМ» в период с 2019 по 2022 год. Под наблюдением в процессе обследования и лечения находилось 203 пациента, из них 161 – стационарный и 42 пациента амбулаторного отделения.

*Критерии включения:* согласие пациента на участие в исследовании; подтвержденный диагноз COVID-19; обнаружение РНК SARS-CoV-2 в биоматериале методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) с обратной транскрипцией; обнаружение патогенных бактерий в этиологически значимых количествах в биоматериале; возраст от 18 до 85 лет.

*Критерии исключения:* отказ пациента от исследования; отсутствие РНК SARS-CoV-2 и патогенных бактерий в биоматериале (мокрота, бронхоальвеолярная лаважная жидкость (БАЛ, мазок из носоглотки и пр.); «наличие реакции гиперчувствительности к антибактериальным препаратам в анамнезе; возраст менее 18 и более 85 лет; алкогольная и наркотическая зависимость; системные заболевания» [186].

«Все лабораторные исследования проводились по общепринятым и утвержденным методикам с использованием современных методов диагностики» [186] в лаборатории медицинской бактериологии ФБУН НИИЭМ им. Пастера и на базе клинко-диагностического отделения ГБУЗ «ИКБ №1 ДЗМ» (Таблица 1).

**Таблица 1** – Методы и объем исследований

<i>Методы</i>	<i>Объем исследований</i>
1. Общеклинические методы диагностики:	450
1.1. Клинический анализ крови	270
1.2. С-реактивный белок и прокальцитонин	227
1.3 ИЛ-6, ферритин	106
1.3. Биохимический анализ крови	270
1.4 Коагулограмма, Д-димер	265
1.5. Общий анализ крови	240
1.6. Рентгенография органов грудной клетки	45
1.7 МСКТ ОГК	76
Работа с историями болезни	
2. Вирусологический метод исследования –выявление РНК SARSCoV-2 в биоматериале методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) с обратной транскрипцией	278
3. Бактериологические методы исследования	
3.1. Классический бактериологический метод	220
3.2. Биохимическая идентификация бактерий	198

## Продолжение таблицы 1

<i>Методы</i>	<i>Объем исследований</i>
3.3. Идентификация бактерий масс-спектрометрическим методом MALDI-TOF	167
3.4. Определение чувствительности к антибиотикам	220
4. Молекулярные методы – полногеномное секвенирование (WGS)	18
5. Методы математической обработки данных	567

### **2.1. Общеклинические, лабораторные и визуализационные методы диагностики COVID-19**

Всем пациентам проводили сбор анамнеза заболевания, эпидемиологических данных, общеклинический осмотр. Забор и исследование крови – общеклинические, биохимические, показатели коагулограммы, маркеры воспаления и др. – проводились на базе клинко-диагностического отделения ГБУЗ «ИКБ №1 ДЗМ» по принятым стандартам и зарегистрированным методикам лабораторных исследований. Согласно стандартам временных методических рекомендаций «Профилактика, диагностика и лечение новой коронавирусной инфекции (COVID-19). Версия 7»<sup>1</sup>; временных методических рекомендаций «Профилактика, диагностика и лечение новой коронавирусной инфекции (COVID-19). Версия 16»<sup>2</sup>, проводили спиральную компьютерную томографию органов грудной клетки (КТ ОГК), рентгенографию легких, УЗИ, ЭКГ.

Клиническое исследование крови проводилось на анализаторе крови Pentra XL 80, где определяли показатели красной крови, лейкоцитов, лейкоцитарной формулы по пяти росткам, тромбоцитов. Биохимическое исследование показателей крови проводилось на аппарате Beckman Coulter AU680 и включало: аспаратаминотрансферазу (АСАТ), аланинаминотрансферазу (АЛАТ), щелочную фосфатазу (ЩФ), билирубин общий (прямой/непрямой), креатининкиназу, глюкозу, мочевины, креатинин, общий белок, альбумин, лактатдегидрогеназу (ЛДГ), С-реактивный белок (СРБ), ферритин. Показатели свертываемости крови: Д-димер

<sup>1</sup> Утверждены Министерством здравоохранения РФ 3 июня 2020 г.

<sup>2</sup> Утверждены Министерством здравоохранения РФ 18 августа 2022 г.

определяли на коагулографе ACL elite pro. Уровень прокальцитонина и ИЛ-6 определяли количественным методом с помощью ИФА.

## **2.2. Вирусологическая диагностика**

«Детекцию РНК SARS-CoV-2 проводили с помощью набора реагентов, зарегистрированных на территории РФ, согласно рекомендациям производителя, на приборах для ПЦР в режиме реального времени (Rotor Gene 6000, Corbett Research, Австралия, и ДТ-96, ООО «НПО ДНК-Технология», Москва): «SARS-CoV-2/SARS-CoV», ООО «ДНК-Технология ТС», Москва; «SARS-CoV-2-ПЦР-ОТ», ООО «МедипалТех», г. Дубна, Московская область, и «Поливив SARS-CoV-2», ООО НПФ «Литех», Москва» [183].

«Исследование с использованием наборов состоит из двух последовательных этапов: экстракции РНК из биологического материала и одновременного проведения реакции обратной транскрипции РНК и ПЦР-амплификации кДНК с гибридизационно-флуоресцентной детекцией продуктов в режиме реального времени. Уровень флуоресценции увеличивается пропорционально количеству образовавшихся специфических ампликонов и измеряется на каждом цикле амплификации» [183].

## **2.3. Бактериологические методы исследования материала от больных**

Бактериологическое исследование проводили с использованием классических методов диагностики. Материалом для исследования служили:

- мокрота при глубоком откашливании;
- БАЛ, полученный с помощью фибробронхоскопии;
- соскоб со слизистой задней стенки глотки.

Исследуемый материал собирали в стерильную пробирку с транспортной средой «Stuart». Мазки брали не ранее чем через 2 часа после приема пищи, до начала этиотропной терапии. 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 внеболь-

ничных пневмоний» (2014 г.). При этом для первичного посева биоматериала использовали «кроваый» агар, агар Сабуро, желточно-солевой агар. Условия инкубирования были следующие: 37 °С, обычная атмосфера, 16-20 часов.

После подсчета выросших колоний и получения чистой культуры проводили идентификацию<sup>3</sup> микроорганизмов [185].

«Изучали морфологию колоний, осуществляли микроскопию выросших микроорганизмов, проводили биохимическое типирование с использованием тест-систем биохимического типирования: тест-системы MIKROLATEST® для идентификации бактерий (ERBA LACHEMA), наборы для биохимической идентификации Microbact (BioVitrum), Стрипы API® (BioMerieux)» [186].

#### **2.4. Масс-спектрометрический метод идентификации бактерий MALDI-TOF**

«Все полученные изоляты были дополнительно идентифицированы при помощи метода масс-спектрометрии, позволяющего идентифицировать чистые культуры бактерий в течение 5–7 мин, тогда как при традиционных методах время анализа в среднем составляет 18 часов.

Для масс-спектрометрического исследования использовали суточные культуры, выращенные на «кроваом» агаре. Исследуемую культуру наносили в виде тонкого мазка на MSP-чип (MSP 96, Bruker Daltonics, Германия). Сверху наслаивали 1 мкл насыщенного раствора матрицы ( $\alpha$ -циано-4-гидроксикоричная кислота в 50% ацетонитрила и 2,5% трифторуксусной кислоты).

В качестве калибровочного стандарта использовали белковый экстракт штамма *E. coli* DH5a (ref. № 255343, Bruker Daltonics).

Спектры собирались в автоматическом режиме на масс-спектрометре Microflex™ LT MALDI-TOF (Bruker Daltonics, Германия) с использованием программы Flex Control при функционировании прибора в линейном позитивном режиме с необходимыми параметрами, описанными в инструкции к прибору. Каждый спектр получался путем суммирования шести одиночных спектров, т.е. 240 импульсов лазера.

---

<sup>3</sup> В соответствии с «Bergey's Manual of Systematic Bacteriology» (Vos P., Garrity G. M., vol. 2B, 09 order VIX, 2009), схемами идентификации, представленными в «Medical Microbiology» [156].

Анализ спектров и идентификацию микроорганизмов выполняли с использованием программного обеспечения MALDI Biotyper 3.0 (Bruker Daltonics). Заключение о таксономической принадлежности микроорганизма осуществлялось на основании значения индекса совпадения (параметр score value, SV). Значение  $SV > 2,3$  соответствовало достоверной идентификации до вида;  $SV < 2,299$ , но более 2,000 – достоверной идентификации до рода, вероятной идентификации до вида; значение SV в диапазоне 1,7–1,999 рассматривалось как вероятная идентификация до рода, и менее 1,7 – как недостоверный результат» [186].

### **2.5. Метод полногеномного секвенирования штаммов *K. pneumoniae***

Секвенирование геномов и обработка полученных результатов осуществлялась в научно-исследовательском институте имени Пастера.

Геномы изолятов были секвенированы с использованием технологий секвенирования Illumina GAIIХ. Экстракцию ДНК осуществляли с помощью набора DNeasy Blood and Tissue в соответствии с описанием производителя (Qiagen, Валенсия, Калифорния).

Сборку геномов производили с помощью SPAdes [157]. MLST-типы (multi-locus sequence typing) штаммов были определены с помощью программы Kleborate [158]. Также определены локусы вирулентности, ассоциированные с транспозоном ICEKp: (*ybt*, *clb*, *iro*, *rmpA*), локусы вирулентности, ассоциированные с плазмидой: (*iro*, *iuc*, *rmpA*, *rmpA2*), детерминанты устойчивости к антимикробным препаратам, в том числе выявлены мутации, приобретенные гены и собственные β-лактамазы. Используемая программа позволила определить серотипы К (капсула) и О-антиген (LPS) по аллелям *wzi* и с помощью программы Kaptive [159, 160].

### **2.6. Определение чувствительности выделенных возбудителей к антибактериальным препаратам**

«Определение чувствительности этиологически значимых микроорганизмов к антибиотикам проводилось методом серийных разведений и диско-диффузионным методом согласно МУК 4.12.1890-04» [161].

«При выделении из биопробы в клинически значимом количестве бактерий *Enterobacteriales* проводили исследование на чувствительность штаммов к следующим антибиотикам: азтреонам, амикацин, амоксиклав, ампициллин, ампициллин+сульбактам, канамицин, левофлоксацин, тобрамицин, фосфомицин, фурагин, фурадонин, цефепим, цефиксим, цефтриаксон, цефуроксим, ципрофлоксацин. Для оценки чувствительности использовали агар Мюллера–Хинтона (МХА) без дополнительных добавок. Условия инкубирования:  $35\pm 1$  °С, обычная атмосфера, 16–20 часов.

Клинически значимые штаммы стафилококков изучали на предмет чувствительности к следующим антибиотикам: азитромицин, амоксициллин, амоксиклав, ампициллин, ампициллин + сульбактам, ванкомицин, доксициклин, клиндамицин, левофлоксацин, оксациллин, офлосацин, рокситромицин, цефалексин, цефокситин, цефтриаксон, цефуроксим, ципрофлоксацин. Для оценки чувствительности стафилококков использовали агар Мюллера–Хинтона (МХА) без дополнительных добавок. Условия инкубирования были следующие:  $35\pm 1$  °С, обычная атмосфера, 16-20 часов.

Для постановки чувствительности всех вышеперечисленных бактерий использовали диски и М.І.С.Е. полоски<sup>4</sup> с антибиотиками» [186].

Определение чувствительности бактерий к бактериофагам проводили 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»). При этом использовали бактериофаги производства АО «НПО» «Микроген».

## **2.7. Статистические методы обработки полученных данных**

«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

---

<sup>4</sup> Производства «Biovitrum»

7.0» [186]. Для первичной подготовки таблиц были использованы: программный пакет Excel, Origin Pro 8 и Google Sheets. С целью оценки прогностической ценности вероятности использовали теорему Байеса.

**Статистический анализ количественных признаков.** Статистический анализ количественных признаков проводился «с использованием параметрических методов: расчет среднего арифметического  $\bar{x}$ , ошибки среднего  $Sx$ , среднеквадратичного отклонения  $\sigma$ , критерий Фишера – сравнений дисперсий двух независимых выборок.

Данные в таблицах представлены в виде  $M \pm m$  (где  $M$  – среднее арифметическое,  $m$  – среднеквадратичное отклонение).

Отличия между выборками, распределенными по нормальному закону, оценивались по параметрическому критерию Стьюдента:

$$t = \frac{\bar{x}_1 - \bar{x}_2}{\sqrt{\frac{s_1^2}{n_1} + \frac{s_2^2}{n_2}}}; \quad (1)$$

где  $\bar{x}_1, \bar{x}_2$  – среднее арифметическое выборок;

$s_1, s_2$  – стандартные отклонения выборок;

$n_1, n_2$  – объем первой и второй выборки соответственно.

Различия считались достоверными при уровне значимости  $p < 0,05$  согласно таблице критических значений t-критерия Стьюдента.

«Различные группы сравнивались между собой с помощью критерия Стьюдента при приближении распределений к нормальному согласно тестам, описанным выше, или с помощью теста Манна–Уитни и критерия Краскела–Уоллиса в случае значимых отличий от нормального распределения ( $p < 0,05$ ). Для зависимых признаков использовался одновыборочный критерий Вилкоксона и парный t-критерий Стьюдента (в случае распределения величин близкого к нормальному) (Таблица 2).

Все вычисления проводились с помощью языка программирования R с использованием пакета nortest» [183] и программы SPSS Statistics ver. 26 (IBM, USA). Различия считались статистически значимыми при  $p < 0,05$ .

**Таблица 2** – Критерии оценки уровня значимости

<i>Критерий</i>	<i>Описание</i>
Критерий хи-квадрат Пирсона	Различия считались статистически значимыми при $0 < p < 0,05$
Точный тест Фишера	
Критерий Манна – Уитни	
Критерий Стьюдента	
Критерий Вилкоксона	
Критерий Макнемара	

**Статистический анализ качественных признаков.** Статистический анализ качественных признаков проводился с помощью четырехпольных таблиц. После чего подсчёт производился точным двусторонним критерием Фишера,  $\phi$ -критерием, критерием  $\chi^2$  Пирсона с поправкой на непрерывность Йейтса, критерием  $\chi^2$  и методом сопряженности Пирсона. Критерий  $\chi^2$  использовался в случае, если ожидаемые частоты ячеек таблицы сопряженности были более 5. Различия считались достоверными при уровне значимости  $p < 0,05$  согласно таблице критических значений критерия  $\chi^2$ . Для малых выборок использовался точный критерий Фишера (двусторонний). Была применена четырехпольная таблица (Таблица 3) для статистической обработки данных.

«Статистический анализ выделенной микрофлоры осуществляли при помощи языка программирования R версии 3.3.3 и среды разработки программного обеспечения Rstudio 1.0.136. Исследование этих данных проводили с помощью критерия «хи-квадрат», V-критерия Крамера и простого анализа соответствий» [186].

**Таблица 3** – Пример четырехпольной таблицы для статистических расчётов

N – число наблюдений	<b>Исход</b>	Без исхода
Наличие фактора риска	C <sub>1</sub>	C <sub>2</sub>
Отсутствие фактора риска	C <sub>3</sub>	C <sub>4</sub>

Конечное соотношение для расчёта точного критерия Фишера:



$$P = \frac{(C_1 + C_2)!(C_3 + C_4)!(C_1 + C_3)!(C_2 + C_4)!}{N!(C_1!C_2!C_3!C_4!)}; \quad (2)$$

для оценки распределения  $\chi^2$ :

$$P = \sum \frac{(|f^0 - f^e| - 0.5)^2}{f^e}, \quad (3)$$

где  $f^0$  – наблюдаемая частота события;

$f^e$  – ожидаемая частота события;

0,5 – поправка Йейтса на непрерывность распределения для частоты бинарных событий.

Для оценки поправки на правдоподобие использовалась формула

$$\Lambda\chi^2 = 2 \sum_{i=1}^n \sum_{j=1}^m C_{ij} \ln \frac{f_{ij}^0}{f_{ij}^e}. \quad (4)$$

Оценка  $\phi$ -критерия производилась по формуле

$$\phi = \sqrt{\frac{\chi^2}{n}}, \quad (5)$$

коэффициент взаимной сопряженности Пирсона рассчитывался по формуле

$$C = \sqrt{\frac{\chi^2}{\chi^2 + n}}, \quad (6)$$

где  $n$  – число наблюдений.

Интерпретацию силы взаимосвязи по  $\phi$ -критерию производили согласно рекомендации Rea и Parker (Таблица 4):

**Таблица 4** – Критерии оценки силы связи по Rea и Parker

<i>Значение критерия</i>	<i>Сила взаимосвязи</i>	<i>Уровень достоверности</i>
< 0,1	Несущественная	Достоверно
0,1–0,2	Слабая	Достоверно
0,2–0,4	Средняя	Достоверно
0,4–0,6	Относительно сильная	Достоверно
0,6–0,8	Сильная	Достоверно
0,8–1,0	Очень сильная	достоверно

Минимальное значение последовательно уменьшалось или увеличивалось на 1 с сохранением маргинальных сумм.

Программный код (для RGui) для расчёта матриц по Фишеру:

```
X<- matrix(c(C1,C2,C3,C4), ncol = 2); fisher.test(X).
```

Программный код (для RGui) для расчёта матриц по Пирсону:

```
X<- matrix(c(C1,C2,C3,C4), nrow = 2, byrow = true); chisq.test(N).
```

«Анализ качественных признаков проводился с помощью критерия хи-квадрат, критерия Макнемара, а при невыполнении условий этого критерия применялся точный критерий Фишера» [183]. Обработка таблиц сопряженности проводилась с использованием программы SPSS Statistics ver. 26 (IBM, USA) и языка программирования R. Различия считались статистически значимыми при  $p < 0,05$ .

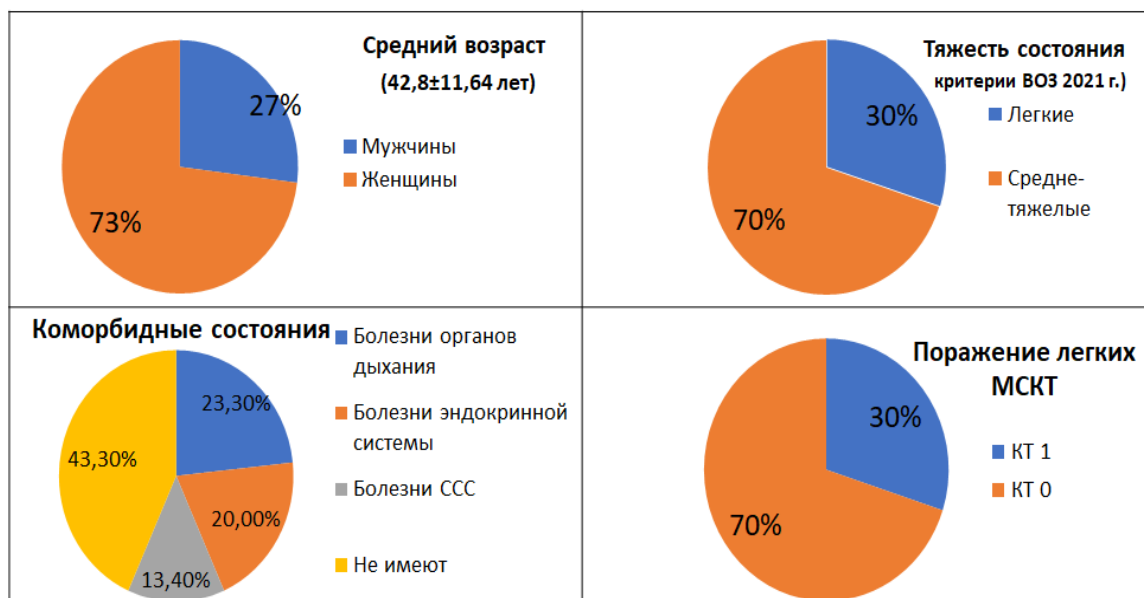
## СОБСТВЕННЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

### Глава 3. Оценка видового состава возбудителей верхних дыхательных путей у пациентов амбулаторной группы с определением чувствительности к основным этиотропным препаратам

Под нашим наблюдением находились 42 пациента с COVID-19, критерием включения в исследования этой группы был этиологически верифицированный COVID-19. Все пациенты этой группы находились на амбулаторном лечении и не подлежали госпитализации. При первичном обследовании был собран эпидемиологический анамнез, анамнез morbi; проведен объективный осмотр, дана оценка степени тяжести по критериям ВОЗ (2021 г.), при необходимости были рекомендованы визуализационные методы исследования (R-графия грудной клетки или МСКТ). Для этиологического подтверждения или исключения COVID-19 проводилось исследование мазков из носо/ротоглотки на наличие вируса SARS-CoV-2 методом ОТ-ПЦР, исследование бактериальной микрофлоры отделяемого респираторного тракта (бронхоальвеолярный лаваж, мокрота, мазки из зева). Пациентам предложены оформления анкет, получено добровольное информированное согласие на проведение исследования. Собраны данные о проведении профилактических прививок, наличии коморбидной патологии, результаты вирусологических (индикация вируса SARS-CoV-2) и бактериологических исследований – бактериальной ко-инфекции. В динамике оценивали длительность течения болезни, эффективность проведенной терапии (комплексно, с учетом данных микробиологических исследований).

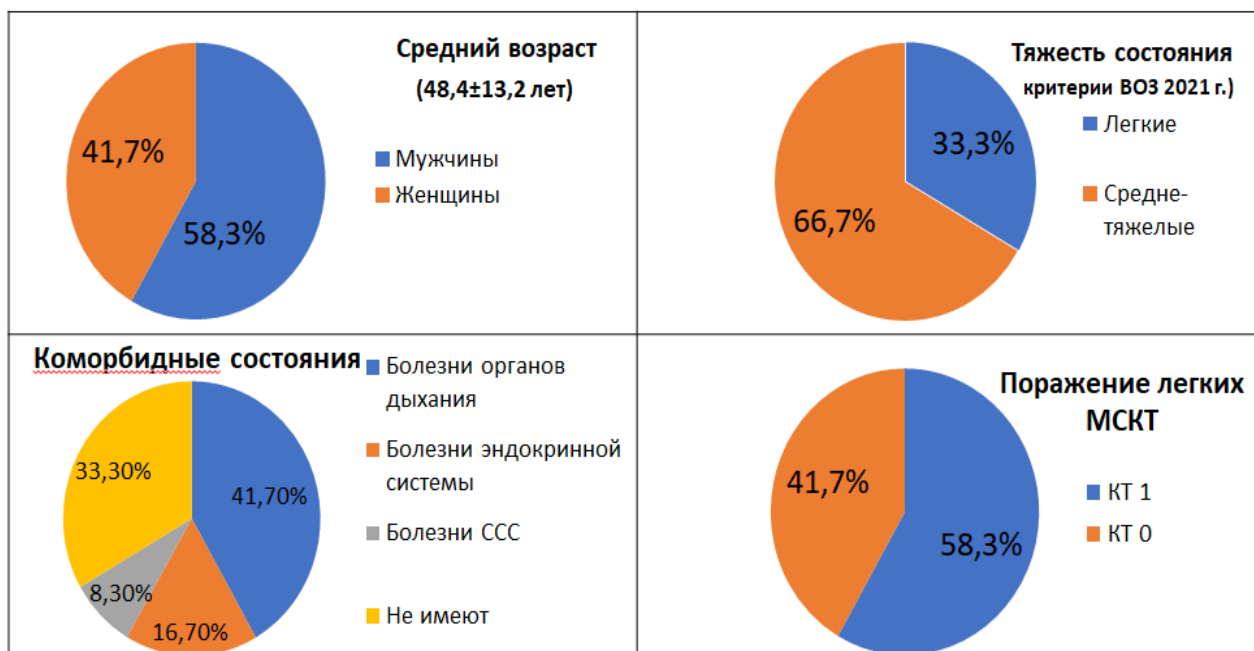
Анализ демографических показателей 30 пациентов амбулаторной группы, получавшей бактериофаг, показал, что средний возраст пациентов составлял  $42,8 \pm 11,64$  года; распределение по полу: 73% составляли женщины, 27% – мужчины. Из 17 (56,7%) пациентов с коморбидными состояниями: у 7 (23,3%) – болезни органов дыхания и ЛОР органов (бронхиальная астма, ХОБЛ, синуситы), у 6 (20,0%) – заболевания эндокринной системы, у 4 (13,4%) – болезни сердечно-сосудистой системы. Согласно критериям тяжести COVID-19 по ВОЗ (2021 г.) все пациенты были разделены на две группы: 1-я группа – 9 (30%) человек с легким

течением болезни; 2-я группа – 21 (70%) человек со среднетяжелым течением болезни. По степени поражения легких по данным МСКТ в исследуемой группе пациенты были распределены следующим образом: КТ-1 у 10 человек (30,0%) и КТ-0 у 20 человек (70,0%) (Рисунок 2).

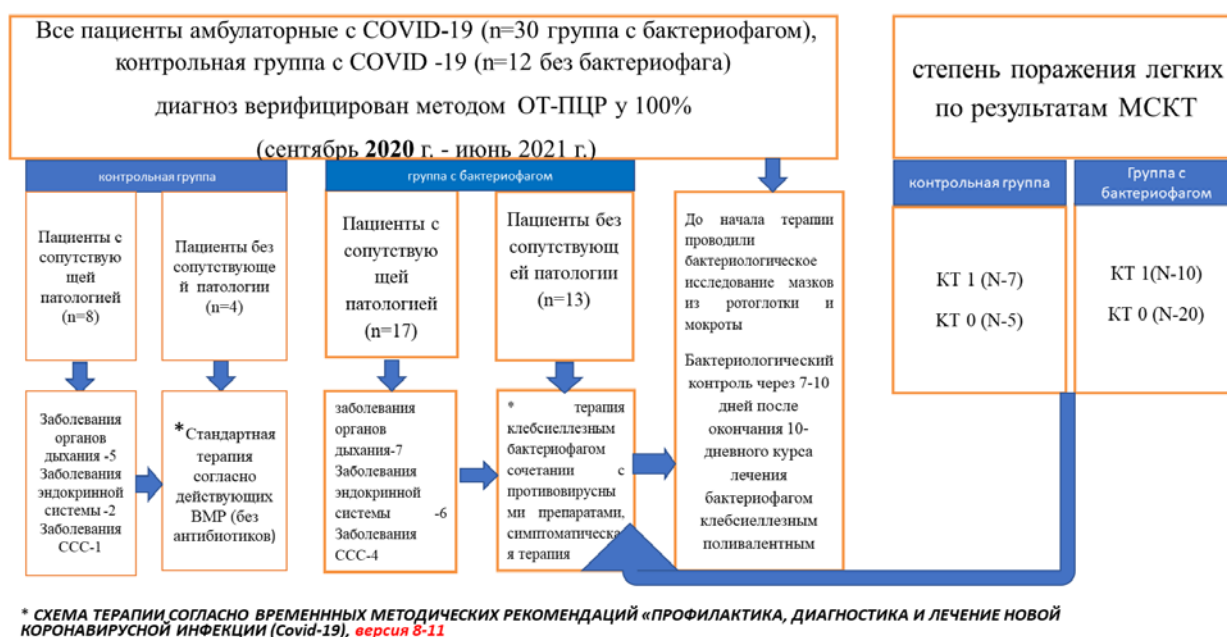


**Рисунок 2** – Демографические показатели и данные о клинической характеристике амбулаторной группы пациентов с COVID-19, получавшей бактериофаг, n = 30

Группа контроля, которая не получала бактериофаг, составила 12 пациентов (Рисунок 3). Средний возраст в группе контроля составил  $48,4 \pm 13,2$  лет; распределение по полу: 41,7% составляли женщины, 58,3% – мужчины. 8 (66,7%) пациентов имели сопутствующую патологию: 5 (41,7%) – болезни органов дыхания и ЛОР органов (бронхиальная астма, ХОБЛ, синуситы), 2 (16,7%) – заболевания эндокринной системы, 1 (8,3%) – болезни сердечно-сосудистой системы. Тяжесть состояния была также оценена согласно критериям тяжести по ВОЗ (2021 г.) следующим образом: 1-я группа – 4 (33,3%) пациента с легким течением болезни; 2-я группа – 8 (66,7%) человек со среднетяжелым течением болезни. По степени поражения легких по данным МСКТ в исследуемой группе пациенты были распределены следующим образом: КТ-1 у 7 человек (58,3%) и КТ-0 у 5 человек (41,7%). Дизайн исследования представлен на рисунке 4. Тактика терапии осуществлялась согласно ВМР «Профилактика, диагностика и лечение новой коронавирусной инфекции (COVID-19)», версия 8-11.



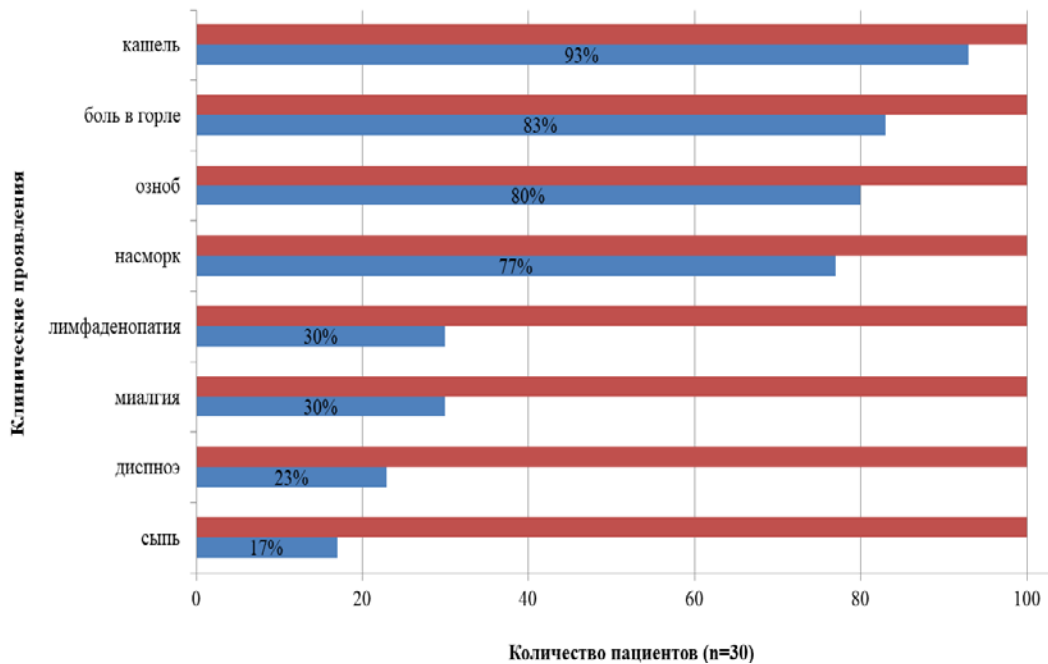
**Рисунок 3** – Демографические показатели и данные о клинической характеристике амбулаторной группы контроля пациентов с COVID-19, n = 12



**Рисунок 4** – Дизайн исследования амбулаторной группы пациентов

Наблюдения за амбулаторными пациентами, получающими фаготерапию, (Рисунок 5) показали, что клиническое течение COVID-19 протекало с кашлем в 93% случаев, с болью в горле – в 83%, с ознобом – в 80%, с насморком – в 77% случаев. В меньшей степени отмечена миалгия и лимфаденопатия — в 30% случаев, диспноэ (дыхательный дискомфорт) отмечался у 23% наблюдаемых. Кож-

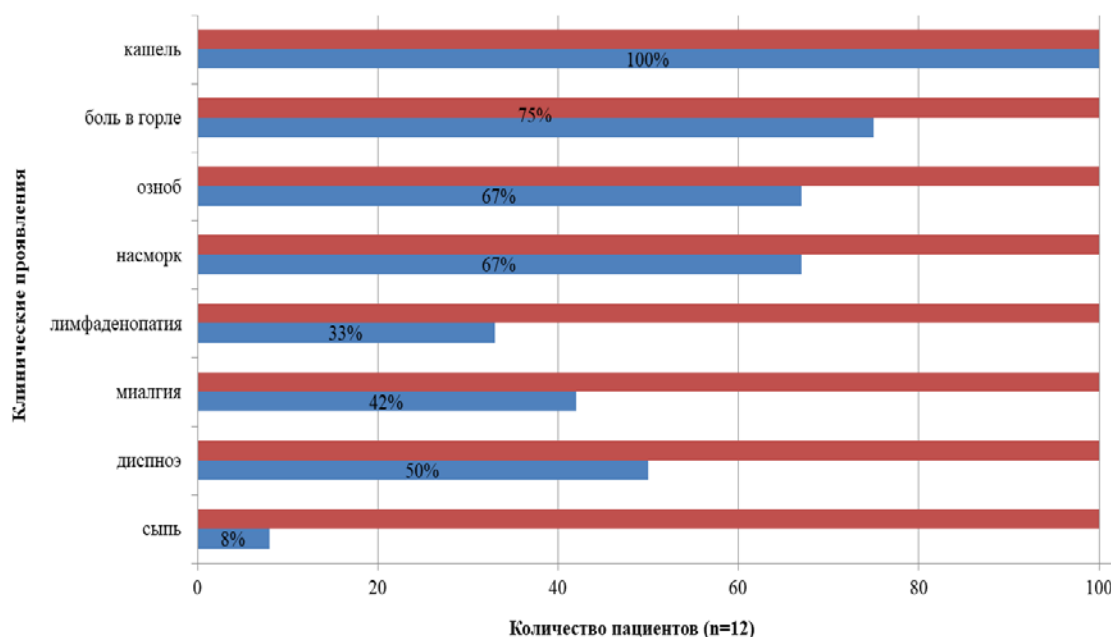
ные проявления в виде макуло-папулезной сыпи присутствовали у 17% пациентов.



**Рисунок 5** – Частота клинических проявлений COVID-19 до применения бактериофагов в амбулаторной группе, %

Клинические проявления в группе контроля ( $n = 12$ ) у амбулаторных пациентов были следующими (Рисунок 6): кашель встречался у 100% наблюдаемых пациентов, боль в горле – в 75% случаев, озноб и насморк – в 67% случаев. В меньшей степени отмечена миалгия – в 42% и лимфаденопатия – в 33% случаев, диспноэ (дыхательный дискомфорт) отмечался у 50% наблюдаемых. Кожные проявления в виде макуло-папулезной сыпи присутствовали в 8% случаев (1 пациент).

В результате исследования мазков из ротоглотки и мокроты на бактериальную микрофлору у 30 пациентов из основной группы ( $n = 30$ ) установлено, что в 77% случаев были выделены бактерии *Klebsiella pneumoniae*, в 17% – *Staphylococcus aureus*, в 6% – стрептококки (*Streptococcus agalactiae* и *Streptococcus pyogenes*). При этом согласно клиническим рекомендациям «Лабораторная диагностика внебольничных пневмоний» (2014 г.) клинически значимым считали выделение бактерий в количестве более  $10^4$  КОЕ/мл из мокроты и более  $10^5$  КОЕ/мл из ротоглоточных мазков.



**Рисунок 6** – Частота клинических проявлений COVID-19 в амбулаторной группе контроля до начала лечения (n = 12), %

Представители резидентной ( $\alpha$ - и  $\gamma$ -гемолитические стрептококки, нейссерии, недифтерийные коринебактерии, коагулазо-отрицательные стафилококки) и транзиторной микрофлоры ( $\beta$ -гемолитические стрептококки, *S. aureus*), выделенные в допустимом количестве, согласно КР при описании коинфекции не учитывали (Таблица 5).

**Таблица 5** – Видовой состав возбудителей коинфекций у амбулаторных пациентов с COVID-19 (n = 30)

№ n/n	Сопутствующее заболевание	Выделенные бактерии в начале заболевания	Количество микро- организмов (КОЕ/мл)
1	2	3	4
1	Бронхиальная астма; Хронические неспецифические заболевания легких	<i>K. pneumoniae</i>	$4 \cdot 10^5$
2	Аутоиммунный тиреоидит	<i>K. pneumoniae</i>	$2 \cdot 10^5$
3	Нет	<i>S. aureus</i>	$1 \cdot 10^5$
4	Сахарный диабет 2-го типа	<i>K. pneumoniae</i>	$3 \cdot 10^5$
5	Нет	<i>K. pneumoniae</i>	$2 \cdot 10^5$
6	Нет	<i>K. pneumoniae</i>	$7 \cdot 10^5$
7	Гипертоническая болезнь 2-й ст.	<i>S. aureus</i>	$2 \cdot 10^5$
8	Сахарный диабет 2-го типа. Ожирение 1-й ст.	<i>K. pneumoniae</i>	$4 \cdot 10^4$
9	Нет	<i>S. aureus</i>	$2 \cdot 10^6$
10	Нет	<i>K. pneumoniae</i>	$4 \cdot 10^5$

Продолжение таблицы 5

1	2	3	4
11	Бронхиальная астма; Хронические неспецифические заболевания легких	<i>S. aureus</i>	$3 \cdot 10^5$
12	Гипертоническая болезнь 2-й ст.	<i>K. pneumoniae</i>	$5 \cdot 10^5$
13	Хронический синусит	<i>K. pneumoniae</i>	$8 \cdot 10^5$
14	Нет	<i>S. agalactiae</i>	$6 \cdot 10^5$
15	Ишемическая болезнь сердца	<i>K. pneumoniae</i>	$1 \cdot 10^5$
16	Нет	<i>K. pneumoniae</i>	$2 \cdot 10^5$
17	Нет	<i>K. pneumoniae</i>	$5 \cdot 10^5$
18	Сахарный диабет 2-го типа; Ожирение 2-й ст.	<i>K. pneumoniae</i>	$1 \cdot 10^6$
19	Бронхиальная астма; Хронические неспецифические заболевания легких	<i>K. pneumoniae</i>	$3 \cdot 10^5$
20	Нет	<i>K. pneumoniae</i>	$3 \cdot 10^5$
21	Хронические неспецифические заболевания легких	<i>K. pneumoniae</i>	$5 \cdot 10^5$
22	Нет	<i>S. aureus</i>	$1 \cdot 10^6$
23	Хронический синусит	<i>K. pneumoniae</i>	$6 \cdot 10^5$
24	Гипертоническая болезнь 2-й ст.	<i>K. pneumoniae</i>	$2 \cdot 10^5$
25	Нет	<i>K. pneumoniae</i>	$1 \cdot 10^5$
26	Нет	<i>K. pneumoniae</i>	$1 \cdot 10^6$
27	Сахарный диабет 2-го типа; Ожирение 2-й ст.	<i>S. pyogenes</i>	$1 \cdot 10^6$
28	Хронический синусит	<i>K. pneumoniae</i>	$4 \cdot 10^5$
29	Сахарный диабет 2-го типа; Ожирение 1-й ст.	<i>K. pneumoniae</i>	$2 \cdot 10^5$
30	Нет	<i>K. pneumoniae</i>	$1 \cdot 10^4$

При исследовании чувствительности бактерий к антибиотикам оказалось, что 65% штаммов *K. pneumoniae* резистентны к карбапенемам, 60% штаммов *S. aureus* резистентны к амоксиклаву, а штамм *S. pyogenes* резистентен к азитромицину, который часто назначался для профилактики бактериальных осложнений при COVID-19.

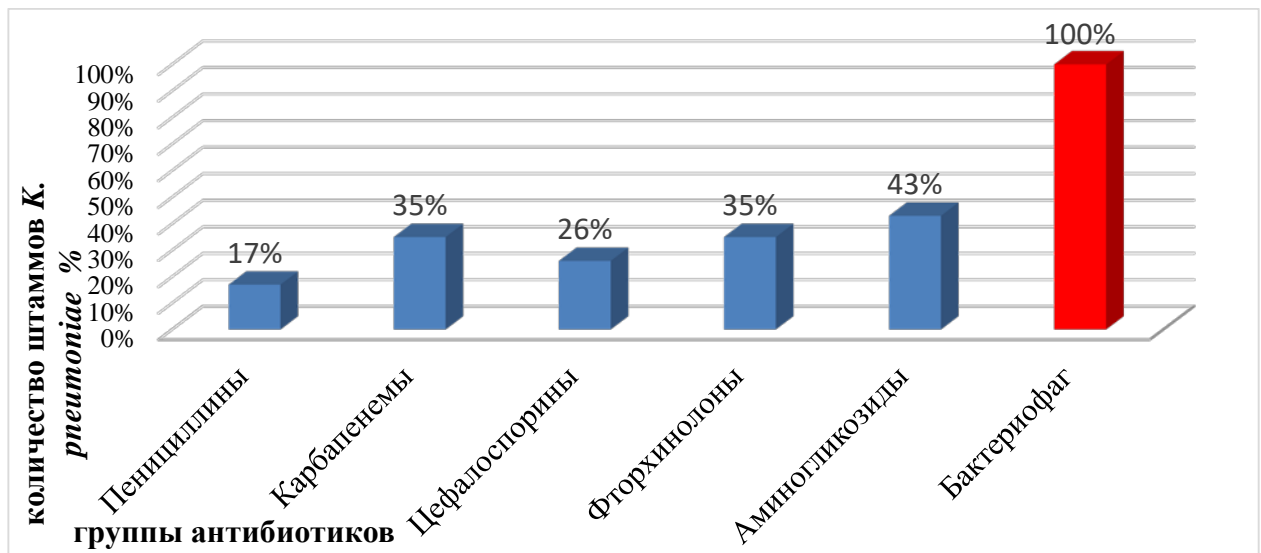
При этом все выделенные штаммы возбудителей коинфекции оказались чувствительны к соответствующим бактериофагам (клебсиеллезному поливалентному фагу, стафилококковому и стрептококковому фагу) (Таблица 6).



**Таблица 6** – Чувствительность возбудителей коинфекции к антибиотикам и бактериофагам (n = 30)

Микроорганизм	Количество штаммов	Чувствительность к антибиотикам (% чувствительных штаммов)	Чувствительность к бактериофагам (% чувствительных штаммов)
<i>K. pneumoniae</i>	23	35	100
<i>S. aureus</i>	5	40	100
<i>S. agalactiae</i>	1	100	100
<i>S. pyogenes</i>	1	0	100

Штаммы *K. pneumoniae* отличались высокой резистентностью не только к карбапенемам (35%), но и к другим антибактериальным препаратам, которые потенциально могли бы быть использованы в качестве этиотропной терапии (Рисунок 7).



**Рисунок 7** – Доля чувствительных к антибиотикам и бактериофагам штаммов *K. pneumoniae*, выделенных от амбулаторных пациентов (n = 30)

Полученные результаты свидетельствовали о наличии резистентности ряда бактериальных патогенов не только к цефалоспорином 4-го поколения, но также к карбапенемам, что послужило основанием для поиска и оценки чувствительности выделенных патогенов к бактериофагам. Было показано, что доля чувствительных к бактериофагам штаммов *K. pneumoniae*, выделенных от амбулаторных пациентов, составила 100%.

Всем амбулаторным пациентам основной группы (n = 30) была назначена комплексная терапия, в которую был включен бактериофаг: пероральный прием 3

раза в день по 15 мл бактериофага в течение 10 дней. На 10-й день от начала курса лечения бактериофагами была дана клиническая оценка (Таблица 7) эффективности применения бактериофага у пациентов амбулаторной группы (n = 30) и группы контроля (n = 12).

Повторное исследование материала на бактериальную микрофлору с целью оценки эрадикации патогенной микрофлоры респираторного тракта проводили на 21-й день от начала лечения.

**Таблица 7** – Сравнительный анализ клинических проявлений после применения бактериофага в основной (n = 30) и контрольной (n = 12) группах

Симптомы	Частота симптомов ДО лечения		Частота симптомов ПОСЛЕ лечения		P (критерий Макнемара)	Частота симптомов ДО лечения		Частота симптомов ПОСЛЕ лечения		P (критерий Макнемара)
	N	%	N	%		N	%	N	%	
Кашель	28	93	5	17	< 0,001*	12	100	7	58	0,063
Боль в горле	25	83	3	10	< 0,001*	9	75	6	50	0,375
Лихорадка	24	80	1	3	< 0,001*	8	67	3	25	0,125
Насморк	23	77	6	20	< 0,001*	8	67	6	50	0,727
Лимфаденопатия	9	30	2	7	0,065	4	33	1	8	0,250
Миалгия	9	30	3	10	0,146	5	42	2	17	0,250
Диспноэ	7	23	2	7	0,125	6	50	3	25	0,250
Сыпь	5	17	1	3	0,219	1	8	0	0	1,000

Показана достоверная разница в уменьшении основных катарально-респираторных проявлений, симптомов интоксикации у пациентов основной группы на фоне применения бактериофага.

Анализ микробного состава респираторного тракта у пациентов после приема бактериофага показал, что выделяемые ранее бактерии были обнаружены только у 16,5% пациентов.

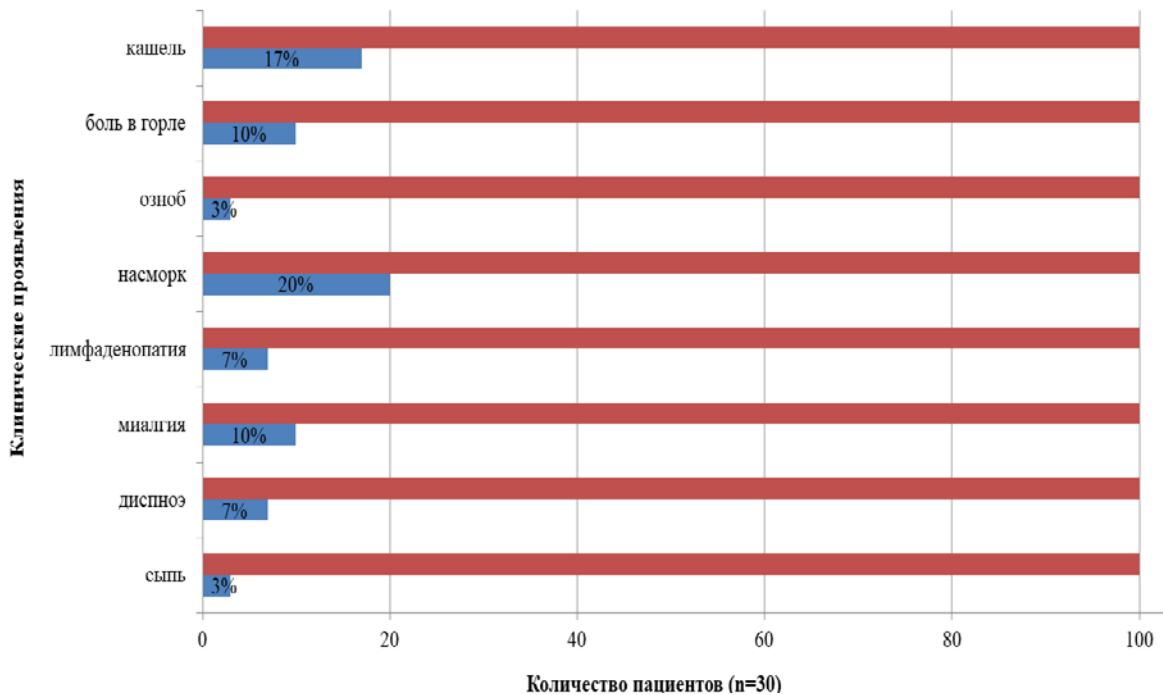
Причем количество выделенных бактерий было уже ниже диагностического уровня (Таблица 8).

**Таблица 8** – Видовой состав возбудителей респираторного тракта у амбулаторных пациентов с COVID-19 после курса фаготерапии (n = 30)

№ п/п	Выделенные бактерии в начале заболевания	Количество бактерий (КОЕ/мл)	Выделенные бактерии после курса фаготерапии	Количество бактерий (КОЕ/мл)
1	<i>K. pneumoniae</i>	$4 \cdot 10^5$	норма*	
2	<i>K. pneumoniae</i>	$2 \cdot 10^5$	норма	
3	<i>S. aureus</i>	$1 \cdot 10^5$	<i>S. aureus</i>	$4 \cdot 10^3$
4	<i>K. pneumoniae</i>	$3 \cdot 10^5$	норма	
5	<i>K. pneumoniae</i>	$2 \cdot 10^5$	норма	
6	<i>K. pneumoniae</i>	$7 \cdot 10^5$	норма	
7	<i>S. aureus</i>	$2 \cdot 10^5$	норма	
8	<i>K. pneumoniae</i>	$4 \cdot 10^4$	норма	
9	<i>S. aureus</i>	$2 \cdot 10^6$	норма	
10	<i>K. pneumoniae</i>	$4 \cdot 10^5$	норма	
11	<i>S. aureus</i>	$3 \cdot 10^5$	<i>S. aureus</i>	$4 \cdot 10^3$
12	<i>K. pneumoniae</i>	$5 \cdot 10^5$	норма	
13	<i>K. pneumoniae</i>	$8 \cdot 10^5$	норма	
14	<i>S. agalactiae</i>	$6 \cdot 10^5$	<i>S. agalactiae</i>	$5 \cdot 10^3$
15	<i>K. pneumoniae</i>	$1 \cdot 10^5$	норма	
16	<i>K. pneumoniae</i>	$2 \cdot 10^5$	норма	
17	<i>K. pneumoniae</i>	$5 \cdot 10^5$	норма	
18	<i>K. pneumoniae</i>	$1 \cdot 10^6$	норма	
19	<i>K. pneumoniae</i>	$3 \cdot 10^5$	<i>K. pneumoniae</i>	$3 \cdot 10^3$
20	<i>K. pneumoniae</i>	$3 \cdot 10^5$	норма	
21	<i>K. pneumoniae</i>	$5 \cdot 10^5$	норма	
22	<i>S. aureus</i>	$1 \cdot 10^6$	норма	
23	<i>K. pneumoniae</i>	$6 \cdot 10^5$	норма	
24	<i>K. pneumoniae</i>	$2 \cdot 10^5$	норма	
25	<i>K. pneumoniae</i>	$1 \cdot 10^5$	норма	
26	<i>K. pneumoniae</i>	$1 \cdot 10^6$	норма	
27	<i>S. pyogenes</i>	$1 \cdot 10^6$	<i>S. pyogenes</i>	$5 \cdot 10^3$
28	<i>K. pneumoniae</i>	$4 \cdot 10^5$	норма	
29	<i>K. pneumoniae</i>	$2 \cdot 10^5$	норма	
30	<i>K. pneumoniae</i>	$1 \cdot 10^4$	норма	

Примечание: норма\* - видовой и количественный состав бактерий не выходит за рамки допустимых значений, описанных в нормативно-методических документах, указанных в разделе «Материалы и методы».

При этом наблюдалась значительная положительная динамика клинических проявлений у амбулаторных пациентов с COVID-19. Динамика клинических проявлений у амбулаторных пациентов с COVID-19 на 10-й день наблюдения представлена на Рисунке 8.



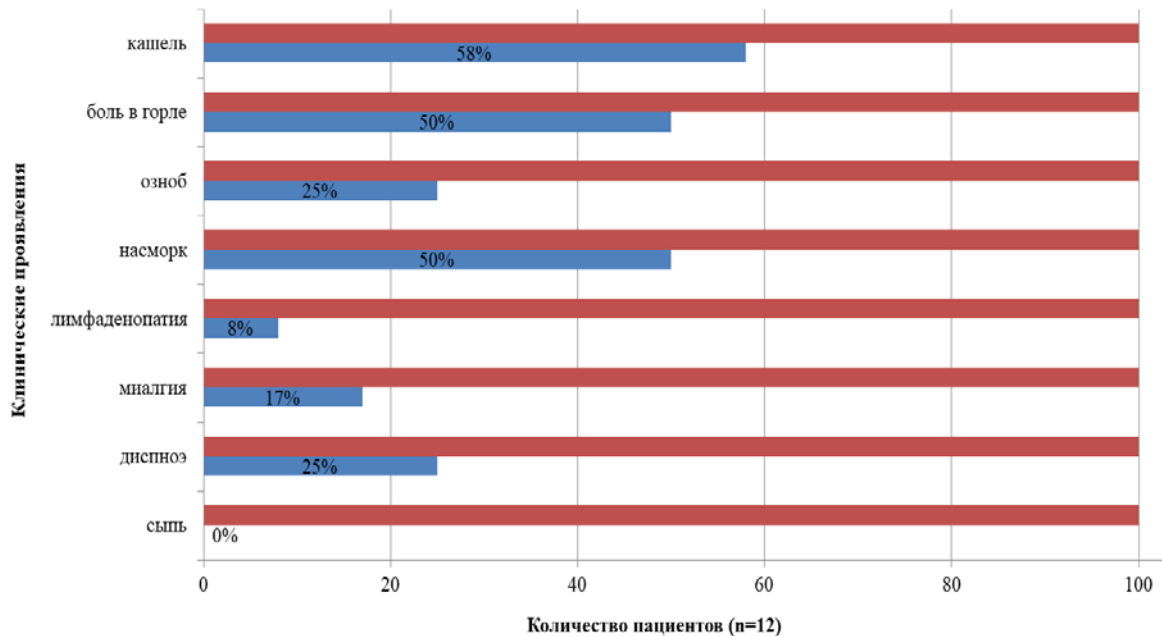
**Рисунок 8** – Динамика клинических проявлений у амбулаторных пациентов (n = 30) с COVID-19 на 10-й день применения бактериофага, %

Очевидно, что на фоне приема бактериофага отмечалась регрессия клинической симптоматики в виде уменьшения

- кашля с 93 до 17%;
- боли в горле с 83 до 10%;
- озноба с 80 до 3%;
- насморка с 77 до 20%;
- лимфаденопатии с 30 до 7%;
- миалгии с 30 до 10%;
- дыхательного дискомфорта (диспноэ) с 23 до 7%;
- кожных проявлений с 17 до 3%.

При оценке динамики клинических проявлений у контрольной группы амбулаторных пациентов с COVID-19 на 10-й день наблюдения картина симптомов включала в себя следующие показатели (Рисунок 9): сохраняющуюся картину ре-

спираторно-катарального синдрома (кашель у 58%, боль в горле – у 50%, насморк – у 50% пациентов). Озноб был у 25% наблюдаемых, лимфаденопатия регрессировала и составила 8%, миалгия – у 17%, диспноэ – у 25%; сыпь у 1 наблюдаемого пациента регрессировала.

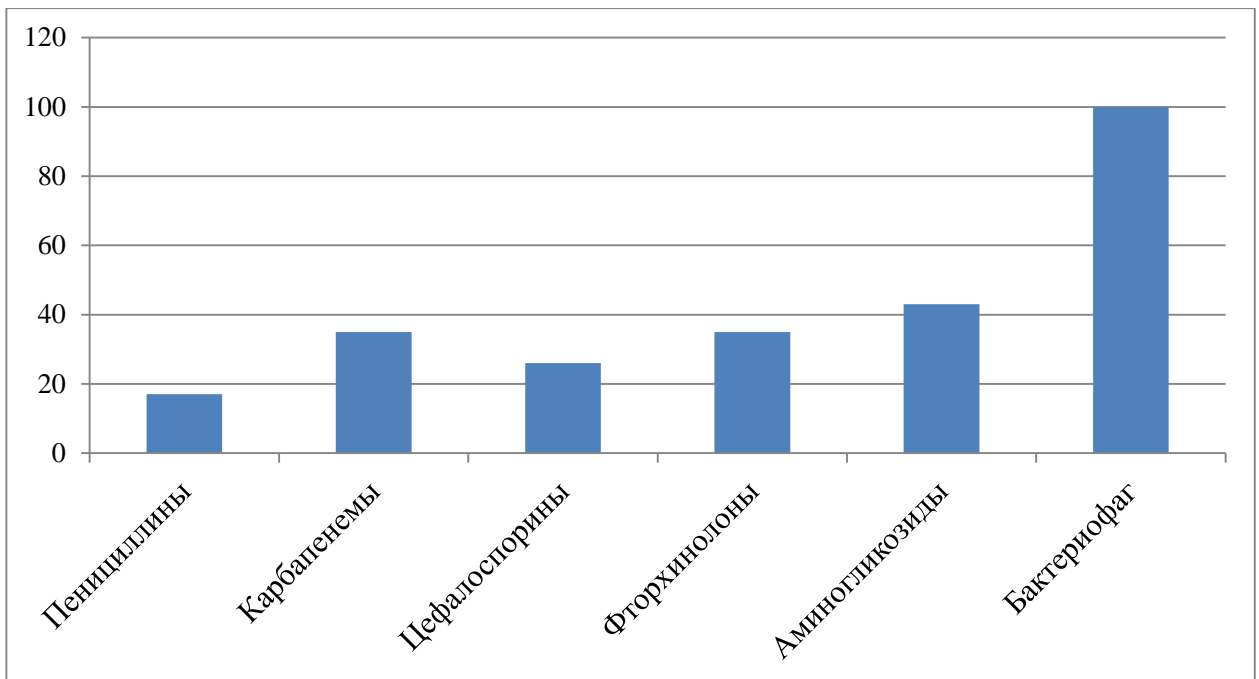


**Рисунок 9** – Динамика клинических проявлений у амбулаторных пациентов группы контроля (n = 12) с COVID-19 на 10-й терапии, %

В самом начале пандемии врачами амбулаторного звена здравоохранения необоснованно назначалась этиотропная антибактериальная терапия с целью профилактики развития бактериальных осложнений. Вопросы назначения этиотропных антибактериальных препаратов широко обсуждались медицинским сообществом.

В связи с этим была проведена оценка чувствительности выделенных от амбулаторных пациентов штаммов патогенов к антибиотикам (Рисунок 10). При сравнительном анализе оценки чувствительности выделенных штаммов к традиционным антибактериальным средствам и бактериофагу, показана чувствительность 100% к бактериофагу.

В результате проведенной монотерапии с использованием бактериофага произошла элиминация бактерий *K. pneumoniae* из респираторного тракта пациентов (Рисунок 11).



**Рисунок 10** – Чувствительность штаммов *K. pneumoniae*, выделенных от амбулаторных больных, к различным классам антибиотиков и бактериофагу (поливалентному клебсиеллезному)



**Рисунок 11** – Элиминация штаммов *K. pneumoniae* у амбулаторных больных в результате монотерапии бактериофагом клебсиеллезным поливалентным (n = 30)

В то же время в контрольной группе пациентов (12 человек) отмечалась не столь эффективная элиминация возбудителей коинфекции (Таблица 9). При этом 50% штаммов *K. pneumoniae* оказались резистентными к широко применяемым антибиотикам, а 80% штаммов были чувствительны к бактериофагам, которые не были использованы и прописаны в рекомендациях.

**Таблица 9** – Оценка микрофлоры респираторного тракта у амбулаторных пациентов с COVID-19 в динамике (контрольная группа, n = 12)

№ п/п	Сопутствующее заболевание	Выделенные бактерии в начале заболевания	Количество бактерий (КОЕ/мл)	Выделенные бактерии на 21-й день от начала лечения	Количество бактерий (КОЕ/мл)
1	Ожирение 1-й ст.	<i>K. pneumoniae</i>	$5 \cdot 10^6$	<i>K. pneumoniae</i>	$4 \cdot 10^4$
2	Нет	<i>K. pneumoniae</i>	$2 \cdot 10^6$	норма*	
3	Гипертоническая болезнь 2-й ст.	<i>S. aureus</i>	$4 \cdot 10^5$	норма	
4	Сахарный диабет 2-го типа	<i>S. aureus</i>	$1 \cdot 10^6$	<i>S. aureus</i>	$2 \cdot 10^4$
5	Нет	<i>K. pneumoniae</i>	$5 \cdot 10^5$	<i>K. pneumoniae</i>	$7 \cdot 10^4$
6	Гипертоническая болезнь 2-й ст.	<i>K. pneumoniae</i>	$6 \cdot 10^5$	<i>K. pneumoniae</i>	$1 \cdot 10^6$
7	Нет	<i>K. pneumoniae</i>	$2 \cdot 10^5$	<i>K. pneumoniae</i>	$4 \cdot 10^4$
8	Ожирение 1-й ст.	<i>K. pneumoniae</i>	$3 \cdot 10^5$	<i>K. pneumoniae</i>	$1 \cdot 10^4$
9	Ишемическая болезнь сердца	<i>K. pneumoniae</i>	$1 \cdot 10^6$	<i>K. pneumoniae</i>	$3 \cdot 10^3$
10	Нет	<i>K. pneumoniae</i>	$1 \cdot 10^6$	<i>K. pneumoniae</i>	$4 \cdot 10^4$
11	Бронхиальная астма	<i>K. pneumoniae</i>	$3 \cdot 10^5$	<i>K. pneumoniae</i>	$2 \cdot 10^5$
12	Гипертоническая болезнь 2-й ст.	<i>K. pneumoniae</i>	$5 \cdot 10^5$	<i>K. pneumoniae</i>	$2 \cdot 10^6$

**Примечание:** норма\* - видовой и количественный состав бактерий не выходит за рамки допустимых значений, описанных в нормативно-методических документах, указанных в разделе «Материалы и методы».

Таким образом, лишь у двух пациентов контрольной группы из двенадцати произошла элиминация возбудителя коинфекции. Еще у одного пациента отмечено снижение до уровня ниже диагностического. Всего у 25% пациентов произошло диагностически значимое снижение количества бактерий, осложнивших течение COVID-19.

Полученные результаты исследования пациентов амбулаторной группы с COVID-19 показали, что микробный состав флоры верхних дыхательных путей, выделенный от больных, вариабелен. В структуре бактериальных патогенов 77% составили бактерии *K. pneumoniae*, 17% – *S. aureus*, 6% – стрептококки (*S. agalactiae* и *S. pyogenes*). 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*.

Сравнительный анализ результатов микробиологического мониторинга амбулаторной группы и контрольной группы пациентов с COVID-19 показал, что в контрольной группе изначально бактериальная нагрузка была немного выше, чем в группе фаготерапии. Медианы составили  $5,5 \cdot 10^5$  [ $3,5 \cdot 10^5 - 1,0 \cdot 10^6$ ] и  $3,5 \cdot 10^5$  [ $2,0 \cdot 10^5 - 6,0 \cdot 10^5$ ] КОЕ/мл соответственно ( $p = 0,045$ ) (Таблица 11).

Однако и в первой, и во второй группах у 100% пациентов были выделены бактерии. При этом в контрольной группе через 21 день у 10 (83,3%) пациентов сохранялась бактериальная инфекция ( $p = 0,500$ ), а в группе фаготерапии – только у 5 (16,7%) ( $p < 0,001$ ) (Таблица 10). При этом уровень бактериальной нагрузки у таких пациентов не превышал  $5 \cdot 10^3$  КОЕ/мл. Медианный уровень в контрольной группе через 21 после начала лечения составил  $4,0 \cdot 10^4$  [ $6,5 \cdot 10^3 - 1,4 \cdot 10^5$ ] КОЕ/мл и не имел статистически значимых различий с бактериальной нагрузкой в этой группе в начале заболевания ( $p = 0,055$ ). У двоих пациентов из 12 (16,7%) произошло увеличение бактериальной нагрузки (Таблица 11).

**Таблица 10** – Количество выделенных бактерий в начале лечения и после фаготерапии (или через 21 день после начала лечения в контрольной группе) у амбулаторных пациентов COVID-19

	Количество образцов с выделением бактерий до начала лечения	Количество образцов с выделением бактерий после фаготерапии или через 21 день после начала лечения	p (критерий Макнемара)
Контрольная группа (n = 12)	12 (100%)	10 (83,3%)	0,500
Группа фаготерапии (n = 30)	30 (100%)	5 (16,7%)	< 0,001*
<i>Примечание:</i> * – изменения статистически значимы ( $p < 0,05$ )			

**Таблица 11** – Оценка микрофлоры респираторного тракта в динамике у амбулаторных пациентов в сравниваемых группах COVID-19 (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*	
<i>Примечание:</i> * – изменения статистически значимы ( $p < 0,05$ )			



Таким образом, статистический анализ проведенных исследований показал, что применение поливалентного клебсиеллезного бактериофага в течение 10 дней у пациентов с COVID-19 амбулаторной группы с целью профилактики развития бактериальных осложнений способствовало элиминация патогена. Доказано, что процент выделения *K. pneumoniae* на 21-й день заболевания достоверно ( $p < 0,001$ ) уменьшился и составил в этой группе 16,5%. Положительный опыт применения бактериофагов при других нозологиях с развитием бактериальных осложнений, позитивный профиль безопасности препарата, доступность широкому кругу пациентов являются вескими доводами в пользу расширенного применения фаготерапии в сочетании с этиотропной терапией с целью профилактики развития бактериальных осложнений при COVID-19.

## Глава 4. КЛИНИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ПАЦИЕНТОВ С COVID-19

### 4.1 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 с COVID-19, госпитализированными в ОРИТ 1 ИКБ ДЗМ в период с мая 2020 по сентябрь 2022 гг. Под нашим наблюдением находилось 52 пациента с этиологически подтвержденным диагнозом COVID-19 и наличием бактериальных осложнений, ассоциированных с выделенными патогенами. Группа контроля ( $n = 27$ ) – пациенты с COVID-19, без клинических и лабораторных критериев бактериальной инфекции, находившиеся в ОРИТ ГБУЗ ИКБ 1 ДЗМ.

*Критериями включения* в исследование были: согласие пациента на участие в исследовании; этиологически подтвержденный диагноз COVID-19: обнаружение РНК SARS-CoV-2 в биоматериале методом полимеразной цепной реакции (ОТ-ПЦР) с обратной транскрипцией; выделение патогенных бактерий в этиологически значимых количествах в биоматериале; возраст от 18 до 85 лет.

*Критерии исключения:* отказ пациента от исследования, отсутствие в биоматериале РНК SARS-CoV-2 и бактериальных патогенов; возраст менее 18 и более 85 лет; беременность.

Все пациенты, находившиеся в ОРИТ, были распределены по тяжести согласно критериям ВОЗ 2021 г. (Таблица 12).

**Таблица 12** – Критерии тяжести течения коронавирусной инфекции по ВОЗ (2021)

<i>Степень тяжести</i>	<i>Критерии</i>
Легкое течение	Наличие клинических проявлений, соответствующих определению случая COVID-19, без признаков вирусной пневмонии или гипоксии
Среднетяжёлое течение	Наличие пневмонии, лихорадка, кашель, затрудненное и учащенное дыхание, $SpO_2 \geq 90\%$ на атмосферном воздухе (оценивать индивидуально, учитывая коморбидный фон и пороговую норму)
Тяжёлое течение	Наличие критериев средней тяжести + хотя бы один из следующих признаков: ЧДД $\geq 30$ вдохов/мин; тяжелый респираторный дистресс синдром; $SpO_2 < 90\%$ при дыхании атмосферным воздухом
Критическое течение	– ОРДС – Сепсис

	– Септический шок – Острый тромбоз
--	---------------------------------------

Согласно критериям степени тяжести по ВОЗ, группа пациентов с бактериальными осложнениями (n = 52) при госпитализации была распределена следующим образом: группа тяжелых – 42 человека (80,8%) и группа критических – 10 человек (19,2%). Группа сравнения (контроля) (n = 27) без признаков бактериальной инфекции была представлена 24 (88,9%) пациентами с тяжелой и 3 (11,1%) пациентами с критической степенью тяжести.

Группа наблюдения с бактериальными осложнениями (n = 52), поступившая в ОРИТ, была распределена на 2 подгруппы: 1-я подгруппа – пациенты с благоприятным исходом (n = 25); 2-я подгруппа – летальные пациенты (n = 27). Предварительная выборка пациентов по наличию выделенных патогенов показала, что в группе с летальным исходом (n = 27) *K. Pneumoniae* в этиологически значимых количествах выделялась у 88,8%; в группе с благоприятным исходом (n = 25) *K. pneumoniae*, *S. agalactiae* и *S. pyogenes* – только у 12% (Таблица 13).

**Таблица 13** – Распределение по тяжести пациентов ОРИТ (n=52)

Тяжесть по ВОЗ	Благоприятный исход, n = 25	48,1%	Летальный исход, n = 27	51,9%	Достоверность, p
Тяжелые	23	92%	19	70,4%	0,078 (точный тест Фишера)
Критические	2	8%	8	29,6%	

Дополнительно оценку тяжести состояния в группе пациентов ОРИТ с бактериальными осложнениями (n = 52) и прогноз проводили с помощью шкал АРАСНЕ II и SOFA, широко используемых в отделениях реанимации и интенсивной терапии. Исследуемые показатели оценивали в первые 24 часа с момента поступления в интенсивный блок и использовали объективные показатели (Таблица 14).

Шкала АРАСНЕ II (The АРАСНЕ II score) применяется для оценки тяжести и прогноза пациентов, находящихся в отделении интенсивной терапии (ОРИТ). Учитываются параметры: острых физиологических изменений, оценка возраста, оценка хронических заболеваний. Оценивается по калькулятору (<https://medicalc.pro/apache>) по следующим показателям: температура, среднее ар-

териальное давление, частота сердечных сокращений, индекс оксигенации (ИО), рН артериальной крови, Na (ммоль/л), К (ммоль/л), креатинин, гематокрит, лейкоциты, шкала ком Глазго. Интерпретация результатов оценки по шкале APACHE II (баллы/летальность, %): 0–4/4%; 5–9/8%; 10–14/15%; 15–19/25%; 20–24/40%; 25–29/55%; 30–34/75%; более 34/85%.

**Таблица 14** – Оценка степени тяжести по данным прогностических шкал пациентов ОРИТ с подтвержденной бактериальной инфекцией, n = 52

Параметры	Летальный исход, n = 27		Выживший исход, n = 25		p (кр. Манна-Уитни)	
	n					
Шкала		4 [3–6]	4,85±0,417 (4,0465–5,6534)	3 [1–4]	2,6±0,363 (1,9022–3,2977)	
Шкала		14 [12,5–18]	15,93±1,066 (13,878–17,981)	10 [8–11]	10,2±0,459 (9,318–11,081)	<b>0,001*</b>
<i>Примечание: * – различия статистически значимы (p &lt; 0,05)</i>						

Шкала SOFA (Sequential Organ Failure Assessment) применяется для оценки органной дисфункции пациентов интенсивного блока (ОРИТ). Проводится оценка 6 показателей: индекс оксигенации (ИО), коагуляция (тромбоциты), функция печени (уровень билирубина), функция почек (креатинин или диурез), сердечно-сосудистая система (уровень среднего АД, потребность в прессорной поддержке), функция центральной нервной системы (шкала ком Глазго, в баллах). Критериями сепсиса для пациентов в ОРИТ является увеличение на 2 и более балла по сравнению с предыдущим значением и наличие инфекции (<https://medicalc.pro/sofa>). Отличие сепсиса от инфекции заключается в отклоняющемся от нормы или нарушенном ответе организма в сочетании с органной дисфункцией.

Сравнительный анализ балльной оценки групп показал достоверные отличия по шкалам APACHE II и SOFA при поступлении в отделение у пациентов с бактериальной инфекцией. При этом достоверно худшие результаты были в группе пациентов с летальным исходом.

При анализе демографических показателей (Таблица 15) группы с подтвержденной бактериальной инфекцией (n = 52) очевидно, что медиана возраста у пациентов с летальным исходом составила 71,30±12,40 года, что достоверно

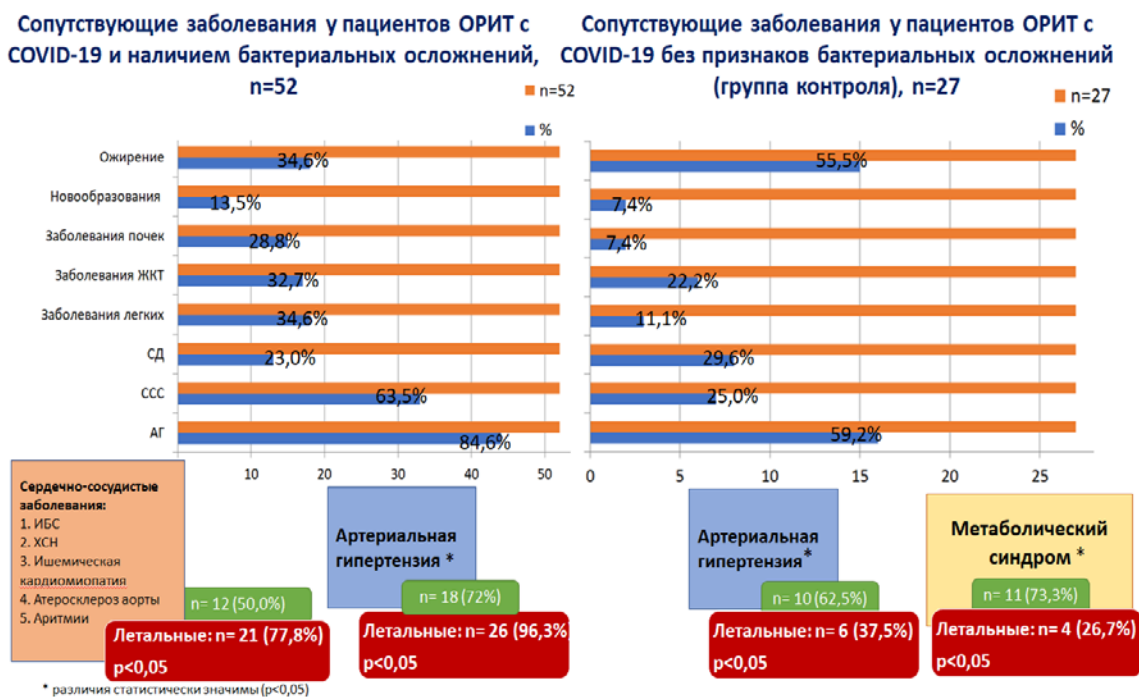
( $p = 0,017$ ) превышало показатели возраста в группе с благоприятным исходом. Медиана дней болезни у выживших пациентов составила 26 [15–35] дней, тогда как у пациентов с летальным исходом медиана составила 18 [11–20] дней ( $p = 0,002$ ). Гендерных различий в сравниваемых группах мы не получили.

**Таблица 15** – Демографические характеристики наблюдаемых групп ОРИТ

<i>Показатели</i>	<i>Благоприятный исход, n = 25 (48,1%)</i>	<i>Летальный исход, n = 27 (51,9%)</i>	<i>Достоверность, p</i>
Возраст, полных лет, M±SD (95% CI)	63,12±11,50 (58,37–67,87)	71,30±12,40 (66,39–76,20)	0,017* (кр. Стьюдента)
Женщины	11 (44%)	15 (55,6%)	0,405 (кр. хи-квадрат)
Мужчины	14 (56%)	12 (44,4%)	
День болезни на момент госпитализации, Me [IQR]	6 [3–9]	7 [4–11,5]	0,250 (кр. Манна–Уитни)
День болезни на момент выписки/смерти, Me [IQR]	26 [15–35]	18 [11–20]	0,002* (кр. Манна–Уитни)
Количество дней в госпитале, Me [IQR]	19 [10–23]	8 [4,5–12]	< 0,001* (кр. Манна–Уитни)
<i>Примечание: * – различия статистически значимы (<math>p &lt; 0,05</math>)</i>			

Пациенты группы сравнения ( $n = 27$ ), без критериев бактериальной инфекции, были госпитализированы в разные сроки от начала заболевания: на 1–5-й день болезни было госпитализировано 9 (33,3%) пациентов; на 6–10-й день болезни – 17 (63%); на 11–15-й день болезни – 1 (3,7%) пациент; после 15-го дня болезни в данную группу не вошло ни одного пациента. Средний возраст пациентов ±11,32 года. Из них 14 (51,9%) мужчин и 13 (48,1%) женщин.

Структура коморбидной патологии обеих групп — с наличием бактериальных осложнений ( $n = 52$ ) и без признаков бактериальной инфекции ( $n = 27$ ) — представлена на Рисунке 12.



**Рисунок 12** – Структура коморбидной патологии в исследуемых группах

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%) (Таблица 16).

**Таблица 16** – Структура коморбидной патологии пациентов ОРИТ

<i>Сопутствующие заболевания</i>	<i>Благоприятный исход, n = 25</i>	<i>48,1%</i>	<i>Летальный исход, n = 27</i>	<i>1,9%</i>	<i>Общее количество пациентов</i>	<i>Достоверность, p</i>
Артериальная Гипертензия	18	72%	26	96,3%	44 (84,6%)	<b>0,022*</b> (точный тест Фишера)
Сердечно-сосудистые заболевания	12	48%	21	77,8%	33 (63,5%)	<b>0,046*</b> (точный тест Фишера)
Сахарный диабет	5	20%	8	29,6%	13 (23,0%)	0,534 (точный тест Фишера)
Заболевания легких	8	32%	10	37,0%	18 (34,6%)	0,774 (точный тест Фишера)
Заболевания ЖКТ	8	32%	9	33,3%	17 (32,7%)	1,000 (точный тест Фишера)
Заболевания почек	6	24%	9	33,3%	15 (28,8%)	0,545 (точный тест Фишера)
Новообразования	4	16%	3	11,1%	7 (13,5%)	0,697 (точный тест Фишера)
Ожирение	6	24%	12	44,4%	18 (34,6%)	0,103 (точный тест Фишера)
<i>Примечание: * – различия статистически значимы (p &lt; 0,05)</i>						

Сравнительный анализ коморбидной патологии в наблюдаемых группах, ассоциированных с бактериальной инфекцией, показал, что в группе пациентов с летальным исходом частота встречаемости артериальной гипертензии составила 96,3% (26 пациентов) и заболевания сердечно-сосудистой системы 77,8 % (21 пациент), достоверно ( $p < 0,05$ ) превышая аналогичные показатели в группе выживших пациентов.

Широко внедренные в практическое здравоохранение в период пандемии визуализационные методы диагностики (рентгенографическое исследование легких, КТ органов грудной клетки) входили в обязательное исследование у стационарных пациентов, данные МСКТ рутинно учитывались при постановке этиологического диагноза. Анализ данных МСКТ в группах наблюдения свидетельствовал, что частота встречаемости изменений на МСКТ – варьировала, представлена изменениями от КТ 1 до КТ4. В первые 7 дней достоверных различий по процентному соотношению рентгенологических изменений в группе с благоприятным и в группе пациентов с летальным исходом среди больных с бактериальными осложнениями получено не было (Таблица 17). Однако при динамическом

наблюдении в группе пациентов с летальным исходом частота визуализации по типу КТ 4 была достоверно выше и достигла 46, 2%.

**Таблица 17** – Результаты исследования КТ грудной клетки у пациентов анализируемых групп

Группы наблюдения	КТ при поступлении	КТ в динамике (6–8 дней)	P (Критерий Уилкоксона)
Благоприятный исход, n = 25	КТ 1–5 (20,0%) КТ 2–8 (32,0%) КТ 3–9 (36,0%) КТ 4–3 (12,0%)	КТ 1–10 (40,0%) КТ 2–4 (16,0%) КТ 3–8 (32,0%) КТ 4–3 (12,0%)	0,238
Летальный исход, n = 27	КТ 1–7 (25,9%) КТ 2–8 (29,6%) КТ 3–6 (22,2%) КТ 4–6 (22,2%)	КТ 1–2 (15,4%) КТ 2–1 (7,7%) КТ 3–4 (30,8%) КТ 4–6 (46,2%)	0,053
P (точный критерий Фишера)	0,624	0,111	
<i>Примечание: * – различия статистически значимы (p &lt; 0,05)</i>			

Необходимо отметить, что первичным КТ-признаком у пациентов с COVID-19 является картина инфильтрации отдельных вторичных легочных долек по типу «матового стекла» с последующим уменьшением объема поражения при благоприятном развитии событий либо его нарастанием, присоединением КТ-картины «булыжной мостовой» и появлением в зоне «матового стекла» консолидации при неблагоприятном варианте течения заболевания. Также для вирусной пневмонии при COVID-19 было характерно расположение изменений в задних субплевральных и перибронхиальных отделах.

В динамике заболевания (Таблица 8) при наблюдении после 8-го дня болезни и более в группе летальных пациентов достоверно чаще отмечались изменения рентгенологической картины по типу КТ 4, частота регистрации этих изменений составила 38,5%. В подавляющем большинстве случаев при первичном обследовании (до 7-го дня болезни) отмечались изолированные изменения по типу «матового стекла» или их комбинация с консолидацией и наиболее часто были проявлениями заболевания. При этом пациенты старшей возрастной группы имели более консолидированные поражения легких, чем пациенты в возрасте 50 лет или моложе.



**Таблица 18** – Динамика изменений МСКТ по дням болезни

Группы наблюдения	КТ, поступление в первые 7 дней, Ме [IQR]	КТ, поступление на 8 день и позже, Ме [IQR]	p (точный критерий Фишера)
Благоприятный исход, n = 25	N = 16 КТ 1 – 5 (31,3%) КТ 2 – 6 (37,5%) КТ 3 – 3 (18,8%) КТ 4 – 2 (12,5%)	N = 9 КТ 1 – 0 (0,0%) КТ 2 – 2 (22,2%) КТ 3 – 6 (66,7%) КТ 4 – 1 (11,1%)	0,076
Летальный исход, n = 27	N = 14 КТ 1 – 4 (28,6%) КТ 2 – 4 (28,6%) КТ 3 – 5 (35,7%) КТ 4 – 1 (7,1%)	N = 13 КТ 1 – 3 (23,1%) КТ 2 – 4 (30,8%) КТ 3 – 1 (7,7%) КТ 4 – 5 (38,5%)	0,161
p (точный критерий Фишера)	0,804	0,025*	
<i>Примечание:</i> * – различия статистически значимы (p < 0,05)			

Таким образом, у тяжелых пациентов с бактериальной инфекцией (n = 27, летальные) наиболее часто выявлялось сочетание вирусного поражения легких с присоединившейся бактериальной инфекцией или иной сопутствующей патологией легких.

Клиническое течение заболевания пациентов ОРИТ осложнялось присоединением бактериальной инфекции. Всем пациентам проводился динамический мониторинг клинического состояния и основных лабораторных показателей, в том числе бактериологические исследования биологических субстратов (мокрота, БАЛ, мазки из носоглотки) с определением резистентности к антибактериальным препаратам, посеvy крови и других биологических субстратов на стерильность с применением идентификации выделенных культур методом MALDI-TOF.

Полученные данные бактериологического мониторинга отделяемого респираторного тракта представлены в Таблице 19.

Результаты исследования показали, что ведущим патогеном была *K. pneumoniae* – 52,4% и 30,0% у тяжелых и критических пациентов соответственно. Тогда как другие бактериальные патогены (*S. aureus*, *A. baumannii*, *P. aeruginosa*, *Candida spp*, *K. pneumoniae* + *A. baumannii*) были представлены значительно реже.

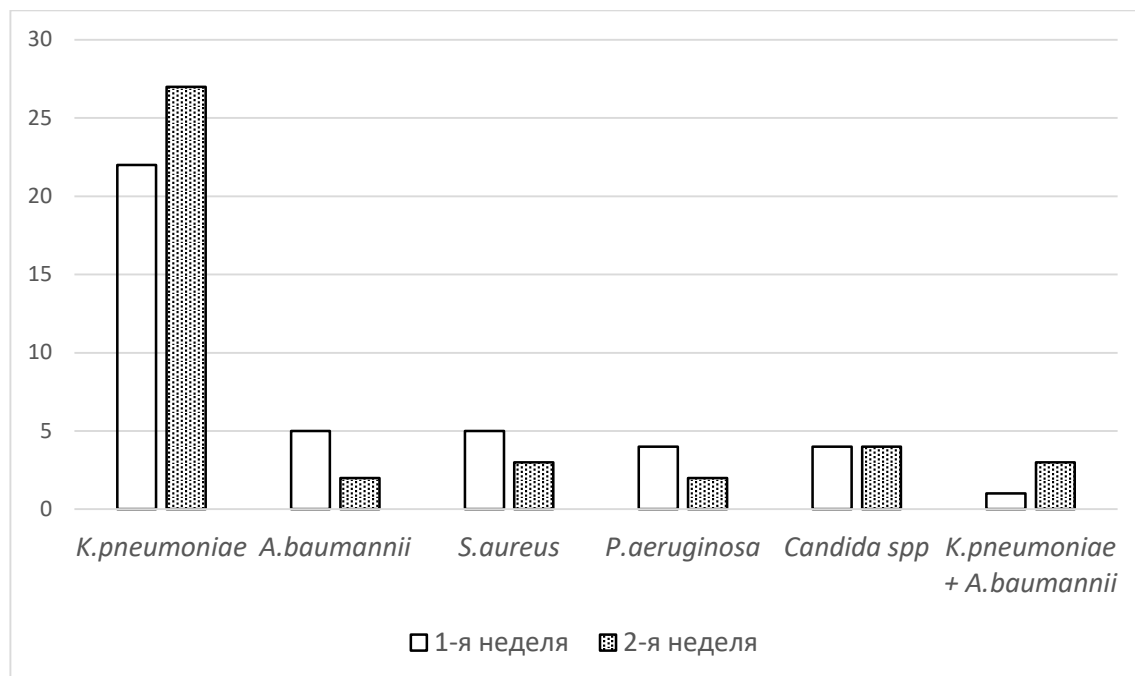
**Таблица 19** – Характеристика бактериальной микрофлоры респираторного тракта пациентов ОРИТ при поступлении

Показатели	Пациенты с тяжёлой степенью тяжести		Пациенты с критической степенью тяжести	
	абс.	(%)	абс.	(%)
Количество пациентов	42	80,8	10	19,2
Выделенные бактерии:				
<i>K. pneumoniae</i>	22	52,4	3	30,0
<i>S. aureus</i>	5	11,9	2	20,0
<i>A. baumannii</i>	5	11,9	1	10,0
<i>P. aeruginosa</i>	5	11,9	1	10,0
<i>Candida</i> spp.	4	9,5	3	30,0
<i>K. pneumoniae</i> + <i>A. baumannii</i>	1	2,4	0	0
<i>Из них резистентны к препаратам выбора*</i>				
<i>K. pneumoniae</i> *	18	81,8	1	33,3

Как видно из представленных данных, в материале, отобранном у пациентов, находящихся в ОРИТ, в динамике возрастает доля выделяемых бактерий *K. pneumoniae* как в монокультуре, так и в ассоциациях, чаще всего – с *A. baumannii* (Рисунок 13). Эти бактерии отличаются высокой резистентностью к антибиотикам, применяемым в качестве этиотропной терапии.

На практике проводят анализ маркеров бактериальных осложнений, применяемых для ранней диагностики: это белки острой фазы (ОФ) воспаления – С-реактивный белок (СРБ), интерлейкин-6 (ИЛ-6), фактор некроза опухолей-альфа (ФНО-альфа), прокальцитонин, лактат, – которые являются единственными критериями присоединения бактериальной инфекции, особенно в отсутствие результатов бактериологических исследований в силу их трудоемкости и длительности. До получения результатов бактериологического посева нами проведен анализ лабораторных маркеров осложненного течения. Однако известно, что повышение плазменных уровней белков острой фазы (ОФ) воспаления, таких как С-реактивный белок (СРБ), интерлейкин-6 (ИЛ-6), фактор некроза опухолей-альфа

(ФНО-альфа), происходят не только при бактериальных инфекциях, но и в случаях, с инфекциями не связанных. Например, при некрозах тканей (ожоги, травмы) и при некоторых злокачественных опухолях [162, 163].



**Рисунок 13** – Динамика этиологически значимой бактериальной микрофлоры респираторного тракта у пациентов ОРИТ с тяжёлой и критически тяжёлой степенью тяжести

«Классические» маркеры воспаления, такие как количество лейкоцитов, тромбоцитов, лейкоцитарная формула, лейкоцитарный индекс интоксикации, СОЭ, уровень СРБ имеют низкую специфичность и недостаточно надежны для ранней и точной диагностики сепсиса или бактериальной инфекции. Что касается эффективности современных микробиологических тестов, то хотя они и отличаются высокой специфичностью, их общая чувствительность не превышает 25–45%, а время, необходимое для получения результатов (24–48 и более часов), может оказаться неприемлемо долгим.

Традиционными тестами для лабораторной диагностики сепсиса принято считать гемокультуры и прокальцитонин (ПКТ), СРБ. При септицемии уровень ПКТ повышен, обычно выше 2 нг/мл. Высокие уровни ПКТ при бактериемии всегда предсказывают тяжелое течение и плохой прогноз. Пороговое значение для ПКТ в случае бактериемии у детей, не леченных антибиотиками, составляет 2 нг/мл. Уровни ПКТ выше 10 нг/мл наблюдается почти исключительно у пациентов с тяжелым сеп-

сисом или септическим шоком. При тяжелой генерализованной бактериальной, паразитарной или грибковой инфекции с наличием системных проявлений уровни ПКТ возрастают быстро и сильно. У пациентов с сепсисом, тяжелым сепсисом и септическим шоком концентрация ПКТ может возрастать до 1000 нг/мл (в 1000 раз!) [164–168]. Сопутствующие бактериальные инфекции: при любых заболеваниях присоединение бактериальной инфекции повышает СРБ до уровня более 100 мг/л. Полагают, что «у критически больных с клиническим сепсисом грамотрицательная бактериемия может быть связана с более высокими уровнями ПКТ, чем грамположительная бактериемия, и притом независимо от тяжести заболевания» [169, 170]. Проведенные собственные исследования и анализ лабораторных данных (Таблица 20) показал, что в группе, ассоциированной с бактериальными патогенами, в 81,8% случаев (*K. pneumoniae*) были отмечены повышения следующих лабораторных показателей: лейкоциты, креатинин, билирубин, лактат, прокальцитонин, интерлейкин, Д-димер ( $p < 0,05$ ).

**Таблица 20** – Сравнительная характеристика лабораторных показателей пациентов ОРИТ с бактериальной инфекцией ( $n = 52$ ) и контрольной группы ( $n = 27$ )

ОАК	Среднее значение [медиана] 52	Среднее значение [медиана] 27	Достоверность, $p$
Количество лейкоцитов $M \pm m$	9,74±4,81 (8,22–11,26)	4,62±1,70 (3,95–5,30)	0,001* (критерий Уэлча)
<b>Биохимия крови</b>			
Креатинин	125±35 (111–139)	98±57 (80–116)	0,016* (критерий Уэлча)
Билирубин общ	27,19±14,89 (21,30–33,07)	19,19±12,88 (15,18–23,21)	0,021* (t-критерий Стьюдента)
СРБ	70,62±81,66 (45,17–96,06)	51,19±41,48 (34,78–67,59)	0,197 (критерий Уэлча)
Лактат	3,13±2,22 (2,44–3,82)	2,04±0,46 (1,86–2,22)	0,003* (критерий Уэлча)
Ферритин	634±474 (484–783)	732±500 (534–930)	0,416 (t-критерий Стьюдента)
Прокальцитонин	1,23±1,76 (0,67–1,79)	0,12±0,11 (0,08–0,17)	0,001* (критерий Уэлча)
Интерлейкин-6	302±345 (173–431)	96±151 (34–158)	0,005* (критерий Уэлча)
<b>Гемостаз</b>			
Д-димер	1192±1609 (690–1693)	264±125 (214–313)	0,001* (критерий Уэлча)
МНО	1,66±0,57 (1,48–1,84)	1,31±0,18 (1,24–1,39)	0,001* (критерий Уэлча)

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

В 2017 г. были опубликованы критерии сепсис-индуцированной коагулопатии (СИК), разработанные в соответствии с новым определением сепсиса (2016) [171, 172]. Причиной их создания стала необходимость наиболее раннего выявления тромботического фенотипа диссеминированного внутрисосудистого свертывания (ДВС), специфичного для сепсиса, при котором раннее назначение антикоагулянтов позволяет улучшить результаты лечения. Проведенный в последующем анализ предложенной шкалы СИК продемонстрировал ее большую прогностическую ценность и показал более сильную корреляцию с летальностью по сравнению с ранее опубликованными шкалами диагностики ДВС-синдрома. Критерии СИК : 1) легкодоступность; 2) точность диагностики; 3) высокая прогностическая ценность (Таблица 21).

**Таблица 21** – Диагностические критерии сепсис-индуцированной коагулопатии (СИК)

<i>Параметры</i>	<i>Оценка, баллы</i>	<i>Диапазон</i>
Тромбоциты (10 <sup>9</sup> /л)	2	< 100
	1	≥100 <150
МНО	2	>1,4
	1	>1,2 ≤1,4
Шкала SOFA	2	≥ 2
	1	1
Общее количество баллов для СИК		≥ 4

В 5-й версии временных рекомендаций Минздрава РФ по лечению пациентов с COVID-19 указано: «Пациенты с тяжелым течением COVID-19 имеют высокий риск развития синдрома ДВС и венозной тромбоземболии. Рекомендовано включать в схемы терапии таких пациентов препараты НМГ. Критерием для назначения препаратов могут быть совокупные изменения в общем анализе крови (тромбоцитопения) и коагулограмме (повышение уровня D-димера, ПВ) или риск развития коагулопатии, который был стратифицирован по шкале сепсис-индуцированной коагулопатии (СИК)».

Присоединение бактериальной инфекции у пациентов в группе ОРВИ, показала не только индикация патогенов, но и изменения D- димера. Показатели D-

димера в группе с бактериальной инфекцией составили в среднем  $1192 \pm 1609$ , варьируя в интервале 690–1693, что само по себе является типичным практически для всех генерализованных инфекционных заболеваний, где патоген выступает триггером ДВС-синдрома.

В связи с этим нами была принята попытка адаптировать шкалу СИК для подтверждения присоединения бактериальной инфекции. С этой целью мы проанализировали результаты исследования параметров шкалы СИК в двух группах (Таблица 22).

**Таблица 22** – 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	<i>p</i> , достоверность
День болезни на момент перевода в ОРИТ			
День болезни, $M \pm m$ -й ДИ)	11,2 $\pm$ 6,9 (9,3–13,1)	7,1 $\pm$ 2,0 (6,3–7,9)	< 0,001* (критерий Уэлча)
СИК (на входе в ОРИТ) $\geq 4$ баллов	16 (30,8%)	2 (7,4%)	(точный тест Фишера)
Баллы СИК	1,12 (2,73–4,35)	2,70 $\pm$ 0,78 (2,30–3,01)	0,169 (t-критерий Стьюдента)
SOFA (на входе в ОРИТ)	–4,58)	,64–3,58)	0,593 (t-критерий Стьюдента)
СИК (на выходе из ОРИТ) $\geq 4$ баллов			(точный тест Фишера)
Баллы СИК	,69–5,58)	,89 (2,20–2,91)	,041* (критерий Уэлча)
(на входе в ОРИТ)	,32–6,45)	4–2,36)	0,001* (критерий Уэлча)
<i>Примечание</i> – * – различия статистически значимы ( $p < 0,05$ )			

Показано, что в первые 24 часа баллы СИК в сравниваемых группах не имели достоверно значимых различий, а на момент перевода/смерти в группе, ассоциированной с бактериальной инфекцией, при значении СИК (Таблица 22)  $5,13 \pm 1,58$  (3,69–5,58) получена достоверная корреляция с группой сравнения (не имеющей активной бактериальной инфекции).

Для удобства подсчета диагностических критериев присоединения бактериальной инфекции целесообразно ввести в практику адаптированную шкалу СИК.

Подсчет результатов возможен по ссылке <http://dolsip.ru/> для определения параметров по online-калькулятору.

Тактика терапии пациентов ОРИТ основывалась на Временных методических рекомендациях «Профилактика, диагностика и лечение новой коронавирусной инфекции (COVID-19)» [76, 89, 96].

Как и при многих респираторных инфекциях, для пациентов COVID-19 было типично развитие повреждения ткани легких, в начальный период с интерстициальным поражением легочной паренхимы, в последующем — с присоединением бактериальной инфекции (контаминация, реактивация собственной флоры). Тактика врачей по применению ИВЛ менялась в процессе пандемии, но несмотря на минимизацию переводов на ИВЛ необходимость в такой респираторной поддержке сохранялась, и она проводилась по общепринятым канонам респираторной терапии у пациентов с нарушением оксигенирующей функции легких, основываясь на действующих клинических рекомендациях [173, 174]. С другой стороны, тяжесть состояния и перевод пациентов на ИВЛ был обусловлен развитием бактериальных осложнений и прогрессированием органной дисфункции, включающей в себя не только поражение легких, но и развитие полиорганной недостаточности с коагулопатией (СИК\*), острого почечного повреждения, сердечно-сосудистой и церебральной дисфункции.

Тактика респираторной терапии пациентов ОРИТ с имеющимися бактериальными осложнениями представлена в Таблице 23.

В сравниваемых группах пациентов статистически достоверно выявлены различия по количеству пребывания в ОРИТ в днях. В группе летальных ( $n=27$ ) среднее пребывание составило  $9,56 \pm 1,406$  ( $6,8554-12,264$ ) дня, а в группе благоприятного исхода ( $n = 25$ ) –  $18,44 \pm 1,790$  ( $15,002-21,877$ ). Продолжительность респираторной поддержки в группе благоприятного исхода была больше и составила  $11,88 \pm 1,136$  дня, против  $8,41 \pm 1,182$  дня в группе пациентов с летальным исходом ( $p < 0,009$ , кр. Манна – Уитни). Среднее количество дней, проведенных на ВПО (высокопоточная оксигенотерапия на аппарате AIR VO<sub>2</sub>), у пациентов с летальным исходом составило  $1,59 \pm 0,327$  дня, а в группе выживших –  $4,18 \pm 0,689$

( $p < 0,001$ , кр. Манна – Уитни). Эскалация респираторной поддержки (переход с ВПО на традиционную ИВЛ) в группе с летальным исходом понадобилась всем пациентам (100%), а в группе с благоприятным исходом перевод на ИВЛ осуществлен у 4 пациентов (16%). Количество дней, проведенных на ИВЛ, у пациентов с летальным исходом составило  $5,58 \pm 1,194$  дня, а в группе выживших –  $9,5 \pm 2,730$  ( $p < 0,038$ , кр. Манна – Уитни).

**Таблица 23** – Респираторная поддержка пациентов ОРИТ,  $n = 52$

Оксигенотерапия	Летальные исходы, $n = 27$		Благоприятные исходы, $n = 25$		$p$ (критерий)
	$n$	$M \pm SE$ (95%-й ДИ)	$n$	$M \pm SE$ (95%-й ДИ)	
Д/б ОРИТ, вход	27	$11,63 \pm 1,117$ (9,4799–13,780)	25	$10,76 \pm 1,663$ (7,5652–13,954)	0,317 (кр. Манна–Уитни)
Койко-дни в ОРИТ	27	$9,56 \pm 1,406$ (6,8554–12,264)	25	$18,44 \pm 1,790$ (15,002–21,877)	$< 0,001^*$ кр. Манна–Уитни)
Продолж. суток на РП	27	$8,41 \pm 1,182$ (6,1354–10,684)	25	$11,88 \pm 1,136$ (9,6965–14,063)	$0,009^*$ (кр. Манна–Уитни)
ВПО (количество)	23 (85%)		22 (88%)		0,545 (точный кр. Фишера)
Количество дней на ВПО	22	$1,59 \pm 0,327$ (0,9631–2,2168)	22	$4,18 \pm 0,689$ (2,8595–5,5004)	$< 0,001^*$ (кр. Манна–Уитни)
Переход на ИВЛ (количество)	27 (100%)		4 (16%)		$< 0,001^*$ (точный кр. Фишера)
Количество дней на ИВЛ	26	$5,58 \pm 1,194$ (3,2852–7,8747)	4	$9,5 \pm 2,730$ (4,8645–14,135)	$0,038^*$ (кр. Манна–Уитни)
Среднее значение РИ (Pa/FiO <sub>2</sub> )	27	$147,87 \pm 12,60$ (123,63–172,10)	25	$228,1 \pm 22,72$ (184,45–271,74)	$0,010^*$ (кр. Манна–Уитни)

При анализе исходных данных по респираторной поддержке становится ясно, что в 100% случаев перевод на ИВЛ в группе летальных был обусловлен нарушением оксигенирующей функции легких (объем поражения легочной ткани), в то время как у выживших (благоприятный исход) пациентов ( $n = 25$ ) ИВЛ проводили у 4 больных. Отсюда следует и разница в количестве проведенных дней на ИВЛ и ВПО в исследуемых группах. РИ (респираторный индекс) в группе с летальным исходом в среднем составил  $147,87 \pm 12,60$ , а в группе с благоприятным исходом –  $228,1 \pm 22,72$  ( $p < 0,010$ , кр. Манна – Уитни). Разница в РИ между исследуемыми группами также говорит о тяжести поражения легочной паренхи-



мы, и это потребовало эскалации респираторной поддержки в 100% случаев в группе с летальным исходом заболевания.

Критерием для интубации трахеи и перевода на ИВЛ являлись наличие любого из критериев (Временные методические рекомендации «Профилактика, диагностика и лечение новой коронавирусной инфекции (COVID-19)». Версия 13): гипоксемия ( $SpO_2 < 92\%$ ) несмотря на высокопоточную оксигенотерапию или НИВЛ в положении лежа на животе с  $FiO_2$  100%; «усталость» пациента на фоне ВПО в прон-позиции с  $FiO_2$  1,0; нарастание видимых экскурсий грудной клетки и/или участие вспомогательных дыхательных мышц несмотря на ВПО в положении лежа на животе с  $FiO_2$  1,0; изменение уровня сознания; остановка дыхания; нестабильная гемодинамика.

Параметры ИВЛ проводили согласно ВМР: дыхательный объем 6 мл/кг идеальной массы тела, т.к. применение дыхательного объема более 6 мл/кг ИМТ ведет к росту осложнений и летальности. ИВЛ в режиме по «давлению» (РС), при этом использовали нисходящую форму инспираторного потока, обеспечивающую лучшее распределение газа в легких и меньшее давление в дыхательных путях. Использование РЕЕР определялось рекрутабельностью лёгких, и стартовая величина составляла 8–10 см вод. ст.

Для оценки рекрутабельности определяли разницу между давлением плато и РЕЕР («движущее давление») или статическую податливость респираторной системы: уменьшение величины «движущего давления» в ответ на увеличение РЕЕР свидетельствует о рекрутировании коллабированных альвеол, а увеличение его – о перераздувании уже открытых альвеол. ИВЛ у наблюдаемых пациентов проводилась в положении лежа на животе в течение не менее 16 ч в сутки для улучшения оксигенации и возможного снижения летальности (технология пронирирования применялась согласно общепринятой методике, описанной в методических рекомендациях)

Прекращение респираторной поддержки проводилось согласно принятой ступенчатой деэскалации на фоне оценки динамики оксигенирующей функции

легких, средняя длительность ИВЛ у пациентов с благоприятным исходом составила  $9,5 \pm 2,730$  суток.

Важной и неотъемлемой частью терапии у пациентов ОРИТ остается антибактериальная, этиотропная терапия пациентов ОРИТ, представленная в Таблице 24.

**Таблица 24** – Стартовая комбинация антибактериальных препаратов с учетом стратификации по наличию риска ПРВ, n = 52

Комбинация антибактериальной терапии	Выжившие, n = 25	Доля (48,1%)	Летальные, n = 27	Доля (51,9%)
Тип II, n = 38				
<b>Ингибиторозащищенный бета-лактам широкого спектра</b> (Цефоперазон/сульбактам 2–4 г 2 р/сут в/в; Цефепим/сульбактам 2–4 г 2 р/сут в/в)	14	36,8%	17	44,8%
<b>Карбапенем I группы</b> (Эртапенем 1 г 1 р/сут в/в)	4	10,5%	3	7,9%
Тип IIIa, n = 12				
<b>Ингибиторозащищенный бета-лактам широкого спектра + MRSA-антибиотик</b> (Цефепим/сульбактам 2–4 г 2р /сут в/в + Линезолид 600 мг 2 р/сут в/в)	7	58,3%	5	41,7%
Тип IIIb, n = 2				
<b>Карбапенем II группы + Ингибиторозащищенный бета-лактам широкого спектра</b> (Меропенем 2 г 3 р/сут в/в + Цефепим/сульбактам 4 г 2р /сут в/в)	0	0%	2	100%
<i>Примечание:</i> * – препараты выбора при выделении <i>K. pneumoniae</i> : карбапенемы, фторхинолоны, цефалоспорины 3-4 поколений				

Стартовый (эмпирический, до получения посевов) режим антимикробной терапии у наблюдаемой группы пациентов проводился с учетом стратификации по наличию риска полирезистентных возбудителей (ПРВ). Все больные были стратифицированы следующим образом: тип II (внебольничная с факторами риска ПРВ) – 38 (73,1%) человек, тип IIIa (нозокомиальная без факторов риска ПРВ) – 12 (23,1%) человек и тип IIIb (нозокомиальная с факторами риска ПРВ) – 2 (3,8%) человека.

Смена (коррекция) антибактериальной терапии проводилась с учетом чувствительности и характера выделенных патогенов. *K. pneumoniae* являлась основным патогеном из пула выделенных бактерий на 2–4 сутки и далее по результатам посевов каждые 3–5 дней (Таблица 19) и наличию маркеров воспаления (С-реактивного белка и прокальцитонина), оценке по шкале APACHE II, SOFA и

СИК. Коррекция антибактериальной терапии, представлена в таблице 25. К 5-м суткам госпитализации количество пациентов было представлено следующим образом: всего 45, из которых в последствии умерло 20 (44,4%) человек, выжило – 25 (55,6%).

**Таблица 25** – Схема антибактериальной терапии с учетом чувствительности (резистентности) выделенных патогенов, n = 45

<i>Параметры</i>	<i>Выжившие, n = 25</i>	<i>Доля (55,6%)</i>	<i>Летальные, n = 20</i>	<i>Доля (44,4%)</i>
<i>Комбинация антибактериальных препаратов</i>				
<b>Карбапенем II</b> группы (Меропенем 2 г 3 р/с в/в) + полимиксин В (1,5–2,5 мг/кг 2 р/сут) ± колистиметат натрия (2 мл ЕД 2 р/сут ингаляционно)	2	8%	8	40%
Цефтазидим/авибактам (2,5 г 3 р/сут) ± амикацин (1 г 1 р/сут)	7	28%	5	25%
Тигециклин (100 мг, затем 50 мг 2 р/сут в/в) + полимиксин В (1,5–2,5 мг/кг 2 р/сут) + колистиметат натрия (2 мл ЕД 2 р/сут ингаляционно)	11	44%	7	35%
Пиперациллин/тазобактам (4,5 г 4 р/сут в/в) + азтреонам (2 г 4 р/сут в/в)	0	0%	0	0%
<i>Монотерапия</i>				
<b>Карбапенем II</b> группы (Меропенем 2 г 3 р/с в/в)	5	20%	0	0%

К 11-м суткам госпитализации количество пациентов было представлено следующим образом: всего 34, из которых умерло впоследствии 13 (38,2%), выжил 21 (61,8%) человек. Схема антибактериальной терапии, с учетом чувствительности выделенной флоры, представлена в Таблице 26.

**Таблица 26** – Схема антибактериальной терапии с учетом чувствительности (резистентности) выделенных патогенов, n = 34

<i>Параметры</i>	<i>Выжившие, n = 21</i>	<i>Доля (61,8%)</i>	<i>Летальные, n = 13</i>	<i>Доля (38,2%)</i>
<i>Комбинация антибактериальных препаратов</i>				
<b>Карбапенем II</b> группы (Меропенем 2 г 3 р/с в/в) + полимиксин В (1,5–2,5 мг/кг 2 р/сут) ± колистиметат натрия (2 мл ЕД 2 р/сут ингаляционно)	1	4,8%	0	0%
Цефтазидим/авибактам (2,5 г 3 р/сут) ± амикацин (1 г 1 р/сут)	7	33,3%	8	61,5%
Тигециклин (100 мг, затем 50 мг 2 р/сут в/в) + полимиксин В (1,5–2,5 мг/кг 2 р/сут) + колистиметат натрия (2 мл ЕД 2 р/сут ингаляционно)	12	57,1%	4	30,8%
Пиперациллин/тазобактам (4,5 г 4 р/сут в/в) + азтреонам (2 г 4 р/сут в/в)	0	0%	1	7,7%

<i>Монотерапия</i>				
<b>Карбапенем II группы</b> (Меропенем 2 г 3 р/с в/в)	1	4,8%	0	0%

Критерием отмены антибактериальной терапии служило исследование в динамике концентраций прокальцитонина и С-реактивного белка: нормализация уровня СРБ < 24 мг/л и прокальцитонина < 0,5 нг/мл (или снижение прокальцитонина более 90% от исходной величины) являлись аргументом в пользу прекращения последней.

Помимо классической терапии и обследования у пациентов с подтвержденной бактериальной инфекцией (n = 52), 14 пациентам была применена дополнительно фаготерапия, эффективность которой оценивалась путем микробиологического исследования мокроты. Терапию клебсиеллезным бактериофагом проводили в стандартном дозовом режиме при пероральном приеме (20 мл 3 раза в день) до 10 дней включительно. Оценка микробиоты респираторного тракта пациентов с COVID-19 с осложненным течением, получавших бактериофаг, представлена в таблице 27. Повторное исследование проводилось на 7–12-й день от начала терапии клебсиеллезным бактериофагом.

**Таблица 27** – Количество выделенной *K. pneumoniae* у пациентов ОРИТ с COVID-19 (до лечения и после лечения, n = 14)

№ п/п	Выделенные бактерии в начале заболевания	Количество бактерий (КОЕ/мл)	Выделенные бактерии после курса фаготерапии	Количество бактерий (КОЕ/мл)
1	<i>K. pneumoniae</i>	$4 \cdot 10^5$	<i>K. pneumoniae</i> *	$6 \cdot 10^6$
2	<i>K. pneumoniae</i>	$5 \cdot 10^5$	<i>K. pneumoniae</i>	$4 \cdot 10^5$
3	<i>K. pneumoniae</i>	$8 \cdot 10^4$	<i>K. pneumoniae</i>	$2 \cdot 10^2$
4	<i>K. pneumoniae</i>	$7 \cdot 10^5$	<i>K. pneumoniae</i>	$3 \cdot 10^3$
5	<i>K. pneumoniae</i>	$2 \cdot 10^5$	Норма	–
6	<i>K. pneumoniae</i>	$7 \cdot 10^5$	<i>K. pneumoniae</i> *	$5 \cdot 10^5$
7	<i>K. pneumoniae</i>	$8 \cdot 10^4$	Норма	–
8	<i>K. pneumoniae</i>	$4 \cdot 10^4$	<i>K. pneumoniae</i>	$2 \cdot 10^4$
9	<i>K. pneumoniae</i>	$3 \cdot 10^6$	<i>K. pneumoniae</i>	$3 \cdot 10^3$
10	<i>K. pneumoniae</i>	$4 \cdot 10^5$	<i>K. pneumoniae</i>	$4 \cdot 10^4$
11	<i>K. pneumoniae</i>	$3 \cdot 10^5$	Норма	–
12	<i>K. pneumoniae</i>	$5 \cdot 10^5$	<i>K. pneumoniae</i>	$3 \cdot 10^4$

13	<i>K. pneumoniae</i>	$8 \cdot 10^5$	<i>K. pneumoniae</i> *	$8 \cdot 10^5$
14	<i>K. pneumoniae</i>	$2 \cdot 10^5$	<i>K. pneumoniae</i>	$5 \cdot 10^3$
Примечание – * – летальные				

Из 14 пациентов, получавших фаготерапию, 78,6% выжили и были переведены на реабилитацию. Однако в 21,4% случаев имел место летальный исход. Учитывая, что выборка была недостаточная, есть необходимость провести аналогичную оценку на репрезентативном объеме. Следует отметить хорошую переносимость бактериофага и отсутствие значимых нежелательных проявлений у всех пациентов.

В комплексной терапии пациентам, находящимся в отделении реанимации с клиникой прогрессирующей органной дисфункции, проводилась ЛПС-сорбция с целью предотвращения синдрома прогрессирующей органной недостаточности (СПОН), стабилизации гемодинамики и снижения прессорной поддержки.

Количество пациентов в наблюдаемой группе – 20 ( $n = 20$ ). Средний возраст составил  $58 \pm 12,9$  лет (медиана  $\pm$  стандартное отклонение). Тяжесть состояния до начала процедуры по шкале SOFA варьировала  $11 \pm 3,37$ . День болезни на момент проведения процедуры  $15 \pm 9,75$  (медиана  $\pm$  СО). Все пациенты, рекомендованные для проведения ЛПС-сорбции, с диагнозом сепсис, септический шок: при уровне лактата  $5,9 \pm 1,6$  Ммоль/л; прессорная поддержка норэпинефрином  $0,9 \pm 0,4$  мкг/кг/мин.

Методика ЛПС-сорбции проводилась по общепринятым стандартам ведения процедуры. Сорбционная колонка: Токсипак (НПФ ПОКАРД). В составе сорбционной колонки находится сорбент с иммобилизованным синтетическим лигандом. Аппарат для проведения заместительной почечной терапии – multiFiltrac (Fresenius). Клинико-лабораторные параметры у наблюдаемой когорты пациентов до и после процедуры сорбции липополисахаридов представлены в Таблице 28.

Продолжительность пребывания в ОАР после ЛПС-сорбции составила  $17 \pm 3,9$  суток (медиана  $\pm$  СО). Анализ клинических и лабораторных показателей оценивали через 24 часа проведения процедуры. После проведения ЛПС-сорбции отмечалось значительное улучшение клинико-лабораторных и гемодинамических

параметров (Таблица 28). Однако 16 из 20 пациентов умерли в ОАР от прогрессирования полиорганной дисфункции на фоне септического (дистрибутивного) шока, 4 пациента были переведены из ОАР для дальнейшей реабилитации. Важно отметить, что 28-дневная выживаемость после однократного проведения ЛПС-сорбции составила 40% (8 случаев). Эффективность ЛПС-сорбции недостаточно изучена в настоящее время у пациентов с тяжелым течением COVID-19, в связи с чем преждевременно делать выводы о клинической эффективности данного метода.

**Таблица 28** – Клинико-лабораторные параметры у наблюдаемой когорты пациентов до и после процедуры ЛПС-сорбции (n = 20)

Характеристики	До ЛПС-сорбции	После ЛПС-сорбции (24 часа)	% изменения
Прессорная поддержка (норэпинефрин мкг/кг/мин)	0,9±0,4	0,23±0,24	74%
Лактат (ммоль/л)	5,9±1,6	2,9±0,96	67%
Прокальцитонин (нг/мл)	4,8±2,6	1,1±2,59	77%
СРБ (мг/л)	94±17,73	68±19,07	28%
PaO <sub>2</sub> /FiO <sub>2</sub>	128±15,8	253±12,5	98%
SOFA	11±3,37	16±2,53	11%
Ферритин (нг/мл)	1500±965,0	1205±863,97	20%
Интерлейкин ИЛ-6 (пг/л)	531±126,2	71,5±98,12	87%
<i>Примечание</i> – Данные анализировались до и после процедуры ЛПС-сорбции. Результаты представлены как медиана ± стандартная погрешность среднего			

Анализируя летальность в исследуемых когортах, показано, что в группе с доказанной бактериальной инфекцией (n = 52) и тяжелой степенью заболевания из 42 человек (мужчин 16, женщин 26) 19 были с летальным исходом. Из 10 случаев с критическим течением в 2 случаях (8%) был положительный исход, в 8 – летальный исход (29,6%).

Летальные исходы в группе, ассоциированной с бактериальными патогенами, были обусловлены прогрессирующей полиорганной дисфункцией: дыхательной, сердечно-сосудистой, почечной недостаточностью, развитием коагулопатии (ДВС) у пациентов с отягощенным коморбидным фоном.

Структура осложнений летальных исходов по органной дисфункции представлена в Таблице 29.

**Таблица 29** – Структура осложнений в группе пациентов ОРИТ, ассоциированной с бактериальными патогенами и летальным исходом

<i>Болезни органов дыхания J00–J99</i>
Острая респираторная недостаточность (ОРДС) 100% (n = 27)
Двусторонняя полисегментарная пневмония 100% (n = 27)
Отек легких 14,8% (n = 4)
Двусторонний гидроторакс 22,2% (n = 6)
<i>Болезни системы кровообращения I00–I99</i>
Острые повреждения миокарда 85% (n = 23)
Тромбоэмболия легочной артерии 22,2% (n = 6)
Острая сердечно-сосудистая недостаточность 77,8% (n = 21)
Нарушения ритма сердца 14,8% (n = 4)
<i>Болезни органов пищеварения K00-K93</i>
Острые эрозии желудка и 12-перстной кишки. Острые язвы 12-перстной кишки 29,6% (n = 8)
<i>Болезни мочеполовой системы N00-N99</i>
Острые повреждения почек 44,4% (n = 12)
Хроническая болезнь почек 55,6% (n = 15)
<i>Болезни нервной системы G00-G99</i>
Отек головного мозга 66,7% (n = 18)
Сосудистая деменция с психотическим возбуждением 25,9% (n = 7)
<i>Болезни крови, кроветворных органов и отдельные нарушения, вовлекающие иммунный механизм D50-D89</i>
Тромбгеморрагический синдром (ДВС) 26% (n = 7)

Летальность среди пациентов ОРИТ с бактериальной инфекцией (n=52): с 1-го по 5-й день пребывания в ОРИТ – 13,4% (7 пациентов); с 6 до 11 дней – 26,9% (14 пациентов); с 12 до 16 дней – 48% (25 пациентов).

Группа контроля (n = 27) – пациенты ОРИТ без бактериальных осложнений: 24 пациента с тяжелым течением, из них летальный исход имел место у 4 (14,8%); в 100% случаев – в группе с критическим течением (n = 3). Летальные исходы в

данной группе преимущественно были обусловлены развитием сердечно-сосудистой недостаточности (инфаркт миокарда 2-го типа, ТЭЛА), ОРДС.

Проведенный анализ клинических данных, лабораторных, визуализационных методов исследования показал, что 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 – 44 (84,6%) человека и с другими сердечно-сосудистыми заболеваниями (ишемическая болезнь сердца, хроническая сердечная недостаточность, ишемическая кардиомиопатия, системный атеросклероз, нарушение ритма) – 33 (63,5%) человека. Значительно реже у наблюдаемых пациентов регистрировались другие сопутствующие хронические заболевания: сахарный диабет 2 типа – 13 (23,0%), заболевания легких (хроническая обструктивная болезнь легких, бронхиальная астма, бронхоэктатическая болезнь легких) – 18 (34,6%), заболевания ЖКТ (патология гепатобилиарного тракта, язвенное поражение желудка и двенадцатиперстной кишки, ГЭРБ) – 17 (32,7%), заболевания почек (хроническая болезнь почек, хронические инфекции мочевыводящих путей) – 15 (28,8%), новообразования (заболевания системы крови вне обострения, доброкачественные новообразования мочеполовой системы) – 7 (13,5%), ожирение разных классов – 18 (34,6%).

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 пациен-



тов с COVID-19, что можно рассчитать с помощью online-калькулятора по ссылке [<http://dolsip.ru/>].

## **4.2. Клинические примеры пациентов с COVID-19**

Полученный собственный опыт клинического наблюдения, ведения, обследования и лечения пациентов с новой коронавирусной инфекцией (COVID-19) позволил выделить ряд ярких клинических примеров, которые дополняют понимание течения болезни, факторов риска и тактики ведения этой группы больных.

### **Клинический пример 1**

Под нашим наблюдением находился пациент L., 29 лет, который поступил в ГБУЗ «ИКБ №1 ДЗМ» на 4-й день болезни (06.11.2021 г.) по экстренным показаниям (доставлен бригадой СМП) с жалобами: на общую слабость, повышение температуры, насморк с прозрачными выделениями, кашель малопродуктивный с необильной желтоватой мокротой, дискомфорт за грудиной. При поступлении дыхательного дискомфорта не отмечал, лихорадка до 38,3 °С. Стул за прошедшие сутки кашицеобразный до 3 раз, коричневого цвета, без патологических примесей.

Эпидемиологический анамнез: за пределы Москвы (в том числе за пределы РФ) не выезжал. Проживает в семье из 4 человек. Мать больна COVID-19 с 03.11.2021, экспресс-тест положительный. Лечение и обследование по месту жительства не проходил. За последние 6 месяцев принимал антибиотики: азитромицин около 4 месяцев назад в связи с простудным заболеванием.

Анамнез жизни: без особенностей. Рос и развивался согласно возрасту и полу. Аллергологический анамнез: в анамнезе реакции на лекарственные вещества нет. Хронические заболевания: артериальная гипертензия (амбулаторно АД до 150/100), не обследовался, базисную терапию не получает. Прививки: от гриппа не вакцинирован. Перенесенные заболевания: ОРВИ, ветряная оспа. Простудное заболевание около 4 месяцев назад. Перенесенные травмы: ЗЧМТ 2015 год. Постоянный прием л/с отрицает. Вредные привычки: курение (электронные сигареты), со слов – алкоголь не употребляет.

Объективный статус (состояние при поступлении): общее состояние тяжелое; сознание ясное; конституция – нормостенический тип; питание повышенное. Оценка по шкале NEWS2: 7 баллов. Состояние кожных покровов, видимых слизистых, лимфатических узлов: цвет кожных покровов обычной окраски, акроцианоз. Развитие ПЖК избыточно; распределение ПЖК неравномерное; влажность кожи пониженная; тургор сохранен; цианоз носогубного треугольника, периорбитальные тени. Наличие отеков: нет. Периферические лимфатические узлы не увеличены. Консистенция лимфатических узлов мягкоэластичная; болезненность лимфатических узлов при пальпации – нет; спаянность лимфатических узлов с подкожно-жировой клетчаткой – нет. Цвет слизистой полости рта: розовая; слизистая задней стенки глотки умеренно зернистая; слизистая полости рта чистая; слизистые ротоглотки умеренно гиперемированы; степень увеличения миндалин: 1-я степень. Состояние костно-мышечной системы: сила мышц – норма; мышечный тонус в норме; состояние суставов без изменений; движения суставов в полном объеме.

Состояние органов дыхания: ЧДД – 24 /мин; ритм дыхания регулярный; дыхание самостоятельное – естественным путем. Участие грудной клетки в дыхании: умеренное втяжение межреберных промежутков, при усилении физической активности тахипноэ до 28 /мин. При дыхании атмосферным воздухом ( $FI_{O_2}$ : 21%) –  $SPO_2$ : 91%, при дотации кислорода через назальные канюли с потоком 7 л/мин  $SPO_2$ : 94%. Описание характера дыхания: ослаблено с обеих сторон равномерно; характер дыхания: жесткое; единичные сухие хрипы; шум трения плевры отсутствует. Дополнительные сведения: сатурация измерена в покое, вне кислородной поддержки, в положении сидя и с кислородной поддержкой.

Состояние сердечно-сосудистой системы: истолическое давление 138 мм рт. ст.; диастолическое давление 82 мм рт. ст.; ЧСС: 94 /мин; пульс 110 /мин; дефицит пульса – 0 1/мин; наполнение пульса: умеренного наполнения; напряжение пульса: умеренного напряжения; ритм сердца не нарушен; тоны сердца приглушенные; наличие сердечного шума: нет; артериальный пульс

ритмичный; характеристика ритма: синусовый; область сердца не изменена; верхушечный толчок не пальпируется.

Состояние органов желудочно-кишечного тракта: цвет языка: розового цвета; налет на языке белый; локализация – у корня. Размер живота: увеличен; увеличение за счет вздутия, ПЖК. Симметричность живота: симметричный; форма живота округлая; вздутие есть; участие живота в акте дыхания: участвует; живот при пальпации мягкий; болезненности живота при пальпации нет; симптомы раздражения брюшины отрицательные. Наличие стула: есть; оформленность стула: кашицеобразный (тип б); характер стула: кашицей; патологические примеси отсутствуют; метеоризм есть; цвет стула коричневый. Печень не пальпируется; селезёнка не пальпируется.

Состояние мочеполовой системы: мочеиспускание не нарушено; по катетеру: нет; характер мочеиспускания: безболезненное; цвет мочи насыщенно-желтый; область почек не изменена; симптомы поколачивания: отрицательный с двух сторон; диурез контролируется; пальпация мочевого пузыря: не пальпируется; болезненность мочевого пузыря при пальпации отсутствует.

Состояние органов зрения: зрачки нормальные; анизокория: нет; симметрия зрачков: симметричны; изменения зрачков: D = S; менингеальный синдром: нет; склеры обычной окраски.

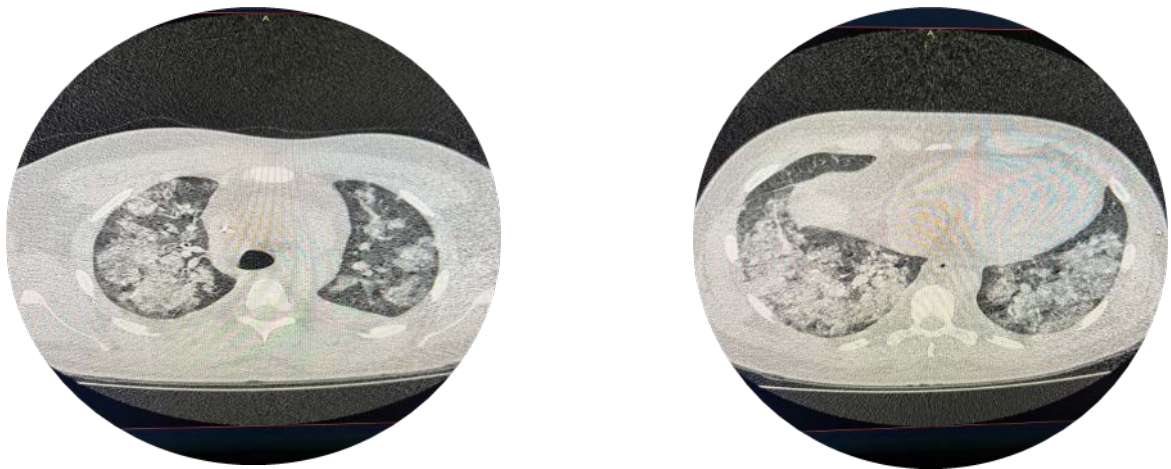
#### *Заключение.*

Тяжесть состояния обусловлена выраженными симптомами интоксикации, симптомами дыхательной недостаточности, лихорадкой. Данные эпидемиологического анамнеза, объективные данные: состояние тяжелое за счет явлений ДН (нуждается в респираторной поддержке), аускультативная картина в легких и результаты визуализационных методов исследования дают основание оценить состояние пациента по шкале NEWS2: 7 б; SOFA-4 б; Респираторный индекс (P/F) 205.

По cito выполнены лабораторные исследования, где обращает на себя внимание: положительный результат экспресс-теста на COVID-19, в ОАК умеренная лейкопения –  $3.4 \times 10^9/\text{л}$ , лимфопения 5% (абсолютные показатели 0.17), уровень

СРБ 242 мг/л. В КОС артериальной крови смешанные нарушения в виде метаболического ацидоза с компенсацией в виде респираторного алкалоза.

В день поступления выполнена МСКТ ОГК: на серии контрольных томограмм, выполненных в аксиальной проекции с толщиной срезов 1,0 мм, с реконструкцией в ортогональных проекциях. По всем лёгочным полям обоих лёгких определяются инфильтративные изменения средней плотности. Лёгочный рисунок усилен, с преобладанием сосудистого компонента. Трахея, бронхи с обеих сторон обычного калибра, прослеживаются до субсегментарных отделов. Корни легких не расширены. Контуры диафрагмы ровные. По м/долевой плевре левого лёгкого, а также в плевральной полости лёгких скопление жидкости до 12 мм. Средостение не расширено, не смещено. Аорта не расширена, стенки кальцинированы. Медиастинальные лимфатические узлы не увеличены. В полости перикарда скопление жидкости до 5,5 мм. Воздуха в плевральной полости не выявлено. Печень в области сканирования гомогенная. Надпочечники Y-образной формы, не увеличены. Костно-травматических и деструктивных изменений не выявлено. По выраженности рентгенологических признаков – КТ картина двухсторонней полисегментарной вирусной пневмонии (в т.ч. Covid). Двухсторонний малый гидроторакс. Поражение лёгочной ткани: правое лёгкое до 85%, левое лёгкое до 85%. (КТ 4) (Рисунок 14).



**Рисунок 14** – МСКТ при поступлении от 06.11.2021 (4-й день болезни). КТ-картина двусторонней интерстициальной пневмонии, КТ 4

На ЭКГ: Синусовая тахикардия с ЧСС 90 уд. в мин. Вертикальное положение ЭОС.

*Предварительный диагноз:*

Основной: новая коронавирусная инфекция, вызванная вирусом SARS-CoV-2, (вирус идентифицирован, U07.1),

Осложнение: внебольничная двусторонняя интерстициальная пневмония (КТ 4), острая дыхательная недостаточность 2–3-й ст.

Сопутствующая патология: транзиторная артериальная гипертензия (по данным анамнеза).

Учитывая тяжесть состояния, госпитализация в отделение анестезиологии-реанимации в сопровождении врача реаниматолога.

***В отделении реанимации:*** Состояние при поступлении расценено как тяжелое за счет явлений ДН на фоне течения новой коронавирусной инфекции, осложненной 2-сторонней интерстициальной пневмонией (КТ 4). Индекс P/F 150, начата респираторная поддержка с помощью ВПО аппаратом AIR VO2 с потоком 60 л/мин, фракцией кислорода 70%. Пациент переведен в прон-позицию. На фоне проводимой респираторной поддержки состояние стабилизировалось респираторный индекс (P/F) увеличился до 220.

Лечебная концепция: назначено согласно действующим ВМР по лечению новой коронавирусной инфекции: ремдесевир по схеме, глюкокортикостероидная терапия (дексаметазон в/в), ингибиторы протонной помпы, низкомолекулярные гепарины (клексан) в лечебной дозировке, препараты ацетилцистеина, симптоматическая терапия. Учитывая гипертермию, повышение СРБ, наличие дыхательной недостаточности и лимфопении в ОАК (0,88 от 07.11.2021), пациенту показано назначение ингибиторов ИЛ-6 (левилимаб 324 мг п/к однократно).

Дальнейший характер температурной реакции (сохранение лихорадки с вечера 07.11.2021 и последующий фебрилитет до 11.11.2021 (38,5-38,8 °C)) и уровень маркеров воспаления от 07.11.2021 (ферритин 700 мкг/л, ИЛ-6 >1000 пг/мл, Д-димер 4800 нг/мл) расценены как проявления «цитокинового шторма» (тяжелое течение заболевания, прогрессирующая дыхательная недостаточность), в связи с

чем принято решение о проведении сеанса селективной гемосорбции цитокинов на аппарате MULTIFILTRAT в режиме НР с колонкой «ЭФФЕРОН ЦТ» с длительностью сеанса 6.5 часа (от 07.11.2021).

Исследование мазка из ротоглотки на вирус SARS-CoV-2 методом ОТ-ПЦР показало положительный результат от 07.11.2021 (5-й день болезни).

В период с 1-х до 9-х суток госпитализации состояние расценивалось как тяжелое за счет явлений дыхательной недостаточности с явлениями общей интоксикации. Лабораторный контроль маркеров воспаления и общеклинических анализов проводился ежедневно. Динамика маркеров воспаления на 5-й, 7-й, 9-й день болезни: СРБ – 184 мг/л, 162 мг/л, 73 мг/л; ИЛ-6 >1000 пг/мл, 635 пг/мл, 204 пг/мл; ферритин – 700 мкг/л, 437 мкг/л, 203 мкг/л; Д-димер 4800 нг/мл, 3521 нг/мл, 1832 нг/мл; лейкоциты  $5.2 \times 10^9$ /л,  $14,8 \times 10^9$ /л,  $7.3 \times 10^9$ /л, лимфоциты 8%, 12%, 14%.

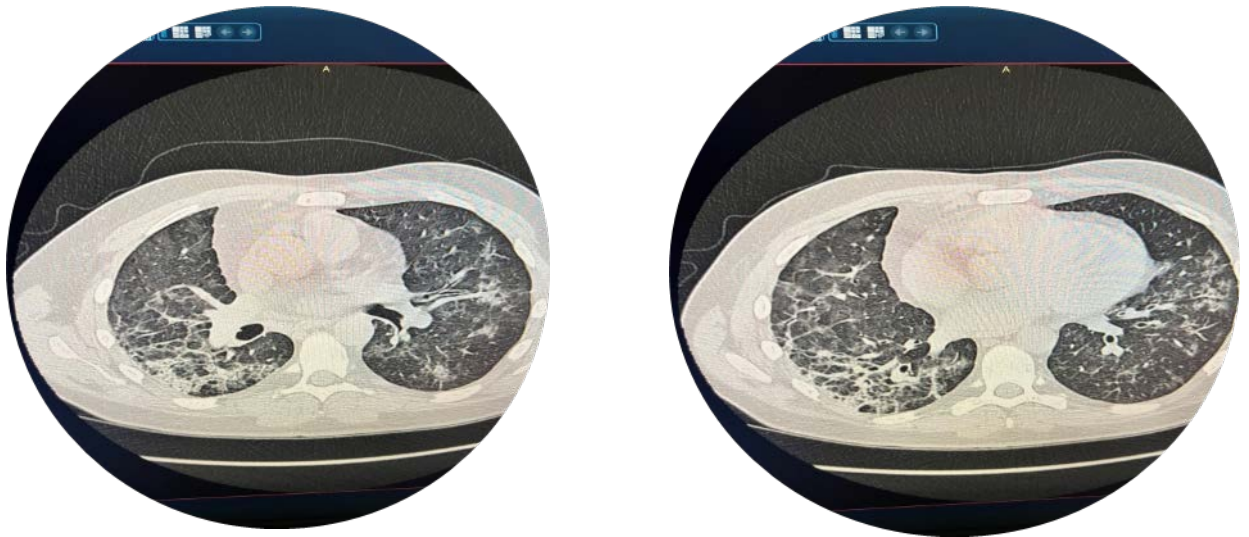
Увеличение уровня лейкоцитов на 5-й день болезни, а также маркеров воспаления и инвазивные манипуляции потребовали проведения системной антибактериальной терапии в виде назначения защищенных цефалоспоринов III поколения, которая проводилась в течение 7 дней.

Микробиологический мониторинг проводился в виде посевов крови, мочи, мокроты на 1-е, 7-е, 14-е и 20-е сутки пребывания в отделении реанимации и интенсивной терапии. Была выделена из респираторного тракта *K. pneumoniae* в количестве  $3 \times 10^5$  КОЕ /мл от 9.11.2021 г., с абсолютной резистентностью ко всем группам антибиотиков, но чувствительной к клебсиеллезному бактериофагу, что послужило поводом к назначению последнего в дозе 20 мл 3 раза в день в течение 8 дней. Дальнейшее исследование микробиоты из всех локусов на 14-е сутки показало выделение *K. pneumoniae* в количестве  $2 \times 10^2$  КОЕ/мл и отсутствие роста на 20 сутки лечения в отделении реанимации.

Снижение уровня маркеров воспаления на 12-й день лечения болезни и консультация с клиническим фармакологом привело к решению об отмене антибактериальной терапии.

На 7-е сутки лечения постепенная деэскалация респираторной поддержки в виде снижения фракции кислорода с 70% до 60%, а затем до 40% с одновременным постепенным снижением потока с 60 л/мин до 40 л/мин привели к изменению метода респираторной поддержки и переводу пациента с ВПО на НПО с потоком до 5 л/мин. Одновременно в динамике прирастал респираторный индекс с 220 до 300. Что послужило основанием для активизации пациента и перевода его вначале в латеропозицию и затем в положение на спине.

МСКТ от 18.11.2021 г. (Рисунок 15). По сравнению с предыдущим исследованием от 06.11.2021 наблюдается незначительная положительная динамика – ранее выявленные участки снижения прозрачности по типу матового стекла частично уменьшились в размерах с сохраняющимися ретикулярными изменениями, а в правом легком трансформировались в участки консолидации. Жидкости в плевральных полостях и полости перикарда не определяется. Остальные данные прежние. Заключение: КТ-картина двусторонней интерстициальной пневмонии в стадии начального разрешения (высокая вероятность COVID-19, КТ 3).



**Рисунок 15** – МСКТ от 18.11.2021 г. КТ-картина двусторонней интерстициальной пневмонии в стадии начального разрешения (высокая вероятность CoVid-19, КТ 3)

В результате многокомпонентной интенсивной терапии, включающей в себя респираторную поддержку с постепенной деэскалацией на фоне постоянного мониторинга газового состава крови и РИ; проведения сеанса сорбции цитокинов; стандартной противовирусной, антикоагулянтной, глюкокортикостероидной и

симптоматической терапии, а также профилактического назначения бактериофага удалось благополучно завершить терапию данного пациента в отделении анестезиологии-реанимации и перевести пациента в профильное отделение 21.11. 2021 г., на 19-й день болезни, с диагнозом:

Основной: U07.1 Коронавирусная инфекция, COVID-19, вирус идентифицирован, тяжелое течение.

Осложнение: J12.8 Внебольничная двухсторонняя интерстициальная пневмония (КТ 4). J96.0 Острая респираторная недостаточность. ДН 2-3 степени. НР (селективная сорбция цитокинов) от 07.11.2021 г.

В дальнейшем состояние пациента расценивалось как средней тяжести, и после полного регресса явлений ДН и улучшения рентгенологической картины пациент выписан на амбулаторный этап реабилитации.

*На 35 день болезни*

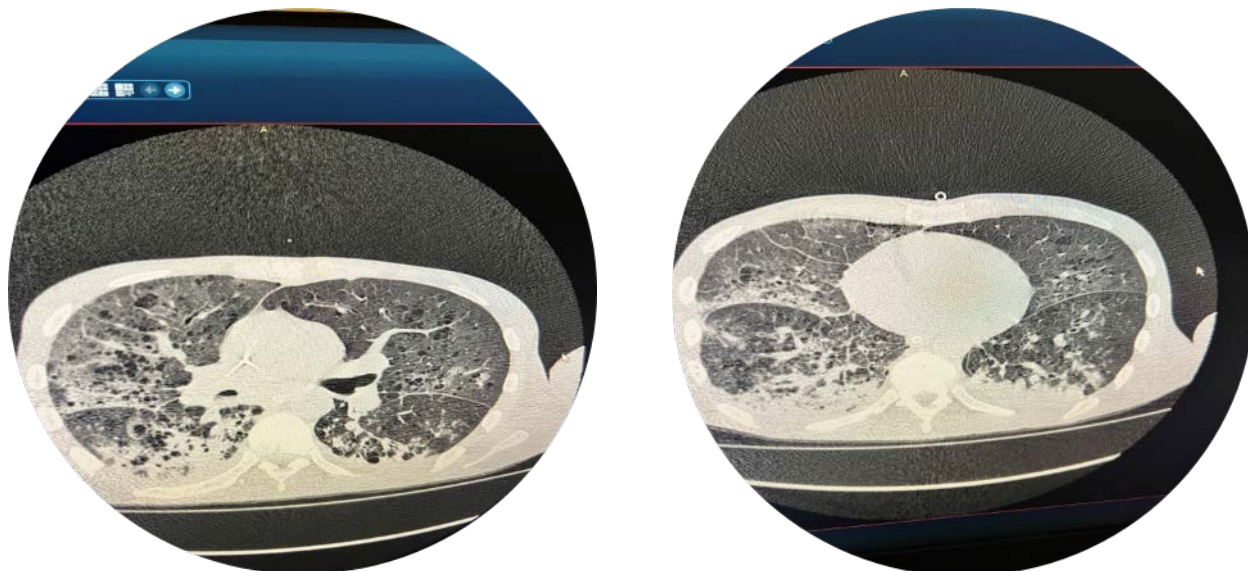
МСКТ от 5.12.2021. Легкие: в обоих легких сохраняются многодолевые сливные воспалительные участки тяжисто-матового уплотнения прежней локализации и количества с положительной динамикой в виде частичного разрешения явлений консолидации и уменьшением площади поражения. Трахея и крупные бронхи свободно проходимы. Плевральные полости свободны. Выпота в полости перикарда не выявлено. Деструктивных и очаговых изменений грудины, ребер и позвонков не выявлено.

Заключение: КТ-признаки умеренно выраженных типичных проявлений двусторонней полисегментарной вирусной пневмонии с положительной динамикой, поражение паренхимы 43,6%. В остальном КТ-картина прежняя.

Заключение: КТ-картина с положительной динамикой течения двусторонней полисегментарной вирусной пневмонии (в т.ч COVID-19) – КТ 2-3, с тенденцией к разрешению (Рисунок 16).

Приведенный клинический пример демонстрирует важность ранней диагностики и адекватной стандартной терапии с микробиологическим, маркерным мониторингом течения новой коронавирусной инфекции.





**Рисунок 16.** – СКТ от 5.12.2021 г. КТ-картина положительной динамики течения двусторонней полисегментарной вирусной пневмонии (в т.ч COVID-19) – КТ 2-3, с тенденцией к разрешению

### **Клинический пример 2**

Пациент Н., 62 лет, поступил в ГБУЗ «ИКБ №1 ДЗМ» на 2-й день болезни (08.04.2021 г.) болезни по экстренным показаниям с жалобами на резко нарастающую одышку, сухой кашель, чувство нехватки воздуха, длительное повышение температуры до 38,8 °С от момента заболевания.

Эпидемиологический анамнез: в течение последних 14 дней контактировал с больными COVID-19 на работе.

Перенесенные заболевания: в анамнезе артериальная гипертензия, ожирение I степени (ВОЗ).

Анамнез заболевания: заболел остро, 07.04.2021 г., с появления катарального синдрома, фебрильной лихорадки. Лечился самостоятельно, симптоматически – без эффекта. 08.04.2021 г. состояние пациента ухудшилось, отмечался выраженный цианоз, одышка усилилась, сатурация до 91%, 09.04.2021 г. в связи с нарастающей дыхательной недостаточностью был госпитализирован в 1 ИКБ ДЗМ по СМП экстренно.

При поступлении состояние было расценено как тяжёлое за счёт наличия синдрома дыхательной недостаточности. Объективные данные: сознание ясное, ориентирован во времени и пространстве; при этом отмечают ажитация и бес-

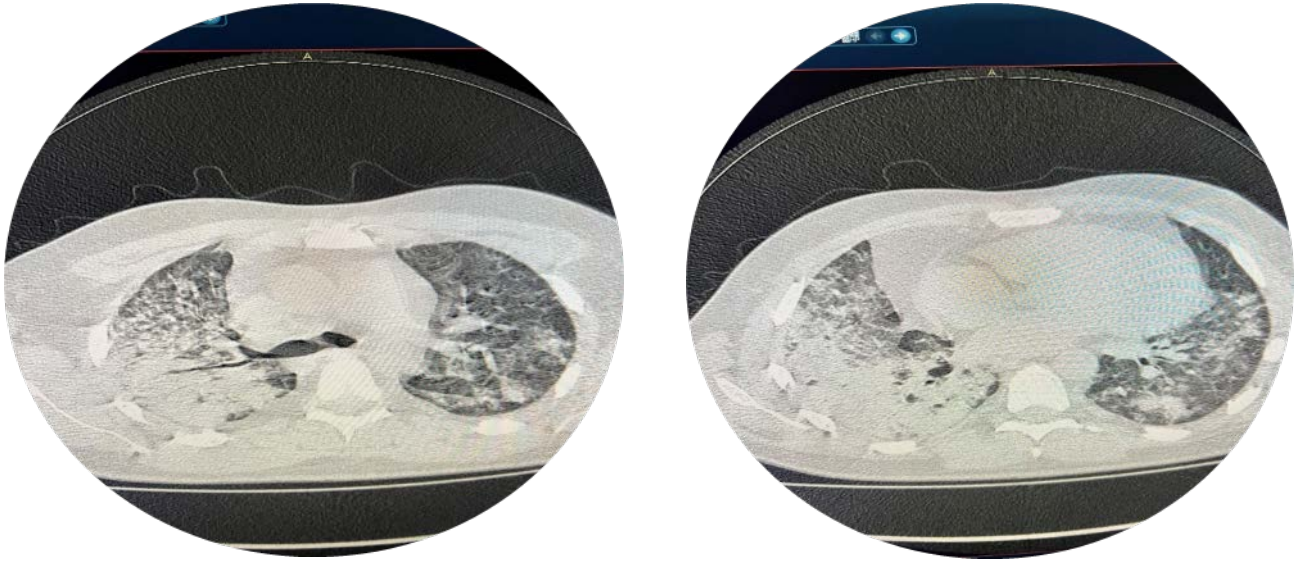
покойство. Дыхание самостоятельное. Сатурация на атмосферном воздухе 85%, ЧДД – 28 в мин. Аускультативно: ослабленное дыхание по всей легочной поверхности с обеих сторон. ССС: АД 146/95 мм рт. ст., пульс 104 ударов в минуту, дефицита пульса не выявлено. Физиологические отправления в норме. Менингеальные знаки отсутствуют. Другие данные объективного обследования без патологических особенностей.

Учитывая тяжесть состояния за счет синдрома общей интоксикации, выраженную дыхательную недостаточность ДН 2 степени, оценку по шкале NEWS2: > 7б., пациент из приемного отделения, после консультации дежурного реаниматолога, был направлен в ОРИТ. Начато ВПО кислородом системой AIR VO2 (60 л/мин) с FiO<sub>2</sub> 88% в положении на животе (в прон-позиции), показатель сатурации – 95%. ЧДД – 24 в мин. Респираторный индекс 128.

*По результатам обследования.*

На момент поступления результат КТ ОГК: на фоне артефактов от дыхания, определяется картина изменений в легких, обусловленная наличием очагов уплотнения легочной паренхимы по типу «матового стекла», расположенных мультилобарно, полисегментарно, преимущественно субплеврально в обоих лёгких, с утолщением междольковых и внутридольковых перегородок, выраженных в разной степени. Объем поражения 60–75%. Сосудистая архитектура легких сохранена. Корни легких структурны, не расширены. Бронхиальное дерево проходимо. Стенки бронхов фрагментарно уплотнены. Листки плевры не утолщены. Жидкость в плевральных полостях не определяется. Диафрагма расположена обычно. Органы средостения не смещены, структурно дифференцируются, клетчатка не уплотнена. Сердце расширено за счёт левых отделов. Листки перикарда не утолщены. Жидкость в полости перикарда не определяется. Лёгочный ствол – 3,3 см, (N: 2,5–3,1 см); ПЛА – 2,6 см, (N: 1,6–2,4 см); ЛЛА – 2,5 см, (N: 1,8–2,2 см). Восходящая аорта не расширена. В интима стенки аорты и коронарных артерий определяются фрагментарные участки обызвествлений. Внутригрудные лимфатические узлы увеличены количественно, в размерах не увеличены (менее 10

мм по короткой оси). Дегенеративные изменения грудного отдела позвоночника. Костно-деструктивные изменения не определяются (Рисунок 17).



**Рисунок 17** – КТ-картина двусторонней полисегментарной интерстициальной пневмонии (высокая вероятность COVID-19, КТ 3). Признаки артериальной легочной гипертензии

В динамике на 4-й день лечения в ОРИТ (11.04.2021) наблюдалось резкое ухудшение состояния в виде нарастания дыхательной недостаточности – ДН 3 степени, снижения РИ менее 100. Произведена интубация трахеи, пациент переведен на ИВЛ. Повторное КТ-исследование не проводилось ввиду тяжести состояния пациента и нестабильной гемодинамики. На рентгенологической картине ОГК (переносным/палатным аппаратом лежа) отмечалось усиление инфильтрации легочной ткани с обеих сторон с вовлечением до 90% легочной паренхимы (Rg-4).

Исследование мазка из ротоглотки на вирус SARS-CoV-2 методом ОТ-ПЦР от 10.04.2021 г. показало положительный результат.

Лабораторный контроль маркеров воспаления и общеклинических анализов проводился ежедневно. В динамике общий анализ крови характеризовался нарастанием лейкоцитоза (с 8,7 до  $19,5 \times 10^9/\text{л}$ , развитием стойкого нейтрофиллеза до 82%. Динамика маркеров воспаления на 5-й, 7-й, 9-й день болезни: СРБ – 173 мг/л, 265 мг/л, 280 мг/л; ИЛ-6 420 пг/л, 369 пг/л, >1000 пг/л; ферритин 310 мкг/л, 545 мкг/л, 706 мкг/л; Д-димер 1749 нг/мл, 2473 нг/мл, 4100 нг/мл.

На ЭКГ (7-й день болезни): синусовая тахикардия ЧСС 92 ударов в мин. Отклонение ЭОС влево. Неполная блокада правой ветви левой ножки пучка Гисса. Изменения ниже-боковой стенки ЛЖ. Признаки электрической активности ЛЖ.

### *Лечение*

Противовирусная терапия: на 2-й день болезни (1-й день пребывания в стационаре) – фавипиравир 1600 мг 2 раза в сутки с 4-го по 10-й день болезни (2–8-й дни пребывания в стационаре); ремдесивир 200 мг в/в капельно). Антибактериальная терапия: с 3-го по 7-й день болезни цефоперазон/сульбактам 1000мг+1000мг в/в капельно 2 раза в сутки. С 8-го по 11-й дни болезни левофлоксацин 500мг в/в 2 раза в сутки, меропенем 6 г в сутки. С 11-го по 15-й дни болезни Полимиксин В 2,5 мг/кг в сутки и ингаляционное введение Колистина по 2 млн/2 раза в сутки через небулайзер, интегрированный в дыхательный контур аппарата ИВЛ. На 4-й день болезни (2-й день госпитализации) был применен ингибитор ИЛ-6 Тоцилизумаб однократно в/в капельно в дозе 600 мг. Пациенту проводилась антикоагулянтная, кортикостероидная терапия весь период пребывания в стационаре. С 4-го по 15-й день лечения производилась медикаментозная седация ввиду нахождения пациента на ИВЛ. Респираторная поддержка проводилась в протективных режимах и включала в себя: PSV с дыхательным объемом 6 мл/кг. Верхнее давление (давление вдоха): 21 mbar. Время принудительного вдоха: 1,2 с. Частота принудительных вдохов: 18/мин. Нижнее давление (PEEP): 6 mbar. Уровень давления поддержки (PS): 14 mbar. МОД: 7,9 л/мин.

Ввиду прогрессирования органной дисфункции, клинических проявлений грам (-) сепсиса, с 11-го дня от начала заболевания (17.04.2021 г.) наряду с коррекцией антибактериальной терапии проводилась интенсивная терапия с прессорной поддержкой норадреналином в стартовой дозе 0.08 мкг/кг/мин с последующей коррекцией дозы. Установлен дополнительно ЦВК (бедренная вена под контролем УЗИ-навигатора) и инициирован сеанс ЗПТ по внепочечным показаниям в режиме гемодиализации (CVVHDF) с интеграцией колонки для сорбции липополисахаридов (ЛПС-сорбция колонкой «ЭФФЕРОН ЛПС»).

Микробиологический мониторинг проводился в виде посевов крови, мочи, мокроты на 1-е, 7-е, 14-е сутки пребывания в отделении реанимации и интенсивной терапии. Была выделена из респираторного тракта и крови на 7-е сутки *K. pneumoniae* в количестве  $3 \times 10^7$  КОЕ /мл от 14.04.2021 г., панрезистентная ко всем имеющимся группам антибактериальных препаратов и чувствительная к клебсиеллезному бактериофагу, что послужило основанием к назначению его в дозе 20 мл 3 раза в день. В дальнейших исследованиях микробиоты из крови и БАЛ от 21.04.2021 г. флора представлена *K. pneumoniae* в количестве  $2 \times 10^4$  КОЕ/мл и *Acinetobacter baumannii* в количестве  $3 \times 10^6$  КОЕ/мл. *K. pneumoniae* также была панрезистентная, а *A. baumannii* — чувствительна к Колистину (MIC  $\leq 1.000$ ) и Полимиксину В (MIC  $\leq 1.000$ ). Исходя из чувствительности была совместно с клиническим фармакологом скорректирована тактика антибактериальной терапии.

Несмотря на проводимую терапию состояние больного прогрессивно ухудшалось. Нарастали явления дыхательной недостаточности (по аускультативным и рентгенологическим признакам, прогрессировала двусторонняя полисегментарная пневмония) и признаки органной дисфункции (сепсис, септический шок). Продолжающаяся многокомпонентная интенсивная терапия в сочетании с ИВЛ не принесла выраженного терапевтического эффекта, и на фоне прогрессирующей органной дисфункции, клинических проявлений токсико-септического шока произошла остановка сердечной деятельности. Реанимационные мероприятия в течение 30 минут не дали положительного эффекта, и на 17-й день болезни констатирована смерть.

*Заключительный диагноз.*

Основной диагноз: U07.1 Коронавирусная инфекция, COVID-19, вирус идентифицирован, тяжелое течение.

Фон: E66.0. *Ожирение*, обусловленное избыточным поступлением энергетических ресурсов.

Осложнения: J12.8 Внебольничная двусторонняя интерстициальная пневмония (КТ 3-4) J96.0 ДН 3 степени. Острая респираторная недостаточность. Сепсис (*K. pneumoniae*  $3 \times 10^7$  КОЕ /мл от 14.04.2021). Септический шок. ОПН. Сеанс

ЗПТ в режиме CVVHDF с НР (17.04.2021 г.). Интенсивная терапия и реанимационные мероприятия: ИВЛ с 11.04.21. Трахеостомия от 15.04.21

Сопутствующие заболевания: I11.9. Гипертензивная [гипертоническая] болезнь с преимущественным поражением сердца без (застойной) сердечной недостаточности. Хронический бронхит.

*Патологоанатомический диагноз.*

Основное заболевание: Коронавирусная инфекция, вызванная вирусом SARS-CoV-2, (ПЦР+ от 10.04.2021 №00425XXXXX).

Фоновое заболевание: Гипертоническая болезнь с преимущественным поражением сердца: гипертрофия миокарда левого желудочка (масса сердца 464 г, толщина стенки левого желудочка – 1,8 см, межжелудочковой перегородки – 1,8 см), артериолонефросклероз. Ожирение, обусловленное избыточным поступлением энергетических ресурсов.

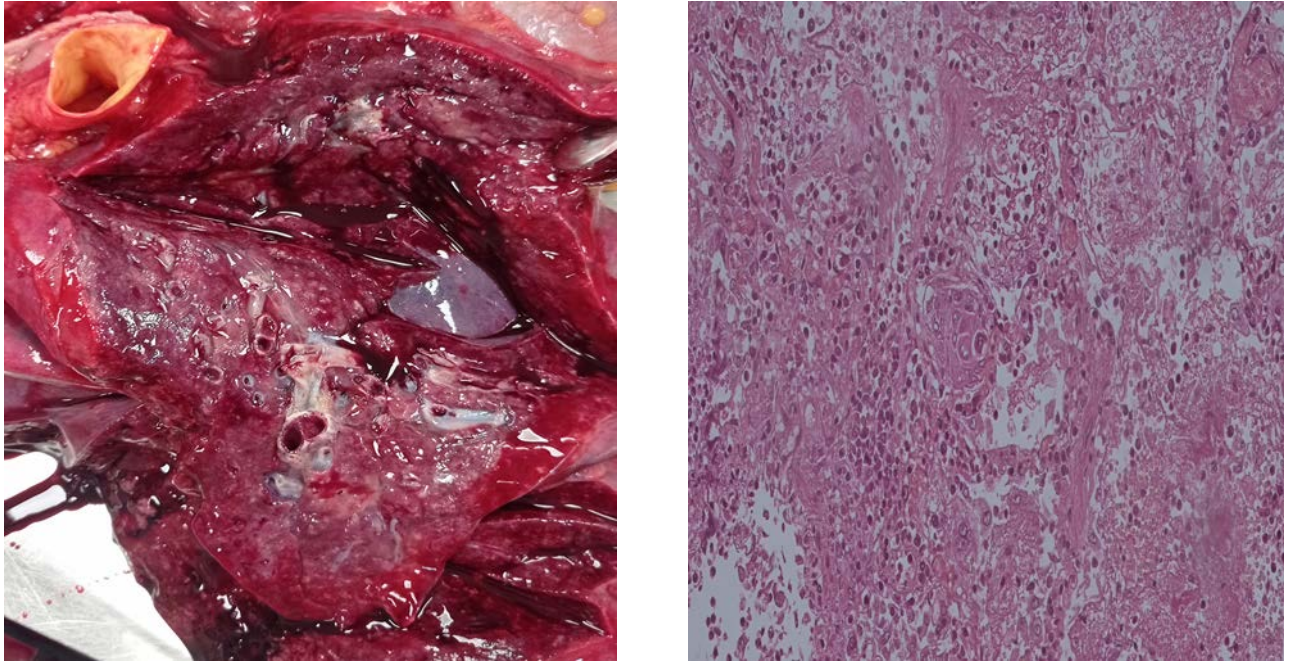
Осложнение: Двусторонняя тотальная вирусно-бактериальная пневмония, преимущественно пролиферативная фаза, с развитием ОРДС взрослых (диффузное альвеолярное повреждение). Сепсис (*K. pneumoniae*), септицемия: «септическая» селезенка, септический шок (по клиническим данным, «шоковые» почки), ДВС-синдром: множественные мелкоочаговые кровоизлияния на плевре, мягких мозговых оболочках, слизистых оболочках трахеи, бронхов, желудка, очаговое кровоизлияние в паратрахеальной клетчатке, тромбоэмболия субсегментарных, сегментарных ветвей легочных артерий. Интенсивная терапия и реанимационные мероприятия: ИВЛ с 11.04.21. Трахеостомия от 15.04.21

Сопутствующие заболевания: Хронический бронхит.

**Заключение о причине смерти:** смерть пациента Н., 62 лет, наступила от коронавирусной инфекции, вызванной вирусом SARS-CoV-2, с развитием двусторонней тотальной вирусно-бактериальной пневмонии, на фоне гипертонической болезни, ожирения, осложнившейся развитием ОРДС у взрослых (диффузное альвеолярное повреждение), сепсиса, септицемии при явлениях полиорганной недостаточности – непосредственная причина смерти.

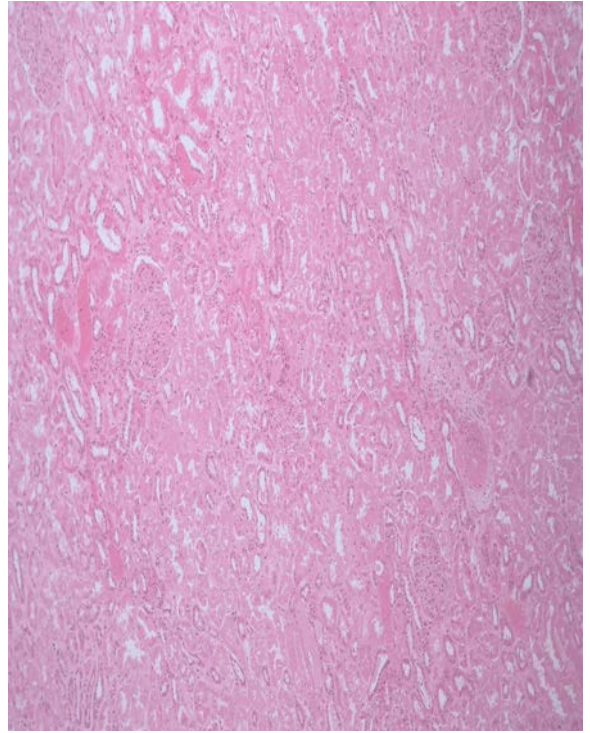
Приведенный клинический случай является примером тяжелого течения COVID-19 с осложнениями, вызванными как течением самого заболевания, так и присоединением внутрибольничной инфекции.

*Результаты вскрытия:*



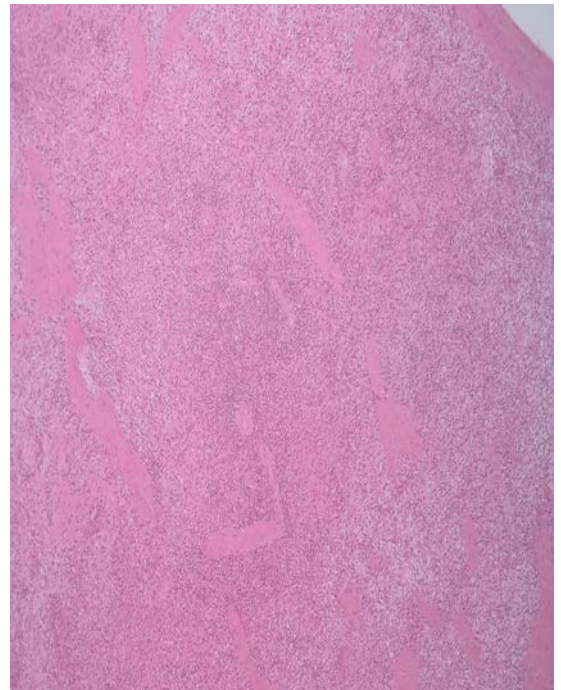
**Рисунок 18** – Легкие

*Примечание:* Отек, признаки пневмонической инфильтрации, в части полей зрения в просвете альвеол фибрин различной степени организации, участки фиброателектаза, очаги плоскоклеточной метаплазии; в просвете другой части альвеол, респираторных и терминальных бронхиол скопление эозинофильной жидкости, фибрина, десквамированные альвеолоциты с явлениями цитотоксического действия в виде разрозненных клеток и пластов, многоядерные клетки, большое количество нейтрофилов, местами с гнойным расплавлением межальвеолярных перегородок и формированием абсцессов, в части альвеол скопления эритроцитов, гемосидерофагов, участки инфаркта. Сосуды легких с участками плазматического пропитывания и фиброзом стенки, утолщением, сосуды микроциркуляторного русла и мелкого калибра расширены, резко полнокровны, с выраженным сладжированием эритроцитами и фибриновыми, красными и смешанными тромбами, сосудистые стенки местами с инфильтрацией лимфоцитами, нейтрофилами, пролиферацией эндотелия. В бронхиолах, сегментарных и долевых бронхах эпителий практически тотально десквамирован, стенки с очаговым фиброзом, с отеком, мелкими включениями угольного пигмента. Плевра с отеком, очаговой лейкоцитарной инфильтрацией, в субплевральных отделах полнокровие сосудов микроциркуляторного русла, на плевре очаговые фибринозно-лейкоцитарные наложения.



**Рисунок 19 – Почки**

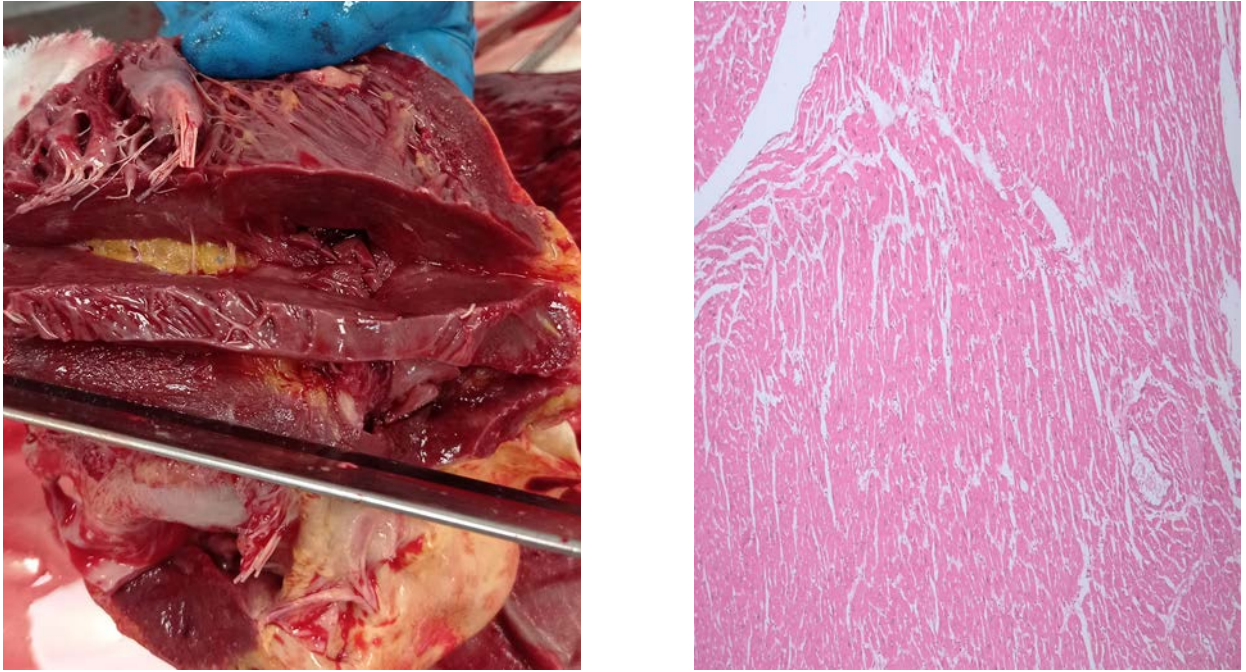
*Примечание:* Очаговая гидропическая дистрофия эпителия канальцев, очаги некрозов эпителия канальцев, отдельные клубочки склерозированы, полнокровие капилляров клубочков, сосудов и капилляров паренхимы, в сосудах и капиллярах сладжи эритроцитов и красные микротромбы, мелкоочаговые кровоизлияния, стенки мелких артериальных сосудов утолщены за счет мышечного слоя, в стенках капилляров клубочков явления гиалиноза



**Рисунок 20 – Селезенка**

*Примечание:* Выраженная редукция лимфоидной ткани, скопления лейкоцитов, мелкие очажки внекостномозгового кроветворения, очаговые кровоизлияния





**Рисунок 21.** Сердце

*Примечание:* неравномерная гипертрофия кардиомиоцитов, очаговое и неравномерное расширение межмышечных промежутков, полнокровные сосуды и капилляры, в части сладжированные эритроциты и красные и фибриновые микротромбы, очаги контрактурных повреждений отдельных групп кардиомиоцитов, отек интерстиция.

### **Клинический пример 3**

В приемное отделение ГБУЗ ИКБ 1 поступает пациент N., 46 лет, с жалобами на повышение температуры тела до фебрильной (39 °С), одышку 4-й степени по шкале mMRC (modified Medical Research Council) при незначительной физической нагрузке и в покое, сухой кашель, выраженную общую слабость, потливость. По экстренным показаниям 30.03.2022 был госпитализирован бригадой СМП.

Из анамнеза известно, что пациент болен с 25.03.2022 (6-й день болезни), с момента, когда отметил кратковременное повышение температуры до субфебрильных цифр, сухой кашель, астению. Лечился амбулаторно: левофлоксацин и парацетамол – лечение без эффекта. Через 5 дней от начала симптомов заболевания отметил повышение температуры тела до фебрильных цифр и появление нарастающей одышки, в связи с чем был доставлен в ИКБ 1 с подозрением на коронавирусную инфекцию. Анамнез жизни: Лимфома (12 курсов ПХТ), ПЭТ КТ от 24.02.2022 без признаков прогрессирования.

Состояние при поступлении расценивалось как тяжелое. При осмотре: кожные покровы бледные, повышенной влажности, чистые. Частота дыхания: 27/мин;

ритм дыхания регулярный; дыхание нормальное; дыхание самостоятельное естественным путем;  $SpO_2$ : 91%; характер дыхания: жесткое. Состояние сердечно-сосудистой системы: систолическое давление 110 мм рт. ст.; диастолическое давление 70 мм рт. ст.; ЧСС: 115 /мин.

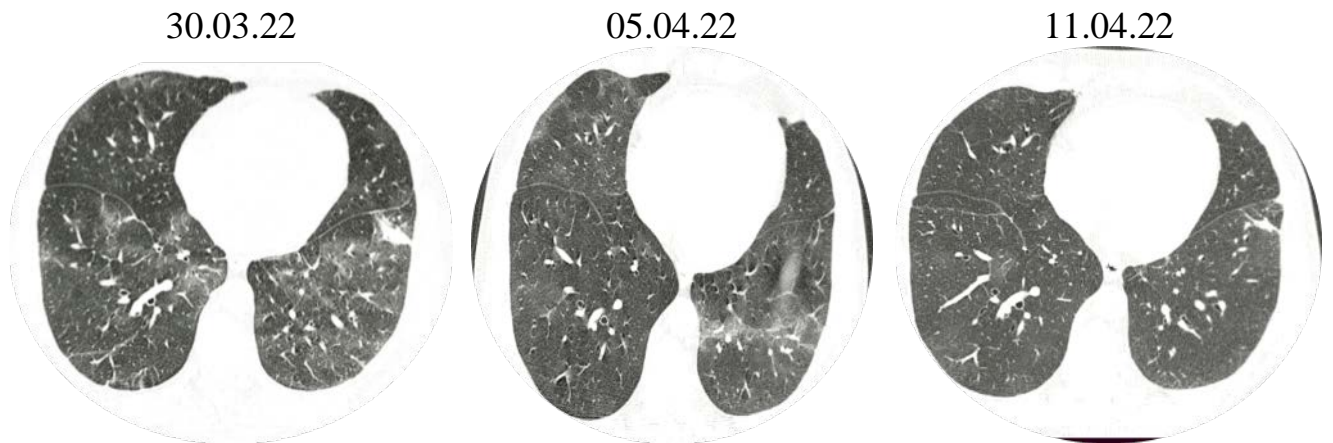
**Диагноз.** Основной: коронавирусная инфекция, вызванная вирусом COVID-19, вирус идентифицирован. Сопутствующий: фолликулярная неходжкинская лимфома неуточненная ремиссия (C82.9). Метод подтверждения диагноза: морфологический; клиническая группа: II.

**Медикаментозная терапия.** 30.03–03.04 дексаметазон 8 мг 2 раза в сутки. 30.03–31.03 Диклофенак 75 мг 1 раз в сутки с целью купирования лихорадочного и болевого синдрома; 30.03–5.04 Цефтриаксон 1 г внутривенно 2 раза в сутки. 30.03–11.04 Эноксапирин натрия 4000 анти-Ха МЕ подкожно 2 раза в сутки; 30.03–11.04 Омепразол 20 мг внутрь 2 раза в сутки, Ацетилцистеин 600 мг 2 раза в сутки; 30.03. Левилимаб 324 мг внутривенно капельно; 31.03-06.04 Оумиант (Барицитиниб) 4 мг 1 раз в день; 30.03 Ремдеформ 200 мг внутривенно и далее до 05.05. по 100 мг.

**Динамика лабораторных показателей на фоне проводимой терапии.** 30.03 (6-й день болезни) в крови умеренный лейкоцитоз  $10.3 \times 10^9$ /л с лимфопенией -0.7; на 9-е сутки болезни (4-й день госпитализации) лейкоциты крови  $6.5 \times 10^9$ /л с лимфоциты -0.47; на 14-е сутки болезни (9-й день госпитализации) лейкоциты  $7.51 \times 10^9$ /л, лимфоциты крови 0.45 (6%); на 18-е сутки болезни (13-й день госпитализации) лейкоциты  $7.15 \times 10^9$ /л, лимфоциты крови 0.43 (4%). Динамика уровня СРБ (референс 0–5): 30.03 — 272 мг/л; 31.03 — 147 мг/л; 02.04 — 101 мг/л; 05.04 — -22 мг/л; 11.04 — -4 мг/л. Динамика уровня ИЛ-6 (референс 0–7): 30.04 — 189 пг/мл; 02.04 — 99 пг/мл; 05.04 — -22 мг/мл; 11.04 — -53 пг/мл.

**Респираторная поддержка** оказывалась в виде подачи кислорода через назальные канюли с начальной скоростью 10 л/мин (уровень сатурации 92%), в динамике на 5-е сутки пребывания снижена до 5 л/мин, на этом фоне сатурация определялась до 96%, на 10-е сутки пребывания зависимость от кислорода исчезла.

**Динамика МСКТ ОГК:** При поступлении: в верхних, средних и нижних отделах обоих легочных полей (больше справа) определяются множественные диффузные зоны матового стекла. Изменения в наибольшей степени представлены в субплевральных отделах легочных полей. Общий объем поражения в правом легком до 50%. Общий объем поражения в левом легком до 50%. КТ-2. На 12-й день болезни (7-й день госпитализации) отмечается положительная динамика, уменьшение размеров уплотненных участков легочной ткани, сохраняется тяжесть КТ-2. При выписке (18-й день болезни / 13-й день госпитализации) объем поражения составляет до 25% (КТ-1) (Рисунок 22).



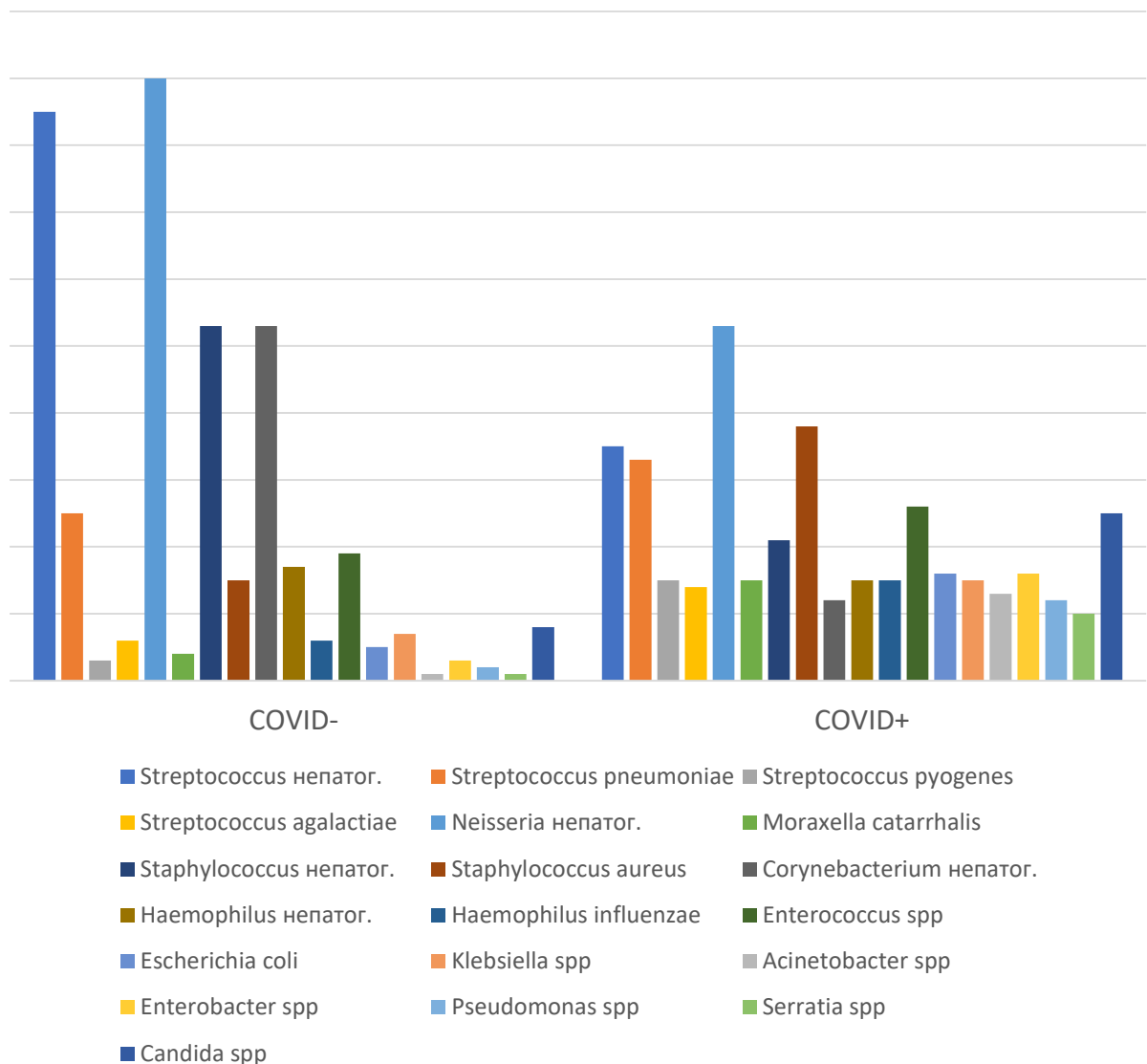
**Рисунок 22** – Динамика КТ-картины по дням госпитализации

Данное наблюдение пациента с диагнозом коронавирусная инфекция, вызванная вирусом COVID-19, вирус идентифицирован. Сопутствующий диагноз: фолликулярная неходжкинская лимфома, неуточненная ремиссия (С82.9). Метод подтверждения диагноза: морфологический; клиническая группа: II. Случай демонстрирует необходимость в индивидуальном подходе к каждому пациенту, поступающему в ковидный стационар, при наличии коморбидной патологии в анамнезе. Успешное лечение в данной ситуации определялось персонифицированным подходом к данному пациенту с сопутствующей патологией.

## Глава 5. АНАЛИЗ МИКРОБИОМА РЕСПИРАТОРНОГО ТРАКТА У ПАЦИЕНТОВ С COVID-19

### 5.1. Оценка бактериальной микрофлоры, выделенной от пациентов с различной тяжестью течения COVID-19

В результате проведенных исследований было установлено, что бактериальный состав респираторного тракта у пациентов с COVID-19 и практически здоровых лиц имеет большие отличия как по количеству выделяемых таксонов и бактерий в них, так и по их соотношению (Рисунок 23).



**Рисунок 23** – Бактериальный состав респираторного тракта у стационарных пациентов (COVID+ и COVID-) г. Москвы и Санкт-Петербурга (собственные данные)

При классическом бактериологическом исследовании материала из респираторного тракта после идентификации бактерий с помощью масс-

спектрометрического исследования было показано, что у практически здоровых лиц в отделяемом респираторного тракта превалировали непатогенные виды *Streptococcus*, *Staphylococcus*, *Neisseria*, *Corynebacterium*, в то время как у лиц с новой коронавирусной инфекцией и наличием вируса SARS-CoV-2 доля этих микроорганизмов была в несколько раз ниже (в зависимости от вида), чем у здоровых лиц. Также отмечено снижение количества бактериальных клеток в 1 мл исследуемого материала.

Так, непатогенные виды *Streptococcus* у здоровых лиц выделялись в 2,4 раза чаще, чем у лиц с COVID-19; непатогенные виды *Staphylococcus* – в 2,5 раза; непатогенные виды *Neisseria* – в 1,7 раза; непатогенные виды *Corynebacterium* – в 4,4 раза чаще. При этом количество бактерий в единице объема биопробы здоровых лиц было на 1–2 порядка выше, чем у лиц с SARS-CoV-2.

Совершенно обратная закономерность отмечена в отношении условно-патогенных бактерий. Так, *S. pyogenes* у лиц с COVID-19 был выделен в 5 раз чаще, чем у здоровых лиц; *S. agalactiae* – в 2,3 раза; *S. pneumoniae* – в 1,3 раза; *M. catarrhalis* – в 3,8 раза; *S. aureus* – в 2,5 раза; *H. influenzae* – в 2,5 раза; *E. coli* – в 3,2 раза; *K. pneumoniae* – в 2,1 раза; *Acinetobacter* spp – в 13 раз; *Enterobacter* spp – в 5,3 раза; *P. aeruginosa* – в 6 раз; *Serratia* spp – в 10 раз; *Candida* spp – в 3,1 раза.

С целью оценки микробиома респираторного тракта нами обследован 161 пациент стационаров г. Москвы и Санкт-Петербурга, у которых был выделен вирус SARS-CoV-2. В зависимости от степени тяжести микробиота была представлена и характеризовалась, как можно видеть в таблице 30.

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*.

**Таблица 30** – Характеристика бактериальной микрофлоры в зависимости от степени тяжести течения COVID-19

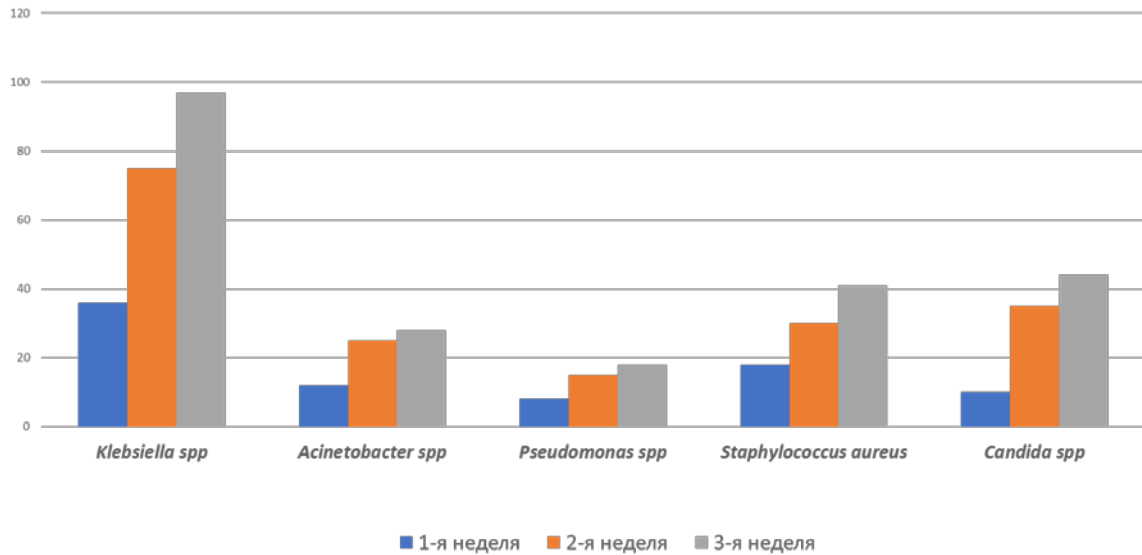
Форма течения заболевания	Абсолютное количество лиц	Доля от всех стационарных больных (%)	Выделенные бактерии	Абсолютное количество	Доля в данной форме течения (%)
Тяжелая форма	31	20	<i>K. pneumoniae</i>	17	55
			<i>S. aureus</i>	4	13
			<i>P. aeruginosa</i>	3	9,7
			<i>Acinetobacter</i>	3	9,7
			<i>Candida</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

Клинически значимым считали выделение бактерий в количестве, превышающем  $1 \times 10^4$  КОЕ/мл из БАЛ и  $1 \times 10^5$  КОЕ/мл из мокроты или мазка из зева [175].

Все полученные данные обработаны с помощью критерия «хи-квадрат», V-критерия Крамера и простого анализа соответствий в зависимости от решаемой задачи. Анализ результатов бактериологических исследований показал, что частота выделения *K. pneumoniae* при тяжелых формах COVID-19 была в 6,6 раза выше, чем при легких формах инфекции.

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 (Рисунок 24).

Полученные результаты свидетельствуют о том, что в процессе пребывания пациентов в ОРИТ происходит присоединение внутрибольничной инфекции, что может усугубить и без того тяжелое течение COVID-19.



**Рисунок 24** – Динамика контаминации этиологически значимой бактериальной флоры респираторного тракта у пациентов ОРИТ в зависимости от сроков пребывания в стационаре

## 5.2. Оценка чувствительности бактериальной микрофлоры к антибиотикам и бактериофагам

При выделении из соответствующей пробы бактерий в клинически значимых количествах определяли их чувствительность к антибиотикам. Всего было проведено 62 исследования (абсолютное количество образцов) по определению чувствительности к антимикробным препаратам у стационарных больных (Таблица 31).

**Таблица 31** – 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

Назначение препарата для лечения осуществлялось с учетом чувствительности выделенных этиологически значимых микроорганизмов и состояния пациента. Нами были изучены штаммы *K. pneumoniae*, *S. aureus*, *P. aeruginosa*, *Acinetobacter* и *Candida*. Наибольшую ценность представляли данные о чувствитель-

ности штаммов *K. pneumoniae*, все изоляты которых (30 штаммов) были изучены с помощью диско-диффузионного метода и охарактеризованы по минимальной подавляющей концентрации (МПК) каждого антибиотика.

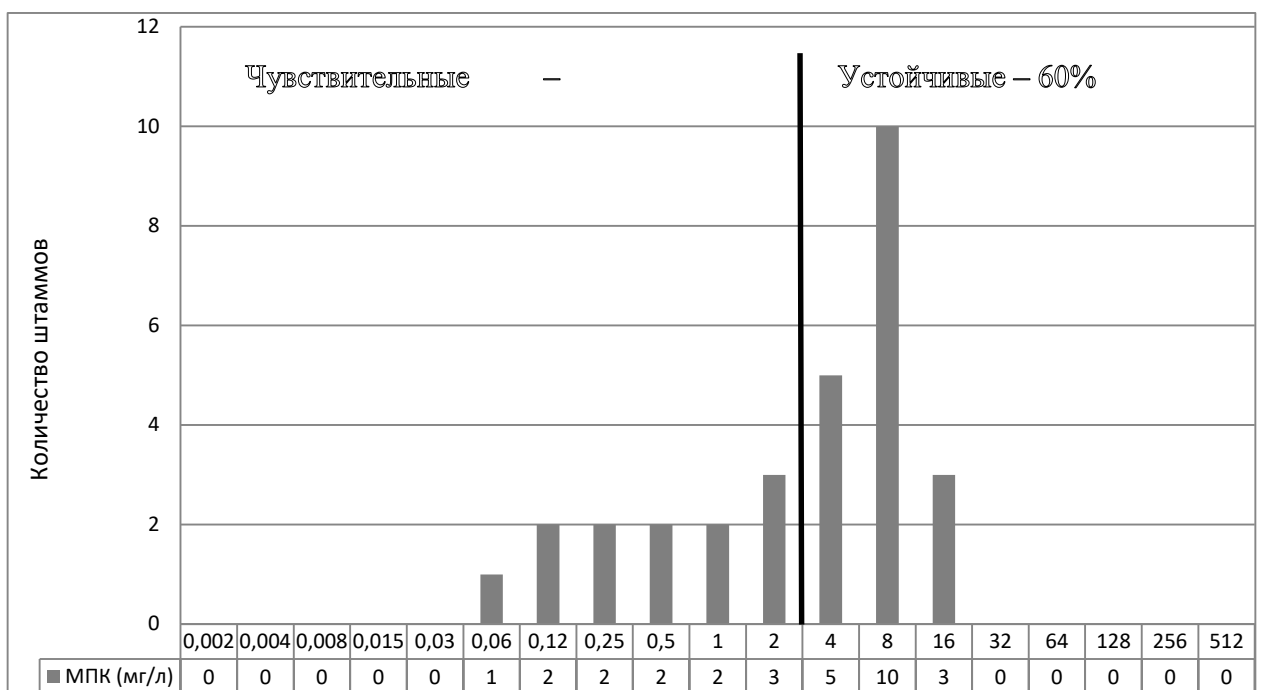
При этом необходимо отметить, что резистентность штаммов *K. pneumoniae* также отличалась у пациентов с разной степенью тяжести течения заболевания (Таблица 29). В данном случае учитывалось отношение штаммов к антибиотикам классов карбапенемов, фторхинолонов, цефалоспоринов III–IV поколений.

Таким образом, очевидно, что наибольшая концентрация резистентных штаммов *K. pneumoniae* отмечалась у пациентов с тяжелой формой течения COVID-19.

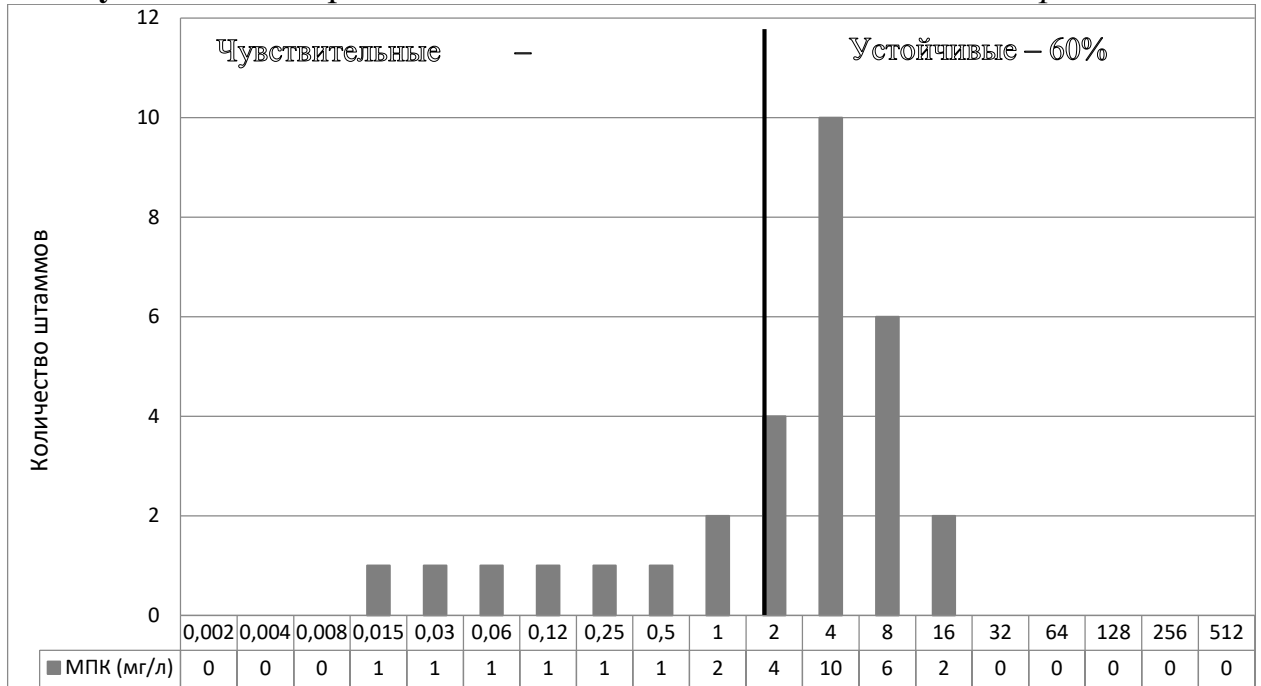
Результаты детального исследования чувствительности штаммов *K. pneumoniae* к антибактериальным препаратам представлены ниже (Таблицы 32, 33, 34 и Рисунки 25–30). Так, в таблице 32 и на рисунках 25 и 26 представлены результаты исследования чувствительности штаммов *K. pneumoniae* к карбапенемам.

**Таблица 32** – Чувствительность штаммов *K. pneumoniae* к карбапенемам

Наименование антибиотика	Чувствительные (%)	Устойчивые (%)	МПК <sub>90</sub> (мг/л)	Диапазон МПК (мг/л)
Имипенем	40	60	2	0,06–16
Меропенем	40	60	4	0,015–16





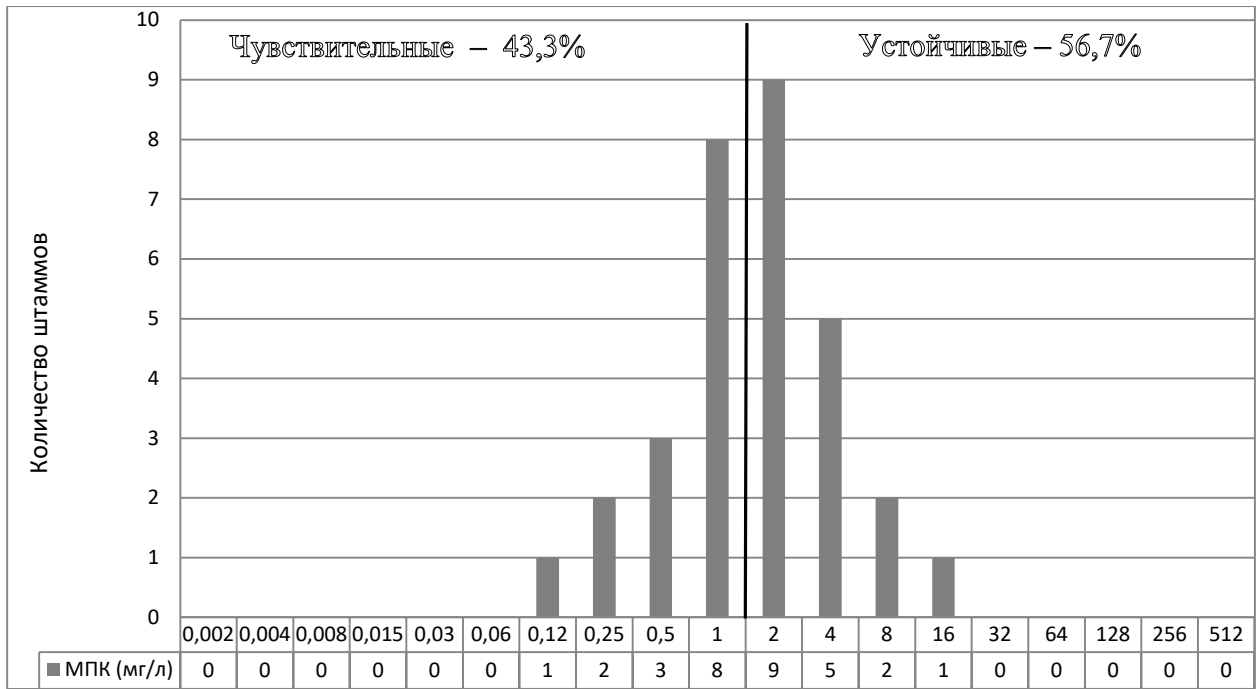
**Рисунок 25** – Распределение МПК имипенема для штаммов *K. pneumoniae***Рисунок 26** – Распределение МПК меропенема для штаммов *K. pneumoniae*

Как видно из полученных данных, в отличие от результатов зарубежных исследований, штаммы, выделенные в нашей работе, обладали значительно более высокой резистентностью к карбапенемам. Так, для большинства штаммов *K. pneumoniae* МПК имипенема составляла 2 мг/л, а для меропенема – 4 мг/л, что значительно превышает общемировые показатели.

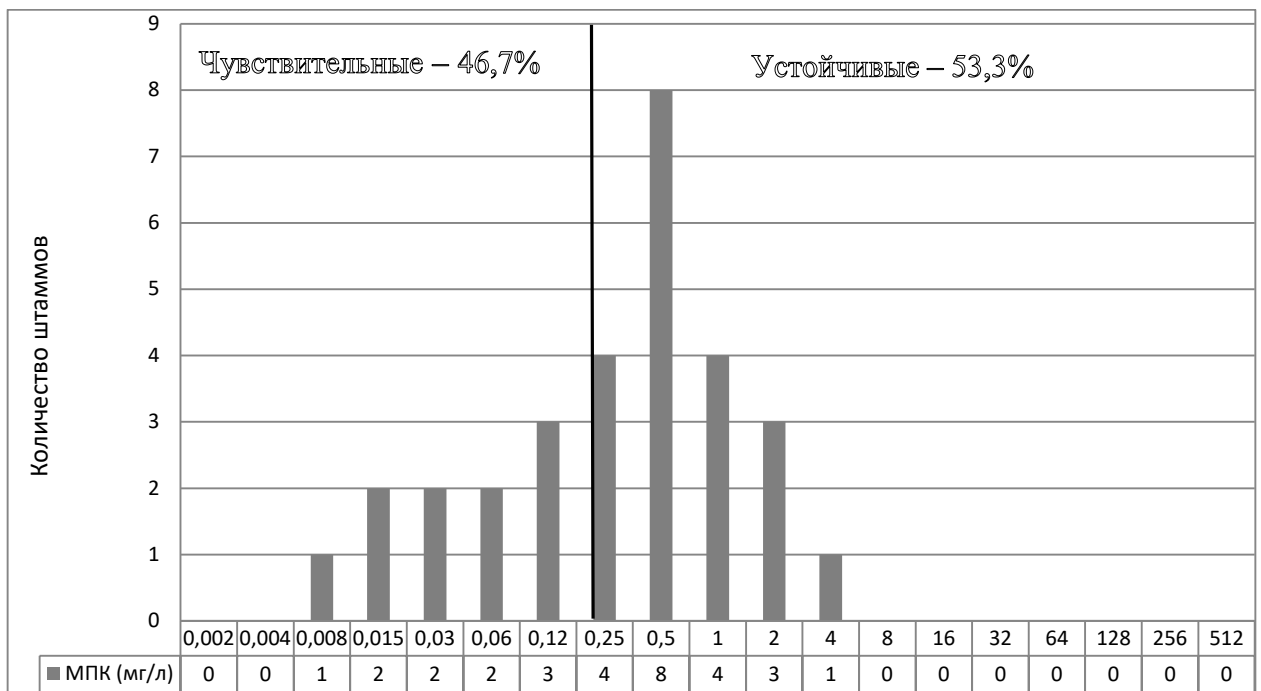
В работе изучали чувствительность выделенных штаммов *K. pneumoniae* к фторхинолонам двух поколений: третьего (левофлоксацин) и четвертого (моксифлоксацин). Результаты проведенных исследований представлены в Таблице 33 и на Рисунках 27 и 28.

**Таблица 33** – Чувствительность штаммов *K. pneumoniae* к фторхинолонам

Наименование антибиотика	Чувствительные (%)	Устойчивые (%)	МПК <sub>90</sub> (мг/л)	Диапазон МПК (мг/л)
Левифлоксацин	43,3	56,7	2	0,12-16
Моксифлоксацин	46,7	53,3	4	0,008-4



**Рисунок 27** – Распределение МПК левофлоксацина для штаммов *K. pneumoniae*



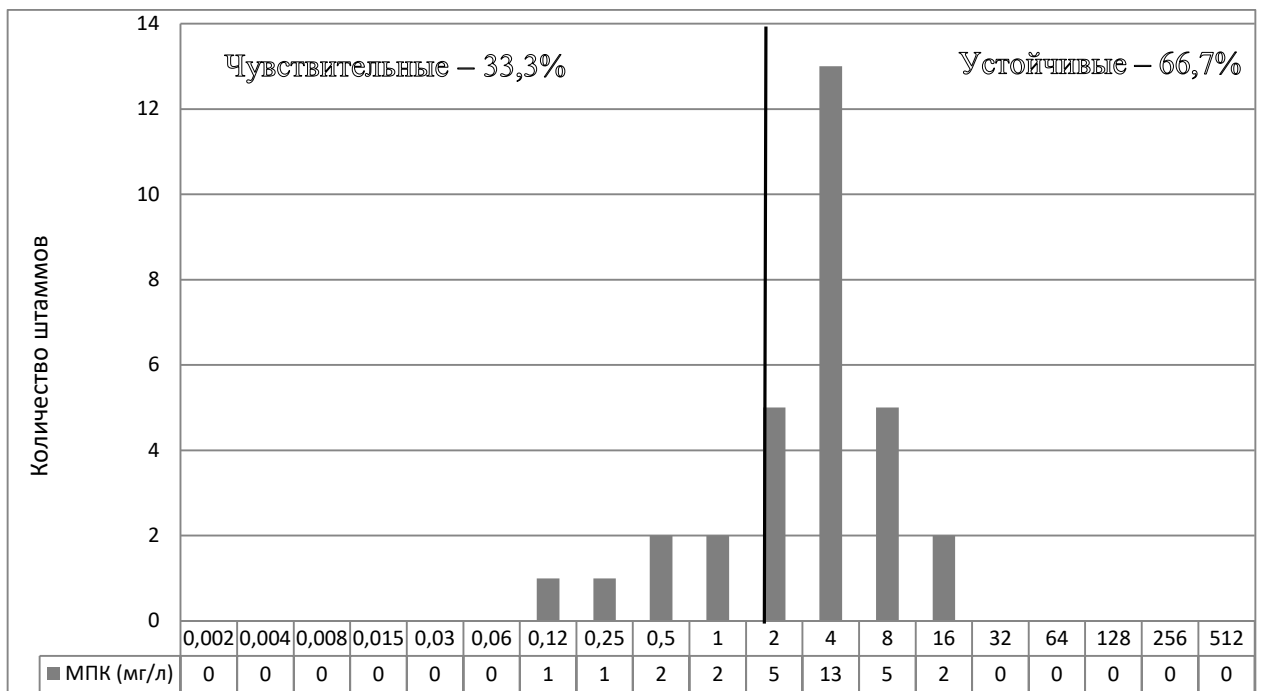
**Рисунок 28** – Распределение МПК моксифлоксацина для штаммов *K. pneumoniae*

В то время как большинство штаммов *K. pneumoniae*, выделенных за рубежом, имеют МПК, равную 0,06 мг/л, наши изоляты характеризуются высокой резистентностью к фторхинолонам: для большинства штаммов МПК левофлоксацина составляла 2 мг/л, а для моксифлоксацина – 0,5 мг/л.

Для определения чувствительности штаммов *K. pneumoniae* к цефалоспориновым антибиотикам были выбраны препараты, относящиеся к III (цефтриаксон) и IV (цефепим) поколениям. Результаты проведенных исследований представлены в таблице 34 и на рисунках 29 и 30.

**Таблица 34** – Чувствительность штаммов *K. pneumoniae* к цефалоспоринам

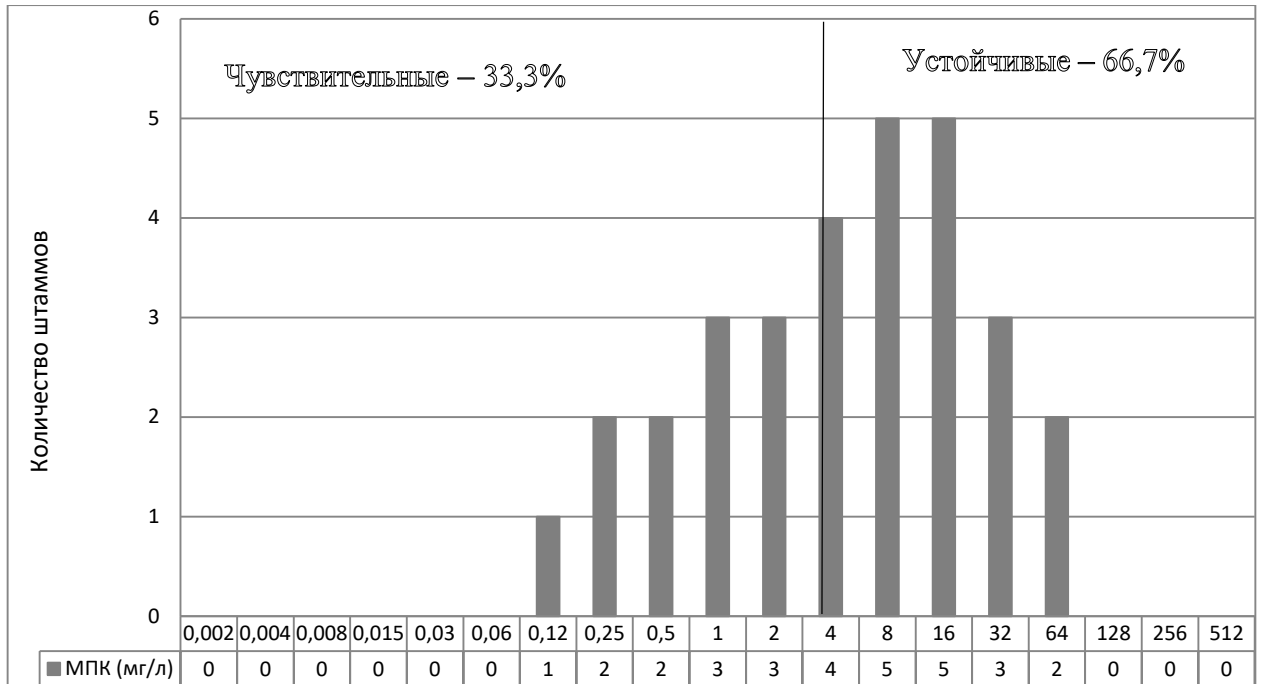
Наименование антибиотика	Чувствительные (%)	Устойчивые (%)	МПК <sub>90</sub> (мг/л)	Диапазон МПК (мг/л)
Цефтриаксон	33,3	66,7	4	0,12-16
Цефепим	33,3	66,7	4	0,12-64



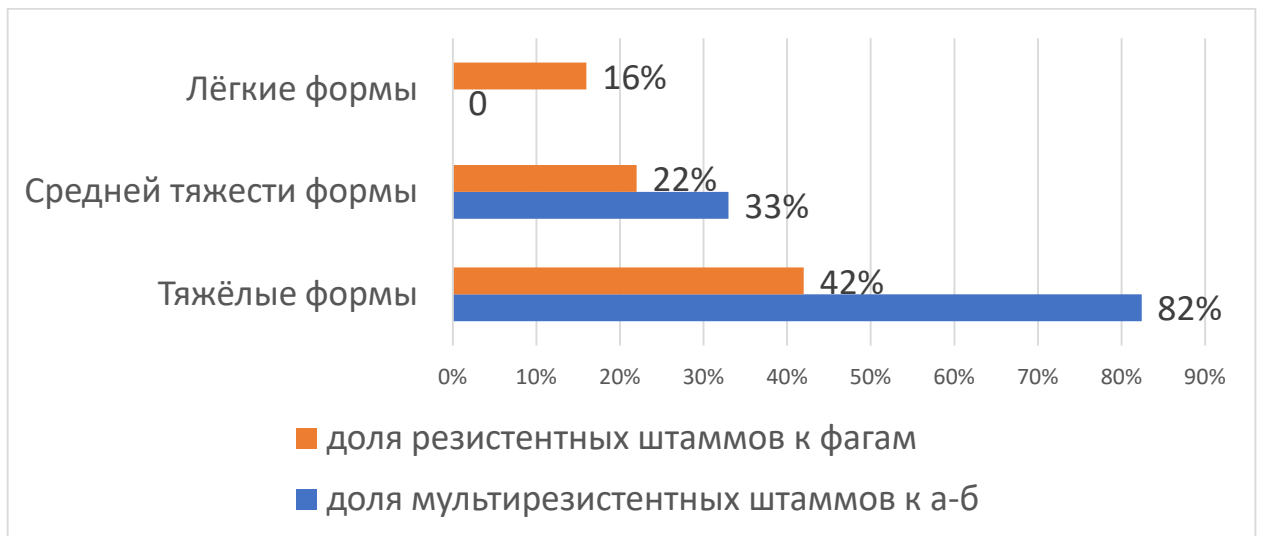
**Рисунок 29** – Распределение МПК цефтриаксона для штаммов *K. pneumoniae*

Штаммы *K. pneumoniae*, выделенные в нашем исследовании, обладали гораздо большей резистентностью, чем штаммы, выделенные 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.

В то же время штаммы *K. pneumoniae* отличались высокой чувствительностью к бактериофагу клебсиеллезному поливалентному (Рисунок 31).



**Рисунок 30** – Распределение МПК цефепима для штаммов *K. pneumoniae*



**Рисунок 31** – Фенотип резистентности штаммов *K. pneumoniae* к антибиотикам (карбапенемы, фторхинолоны, цефалоспорины III–IV поколений) и бактериофагу (поливалентному клебсиеллезному)

Как видно из полученных результатов, 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.

В связи с вышеизложенным необходимо отметить, что на фоне высокой резистентности штаммов *K. pneumoniae*, особенно выделенных от тяжелых больных, сохраняется резерв возможностей терапии в виде использования бактериофагов.

### 5.3. Характеристика биологических свойств выделенных штаммов *K. pneumoniae* с помощью полногеномного секвенирования

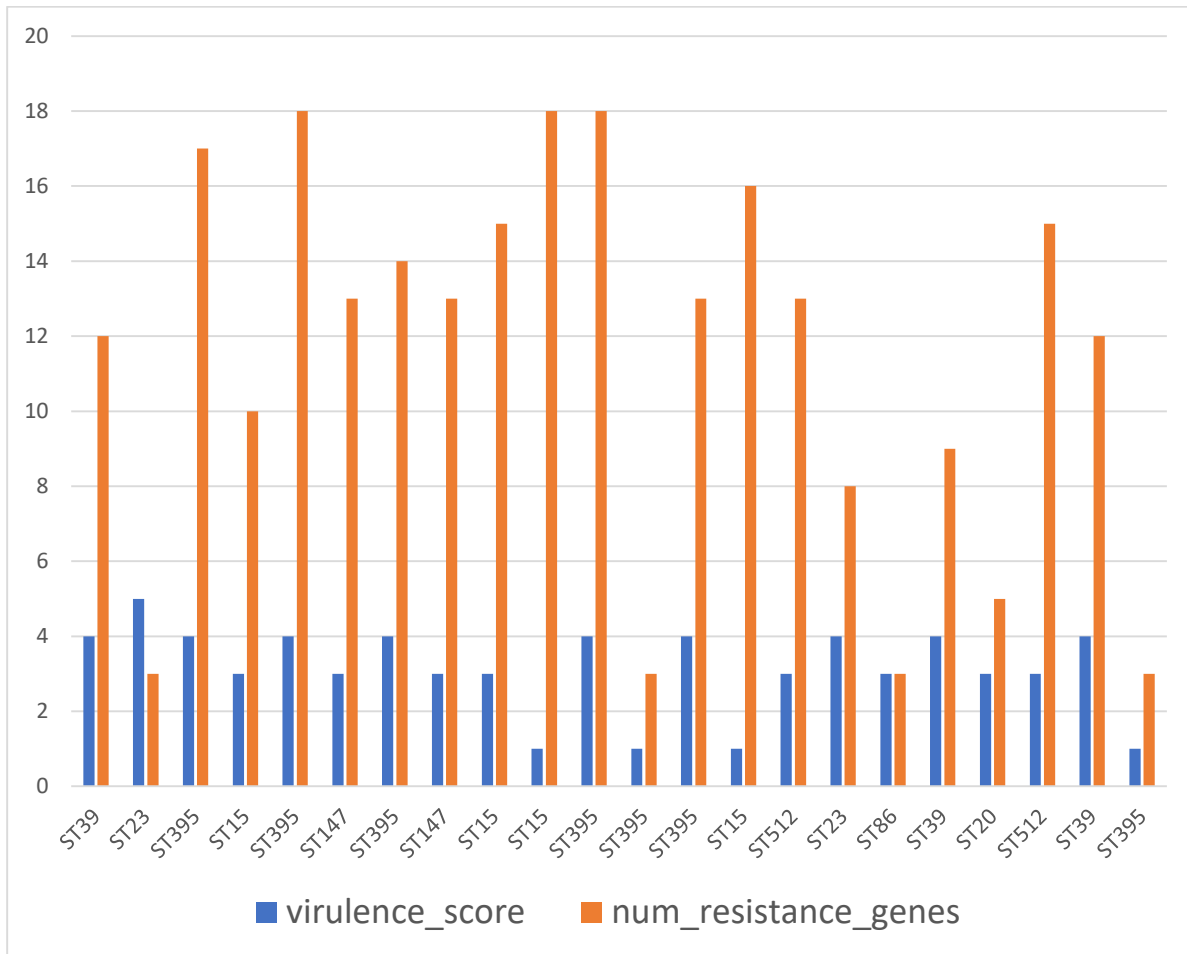
Штаммы *K. pneumoniae*, выделенные от больных с разной тяжестью течения инфекции, были подвергнуты полногеномному секвенированию. От больных с тяжелой формой исследовали 10 штаммов, от больных со средней тяжестью течения – 8 штаммов, от пациентов с легкой формой – 4 штамма (Рисунок 32).



Рисунок 32 – Распространённость сиквенс-типов *K. pneumoniae* в зависимости от степени тяжести COVID-19

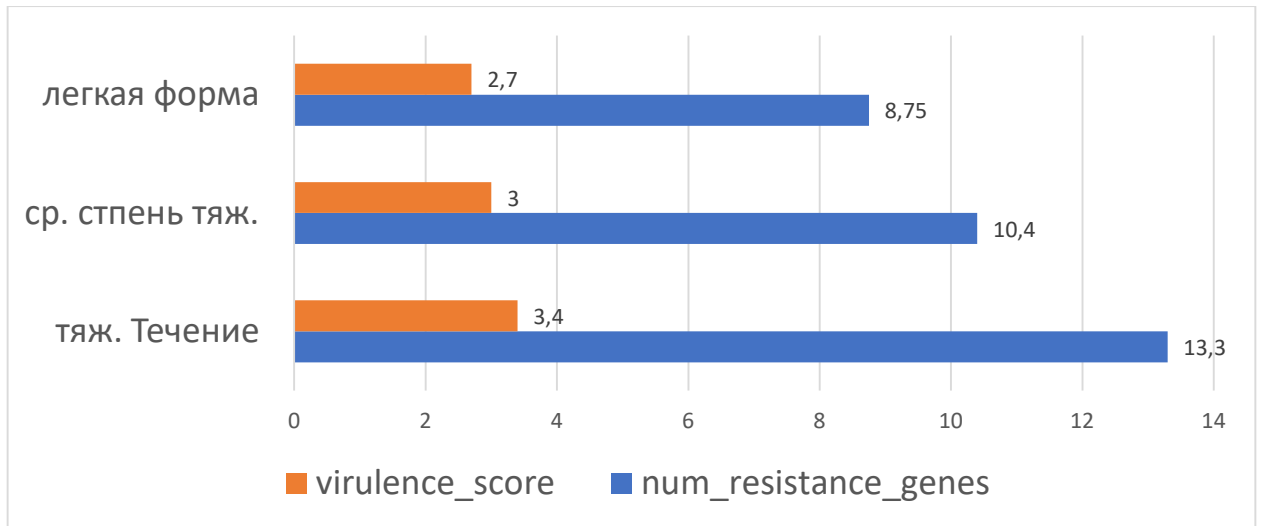
Как видно из рисунка, при тяжёлых формах преобладали сиквенс-типы ST395, ST 15, ST147, которые характеризуются высокой вирулентностью и резистентностью к антибиотикам.

При исследовании геномов было установлено, что штаммы, принадлежащие к одному сиквенс-типу, тем не менее отличались по профилю вирулентности и резистентности (Рисунок 33).



**Рисунок 33** – Распространённость профилей вирулентности и резистентности у штаммов *K. pneumoniae* в зависимости от степени тяжести COVID-19

Особенно эти отличия были выражены в зависимости от степени тяжести течения инфекционного процесса у пациентов, от которых они были выделены (Рисунок 34).



**Рисунок 34** – Профили вирулентности и резистентности штаммов *K. pneumoniae* в зависимости от степени тяжести COVID-19

Известно, что оценка 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 всех генов вирулентности и антибиотикорезистентности у штаммов *K. pneumoniae*.

Оказалось, что штаммы пациентов с тяжёлым течением коронавирусной инфекции обладают наибольшим набором генов вирулентности и антибиотикорезистентности (Таблица 35, Рисунок 35).

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 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.

**Таблица 35** – Распространённость генов вирулентности и антибиотикорезистентности у штаммов *K. pneumoniae* в зависимости от степени тяжести COVID-19

Степень тяжести COVID-19	Штамм <i>K. pneumoniae</i>	Сиквенс-тип, ST	Степень вирулентности, virulence_score	Количество генов резистентности, num_resistance_genes	Кластеры вирулентности		
					Yersiniabactin	Aerobactin	Salmochelin
Тяжёлые формы	KP0190	ST39	4	12	ybt 14; ICEKp5	iuc 1	-
	KP0184	ST23	5	3	ybt 1; ICEKp10	iuc 1	iro 1 (truncated)
	KP0023	ST395	4	17	ybt 16; ICEKp12	iuc 1	-
	KP0024	ST15	3	10	-	iuc 1	-
	KP0476	ST395	4	18	ybt 16; ICEKp12	iuc 1	-
	KP0909	ST147	3	13	-	iuc 1	-
	KP0933	ST395	4	14	ybt 16; ICEKp12	iuc 1	-
	KP0950	ST147	3	13	-	iuc 1	-
	KP-НП	ST15	3	15	-	iuc 1	-
KP0148	ST15	1	18	ybt 10; ICEKp4 (truncated)	-	-	
Средняя степень тяжести	KP0426	ST395	4	18	ybt 16; ICEKp12	iuc 1	-
	KP0966	ST395	1	3	ybt 16; ICEKp12	-	-
	KP2399	ST395	4	13	ybt 16; ICEKp12	iuc 1	-
	KP2472	ST15	1	16	ybt 10; ICEKp4	-	-
	KP0988	ST512	3	13	-	iuc 1	-
	KP0847	ST23	4	8	ybt 9; ICEKp3	iuc 1	-
	KP0537	ST86	3	3	-	iuc 1	iro 1
	KP0407	ST39	4	9	ybt 14; ICEKp5	iuc 1	-
Легкие формы	KP0962	ST20	3	5	-	iuc 1	-
	KP0987	ST512	3	15	-	iuc 1	-
	KP0360	ST39	4	12	ybt 14; ICEKp5	iuc 1	-
	KP0262	ST395	1	3	ybt 16; ICEKp12	-	-





**Рисунок 35** – Распространённость генов вирулентности и антибиотикорезистентности у штаммов *K. pneumoniae* в зависимости от степени тяжести COVID-19

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.

Таким образом, установлены значительные отличия в бактериальной составляющей отделяемого респираторного тракта у пациентов с новой коронавирусной инфекцией и без неё: у пациентов COVID+ чаще выделялись бактерии *K. pneumoniae*, *Acinetobacter* spp, *P. aeruginosa*, *S. aureus*, *Candida* spp, в то время как у пациентов COVID- превалировали непатогенные бактерии. Причём частота выделения клинически значимых бактерий возрастала в процессе нахождения пациента в стационаре. При этом у вышеперечисленных штаммов выявлена высокая резистентность к антибиотикам, используемым в практике для элиминации данного рода возбудителей инфекций, в то время как чувствительность основного возбудителя бактериальных осложнений, *K. pneumoniae*, к бактериофагу клебсиллёзному поливалентному в большинстве случаев была сохранена. При полногеномном секвенировании выделенных штаммов *K. pneumoniae* оказалось, что у пациентов с тяжёлой формой COVID-19 присутствовали штаммы с большим набором генов вирулентности и антибиотикорезистентности, что подтверждалось в фенотипических тестах. 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.

## **Глава 6. ПЕРСОНАЛИЗИРОВАННЫЙ ПОДХОД К ДИАГНОСТИКЕ И ЭТИОТРОПНОЙ ТЕРАПИИ ОСЛОЖНЕННОГО ТЕЧЕНИЯ COVID-19**

Стремительное развитие высоких технологий изменило и подходы к лабораторной диагностике инфекционных заболеваний. Появились большие возможности для этиологической расшифровки нозологических форм в структуре инфекционных заболеваний. Подтверждение диагноза с помощью комплексного обследования (клинические, лабораторные и инструментальные данные, результаты дополнительных экспрессных методов исследования) становится неотъемлемой частью постановки этиологического диагноза, что также дает возможность контроля над эффективностью проводимой терапии. Будущее диагностики во многом зависит от наличия доступа у врачей практического звена здравоохранения к единой электронной базе обследования амбулаторных и стационарных пациентов, результатов тестирования. Данные, которые врач может оперативно получать из лаборатории, необходимы для своевременной корректировки и определения тактики лечения.

Однако нельзя не отметить, что подход к идентификации бактериальных патогенов методом бактериологической диагностики признается «золотым стандартом», так как позволяет не только выявить патоген, но также изучить его биологические свойства, в том числе фенотип резистентности к антибиотикам и другим антибактериальным препаратам, что и определит тактику этиотропной терапии.

Полученные нами результаты комплексного подхода к диагностике бактериальных осложнений у пациентов с коронавирусной инфекцией COVID-19 и пути их коррекции позволили нам сформулировать персонализированный подход к диагностике и этиотропной терапии.

Все пациенты, находившиеся под нашим наблюдением и поступающие в стационар, обязательно проходили тестирование на выявление специфической РНК SARS-CoV-2 методом ОТ-ПЦР. На 1–10-й дни болезни положительные результаты были установлены только у 64% находящихся под наблюдением пациентов, при этом вероятность положительного теста ПЦР на 1–10-й день болезни

значимо выше (хи-квадрат,  $p \leq 0,05$ ), чем после 10-го дня болезни. В исследование вошли только пациенты с положительным ПЦР-тестом.

Невысокий процент позитивных находок в первые дни заболевания ставил диагноз COVID-19 под сомнение. Причин получения не столь высоких результатов тестирования было несколько:

- на ранних сроках ведения пациентов медицинский персонал в ряде случаев, не имея практических навыков, допускал нарушение методики взятия мазков из носо- или ротоглотки;

- не соблюдались сроки взятия материала; так, исследование смывов из верхних отделов дыхательных путей проводили в разные периоды заболевания;

- полученные и разработанные тест-системы на ранних этапах вспышки заболевания не обладали достаточной специфичностью и чувствительностью.

В период мониторинга и проведения анализа клинических и лабораторных данных стационарных больных проводили оценку тяжести заболевания, согласно критериям ВОЗ (2020–2021 гг.).

На основании данных, полученных в результате глубокого анализа ряда параметров у пациентов с новой коронавирусной инфекцией (COVID-19), представленных в главах 4–5, нами разработан алгоритм диагностики.

### **6.1. Алгоритм персонализированного подхода к тактике диагностики и этиотропной терапии осложненного течения COVID-19, обусловленного бактериальными патогенами**

Данный алгоритм носит поступательный характер и отображается в виде серии последовательных действий, совершающихся в несколько этапов (Рисунок 36).

1-й этап:

- оценка клинических, эпидемиологических, лабораторных данных (маркеры бактериального воспаления: СРБ, ферритин, ИЛ-6, прокальцитонин, уровень лейкоцитов в крови и др.), инструментальных методов исследования. Интерпретация полученных данных.



**Рисунок 36.** – алгоритм персонализированного подхода к тактике диагностики и этиотропной терапии осложненного течения COVID-19, обусловленного бактериальными патогенами

2-й этап:

– первичное бактериологическое исследование отделяемого респираторного тракта (БАЛ, мокрота, мазок из зева) на наличие бактерий при исходном осмотре пациента и в динамике (через каждые 7 дней);

– анализ лабораторных показателей, маркирующих осложненное течение COVID-19, обусловленное бактериальными патогенами (СРБ, ферритин, прокальцитонин, ИЛ-6) до получения результатов микробиологических посевов из локусов;

– применение адаптированной шкалы по СИК, включающей анализ показателей: МНО, тромбоцитов, оценку пациента по шкале SOFA. При получении показателей шкалы СИК > 4 достоверно учитывать наличие бактериальной инфекции, даже при отсутствии выделенного патогена, на примере *K. pneumoniae*.

3-й этап:

– исследование выделенных клинически значимых бактерий на наличие генетических факторов вирулентности и антибиотикорезистентности; исследование фенотипа вирулентности выделенных патогенов; исследование фенотипа чувствительности бактерий к антибиотикам и бактериофагам; выбор рациональной схемы антибактериальной терапии (антибиотики и/или бактериофаги) с учетом

полученных результатов и методических рекомендаций (Методические рекомендации «Диагностика и антимикробная терапия инфекций, вызванных полирезистентными штаммами микроорганизмов 2020 г.». Обновление 22 июня 2022 г.).

4-й этап:

– исследование генетических маркеров патогенности и антибиотикорезистентности штаммов на основе полногеномного секвенирования (изученная/созданная база данных с генетической и фенотипической характеристикой патогенных штаммов, циркулирующих в стационаре и имеющихся у тяжелых пациентов, позволит вовремя начать/скорректировать/эскалировать этиотропную/таргетную терапию).

5-й этап:

– микробиологический мониторинг в динамике (на 7-й, 14-й и 21-й дни) бактериальных патогенов из вовлеченных локусов на фоне проводимой этиотропной терапии с дальнейшей интерпретацией полученных данных.

6-й этап:

– комплексная оценка тяжести бактериальных осложнений для коррекции этиотропной терапии в динамике.

Таким образом, определены основные принципы порядка организации лабораторной диагностики пациентов с COVID-19 в сочетании с бактериальными осложнениями. Разработанный порядок организации и проведения лабораторных исследований позволяет оптимизировать тактику обследования больных COVID-19, приводит к своевременному этиологическому подтверждению диагноза COVID-19 и даёт возможность применять эффективные этиотропные препараты и осуществлять контроль проводимой терапии.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

По данным многочисленных исследований, тяжелое течение COVID-19 у стационарных пациентов было обусловлено развитием вирусно-бактериальных коинфекций или суперинфекций с присоединением бактериальных патогенов. В то же время использование эмпирически назначенных антибиотиков широкого спектра действия у таких пациентов приводило к нарушениям в микробиоме и дисбактериозу, а также распространению резистентных к используемым антибиотикам бактерий. В период пандемии с 2020 года наиболее распространенными бактериальными патогенами, выделяемыми из респираторного тракта, были бактерии *K. pneumoniae*, большинство которых характеризовалось продукцией карбапенемаз и резистентностью к препаратам выбора – карбапенемам. Носительство штаммов *K. pneumoniae* отмечается у 1–6% здорового населения. У пациентов с COVID-19, особенно страдающих метаболическими нарушениями, хронической обструктивной болезнью легких и со сниженной функцией иммунной системы, отмечалось увеличение положительных находок *K. pneumoniae* из респираторного тракта (до 38%) и из кишечника (до 30%). В условиях стационара такие пациенты подвержены риску дополнительного заражения нозокомиальной инфекцией с высокой резистентностью к антибиотикам, что может способствовать утяжелению течения заболевания, вплоть до летального исхода.

Поэтому крайне важным становится решение задачи по определению лабораторных маркеров осложненного течения COVID-19 у пациентов с присоединившейся бактериальной инфекцией и организации своевременного вирусно-бактериального мониторинга с последующим персонализированным подходом к тактике диагностики и этиотропной терапии осложненного течения COVID-19, обусловленного бактериальными патогенами.

Начальный пандемический период работы с пациентами с COVID-19 показал, что тяжёлое течение заболевания было свойственно людям старшей возрастной группы, с наличием коморбидной патологии, клинически характеризующейся развитием поражений легочной ткани, выраженной интоксикацией, уменьшением насыщения крови кислородом ( $SpO_2$ ), появлением дыхательной недостаточности.

Комплексная оценка тяжести состояния в этот период проводилась по предложенной шкале NEWS, показатели которой в 75% случаев не соответствовала истинной оценке степени тяжести. К 2020 году ВОЗ предложила более чёткие критерии оценки тяжести, которые активно стали применяться на практике.

Распределение по тяжести согласно критериям ВОЗ (2020 г.) (<http://www.who.int/ru/>) и анализ демографических показателей наблюдаемой нами группы пациентов с COVID-19, госпитализированных в ОРИТ, показал, что средний возраст пациентов с летальным исходом составил  $71,30 \pm 12,4$  года. Возраст пациентов с осложненным течением и развитием бактериальных осложнений достоверно превышал аналогичные показатели у пациентов без бактериальных осложнений. Распределение по полу в анализируемых группах было практически одинаковым с незначительным преобладанием женщин. Продолжительность госпитализации и нахождения в ОРИТ максимальна была в группе выживших ( $n=25$ ) с активной бактериальной инфекцией: медиана дней болезни составила 26 [15–35] дней, тогда как у пациентов с бактериальной инфекцией ( $n=27$ ), ассоциированной с мультирезистентной *K. pneumoniae* ( $n=27$ ), заболевание протекало фульминантно и летальный исход наступил в среднем на 18-й день болезни [11–20].

Структура коморбидной патологии пациентов ОРИТ с COVID-19 и бактериальными осложнениями 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%); меньше пациентов с сахарным диабетом 2 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 ожире-



нием – 18 (34,6%). Показано, что достоверно высокая частота встречаемости артериальной гипертензии (96,3%) и сердечно-сосудистых заболеваний (77,8%) отмечена у пациентов с бактериальной инфекцией, ассоциированной с *K. Pneumoniae*, развитием полиорганной недостаточности и летальным исходом.

Анализ данных МСКТ в группах наблюдения свидетельствовал, что частота встречаемости изменений на МСКТ варьировала изменениями от КТ 1 до КТ 4. В первые 7 дней заболевания достоверных различий по процентному соотношению рентгенологических изменений в группе пациентов получено не было. Однако при динамическом наблюдении в группе пациентов с бактериальной инфекцией частота визуализации по типу КТ 4 была достоверно выше и достигла 46,2%. В подавляющем большинстве случаев при первичном обследовании отмечались изолированные изменения по типу «матового стекла» или их комбинация с консолидацией и чаще всего это были проявления заболевания. При этом пациенты старшей возрастной группы имели более консолидированные поражения легких, чем пациенты в возрасте 50 лет или моложе. У тяжелых пациентов с бактериальной инфекцией наиболее часто выявлялось сочетание вирусного поражения легких с присоединившейся бактериальной инфекцией или иной сопутствующей патологией легких.

Известно, что маркерами бактериальных осложнений, применяемыми для ранней диагностики, являются белки острой фазы (ОФ) воспаления (С-реактивный белок (СРБ), интерлейкин-6 (ИЛ-6), фактор некроза опухолей-альфа (ФНО-альфа), прокальцитонин, лактат. В отсутствие результатов бактериологических исследований в силу их трудоемкости и длительности эти показатели становятся единственными критериями присоединения бактериальной инфекции. Проведенные собственные исследования и анализ маркеров воспаления показали, что в группе пациентов ОРИТ, ассоциированной с бактериальными патогенами (*K. pneumoniae*) в 88,8% случаев, достоверно высокими были показатели ИЛ-6, лактат, прокальцитонин, тогда как традиционный маркер воспаления СРБ составил в среднем  $70,62 \pm 81,66$  и достоверно не превышал значений, полученных в группе пациентов без бактериальных осложнений  $51,19 \pm 41,48$ .

«В 2017 г. были опубликованы критерии сепсис-индуцированной коагулопатии (СИК), разработанные в соответствии с новым определением сепсиса (2016). Целью их создания явилась необходимость наиболее раннего выявления тромботического фенотипа диссеминированного внутрисосудистого свертывания (ДВС), специфичного для сепсиса, при котором раннее назначение антикоагулянтов позволяет улучшить результаты лечения» [95].

Присоединение бактериальной инфекции у пациентов обследуемой группы ОРИТ диагностировано не только индикацией патогенов, но и изменениями Д-димера. Показатели Д-димера в группе с бактериальной инфекцией составили в среднем  $1323,43 \pm 331$ , варьируя в пределах 690,37–1956,4, что само по себе является типичным для практически всех генерализованных инфекционных заболеваний, где патоген является триггером ДВС-синдрома.

В связи с этим нами была принята попытка адаптировать шкалу СИК с целью подтверждения присоединения бактериальной инфекции. Был проведен сравнительный анализ показателей шкалы в группе с бактериальной инфекцией и при ее отсутствии. Показано, что в группе с бактериальной инфекцией получены показатели СИК в диапазоне от  $5,13 \pm 1,58$  (3,69–5,58). Как дополнительный критерий присоединения бактериальной инфекции возможно применение на практике адаптированной шкалы СИК с определением параметров по online-калькулятору [<http://dolsip.ru/>].

В результате проведенного микробиологического мониторинга у пациентов с COVID-19 было установлено, что при тяжелых формах COVID-19 чаще всего – в 55% случаев – выделяли бактерии *K. pneumoniae*, 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%. Также отмечено увеличение доли выделяемых штаммов *K. pneumoniae* в процессе нахождения больного в стационаре, что зачастую говорит о присоединении внутрибольничной инфекции, способствующей утяжелению течения заболевания.

Важно отметить, что наибольшая частота встречаемости резистентных штаммов *K. pneumoniae* отмечалась у пациентов с тяжелой формой течения COVID-19.

Так, если 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 (имипенему и меропенему), 56,7% – к фторхинолонам (моксифлоксацину и левофлоксацину), 66,7% – к цефалоспорином (цефтриаксону и цефепиму).

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, ST 15, ST147, которые характеризуются высокой вирулентностью и резистентностью к антибиотикам. При этом профили вирулентности и резистентности штаммов *K. pneumoniae* зависели от степени тяжести COVID-19. Так, штаммы пациентов с тяжелым течением коронавирусной инфекции обладали наибольшим набором генов вирулентности и антибиотикорезистентности. Поэтому очень важно проводить микробиологический мониторинг в лечебном учреждении для своевременной оценки ситуации и разработки тактики актуальной терапии, основанной на достоверных результатах.

Предварительно полученные результаты исследований и наблюдений в амбулаторной группе пациентов позволили внести ясность в вопрос о профилактике развития тяжелых форм инфекции, обусловленных присоединением бактерий *K. pneumoniae*. У 77% больных были выделены бактерии *K. pneumoniae*, из которых 65% оказались резистентными к карбапенемам и фторхинолонам. В то же время 100% штаммов были чувствительны к бактериофагу клебсиеллезному поливалентному. Это позволило назначить пациентам комплексную терапию, в которую был включен бактериофаг. После повторного исследования материала на бактериальную микрофлору была установлена достоверная разница в уменьшении основных катарально-респираторных проявлений и симптомов интоксикации на

фоне применения бактериофага. Анализ микробного состава респираторного тракта у пациентов после приема бактериофага показал, что выделяемые ранее бактерии были обнаружены лишь у 16,5% пациентов при достоверном снижении количества выделяемых бактерий до уровня ниже диагностического.

В целом наблюдалась значительная положительная динамика клинических проявлений у амбулаторных пациентов с COVID-19. На фоне приема бактериофага отмечалась регрессия клинической симптоматики в виде уменьшения кашля с 93 до 17%; боли в горле с 83 до 10%; озноба с 80 до 3%; насморка с 77 до 20%; лимфаденопатии с 30 до 7%; миалгии с 30 до 10%; дыхательного дискомфорта (диспноэ) с 23 до 7%; кожных проявлений с 17 до 3%.

Таким образом, положительный опыт применения бактериофагов у амбулаторных больных является аргументом в пользу использования фаготерапии в сочетании с этиотропной терапией с целью профилактики развития бактериальных осложнений при COVID-19.

Полученные нами результаты комплексного подхода к диагностике бактериальных осложнений у пациентов с COVID-19 и пути их коррекции позволили нам сформулировать персонализированный подход к диагностике и этиотропной терапии. Для этого нами предложен алгоритм персонализированного подхода к тактике диагностики и этиотропной терапии осложненного течения COVID-19, обусловленного бактериальными патогенами. Он включает в себя оценку клинических, эпидемиологических, лабораторных данных с обязательным бактериологическим исследованием отделяемого респираторного тракта при поступлении больного и в динамике; применение адаптированной шкалы по СИК; исследование выделенных клинически значимых бактерий на наличие генетических факторов вирулентности и антибиотикорезистентности; исследование фенотипа вирулентности и чувствительности к антибиотикам и бактериофагам; выбор рациональной схемы антибактериальной терапии (антибиотики и/или бактериофаги); проведение микробиологического мониторинга в динамике; комплексную оценку тяжести бактериальных осложнений для коррекции этиотропной терапии в динамике.

Поэтому считаем необходимым с целью оптимизации подходов к профилактике бактериальных осложнений у пациентов с COVID-19 использовать алгоритм персонализированного подхода к тактике диагностики и этиотропной терапии осложненного течения COVID-19 и внедрить в практику применения поливалентный клебсиеллезный бактериофаг у пациентов амбулаторной группы в течение 10 дней в острый период заболевания.

### Выводы

1. Наиболее тяжелое течение COVID-19 отмечалось у пациентов ОРИТ старшей возрастной группы ( $71,30 \pm 12,40$ ), 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 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 сепсис-индуцированной коагулопатии (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 ан-

тибиотикам; 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 и расширения подходов к этиотропной терапии и профилактике бактериальных осложнений целесообразно:

– внедрить в практику комплексный подход к выявлению штаммов *Klebsiella pneumoniae* при обследовании пациентов с COVID-19: выделение патогенов с применением стандартного метода бактериологической диагностики, определение их фенотипа резистентности к антибактериальным препаратам и бактериофагу с последующим выявлением профилей резистом всех геномов, определяющих развитие бактериальных осложнений, обусловленных генетическими детерминантами лекарственной устойчивости к этиотропным препаратам;

– на основании внедрения полногеномного секвенирования ДНК патогенов и исследования их фенотипических маркеров вирулентности продолжить изучение и выделить критерии включения бактериального патогена в группу этиопатогенетических факторов осложненного течения COVID-19;

– с целью 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 на ранних сроках заболевания. Позитивный профиль безопасности препарата является доводом в пользу расширенного применения фаготерапии в сочетании с этиотропной терапией с целью профилактики развития бактериальных осложнений у пациентов с новой коронавирусной инфекцией;

– для прогностической оценки присоединения бактериальной инфекции у пациентов с COVID-19, а также расширения диагностических лабораторных возможностей целесообразно использовать сочетание рутинных маркеров (прокальцитонин / коагулопатические / острофазовые показатели) и адаптированной шкалы балльной оценки сепсис-индуцированной коагулопатии (СИК), доступной по ссылке <https://dolsip.ru/>. Прогностическая модель может служить дополнительным инструментом для раннего принятия решения в отношении тактики ведения больных с бактериальными осложнениями.

## Перспективы дальнейшей разработки темы

Проблема развития бактериальных осложнений касается инфекций, обусловленных не только вирусом SARS-CoV-2, но и любыми другими вирусами, в том числе респираторными. Поэтому необходимо унифицировать подход к диагностическим мероприятиям, проводимым в стационаре, начиная с момента поступления больного в медицинское учреждение.

Поскольку нами были получены результаты успешного использования разработанного персонализированного алгоритма для ведения больных с риском развития бактериальных осложнений при COVID-19, считаем желательным его использование в других медицинских учреждениях подобного профиля.

Также считаем необходимым использовать при микробиологической диагностике достоверные экспрессные методы исследования бактериальных патогенов. Для выявления генетических маркеров вирулентности и антибиотикорезистентности возможна разработка диагностического набора на основе чиповой ПЦР с несколькими праймерами для поиска соответствующих генов. Также вполне осуществима разработка изотермической петлевой амплификации LAMP для обнаружения наиболее актуальных маркеров вирулентности и антибиотикорезистентности. Эти реакции позволят получать результат в течение 1 часа, что значительно ускорит процесс выбора правильной тактики терапии при риске развития бактериальных осложнений.

Разработанный экспрессный метод определения чувствительности грамотрицательных бактерий к бактериофагам, позволяющий в течение 3 часов получать результат, может быть опробован в отношении грамположительных патогенных штаммов, таких как *S. aureus*, *Enterococcus* spp.

Ведение базы данных о всех выделенных в стационаре бактериальных штаммах позволит своевременно регистрировать появление и циркуляцию вирулентных и резистентных штаммов и проводить соответствующие профилактические мероприятия для предотвращения дальнейшего распространения инфекции.



**СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ**

- АБТ – антибактериальная терапия
- АЛТ – аланинаминотрансфераза
- АПФ 2 (АСЕ2) – ангиотензинпревращающий фермент
- АСТ – аспартатаминотрансфераза
- БА – бронхиальная астма
- БАЛ – бронхоальвеолярный лаваж
- БЛРС – бета-лактамазы расширенного спектра
- ВП – внебольничная пневмония
- ГБ – гипертоническая болезнь
- ДВС – диссеминированное внутрисосудистое свертывание
- ДНК – дезоксирибонуклеиновая кислота
- ЖКТ – желудочно-кишечный тракт
- ИВЛ – искусственная вентиляция легких
- ИФА – иммуноферментный анализ
- ЛПС – липополисахарид
- НИ – нозокомиальная инфекция
- НФГОБ – неферментирующие грамотрицательные бактерии
- ОДН – острая дыхательная недостаточность
- ОРВИ – острая респираторная вирусная инфекция
- ОРДС – острый респираторный дистресс-синдром
- ОТ-ПЦР – полимеразная цепная реакция с обратной транскрипцией
- ПКТ – прокальцитонин
- ПРВ – полирезистентные возбудители
- РИ – респираторный индекс
- СД 2-го типа – сахарный диабет второго типа
- СИК – сепсис-индуцированная коагулопатия
- СРБ – С-реактивный белок
- ССЗ – сердечно-сосудистые заболевания
- ХИГМ – хроническая ишемия головного мозга

ХОБЛ – хроническая обструктивная болезнь легких

ХСН – хроническая сердечная недостаточность

ЩФ – щелочная фосфатаза

APACHE II – The APACHE II score

COVID-19 – коронавирусная болезнь 2019

ЕАА – активность эндотоксина

MRSA – Метициллин-резистентный золотистый стафилококк

PMX – Toramycin (Toray)

SARS-CoV-2 – тяжелый острый респираторный синдром, связанный с коронавирусом-2

SOFA – Sequential Organ Failure Assesment

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Morens D. M., Fauci A. S. Emerging infectious diseases: threats to human health and global stability // PLoS pathogens. – 2013. – Vol. 9. – №. 7. – P. e1003467.
2. Cutuli S. L. [et al.] COVID-19 influences lung microbiota dynamics and favors the emergence of rare infectious diseases: A case report of *Hafnia Alvei* pneumonia // Journal of Critical Care. – 2021. – Vol. 64. – P. 173-175.
3. Junior A. S. F. [et al.] Persistent intestinal dysbiosis after SARS-CoV-2 infection in Brazilian patients. – 2021.
4. Lazareva I. V. [et al.] Prevalence and Antibiotic Resistance of Carbapenemase-Producing Gram-Negative Bacteria in Saint Petersburg and Some Other Regions of the Russian Federation // Antibiotiki i Khimioterapiia= Antibiotics and Chemoterapy [sic]. – 2016. – Vol. 61. – №. 11-12. – P. 28-38.
5. Fursova N. K. [et al.] Emergence of five Genetic lines ST395NDM-1, ST13OXA-48, ST3346OXA-48, ST39CTX-M-14, and novel ST3551OXA-48 of multidrug-resistant clinical *Klebsiella pneumoniae* in Russia // Microbial Drug Resistance. – 2020. – Vol. 26. – №. 8. – P. 924-933.
6. Чеботарь И.В. Почему *Klebsiella pneumoniae* становится лидирующим оппортунистическим патогеном / И.В. Чеботарь, Ю.А. Бочарова, И.В. Подопригора, Д. А. Шагин // Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. – 2020. – Т. 22 - № 1. – С. 4-13.
7. Morris D. E., Cleary D. W., Clarke S. C. Secondary bacterial infections associated with influenza pandemics // Frontiers in microbiology. – 2017. – Vol. 8. – P. 1041.
8. Bengoechea H.A., Bamford K.D.D. SARS-CoV-2, bacterial co-infections, and antimicrobial resistance: a deadly trio in COVID-19? // *Juvenis Scientia*. – 2020. – Vol. 6. – No. 5. – P. 42-50.
9. Никифоров, В. В. Новая коронавирусная инфекция (COVID-19): этиология, эпидемиология, клиника, диагностика, лечение и профилактика: учебное пособие / В.В. Никифоров, Т.Г. Суранова, А.Ю. Миронов, Ф.Г. Забозлаев. – Москва, 2020. – 48 с.
10. Docherty A. B. [et al.] Features of 16,749 hospitalised UK patients with COVID-19 using the ISARIC WHO Clinical Characterisation Protocol // MedRxiv. – 2020. – P. 2020.04. 23.20076042.
11. Zhou F. [et al.] Clinical course and risk factors for mortality of adult inpatients with COVID-19 in Wuhan, China: a retrospective cohort study // The lancet. – 2020. – Vol. 395. – №. 10229. – P. 1054-1062.
12. Chen N. [et al.] Epidemiological and clinical characteristics of 99 cases of 2019 novel coronavirus pneumonia in Wuhan, China: a descriptive study // The lancet. – 2020. – Vol. 395. – №. 10223. – P. 507-513.
13. Dumas A. [et al.] The role of the lung microbiota and the gut–lung axis in respiratory infectious diseases // Cellular microbiology. – 2018. – Vol. 20. – №. 12. – P. e12966.
14. Memish Z. A. [et al.] Middle East respiratory syndrome // The Lancet. – 2020. – Vol. 395. – №. 10229. – P. 1063-1077.
15. Meyer N. J., Calfee C. S. Novel translational approaches to the search for precision therapies for acute respiratory distress syndrome // The Lancet Respiratory Medicine. – 2017. – Vol. 5. – №. 6. – P. 512-523.
16. Dickson R. P. [et al.] Lung microbiota predict clinical outcomes in critically ill patients // American journal of respiratory and critical care medicine. – 2020. – Vol. 201. – №. 5. – P. 555-563.
17. Kyo M. [et al.] Unique patterns of lower respiratory tract microbiota are associated with inflammation and hospital mortality in acute respiratory distress syndrome // Respiratory research. – 2019. – Vol. 20. – №. 1. – P. 1-9.
18. Dickson R. P. [et al.] Enrichment of the lung microbiome with gut bacteria in sepsis and the acute respiratory distress syndrome // Nature microbiology. – 2016. – Vol. 1. – №. 10. – P. 1-9.
19. Diao B. [et al.] Reduction and functional exhaustion of T cells in patients with coronavirus disease 2019 (COVID-19) // Frontiers in immunology. – 2020. – P. 827.
20. Round J. L. [et al.] The Toll-like receptor 2 pathway establishes colonization by a commensal of the human microbiota // Science. – 2011. – Vol. 332. – №. 6032. – P. 974-977.

21. Cebula A. [et al.] Thymus-derived regulatory T cells contribute to tolerance to commensal microbiota // *Nature*. – 2013. – Vol. 497. – №. 7448. – P. 258-262.
22. Furusawa Y. [et al.] Commensal microbe-derived butyrate induces the differentiation of colonic regulatory T cells // *Nature*. – 2013. – Vol. 504. – №. 7480. – P. 446-450.
23. Smith P. M. [et al.] The microbial metabolites, short-chain fatty acids, regulate colonic Treg cell homeostasis // *Science*. – 2013. – Vol. 341. – №. 6145. – P. 569-573.
24. Hepworth M. R. [et al.] Group 3 innate lymphoid cells mediate intestinal selection of commensal bacteria-specific CD4+ T cells // *Science*. – 2015. – Vol. 348. – №. 6238. – P. 1031-1035.
25. Calverley P. M. A. [et al.] Salmeterol and fluticasone propionate and survival in chronic obstructive pulmonary disease // *New England Journal of Medicine*. – 2007. – Vol. 356. – №. 8. – P. 775-789.
26. Bernard G. R. [et al.] High-dose corticosteroids in patients with the adult respiratory distress syndrome // *New England Journal of Medicine*. – 1987. – Vol. 317. – №. 25. – P. 1565-1570.
27. Салухов В.В. Роль и место глюкокортикостероидов в терапии пневмоний, вызванных COVID-19, без гипоксемии / В. В. Салухов, Е. В. Крюков, А. А. Чугунов [и др.] // *Медицинский совет*. – 2021. – № 12. – С. 162-172.
28. Имамова И.А. Место и роль глюкокортикостероидных препаратов в лечении COVID-19: от теории к практике / И. А. Имамова, М. Д. Ахмедова, Л. Н. Туйчиев, [и др.] // *Инфекционные болезни*. – 2022. – Т. 20. – № 2. – С. 104-111.
29. Murray C. J. L. [et al.] Global burden of bacterial antimicrobial resistance in 2019: a systematic analysis // *The Lancet*. – 2022. – Vol. 399. – №. 10325. – P. 629-655.
30. Blair J. M. A. [et al.] Molecular mechanisms of antibiotic resistance // *Nature reviews microbiology*. – 2015. – Vol. 13. – №. 1. – P. 42-51.
31. Rhee C. [et al.] Prevalence of antibiotic-resistant pathogens in culture-proven sepsis and outcomes associated with inadequate and broad-spectrum empiric antibiotic use // *JAMA Network Open*. – 2020. – Vol. 3. – №. 4. – P. e202899-e202899.
32. Ch B. B. Des germes si ordinaires // *Le recherché*. – 1994. – Vol. 25. – P. 706-9.
33. Головерова Ю.А. Уровень заболеваемости инфекциями, связанными с оказанием медицинской помощи, в отделениях высокого эпидемиологического риска инфицирования / Ю.А. Головерова, Г.Г. Марьин, С.В. Шабалина, [и др.] // *Инфекционные болезни*. – 2019. – Т. 17. – № 3. – С. 69–73.
34. 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, [и др.] // *Инфекционные болезни*. – 2022. – Т. 20 - № 2. – С. 33-40.
35. Versteeg G. A. [et al.] Group 2 coronaviruses prevent immediate early interferon induction by protection of viral RNA from host cell recognition // *Virology*. – 2007. – Vol. 361. – №. 1. – P. 18-26.
36. Rynda-Apple A., Robinson K. M., Alcorn J. F. Influenza and bacterial superinfection: illuminating the immunologic mechanisms of disease // *Infection and immunity*. – 2015. – Vol. 83. – №. 10. – P. 3764-3770.
37. Bengoechea J. A., Sa Pessoa J. *Klebsiella pneumoniae* infection biology: living to counteract host defences // *FEMS microbiology reviews*. – 2019. – Vol. 43. – №. 2. – P. 123-144.
38. Hoffmann M. [et al.] SARS-CoV-2 cell entry depends on ACE2 and TMPRSS2 and is blocked by a clinically proven protease inhibitor // *Cell*. – 2020. – Vol. 181. – №. 2. – P. 271-280. e8.
39. Lamers M. M. [et al.] SARS-CoV-2 productively infects human gut enterocytes // *Science*. – 2020. – Vol. 369. – №. 6499. – P. 50-54.
40. Zhu X. [et al.] Co-infection with respiratory pathogens among COVID-2019 cases // *Virus research*. – 2020. – Vol. 285. – P. 198005.
41. Попова А.Ю. Особенности этиологии внебольничных пневмоний, ассоциированных с COVID-19 / А.Ю. Попова, Е.Б. Ежлова, Ю.В. Демина, [и др.] // *Проблемы особо опасных инфекций*. – 2020. – № 1. – С. 99–105.

42. Фесенко О.В. Пневмонии, вызванные *Klebsiella pneumoniae* (фридлендеровские пневмонии) / О.В. Фесенко, С.Н. Швайко // Практическая пульмонология. – 2019. - № 1. – С. 22–31.
43. Катаева Л.В. Микробиота нижних дыхательных путей при внебольничных пневмониях, в том числе ассоциированных с SARS-CoV-2 / Л.В. Катаева, А.А. Вакарина, Т.Ф. Степанова, К.Б. Степанова // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. – 2021. – Т. 98 - № 5. – С. 528–537.
44. Mader R. [et al.] Building the European antimicrobial resistance surveillance network in veterinary medicine (EARS-Vet) // Eurosurveillance. – 2021. – Т. 26. – №. 4. – С. 2001359.
45. Шайдуллина Э.Р. Антибиотикорезистентность нозокомиальных карбапенемазопродуцирующих штаммов *Enterobacterales* в России: результаты эпидемиологического исследования 2014-2016 гг. / Э.Р. Шайдуллина, М.В. Эйдельштейн, Е.Ю. Склеенова, [и др.] // Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. – 2018. – Т. 20 - № 4. – С. 362-369.
46. Козлова Н.С. Антибиотикорезистентность возбудителей гнойно-септических инфекций в многопрофильном стационаре/ Н.С. Козлова, Н.Е. Баранцевич, Е.П. Баранцевич // Проблемы медицинской микологии. – 2018. – Т. 20. - № 1 – С. 40-48.
47. Смирнова М.В. Антибиотикорезистентность штаммов энтеробактерий, выделенных из крови / М.В. Смирнова, С.Д. Артемук, Е.И. Белькова, [и др.] // Медицина: теория и практика. – 2019. – Т. 4 - № 3. – С. 91-98.
48. Козлова Н.С. Чувствительность к антибиотикам штаммов *Klebsiella pneumoniae*, выделенных в многопрофильном стационаре / Н.С. Козлова, Н.Е. Баранцевич, Е.П. Баранцевич // Инфекция и иммунитет. – 2018. – Т. 8. - № 1 – С. 79-84.
49. Сбойчаков В.Б. Медицинская микробиология: учебник для курсантов и студентов факультетов подготовки врачей Военно-медицинская академия имени С.М. Кирова / В.Б. Сбойчаков, А.В. Москалев, В.А. Андреев, [и др.]. – Санкт-Петербург, 2017. – 448 с.
50. Леонов В.В. Микробные сидерофоры: строение, свойства и функции / В.В. Леонов, А.Ю. Миронов, И.В. Ананьина, [и др.] // Астраханский медицинский журнал. – 2016. Т. 11 - № 4. – С. 24-37.
51. Dumitru I.M. [et al.] Carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* associated with COVID-19 // Antibiotics. – 2021. – Vol. 10. – №. 5. – P. 561.
52. Zhou F. [et al.] Clinical course and risk factors for mortality of adult inpatients with COVID-19 in Wuhan, China: a retrospective cohort study // The lancet. – 2020. – Vol. 395. – №. 10229. – P. 1054-1062.
53. Ruan Q. [et al.] Clinical predictors of mortality due to COVID-19 based on an analysis of data of 150 patients from Wuhan, China // Intensive care medicine. – 2020. – Vol. 46. – №. 5. – P. 846-848.
54. Ahmed S. [et al.] Prognostic value of serum procalcitonin in COVID-19 patients: a systematic review // Indian journal of critical care medicine: peer-reviewed, official publication of Indian Society of Critical Care Medicine. – 2021. – Vol. 25. – №. 1. – P. 77.
55. COVID-19 rapid guideline: antibiotics for pneumonia in adults in hospital. NICE guideline. Published: 1 May 2020. Available at: [www.nice.org.uk/guidance/ng173](http://www.nice.org.uk/guidance/ng173).
56. Borges do Nascimento I.J. [et al.] Novel coronavirus infection (COVID-19) in humans: a scoping review and meta-analysis // Journal of clinical medicine. – 2020. – Т. 9. – №. 4. – С. 941.
57. Ebell M.H. [et al.] Accuracy of Signs and Symptoms for the Diagnosis of Community-acquired Pneumonia: A Meta-analysis // Academic Emergency Medicine. – 2020. – Vol. 27. – №. 7. – P. 541-553.
58. Синопальников А.И. Пандемия COVID-19 – "пандемия" антибактериальной терапии / А.И. Синопальников // Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. – 2021. – Т. 23. – № 1. – С. 5-15.
59. Yap F.H.Y. [et al.] Increase in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* acquisition rate and change in pathogen pattern associated with an outbreak of severe acute respiratory syndrome // Clinical infectious diseases. – 2004. – Vol. 39. – №. 4. – P. 511-516.

60. World Health Organization [et al.] International Severe Acute Respiratory and Emerging Infections Consortium (ISARIC). COVID-19 core case report form. acute respiratory infection clinical characterisation data tool, 2016.
61. Langford B.J. [et al.] Antibiotic prescribing in patients with COVID-19: rapid review and meta-analysis // *Clinical microbiology and infection*. – 2021. – Vol. 27. – №. 4. – P. 520-531.
62. George P.M. [et al.] Respiratory follow-up of patients with COVID-19 pneumonia // *Thorax*. – 2020. – Vol. 75. – №. 11. – P. 1009-1016.
63. Zhao Y. [et al.] Follow-up study of the pulmonary function and related physiological characteristics of COVID-19 survivors three months after recovery // *EClinicalMedicine*. – 2020. – Vol. 25. – P. 100463.
64. Цыганко Д.В. Исследование микробиологических особенностей инфекций нижних дыхательных путей в стационаре / Д.В. Цыганко, Н.Г. Бердникова // *Национальная ассоциация ученых*. – 2015. - № 6-3. – С. 36–39.
65. Mirzaei R. [et al.] Bacterial co-infections with SARS-CoV-2 // *IUBMB life*. – 2020. – Vol. 72. – №. 10. – P. 2097-2111.
66. Sharifipour E. [et al.] Evaluation of bacterial co-infections of the respiratory tract in COVID-19 patients admitted to ICU // *BMC infectious diseases*. – 2020. – Vol. 20. – №. 1. – P. 1-7.
67. Mahmoudi H. Bacterial co-infections and antibiotic resistance in patients with COVID-19 // *GMS hygiene and infection control*. – 2020. – Vol. 15.
68. Свистушкин В.М. Антибактериальная терапия заболеваний лор-органов во время пандемии COVID-19 / В.М. Свистушкина, Г.Н. Никифорова, П.С. Артамонова // *Consilium Medicum*. – 2020. – Т. 22 - № 11. – С. 10–15.
69. Калмансон Л.М. Влияние нозокомиальной инфекции на тяжесть течения и исход заболевания у пациентов с COVID-19 тяжелого и крайне тяжелого течения / Л.М. Калмансон, И.В. Шлык, Ю.С. Полушин, [и др.] // *Вестник анестезиологии и реаниматологии*. - 2021. - Т. 18, № 6. - С. 15-21.
70. Grasselli G. [et al.] Hospital-acquired infections in critically ill patients with COVID-19 // *Chest*. – 2021. – Vol. 160. – №. 2. – P. 454-465.
71. Bacterial infections in hospitalized COVID-19 patients - what we know so far. Ontario Agency for Health Protection and Promotion (Public Health Ontario). Toronto, ON: Queens Printer for Ontario, 2020.
72. Pickens C. O. [et al.] Bacterial superinfection pneumonia in patients mechanically ventilated for COVID-19 pneumonia // *American journal of respiratory and critical care medicine*. – 2021. – Vol. 204. – №. 8. – P. 921-932.
73. Möhlenkamp S., Thiele H. Ventilation of COVID-19 patients in intensive care units // *Herz*. – 2020. – Vol. 45. – №. 4. – P. 329-331.
74. Бычинин М.В. Нозокомиальная инфекция у пациентов с тяжелым и крайне тяжелым течением COVID-19 / М.В. Бычинин, И.О. Антонов, Т.В. Клыпа [и др.] // *Общая реаниматология*. – 2022. – Т. 18 - № 1 – С. 4–10.
75. Куцевалова О.Ю. Современные проблемы антибиотикорезистентности грамотрицательных возбудителей нозокомиальных инфекций в Ростовской области / О.Ю. Куцевалова, И.О. Покудина, Д.А. Розенко, [и др.] // *Медицинский вестник Юга России*. – 2019. – Т. 10 - № 3 – С. 91–96.
76. Временные методические рекомендации. Профилактика, диагностика и лечение новой коронавирусной инфекции (COVID-19) № 7 (03.06.2020). Утверждены Заместителем Министра здравоохранения Российской Федерации Е. Г. Камкиным: Минздрав РФ. – 166 с.
77. Seligman R. [et al.] Risk factors for infection with multidrug-resistant bacteria in non-ventilated patients with hospital-acquired pneumonia // *Jornal Brasileiro de Pneumologia*. – 2013. – Vol. 39. – P. 339-348.
78. Hennequin C., Robin F. Correlation between antimicrobial resistance and virulence in *Klebsiella pneumoniae* // *European journal of clinical microbiology & infectious diseases*. – 2016. – Vol. 35. – P. 333-341.

79. Paczosa M.K., Mecsas J. *Klebsiella pneumoniae*: going on the offense with a strong defense // *Microbiology and molecular biology reviews*. – 2016. – Vol. 80. – №. 3. – P. 629-661.
80. Patro L.P.P., Rathinavelan T. Targeting the sugary armor of *Klebsiella* species // *Frontiers in cellular and infection microbiology*. – 2019. – Vol. 9. – P. 367.
81. Wang G. [et al.] The characteristic of virulence, biofilm and antibiotic resistance of *Klebsiella pneumoniae* // *International Journal of Environmental Research and Public Health*. – 2020. – Vol. 17. – №. 17. – P. 6278.
82. Козлова Н.С. Чувствительность к антибиотикам энтеробактерий различного происхождения в многопрофильном стационаре / Н.С. Козлова, Н.Е. Баранцевич, Л.В. Иванова, [и др.] // *Проблемы медицинской микологии*. – 2016. – Т. 18 - № 3. – С. 30-35.
83. Комисарова Е.В. Гипервирулентная *Klebsiella pneumoniae* – новая инфекционная угроза / Е.В. Комисарова, Н.В. Воложанцев // *Инфекционные болезни*. – 2019. – Т. 17 – № 3. – С. 81–89.
84. Martin R. M., Bachman M. A. Colonization, infection, and the accessory genome of *Klebsiella pneumoniae* // *Frontiers in cellular and infection microbiology*. – 2018. – Vol. 8. – P. 4.
85. Fursova N.K. [et al.] Phenotypes and genotypes of classical and hypervirulent *Klebsiella pneumoniae* clinical strains isolated in Moscow in 2013–2018 // *Russian Journal of Infection and Immunity*. – 2018. – Vol. 8. – №. 4. – P. 603.
86. Семенова Д.Р. Частота колонизации «гипервирулентными» штаммами *Klebsiella pneumoniae* новорожденных и грудных детей с внебольничной и нозокомиальной клебсиеллезной инфекцией / Д.Р. Семенова, И.В. Николаева, С.В. Фиалкина, [и др.] // *Российский вестник перинатологии и педиатрии*. – 2020. – Т. 65 - № 5. – С. 158-163.
87. Tumbarello M. [et al.] Predictors of mortality in bloodstream infections caused by *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase-producing *K. pneumoniae*: importance of combination therapy // *Clinical infectious diseases*. – 2012. – Vol. 55. – №. 7. – P. 943-950.
88. Аскерова Ш. Вторичная респираторная микрофлора у пациентов с COVID-19 // *Buletinul Academiei de Ştiinţe a Moldovei. Ştiinţe Medicale*. – 2021. – Т. 69. – №. 1. – С. 35-38.
89. Временные методические рекомендации. Профилактика, диагностика и лечение новой коронавирусной инфекции (COVID-19) № 16 (18.08.2022). Утверждены Заместителем Министра здравоохранения Российской Федерации Е. Г. Камкиным: Минздрав РФ. – 249 с.
90. Респираторная медицина: руководство: в 3 т. / под ред. А. Г. Чучалина. – 2-е изд., перераб. и доп. – М.: Литтерра, 2017, с. 475.
91. Ортенберг, Э. А. Почти два года с COVID-19: некоторые аспекты использования антибиотиков / Э. А. Ортенберг // *Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия*. – 2021. – Т. 23. – № 3. – С. 248-253.
92. А.Г.Чучалин, Синопальников А.И., Яковлев С.В. [и др.] Внебольничная пневмония у взрослых: практические рекомендации по диагностике, лечению и профилактике. Пособие для врачей. – М.: 2003.
93. Белобородов В.Б. Диагностика и антимикробная терапия инфекций, вызванных полирезистентными микроорганизмами / В.Б. Белобородов, В.Г. Гусаров, А.В. Дехнич, [и др.]. Методические рекомендации // *Вестник анестезиологии и реаниматологии*. – 2020. - Т. 17 – № 1. – С. 52-83.
94. Rhodes A. [et al.] Surviving sepsis campaign: international guidelines for management of sepsis and septic shock: 2016 // *Intensive care medicine*. – 2017. – Vol. 43. – P. 304-377.
95. Белобородов В. Б., Голощапов О. В., Гусаров В. Г., [и др.] Методические рекомендации Российской некоммерческой общественной организации «Ассоциация анестезиологов-реаниматологов», Межрегиональной общественной организации «Альянс клинических химиотерапевтов и микробиологов», Межрегиональной ассоциации по клинической микробиологии и антимикробной химиотерапии (МАКМАХ), общественной организации «Российский Сепсис Форум» «Диагностика и антимикробная терапия инфекций, вызванных полирезистентными штаммами микроорганизмов» (обновление 2022 г.) // *Вестник анестезиологии и реаниматологии*. – 2022. – Т. 19, № 2. – С. 84-114. DOI: 10.21292/2078-5658-2022-19-2-84-114

96. Временные методические рекомендации. Профилактика, диагностика и лечение новой коронавирусной инфекции (COVID-19) № 12 (21.09.2021). Утверждены Заместителем Министра здравоохранения Российской Федерации Е.Г. Камкиным: Минздрав РФ. – 235 с.

97. Ronco C., Reis T. Kidney involvement in COVID-19 and rationale for extracorporeal therapies // *Nature Reviews Nephrology*. – 2020. – Vol. 16. – №. 6. – P. 308-310.

98. Malard B., Lambert C., Kellum J.A. In vitro comparison of the adsorption of inflammatory mediators by blood purification devices // *Intensive care medicine experimental*. – 2018. – Vol. 6. – P. 1-13.

99. Padala S. A. [et al.] First reported use of highly adsorptive hemofilter in critically ill COVID-19 patients in the USA // *Journal of Clinical Medicine Research*. – 2020. – Vol. 12. – №. 7. – P. 454.

100. Zhang H. [et al.] The absorbing filter Oxiris in severe coronavirus disease 2019 patients: A case series // *Artificial Organs*. – 2020. – Vol. 44. – №. 12. – P. 1296-1302.

101. Cruz D.N. [et al.] Early use of polymyxin B hemoperfusion in abdominal septic shock: the EUPHAS randomized controlled trial // *JAMA*. – 2009. – Vol. 301. – №. 23. – P. 2445-2452.

102. Dellinger R.P. [et al.] Effect of targeted polymyxin B hemoperfusion on 28-day mortality in patients with septic shock and elevated endotoxin level: the EUPHRATES randomized clinical trial // *JAMA*. – 2018. – Vol. 320. – №. 14. – P. 1455-1463.

103. Klein D.J. [et al.] Polymyxin B hemoperfusion in endotoxemic septic shock patients without extreme endotoxemia: a post hoc analysis of the EUPHRATES trial // *Intensive care medicine*. – 2018. – Vol. 44. – P. 2205-2212.

104. Zagli G. [et al.] Effects of hemoperfusion with an immobilized polymyxin-B fiber column on cytokine plasma levels in patients with abdominal sepsis // *Minerva anesthesiologica*. – 2010. – Vol. 76. – №. 6. – P. 405.

105. Ishiwari M. [et al.] Polymyxin B haemoperfusion treatment for respiratory failure and hyperferritinaemia due to COVID-19 // *Respirology Case Reports*. – 2020. – Vol. 8. – №. 9. – P. e00679.

106. Kusaba Y. [et al.] Successful recovery from COVID-19-associated acute respiratory failure with polymyxin B-immobilized fiber column-direct hemoperfusion // *Internal Medicine*. – 2020. – Vol. 59. – №. 19. – P. 2405-2408.

107. Adamik B. [et al.] Endotoxin elimination in patients with septic shock: an observation study // *Archivum immunologiae et therapeuticae experimentalis*. – 2015. – Vol. 63. – P. 475-483.

108. Singer M. [et al.] The third international consensus definitions for sepsis and septic shock (Sepsis-3) // *JAMA*. – 2016. – Vol. 315. – №. 8. – P. 801-810.

109. Hill C., Mills S., Ross R.P. Phages & antibiotic resistance: are the most abundant entities on earth ready for a comeback? // *Future microbiology*. – 2018. – Vol. 13. – №. 06. – P. 711-726.

110. Ромашов О.М. Оценка резистентности микроорганизмов многопрофильного стационара и модернизация схем антимикробной терапии в условиях пандемии COVID-19 / О.М. Ромашов, О.Г. Ни, А.О. Быков, [и др.] // *Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия*. – 2021. – Т. 23. – № 3. – С. 293-303.

111. Брусина Е.Б. Проблемы комплексного применения бактериофагов для профилактики и лечения / Е.Б. Брусина, О.М. Дроздова, А.В. Алешкин // *Эпидемиология и инфекционные болезни*. – 2018. – № 3. С. 11–15.

112. WHO. World Health Organization (2017) Global Priority List of Antibiotic-Resistance Bacteria to Guide Research, Discovery, and Development of New Antibiotics. Available at: <http://www.who.int>. Accessed: 4 Jan 2018 // *Int. J. Mol. Sci*. 2020. Vol. 21, № 3. P. 1–18.

113. Дарбеева О.С., Майская Л.М., Малышева В.Ф. и соавт. Фаготерапия гнойно-воспалительных заболеваний в урологическом стационаре / О.С. Дарбеева, Л.М. Майская, В.Ф. Малышева // *Материалы междунар. конф. памяти акад. РАМН И.Н. Блохиной «Фундаментальные и прикладные проблемы медицинской биотехнологии»*. – Москва, 2000. – С. 67-69. 2.

114. Golkar Z., Bagasra O., Pace D.G. Bacteriophage therapy: a potential solution for the antibiotic resistance crisis // *The Journal of Infection in Developing Countries*. – 2014. – Vol. 8. – №. 02. – P. 129-136.



115. Schmerer M., Molineux I.J., Bull J.J. Synergy as a rationale for phage therapy using phage cocktails // *PeerJ*. – 2014. – Vol. 2. – P. e590.
116. Rahimi-Midani A., Lee S.W., Choi T.J. Potential solutions using bacteriophages against antimicrobial resistant bacteria // *Antibiotics*. – 2021. – Vol. 10. – №. 12. – P. 1496.
117. Страчунский Л.С., Козлов С.Н. Современная антимикробная химиотерапия. Руководство для врачей. — М.: Боргес, 2002.
118. Бондаренко В.М. Роль условно-патогенных бактерий кишечника в полиорганной патологии человека. – М.: Триада, 2007. – 60 с.
119. Бондаренко В.М. Клинический эффект и пути рационального использования лечебных бактериофагов в медицинской практике / В.М. Бондаренко // *Фарматека*. – 2011. – Т. 1 - № 214 – С. 29-34.
120. Летаров А.В. Современные концепции биологии бактериофагов. – М.: ТД ДеЛи, 2019. – 384 с.
121. Campbell A. The future of bacteriophage biology // *Nature Reviews Genetics*. – 2003. – Vol. 4. – №. 6. – P. 471-477.
122. Ackermann H.W. 5500 Phages examined in the electron microscope // *Archives of virology*. – 2007. – Vol. 152. – P. 227-243.
123. Fokine A. [et al.] Structural and functional similarities between the capsid proteins of bacteriophages T4 and HK97 point to a common ancestry // *Proceedings of the National Academy of Sciences*. – 2005. – Vol. 102. – №. 20. – P. 7163-7168.
124. Storms Z.J., Sauvageau D. Modeling tailed bacteriophage adsorption: Insight into mechanisms // *Virology*. – 2015. – Vol. 485. – P. 355-362.
125. Bertozzi Silva J., Storms Z., Sauvageau D. Host receptors for bacteriophage adsorption // *FEMS microbiology letters*. – 2016. – Vol. 363. – №. 4. – P. fnw002.
126. Leiman P.G., Shneider M.M. Contractile tail machines of bacteriophages // *Viral molecular machines*. – 2012. – P. 93-114.
127. Акимкин В.Г., Трунилина Р.А., Шахлин Е.В. Клинико-эпидемиологические особенности нозокомиального сальмонеллеза у больных с хирургической патологией: монография. Магнитогорск: ООО «АС», 2008; 172 с.
128. Kuchment A. *The Forgotten Cure: The Past and Future of Phage Therapy*. – Springer Science & Business Media, 2011.
129. Chanishvili N. Phage therapy – history from Twort and d'Herelle through Soviet experience to current approaches // *Advances in virus research*. – 2012. – Vol. 83. – P. 3-40.
130. Бесчастнов В.В. Использование гидрогелевых раневых покрытий в комбинации с бактериофагами / В.В. Бесчастнов, Т.Н. Юданова, С.М. Бегун // *Вестник экспериментальной и клинической хирургии*. – 2020. – Т. 13. - № 3 – С. 279-284.
131. Jault P. [et al.] Efficacy and tolerability of a cocktail of bacteriophages to treat burn wounds infected by *Pseudomonas aeruginosa* (PhagoBurn): a randomised, controlled, double-blind phase 1/2 trial // *The Lancet Infectious Diseases*. – 2019. – Vol. 19. – №. 1. – P. 35-45.
132. Morozova V.V., Vlassov V.V., Tikunova N.V. Applications of bacteriophages in the treatment of localized infections in humans // *Frontiers in microbiology*. – 2018. – Vol. 9. – P. 1696.
133. Леонтьев А.Е. Применение фаготерапии в лечении ожоговых больных / А.Е. Леонтьев, И.В. Павленко, О.В. Ковалишена, [и др.] // *Современные технологии в медицине*. – 2020. – Т. 12 - № 3. – С. 95-104.
134. Rubalskii E. [et al.] Fibrin glue as a local drug-delivery system for bacteriophage PA5 // *Scientific Reports*. – 2019. – Vol. 9. – №. 1. – P. 1-8.
135. Morozova V.V. [et al.] Bacteriophage treatment of infected diabetic foot ulcers // *Bacteriophage therapy: from lab to clinical practice*. – New York, NY: Springer New York, 2017. – P. 151-158.
136. Donlan R.M. Preventing biofilms of clinically relevant organisms using bacteriophage // *Trends in microbiology*. – 2009. – Vol. 17. – №. 2. – P. 66-72.

137. Herridge W.P. [et al.] Bacteriophages of *Klebsiella* spp., their diversity and potential therapeutic uses // *Journal of medical microbiology*. – 2020. – Vol. 69. – №. 2. – P. 176.
138. Duplessis C. [et al.] Refractory *Pseudomonas* bacteremia in a 2-year-old sterilized by bacteriophage therapy // *Journal of the Pediatric Infectious Diseases Society*. – 2018. – Vol. 7. – №. 3. – P. 253-256.
139. Schooley R. T. [et al.] Development and use of personalized bacteriophage-based therapeutic cocktails to treat a patient with a disseminated resistant *Acinetobacter baumannii* infection // *Antimicrobial agents and chemotherapy*. – 2017. – Vol. 61. – №. 10. – P. e00954-17.
140. Ujmajuridze A. [et al.] Adapted bacteriophages for treating urinary tract infections // *Frontiers in microbiology*. – 2018. – Vol. 9. – P. 1832.
141. Leitner L. [et al.] Bacteriophages for treating urinary tract infections in patients undergoing transurethral resection of the prostate: a randomized, placebo-controlled, double-blind clinical trial // *BMC urology*. – 2017. – Vol. 17. – P. 1-6.
142. Bao J. [et al.] Non-active antibiotic and bacteriophage synergism to successfully treat recurrent urinary tract infection caused by extensively drug-resistant *Klebsiella pneumoniae* // *Emerging microbes & infections*. – 2020. – Vol. 9. – №. 1. – P. 771-774.
143. Zalewska-Piątek B., Piątek R. Phage therapy as a novel strategy in the treatment of urinary tract infections caused by *E. coli* // *Antibiotics*. – 2020. – Vol. 9. – №. 6. – P. 304.
144. Górski A. [et al.] Phage therapy in prostatitis: recent prospects // *Frontiers in Microbiology*. – 2018. – Vol. 9. – P. 1434.
145. Xiong S. [et al.] Pharmacological interventions for bacterial prostatitis // *Frontiers in pharmacology*. – 2020. – Vol. 11. – P. 504.
146. LaVergne S. [et al.] Phage therapy for a multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* craniectomy site infection // *Open forum infectious diseases*. – US: Oxford University Press, 2018. – Vol. 5. – №. 4. – P. ofy064.
147. Junghans S. [et al.] Bacteriophages for the Treatment of Graft Infections in Cardiovascular Medicine // *Antibiotics*. – 2021. – Vol. 10. – №. 12. – P. 1446.
148. Eskenazi A. [et al.] Combination of pre-adapted bacteriophage therapy and antibiotics for treatment of fracture-related infection due to pandrug-resistant *Klebsiella pneumoniae* // *Nature communications*. – 2022. – Vol. 13. – №. 1. – P. 302.
149. Nir-Paz R. [et al.] Successful treatment of antibiotic-resistant, poly-microbial bone infection with bacteriophages and antibiotics combination // *Clinical Infectious Diseases*. – 2019. – Vol. 69. – №. 11. – P. 2015-2018.
150. Luong T., Salabarria A.C., Roach D.R. Phage therapy in the resistance era: where do we stand and where are we going? // *Clinical therapeutics*. – 2020. – Vol. 42. – №. 9. – P. 1659-1680.
151. Hesse S. [et al.] Phage resistance in multidrug-resistant *Klebsiella pneumoniae* ST258 evolves via diverse mutations that culminate in impaired adsorption // *MBio*. – 2020. – Vol. 11. – №. 1. – P. e02530-19.
152. Бехтерева М.К. Место бактериофагов в терапии инфекционных заболеваний желудочно-кишечного тракта / М.К. Бехтерева, В.В. Иванова // *Педиатрия. Приложение к журналу Consilium medicum*. – 2014. – № 2. – С. 24-29.
153. Febvre H. P. [et al.] PHAGE study: effects of supplemental bacteriophage intake on inflammation and gut microbiota in healthy adults // *Nutrients*. – 2019. – Vol. 11. – №. 3. – P. 666.
154. Barr J. J. [et al.] Bacteriophage adhering to mucus provide a non-host-derived immunity // *Proceedings of the National Academy of Sciences*. – 2013. – Vol. 110. – №. 26. – P. 10771-10776.
155. Anand T. [et al.] Phage therapy for treatment of virulent *Klebsiella pneumoniae* infection in a mouse model // *Journal of global antimicrobial resistance*. – 2020. – Vol. 21. – P. 34-41.
156. Murray Patrick R., Ken S. Rosenthal, Michael A. Pfaller: *Medical Microbiology*, 9 ed. ISBN: 0323673228 ISBN-13(EAN): 9780323673228 Elsevier Science
157. Bankevich A. [et al.] SPAdes: a new genome assembly algorithm and its applications to single-cell sequencing // *Journal of computational biology*. – 2012. – Vol. 19. – №. 5. – P. 455-477.

158. Lam M.M.C. [et al.] Genetic diversity, mobilisation and spread of the yersiniabactin-encoding mobile element ICEKp in *Klebsiella pneumoniae* populations // *Microbial genomics*. – 2018. – Vol. 4. – №. 9.

159. Wyres K.L. [et al.] Identification of *Klebsiella* capsule synthesis loci from whole genome data // *Microbial genomics*. – 2016. – Vol. 2. – №. 12.

160. Lam M.M.C. [et al.] Kaptive 2.0: updated capsule and lipopolysaccharide locus typing for the *Klebsiella pneumoniae* species complex // *Microbial genomics*. – 2022. – Vol. 8. – №. 3.

161. Определение чувствительности микроорганизмов к антибактериальным препаратам: Методические указания. — М.: Федеральный центр госсанэпиднадзора Минздрава России, 2004. – 91 с.

162. Reynvoet E. [et al.] Epidemiology of infection in critically ill patients with acute renal failure // *Critical care medicine*. – 2009. – Vol. 37. – №. 7. – P. 2203-2209.

163. Вельков В.В. Цистатин С: новые возможности и новые задачи для лабораторной диагностики. Часть 1 / В.В. Вельков // *Клинико-лабораторный консилиум*. – 2010. – № 5. – С. 23–31.

164. Bagshaw S.M. [et al.] Acute kidney injury in septic shock: clinical outcomes and impact of duration of hypotension prior to initiation of antimicrobial therapy // *Intensive care medicine*. – 2009. – Vol. 35. – P. 871-881.

165. Lopes J.A. [et al.] Long-term risk of mortality after acute kidney injury in patients with sepsis: a contemporary analysis // *BMC nephrology*. – 2010. – Vol. 11. – P. 1-10.

166. Вельков В.В. Цистатин С: новые возможности и новые задачи для лабораторной диагностики. Часть 3 / В.В. Вельков // *Клинико-лабораторный консилиум*. – 2011. – № 2. – С. 31–39.

167. Inker L.A., Okparavero A. Cystatin C as a marker of glomerular filtration rate: prospects and limitations // *Current opinion in nephrology and hypertension*. – 2011. – Vol. 20. – №. 6. – P. 631-639.

168. Hjortrup P.B. [et al.] Clinical review: Predictive value of neutrophil gelatinase-associated lipocalin for acute kidney injury in intensive care patients // *Critical care*. – 2013. – Vol. 17. – №. 2. – P. 1-11.

169. Aydoğdu M. [et al.] The use of plasma and urine neutrophil gelatinase associated lipocalin (NGAL) and Cystatin C in early diagnosis of septic acute kidney injury in critically ill patients // *Disease Markers*. – 2013. – Vol. 34. – №. 4. – P. 237-246.

170. Wheeler D. S. [et al.] Serum neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL) as a marker of acute kidney injury in critically ill children with septic shock // *Critical care medicine*. – 2008. – Vol. 36. – №. 4. – P. 1297.

171. Синьков С.В. Новые критерии сепсис-индуцированной коагулопатии / С.В. Синьков, Е.В. Ройтман, И.Б. Заболотских // *Вестник интенсивной терапии имени А.И. Салтанова*. – 2019. – № 3. – С. 52-57. – DOI 10.21320/1818-474X-2019-3-52-57. – EDN PBKLMY.

172. Arutyunov G.P., Koziolova N.A., Tarlovskaya E.I. [et al.] The Agreed Experts' Position of the Eurasian Association of Therapists on Some new Mechanisms of COVID-19 Pathways: Focus on Hemostasis, Hemotransfusion Issues and Blood gas Exchange. *Kardiologiya*. 2020; 60(5):4–14. [Russian: Арутюнов Г.П., Козиолова Н.А., Тарловская Е.И. [и др.] Согласованная позиция экспертов Евразийской ассоциации терапевтов по некоторым новым механизмам патогенеза COVID-19: фокус на гемостаз, вопросы гемотрансфузии и систему транспорта газов крови. *Кардиология*. 2020; 60(5):4–14.]

173. Ярошецкий А.И., Грицан А.И., Авдеев С.Н., [и др.] Диагностика и интенсивная терапия острого респираторного дистресс-синдрома (Клинические рекомендации Общероссийской общественной организации «Федерация анестезиологов и реаниматологов») // *Анестезиология и реаниматология*. 2020; (2):5-39.

174. Заболотских И.Б., Киров М.Ю., Лебединский К.М., [и др.] Анестезиолого-реанимационное обеспечение пациентов с новой коронавирусной инфекцией COVID-19. Методические рекомендации Общероссийской общественной организации «Федерация анестезиоло-

гов и реаниматологов». Вестник интенсивной терапии им. А.И. Салтанова. 2022; 1:5–140. – DOI 10.21320/1818-474X-2022-1-5-14

175. Ежлова Е.Б., Демина Ю.В., Малеев В.В., [и др.] Эпидемиологический надзор за внебольничными пневмониями. Государственное санитарно-эпидемиологическое нормирование Российской Федерации. Методические указания МУ 3.1.2.3047-13. Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. 2014; 16(2): 88–99.

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

177. Акимкин, В. Г. Бактериофаги: исторические и современные аспекты их применения: опыт и перспективы / В. Г. Акимкин, О. С. Дарбеева, В. Ф. Колков // Клиническая практика. – 2010. – Т. 1, № 4. – С. 48–54.

178. Бенгоэча, Х.А. SARS-CoV-2, бактериальные коинфекции и резистентность к противомикробным препаратам: смертельное трио при COVID-19? / Х.А. Бенгоэча, К.Дж.Дж. Бэмфорд // *Juvenis scientia*. – 2020. – Т. 6, № 5. – С. 42–50.

179. Вельков В.В. Дифференциальная диагностика и мониторинг системных воспалений и сепсиса: хирургия, травмы, ожоги / В.В. Вельков // Клиническая патофизиология. – 2014. – № 3. – С. 3–16.

180. Ермоленко З.М. Микробиологическая порча пищевых продуктов и перспективные направления борьбы с этим явлением / З.М. Ермоленко, Н.К. Фурсова // Бактериология. – 201. – Т. 3, № 3. – С. 46–57.

181. Иванова И.А. Бактериофаги и иммунная система макроорганизма / И.А. Иванова, А.А. Труфанова, А.В. Филиппенко [и др.] // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. – 2019. – № 6. – С. 79–84.

182. Калмансон Л.М. Влияние нозокомиальной инфекции на тяжесть течения и исход заболевания у пациентов с COVID-19 тяжелого и крайне тяжелого течения / Л.М. Калмансон, И.В. Шлык, Ю.С. Полушин // Вестник анестезиологии и реаниматологии. – 2021. – Т. 18, № 6. – С. 15–21.

183. Колобухина Л.В. Клинико-лабораторный профиль пациентов с COVID-19, госпитализированных в инфекционный стационар г. Москвы в период с мая по июль 2020 года / Л.В. Колобухина, О.А. Бургасова, Л.А. Краева [и др.] // Инфекционные болезни. – 2021. – Т. 19, № 2. – С. 5–15.

184. Коронавирусная инфекция: диагностика, лечение, профилактика / Сост. Т.Е. Макарова, А.К. Косолапова. – Хабаровск, 2022. – 164 с.

185. Краева Л.А. *Moraxella catarrhalis* как один из бактериальных патогенов при осложненном течении гриппа и ОРЗ / Л.А. Краева, И.С. Петрова, О.А. Бургасова [и др.] // VII Лужские научные чтения. Современное научное знание: теория и практика. Материалы международной научной конференции. – СПб.: Ленинградский государственный университет имени А.С. Пушкина, 2019. – С. 124–128.

186. Петрова И.С. Совершенствование лабораторной диагностики и тактики терапии осложнений гриппа и острых респираторных заболеваний, обусловленных *Moraxella catarrhalis*: дис. ... канд. мед. наук: 14.01.09; 03.02.03 / Петрова Ирина Сергеевна. – Москва, 2019.

187. Селезнева А.А. *Klebsiella pneumoniae* и COVID-19: взаимосвязь в контексте пандемии / А.А. Селезнева, Н.С. Козлова // Здоровье – основа человеческого потенциала: проблемы и пути их решения. – 2021. – Т. 16, № 1. – С. 357–365.

188. Синопальников А.И. Пандемия COVID-19 – «пандемия» антибактериальной терапии / А.И. Синопальников // КМАХ. – 2021. – Т. 23, №1. – С. 5–15.

189. Синьков С.В. Новые критерии сепсис-индуцированной коагулопатии / С.В. Синьков, Е.В. Ройтман, И.Б. Заболотских // Вестник интенсивной терапии имени А.И. Салтанова. – 2019. – № 3. – С. 52–57.