

**АВТОНОМНАЯ НАУЧНАЯ НЕКОММЕРЧЕСКАЯ
ОРГАНИЗАЦИЯ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ НАУЧНО-
ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ЦЕНТР «САНКТ-ПЕТЕРБУРГСКИЙ
ИНСТИТУТ БИОРЕГУЛЯЦИИ И ГЕРОНТОЛОГИИ»**



На правах рукописи

ЕВНЕВИЧ

Юлия Владимировна

**ОСОБЕННОСТИ МИКРОБИОТЫ ОТДЕЛЯЕМОГО
ДЫХАТЕЛЬНЫХ ПУТЕЙ У ЛИЦ ПОЖИЛОГО И СТАРЧЕСКОГО
ВОЗРАСТА ПРИ COVID-19**

3.1.31 – геронтология и гериатрия

ДИССЕРТАЦИЯ

на соискание ученой степени
кандидата биологических наук

Научный руководитель:

доктор медицинских наук, профессор

Титова Ольга Николаевна

Санкт-Петербург – 2023

Оглавление

ВВЕДЕНИЕ	4
Глава 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ	12
1.1. Понятие о коронавирусной инфекции	12
1.2. Возрастные особенности течения COVID-19 у лиц пожилого и старческого возраста	18
1.3. Понятие о микробиоте и ее роль в поддержании здоровья	22
1.4. Микробиоценоз нижних дыхательных путей	25
1.5. Возрастные изменения микробиоты нижних дыхательных путей у лиц старшей возрастной группы	27
1.6. Вторичная бактериальная инфекция и антибиотикорезистентность у лиц пожилого и старческого возраста с COVID-19	29
1.7. Влияние микробиоценоза нижних дыхательных путей на течении и исход коронавирусной инфекции	33
Заключение	35
Глава 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ	36
2.1. Дизайн исследования	36
2.2. Характеристика лиц, включенных и исключенных в исследование	37
2.3. Микробиологические методы исследования	39
2.3.1. Методики сбора и транспортировки материала	39
2.3.2. Методики первичного посева биоматериала и идентификации выделенных культур	40
2.3.3. Методики определения чувствительности и интерпритации к антибактериальным препаратам	41
2.5. Молекулярно-биологические методы исследования	42
2.6. Статистическая обработка данных	44

Глава 3. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ	45
3.1. Особенности микробиоты нижних дыхательных путей у лиц разных возрастных групп с подтверждённым диагнозом COVID-19.....	45
3.2. Сравнительная характеристика микробиоты нижних дыхательных путей у лиц пожилого и старческого возраста с диагнозом пневмония ассоциированная и неассоциированная с коронавирусной инфекцией.....	49
3.3. Анализ микробиоты у лиц старшей возрастной группы с диагнозом COVID-19 с учетом стратегии антибактериальной терапии и нахождения в реанимационных и прочих отделениях	51
3.4. Оценка выживаемости лиц пожилого и старческого возраста с коронавирусной инфекцией на госпитальном периоде	64
3.5. Влияние микробиоты нижних дыхательных путей у лиц разных возрастных групп с COVID-19 на длительность пребывания в стационаре...	72
3.6. Особенности микробиоценоза нижних дыхательных путей, коррелирующие с исходами COVID-19 у лиц разных возрастных групп	78
Глава 4. ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ	85
ВЫВОДЫ.....	92
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ.....	95
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ.....	96
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	98

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность исследования

Изучение микробиоценозов организма человека является актуальной биологической задачей. Наиболее значимыми достижениями современной биологии и медицины является прогресс в исследовании микробиоты и ее роли в поддержании здоровья человека [Батурин В. А., 2021]. Микробиотой называется популяция микроорганизмов, которые в норме и при патологии сосуществуют с человеком [Буслаев В. Ю., 2022].

Наибольшее количество работ по исследованию микробиоты посвящено кишечнику [Паромова Я. И., 2020; Гриневич В. Б., 2020; Гаус О. В. и др., 2021]. Микробиом респираторного тракта остается малоизученным, однако заболевания именно этого отдела одна из наиболее распространенных причин смертности во всем мире [Попова Л. А., 2021]. Стоит отметить, что микробиоценоз слизистых оболочек дыхательных путей представляет собой мощный естественный противомикробный барьер [Gurov A. V., 2021]. С развитием в 2020 году пандемии коронавирусной инфекции, вызванной SARS-CoV-2, стало приоритетным изучение микробиоты дыхательных путей [Катаева Л. В. и др., 2021].

По данным исследования Е. Н. Иевлева (2020г.), лица старше 65 лет наиболее подвержены заболеванию коронавирусной инфекцией. Высокая летальность отмечается у лиц старше 60 лет, максимальный показатель зафиксирован в группе лиц старше 80 лет [Горенков Д. В., 2020]. Исследования, проведенные в Китае и других странах, показывают, что риск более тяжелого течения COVID-19 выше у людей пожилого и старческого возраста [Palmieri L., 2020; Wang D., 2020; Wu C., 2020]. Люди старшей возрастной группы подвержены серьезным осложнениям коронавирусной инфекции с более высоким уровнем смертности, что связывают со снижением функции иммунной системы, происходящей с возрастом, снижением физиологических резервов, полиморбидностью [Liu Y., 2020].

Также следует отметить проблему роста резистентности микроорганизмов к антибактериальным препаратам, которая приняла глобальный характер. Инфекции, вызванные антибиотикорезистентными штаммами микроорганизмов, чаще требуют удлинения сроков пребывания в лечебном учреждении, применения комбинированной антибактериальной терапии с включением резервных препаратов [Мудрицкая Т. Н., 2020].

На фоне пандемии коронавирусной инфекции в России значительно увеличилось бесконтрольное использование антибактериальных препаратов, что, в свою очередь, способствует распространению устойчивых штаммов микроорганизмов и чрезвычайно высоким рискам неблагоприятных исходов [Козлов Р. С., 2020; Getahun H., 2020; Mahmoudi H., 2020]. Во многом они связаны и с нарушением микробиоты организма, влияющей практически на все его органы и системы.

В связи с тем, что проанализированные нами зарубежные и российские литературные источники указывают на то, что у лиц старших возрастных групп COVID-19 протекает тяжелее и летальность при данном заболевании выше, чем у более молодых групп людей, вопрос изучения особенностей микробного пейзажа у лиц пожилого и старческого возраста представляется актуальным, но по-прежнему мало изученным.

Цель и задачи исследования

Изучить особенности микробиоты нижних дыхательных путей у лиц пожилого и старческого возраста при COVID-19 и ее влияние на течение заболевания.

1. Выявить особенности микробиоты нижних дыхательных путей в разных возрастных группах у лиц с подтверждённым диагнозом COVID-19.
2. Проанализировать различия микробиоты нижних дыхательных путей у лиц пожилого и старческого возраста с диагнозом пневмония ассоциированная и неассоциированная с коронавирусной инфекцией.

3. Провести анализ микробиоты нижних дыхательных путей с учетом стратегии антибактериальной терапии и нахождения в реанимационных и прочих отделениях у лиц старше 60 лет с коронавирусной инфекцией.
4. Выявить прогностически значимые особенности микробиоценоза нижних дыхательных путей, коррелирующие с благоприятным и летальным исходами у лиц разных возрастных групп с COVID-19.

Научная новизна исследования

Впервые определены микроорганизмы, выделенные из нижних дыхательных путей, у лиц разных возрастных групп с коронавирусной инфекцией и идентифицированные при помощи MALDI-ToF масс-спектрометрии. Это дало возможность выделить наиболее значимые микроорганизмы, ассоциированные с присоединением бактериальной инфекции и осложнением течения COVID-19. Было показано, что микробиоценоз нижних дыхательных путей при коронавирусной инфекции преимущественно представлен альфа-гемолитическими стрептококками, дрожжеподобными грибами *Candida albicans* и грамотрицательными бактериями *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii* и *Pseudomonas aeruginosa*.

Впервые проведено сравнение микроорганизмов, выделенных из нижних дыхательных путей у лиц разных возрастных групп при коронавирусной инфекции. Установлено, что одним из отягощающих факторов течения данного заболевания у лиц пожилого и старческого возраста является тенденция увеличения с возрастом частоты обнаружения патогенных микроорганизмов *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii* и *Candida non albicans* и снижения представителей микробиоты альфа-гемолитических стрептококков, в сравнении с лицами в возрасте 18-59 лет.

Впервые выявлено, что у лиц старшей возрастной группы с коронавирусной инфекцией бактериальная инфекция присоединяется чаще (в отделениях реанимации и интенсивной терапии *Pseudomonas aeruginosa* в 1,5

раза, а в прочих отделениях *Klebsiella pneumoniae* в 2 раза), чем у лиц младше 59 лет.

Показано влияние изменения стратегии антибактериальной терапии у лиц старше 60 лет с коронавирусной инфекцией на уменьшение частоты присоединения бактериальных инфекций. У лиц старше 60 лет в отделениях реанимации при назначении антибактериальных препаратов при признаках присоединения вторичной бактериальной инфекции, в сравнении с этиотропным назначением антибактериальной терапии при лечении COVID-19, доказано сокращение частоты выделения патогенных бактерий *Klebsiella pneumoniae* на 11,8% и *Pseudomonas aeruginosa* на 6,3%.

Продемонстрировано, что у лиц пожилого возраста в качестве дополнительного предиктора летального исхода может выступать колонизация нижних дыхательных путей при поступлении в стационар *Enterococcus faecium* и микромицетами. У лиц старческого возраста статистически значимых различий обнаружено не было.

Научно-практическая значимость работы

Изучение особенностей микробиоты нижних дыхательных путей позволило выявить достоверные отличия частоты обнаружения патогенных микроорганизмов у лиц разных возрастных групп с COVID-19: в возрасте 60-74 года и 75-89 лет в сравнении с лицами 18-59 лет *Klebsiella pneumoniae* встречалась чаще на 5,4% и 9,7%, *Acinetobacter baumannii* на 1,4% и 6,4% и *Candida non albicans* на 1% и 1,2% соответственно. Также выявлено снижение обнаружения представителя резидентной микрофлоры альфа-гемолитического стрептококка с увеличением возраста. На основе этих результатов создана программа для ЭВМ (микроКОВИД), которая позволяет прогнозировать состав микробиоты нижних дыхательных путей у лиц с COVID-19 с учетом возраста. Это необходимо для разработки индивидуальной стратегии ведения лиц пожилого и старческого возраста с

коронавирусной инфекцией, так как именно эта группа лиц более подвержена бактериальным осложнениям.

Проведенное исследование показало негативное влияние применения антибактериальных препаратов при коронавирусной инфекции без признаков присоединения вторичной бактериальной инфекции среди лиц пожилого и старческого возраста.

У лиц в возрасте 60-74 года и 18-59 лет из нижних дыхательных путей при госпитализации были выявлены микроорганизмы, которые влияют на неблагоприятный исход при COVID-19 (у людей пожилого возраста данными бактериями явились *Enterococcus faecium* и микромицеты, у молодого и среднего возраста - *Klebsiella pneumoniae*). У лиц в возрасте 60-74 года положительное влияние на исход коронавирусной инфекции было выявлено при обнаружении альфа-гемолитического стрептококка. У людей старческого возраста статистически значимых различий обнаружено не было.

Таким образом, полученные результаты исследования вносят вклад в улучшение мониторинга тяжести течения и прогноза заболевания и позволяют использовать персонифицированную тактику ведения пациентов с коронавирусной инфекцией, особенно у лиц пожилого и старческого возраста.

Положения, выносимые на защиту

1. При коронавирусной инфекции имеются возрастные особенности в микробиоте нижних дыхательных путей, а именно, достоверное снижение частоты встречаемости альфа-гемолитических стрептококков у лиц в возрасте 60-74 года на 9% и людей старше 75 лет на 20,3%, в сравнении с лицами более молодого возраста. А так же статистически значимое увеличение патогенных микроорганизмов у лиц пожилого и старческого возраста, в сравнении с лицами в возрасте 18-59 лет: *Klebsiella pneumoniae* встречалась чаще на 5,4% и 9,7%, *Acinetobacter baumannii* на 1,4% и 6,4% и *Candida non albicans* на 1% и 1,2% соответственно.

2. У лиц в возрасте старше 60 лет с коронавирусной инфекцией, в сравнении с людьми той же возрастной группы с диагнозом пневмония, неассоциированная с коронавирусной инфекцией, при поступлении в стационар наблюдается достоверное увеличение частоты обнаружения альфа-гемолитического стрептококка – в 1,4 раза (представитель резидентной микрофлоры), а так же *Candida albicans* в 1,8 раз (возбудитель кандидоза) и *Neisseria subflava* в 11,3 раза (показатель дисбактериоза) и уменьшение частоты встречаемости *Escherichia coli* в 2,6 раз (патогенных микроорганизмов семейства *Enterobacteriaceae*), *Pseudomonas aeruginosa* в 5,7 раз и *Acinetobacter calcoaceticus* в 7,3 раза (неферментирующих грамотрицательных бактерий).

3. У лиц в возрасте старше 60 лет с COVID-19, в сравнении с лицами младше 59 лет, достоверно увеличивается частота присоединения вторичной бактериальной инфекции, а именно, в отделениях реанимации и интенсивной терапии *Pseudomonas aeruginosa* в 1,5 раза, в прочих отделениях *Klebsiella pneumoniae* в 2 раза.

При изменении стратегии антибиотикотерапии у лиц старше 60 лет, находившихся в отделениях реанимации и интенсивной терапии, статистически значимо сократилось обнаружение *Klebsiella pneumoniae* на 11,8% и *Pseudomonas aeruginosa* на 6,3%.

4. У лиц пожилого возраста с коронавирусной инфекцией, умерших на госпитальном периоде, в сравнении с выжившими, при поступлении в стационар выявлено достоверное увеличение выделения представителей патогенной микрофлоры *Enterococcus faecium* на 7,1% и микромицетов на 6,7% и снижение представителя нормальной микрофлоры альфа-гемолитических стрептококков на 26,8%; у лиц старческого возраста достоверных различий обнаружено не было.

Публикации по теме диссертации

По материалам диссертации опубликовано 12 оригинальных научных работ в отечественных журналах, включая из них 7 статей в рецензируемых

научных изданиях, рекомендованных Высшей аттестационной комиссией Министерства образования и науки Российской Федерации для опубликования основных результатов диссертационных, 5 тезисов докладов. Получено 1 свидетельство о государственной регистрации программы для ЭВМ и 2 свидетельства о государственной регистрации базы данных.

Связь с научно-исследовательской работой института

Диссертационная работа выполнена по основному плану научно-исследовательской работы Автономной научной некоммерческой организации высшего образования Научно-исследовательский центр «Санкт-Петербургский институт биорегуляции и геронтологии».

Степень достоверности и апробация результатов диссертации

Достоверность результатов исследования, определяется углубленным анализом литературных источников, посвященных данной проблеме, большим объемом клинического и лабораторного материала, использованием современных высокотехнологичных методик, позволяющих решить поставленные в исследовании задачи. Выводы и практические рекомендации диссертационной работы логично вытекают из полученных результатов и соответствуют цели и задачам исследования. Результаты диссертационной работы доложены и обсуждены на XII Всероссийской научно-практической конференции «Межведомственное взаимодействие в лабораторной диагностике: традиции и инновации» (Санкт-Петербург, 2022).

Внедрение результатов исследования в практику

Результаты работы внедрены в лечебно-диагностическую практику подразделений Санкт-Петербургского государственного бюджетного учреждения здравоохранения «Городская многопрофильная больница № 2», научно-исследовательскую работу лаборатории возрастной клинической патологии отдела клинической геронтологии и гериатрии Автономной

научной некоммерческой организации высшего образования Научно-исследовательский центр «Санкт-Петербургский институт биорегуляции и геронтологии». Получено 1 свидетельство о государственной регистрации программы для ЭВМ и 2 свидетельства о государственной регистрации базы данных.

Личный вклад автора

Автором лично определены цель и задачи исследования, проанализирована отечественная и зарубежная литература по изучаемой проблеме, разработаны методические подходы к проведению исследования. Автор непосредственно производила микробиологические и молекулярно-генетические исследования, статистическую обработку и обобщение полученных материалов, подготовку основных публикаций по выполненной работе, написание и оформление рукописи.

Структура и объем диссертации

Диссертация изложена на 116 страницах машинописного текста и состоит из введения, обзора литературы, материалов и методов исследования, описания результатов собственных исследований, заключения, выводов, библиографического указателя литературы, содержащего ссылки на 188 работ, из них на русском языке – 60, на английском – 128. Работа иллюстрирована 24 рисунками и 13 таблицами.

Глава 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1. Понятие о коронавирусной инфекции

Коронавирусы – семейство РНК-содержащих вирусов, имеющие суперкапсид из которого выдаются большие шиповидные отростки в виде булавы, напоминающие корону [Kirtipal N., Bharadwaj S., Kang S. G., 2020]. Коронавирусы впервые были выделены в 1975 г., в настоящее время существует 4 подсемейства: альфа, бета, дельта и гамма. Известно два рода циркулирующих коронавирусов, вызывающих у человека острые респираторные инфекции (ОРВИ) с поражением верхних дыхательных путей: альфа-коронавирусы (HCoV-229E и HCoV-NL63) и бета-коронавирусы (HCoV-OC43 и HCoV-NKU1) [Щелканов М. Ю. и др., 2020]. Все виды коронавирусов потенциально опасны для человека за счет спонтанных мутаций. [Хайтович А.Б., Ермачкова П.А., 2021].

Коронавирусы обычно вызывают нетяжелые заболевания респираторного тракта, но в конце 2002 года появился коронавирус SARS-CoV, приводящий к тяжелому острому респираторному синдрому (ТОРС). С 2004 года новых случаев заболеваний, вызванного вирусом SARS-CoV зарегистрировано не было [Hasöksüz M., Kiliç S., Saraç F., 2020].

В 2012 году, в Саудовской Аравии, возник MERS-CoV, вызывающий ближневосточный респираторный синдром. Этот вирус не является высоко контагиозным, но инфекция продолжает регистрироваться по настоящее время [Khan M. et al., 2020].

В начале декабря 2019 г. в городе Ухань произошла вспышка пневмонии неустановленной этиологии [Matsumoto T. et al., 2022].

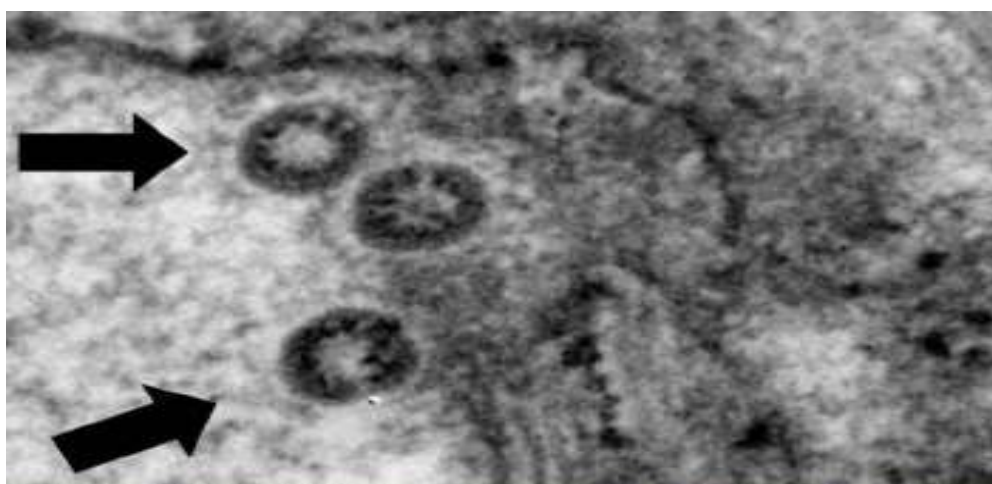
По истечению первых 25 дней заболевание регистрировали уже на всей территории Китайской Народной республики, а затем и за ее пределами [Tian H. et al., 2020]. К концу февраля 2020 г. в Китае насчитывалось более 70 тысяч подтвержденных случаев новой инфекции, из которых почти 3000 закончились летальным исходом. Общее число заболевших в мире на начало марта 2021 г.

составило более 119 миллионов, погибли более 2,65 миллиона человек [Куркина Е.С., Кольцова Е.М., 2021].

11 февраля 2020 г. данная инфекция получила название COVID-2019 (COrona VIrus Disease 2019, коронавирусная болезнь 2019 года), а вызывающий ее вирус был переименован в SARS-CoV-2 (Severe acute respiratory syndrome coronavirus 2, второй коронавирус тяжелого острого респираторного синдрома) [Guan W.J. et al., 2020].

11 марта 2020 г. Всемирная организация здравоохранения (ВОЗ) назвала распространение новой коронавирусной инфекции COVID-19, принявшее мировой масштаб, пандемией [Sohrabi C. et al., 2020], что стало самым большим вызовом XXI века [Zhu N. et al., 2020; Wu Y.C., Chen C.S., Chan Y.J., 2020].

SARS-CoV-2 представляет собой вирус, содержащий одноцепочечный РНК, относящийся к семейству Coronaviridae. Вирус отнесен ко II группе патогенности [Шамшева О.В., 2020].



Электронно-микроскопическая фотография SARS-CoV-2 (изолят BetaCoV/Korea/SNU01/2020 из ротоглоточного смыва пациента с первым лабораторно подтвержденным диагнозом COVID-19 на территории Республики Корея)

Рисунок 1. Электронно-микроскопическая фотография SARS-CoV-2 из ротоглоточного смыва пациента с первым лабораторно подтвержденным диагнозом COVID-19 на территории Республики Корея.

Жизнеспособность SARS-CoV-2 в окружающей среде сохраняется до 2 часов, а на поверхностях от нескольких часов до 2 суток, поэтому данный вирус является высококонтагиозным [Doremalen N. van et al., 2020].

Инкубационный период после заражения обычно составляет 4-8 дней, но может длиться до 14 дней [Huang C. et al., 2020]. Период от появления симптомов до одышки составляет 5–6 дней, резкого ухудшения состояния и госпитализации 7-8 дней, до развития острого респираторного дистресс-синдрома (ОРДС) 8-12 дней. [Zhou F. et al., 2020].

Основным источником коронавирусной инфекции являются инфицированные лица, бессимптомные носители и люди, находящиеся в инкубационном периоде. Ведущие пути передачи инфекции: воздушно-капельный и контактный [Zhang H. et al., 2020].

Входные ворота возбудителя – эпителий верхних дыхательных путей и эпителиоциты желудка и кишечника. SARS-CoV-2 проникает в клетки-мишени, имеющие рецепторы ангиотензинпревращающего фермента II типа (АПФ2), наиболее быстро достижимая мишень – альвеолярные клетки II типа (AT2) лёгких, что определяет развитие пневмонии. Вирус присоединяется к рецептору клетки и использует его и эндосомы для проникновения. При попадании в альвеолы вирус SARS-CoV-2 распространяется через слизистую по дыхательным путям, вызывая гипериммунный ответ в организме, в результате возникает гиперцитокинемия с повреждением легочной ткани [Chen N. et al., 2020]. Это явление называется «цитокиновым штормом» для которого характерно бесконтрольная продукция провоспалительных цитокинов и развитие ОРДС с полиорганной недостаточностью [Tveito K., 2020]. Так же, определённую роль играет трансмембранный гликопротеин CD147, расположенный на клетках слизистой тонкого кишечника, что объясняет клинику диспепсических расстройств у лиц с COVID-19 [Беляков Н.А., Симакина О.Е., Трофимова Т.Н., 2022].

Клинические проявления инфекции, вызванной SARS-CoV-2, носят преимущественно респираторный характер, вызывая в наиболее тяжелых

случаях интерстициальную пневмонию, которая может осложниться развитием ОРДС и/или полиорганной недостаточности [Rodriguez-Morales A.J. et al, 2020]. Основные клинические симптомы при коронавирусной инфекции: лихорадку ($>38^{\circ}\text{C}$), сухой кашель, слабость и миалгия. Может развиваться одышка вследствие поражения лёгких [Гуляев П.В., Реснянская С. В., Островская И.В., 2022]. За счёт физиологического уменьшения воздушности лёгочной ткани при компьютерной томографии лёгких часто можно видеть признак “матового стекла” [А.Л. Попович и др., 2021].



Рисунок 2. Участки уплотнения по типу «матового стекла» в нижних долях с выраженной тенденцией к периферическому распространению

Клинические формы COVID-19 [Khan M. et al., 2020]:

- Бессимптомная составляет 1-3% из всех случаев заражения вирусом SARS-CoV-2;
- Легкая встречается в 80,9% случаев и заключается в поражении только верхних дыхательных путей (температура тела $<38^{\circ}\text{C}$, кашель, слабость, боль в горле);
- среднетяжелая пневмония без дыхательной недостаточности составляет 13,8% (температура тела $>38^{\circ}\text{C}$, частота дыхательных движений (ЧДД) $> 22/\text{мин}$, одышка при физических нагрузках, изменения при

компьютерной томографии, типичные для коронавирусного поражения, $SpO_2 < 95\%$, С-реактивный белок (СРБ) сыворотки крови >10 мг/л);

- тяжелая пневмония с развитием дыхательной недостаточности отмечается в 5,3% (ЧДД ≥ 30 в минуту, сатурации $\leq 93\%$, индекс оксигенации (PaO_2/FiO_2) < 300 , снижение уровня сознания, нестабильная гемодинамика, изменения в легких при компьютерной томографии, типичные для коронавирусного поражения);
- крайне тяжелая форма встречается в 3,2% (пневмония, сепсис, септический шок, полиорганная недостаточность, стойкая фебрильная лихорадка, ОРДС, острая дыхательная недостаточность с необходимостью респираторной поддержки).

Стоит отметить, что лихорадка наблюдалась в 50% случаев при поступлении в стационар [Zhou F. et al., 2020]. У 40% пациентов отмечались желудочно-кишечные симптомы (тошнота, рвота и диарея), причем 10% из них не имели респираторных проявлений [Wang D. et al., 2020]. У 55% развивалась выраженная коагулопатия. Наблюдались такие венозные тромбоэмболические осложнения как тромбоз глубоких вен нижних конечностей, тромбоз подкожных вен и тромбоз легочной артерии [Lee S. G., Fralick M., Sholzberg M., 2020].

Тем не менее необычной чертой клинического синдрома COVID-19 является выраженная системность процесса, характеризующаяся способностью поражать не только респираторный тракт, но и другие органы и системы и вызывать иммунопатологические реакции и нарушения гемостаза, ведущие к вторичным осложнениям [Tau M. Z. et al., 2020]. Проведенное исследование в Китае показало, что у пациентов госпитализированных в стационар отмечались неврологические симптомы (головная боль, головокружение и нарушение сознания), ишемические и геморрагические инсульты [Nagaraj V. N., Yoo H. J., 2021]. Нарушение вкуса и обоняния встречалось у 85% пациентов с коронавирусной инфекцией [A. P.

Артеменко, Ал. Б. Данилов, А. М. Плиева, 2020]. В другом исследовании говорилось о конъюнктивите у 25 (13,4%) пациентов из 186 [Layikh N. A., Nashim Z. A., Kadum A. A., 2021].

На основании клинического обследования, эпидемиологического анамнеза и результатов лабораторных исследований ставится диагноз U07.1, «Коронавирусная инфекция, вызванная вирусом COVID-19 вирус идентифицирован».

Диагностика основывается на выявлении РНК SARS-CoV-2 с применением методов амплификации нуклеиновых кислот. Рекомендуется повторное тестирование при отрицательных результатах и клинической необходимости из-за низкой вероятности обнаружения SARS-CoV-2 в начале первой недели от появления симптомов [Xiao Y. et al., 2020, Marchand-Senecal X. et al., 2020].

Общий анализ крови и биохимический анализ крови служат ранней диагностикой осложнений и определяют степень тяжести течения инфекционного процесса (неблагоприятными изменениями в общем анализе крови является развитие лейкоцитоза с лимфопенией и тромбоцитопенией, в биохимическом анализе крови – увеличение печеночных ферментов и креатинина, нарушений свертывающей системы крови) [Henry B.M. et al., 2020].

Иммунологические показатели такие как интерлейкин-6, фактор некроза опухоли- α и сывороточный ферритин с СРБ, говорят о развитии системного воспалительного ответа и являются предикторами «цитокинового шторма», ОРДС и полиорганной недостаточности [Плотникова Е. Ю. и др., 2022].

В качестве маркеров тяжести течения коронавирусной инфекции и неблагоприятного прогноза может быть использовано увеличение таких показателей как D-димер, фибриноген, интерлейкин-10, прокальцитонин. Увеличение данных показателей говорит об активации состояния гиперкоагуляции при тяжелом течении и присоединении вторичной бактериальной инфекции. [Schulman S., 2020].

1.2. Возрастные особенности течения COVID-19 у лиц пожилого и старческого возраста

Согласно классификации ВОЗ, возраст человека делится на несколько периодов: до 44 лет считается молодой, 45-59 лет средний, 60-74 года пожилой, 75-89 старческий, старше 90 лет – долгожители.

Анализ, проведенный Китайским центром по контролю и профилактике заболеваний, показал, что среди 72 314 заболевших 87% были люди в возрасте от 30 до 79 лет, дети 9 лет и младше составили 1%, дети и подростки в возрасте от 10 до 19 лет — 1%, люди в возрасте от 80 лет — 3% [Guo Y.-R. Et al., 2020]. В Англии с помощью аналитической платформы – OpenSAFELY, установлено, что риск смерти увеличивался с возрастом и был в 1,5 раза выше у лиц мужского пола [Williamson E.J. et al., 2020].

Среди факторов прогноза внутрибольничной летальности у госпитализированных пациентов с COVID-19, возраст и коморбидность имеют ведущее значение [Guan X. et al., 2021]. Южнокорейское исследование, включающее 219 961 человека, показало взаимосвязь между более тяжелым течением новой коронавирусной инфекции и лицами старшей возрастной группы, хроническими заболеваниями нижних дыхательных путей, хронической почечной недостаточностью [Ji W. et al., 2020].

Люди старшей возрастной группы (старше 60 лет) при заражении вирусом SARS-CoV-2 отличаются более тяжелым течением заболевания по сравнению с молодыми людьми [Garnier-Crussard A. et al., 2020, Nikolich-Zugich J. et al., 2020, Liu Y. et al., 2020]. В статье, опубликованной исследовательской группой из Китая, показано, что лица с коронавирусной инфекцией в возрасте ≥ 60 лет имели более тяжелую клинику, менее быструю положительную динамику в ответ на терапию и более длительное течение болезни по сравнению с пациентами до 60 лет. А также у лиц пожилого и старческого возраста чаще применялись антибиотикотерапия и искусственная вентиляция легких [Liu Y. et al., 2020].

Данные исследований, проводившихся в Китае и других странах, показывают, что риск летального исхода COVID-19 выше у людей пожилого и старческого возраста [Palmieri L. et al., 2020, Wang D. et al., 2020, Wu C. et al., 2020]. Так в одном из исследований, проведенных в Ухани, средний возраст умерших пациентов составил 64,6 года [Yang L. et al., 2020]. Люди старшей возрастной группы имеют серьёзные осложнения коронавирусной инфекции, что связывают со снижением функций иммунной системы, происходящих с возрастом, снижением физиологических резервов, полиморбидностью. Летальность при COVID-19 пропорциональна возрасту лиц: 0% у детей до 9 лет и 14,8% у людей старше 80 лет. [Liu Y. et al., 2020].

Высокая вирусная нагрузка является одним из факторов повышенной восприимчивости лиц старше 65 лет к развитию коронавирусной инфекции. В исследовании, проведенном в Китае, у пациентов старческого возраста (средний возраст 56 лет) была выявлена высокая вирусная нагрузка, сопровождающаяся тяжелым течением COVID-19, в то время как низкая вирусная нагрузка наблюдалась в группе молодых лиц (средний возраст 44 года) [Liu Y. et al., 2020]. Это может быть связано со снижением мукоцилиарного клиренса и угнетением локального иммунитета с увеличением возраста.

Другим фактором, определяющим течение и прогноз болезни, у людей, инфицированных SARS-CoV-2, является воспаление [Муркамилов И. Т. и др., 2020]. У лиц старшей возрастной группы происходит непрерывное производство воспалительных медиаторов и цитокинов, известный как «inflammaging», ключевым патогенетическим звеном которого являются возрастассоциированные изменения врожденной иммунной системы [Aw D, Silva AB, Palmer DB., 2007, Longobardi L. et al., 2016].

Еще одним фактором, ассоциированным с неблагоприятным исходом, является коморбидность лиц старшей возрастной группы за счет поражения вирусом SARS-CoV-2 различных органов и систем, а также декомпенсацией хронических заболеваний [Shahid Z. et al., 2020]. Так в ретроспективный

анализ, проведенный китайскими исследователями показал, что наличие артериальной гипертензии, сахарного диабета и хронической обструктивной болезни легких увеличивает риск неблагоприятного течения более чем в 1,5 раза [Guan W.-J. et al., 2020]. В исследовании, проведенном в США, было продемонстрировано, что у 37,6% всех лиц с COVID-19 и у 78%, госпитализированных в отделения реанимации и интенсивной терапии (ОРИТ) наблюдалось одно или более коморбидных состояний, таких как хроническая обструктивная болезнь легких, ишемическая болезнь сердца, артериальная гипертензия, сахарный диабет, хроническая болезнь почек, заболевания печени, деменция, курение [Chow N. et al., 2020].

Важно отметить, что у старшей возрастной группы симптомы коронавирусной инфекции могут быть невыраженными и не соответствовать тяжести заболевания. В исследовании Wang L He W. et al., среди лиц старшей возрастной группы, предъявляющих жалобы на тяжелую одышку и тахипноэ, процент выживших был выше [Wang L He W. et al., 2020].

Проявления COVID-19 у пациентов пожилого возраста характеризуются атипичностью и могут быть недооценены. Заболевание у данной возрастной группы может протекать без лихорадки и кашля вследствие сниженной реактивности [Gawronska K., Lorkowski J., 2021, Tay H. S., Harwood R., 2020]. Нетипичные симптомы коронавирусной инфекции, у пациентов пожилого и старческого возраста, включают делирий, бред, падения, функциональное снижение, конъюнктивит. Могут наблюдаться тахипноэ, бред, тахикардия или снижение артериального давления [Shahid Z. et al., 2020]. Из 19 человек (средний возраст 84 года), поступивших в гериатрическое отделение, в 79 % отмечалась спутанность сознания, в 37 % лихорадка, в 32 % падения, кашель наблюдался в 26 % [Olde Rikkert M. G. M. et al., 2020].

Особенностями в лабораторных показателях у лиц пожилого и старческого возраста является то, что у них в большей степени снижается абсолютное количество лимфоцитов в крови, а концентрация СРБ значительно

выше, в сравнении с пациентами молодого и среднего возраста [Godaert L. et al., 2020].

Продолжительность пребывания в стационаре у гериатрических пациентов не всегда определялась тяжестью коронавирусной инфекции и ответом на ее лечение [Godaert L. et al., 2020].

Из осложнений при COVID-19 у лиц пожилого и старческого возраста наиболее частыми являются острое почечное повреждение, печеночная недостаточность, ОРДС, вторичные бактериальные инфекции [Ткачева О.Н. и др., 2020].

В результате китайского исследования было показано, что у лиц пожилого возраста осложнения при COVID-19 статистически значимо возникали реже (14,1%), чем у лиц старческого возраста (40,0%), а также, что потребность искусственная вентиляция легких (ИВЛ) у лиц старческого возраста (25,5%) была выше, чем у пожилого (3,5%) (при $p < 0,05$) [Guo T. et al., 2020].

Другим осложнением коронавирусной инфекции являются внутрибольничная инфекция (ВБИ), частота которых составила 19% при анализе 242 пациентов с COVID-19 (средний возраст 66 лет). В 10 % выявлялись инфекции кожи, в 8 % инфекции респираторного тракта и также в 8 % случаев инфекции желудочно-кишечного тракта. У четверти пациентов с ВБИ обнаруживалась бактеремия [Goncalves Mendes Neto A. et al., 2021]. В более длительной госпитализации нуждаются лица с тяжелым течением COVID-19 и вторичными коинфекциями, пришли к выводу исследователи из Бразилии. Из 212 пациентов у 64 была подтверждена коинфекция [Silva D.L. et al., 2021].

Таким образом, диагностика состояния при COVID- 19 у пациентов старшей возрастной группы представляет собой более сложную задачу, по сравнению с лицами молодого возраста. Необходимо дальнейшее изучение подходов прогнозирования тяжести коронавирусной инфекции и факторов

риска неблагоприятного исхода для разработки методов лечения и профилактики.

1.3. Понятие о микробиоте и ее роль в поддержании здоровья

Термин микробиом был предложен в 2001 году лауреатом Нобелевской премии Джошуа Ледербергом (Joshua Lederberg). В своей статье он определил его как «экологическое сообщество комменсальных, симбиотических и патогенных микроорганизмов, которые буквально являются совладельцами нашего тела» [Хизриев Х. А. и др., 2022].

Наибольшее количество работ по исследованию микробиома посвящено кишечнику [Гриневич В. Б., Радченко В. Г., 2020], в то время как изучение дыхательной системы осталось в стороне. Причиной этому послужила проблема в сборе образцов материала из нижних дыхательных путей, а также то, что легкие считались стерильными [Lawani, M.B., Morris, A., 2016, Lanaspá, M. et al., 2017].

На данный момент существует два глобальных проекта по изучению микробиома, проводящихся в Европе и США [Громова О. А. и др., 2021]. Европейский проект — «Метагеном кишечника человека» (*Metagenome of Human Intestinal Tract, MetaHIT*). Над ним работают 8 стран и данный проект исследует гены микробиома кишечника человека [Lee-Sarwar K. A. et al., 2020]. Американский проект «Микробиом человека» (*Human Microbiome Project, HMP*). Проект направлен на исследование микробиомов различных органов у 300 человек в возрасте 18–40 лет без хронических заболеваний [Никитин М. С. и др.].

Кроме того, есть программа ELDERMET, изучающая микробиоту кишечника у людей старше 65 лет [Щелканов М. Ю. и др., 2020].

Благодаря этим проектам и большого количества исследований накоплено большое количество данных о составе микробиоты человека [Щелканов М. Ю. и др., 2020].

Под микробиотой понимают совокупность микроорганизмов (бактерий, археев, вирусов, простейших и микроскопических грибов), проживающих совместно в одинаковых условиях [Hooper L.V., Gordon J.I., 2001]. Наиболее значимыми достижениями современной биологии и медицины является прогресс в изучении микробиоты и ее роль в поддержании здоровья человека. Изучение микробиоты дает возможность прогнозирования, диагностики и лечения множества заболеваний [Никитин М. С. и др.].

Каждый орган со своими анатомическими и физиологическими особенностями имеет индивидуальный состав микробиоты [Кайбышева В. О., Никонов Е. Л., 2019].

Микрофлора подразделяется на нормальную и патогенную. Нормальная микрофлора состоит из аутохтонной (индигенной) и аллохтонной (транзиторной). Аутохтонная микрофлора присутствует в организме человека постоянно [Zheng D., Liwinski T., Elinav E., 2020]. Транзиторную группу составляют микроорганизмы, которые не способны к длительному существованию в организме человека и поэтому являются необязательными компонентами микробиоты [Ahrodia T. et al., 2022].

Индигенная микрофлора представлена небольшим количеством видов микроорганизмов, но их концентрация всегда высока. Так, в слюне *Streptococcus mutans*, *Streptococcus salvarius*, *Streptococcus mitis*, являясь резидентной микрофлорой, высеваются в 100%, а их титр составляет 10^5 колониеобразующих единиц (КОЕ) в 1 мл [Боровский Е.В., Леонтьев В.К., 2001]. Индигенная микрофлора способствует стабильности в биотопе. Данную группу микроорганизмов называют «базовая симбиотическая единица» - наименьшее число видов, которое способно совместно существовать в конкурентных условиях и при котором ни один из них не смог бы выжить самостоятельно в данных условиях внешней среды [Бекташева А. К., Цой А.

Р., 2022]. Транзиторная микрофлора разнообразна по видовому составу и присутствует в биотопе в низких концентрациях. Например, микроорганизмы рода *Klebsiella* и *Escherichia* выявляются в слюне от 2% до 15% случаев, их титр в 1 мл не превышает 10^2 КОЕ [Боровский Е.В., Леонтьев В.К., 2001]. Транзиторная микрофлора направлена на поддержание индигенной микрофлоры.

Нормальная микрофлора – это качественное и количественное соотношение популяций микробов отдельных органов и систем, поддерживающих равновесие организма хозяина, необходимое для сохранения здоровья [Zheng D., Liwinski T., Elinav E., 2020].

Важнейшей функцией нормальной микрофлоры является ее участие в создании колонизационной резистентности (сопротивляемость к заселению патогенной и условно-патогенной микрофлорой). В колонизационной резистентности участвуют движение мукоцилиарного эпителия, бактерицидность секретов, перистальтика кишечника, количество муцина и местные факторы иммунитета [Савичук Н.О. и др., 2020]. Так, например, в поддержании качественного и количественного постоянства нормальной микрофлоры полости рта главную роль играет слюна, обладающая антибактериальной и противовирусной активностью за счет содержащихся в ней ферментов (лизоцим, лактоферрин, пероксидаза, нуклеаза) и секреторных иммуноглобулинов [Шабашова Н. В., Данилова Е. Ю., 2015]. При заболевании, лечении антимикробными препаратами, стрессе, плохой экологии и длительной химиотерапии полезные микроорганизмы становятся раздражительным фактором для иммунной системы [Кайбышева В. О., Никонов Е. Л., 2019].

Стоит отметить, что микрофлора играет важнейшую роль не только в здоровье человека, но и на течение и исход заболеваний [Trompette A., et al., 2014].

Часто встречающимися патогенными микроорганизмами, обнаруженными в дыхательных путях у людей с хроническими

респираторными заболеваниями, являются *Haemophilus influenzae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Burkholderia cepacia*, *Streptococcus pyogenes*, *Streptococcus pneumoniae*, *Staphylococcus aureus* и *Moraxella catarrhalis* [Колосова Н.Г., Геппе Н.А., Дронов И.А., 2019]. Например, пиогенный стрептококк является возбудителем тонзиллита и скарлатины, пневмококки и гемофильная палочка – возбудители пневмоний [Егорова О.А., 2022].

Исследование, проводимом Sehti S. с соавторами, показало, что появление в дыхательных путях у лиц с хронической обструктивной болезнью легких новых бактериальных штаммов характеризуется высоким риском обострения болезни [Sehti S. et al., 2002].

В других публикациях показано, что патогенные и условно-патогенные бактерии, такие как *Haemophilus influenzae*, *Enterobacter spp.*, *Escherichia coli*, *Streptococcus pneumoniae*, *Legionella*, *Moraxella spp.* способны вызывать воспаление тканей легких [Wong J. L., Evans S. E., 2017, Whelan F. J. et al., 2014].

Таким образом, исследование микробиоты нижних дыхательных путей является актуальным. Имеющиеся данные говорят о том, что микробиоценоз респираторного тракта может играть значительную роль как в нормальной функции легких, так и при различных легочных заболеваниях.

1.4. Микробиоценоз нижних дыхательных путей

Верхние и нижние дыхательные пути это единая морфологическая и функциональная единица (United Airways Disease). Благодаря анатомическим особенностям их строения (кроме самой гортани нет физических барьеров, разделяющих альвеолы от микробиоты глотки, а также короткое расстояние от ноздрей до альвеол) обеспечивается быстрая микробная иммиграция из верхних отделов дыхательных путей в нижние [Киселев В. В., Лукашевич М. Г., 2020].

В одном из исследований, проведенном E.S. Charlson с соавторами был изучен количественный и качественный состав респираторного тракта у здоровых добровольцев, благодаря чему была опровергнута гипотеза о стерильности легких [Whelan F. J. et al., 2014]. Установлено, что в нижних дыхательных путях количество бактерий ниже, чем в верхних (в мазках из полости носа и носоглотки обнаруживается 10^3 КОЕ/мл, в ротоглотке до 10^6 КОЕ/мл) и составляет приблизительно 10^2 КОЕ/мл, обнаруженных в бронхоальвеолярном лаваже у здоровых лиц [Charlson E. S. et al., 2012, Man W. H., Steenhuijsen Piters W. A. A. de, Bogaert D., 2017].

Состав в микробиоте легкого определяется балансом трех факторов [Wong J. L., Evans S. E., 2017]:

- микробной иммиграции - вдыхание воздуха, микроаспирация и прямая дисперсия бактерий по слизистой дыхательных путей;
- микробной элиминацией - мукоцилиарный клиренс, кашель и антимикробный механизм иммунитета;
- относительной скоростью размножения бактерий в дыхательных путях – условия окружающей среды (температура, давление кислорода, pH и другие), которые неблагоприятны для активного роста бактерий.

Отклонение в этих факторах всегда связано с индивидуальными или возрастными изменениями, а также с развитием заболевания.

Микробиота здоровых легких состоит из двух основных групп бактерий – Bacteroidetes и Firmicutes, дополняемый родами Prevotella и Veillonella. Кроме того, микрофлора нижних дыхательных путей преимущественно представлена родами Pseudomonas, Streptococcus, Fusobacterium и Sphingomonas [Yagi K. et al., 2021].

К культивируемым микроорганизмам в нижних дыхательных путях относятся:

1. Представители нормальной микрофлоры: альфа-гемолитические стрептококки (*Streptococcus viridans* group), коагулазонегативные

стафилококки (KHC) (*Staphylococcus epidermidis* и др.), непатогенные нейссерии (*Neisseria* spp.), непатогенные дифтероиды (*Corynebacterium* spp.) и некоторые другие [Garcia-Nunez M. et al., 2014].

2. Условно-патогенные: грамположительные кокки (*Staphylococcus aureus*), грамотрицательные бактерии семейства энтеробактерий (*Escherichia coli*, *Klebsiella* spp., *Enterobacter* spp. и др.), неферментирующие грамотрицательные бактерии (*Pseudomonas aeruginosa* и другие представители рода *Pseudomonas*, *Acinetobacter* spp.); грибы рода кандиды (*Candida albicans* и др.) [Баймуратова М. А., Тьесова-Бердалина Р. А., 2016];

3. Этиологически значимые: *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae*, *Branchamella catarrhalis*, *Streptococcus pyogenes* [Ермолина Г. Б., 2004].

1.5. Возрастные изменения микробиоты нижних дыхательных путей у лиц старшей возрастной группы

С возрастом происходят изменения в каждой из систем организма. Не исключение и бронхо-лёгочная система. Одним из них является снижение мукоцилиарного клиренса за счет уменьшения числа реснитчатых клеток и увеличения бокаловидных клеток, которые продуцируют густую слизь [Камашева Г.Р., Синеглазова А.В., Архипова Е.В., 2022]. За счет этого нарушается бронхиальная проходимость. В тоже время у пожилых снижена активность клеточного звена иммунитета (снижение фагоцитарной активности альвеолярных макрофагов и нейтрофилов и др.), что повышает микробную колонизацию респираторных слизистых. Все это способствует предрасположенности к развитию бронхолегочной инфекции [Зарембо И.А. и др., 2004]. Стоит отметить, что более частое и длительное пребывание лиц пожилого и старческого возраста в больницах, проживание их в интернатах повышает риск микробной колонизации дыхательных путей. [Дворецкий Л. И., 1998]

Еще одним изменением у лиц старшей возрастной группы является замедление на разрешение воспалительного процесса, следствием чего является затяжное лечение и длительная реабилитация [Артемьева О.В. и др., 2022].

Под влиянием неблагоприятных факторов (курение, респираторные инфекции и др.) с возрастом в легочной ткани снижается масса эластических волокон [Дворецкий Л.И., 1998].

В то же время высокая частота возникновения инфекций, хронические заболевания (сахарный диабет, хроническая обструктивная болезнь легких и др.) и связанный с ней прием большого объема медикаментозной терапии, опухоли способствуют снижению с возрастом иммунного ответа [Артеменков А.А., 2021].

Стоит отметить, что индивидуальные колебания качественного и количественного состава микробиоты так же зависят от возраста индивидуума [Stearns J. C. et al., 2015].

Так, большинство бактерий среднего носового хода у здоровых лиц младше 50 лет представлен классом Actinobacteria, но в более старшем возрасте их количество снижается в пользу Firmicutes, процентное количество Proteobacteria практически не меняется [Stearns J. C. et al., 2015]. По другим данным, у лиц в возрасте 40—65 лет в составе микробиоты полости носа увеличивается представительство родов Cutibacterium/ Propionibacterium, Corynebacterium и Staphylococcus. После 65 лет микробиота среднего носового хода постепенно беднеет, теряет разнообразие и приближается к составу микробного сообщества глотки и полости рта, что может объясняться снижением напряженности защитных сил слизистой оболочки полости носа и замедлением мукоцилиарного клиренса [Whelan F. J et al., 2014].

У лиц старшей возрастной группы потеря зубов ведет к значительному снижению облигатных анаэробов в полости рта. Наличие съёмных протезов вызывает хроническое воспаление под основой протеза, нарушается слюноотделение и орошение слизистой оболочки. За счет этого возрастает

колонизация грибами рода *Candida* и бактериями из желудочно-кишечного тракта - эшерихиями, энтерококками и другими [Колонин К., Лосева Е., Плетень А., 2021].

Так же у лиц пожилого и старческого возраста наблюдается снижение выработки слюны, которая может быть вызвана приемом лекарственных препаратов и заболеваниями полости рта, что приводит к колонизации ротоглотки представителями различной микрофлоры: грамотрицательными микроорганизмами (*Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*), грамположительными микроорганизмами (*Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pneumoniae* и др.) и грибами рода *Candida* [Григорьев С.С., Бушуева Е.Ю., Саблина С.Н., 2020].

Изменения микробиоты легких в зависимости от возраста и ее роль недостаточно изучена. Дальнейшие исследования позволят более детально изучить влияние микроорганизмов в регуляции функций дыхательных путей у лиц пожилого и старческого возраста в норме и при патологии.

1.6. Вторичная бактериальная инфекция и антибиотикорезистентность у лиц пожилого и старческого возраста с COVID-19

При эпидемии гриппа присоединение бактериальной инфекции характерно и часто указывает на неблагоприятный исход заболевания [Скрябина А.А. и др., 2022]. Исследования показали, что присоединение бактериальной инфекции редкое явление при коронавирусной инфекции [Langford B.J. et al., 2020, Mahmoudi H., 2020, Lansbury L. et al., 2020].

У лиц пожилого и старческого возраста, с COVID-19, присоединение коинфекции отмечается чаще, чем у лиц молодого и среднего возраста, так как нарушение иммунной функции, вызванное старением иммунной системы, увеличивает восприимчивость к вторичной бактериальной пневмонии [Wei C. et al., 2020].

По результатам китайского исследования в начале пандемии присоединение бактериальных инфекций наблюдалось у тяжелых пациентов с COVID-19, наиболее частыми возбудителями являлись: *Streptococcus pneumoniae*, *Klebsiella pneumoniae*, *Mycoplasma pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* и *Haemophilus influenzae* [Zhu X. et al., 2020, Lansbury L. et al., 2020, Manohar P. et al., 2020, Hughes S. et al., 2020]. В некоторых исследованиях говорится о грибковых инфекциях [Peman J. et al., 2020, Silva L. N. et al., 2020].

Стоит отметить, что госпитализация в стационар и, что особо важно, перевод в ОРИТ выше у лиц старческого и пожилого возраста, по сравнению с молодыми, и как следствие, выше вероятность присоединения патогенов, которые являются причиной развития тяжелых нозокомиальных инфекций [Francesco G. De Rosa et al., 2015, Lukovic B. et al., 2020, MacIntyre C. R. et al., 2018].

Методы лечения при коронавирусной инфекции, такие как искусственная вентиляция легких, применение глюкокортикостероидной терапии, усугубляют ситуацию риска развития вторичной бактериальной инфекции [Munch M.W. et al., 2021].

Микробная коинфекция представляет собой серьезную проблему в пандемии COVID-19, хотя и встречается не очень часто. Присоединение вторичной бактериальной инфекции усложняет диагностику, лечение и прогноз, особенно у лиц пожилого и старческого возраста [Chen X. et al., 2020].

Стоит отметить, что возбудителями внутрибольничных инфекций бактериальной этиологии, часто являются мультирезистентные бактерии. Факторами риска присоединения мультирезистентных возбудителей являются пожилой возраст, пребывание в ОРИТ, использование аппарата ИВЛ, катетеров, инвазивных устройств, парентеральное питание, предшествующая госпитализация, прием антибиотиков в период, предшествующий заболеванию [Яковлев С. Я. и др., 2018].

В 2017 г. Всемирной организацией здравоохранения был опубликован список патогенов с множественной лекарственной устойчивостью [Ефименко Т. А., Терехова Л. П., Ефременкова О. В., 2019]. По степени опасности патогенные бактерии были разделены на три группы.

К первой группе (критически высокий уровень приоритетности) отнесли *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa* и семейство *Enterobacterales* – бактерии, которые выработали устойчивость к действию широкого ряда антибиотиков, включая карбапенемы и цефалоспорины третьего поколения.

Ко второй группе (высокий уровень приоритетности) отнесли *Enterococcus faecium* устойчивый к ванкомицину, *Staphylococcus aureus* резистентный к метициллину и ванкомицину, *Helicobacter pylori* не чувствительный к кларитромицину, устойчивые к фторхинолонам *Campylobacter* spp., *Salmonella* spp. и *Neisseria gonorrhoeae*.

К третьей группе (средний уровень приоритетности) отнесли *Streptococcus pneumoniae* не чувствительный к пенициллину, *Haemophilus influenzae* устойчивый к ампициллину и *Shigella* spp. резистентный к фторхинолонам.

На фоне пандемии COVID-19 увеличилось распространение устойчивых штаммов микроорганизмов, что является высоким риском неблагоприятных исходов, удлинением сроков пребывания в медицинской организации, применением комбинированной антибактериальной терапии с включением резервных препаратов [Magrys A., 2021].

Нерациональное применение антибактериальных препаратов усугубляет проблему антибиотикорезистентности (биологическое явление, связанное с высокими способностями микроорганизмов к адаптации к применению антибактериальных препаратов), которая нарастает в настоящее время в мире [Бисенова Н. М., Ергалиева А. С., 2020]. Антибактериальные препараты не оказывают влияния на коронавирусную инфекцию, однако от 72% до 80% пациентов с COVID-19 получали антибиотикотерапию с начала пандемии [Seaton R. A. et al., 2020].

В исследование Langford B.J., было показано, что при коронавирусной инфекции в 74,6% случаях назначались антимикробные препараты, в то время как коинфекция обнаруживалась только в 8,6% случаях [Langford B.J., So M. et al., 2021]. По данным исследования, проведенном в Ухане, из 99 пациентов у 1% была бактериальная коинфекция с SARS-CoV-2 (*Acinetobacter baumannii* и *Klebsiella pneumoniae*), а у 4% грибковая и были они связаны, в основном с нахождением пациентов в отделении реанимации и интенсивной терапии [Chen N. et al., 2020].

Анализ антимикробной терапии COVID-19 у гериатрических больных, проведенный Черешневой Н.Д., Черных Т.Ф., Батаевым Х.М. показал, что для лечения осложнений новой коронавирусной инфекции антибактериальные препараты назначались пациентам в возрасте 60 лет и старше в 52,5% случаев, а лицам моложе 60 лет в 38,5% случаев [Черешнева Н.Д., Черных Т.Ф., Батаев Х.М., 2022].

Многие исследования показывают, что назначение антибиотикотерапии при коронавирусной инфекции у лиц старшей возрастной группы нецелесообразно. Так, например, в голландском исследовании, включавшем в себя 556 пациентов с COVID-19 говорилось, что антимикробная терапия была назначена в 60% случаев, но бактериальная инфекция диагностирована только в 1,4% [Rawson T. M. et al., 2020]. Во всех 36 исследований, которые были посвящены использованию антибиотиков, у пациентов с коронавирусной инфекцией был сделан вывод, что назначать антибиотикотерапию следует только при убедительных признаках присоединения вторичной бактериальной инфекции, так как в противном случае это ведет к увеличению роста антибиотикорезистентности и таких побочных явлений, как антибиотикоассоциированная диарея, связанная с *Clostridioides difficile* [Granata G. et al., 2022]. Еще одним побочным действием, приведшим к увеличению летальных исходов у старшей возрастной группы, является кардиотоксичность при применении схемы лечения коронавирусной

инфекции: азитромицин с хлорохином/гидроксихлорохином [Fiolet T. et al., 2020].

Стоит отметить, что у лиц пожилого и старческого возраста, госпитализированных в стационар повышается риск появления нежелательных реакций (передозировка, взаимодействие различных лекарственных препаратов и неправильный прием лекарственных средств) [Erensoy S., 2020]. За счет возрастных изменений фармакодинамики и фармакокинетики у лиц старшей возрастной группы может происходить снижение или повышение чувствительности к лекарственным препаратам, что затрудняет подбор дозировки препарата, а одновременный прием нескольких лекарственных средств усложняет прогнозирование побочных реакций [Король Л.А. и др., 2022].

Поэтому исследования микробиоты отделяемого дыхательных путей и выявление антибиотикорезистентности у лиц старшей возрастной группы является актуальной и жизненно важной медико-биологической задачей особенно в период пандемии COVID-19.

1.7. Влияние микробиоценоза нижних дыхательных путей на течении и исход коронавирусной инфекции

Между вирусной инфекцией и изменением микробиоты дыхательных путей существует связь. Так в одном из исследований говорится, что у пациентов с вирусом гриппа увеличивалась выделяемость микроорганизмов таких родов как *Pseudomonas* и *Bacillus*, а *Prevotella*, *Veillonella* и *Neisseria* снижалась [Никитин М. С. и др., 2020]. В другом исследовании было показано, что у лиц с COVID-19, уменьшалось количество *Fusobacterium periodonticum*. Так же при коронавирусной инфекции тяжесть заболевания и смертность пациентов может увеличиваться за счет предрасположенности вируса к коинфекциям и суперинфекциям [Иевлев Е. Н., 2020]. Так грипп

предрасполагает к вторичной бактериальной инфекции в респираторном тракте, что обуславливает высокую вероятность осложнений и смертность при данном заболевании, а также нарушение состава и количества резидентной флоры может повлиять на восприимчивость организма человека к вирусу гриппа [Скрябина А. А., 2022].

Входными воротами SARS-CoV-2 является эпителий верхних дыхательных путей [Chen N. et al., 2020].

Микробиоценоз слизистых оболочек дыхательных путей представляет собой мощный естественный противоинфекционный барьер при COVID-19 [Булгакова С. В., Романчук Н. П., 2020]. Коронавирусная инфекция угнетает факторы естественного иммунитета, что вызывает нарушение ассоциативных связей в микробиоте. Увеличивается количество симбионтов, начинается конкуренция между ними и как следствие уменьшение или исчезновение некоторых из них. Формирование новых сообществ изменяет среду обитания комменсалов, которые начинают быстро размножаться и переселяться в другие биотопы, что способствует появлению в них нетипичных представителей. Все это в конечном итоге ведет к развитию аутоинфекции отдельных локусов, что напрямую может влиять на течение болезни [Soltani S. et al., 2020].

В исследовании Doyle V. Ward и др. был изучен микробиом 69 пациентов с тяжелой и умеренной формой COVID-19 и показано, что по составу микрофлоры кишечника и полости рта можно предсказать смертельно опасную форму COVID-19 с точностью 92% и 84%, соответственно. Если же эти данные объединить с клиническими параметрами, то точность прогноза повысится до 96,36% [Ward D. V. et al., 2021].

В другом исследовании микробиома дыхательных путей при коронавирусной инфекции сравнивались пациенты с COVID-19 и без COVID-19 и было показано что нарушение микробиома верхних и нижних дыхательных путей коррелирует с тяжестью и исходом коронавирусной инфекции [Merenstein C. et al., 2021].

Из вышесказанного можно сделать вывод, что нарушение количественного и качественного состава индигенной микрофлоры дыхательных путей, которое происходит у лиц пожилого и старческого возраста в следствии возрастных особенностей и коморбидности, может изменить восприимчивость и исход коронавирусной инфекции. Взаимосвязь между микробиотой респираторного тракта и восприимчивостью к коронавирусной инфекции остается малоизученной и требует дальнейшего изучения.

Заключение

Таким образом, благодаря современным некультуральным генетическим методам было опровергнуто мнение о стерильности легких, что дало возможность актуализировать изучение разнообразия микробиома нижних дыхательных путей. Но для терапевтических подходов в каждом конкретном случае коронавирусной инфекции у лиц пожилого и старческого возраста необходим культуральный анализ видового состава микробиоты, используемый в клинической практике.

В настоящее время остается много противоречивых моментов в исследованиях ряда авторов и в отсутствие исследований микробиты между разными возрастными группами, поэтому представляется необходимым проведение крупного репрезентативного исследования для определения микробиоты и ее влияния на течение заболевания COVID-19 у лиц пожилого и старческого возраста.

Глава 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Клинической базой проведения диссертационного исследования явилось Санкт-Петербургское государственное бюджетное учреждение здравоохранения «Городская многопрофильная больница №2» в периоды подъема заболеваемости и перепрофилирования в инфекционный стационар: I период (с 30.03.2020 г. по 26.07.2020 г.), II период (с 10.11.2020 г. по 23.02.2021 г.), III период (с 20.06.2021 г. по 31.07.2021 г.).

2.1. Дизайн исследования

Исследование было разделено на 4 части.

В *первой части* осуществлялось изучение возрастных особенностей микробного пейзажа из нижних дыхательных путей (НДП), взятого у 2496 человека с COVID-19. Был исследован видовой состав микрофлоры из биоматериала, взятого первично, независимо от даты поступления. Основная группа была разделена на пожилой возраст 60-74 года (1009 человек) и старческий возраст старше 75 лет (504 человека). В контрольную группу вошли 983 человека в возрасте 18-59 лет.

Второй частью исследования явилось изучение отличий микробиоты НДП у лиц разных возрастных групп с пневмонией, ассоциированной и неассоциированной с коронавирусной инфекцией. Основную группу составили, отобранные из первого этапа пациенты, у которых биоматериал был собран не позднее 48 часов от момента поступления в стационар (1376 человек с пневмонией, ассоциированной с коронавирусной инфекцией, среди которых было 582 человека в возрасте 18-59 лет и 794 человека старше 60 лет). В группу сравнения вошли 139 человек с пневмонией, неассоциированной с коронавирусной инфекцией, среди которых 71 человек молодого и среднего возраста и 68 человек старше 60 лет. Критерии включения для группы сравнения: лица с диагнозом пневмония вирусной этиологии и неясного

генеза. Критерии не включения в группу сравнения: лица с диагнозом бактериальная пневмония.

Третья часть был нацелен на изучение возрастных особенностей микробиоты НДП, с учетом стратегии антибактериальной терапии, основанной на Временных методических рекомендациях «Профилактика, диагностика и лечение новой коронавирусной инфекции (COVID -19)» версии с 3 по 11, и нахождения в реанимационных и прочих отделениях у лиц с коронавирусной инфекцией. В данный этап было включено 927 человек с коронавирусной инфекцией, выбранных из первого этапа, биоматериал у которых был взят не позднее 48 часов от момента госпитализации, а также при появлении признаков вторичной бактериальной инфекции. Все люди были разделены на лиц младше 59 лет (381 человек) и старше 60 лет (546 человек).

В *четвертой части* исследования было проведено изучение влияния выделенных микроорганизмов из НДП на исход в госпитальном периоде у лиц разных возрастных групп с коронавирусной инфекцией. В данный этап было включено 812 человек выбранных из основной группы второго этапа для углубленного исследования (342 человека в возрасте 18-59 лет, 293 человека в возрасте 60-74 года, 177 человек старше 75 лет).

2.2. Характеристика лиц, включенных и исключенных в исследование

Всего в исследование было включено 2635 человек.

Основную группу составили 1513 лиц с COVID-19 в возрасте от 60 до 89 лет, медиана возраста составила 71 год.

В контрольную группу вошли 983 человека с коронавирусной инфекцией в возрасте 18-59 лет, медиана возраста составила 49 лет.

Группа сравнения представлена 139 лицами с диагнозом вирусная пневмония, неассоциированная с коронавирусной инфекцией (в возрасте от

18-59 лет 71 человек и 68 лиц в возрасте 60-89 лет, медиана возраста составила 39 и 74 года соответственно).

Критерии включения для основной и контрольной группы на всех этапах: лица мужского и женского пола от 18 до 96 лет с подтверждённым диагнозом U07.1 «Коронавирусная инфекция, вызванная вирусом COVID-19, вирус идентифицирован» и U07.2 «Коронавирусная инфекция, вызванная вирусом COVID-19, вирус не идентифицирован», проходившие лечение в периоды перепрофилирования ГМПБ №2 в инфекционный стационар с 2020 г. по 2022 г.

Критерии включения для группы сравнения: лица с диагнозом пневмония вирусной этиологии и неясного генеза. Критерии не включения в группу сравнения: лица с диагнозом бактериальная пневмония.

Общими критериями исключения послужили: отсутствие роста микроорганизмов при посеве биоматериала, наличие любого установленного онкологического или аутоиммунного заболевания.

У всех пациентов было получено информированное согласие на участие в исследовании, одобренное этическим комитетом АННО НИЦ «Санкт-Петербургский Институт биорегуляции и геронтологии».

При поступлении лиц в ГМПБ№2 врачами премного отделения проводилось стандартное клиническое обследование (сбор анамнеза, физикальное обследование) и лабораторные (общий анализ крови, общий анализ мочи, биохимический анализ крови), инструментальные (рентгенография или компьютерная томография органов грудной клетки, спирометрия, фибробронхоскопия, электрокардиография и др) и иные методы исследования.

Диагноз устанавливался на основании клинического обследования, данных эпидемиологического анамнеза и результатов лабораторных исследований.

2.3. Микробиологические методы исследования

2.3.1. Методики сбора и транспортировки материала

У каждого человека брался биоматериал из НДП для микробиологического исследования не позднее 48 часов с момента госпитализации, затем повторно при появлении признаков вторичной бактериальной инфекции. Согласно ВМР «Профилактика, диагностика и лечение новой коронавирусной инфекции (COVID-19)» версии с 4 по 16 признаками присоединения вторичной бактериальной инфекции являются повышение прокальцитонина более 0,5 нг/мл, лейкоцитоз более $(10-12) \times 10^9/\text{л}$, сдвиг лейкоцитарной формулы влево, появление гнойной мокроты.

Биоматериалом из НДП послужили мокрота, бронхоальвеолярный лаваж и смыв с бронхов, срок доставки материала в лабораторию не превышал двух часов от момента ее получения.

Пробы смыва с бронхов или бронхоальвеолярного лаважа собирались в плотно закрывающиеся стерильные пробирки при фибробронхоскопии, проводимой под местной анестезией. Использовался видеобронхоскоп Pentax EB-15J10. Промывную жидкость (стерильный изотонический раствор хлорида натрия с pH 7,2-7,4 и температурой 38-40°C) вводили в устье сегментарного или субсегментарного бронха с помощью шприца порциями по 20 мл с последующей ее вакуум-аспирацией в стерильную емкость.

Образцы свободно отделяемой мокроты собирались утром натощак и доставлялись в стерильных одноразовых емкостях с завинчивающейся крышкой для культурального исследования в лабораторию. Люди предварительно чистили зубы, язык, десны и полоскали рот кипяченой водой.

Отбор мокроты для дальнейшего исследования осуществлялся при помощи микроскопических характеристик (определение клеточных и других элементов). Согласно методическим указаниям МУК 4.2.3115-13 «Лабораторная диагностика внебольничных пневмоний» диагностическим критерием качественной мокроты являлось наличие не менее 25

полиморфноядерных лейкоцитов и менее 10 эпителиальных клеток при просмотре как минимум 10 полей зрения под увеличением X100. Микроскопическое исследование мокроты осуществлялось с помощью светового микроскопа после окрашивания по методу Грама.

При несоответствии критериям качественной мокроты дальнейшее исследование образца не проводилось, так как в изучаемый биоматериал контаминирован микрофлорой ротовой полости.

При исследовании респираторных образцов и выделении условно-патогенных микроорганизмов важное значение для интерпретации имела микробная нагрузка (клинически значимыми считались возбудители, выделенные из мокроты, бронхоальвеолярного лаважа и смывов с бронхов в количестве $> 10^4$ КОЕ/мл).

Отбор и транспортировка образцов (проб) биоматериала проводились согласно Методическим указаниям МУ 4.2.2039-05 «Техника сбора и транспортирования биоматериалов в микробиологические лаборатории».

2.3.2. Методики первичного посева биоматериала и идентификации выделенных культур

Первичный посев биоматериала и выделение бактерий осуществлялись согласно Приложению к приказу №535 МЗ СССР от 22 апреля 1985 года с модификацией количественного определения бактерий по методу секторных посевов. Посев материала производился на питательные среды: 5% кровяной агар, среда Эндо, желточно-солевой агар, среда Сабуро, шоколадный агар, хромогенная среда Уриселект.

В качестве метода идентификации штаммов использовался метод матрично-активированной лазерной дезорбции/ионизации с времяпролетной масс-спектрометрией, который основан на многократном воздействии лазерного импульса на бактериальные клетки, помещенные на мишень и предварительно покрытые раствором матрицы. Анализ белковых профилей

образцов чистых культур микроорганизмов, при помощи MALDI-ToF масс-спектрометрии, проводился с использованием программного обеспечения FlexAnalysis 3.0 (Bruker Daltonik GmbH, Германия).

Последовательность действий:

1. Нанесение одиночной колонии на лунку 96-луночной мишени.
2. Покрытие лунки 1 мкл свежеприготовленного раствора матрицы (НССА - α -циано-4-гидроксикоричная кислота) в течение часа.
3. Высушивание при комнатной температуре в течение 2-10 минут.
4. Постановка мишени в MALDI-ToF масс-спектрометр.
5. Учет результата: автоматическая идентификация с помощью программного обеспечения MALDI Biotyper RTC по уровню коэффициента совпадения (Score) от 0 до 3.

Идентификация при уровне 0,000-1,699 рассматривалась как низкодостоверная, идентификация до рода высокодостоверная при значениях – 1,700-1,999, идентификация высокодостоверная до вида при значениях – 2,000-2,999, в соответствии с рекомендациями производителя оборудования.

2.3.3. Методики определения чувствительности и интерпритации к антибактериальным препаратам

Для определения чувствительности к антимикробным препаратам использовалось четыре метода: диско-диффузионный (диски Bio-Rad, США), градиентной диффузии (E-тестов) (BioMerieux, Франция) на среде Мюллера-Хинтона (Bio-Rad, США), автоматизированный метод на бактериологическом анализаторе MicroscanWalk-Away 40-Plus (Beckman Coulter, США) и метод серийных разведений для определения чувствительности к колистину.

Результаты интерпретировали, руководствуясь оценочными критериями установленными Европейским комитетом по определению чувствительности микроорганизмов к антимикробным препаратам (European Committee on

Antimicrobial Susceptibility Testing, EUCAST 2019-2022 гг.). На основании полученных данных штаммы, были распределены на следующие категории: чувствительные (S), чувствительные при увеличенной экспозиции (I), резистентные (R).

Из исследования исключался биоматериал при нарушении преаналитического этапа, несоответствии критериям качественной мокроты, а также отсутствия роста или клинически незначимого титра выделенных микроорганизмов.

2.5. Молекулярно-биологические методы исследования

Каждому пациенту проводилось ПЦР-исследование вируса SARS-CoV-2 набором реагентов РеалБест (Россия) РНК SARS-CoV-2 (№ РЗН 2020/9896) методом ОТ-ПЦР в режиме реального времени с использованием амплификатора в CFX96 Real-Time System (Bio-Rad, США) с термоблоком 96 x 0.2 мл.

Мазок из ротоглотки и носа брался сухим стерильным зондом. Исследуемый материал переносился в одну пробирку с транспортным раствором, тщательно перемешивался, зонд извлекался и помещался в емкость для отходов класса В. Пробирка закрывается.

Последовательность действий:

1. Внесение образца в микроцентрифужную пробирку
2. Лизис (при помощи лизирующего раствора фирмы Вектор-бест)
3. Экстракция - набор «РеалБест экстракция 100» или «ВекторБест Сорбитус».
4. Постановка реакции ОТ-ПЦР в амплификатор CFX-96 (BioRad) с регистрацией флуоресценции в режиме реального времени.
5. Учёт результатов: Вычислить (Ct ВКО)ср как среднее значение Ct ВКО всех анализируемых образцов (включая ПКО и ОКО). Отбраковке подлежали

значения Ct ВКО, отличающиеся более чем на 2 значения (Ct ВКО)_{ср}. После отбраковки пересчитывался (Ct ВКО)_{ср} для оставшихся значений.

Анализируемый образец считался отрицательным (не содержащим РНК SARS-CoV-2), если для этого образца значение Ct по каналу «ROX» не определялось. Если для такого образца значение Ct ВКО превышало значение (Ct ВКО)_{ср} более чем на 2, то результат по данному образцу не подлежал анализу и учёту как отрицательный. Проводился повторный анализ данного образца, начиная с этапа выделения РНК.

Анализируемый образец считался положительным, если для этого образца значение Ct по каналу «ROX» меньше или равно 40. Если для анализируемого образца определялся Ct больше 40, исследование проводилось на вновь забранном материале от этого же человека или с использованием другого набора реагентов.

В случае контаминации все положительные результаты по данной индивидуальной постановке ПЦР считались недостоверными. Выявлялся и ликвидировался источник контаминации и повторялся анализ всех образцов данной постановки, для которых получен положительный результат. Образцы данной постановки, анализ которых дал отрицательный результат, учитывались как отрицательные.

Возможные ошибки при проведении ПЦР-диагностики SARS- CoV-2:

1. Причины ложноотрицательных результатов - нарушение техники взятия биопробы, нарушение режима транспортирования и хранения биоматериала, вирусная нагрузка ниже, чем порог чувствительности набора реагентов, мутации вируса в детектируемых регионах.
2. Причины ложноположительных результатов - контаминация биоматериалом, содержащим вирус, контаминация ампликонами.

2.6. Статистическая обработка данных

Статистическая обработка данных осуществлялась с помощью программного обеспечения SPSS Statistics 19 (USA) и Microsoft Excel, Office 365 (USA). Для оценки показателей на предмет соответствия нормальному распределению использовался критерий Шапиро-Вилка. Сравнение номинальных данных проводилось при помощи критерия χ^2 Пирсона и критерия Фишера при частоте встречаемого признака ниже 5.

Для анализа выживаемости между лицами, у которых обнаруживались и не обнаруживались рассматриваемые микроорганизмы, использовался метод Каплана-Мейера, для оценки различий между группами был проведен парный логарифмический тест. Совокупности количественных показателей, распределение которых отличалось от нормального, описывались при помощи медианы (Me) и нижнего и верхнего квартилей (Q25; Q75). Номинальные данные описывались с указанием абсолютных значений и процентных долей (n, %). Отличия считались статистически значимыми при $p < 0,05$ при сравнении двух групп.

Глава 3. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

3.1. Особенности микробиоты нижних дыхательных путей у лиц разных возрастных групп с подтверждённым диагнозом COVID-19

При микробиологическом исследовании отделяемого дыхательных путей пациентов с коронавирусной инфекцией всего было выделено 5537 штаммов микроорганизмов.

Большинство выделенных микроорганизмов относились к альфа-гемолитическим стрептококкам 2164 (39,1%), на втором месте по частоте высеваемости – *Candida albicans* 1064 (19,2%). На третьем – грамотрицательные микроорганизмы, среди которых наиболее часто встречались *Klebsiella pneumoniae* 534 (9,6%), *Acinetobacter baumannii* 334 (6,0%) и *Pseudomonas aeruginosa* 111 (2,0%).

Основным биоматериалом в нашем исследовании являлась мокрота.

Также было выявлено, что чаще всего, в биоматериале, выделялись ассоциации микроорганизмов, чем монокультура.

Анализ микрофлоры в разных возрастных группах показал, что среди лиц в возрасте 18-59 лет было выделено 31 вид микроорганизмов, среди пациентов 60-74 года – 30 видов, в группе 75-89 лет – 27, что говорит о снижении разнообразия встречающихся микроорганизмов с возрастом. В таблице 1 представлены данные по частоте встречаемости микроорганизмов в разных возрастных группах.

Таблица 1

Структура микробного пейзажа в биологическом материале пациентов разных возрастных групп, у которых диагностирован COVID-19

Бактерии, n (%)	18-59 лет (n=983)	60-74 года (n=1009)	75-89 лет (n=504)
Альфа-гемолитический стрептококк	833 (84,7%)	764 (75,7%)	325 (64,5%)
<i>Neisseria subflava</i>	143 (14,5%)	124 (12,3%)	59 (11,7%)
<i>Corynebacterium</i> spp.	21 (2,1%)	19 (1,9%)	12 (2,4%)
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	81 (8,2%)	98 (9,7%)	56 (11,1%)
<i>Acinetobacter baumannii</i>	54 (5,5%)	70 (6,9%)	60 (11,9%)
<i>Acinetobacter calcoaceticus</i>	5 (0,5%)	5 (0,5%)	3 (0,6%)
<i>Acinetobacter Lwoffii</i>	0 (0,0%)	3 (0,3%)	0 (0,0%)
<i>Alcaligenes faecalis</i> group	1 (0,1%)	0 (0,0%)	1 (0,2%)
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	22 (2,2%)	35 (3,5%)	17 (3,4%)
<i>Pseudomonas alcaligenes</i>	0 (0,0%)	1 (0,1%)	1 (0,2%)
<i>Pseudomonas putida</i>	0 (0,0%)	1 (0,1%)	0 (0,0%)
<i>Pseudomonas</i> spp.	4 (0,4%)	6 (0,6%)	1 (0,2%)
<i>Sphingomonas paucimobilis</i>	1 (0,1%)	1 (0,1%)	0 (0,0%)
<i>Sphingobacterium spiritivorum</i>	1 (0,1%)	1 (0,1%)	0 (0,0%)
<i>Moraxella catarrhalis</i>	1 (0,1%)	1 (0,1%)	0 (0,0%)
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	94 (9,6%)	151 (15,0%)	97 (19,2%)
<i>Klebsiella oxytoca</i>	1 (0,1%)	2 (0,2%)	0 (0,0%)
<i>Klebsiella</i> spp.	0 (0,0%)	1 (0,1%)	0 (0,0%)
<i>Escherichia coli</i>	18 (1,8%)	27 (2,7%)	16 (3,2%)
<i>Enterobacter aerogenes</i>	3 (0,3%)	2 (0,2%)	1 (0,2%)
<i>Enterobacter</i> spp.	14 (1,4%)	26 (2,6%)	12 (2,4%)
<i>Citrobacter</i> spp.	5 (0,5%)	6 (0,6%)	4 (0,8%)
<i>Morganella morganii</i>	0 (0,0%)	2 (0,2%)	0 (0,0%)
<i>Serratia marcescens</i>	1 (0,1%)	2 (0,2%)	1 (0,2%)
<i>Proteus mirabilis</i>	6 (0,6%)	10 (1,0%)	2 (0,4%)
<i>Proteus vulgaris</i>	0 (0,0%)	1 (0,1%)	0 (0,0%)
<i>Staphylococcus aureus</i>	64 (6,5%)	51 (5,1%)	41 (8,1%)
<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	1 (0,1%)	1 (0,1%)	1 (0,2%)
<i>Staphylococcus sciuri</i>	0 (0,0%)	0 (0,0%)	1 (0,2%)
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	2 (0,2%)	0 (0,0%)	0 (0,0%)
<i>Enterococcus faecalis</i>	15 (1,5%)	26 (2,6%)	24 (4,8%)
<i>Enterococcus faecium</i>	3 (0,3%)	6 (0,6%)	3 (0,6%)
<i>Haemophilus influenzae</i>	4 (0,4%)	2 (0,2%)	1 (0,2%)
<i>Haemophilus parainfluenzae</i>	1 (0,1%)	0 (0,0%)	0 (0,0%)
<i>Candida albicans</i>	331 (33,7%)	387 (38,4%)	181 (35,9%)
<i>Candida krusei</i>	1 (0,1%)	1 (0,1%)	3 (0,6%)
<i>Candida non albicans</i>	4 (0,4%)	14 (1,4%)	8 (1,6%)
Микромицеты	1 (0,1%)	0 (0,0%)	0 (0,0%)
<i>Actinomyces israelii</i>	0 (0,0%)	0 (0,0%)	1 (0,2%)

При сравнении частоты встречаемости микроорганизмов среди лиц разных возрастных групп было обнаружено, что частота встречаемости альфа-

гемолитического стрептококка с увеличением возраста статистически значимо снижалась (рисунок 3).

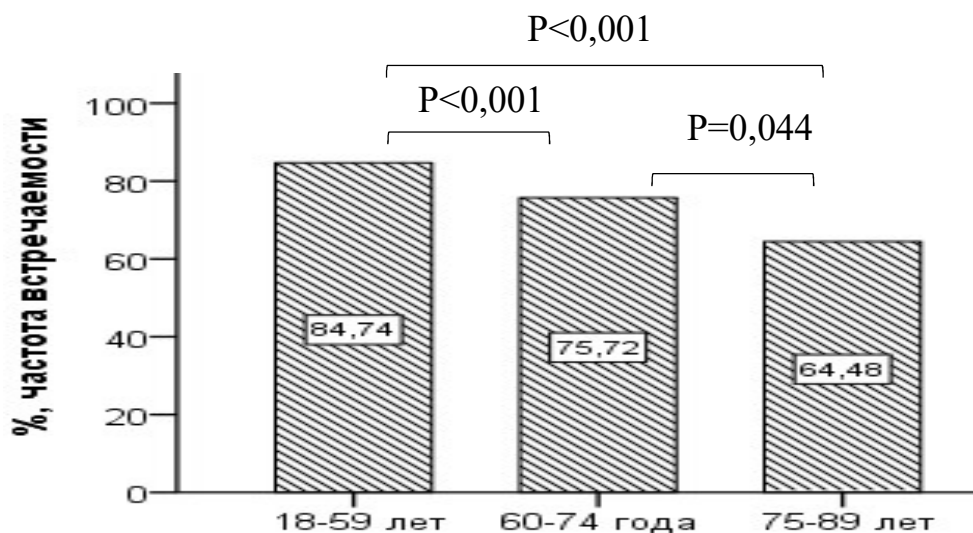


Рисунок 3. Частота встречаемости альфа-гемолитического стрептококка в разных возрастных группах

Staphylococcus epidermidis статистически значимо чаще встречался среди лиц в возрасте 75-89 лет (56 (11,11%)) по сравнению с лицами других возрастных групп (рисунок 4).

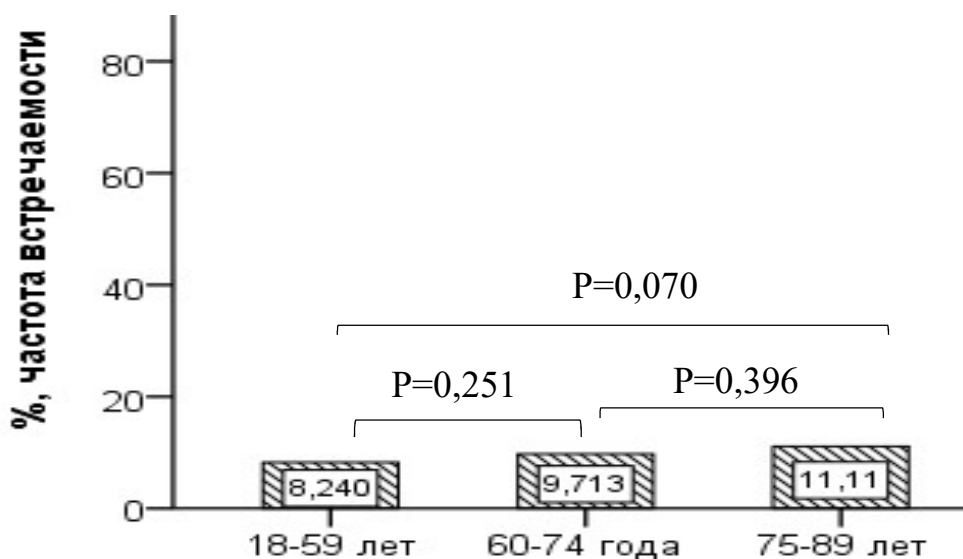


Рисунок 4. Частота встречаемости *Staphylococcus epidermidis* в разных возрастных группах

Частота встречаемости *Klebsiella pneumoniae* была самой высокой среди лиц в возрасте 75-89 лет (97 (19,2%)) по сравнению с лицами 60-74 года, (151 (14,9%)) и 18-59 лет (94 (9,6%)) (рисунок 5).

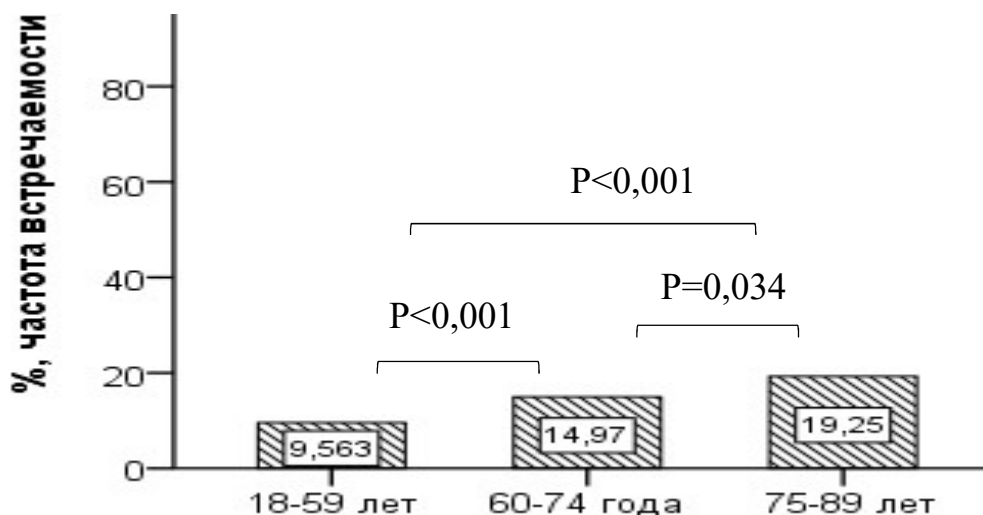


Рисунок 5. Частота встречаемости *Klebsiella pneumoniae* в разных возрастных группах

Среди лиц 75-89 лет частота встречаемости *Acinetobacter baumannii* была статистически значимо выше (60 (11,9%)) по сравнению с лицами в возрасте 60-74 года (70 (6,9%)) и 18-59 лет (54 (5,5%)) (рисунок 6).

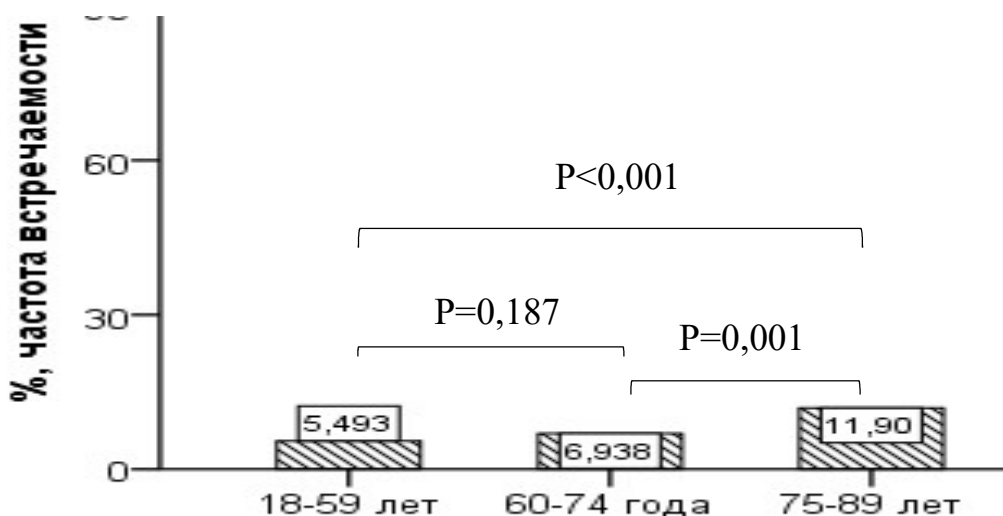


Рисунок 6. Частота встречаемости *Acinetobacter baumannii* в разных возрастных группах

У пациентов в возрасте 60-74 года и 75-89 лет статистически значимо чаще встречалась *Candida non albicans* (14 (1,4%) при $p=0,030$ и 8 (1,6%) при $p=0,027$ для 60-74 года и 75-89 лет соответственно) по сравнению с лицами 18-59 лет (4 (0,4%) при $p=0,030$).

При сравнительной оценке микробного пейзажа было получено, что у лиц 75-89 лет статистически значимо чаще наблюдался *Staphylococcus aureus* (41(8,1%)) по сравнению с людьми 60-74 года (51 (5,1%) при $p=0,018$).

3.2. Сравнительная характеристика микробиоты нижних дыхательных путей у лиц пожилого и старческого возраста с диагнозом пневмония ассоциированная и неассоциированная с коронавирусной инфекцией

Были проанализированы данные микробиологических исследований, отделяемого нижних дыхательных путей, у лиц с диагнозом коронавирусная инфекция и пневмония, неассоциированная с коронавирусной инфекцией в возрасте от 19 до 96 лет. Всего было исследовано 2386 микроорганизмов в 1515 биоматериалах, взятых не позднее 48 часов с момента госпитализации.

При анализе различий микробиоты НДП у лиц старше 60 лет с пневмонией ассоциированной с коронавирусной инфекцией (COVID+), в сравнении с лицами той же возрастной группы, с пневмонией, неассоциированной с коронавирусной инфекцией (COVID-) наблюдалось: статистически значимое снижение встречаемости *Pseudomonas aeruginosa* (10 (1,3%) у COVID+ и 5 (7,4%) у COVID- при $p=0,004$), *Escherichia coli* (22 (2,8%) и 5 (7,4%) соответственно при $p=0,037$), *Acinetobacter calcoaceticus* (5 (0,6%) и 3 (4,4%) при $p=0,020$) и увеличение альфа-гемолитического стрептококка (647 (81,5%) и 39 (57,4%) при $p<0,001$), *Candida albicans* (256 (32,2%) и 12 (17,6%) при $p=0,013$), *Neisseria subflava* (134 (16,9%) и 1 (1,5%) при $p<0,001$).

При сравнении микробиоты НДП у пациентов младше 59 лет с пневмонией, ассоциированной с коронавирусной инфекцией, увеличивалась частота встречаемости альфа-гемолитического стрептококка (528 (90,7%) у COVID+ и 51 (71,8%) у COVID- при $p < 0,001$), *Candida albicans* (146 (25,1%) и 3 (4,2%) соответственно при $p = 0,013$), *Neisseria subflava* (105 (18,0%) и 1 (1,4%) при $p < 0,001$), при сравнении с лицами той же возрастной группы с пневмонией, неассоциированной с COVID- 19 (таблица 2).

Таблица 2

Сравнительная характеристика микробиома НДП у лиц с COVID+ и COVID- в двух возрастных группах

Микроорганизмы	Старше 60 лет		p	Младше 59 лет		p
	COVID+ (n=790)	COVID- (n=68)		COVID+ (n=582)	COVID- (n=71)	
<i>Acinetobacter baumannii</i>	31 (3,9%)	1 (1,5%)	0,505	13 (2,2%)	2 (2,8%)	0,673
<i>Acinetobacter calcoaceticus</i>	5 (0,6%)	3 (4,4%)	0,020	4 (0,7%)	0 (0,0%)	1,000
<i>Candida albicans</i>	256 (32,2%)	12 (17,6%)	0,013	146 (25,1%)	3 (4,2%)	<0,001
<i>Candida krusei</i>	5 (0,6%)	2 (2,9%)	0,099	0 (0%)	0 (0%)	-
<i>Corynebacterium sp</i>	16 (2,0%)	0 (0,0%)	0,629	8 (1,4%)	1 (1,4%)	1,000
Альфа-гемолитический стрептококк	647 (81,5%)	39 (57,4%)	<0,001	528 (90,7%)	51 (71,8%)	<0,001
<i>Proteus mirabilis</i>	3 (0,4%)	0 (0,0%)	1,000	0 (0,0%)	0 (0,0%)	-
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	10 (1,3%)	5 (7,4%)	0,004	2 (0,3%)	1 (1,4%)	0,292
<i>Pseudomonas alcaligenes</i>	2 (0,3%)	0 (0,0%)	1,000	1 (0,2%)	0 (0,0%)	1,000
<i>Staphylococcus aureus</i>	74 (9,3%)	7 (10,3%)	0,792	51 (8,8%)	7 (9,9%)	0,759
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	75 (9,4%)	4 (5,9%)	0,509	43 (7,4%)	2 (2,8%)	0,213
<i>Enterococcus faecalis</i>	13 (1,6%)	0 (0,0%)	0,615	11 (1,9%)	0 (0,0%)	0,619
<i>Enterococcus faecium</i>	4 (0,5%)	0 (0,0%)	1,000	0 (0%)	0 (0,0%)	-
<i>Escherichia coli</i>	22 (2,8%)	5 (7,4%)	0,037	9 (1,5%)	1 (1,4%)	1,000
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	60 (7,6%)	6 (8,8%)	0,706	26 (4,5%)	5 (7,0%)	0,368
<i>Moraxella catarrhalis</i>	1 (0,1%)	0 (0,0%)	1,000	2 (0,3%)	1 (1,4%)	0,292
<i>Candida non albicans</i>	10 (1,3%)	0 (0,0%)	1,000	2 (0,3%)	0 (0,0%)	1,000
<i>Enterobacter sp</i>	19 (2,4%)	2 (2,9%)	0,678	10 (1,7%)	2 (2,8%)	0,630
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	0 (0,0%)	0 (0,0%)	-	1 (0,2%)	0 (0,0%)	1,000
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	6 (0,8%)	1 (1,5%)	0,439	1 (0,2%)	0 (0,0%)	1,000
<i>Neisseria subflava</i>	134 (16,9%)	1 (1,5%)	<0,001	105 (18,0%)	1 (1,4%)	<0,001
<i>Haemophilus influenzae</i>	3 (0,4%)	0 (0,0%)	1,000	2 (0,3%)	1 (1,4%)	0,292

Микроорганизмы	Старше 60 лет		p	Младше 59 лет		p
	COVID+ (n=790)	COVID- (n=68)		COVID+ (n=582)	COVID- (n=71)	
Микромицеты	5 (0,6%)	0 (0,0%)	1,000	0 (0,0%)	0 (0,0%)	-
Klebsiella oxytoca	0 (0,0%)	0 (0,0%)	-	1 (0,2%)	0 (0,0%)	-
Citrobacter sp	4 (0,5%)	1 (1,5%)	0,338	3 (0,5%)	1 (1,4%)	1,000
Pseudomonas sp	2 (0,3%)	1 (1,5%)	0,219	0 (0,0%)	1 (1,4%)	0,370
Staphylococcus haemolyticus	1 (0,1%)	0 (0,0%)	1,000	1 (0,2%)	0 (0,0%)	0,109
Enterobacter aerogenes	1 (0,1%)	0 (0,0%)	1,000	0 (0,0%)	0 (0,0%)	1,000
Morganella morganii	1 (0,1%)	0 (0,0%)	1,000	0 (0,0%)	0 (0,0%)	-
Serratia marcescens	0 (0,0%)	1 (1,5%)	0,079	0 (0,0%)	1 (1,4%)	0,109
Acinetobacter lwoffii	1 (0,1%)	0 (0,0%)	1,000	0 (0,0%)	0 (0,0%)	-
Actinomyces israelii	1 (0,1%)	0 (0,0%)	1,000	0 (0,0%)	0 (0,0%)	-

3.3. Анализ микробиоты у лиц старшей возрастной группы с диагнозом COVID-19 с учетом стратегии антибактериальной терапии и нахождения в реанимационных и прочих отделениях

Анализ ВМР позволил выявить следующие изменения в стратегии антибактериальной терапии. В версии №3 (от 03.03.2020) рекомендовалось «назначение антибиотиков всем пациентам, поступающим с диагнозом "пневмония тяжелого течения", до момента уточнения этиологии пневмонии (вирусная, бактериальная, вирусно-бактериальная), в режиме упреждающей терапии. Последующее принятие решения об изменении или отмене антибактериальной терапии основывалось на данных микробиологического и ПЦР исследований».

В версиях №4 (от 27.03.2020) и №5 (от 08.04.2020) рекомендовалось делать «выбор антибиотиков и способ их введения на основании тяжести состояния пациента, анализе факторов риска встречи с резистентными микроорганизмами (наличие сопутствующих заболеваний, предшествующий прием антибиотиков и др.), результатов микробиологической диагностики». У пациентов в тяжелом состоянии (ОРИТ) была рекомендована комбинированная антибактериальная терапия. Но в п. 5.1 5 версии ВМР в

этиотропном лечении появляется использование азитромицина (в комбинации с гидроксилорохином).

В версиях с №4 (от 28.04.2020) по №9 (от 26.10.2020) антибактериальную терапию рекомендовалось назначать «при наличии убедительных признаков присоединения бактериальной инфекции (повышение прокальцитонина более 0,5 нг/мл, лейкоцитоз $> 10 \times 10^9/\text{л}$, появление гнойной мокроты)». Выбор антибиотиков и способ их введения осуществлялся на основании тяжести состояния пациента, анализе факторов риска встречи с резистентными микроорганизмами (наличие сопутствующих заболеваний, предшествующий прием антибиотиков и др.), результатов микробиологической диагностики. Пациентам в тяжелом состоянии (ОРИТ) при наличии признаков бактериальной инфекции (повышение прокальцитонина более 0,5 нг/мл, появление гнойной мокроты) рекомендована комбинированная терапия. В п. 5.1 ВМР в этиотропном лечении используется азитромицин (в комбинации с гидроксилорохином).

В версиях №10 (от 08.02.2021) и №11 (от 07.05.2021) акцентировано внимание на том, что «COVID-19, как и любая другая вирусная инфекция, не является показанием для применения антибиотиков, и подавляющее большинство пациентов с COVID-19, особенно при легком и среднетяжелом течении, не нуждаются в назначении антибактериальной терапии. Антибактериальную терапию рекомендовали назначать только при наличии убедительных признаков присоединения бактериальной инфекции (повышение прокальцитонина 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%))».

В соответствии с периодами перепрофилирования ГМПБ №2 в инфекционный стационар и изменений версий ВМР мы выделили 2 этапа стратегий применения антибактериальных препаратов:

1 этап – с 30.03.2020 по 07.02.2021 (3-9 версия ВМП) - в этиотропном лечении используется азитромицин (в комбинации с гидроксихлорохином).

2 этап – с 08.02.2021 по 23.02.2021 и с 20.06.2021 по 31.07.2021 (10-11 версии ВМП) – «любая вирусная инфекция, не является показанием для применения антибиотиков, и подавляющее большинство пациентов с COVID-19, особенно при легком и среднетяжелом течении, не нуждаются в назначении антибактериальной терапии», то есть в этом этапе антибактериальная терапия применялась только при признаках присоединения вторичной бактериальной инфекции (снижение сатурации ($SpO_2 < 88\%$), лейкоцитоз более $(10-12) \times 10^9/л$, сдвиг лейкоцитарной формулы влево, повышение уровня прокальцитонина более 0,5 нг/мл).

Так как нахождение в ОРИТ является одним из факторов присоединения вторичной бактериальной инфекции, то все отделения были разделены на две группы: ОРИТ и прочие отделения (все остальные отделения кроме отделений реанимации и интенсивной терапии).

В результате ретроспективного анализа полученных данных определена доминирующая флора отделяемого нижних дыхательных путей, проведено сравнение микробного пейзажа ОРИТ с прочими отделениями стационара в разные этапы стратегий применения антибактериальных препаратов у лиц двух возрастных групп, а также сравнение структуры патогенов с множественной лекарственной устойчивостью у лиц старше 60 лет, относящихся к группе риска присоединения вторичной бактериальной инфекции при COVID-19.

Всего исследовано 6137 микроорганизмов из 1283 образца биоматериала от 927 человек в возрасте от 19 до 96 лет.

На стационарное лечение поступали лица с средней и тяжелой степенью тяжести. Люди были разделены на две возрастные группы: младше 59 лет – от 18 до 59 лет, старше 60 лет – от 60 до 96 лет.

Далее мы проанализировали частоту встречаемости микроорганизмов у лиц двух возрастных групп за оба этапа. В обеих возрастных группах получились схожие результаты.

Самый часто высеваемый микроорганизм альфа-гемолитический стрептококк (44,9% у лиц младше 59 лет и 35,1% у лиц старше 60 лет), на втором месте - *Candida albicans* (17,4% и 18,6% соответственно), грамотрицательные микроорганизмы на третьем: *Klebsiella pneumoniae* (7,0% и 10,7%), *Acinetobacter baumannii* (5,1% и 6,8%) и *Pseudomonas aeruginosa* (1,4% и 2,2%), грамположительные кокки на четвертом: КНС (5,0% и 6,6%) и *Staphylococcus aureus* (4,0% и 3,7%), на пятом *Neisseria subflava* (7,0% и 5,3%).

Схема сравнения микробиоты НДП статистически значимых микроорганизмов в ОРИТ с прочими отделениями в зависимости от возрастной группы и этапов стратегии представлена на рисунке 7.

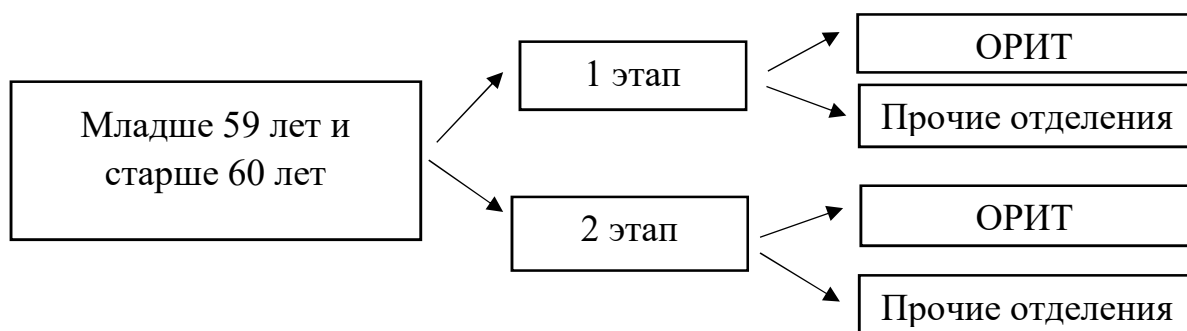


Рисунок 7. Схема сравнения статистически значимых микроорганизмов у лиц младше 59 лет и старше 60 лет в зависимости от этапа стратегии применения антибактериальных препаратов и отделений

В таблице 3 представлено сравнение статистически значимых микроорганизмов в ОРИТ и прочих отделениях стационара за время перепрофилирования ГМПБ № 2 в инфекционный стационар у лиц младше 59 лет. В первом этапе было выделено 1817 штаммов микроорганизмов, во втором – 405.

При сравнении частоты встречаемости микроорганизмов в 1 этапе стратегии антибиотикотерапии у лиц младше 59 лет, было получено, что у лиц, находившихся в ОРИТ увеличивалась частота обнаружения следующих микроорганизмов: *Klebsiella pneumoniae* (49 (26,2%) и 84 (5,2%)), *Acinetobacter baumannii* (49 (26,2%) и 39 (2,4%)), *Pseudomonas aeruginosa* (12 (6,4%) и 13 (0,8%)) и *Proteus spp.* (12 (6,4%) и 10 (0,6%)), в сравнении с людьми, находившихся в прочих отделениях (при $p < 0,05$). В то время как встречаемость альфа-гемолитического стрептококка (17 (9,1%) и 787 (48,3%)), *Candida albicans* (11 (5,9%) и 319 (19,6%)) и *Neisseria subflava* (1 (0,5%) и 130 (8,0%)) (при $p < 0,05$) увеличивалась у лиц, находившихся в прочих отделениях в сравнении с лицами из ОРИТ.

При анализе частоты обнаружения микроорганизмов во 2 этапе стратегии антибиотикотерапии наблюдалось увеличение частоты встречаемости *Klebsiella pneumoniae* (6 (14,6%) и 16 (4,4%)), *Acinetobacter baumannii* (10 (24,4%) и 16 (4,4%)), *Pseudomonas aeruginosa* (4 (9,8%) и 1 (0,3%)) и *Proteus spp.* (0 (0,0%) и 1 (0,3%)) в ОРИТ в сравнении с людьми, находившихся в прочих отделениях (при $p < 0,05$). В то время как частота обнаружения альфа-гемолитического стрептококка (4 (9,8%) и 189 (51,9%)), *Candida albicans* (3 (7,3%) и 53 (14,6%)) и *Neisseria subflava* (0 (0,0%) и 24 (6,6%)) (при $p < 0,05$) увеличивалась у лиц, находившихся в прочих отделениях в сравнении с лицами в ОРИТ (таблица 3).

Таблица 3

Сравнение обнаруженных микроорганизмов у лиц младше 59 лет в зависимости от этапа стратегии и отделений

Микроорганизмы	1 этап (n=1817)				2 этап (n=405)			
	ОРИТ		Прочие отделения		ОРИТ		Прочие отделения	
	n	%	n	%	n	%	n	%
Всего	187	100,00%	1630	100,00%	41	100,00%	364	100,00%
<i>Acinetobacter baumannii</i>	49	26,2%	39	2,39%	10	24,39%	16	4,40%
<i>Acinetobacter spp.</i>	1	0,5%	7	0,43%	0	0,00%	2	0,55%

Микроорганизмы	1 этап (n=1817)				2 этап (n=405)			
	ОРИТ		Прочие отделения		ОРИТ		Прочие отделения	
	n	%	n	%	n	%	n	%
<i>Candida albicans</i>	11	5,9%	319	19,57%	3	7,32%	53	14,56%
<i>Candida non albicans</i>	2	1,1%	2	0,12%	0	0,00%	5	1,37%
<i>Citrobacter spp.</i>	0	0,0%	6	0,37%	0	0,00%	0	0,00%
<i>Corynebacterium spp.</i>	4	2,1%	19	1,17%	0	0,00%	2	0,55%
<i>Enterobacter spp.</i>	0	0,0%	18	1,10%	0	0,00%	6	1,65%
<i>Enterococcus spp.</i>	5	2,7%	17	1,04%	6	14,63%	7	1,92%
<i>Escherichia coli</i>	4	2,1%	17	1,04%	0	0,00%	5	1,37%
<i>Haemophilus influenzae</i>	0	0,0%	3	0,18%	0	0,00%	0	0,00%
<i>Klebsiella spp.</i>	0	0,0%	1	0,06%	0	0,00%	1	0,27%
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	49	26,2%	84	5,15%	6	14,63%	16	4,40%
<i>Moraxella catarrhalis</i>	0	0,0%	2	0,12%	0	0,00%	1	0,27%
<i>Morganella morganii</i>	0	0,0%	1	0,06%	0	0,00%	0	0,00%
<i>Neisseria subflava</i>	1	0,5%	130	7,98%	0	0,00%	24	6,59%
<i>Proteus spp.</i>	12	6,4%	10	0,61%	0	0,00%	1	0,27%
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	12	6,4%	13	0,80%	4	9,76%	1	0,27%
<i>Pseudomonas spp.</i>	2	1,1%	4	0,25%	0	0,00%	1	0,27%
<i>Serratia marcescens</i>	0	0,0%	2	0,12%	0	0,00%	0	0,00%
<i>Staphylococcus aureus</i>	10	5,3%	54	3,31%	3	7,32%	21	5,77%
КНС	8	4,3%	89	5,46%	3	7,32%	11	3,02%
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	0	0,0%	5	0,31%	0	0,00%	0	0,00%
Микромицеты	0	0,0%	1	0,06%	2	4,88%	2	0,55%
Альфа-гемолитический стрептококк	17	9,1%	787	48,28%	4	9,76%	189	51,92%

В таблице 4 представлено сравнение статистически значимых микроорганизмов в ОРИТ и прочих отделениях стационара за время перепрофилирования ГМПБ № 2 в инфекционный стационар у лиц старше 60 лет. В первом этапе выделено 3221 штаммов микроорганизмов, во втором – 694.

При сравнении частоты встречаемости микроорганизмов в 1 этапе стратегии антибиотикотерапии у лиц старше 60 лет, было получено, что у лиц, находившихся в ОРИТ увеличивалась частота обнаружения *Klebsiella pneumoniae* (126 (29,8%) и 221 (7,9%)), *Acinetobacter baumannii* (111 (26,2%) и 78 (2,8%)), *Pseudomonas aeruginosa* (54 (12,8%) и 21 (0,8%)) и *Proteus spp.* (7 (1,7%) и 13 (0,5%)), в сравнении с людьми, находившихся в прочих отделениях

(при $p < 0,05$). В то время как встречаемость альфа-гемолитического стрептококка (20 (4,7%) и 1139 (40,7%)), *Candida albicans* (26 (6,2%) и 610 (21,8%)) и *Neisseria subflava* (0 (0,0%) и 184 (6,6%)) (при $p < 0,05$) увеличивалась у лиц, находившихся в прочих отделениях в сравнении с лицами из ОРИТ.

При анализе частоты высеваемости микроорганизмов во 2 этапе стратегии антибиотикотерапии наблюдалось увеличение частоты встречаемости *Klebsiella pneumoniae* (25 (18,0%) и 48 (8,7%)), *Acinetobacter baumannii* (40 (28,8%) и 37 (6,7%)), *Pseudomonas aeruginosa* (9 (6,5%) и 4 (0,7%)) и *Proteus spp.* (0 (0,0%) и 1 (0,2%)) в ОРИТ в сравнении с лицами, находившихся в прочих отделениях (при $p < 0,05$). В то время как частота обнаружения альфа-гемолитического стрептококка (7 (5,0%) и 207 (37,3%)), *Candida albicans* (7 (5,0%) и 87 (15,7%)) и *Neisseria subflava* (0 (0,0%) и 24 (4,3%)) (при $p < 0,05$) увеличивалась у лиц, находившихся в прочих отделениях в сравнении с лицами из ОРИТ (таблица 4).

Таблица 4

Структура микробиоты у лиц старше 60 лет в ГМПБ №2, %

Микроорганизмы	1 этап (3221)				2 этап (694)			
	ОРИТ		Прочие отделения		ОРИТ		Прочие отделения	
	п	%	п	%	п	%	п	%
Всего	423	100,00%	2798	100,00%	139	100,00%	555	100,00%
<i>Acinetobacter baumannii</i>	111	26,24%	78	2,79%	40	28,78%	37	6,67%
<i>Acinetobacter spp.</i>	1	0,24%	14	0,50%	2	1,44%	4	0,72%
<i>Candida albicans</i>	26	6,15%	610	21,80%	7	5,04%	87	15,68%
<i>Candida non albicans</i>	2	0,47%	28	1,00%	3	2,16%	17	3,06%
<i>Citrobacter spp.</i>	0	0,00%	10	0,36%	0	0,00%	1	0,18%
<i>Corynebacterium spp.</i>	6	1,42%	30	1,07%	2	1,44%	4	0,72%
<i>Enterobacter spp.</i>	2	0,47%	39	1,39%	3	2,16%	9	1,62%
<i>Enterococcus spp.</i>	15	3,55%	58	2,07%	17	12,23%	17	3,06%
<i>Escherichia coli</i>	2	0,47%	44	1,57%	5	3,60%	14	2,52%
<i>Haemophilus influenzae</i>	0	0,00%	3	0,11%	0	0,00%	2	0,36%
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	126	29,79%	221	7,90%	25	17,99%	48	8,65%

Микроорганизмы	1 этап (3221)				2 этап (694)			
	ОРИТ		Прочие отделения		ОРИТ		Прочие отделения	
	п	%	п	%	п	%	п	%
Klebsiella spp.	0	0,00%	4	0,14%	0	0,00%	0	0,00%
Morganella morganii	0	0,00%	2	0,07%	0	0,00%	0	0,00%
Neisseria subflava	0	0,00%	184	6,58%	0	0,00%	24	4,32%
Proteus spp.	7	1,65%	13	0,46%	0	0,00%	1	0,18%
Pseudomonas aeruginosa	54	12,77%	21	0,75%	9	6,47%	4	0,72%
Pseudomonas spp.	3	0,71%	10	0,36%	1	0,72%	2	0,36%
Serratia marcescens	0	0,00%	3	0,11%	0	0,00%	0	0,00%
Staphylococcus aureus	22	5,20%	88	3,15%	9	6,47%	26	4,68%
КНС	26	6,15%	190	6,79%	8	5,76%	35	6,31%
Stenotrophomonas maltophilia	0	0,00%	8	0,29%	0	0,00%	4	0,72%
Микромицеты	0	0,00%	1	0,04%	1	0,72%	12	2,16%
Альфа-гемолитический стрептококк	20	4,73%	1139	40,71%	7	5,04%	207	37,30%

Схема сравнения наиболее часто встречающихся микроорганизмов в ОРИТ между лицами двух возрастных групп в зависимости от этапа стратегии антибактериальной терапии представлена на рисунке 8.

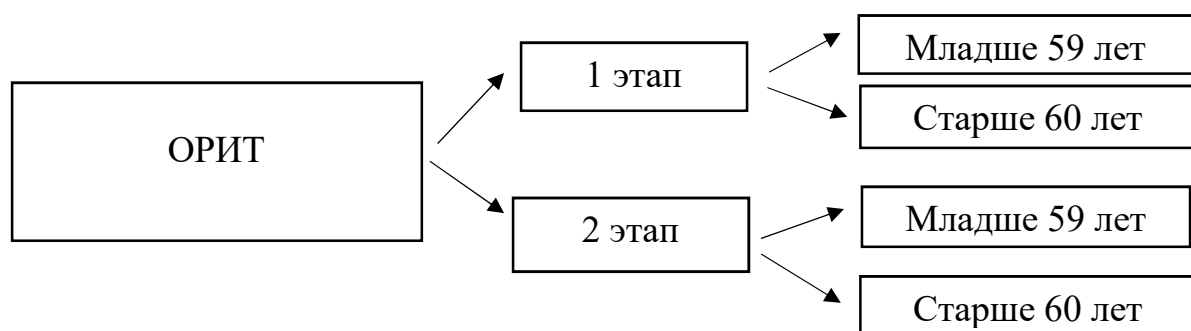


Рисунок 8. Схема сравнения наиболее часто встречающихся микроорганизмов в ОРИТ между лицами двух возрастных групп в зависимости от этапа стратегии антибактериальной терапии

Были получены следующие данные: В 1 этапе стратегии антибиотикотерапии у лиц старше 60 лет, находившихся в ОРИТ частота обнаружения *Pseudomonas aeruginosa* (54 (12,8%) и 12 (6,4%) соответственно

при $p=0,020$) статистически значимо была выше, чем у лиц младше 59 лет. У пациентов младше 59 лет - альфа-гемолитический стрептококк (17 (9,1%) и 20 (4,7%) при $p=0,037$) и *Proteus* spp. (12 (6,4%) и 7 (1,7%) при $p=0,002$) (рисунок 9).

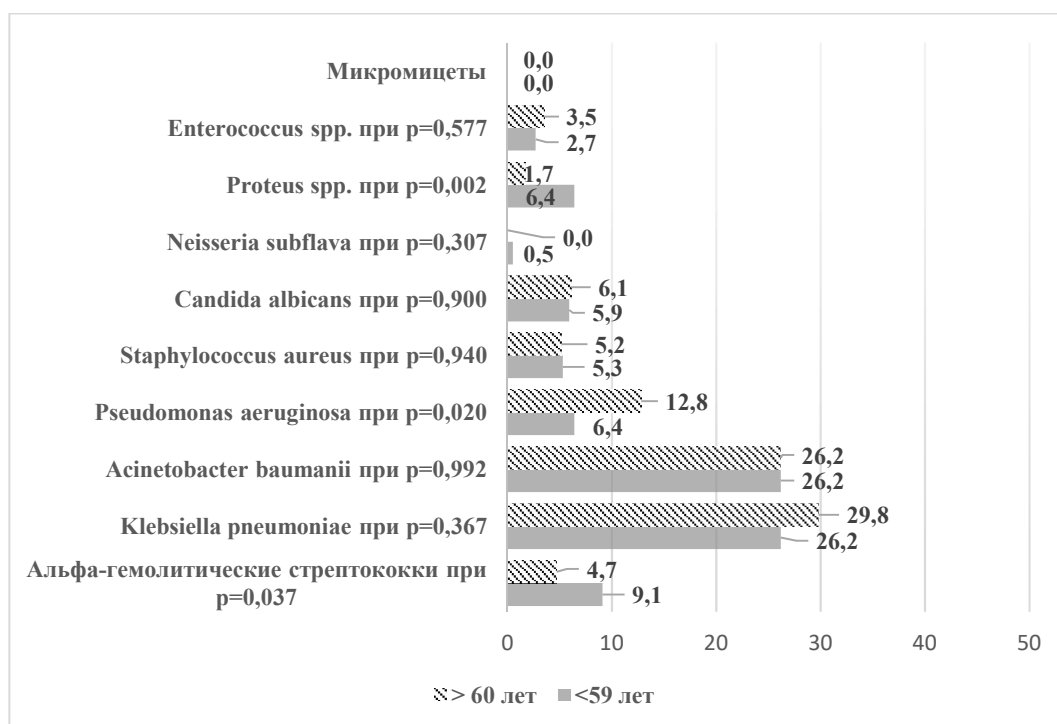


Рисунок 9. Структура часто встречаемых микроорганизмов в двух возрастных группах в первом этапе в ОРИТ, %

Во 2 этапе у лиц старше 60 и младше 59 лет находившихся в ОРИТ статистически значимых различий обнаружено не было (рисунок 10).

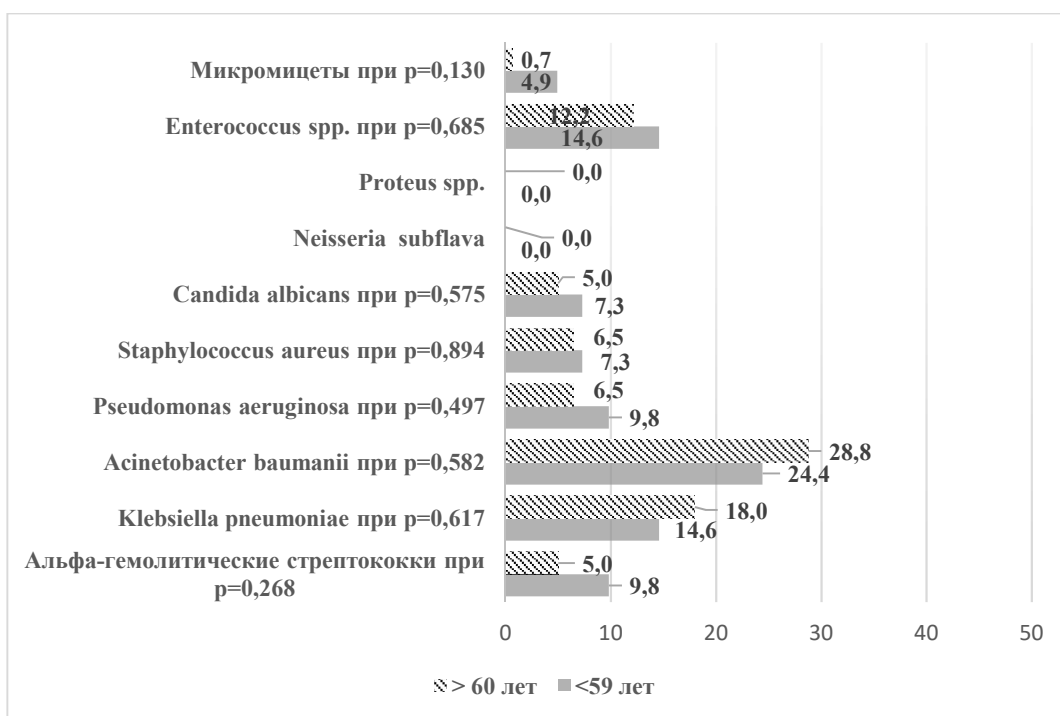


Рисунок 10. Структура часто встречаемых микроорганизмов в двух возрастных группах во втором этапе в ОРИТ, %

Схема сравнения наиболее часто встречающихся микроорганизмов в прочих отделениях между лицами двух возрастных групп в зависимости от этапа стратегии антибактериальной терапии представлена на рисунке 11.

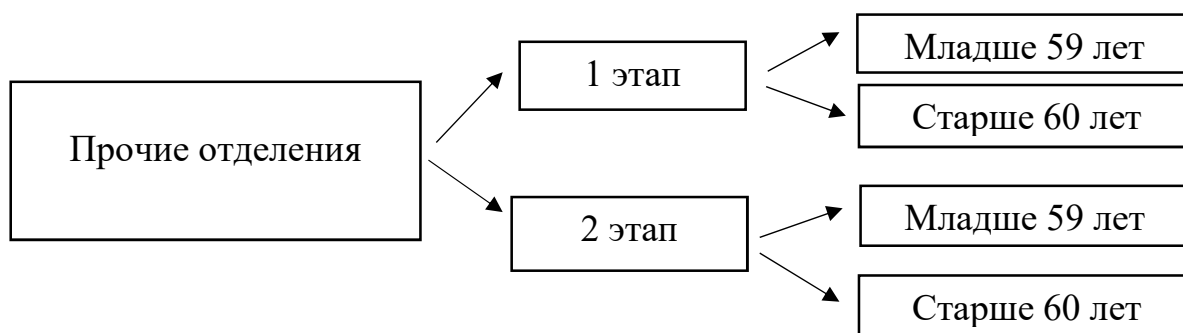


Рисунок 11. Схема сравнения наиболее часто встречающихся микроорганизмов в прочих отделениях между лицами двух возрастных групп в зависимости от этапа стратегии антибактериальной терапии

В 1 этапе стратегии у лиц старше 60, находившихся в прочих отделениях статистически значимо увеличивалась частота встречаемости *Klebsiella pneumoniae* (221 (7,9%) и 84 (5,2%) при $p=0,001$) в сравнении с людьми младше 59 лет. У лиц младше 59 лет - альфа-гемолитический стрептококк (787 (48,3%) и 1139 (40,7%) при $p<0,001$) (рисунок 12).

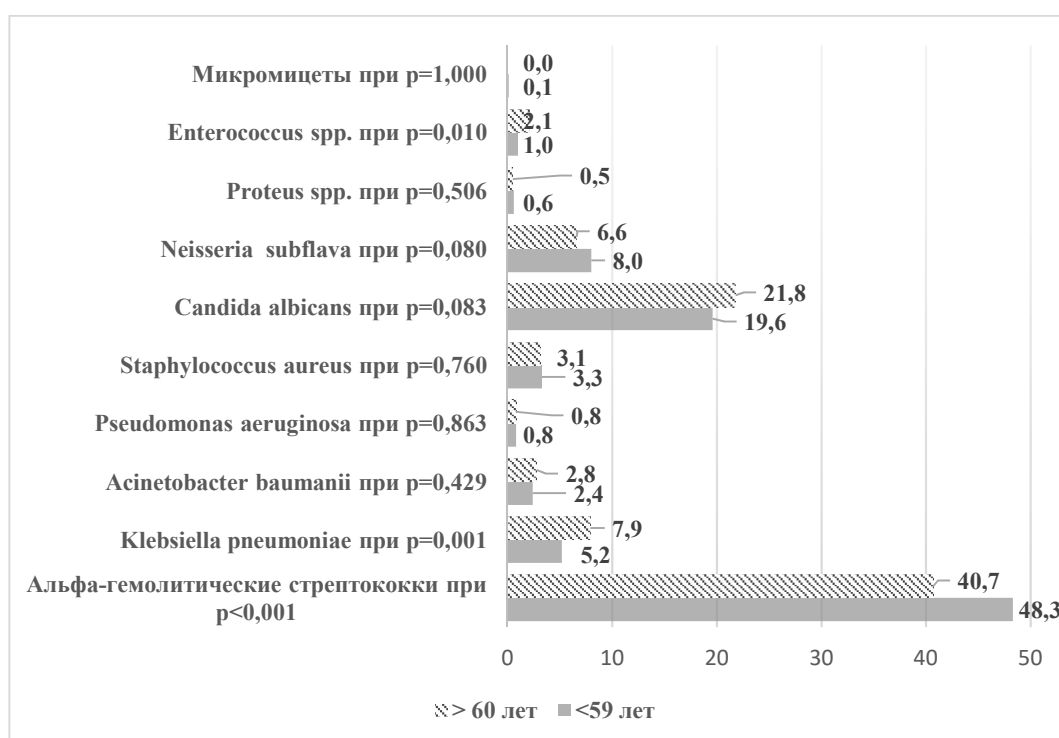


Рисунок 12. Структура часто встречаемых микроорганизмов у двух возрастных групп в первом этапе в прочих отделениях, %

Во 2 этапе стратегии у лиц старше 60, находившихся в прочих отделениях частота обнаружения *Klebsiella pneumoniae* (48 (8,6%) и 16 (4,4%) при $p=0,013$) статистически значимо была выше при сравнении с людьми младше 59 лет. У лиц младше 59 лет - альфа-гемолитический стрептококк (189 (51,9%) и 207 (37,3%) при $p<0,001$) (рисунок 13).

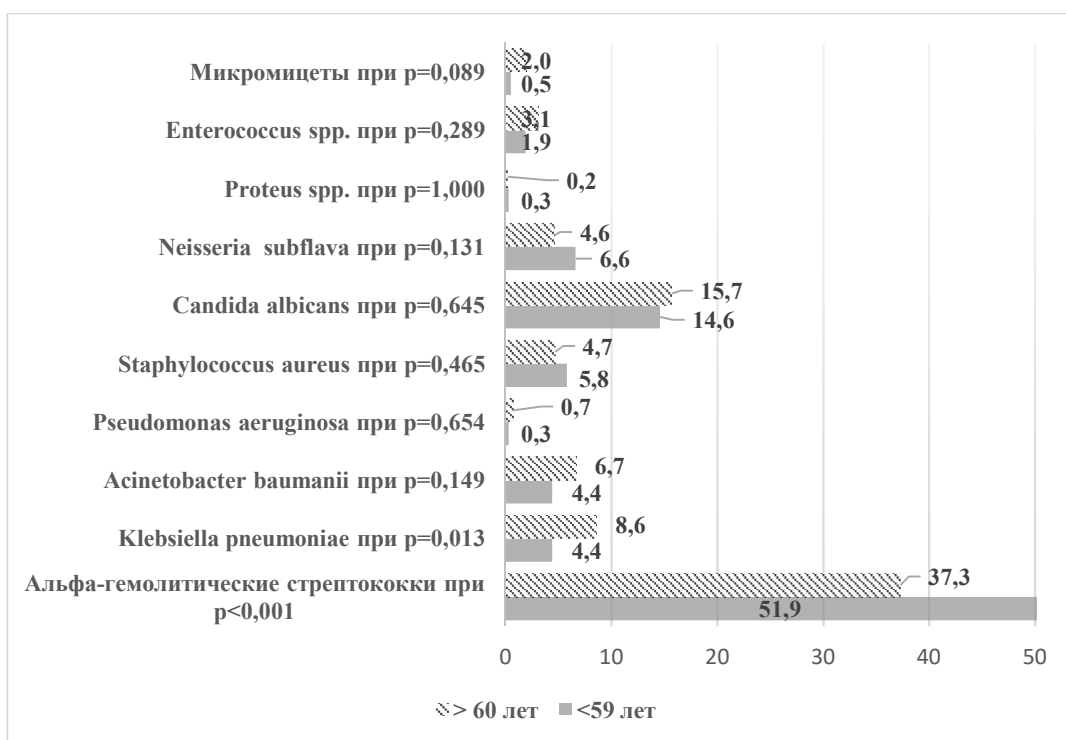


Рисунок 13. Структура часто встречаемых микроорганизмов у двух возрастных групп во втором этапе в прочих отделениях, %

Далее в нашем исследовании мы рассматривали только старшую возрастную группу, как группу риска по тяжелому течению коронавирусной инфекции, постковидных осложнений и летального исхода.

Схема сравнения госпитальных грамотрицательных микроорганизмов, в том числе с множественной лекарственной устойчивостью (MDR), в обоих этапах стратегий антибактериальной терапии между ОРИТ и прочими отделениями у лиц старше 60 лет представлена на рисунке 14.

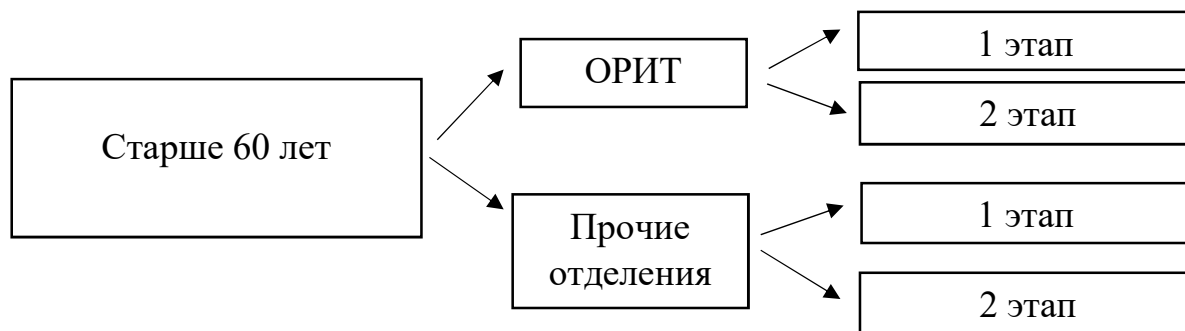


Рисунок 14. Схема сравнения госпитальных грамотрицательных микроорганизмов, в обоих этапах стратегий антибактериальной терапии между ОРИТ и прочими отделениями у лиц старше 60 лет

В 1 этапе антибиотикотерапии в сравнении со 2 этапом наблюдалось статистически значимое увеличение встречаемости *Klebsiella pneumoniae* (126 (29,8%) и 25 (18,0%) при $p=0,006$) и *Pseudomonas aeruginosa* (54 (12,8%) и 9 (6,5%) при $p=0,041$). Во 2 этапе наиболее часто высевали такие микроорганизмы как *Acinetobacter baumannii* MDR (39 (52,7%) и 109 (37,5%) при $p=0,044$) (Таблица 5).

Таблица 5

Основные микроорганизмы, выделенные в двух этапах в ОРИТ

Микроорганизмы	ОРИТ 1 этап (n=337)	ОРИТ 2 этап (n=87)	Уровень значимости
Альфа-гемолитический стрептококк	20 (4,7%)	7 (5,0%)	0,883
<i>Neisseria subflava</i>	0	0	0
<i>Candida albicans</i>	26 (6,1%)	7 (5,0%)	0,629
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	126 (29,8%)	25 (18,0%)	0,006
<i>Klebsiella pneumoniae</i> MDR	89 (30,6%)	16 (21,6%)	0,255
<i>Acinetobacter baumannii</i>	111 (26,2%)	40 (28,8%)	0,558
<i>Acinetobacter baumannii</i> MDR	109 (37,5%)	39 (52,7%)	0,044
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	54 (12,8%)	9 (6,5%)	0,041
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> MDR	18 (6,2%)	4 (5,4%)	0,442

При исследовании лиц, находившихся в прочих отделениях, мы получили следующие данные: в 1 этапе антибиотикотерапии, в сравнении со 2

этапом, у лиц, находившихся в прочих отделениях, статистически значимо чаще встречались *Neisseria subflava* (6,6%) и *Candida albicans* (21,8%) (при $p=0,045$ и $p=0,001$ соответственно). В свою очередь во 2 этапе наиболее часто высевались такие микроорганизмы как *Acinetobacter baumannii* (6,7%) при $p<0,001$. Так же стоит отметить, что *Acinetobacter baumannii* MDR (25,8%) чаще встречался во 2 этапе в прочих отделениях при $p=0,001$ (Таблица 6).

Таблица 6

Структура основных микроорганизмов в прочих отделениях ГМПБ 2

Микроорганизмы	Прочие отделения 1 этап (n=2252)	Прочие отделения 2 этап (n=406)	Уровень значимости
Альфа-гемолитический стрептококк	1139 (40,7%)	207 (37,3%)	0,134
<i>Neisseria subflava</i>	184 (6,6%)	24 (4,3%)	0,045
<i>Candida albicans</i>	609 (21,8%)	87 (15,7)	0,001
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	221 (7,9%)	48 (8,6%)	0,552
<i>Klebsiella pneumoniae</i> MDR	69 (21,6%)	19 (21,3%)	0,892
<i>Acinetobacter baumannii</i>	78 (2,8%)	37 (6,7%)	<0,001
<i>Acinetobacter baumannii</i> MDR	53 (16,6%)	23 (25,8%)	0,001
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	21 (0,8%)	4 (0,7%)	0,941
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> MDR	7 (2,2%)	0 (0,0%)	0,311

Стоит отметить, что все мультирезистентные штаммы были чувствительны только к полимиксинам.

3.4. Оценка выживаемости лиц пожилого и старческого возраста с коронавирусной инфекцией на госпитальном периоде

При оценке выживаемости методом Каплана-Мейера лица пожилого возраста, у которых альфа-гемолитический стрептококк не обнаруживался при госпитализации в стационар уровень смертности в госпитальном периоде был достоверно более высокий (17 случаев (6,8%)) по сравнению с людьми у

которых данный микроорганизм выделялся (log-rank test, $p < 0,001$) (рисунок 15). У лиц старческого возраста, высевавших и не высевавших альфа-гемолитический стрептококк при поступлении в стационар, статистически значимых различий по вероятности наступления летального исхода от коронавирусной инфекции выявлено не было (log-rank test, $p = 0,161$) (рисунок 16).

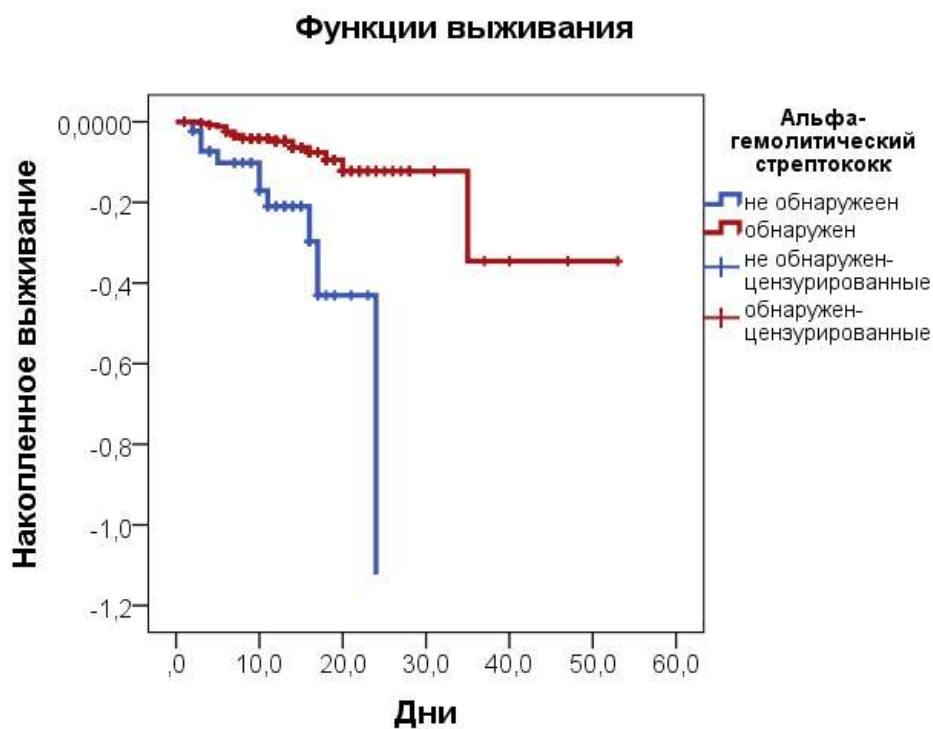


Рисунок 15. Кривые Каплана-Мейера, демонстрирующие кумулятивные показатели выживания в зависимости от частоты обнаружения альфа-гемолитического стрептококка при госпитализации у лиц в возрасте 60-74 года

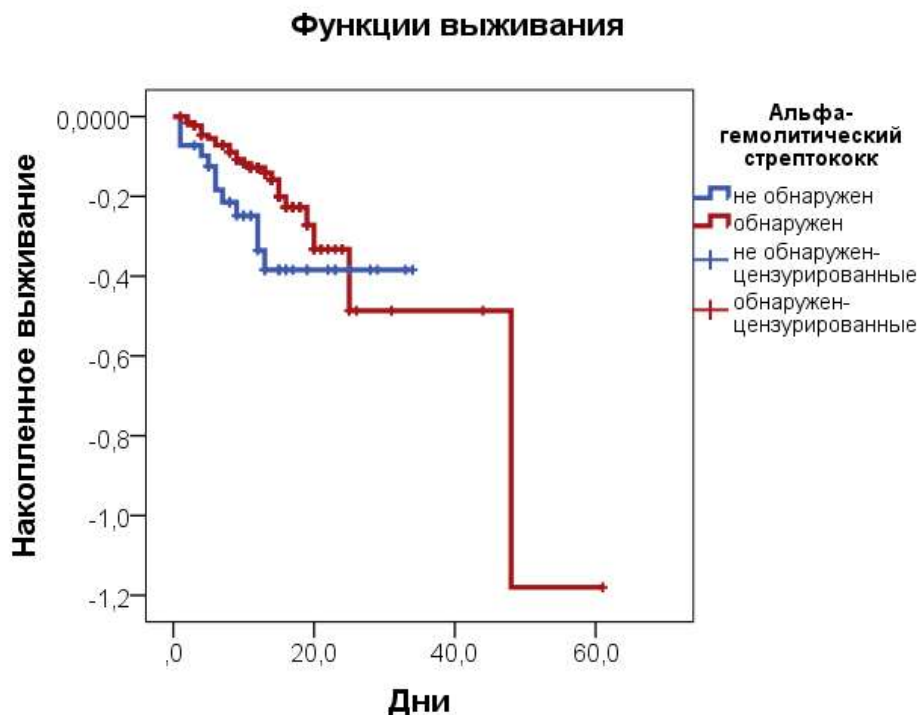


Рисунок 16. Кривые Каплана-Мейера, демонстрирующие кумулятивные показатели выживания в зависимости от частоты обнаружения альфа-гемолитического стрептококка при госпитализации у лиц в возрасте старше 75 лет

У лиц в возрасте 60-74 года, высевавших *Pseudomonas aeruginosa* при поступлении, уровень смертности составил 33,3% (log-rank test, $p=0,017$), что достоверно выше при сравнении с людьми, не высевавшими данный патогенный микроорганизм 9,3% (log-rank test, $p=0,017$) (рисунок 17). У лиц старше 75 лет статистически значимых различий при оценки выявлено не было (log-rank test, $p=0,129$) (рисунок 18).

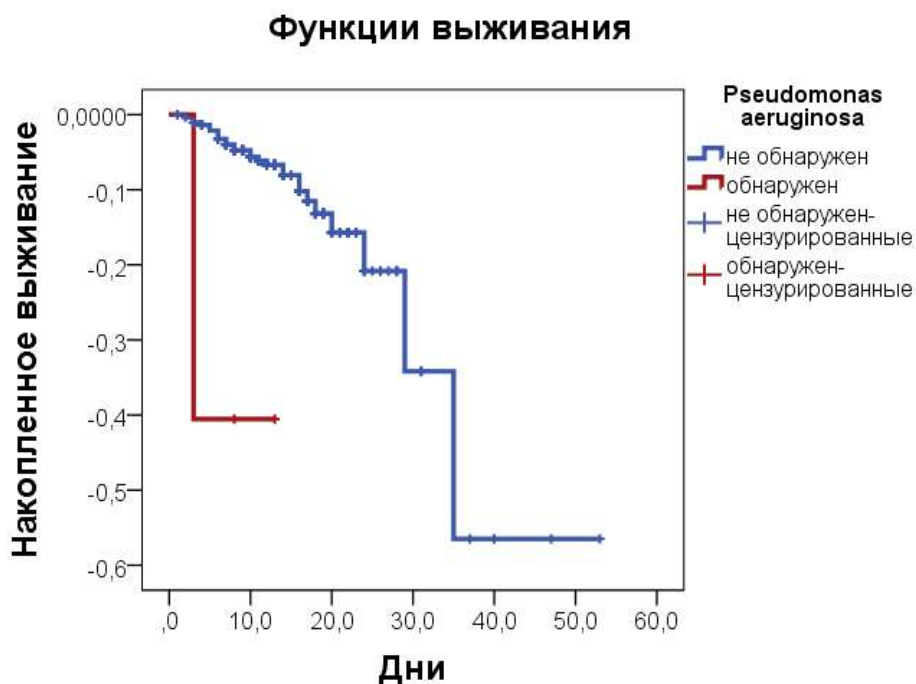


Рисунок 17. Кривые Каплана-Мейера, демонстрирующие кумулятивные показатели выживания в зависимости от частоты обнаружения *Pseudomonas aeruginosa* при госпитализации у лиц в возрасте 60-74 года

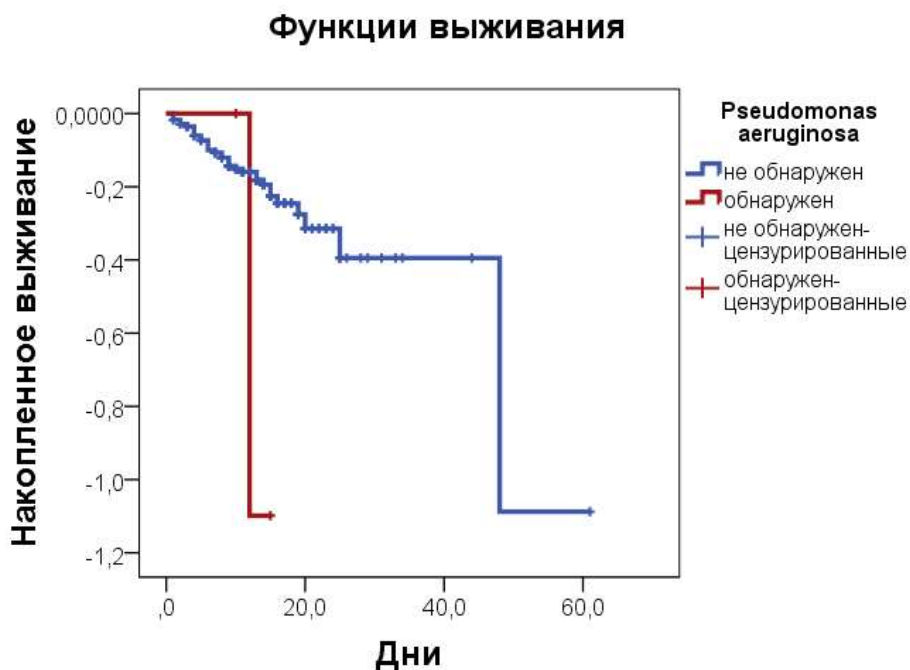


Рисунок 18. Кривые Каплана-Мейера, демонстрирующие кумулятивные показатели выживания в зависимости от частоты обнаружения *Pseudomonas aeruginosa* при госпитализации у лиц в возрасте старше 75 лет

Для лиц пожилого возраста, высевавших, а также не высевавших КНС при поступлении в стационар статистических различий обнаружено не было (log-rank test, $p=0,528$ (рисунок 19)). Вероятность неблагоприятного исхода при коронавирусной инфекции в старческом возрасте достоверно увеличивалась среди лиц, высевавших КНС (35%, log-rank test, $p=0,043$), в сравнении с людьми у которых КНС обнаружены не были (18,5%, log-rank test, $p=0,043$). (рисунок 20).

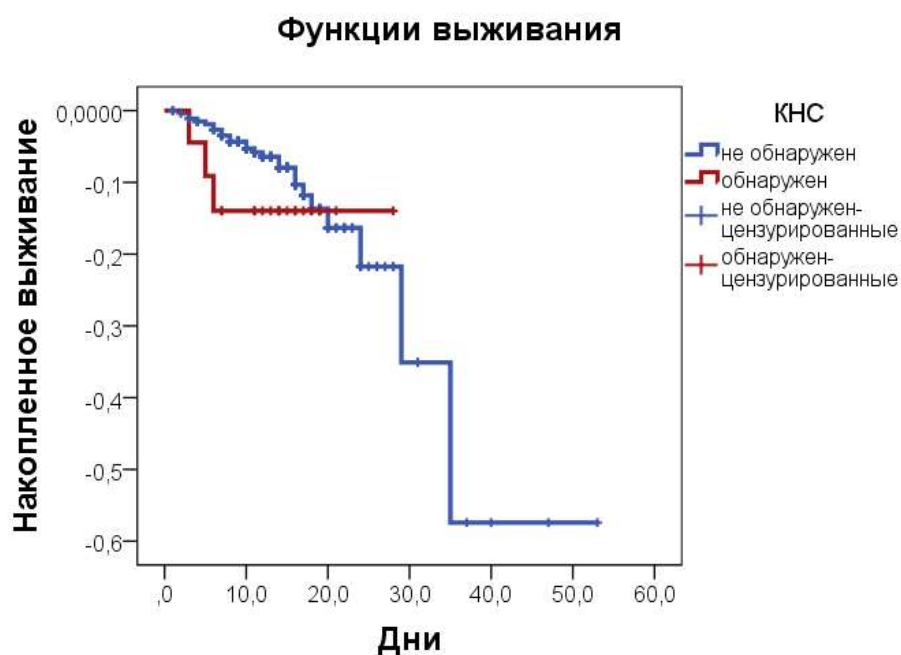


Рисунок 19. Кривые Каплана-Мейера, демонстрирующие кумулятивные показатели выживания в зависимости от частоты обнаружения коагулазонегативных стафилококков при госпитализации у лиц в возрасте 60-74 года

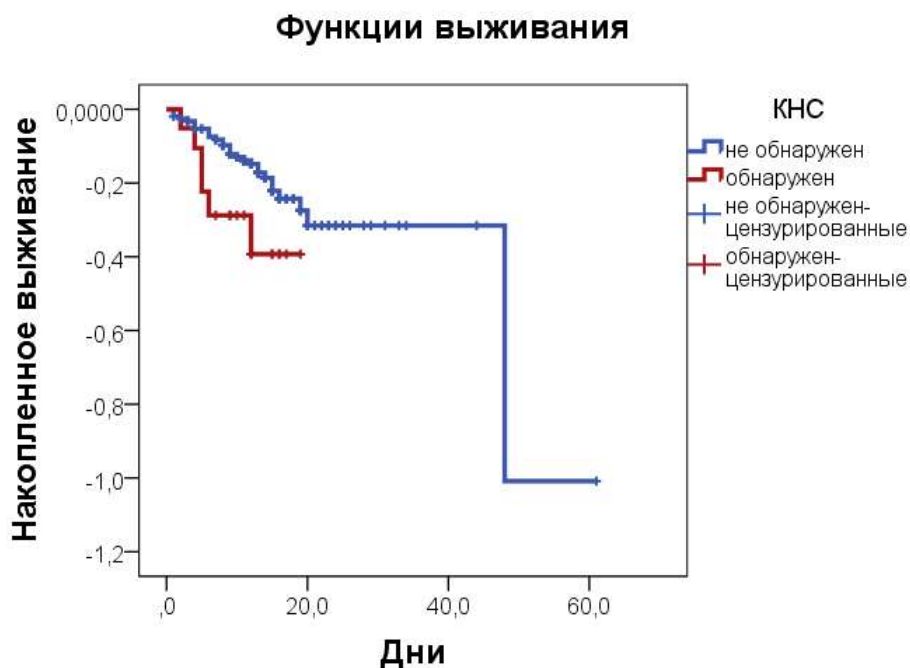


Рисунок 20. Кривые Каплана-Мейера, демонстрирующие кумулятивные показатели выживания в зависимости от частоты обнаружения коагулазонегативных стафилококков при госпитализации у лиц в возрасте старше 75 лет

У лиц в возрасте 60-74 года, у которых высевался и не высевался *Enterobacter spp.*, достоверных различий при оценке выживаемости методом Каплана-Мейера выявлено не было (log-rank test, $p=0,409$) (рисунок 21). У лиц старческого возраста с *Enterobacter spp.*, обнаруженном при поступлении, уровень смертности статистически значимо был выше (3 (50%)) в сравнении с людьми не высевавшими данный микроорганизм у которых количество летальных исходов при COVID-19 составило 19,3% (log-rank test, $p=0,011$) (рисунок 22).

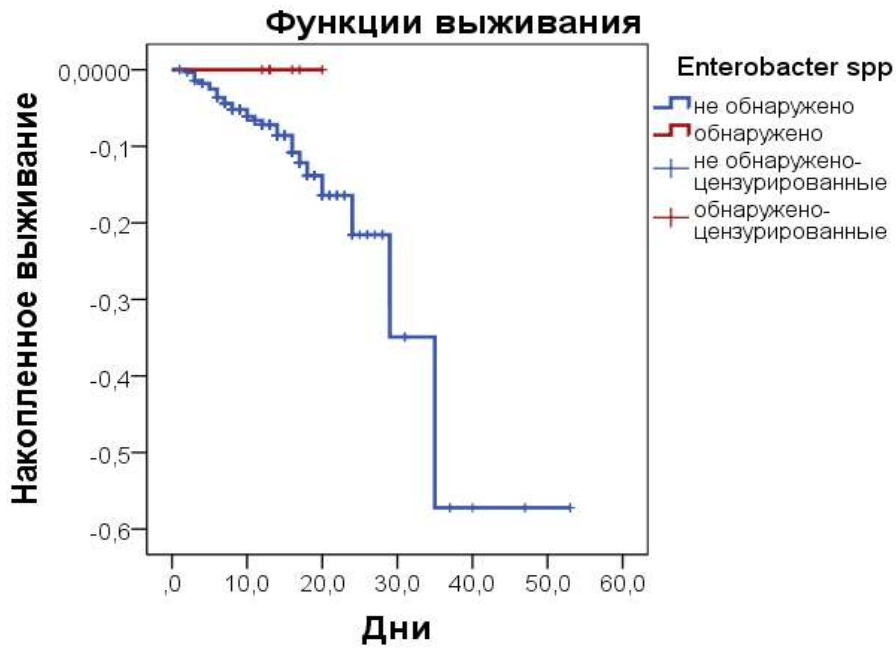


Рисунок 21. Кривые Каплана-Мейера, демонстрирующие кумулятивные показатели выживания в зависимости от частоты обнаружения *Enterobacter* spp. при госпитализации у лиц в возрасте 60-74 года

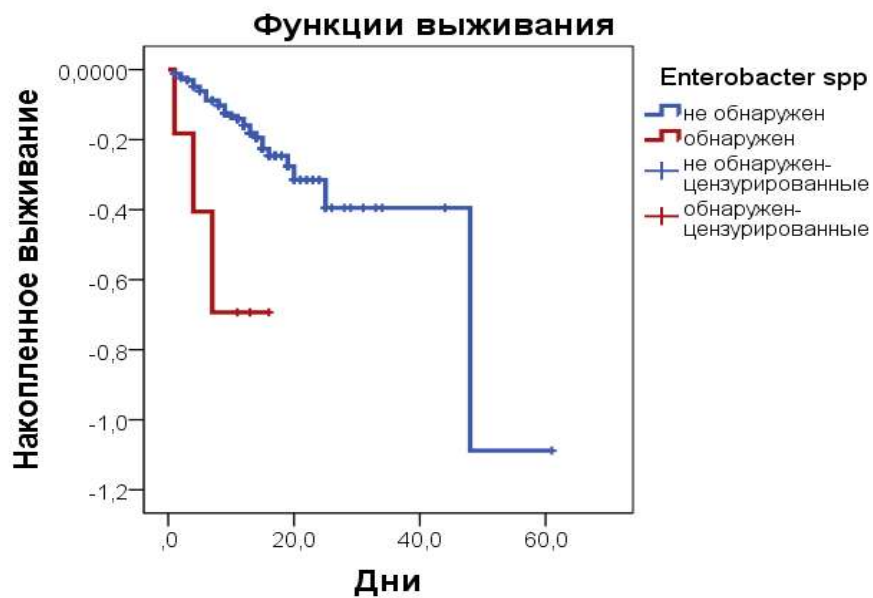


Рисунок 22. Кривые Каплана-Мейера, демонстрирующие кумулятивные показатели выживания в зависимости от частоты обнаружения *Enterobacter* spp. при госпитализации у лиц в возрасте старше 75 лет

У лиц в пожилом возрасте у которых при госпитализации обнаруживался *Enterococcus faecalis* в сравнии с людьми той же возрастной категории, не высевавших данный микроорганизм, риск летального исхода коронавирусной инфекции был более высокий (40% против 9,03%, log-rank test, $p=0,002$) (рисунок 23). У лиц старше 75 лет статистически значимых различий выявлено не было (log-rank test, $p=0,937$) (рисунок 24).

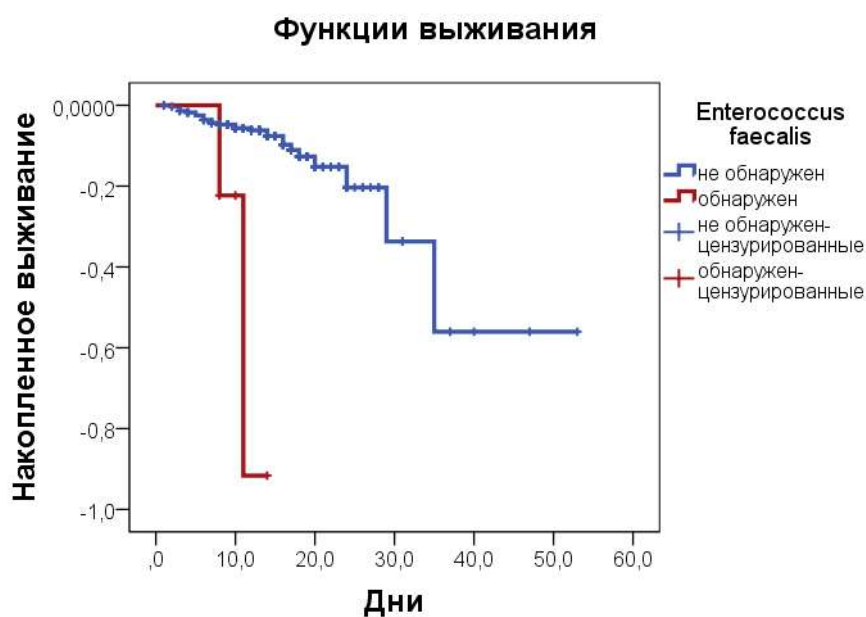


Рисунок 23. Кривые Каплана-Мейера, демонстрирующие кумулятивные показатели выживания в зависимости от частоты обнаружения *Enterococcus faecalis* при госпитализации у лиц в возрасте 60-74 года

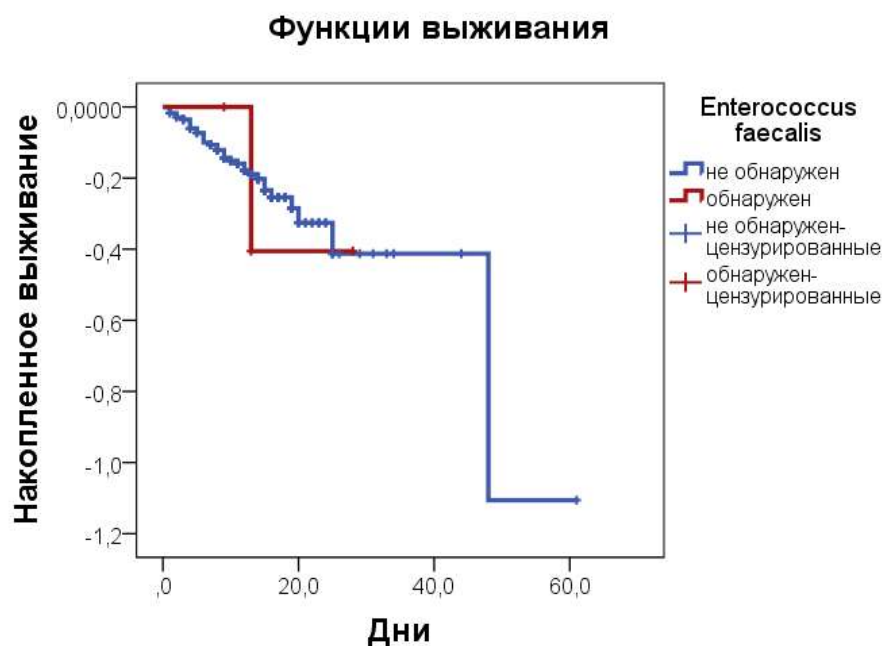


Рисунок 24. Кривые Каплана-Мейера, демонстрирующие кумулятивные показатели выживания в зависимости от частоты обнаружения *Enterococcus faecalis* при госпитализации у лиц в возрасте старше 75 лет

3.5. Влияние микробиоты нижних дыхательных путей у лиц разных возрастных групп с COVID-19 на длительность пребывания в стационаре

Для решения поставленных задач мы сравнили микробиоценоз в зависимости от продолжительности пребывания в стационаре (лица, находившиеся в стационаре менее 14 дней - 537 человек и более 15 дней – 275 человека) и исхода (благоприятного – выжившие на госпитальном этапе (736 человек) и неблагоприятного исхода – умершие на госпитальном этапе (76 человек)).

Всего было исследовано 1394 микроорганизма из 812 образцов биоматериала. Микробиота респираторного тракта при исследовании у лиц с коронавирусной инфекцией до начала лечения в стационаре был представлен 19 родами микроорганизмов – *Streptococcus*, *Neisseria*, *Staphylococcus*

(*Staphylococcus aureus* и КНС), *Corynebacterium non diphtheriae*, *Enterococcus*, *Moraxella*, *Haemophilus*, *Pseudomonas*, *Acinetobacter*, *Escherichia*, *Proteus*, *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Citrobacter*, *Stenotrophomonas*, *Morganella*, *Candida*, *Penicillium*, *Mucor* (*Penicillium*, *Mucor* объединены в группу микромицеты, род *Candida* был выделен отдельно).

При сравнении частоты обнаружения микроорганизмов у лиц, находившихся в стационаре менее 14 дней с людьми, срок госпитализации которых превышал 15 дней, было получено, что статистически значимо, у первых, уменьшалась частота встречаемости *Candida albicans* (22,3% и 30,2%) и *Corynebacterium spp* (1,1% и 3,6%) при $p=0,015$, а частота обнаружения *Enterococcus faecalis* увеличивалась (2,4% и 0,4% при $p=0,043$) (таблица 7). Состав микробиты у обеих групп был общим, за исключением отсутствия таких родов, как *Proteus* (0,0%), *Pseudomonas* (кроме *Pseudomonas aeruginosa*) (0,0%), *Moraxella* (0,0%), *Haemophilus* (0,0%) в группе лиц, находящихся в стационаре которых было более 15 дней и *Morganella* (0,0%), которая не была обнаружена в группе лиц, срок госпитализации, составляющий менее 14 дней.

Таблица 7

Частота выделения микроорганизмов в зависимости от продолжительности пребывания в стационаре

Микроорганизмы	< 14 дней (n=537)	> 15 дней (n=275)	Уровень значимости
<i>Acinetobacter baumannii</i>	14 (2,6%)	4 (1,5%)	0,450
<i>Acinetobacter spp</i>	6 (1,1%)	2 (0,7%)	0,723
<i>Candida albicans</i>	120 (22,3%)	83 (30,2%)	0,015
<i>Candida non albicans</i>	10 (1,9%)	4 (1,5%)	0,782
<i>Corynebacterium spp</i>	6 (1,1%)	10 (3,6%)	0,015
Альфа-гемолитический стрептококк	464 (86,4%)	235 (85,5%)	0,711
<i>Proteus spp</i>	3 (0,6%)	0 (0,0%)	0,555
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	6 (1,1%)	2 (0,7%)	0,723
<i>Pseudomonas spp</i>	4 (0,7%)	0 (0,0%)	0,306
<i>Staphylococcus aureus</i>	50 (9,3%)	24 (8,7%)	0,784
КНС	46 (8,6%)	28 (10,2%)	0,449
<i>Enterococcus faecalis</i>	13 (2,4%)	1 (0,4%)	0,043
<i>Enterococcus faecium</i>	2 (0,4%)	1 (0,4%)	1,000

Микроорганизмы	< 14 дней (n=537)	> 15 дней (n=275)	Уровень значимости
<i>Escherichia coli</i>	12 (2,2%)	7 (2,5%)	0,782
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	31 (5,8%)	15 (5,5%)	0,853
<i>Moraxella catarrhalis</i>	2 (0,4%)	0 (0,0%)	0,552
<i>Enterobacter spp</i>	14 (2,6%)	5 (1,8%)	0,482
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	2 (0,4%)	1 (0,4%)	1,000
<i>Neisseria subflava</i>	105 (19,6%)	48 (17,5%)	0,469
<i>Haemophilus influenzae</i>	1 (0,2%)	0 (0,0%)	1,000
Микромицеты	2 (0,4%)	2 (0,7%)	0,607
<i>Klebsiella spp</i>	1 (0,2%)	1 (0,4%)	1,000
<i>Citrobacter spp</i>	5 (0,9%)	1 (0,4%)	0,670
<i>Morganella morganii</i>	0 (0,0%)	1 (0,4%)	0,339

Достоверных различий в группах 18-59, 60-74 и старше 75 лет между лицами, находившимися в стационаре менее 14 и более 15 дней, по количеству видов микроорганизмов не было.

Следующим этапом было исследование различия микробиоценоза у лиц, находившихся в стационаре менее 14 дней (таблица 8). При сравнении лиц в возрасте от 18 до 59 лет, статистически значимо, реже высевались *Candida albicans* (16,5% и 28,4% при $p=0,003$), *Candida non albicans* (0,4% и 3,4% при $p=0,022$), *Klebsiella pneumoniae* (3,2% и 9,1% при $p=0,010$), чем у группы от 60 до 74 лет, но чаще встречались такие микроорганизмы как альфа-гемолитический стрептококк (92,8% и 83,5% при $p<0,001$). У лиц молодого и среднего возраста, в отличие от пациентов старше 75 лет, *Candida albicans* (16,5% и 25,9% при $p=0,036$) и *Pseudomonas aeruginosa* (0,0% и 2,7% при $p=0,029$) встречались статистически значимо реже, а альфа-гемолитический стрептококк, чаще (93,0% и 83,1% при $p=0,008$). При сравнении лиц пожилого и старческого возраста статистически значимых различий выявлено не было. Стоит отметить, что ни у одного человека молодого и среднего возраста не была обнаружена *Pseudomonas aeruginosa* (0,0%), в отличие от лиц пожилого и старческого возраста, а также наблюдалась тенденция увеличения ее обнаружения с возрастом (0,0%, 1,7% и 2,7%).

Таблица 8

Частота выделения микроорганизмов у лиц разных возрастных групп,
находившихся в стационаре менее 14 дней.

Микроорганизмы	18-59 лет (n=249) (группа 1)	60-74 года (n=176) (группа 2)	Старше 75 лет (n=112) (группа 3)	Уровень значимости
<i>Acinetobacter baumannii</i>	5 (2,0%)	5 (2,8%)	4 (3,6%)	ргр.1 гр.2=0,577 ргр.2 гр.3=0,739 ргр.1 гр.3=0,467
<i>Acinetobacter spp</i>	2 (0,8%)	1 (0,6%)	3 (2,7%)	ргр.1 гр.2=1,000 ргр.2 гр.3=0,303 ргр.1 гр.3=0,175
<i>Candida albicans</i>	41 (16,5%)	50 (28,4%)	29 (25,9%)	ргр.1 гр.2= 0,003 ргр.2 гр.3=0,641 ргр.1 гр.3= 0,036
<i>Candida non albicans</i>	1 (0,4%)	6 (3,4%)	3 (2,7%)	ргр.1 гр.2= 0,022 ргр.2 гр.3=1,000 ргр.1 гр.3=0,090
<i>Corynebacterium spp</i>	3 (1,2%)	2 (1,1%)	1 (0,9%)	ргр.1 гр.2=1,000 ргр.2 гр.3=1,000 ргр.1 гр.3=1,000
Альфа-гемолитический стрептококк	231 (92,8%)	147 (83,5%)	86 (76,8%)	ргр.1 гр.2= 0,003 ргр.2 гр.3=0,151 ргр.1 гр.3<0,001
<i>Proteus spp</i>	0 (0,0%)	3 (1,7%)	0 (0,0%)	ргр.1 гр.2=0,070 ргр.2 гр.3=0,285 ргр.1 гр.3=-
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	0 (0,0%)	3 (1,7%)	3 (2,7%)	ргр.1 гр.2=0,070 ргр.2 гр.3=0,681 ргр.1 гр.3= 0,029
<i>Pseudomonas spp</i>	2 (0,8%)	1 (0,6%)	1 (0,9%)	ргр.1 гр.2=1,000 ргр.2 гр.3=1,000 ргр.1 гр.3=1,000
<i>Staphylococcus aureus</i>	23 (9,2%)	14 (8,0%)	13 (11,6%)	ргр.1 гр.2=0,644 ргр.2 гр.3=0,300 ргр.1 гр.3=0,487
КНС	21 (8,4%)	12 (6,8%)	13 (11,6%)	ргр.1 гр.2=0,540 ргр.2 гр.3=0,159 ргр.1 гр.3=0,340
<i>Enterococcus faecalis</i>	5 (2,0%)	5 (2,8%)	3 (2,7%)	ргр.1 гр.2=0,577 ргр.2 гр.3=1,000 ргр.1 гр.3=0,070
<i>Enterococcus faecium</i>	0 (0,0%)	2 (1,1%)	0 (0,0%)	ргр.1 гр.2=0,171 ргр.2 гр.3=0,523 ргр.1 гр.3=-
<i>Escherichia coli</i>	4 (1,6%)	4 (2,3%)	4 (3,6%)	ргр.1 гр.2=0,723 ргр.2 гр.3=0,715 ргр.1 гр.3=0,260
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	8 (3,2%)	16 (9,1%)	7 (6,3%)	ргр.1 гр.2= 0,010 ргр.2 гр.3=0,386 ргр.1 гр.3=0,181

Микроорганизмы	18-59 лет (n=249) (группа 1)	60-74 года (n=176) (группа 2)	Старше 75 лет (n=112) (группа 3)	Уровень значимости
<i>Moraxella catarrhalis</i>	1 (0,4%)	1 (0,6%)	0 (0,0%)	ргр.1 гр.2=1,000 ргр.2 гр.3=1,000 ргр.1 гр.3=1,000
<i>Enterobacter spp</i>	5 (2,0%)	4 (2,3%)	5 (4,5%)	ргр.1 гр.2=1,000 ргр.2 гр.3=0,317 ргр.1 гр.3=0,188
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	1 (0,4%)	0 (0,0%)	1 (0,9%)	ргр.1 гр.2=1,000 ргр.2 гр.3=0,389 ргр.1 гр.3=0,525
<i>Neisseria subflava</i>	50 (20,1%)	37 (21,0%)	18 (16,1%)	ргр.1 гр.2=0,813 ргр.2 гр.3=0,297 ргр.1 гр.3=0,368
<i>Haemophilus influenzae</i>	1 (0,4%)	0 (0,0%)	0 (0,0%)	ргр.1 гр.2=1,000 ргр.2 гр.3=- ргр.1 гр.3=1,000
Микромицеты	0 (0,0%)	1 (0,6%)	1 (0,9%)	ргр.1 гр.2=0,414 ргр.2 гр.3=1,000 ргр.1 гр.3=0,310
<i>Klebsiella spp</i>	0 (0,0%)	1 (0,6%)	0 (0,0%)	ргр.1 гр.2=0,414 ргр.2 гр.3=1,000 ргр.1 гр.3=-
<i>Citrobacter spp</i>	3 (1,2%)	2 (1,1%)	0 (0,0%)	ргр.1 гр.2=1,000 ргр.2 гр.3=0,523 ргр.1 гр.3=0,555
<i>Morganella morganii</i>	0 (0,0%)	0 (0,0%)	0 (0,0%)	ргр.1 гр.2=- ргр.2 гр.3=- ргр.1 гр.3=-

В результате исследования различия микробиоценоза у лиц разных возрастных групп, находившихся в стационаре более 15 дней, были получены следующие данные (таблица 9). При сравнении лиц в возрасте 18-59 лет и 60-74 года статистически значимых различий обнаружено не было. У лиц молодого и среднего возраста, чаще встречался альфа-гемолитический стрептококк, в сравнении с группой старческого возраста (91,4% и 73,8% при $p=0,003$). В возрастной группе 60-74 года реже высевался *Staphylococcus aureus*, чем в группе старше 75 лет (6,0% и 15,4% при $p=0,037$) и чаще альфа-гемолитический стрептококк (87,2% и 73,8% при $p=0,024$). Было обнаружено, что род *Enterococcus* ни разу не встречался в группах молодого, среднего и пожилого возраста, в отличие от старческого (0,0%, 0,0% и 1,5%).

Таблица 9

Частота выделения микроорганизмов у лиц разных возрастных групп, находившихся в стационаре более 15 дней.

Микроорганизмы	18-59 лет (n=93) (группа 1)	60-74 года (n=117) (группа 2)	Старше 75 лет (n=65) (группа 3)	Уровень значимости
<i>Acinetobacter baumannii</i>	2 (2,2%)	1 (0,9%)	1 (1,5%)	ргр.1 гр.2=0,585 ргр.2 гр.3=1,000 ргр.1 гр.3=1,000
<i>Acinetobacter spp</i>	1 (1,1%)	0 (0,0%)	1 (1,5%)	ргр.1 гр.2=0,443 ргр.2 гр.3=0,357 ргр.1 гр.3=1,000
<i>Candida albicans</i>	24 (25,8%)	42 (35,9%)	17 (26,2%)	ргр.1 гр.2=0,118 ргр.2 гр.3=0,178 ргр.1 гр.3=1,000
<i>Candida non albicans</i>	0 (0,0%)	1 (0,9%)	3 (4,6%)	ргр.1 гр.2=1,000 ргр.2 гр.3=0,131 ргр.1 гр.3=0,068
<i>Corynebacterium spp</i>	2 (2,2%)	5 (4,3%)	3 (4,6%)	ргр.1 гр.2=0,467 ргр.2 гр.3=1,000 ргр.1 гр.3=0,403
Альфа-гемолитический стрептококк	85 (91,4%)	102 (87,2%)	48 (73,8%)	ргр.1 гр.2=0,331 ргр.2 гр.3=0,024 ргр.1 гр.3=0,003
<i>Proteus spp</i>	0 (0,0%)	0 (0,0%)	0 (0,0%)	ргр.1 гр.2=- ргр.2 гр.3=- ргр.1 гр.3=-
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	1 (1,1%)	0 (0,0%)	1 (1,5%)	ргр.1 гр.2=0,443 ргр.2 гр.3=0,357 ргр.1 гр.3=1,000
<i>Pseudomonas spp</i>	0 (0,0%)	0 (0,0%)	0 (0,0%)	ргр.1 гр.2=- ргр.2 гр.3=- ргр.1 гр.3=-
<i>Staphylococcus aureus</i>	7 (7,5%)	7 (6,0%)	10 (15,4%)	ргр.1 гр.2=0,656 ргр.2 гр.3=0,037 ргр.1 гр.3=0,117
КНС	10 (10,8%)	11 (9,4%)	7 (10,8%)	ргр.1 гр.2=0,746 ргр.2 гр.3=0,767 ргр.1 гр.3=1,000
<i>Enterococcus faecalis</i>	0 (0,0%)	0 (0,0%)	1 (1,5%)	ргр.1 гр.2=- ргр.2 гр.3=0,357 ргр.1 гр.3=0,411
<i>Enterococcus faecium</i>	0 (0,0%)	0 (0,0%)	1 (1,5%)	ргр.1 гр.2=- ргр.2 гр.3=0,357 ргр.1 гр.3=0,411
<i>Escherichia coli</i>	3 (3,2%)	3 (2,6%)	1 (1,5%)	ргр.1 гр.2=1,000 ргр.2 гр.3=1,000 ргр.1 гр.3=0,644
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	4 (4,3%)	7 (6,0%)	4 (6,2%)	ргр.1 гр.2=0,758 ргр.2 гр.3=1,000 ргр.1 гр.3=0,718

Микроорганизмы	18-59 лет (n=93) (группа 1)	60-74 года (n=117) (группа 2)	Старше 75 лет (n=65) (группа 3)	Уровень значимости
<i>Moraxella catarrhalis</i>	0 (0,0%)	0 (0,0%)	0 (0,0%)	гр.1 гр.2=- гр.2 гр.3=- гр.1 гр.3=-
<i>Enterobacter spp</i>	1 (1,1%)	3 (2,6%)	1 (1,5%)	гр.1 гр.2=0,631 гр.2 гр.3=1,000 гр.1 гр.3=1,000
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	0 (0,0%)	1 (0,9%)	0 (0,0%)	гр.1 гр.2=1,000 гр.2 гр.3=1,000 гр.1 гр.3=-
<i>Neisseria subflava</i>	19 (20,4%)	18 (15,4%)	11 (16,9%)	гр.1 гр.2=0,340 гр.2 гр.3=0,768 гр.1 гр.3=0,580
<i>Haemophilus influenzae</i>	0 (0,0%)	0 (0,0%)	0 (0,0%)	гр.1 гр.2=- гр.2 гр.3=- гр.1 гр.3=-
Микромицеты	0 (0,0%)	2 (1,7%)	0 (0,0%)	гр.1 гр.2=0,504 гр.2 гр.3=0,538 гр.1 гр.3=-
<i>Klebsiella spp</i>	1 (1,1%)	0 (0,0%)	0 (0,0%)	гр.1 гр.2=0,443 гр.2 гр.3=- гр.1 гр.3=1,000
<i>Citrobacter spp</i>	0 (0,0%)	0 (0,0%)	1 (1,5%)	гр.1 гр.2=- гр.2 гр.3=0,357 гр.1 гр.3=0,411
<i>Morganella morganii</i>	0 (0,0%)	1 (0,9%)	0 (0,0%)	гр.1 гр.2=1,000 гр.2 гр.3=1,000 гр.1 гр.3=-

3.6. Особенности микробиоценоза нижних дыхательных путей, коррелирующие с исходами COVID-19 у лиц разных возрастных групп

При сравнении частоты обнаружения микроорганизмов у лиц с благоприятным и неблагоприятным исходом было получено у первых статистически значимое увеличение частоты встречаемости альфа-гемолитических стрептококков (647 (87,9%) и 52 (68,4%) при $p < 0,001$) и снижение обнаружения *Pseudomonas aeruginosa* (5 (0,7%) и 3 (3,9%) при $p = 0,031$), *Enterococcus faecium* (1 (0,1%) и 2 (2,6%) при $p = 0,024$), *Klebsiella pneumoniae* (37 (5,0%) и 9 (11,8%) при $p = 0,014$) и микромицеты (1 (0,1%) и 3 (3,9%) при $p = 0,003$). Данные представлены в таблице 10. В составе микробиты у лиц с неблагоприятным исходом не встречались микроорганизмы родов *Acinetobacter* (кроме *Acinetobacter baumannii*), *Proteus*, *Moraxella*, *Haemophilus*, *Klebsiella* (кроме *Klebsiella pneumoniae*), *Citrobacter*, *Morganella* в отличие от пациентов с благоприятным исходом. Стоит отметить, что наблюдалась тенденция увеличения высеваемости *Staphylococcus aureus* (8,6% и 14,5%),

коагулазонегативных стафилококков (8,6% и 14,5%) у лиц с неблагоприятным исходом в сравнении с благоприятным.

Таблица 10

Частота выделения микроорганизмов в зависимости от исхода

Микроорганизмы	Благоприятный исход (n=736)	Неблагоприятный исход (n=76)	Уровень значимости
<i>Acinetobacter baumannii</i>	15 (2,0%)	3 (3,9%)	0,233
<i>Acinetobacter spp</i>	8 (1,1%)	0 (0,0%)	1,000
<i>Candida albicans</i>	180 (24,5%)	23 (30,3%)	0,266
<i>Candida non albicans</i>	12 (1,6%)	2 (2,6%)	0,383
<i>Corynebacterium spp</i>	15 (2,0%)	1 (1,3%)	1,000
Альфа-гемолитический стрептококк	647 (87,9%)	52 (68,4%)	<0,001
<i>Proteus spp</i>	3 (0,4%)	0 (0,0%)	1,000
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	5 (0,7%)	3 (3,9%)	0,031
<i>Pseudomonas spp</i>	3 (0,4%)	1 (1,3%)	0,326
<i>Staphylococcus aureus</i>	63 (8,6%)	11 (14,5%)	0,088
КНС	63 (8,6%)	11 (14,5%)	0,088
<i>Enterococcus faecalis</i>	11 (1,5%)	3 (3,9%)	0,135
<i>Enterococcus faecium</i>	1 (0,1%)	2 (2,6%)	0,024
<i>Escherichia coli</i>	17 (2,3%)	2 (2,36%)	0,696
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	37 (5,0%)	9 (11,8%)	0,014
<i>Moraxella catarrhalis</i>	2 (0,3%)	0 (0,0%)	1,000
<i>Enterobacter spp</i>	16 (2,2%)	3 (3,9%)	0,410
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	3 (0,4%)	0 (0,0%)	1,000
<i>Neisseria subflava</i>	143 (19,4%)	10 (13,2%)	0,183
<i>Haemophilus influenzae</i>	1 (0,1%)	0 (0,0%)	1,000
Микромицеты	1 (0,1%)	3 (3,9%)	0,003
<i>Klebsiella spp</i>	2 (0,3%)	0 (0,0%)	1,000
<i>Citrobacter spp</i>	6 (0,8%)	0 (0,0%)	1,000
<i>Morganella morganii</i>	1 (0,1%)	0 (0,0%)	1,000

Сравнение микробиоценоза отделяемого НДП пациентов молодого и среднего возраста в зависимости от исхода показало, что у лиц с благоприятным исходом, статистически значимо снижалось в сравнении с лицами с летальным исходом, выделение *Klebsiella pneumoniae* (9 (2,7%) и 3 (25,0%) при $p=0,006$). В группе пожилого возраста обнаружение альфа-гемолитических стрептококков (232 (87,5%) и 17 (60,7%) при $p<0,001$) было выше, а *Enterococcus faecium* (0 (0,0%) и 2 (7,1%) при $p=0,009$) и микромицетов

(1 (0,4%) и 2 (7,1%) при $p=0,025$) ниже у лиц с благоприятным исходом в отличие от лиц с неблагоприятным исходом. Стоит отметить, что наблюдалась тенденция увеличения выявления *Enterococcus faecalis* (3(1,1%) и 2(7,1%)) у лиц с неблагоприятным исходом. У лиц старше 75 лет достоверных различий по частоте встречаемости микроорганизмов не было, но отмечалась тенденция увеличения коагулазонегативных стафилококков (13 (9,2%) и 7 (19,7%)) и уменьшения *Neisseria subflava* (27 (19,1%) и 2 (5,6%)) (таблица 11).

Таблица 11

Частота встречаемости микроорганизмов в разных возрастных группах в зависимости от исхода

Микроорганизмы	18-59 лет			60-74 года			Старше 75 лет		
	Благо-приятный исход (n=330)	Неблаго-приятный исход (n=12)	Уровень значимости	Благо-приятный исход (n=265)	Неблаго-приятный исход (n=28)	Уровень значимости	Благо-приятный исход (n=141)	Неблаго-приятный исход (n=36)	Уровень значимости
<i>Acinetobacter baumannii</i>	6 (1,8%)	1 (8,3%)	0,223	5 (1,9%)	1 (3,6%)	0,456	4 (2,8%)	1 (2,8%)	1,000
<i>Acinetobacter spp</i>	3 (0,9%)	0 (0,0%)	1,000	1 (0,4%)	0 (0,0%)	1,000	4 (2,8%)	0 (0,0%)	0,583
<i>Candida albicans</i>	64 (19,4%)	1 (8,3%)	0,475	83 (31,3%)	9 (32,1%)	1,000	33 (23,4%)	13 (36,1%)	0,121
<i>Candida non albicans</i>	1 (0,3%)	0 (0,0%)	1,000	6 (2,3%)	1 (3,6%)	0,509	5 (3,5%)	1 (2,8%)	1,000
<i>Corynebacterium spp</i>	5 (1,5%)	0 (0,0%)	1,000	6 (2,3%)	1 (3,6%)	0,509	4 (2,8%)	0 (0,0%)	0,583
Альфа-гемолитический стрептококк	305 (92,4%)	11 (91,7%)	0,923	232 (87,5%)	17 (60,7%)	<0,001	110 (78,0%)	24 (66,7%)	0,156
<i>Proteus spp</i>	0 (0,0%)	0 (0,0%)	-	3 (1,1%)	0 (0,0%)	1,000	0 (0,0%)	0 (0,0%)	-
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	1 (0,3%)	0 (0,0%)	1,000	2 (0,8%)	1 (3,6%)	0,261	2 (1,4%)	2 (5,6%)	0,184
<i>Pseudomonas spp</i>	2 (0,6%)	0 (0,0%)	1,000	1 (0,4%)	0 (0,0%)	1,000	0 (0,0%)	1 (2,8%)	0,203
<i>Staphylococcus aureus</i>	29 (8,8%)	1 (8,3%)	1,000	17 (6,4%)	4 (14,3%)	0,127	17 (12,1%)	6 (16,7%)	0,463
КНС	30 (9,1%)	1 (8,3%)	1,000	20 (7,5%)	3 (10,7%)	0,470	13 (9,2%)	7 (19,4%)	0,084
<i>Enterococcus faecalis</i>	5 (1,5%)	0 (0,0%)	1,000	3 (1,1%)	2 (7,1%)	0,074	3 (2,1%)	1 (2,8%)	1,000
<i>Enterococcus faecium</i>	0 (0,0%)	0 (0,0%)	-	0 (0,0%)	2 (7,1%)	0,009	1 (0,7%)	0 (0,0%)	1,000
<i>Escherichia coli</i>	7 (2,1%)	0 (0,0%)	1,000	7 (2,6%)	0 (0,0%)	1,000	3 (2,1%)	2 (5,6%)	0,269
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	9 (2,7%)	3 (25,0%)	0,006	19 (7,2%)	4 (14,3%)	0,255	9 (6,4%)	2 (5,6%)	1,000
<i>Moraxella catarrhalis</i>	1 (0,3%)	0 (0,0%)	1,000	1 (0,4%)	0 (0,0%)	1,000	0 (0,0%)	0 (0,0%)	-
<i>Enterobacter spp</i>	6 (1,8%)	0 (0,0%)	1,000	7 (2,6%)	0 (0,0%)	1,000	3 (2,1%)	3 (8,3%)	0,100
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	1 (0,3%)	0 (0,0%)	1,000	1 (0,4%)	0 (0,0%)	1,000	1 (0,7%)	0 (0,0%)	1,000
<i>Neisseria subflava</i>	67 (20,3%)	2 (16,7%)	1,000	49 (18,5%)	6 (21,4%)	0,705	27 (19,1%)	2 (5,6%)	0,074
<i>Haemophilus influenzae</i>	1 (0,3%)	0 (0,0%)	1,000	0 (0,0%)	0 (0,0%)	-	0 (0,0%)	0 (0,0%)	-
Микромицеты	0 (0,0%)	0 (0,0%)	-	1 (0,4%)	2 (7,1%)	0,025	0 (0,0%)	1 (2,8%)	0,203
<i>Klebsiella spp</i>	1 (0,3%)	0 (0,0%)	1,000	1 (0,4%)	0 (0,0%)	1,000	0 (0,0%)	0 (0,0%)	-
<i>Citrobacter spp</i>	3 (0,9%)	0 (0,0%)	1,000	2 (0,8%)	0 (0,0%)	1,000	1 (0,7%)	0 (0,0%)	1,000
<i>Morganella morganii</i>	0 (0,0%)	0 (0,0%)	-	1 (0,4%)	0 (0,0%)	1,000	0 (0,0%)	0 (0,0%)	-

При исследовании микробиоценоза у разных возрастных групп при благоприятном исходе в группе 18-59 лет, наблюдалось статистически значимое снижение обнаружения, в сравнении с лицами 60-74 года, *Candida albicans* (64 (19,4%) и 83 (31,3%) при $p=0,001$), *Candida non albicans* (1 (0,3%) и 6 (2,3%) при $p=0,049$), *Klebsiella pneumoniae* (9 (2,7%) и 19 (7,2%) при $p=0,011$) и увеличение альфа-гемолитических стрептококков (305 (92,4%) и 232 (87,5%) при $p=0,046$). У лиц пожилого возраста частота встречаемости альфа-гемолитических стрептококков (232 (87,5%) и 110 (78,0%) при $p=0,012$) выше, чем у пациентов старческого возраста. В группе старше 75 лет наблюдалось увеличение обнаружения *Candida non albicans* (5 (3,5%) и 1 (0,3%) при $p=0,010$) в сравнении лицами в возрасте 18-59 лет и снижение альфа-гемолитических стрептококков (110 (78,0%) и 305 (92,4%) при $p<0,001$) (таблица 12).

Таблица 12

Частота встречаемости микроорганизмов у лиц с благоприятным
исходом

Микроорганизмы	Возрастные группы		
	18-59 лет (n=330)	60-74 года (n=265)	Старше 75 (n=141)
<i>Acinetobacter baumannii</i>	6 (1,8%)	5 (1,9%)	4 (2,8%)
<i>Acinetobacter spp</i>	3 (0,9%)	1 (0,4%)	4 (2,8%)
<i>Candida albicans</i>	64 (19,4%)*	83 (31,3%)	33 (23,4%)
<i>Candida non albicans</i>	1 (0,3%)* **	6 (2,3%)	5 (3,5%)
<i>Corynebacterium spp</i>	5 (1,5%)	6 (2,3%)	4 (2,8%)
Альфа-гемолитический стрептококк	305 (92,4%)* **	232 (87,5%)**	110 (78,0%)
<i>Proteus spp</i>	0 (0,0%)	3 (1,1%)	0 (0,0%)
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	1 (0,3%)	2 (0,8%)	2 (1,4%)
<i>Pseudomonas spp</i>	2 (0,6%)	1 (0,4%)	0 (0,0%)
<i>Staphylococcus aureus</i>	29 (8,8%)	17 (6,4%)	17 (12,1%)
КНС	30 (9,1%)	20 (7,5%)	13 (9,2%)
<i>Enterococcus faecalis</i>	5 (1,5%)	3 (1,1%)	3 (2,1%)
<i>Enterococcus faecium</i>	0 (0,0%)	0 (0,0%)	1 (0,7%)
<i>Escherichia coli</i>	7 (2,1%)	7 (2,6%)	3 (2,1%)
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	9 (2,7%)*	19 (7,2%)	9 (6,4%)

Микроорганизмы	Возрастные группы		
	18-59 лет (n=330)	60-74 года (n=265)	Старше 75 (n=141)
<i>Moraxella catarrhalis</i>	1 (0,3%)	1 (0,4%)	0 (0,0%)
<i>Enterobacter spp</i>	6 (1,8%)	7 (2,6%)	3 (2,1%)
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	1 (0,3%)	1 (0,4%)	1 (0,7%)
<i>Neisseria subflava</i>	67 (20,3%)	49 (18,5%)	27 (19,1%)
<i>Haemophilus influenzae</i>	1 (0,3%)	0 (0,0%)	0 (0,0%)
Микромицеты	0 (0,0%)	1 (0,4%)	0 (0,0%)
<i>Klebsiella spp</i>	1 (0,3%)	1 (0,4%)	0 (0,0%)
<i>Citrobacter spp</i>	3 (0,9%)	2 (0,8%)	1 (0,7%)
<i>Morganella morganii</i>	0 (0,0%)	1 (0,4%)	0 (0,0%)

Примечание. *- статистически значимые отличия по сравнению с лицами в возрасте 60-74 года, $p < 0,05$; ** - старше 75 лет, $p < 0,05$.

В результате исследования микробиоценоза у разных возрастных групп при неблагоприятном исходе статистически значимых различий не было. Прослеживалась тенденция снижения встречаемости *Klebsiella pneumoniae* при сравнении лиц молодого и среднего возраста с людьми в возрасте 75-89 лет (3 (25,0%) у лиц в возрасте 18-59 лет и 2 (5,6%) у людей старческого возраста) (таблица 13).

Таблица 13

Частота встречаемости микроорганизмов у лиц с неблагоприятным
исходом

Микроорганизмы	Возрастные группы		
	18-59 лет (n=12)	60-74 года (n=28)	Старше 75 (n=36)
<i>Acinetobacter baumannii</i>	1 (8,3%)	1 (3,6%)	1 (2,8%)
<i>Acinetobacter spp</i>	0 (0,0%)	0 (0,0%)	-
<i>Candida albicans</i>	1 (8,3%)	9 (32,1%)	13 (36,1%)
<i>Candida non albicans</i>	0 (0,0%)	1 (3,6%)	1 (2,8%)

Микроорганизмы	Возрастные группы		
	18-59 лет (n=12)	60-74 года (n=28)	Старше 75 (n=36)
<i>Corynebacterium spp</i>	0 (0,0%)	1 (3,6%)	0 (0,0%)
Альфа-гемолитический стрептококк	11 (91,7%)	17 (60,7%)	24 (66,7%)
<i>Proteus spp</i>	0 (0,0%)	0 (0,0%)	-
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	0 (0,0%)	1 (3,6%)	2 (5,6%)
<i>Pseudomonas spp</i>	0 (0,0%)	0 (0,0%)	1 (2,8%)
<i>Staphylococcus aureus</i>	1 (8,3%)	4 (14,3%)	6 (16,7%)
КНС	1 (8,3%)	3 (10,7%)	7 (19,4%)
<i>Enterococcus faecalis</i>	0 (0,0%)	2 (7,1%)	1 (2,8%)
<i>Enterococcus faecium</i>	0 (0,0%)	2 (7,1%)	0 (0,0%)
<i>Escherichia coli</i>	0 (0,0%)	0 (0,0%)	2 (5,6%)
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	3 (25,0%)	4 (14,3%)	2 (5,6%)
<i>Moraxella catarrhalis</i>	0 (0,0%)	0 (0,0%)	-
<i>Enterobacter spp</i>	0 (0,0%)	0 (0,0%)	3 (8,3%)
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	0 (0,0%)	0 (0,0%)	-
<i>Neisseria subflava</i>	2 (16,7%)	6 (21,4%)	2 (5,6%)
<i>Haemophilus influenzae</i>	0 (0,0%)	0 (0,0%)	-
Микромицеты	0 (0,0%)	2 (7,1%)	1 (2,8%)
<i>Klebsiella spp</i>	0 (0,0%)	0 (0,0%)	-
<i>Citrobacter spp</i>	0 (0,0%)	0 (0,0%)	-
<i>Morganella morganii</i>	0 (0,0%)	0 (0,0%)	-

Примечание. *- статистически значимые отличия по сравнению с лицами в возрасте 60-74 года, $p < 0,05$; **- старше 75 лет, $p < 0,05$.

Глава 4. ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

При исследовании было выявлено, что альфа-гемолитические стрептококки (39,08%) встречались чаще всего, *Candida albicans* была следующей по частоте встречаемости (19,22%), из грамотрицательных микроорганизмов наиболее часто встречались *Klebsiella pneumoniae* (9,64%) и *Acinetobacter baumannii* (6,03%), сходные данные получились в исследовании Н.М. Бисенова и А.С. Ергалиева [Бисенова Н. М., Ергалиева А. С., 2020]. В другом исследовании говорится о частоте встречаемости грибов рода *Candida*: наиболее часто обнаруживается у лиц старше 60 лет (38,77%), наименее часто у лиц до 20 лет (24,42%), что так же совпадает с нашими результатами [Демченко А. В., 2020]. Есть результаты, в которых наиболее распространенными микроорганизмами, обнаруживаемыми в культурах дыхательных путей, являлись, *Pseudomonas aeruginosa*, разные виды *Klebsiella*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* и *Stenotrophomonas maltophilia* [Chong W. H. et al, 2021]. В ретроспективном анализе Стулова М.В. и соавт. в мокроте наиболее частыми бактериальными агентами являлись *Streptococcus pneumoniae*, *Streptococcus agalactiae*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* [Стулова М.В. и др., 2020], что не согласуется с нашими результатами. Это говорит о том, что у лиц с COVID-19 чаще выявляется кандидоз. При этом патогенные бактерии выявляются реже чем встречается нормальная микрофлора. Стоит отметить, что у лиц старшей возрастной группы с увеличением возраста снижалась частота обнаружения резидентной микрофлоры (альфа-гемолитического стрептококка) и увеличивалась частота выявления патогенных бактерий (*Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*) и дрожжеподобных грибов *Candida non albicans*, в сравнении с пациентами молодого и среднего возраста. Это говорит о тенденции роста присоединения бактериальной инфекции, вызванной данными возбудителями, с увеличением возраста, что является одним из отягощающих факторов течения данного заболевания у лиц пожилого и старческого возраста.

Также необходимо отметить, что исследований в которых рассматривались бы особенности микробиоты у лиц пожилого и старческого возраста с диагнозами COVID-19 на момент исследования нами не были обнаружены.

Между тем, ряд авторов отмечает, что инфекция, вызванная вирусом гриппа А, резко повышает восприимчивость к вторичным инфекциям *Streptococcus pneumoniae*, что приводит к значительно большей заболеваемости и смертности во время вспышек гриппа. Во время пандемии гриппа, произошедшей в 2009 году, бактериальная пневмония осложняла от 25 до 50% тяжелых инфекций как у детей, так и у взрослых [Chen Y.-Y. et al., 2020].

Серьезная вторичная бактериальная пневмония часто возникает после гриппозной инфекции. Экспериментальная модель показала, что предварительное введение вирусных частиц, вызывающих грипп, значительно увеличивало общую бактериальную нагрузку в легких мыши [Siegel SJ, Roche AM, Weiser JN., 2014].

Присоединение бактериальной инфекции к основному заболеванию вирусной этиологии можно обосновать с нескольких позиций. Так, первичная инфекция гриппа может модулировать иммунный ответ хозяина, увеличивая противовоспалительную или провоспалительную реакцию, снижая клиренс бактерий и приводя к плохим исходам вторичной бактериальной пневмонии. Кроме того, индуцированная вирусом цитотоксичность приводит к повреждению эпителиальных клеток легких, приводящему к воздействию со стороны прикрепления клеток, тем самым увеличивая адгезию бактерий и дисфункцию физического барьера в дыхательных путях. Эти изменения приводят к повышению восприимчивости хозяина к вторичным инфекциям. Вирусно-бактериальный синергизм также способствует серьезным вторичным бактериальным инфекциям [Rudd J.M. et al., 2016].

Нейраминидаза, которая экспрессируется как при гриппе, так и при пневмококке, обладает сиалидазной активностью и способствует

высвобождению сиаловой кислоты из муцинов дыхательных путей хозяина. Следовательно, пневмококк может использовать больше сиалированных субстратов хозяина в качестве источника питательных веществ для стимулирования роста бактерий и образования биопленки после гриппозной инфекции [Wren J. T. et al., 2017].

Полученные нами данные отчетливо демонстрируют изменение микробиоты в зависимости от возрастных особенностей пациента. Данное явление может быть связано с множеством факторов, в том числе с особенностями иммунной системы. Отмечается, что у людей старшей возрастной группы часто наблюдается повышение концентрации провоспалительных цитокинов, таких как интерлейкин-6, фактор некроза опухоли и др. Изменения соотношения медиаторов воспаления, факторов роста способны вносить существенный вклад в метаморфозы микрофлоры. Как следствие, особенность микробиоты требует пересмотра тактики курации пациента [Dolgova V.I., Gizinger O.A., Mamylna N. V., 2020].

При сравнении микробиоты из нижних дыхательных путей у лиц старшей возрастной группы с пневмонией, ассоциированной и неассоциированной с коронавирусной инфекцией было показано, что при COVID-19 чаще встречаются альфа-гемолитический стрептококк (представитель резидентной микрофлоры), *Candida albicans* (возбудитель кандидоза), *Neisseria subflava* (показатель дисбактериоза) и реже патогенные бактерии (*Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Acinetobacter calcoaceticus*), чем у лиц с пневмонией, вызванной другими вирусными агентами. Эти наблюдения показывают, что при коронавирусной инфекции у лиц пожилого и старческого возраста реже, чем при других вирусных пневмониях, обнаруживается присоединение вторичной бактериальной инфекции, следовательно, назначение антибиотиков при данном заболевании нецелесообразно до появления признаков бактериальных осложнений. Полученные данные согласуются с действующими нормативными

документами и научными публикациями [Бурдакова Е. А. и др., 2022, Батурич В.А. и др., 2021].

В результате анализа полученных нами данных первое место из грамотрицательных патогенных бактерий по частоте обнаружения выделенных в ОРИТ заняла *Klebsiella pneumoniae*, второе – *Acinetobacter baumannii* и третье – *Pseudomonas aeruginosa*, что не совсем совпало с данными предоставленными Ромашовым О. М. и соавторами, у которых на первое место из патогенов выходит *Acinetobacter baumannii* [Ромашов О. М. и др., 2021] и группой ученых из Новосибирска, где первое место занимает *Pseudomonas aeruginosa* [Певрухин С. А. и др., 2019].

Следующие данные показывают, что в ОРИТ большую часть выделенных микроорганизмов составляют патогены, тогда как в прочих отделениях – индигенная микрофлора. Этому способствует более тяжелое состояние, инвазивные вмешательства, в том числе ИВЛ [Певрухин С. А. и др., 2019].

Стоит отметить, что у старшей возрастной группы в ОРИТ и прочих отделений в обоих этапах, чаще высевалась более патогенная флора (*Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae*), чем у лиц младше 59 лет (*Proteus spp.* и альфа-гемолитический стрептококк). Исключение составил 2 этап у лиц обеих возрастных групп, находившихся в ОРИТ, когда статистически значимых различий обнаружено не было. Что особенно важно, *Klebsiella pneumoniae* и *Pseudomonas aeruginosa*, которые чаще выделялись у лиц старческого и пожилого возраста, представляют собой опасность в виду своей мультирезистентности и требуют к себе особого внимания и подхода к выбору антимикробного препарата. Эти патогены входят в список «крайне приоритетной группы», опубликованной ВОЗ. Полученные данные говорят о том, что возраст старше 60 лет – предиктор тяжелого течения коронавирусной инфекции [Garnier-Crussard A. et al., 2020, Machhi J. et al., 2020, Nikolich-Zugich J., et al., 2020].

По результатам наших исследований во втором этапе в ОРИТ, чаще чем в прочих отделениях, выделялись *Enterococcus* spp., КНС и микромицеты у лиц младше 59 лет, а у лиц старше 60 лет – *Enterococcus* spp. Вышеперечисленное может говорить о вторичной бактериальной и грибковой инфекции у пациентов с тяжелым течением коронавирусной инфекции, но так как в ОРИТ взятие материала затруднено, интерпретация результатов неоднозначна.

Были получены данные, что изменение стратегии антибактериальной терапии (с назначения антибиотиков повсеместно (1 этап) на только при признаках присоединения бактериальной инфекции (2 этап)) привело к сокращению у лиц старше 60 лет выделения *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii* и *Pseudomonas aeruginosa* в отделениях ОРИТ и увеличению в прочих отделениях встречаемости альфа-гемолитического стрептококка, *Candida albicans* и *Neisseria subflava*. Из чего следует, что назначение антибиотиков только при признаках бактериальной инфекции уменьшило частоту бактериальных осложнений, что наиболее важно для лиц старшей возрастной группы, так как у них в сравнении с лицами младше 59 лет вторичная бактериальная инфекция присоединяется чаще (в отделениях реанимации и интенсивной терапии *Pseudomonas aeruginosa*, в прочих отделениях *Klebsiella pneumoniae*).

Так же мы получили статистически значимое повышение частоты обнаружения *Candida albicans* и *Corynebacterium* spp. у лиц с коронавирусной инфекцией, находившихся в стационаре более двух недель, в отличие от людей, находившихся на лечении менее 14 дней. Это может быть обусловлено применением антибактериальных препаратов и быть фактором увеличения продолжительности пребывания в стационаре при коронавирусной инфекции.

Было обнаружено снижение частоты выявления *Enterococcus faecalis* (представитель группы условно-патогенных бактерий, способных вызывать аутоинфекцию), что, вероятно, указывает на колонизацию данным микроорганизмом.

При сравнении возрастных групп, длительность пребывания в стационаре которых не превышало 14 дней, у лиц 60-74 года статистически значимо в 2,8 раза чаще встречались *Klebsiella pneumoniae* в отличие от группы 18-59 лет. У пациентов старческого возраста, которые были выписаны из стационара в течение двух недель от момента госпитализации *Pseudomonas aeruginosa* не была обнаружена (при $p=0,029$), в отличие от лиц молодого и среднего возраста с такой же длительностью пребывания в стационаре.

Статистических различий между лицами пожилого и старческого возраста выявлено не было. Так же мы получили, что у пациентов пожилого и старческого возраста, чаще обнаруживалась аллохтонная условно-патогенная (*Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*) и грибковая микрофлора (*Candida albicans*, *Candida non albicans*), которая может вызвать эндогенную оппортунистическую инфекцию, и реже индигенная (альфа-гемолитический стрептококк - играет защитную роль), чем у лиц молодого и среднего возраста. Такие данные могут говорить о более тяжелом течении COVID-19 в пожилом и старческом возрасте, в сравнении с молодым и средним.

У лиц в возрасте 60-74 года и 18-59 лет, находившихся в стационаре более 15 дней, статистически значимых различий обнаружено не было. У лиц пожилого возраста, в сравнении со старческим, достоверно реже на 9,4 %, высевался *Staphylococcus aureus*. Мы можем предположить, что выделение *Staphylococcus aureus*, у лиц в возрасте старше 75 лет с коронавирусной инфекцией, может быть фактором утяжеления заболевания.

При сравнении микробиоценоза в зависимости от исхода у группы с благоприятным исходом статистически значимо чаще, в отличие от группы с летальным исходом, высевалась резидентная микрофлора (альфа-гемолитический стрептококк) и реже патогенная и условно-патогенная (*Pseudomonas aeruginosa*, *Enterococcus faecium*, *Klebsiella pneumoniae* и Микроспидии). В составе микробиоты у лиц с неблагоприятным исходом не встречались микроорганизмы родов *Acinetobacter* (кроме *Acinetobacter baumannii*), *Proteus*, *Moraxella*, *Haemophilus*, *Klebsiella* (кроме *Klebsiella*

pneumoniae), *Citrobacter*, *Morganella*, в отличие от пациентов с благоприятным исходом. Таким образом, мы можем предположить, что коронавирусная инфекция способствует изменению видового и количественного состава нормальной микрофлоры в НДП, который индуцирует транслокацию условно-патогенных микроорганизмов, за счет чего развивается вторичная инфекция, что приводит к неблагоприятному исходу. Сходные данные получились в исследовании Ming Gao [Gao M. et al., 2021].

В группе лиц в возрасте 60-74 года, с коронавирусной инфекцией, микромицеты обнаруживались в 17,8 раз чаще при неблагоприятном исходе, в сравнении с благоприятным. Стоит отметить, что у лиц пожилого возраста, выписанных из стационара, *Enterococcus faecium* не был обнаружен (при $p=0,009$), в отличие от лиц той же возрастной категории с летальным исходом. В группе старше 75 лет статистических различий не было.

У лиц пожилого и старческого возраста, с благоприятным исходом, *Candida non albicans* обнаруживалась чаще на 2% и 3,2% соответственно, в отличие от пациентов молодого и среднего возраста. У лиц в возрасте 60-74 года в 2,7 раз чаще встречалась *Klebsiella pneumoniae*, в сравнении с лицами 18-59 лет.

При сравнении возрастных групп, с неблагоприятным исходом, статистически значимых различий обнаружено не было. Прослеживалась тенденция снижения частоты встречаемости *Acinetobacter baumannii*, *Klebsiella pneumoniae* и увеличения *Candida albicans*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* и коагулазонегативных стафилококков с возрастом.

Стоит отметить, что на момент нашего исследования нами не было найдено статей, в которых бы рассматривались возрастные особенности микробиозноза у лиц с COVID-19, коррелирующие с исходами.

Полученные данные позволят корректировать тактику лечения лиц пожилого и старческого возраста с коронавирусной инфекцией.

ВЫВОДЫ

1. С увеличением возраста при коронавирусной инфекции в микробиоте нижних дыхательных путей снижалась частота обнаружения альфа-гемолитического стрептококка (представитель резидентной микрофлоры) при $p < 0,05$ (у лиц 60-74 года и 75-89 лет на 9% и 20,3% реже в сравнении с лицами 18-59 лет; у лиц 75-89 лет на 11% реже, чем в группе 60-74 года).

У лиц старшей возрастной группы увеличивалась частота выявления следующих патогенных микроорганизмов при $p < 0,05$: в возрасте 60-74 года и 75-89 лет в сравнении с лицами 18-59 лет *Klebsiella pneumoniae* встречалась чаще на 5,4% и 9,7%, *Acinetobacter baumannii* на 1,4% и 6,4% и *Candida non albicans* на 1% и 1,2% соответственно. У лиц старческого возраста в сравнении с лицами пожилого возраста *Klebsiella pneumoniae* встречалась чаще на 4,3%, *Staphylococcus aureus* на 3%.

2. У лиц старше 60 лет с пневмонией, ассоциированной с коронавирусной инфекцией, наблюдалось увеличение частоты встречаемости альфа-гемолитического стрептококка в 1,4 раза ($p < 0,05$) и микроорганизмов указывающих на кандидоз и дисбактериоз (*Candida albicans* в 1,8 раз и *Neisseria subflava* в 11,3 раза, $p < 0,05$), а так же снижение выявления патогенных грамотрицательных бактерий (*Pseudomonas aeruginosa* в 5,7 раз ($p = 0,004$), *Escherichia coli* в 2,6 раз ($p = 0,037$), *Acinetobacter calcoaceticus* в 7,3 раза ($p = 0,020$)), в сравнении с лицами той же возрастной категорией с пневмонией, неассоциированной с коронавирусной инфекцией.

3. В этапе стратегии, когда назначение антибиотикотерапии у лиц с COVID-19 было повсеместно (1 этап), в сравнении со стратегией, когда назначение антибиотикотерапии было при присоединении бактериальной инфекции (2 этап) у лиц старше 60 лет с коронавирусной инфекцией выявлены следующие особенности ($p < 0,05$):

- в отделении реанимации и интенсивной терапии чаще высеивались грамотрицательные микроорганизмы: *Klebsiella pneumoniae* (в 3,8 и 2,1 раза

соответственно), *Acinetobacter baumannii* (в 9,4 и 4,3 раза соответственно) и *Pseudomonas aeruginosa* (в 16 и 9,3 раза соответственно).

- в прочих отделениях увеличивалась частота встречаемости альфа-гемолитического стрептококка (в 8,7 и 7,5 раза соответственно), *Candida albicans* (в 3,5 и 3,1 раза соответственно) и *Neisseria subflava* (встречалась только в прочих отделениях).

В независимости от антибактериальной стратегии и отделений у лиц старше 60 лет в сравнении с лицами младше 59 лет, увеличивалась частота выделения патогенных микроорганизмов ($p < 0,05$): в 1 этапе стратегии у лиц пожилого и старческого возраста, в сравнении с лицами младше 59 лет, в отделениях реанимации и интенсивной терапии в 2 раза чаще встречалась *Pseudomonas aeruginosa*, в прочих отделениях *Klebsiella pneumoniae* - в 1,5 раза. Во 2 этапе стратегии у лиц старше 60 лет, в сравнении с лицами младше 59 лет, в отделениях реанимации и интенсивной терапии статистических различий обнаружено не было, в прочих отделениях в 2 раза чаще обнаруживалась *Klebsiella pneumoniae*.

При назначении антибиотикотерапии при признаках присоединения бактериальной инфекции у лиц пожилого и старческого возраста с COVID-19 было выявлено:

- в отделениях реанимации и интенсивной терапии снизилась высеваемость грамотрицательных микроорганизмов ($p < 0,05$): *Klebsiella pneumoniae* в 1,7 раз и *Pseudomonas aeruginosa* в 1,97 раз. В то время как частота встречаемости *Acinetobacter baumannii* MDR увеличилась в 1,4 раза.

- в прочих отделениях наблюдалось уменьшение частоты обнаружения микроорганизмов, указывающих на дисбактериоз, *Candida albicans* в 1,4 раза и *Neisseria subflava* в 1,5 раз, увеличение встречаемости *Acinetobacter baumannii* в 2,4 раза (в том числе *Acinetobacter baumannii* MDR в 1,6 раз).

4. У лиц с коронавирусной инфекцией, умерших в госпитальном периоде, на 19,5% реже выделялся альфа-гемолитический стрептококк (резидентный микроорганизм), обнаружение патогенных бактерий увеличивалось

(*Pseudomonas aeruginosa* на 3,2%, *Enterococcus faecium* на 2,5%, *Klebsiella pneumoniae* на 6,8% и микромицеты на 3,8%), в сравнении с выжившими лицами ($p < 0,05$).

У пациентов с летальным исходом в возрасте 18-59 лет *Klebsiella pneumoniae* выявлялась чаще на 22,3%, в сравнении с лицами с благоприятным исходом ($p = 0,006$); в возрасте 60-74 года - *Enterococcus faecium* на 7,1% ($p = 0,009$) и микромицеты на 6,7% ($p = 0,025$).

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. В качестве ранней профилактики осложнений у лиц старшей возрастной группы может рассматриваться микробиологическое исследование, отделяемого нижних дыхательных путей взятого у лиц с коронавирусной инфекцией не позднее 48 часов от момента госпитализации, которое позволяет выявить колонизацию клинически значимыми микроорганизмами.
2. Для лиц в возрасте 60-74 года с коронавирусной инфекцией при поступлении в стационар целесообразно оценить наличие неблагоприятных маркерных бактерий и грибов совместно с общепринятыми оценочными шкалами рисков в качестве дополнительного предиктора летального исхода.
3. Для лиц с коронавирусной инфекцией рекомендуется использовать разработанную программу для ЭВМ (микроКОВИД), которая позволяет прогнозировать состав микробиоты нижних дыхательных путей при COVID-19 с учетом возраста.
4. Анализ локальных данных микробиологического мониторинга у лиц старшей возрастной группы позволяет планировать и своевременно корректировать рациональную и эффективную стратегию применения антибактериальных препаратов.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

COVID- – пневмония, неассоциированная с коронавирусной инфекцией

COVID –19 – COronaVirus Disease 2019, инфекция, вызванная новым коронавирусом SARS-CoV-2

COVID+ – пневмония, ассоциированная с коронавирусной инфекцией

EUCAST – European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing, Европейский комитет по тестированию чувствительности к противомикробным препаратам

MALDI-ToF – Matrix Assisted Laser Desorption/Ionization Time of Flight, матрично-активированная лазерная десорбция/ионизация с время пролётной масс-спектрометрией

MDR – multidrug-resistant, мультирезистентные к антибактериальным препаратам

MERS-CoV – MiddleEastrespiratorysyndrome, ближневосточный респираторный синдром

SARS-CoV – Severe acute respiratory syndrome-related coronavirus, приводящий к тяжелому острому респираторному синдрому

SARS-CoV-2 – Severe acute respiratory syndrome-related coronavirus 2, новый коронавирус, вызвавший пандемию COVID-19

Spp. – species, объединение видов

USA – United States of America- Соединённые Штаты Америки

АПФ2/ACE2 – ангиотензинпревращающий фермент II типа

ВБИ – внутрибольничная инфекция

ВКО – внутренний контрольный образец

ВМР – временные методические рекомендации «Профилактика, диагностика и лечение новой коронавирусной инфекции (COVID-19)»

ВОЗ – всемирная организация здравоохранения

ГМПБ №2 – Санкт-Петербургское государственное бюджетное учреждение здравоохранения «Городская многопрофильная больница №2»

ИВЛ – искусственная вентиляция легких

КНС – коагулазонегативные стафилококки

КОЕ/мл – колониеобразующие единицы/миллилитр

НДП – нижние дыхательные пути

ОКО – отрицательный контрольный образец

ОРВИ – острая респираторная инфекция

ОРДС – острый респираторный дистресс-синдром

ОРИТ – отделения реанимации и интенсивной терапии

ОТ-ПЦР – полимеразная цепная реакция с обратной транскрипцией

ПКО – положительный контрольный образец

ПЦР – полимеразная цепная реакция

РНК – рибонуклеиновая кислота

СРБ – С-реактивный белок

США – Соединённые Штаты Америки

ТОРС – тяжелый острый респираторный синдром

ЧДД – частота дыхательных движений

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Анализ микробиоты легких и респираторного тракта человека при заболеваниях легочной системы (обзор) / В. Ю. Буслаев [и др.] // Журнал Сибирского федерального университета. Биология. 2022. 15(3). С. 396–421.
2. Антибиотикорезистентность грамотрицательных возбудителей нозокомиальной пневмонии у пациентов отделения реанимации и интенсивной терапии / С. А. Певрухин [и др.] // Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. 2019. Т. 21. №1. С. 62-68.
3. Антибиотикорезистентность у больных COVID-19 / Е. Н. Лазарева [и др.] // Инфекционные болезни в современном мире: эволюция, текущие и будущие угрозы. 2021. С. 90.
4. Артеменко А. Р. Нарушение обоняния у больных COVID-19 / А. Р. Артеменко, А. Б. Данилов, А. М. Плиева // Российский неврологический журнал. 2021. № 6 (25). С. 4–11.
5. Артеменков А. А. Возраст-зависимая дисрегуляция иммунного ответа у человека / А. А. Артеменков // Медицинская иммунология. 2021. № 5 (23). С. 1005–1016.
6. Астенические и когнитивные нарушения у пациентов, перенесших COVID-19 / П. Р. Камчатнов [и др.] // Русский медицинский журнал. 2021. № 10 (5). С. 636–641.
7. Баймуратова М. А., Тьесова-Бердалина Р. А. Микробиоценоз респираторного тракта при хронических заболеваниях дыхательной системы / М. А. Баймуратова, Р. А. Тьесова-Бердалина // Наука о жизни и здоровье. 2016. № 4. С. 43–49.
8. Бактериальные осложнения гриппа (обзор литературы) / А. А. Скрябина [и др.] // Лечащий Врач. 2022. № 11 (1). С. 48–54.
9. Бекташева А. К., Цой А. Р. Клинико-диагностическая значимость микробиоты полостей зубов и окружающих тканей при санации полости рта / А. К. Бекташева, А. Р. Цой // Наука, новые технологии и инновации Кыргызстана. 2022. №4. С. 125-130.

10. Беляков Н. А. Природа и последствия постковидного синдрома / Н. А. Беляков, О. Е. Симакина, Т. Н. Трофимова // Вестник Новгородского государственного университета им. Ярослава Мудрого. 2022. № 1 (126). С. 25-31.
11. Бисенова Н. М., Ергалиева А. С. Микробиологические показатели пациентов с подтвержденной инфекцией Covid-19 / Н. М.Бисенова, А. С. Ергалиева // Наука и здравоохранение. 2020. № 6 (22).
12. Боровский Е. В., Леонтьев В. К. Биология полости рта. – // М: Медицинская книга, 2001. – С. 304.
13. Булгакова С. В. Иммунный гомеостаз: новая роль микро- и макроэлементов, здоровой микробиоты / С. В. Булгакова, Н. П. Романчук // Бюллетень науки и практики. 2020. Т. 6. № 10. С. 206–233.
14. Вартанова М. Л. Старение населения как социально-демографическая проблема 2020. С. 204–206.
15. Взаимосвязь потребления антибиотиков и локальной микробиоты / О. В. Руина [и др.] // Современные проблемы науки и образования. 2020. №1. 2020.
16. Вспышка нового инфекционного заболевания COVID-19: β -коронавирусы как угроза глобальному здравоохранению / Д. В. Горенков [и др.] // БИОпрепараты. Профилактика, диагностика, лечение. 2020. Т. 20. №.1. С. 6-20.
17. Гаус О. В. Современные взгляды на роль кишечной микробиоты в формировании патологии кишечника | О. В. Гаус, Д. Г. Беляков // Русский Медицинский Журнал. 2021. Т. 29. №. 4. С. 10-16.
18. Григорьев С.С. Клинико-лабораторные подходы к изучению коррекции микробиоты полости рта / С. С. Григорьев, Е. Ю.Бушуева, С. Н. Саблина // Уральский медицинский журнал. 2020. № 09 (192). С. 24-33.
19. Гриневич В. Б. Микробиота кишечника и метаболический синдром / В. Б. Гриневич, В. Г. Радченко // Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. 2020. № 11 (183). С. 11–19.
20. Гуляев П. В. Выявление постковидного синдрома у пациентов,

перенесших новую коронавирусную инфекцию / П. В. Гуляев, С. В. Реснянская, И. В. Островская // Современные проблемы здравоохранения и медицинской статистики. 2022. №2. С. 107-128.

21. Дворецкий Л. И. Пневмонии у больных пожилого и старческого возраста //РМЖ - 1998. Т. 6. № 21. С. 1364-1372.

22. Демченко, А. В. Частота выделения грибов рода *Candida* и чувствительность к антимикотикам у лиц разных возрастных групп [Электронный ресурс] / А. В. Демченко // Декабрьские чтения. Инфекции в медицине: сб. материалов X Респ. науч.-практ. конф. с международ. участием студентов и молодых ученых, Гомель, 4 дек. 2020 г. / Гомел. гос. мед. ун-т, Каф. инфекционных болезней, Студенческое науч. общ-во УО «ГомГМУ» ; редкол. : И. О. Стома [и др.]. – Гомель, 2020. – 192 с. – 1 электрон. опт. диск (CD-ROM). – С. 38-41.

23. Егорова О. А. Местная терапия боли в горле на фоне антибиотикорезистентности // Медицинский совет. 2022. №16 (8). С. 68-76.

24. Ефименко Т. А. Современное состояние проблемы антибиотикорезистентности патогенных бактерий / Т. А. Ефименко, Л. П. Терехова, О. В. Ефременкова // Антибиотики и химиотерапия. 2019. №64. С. 64-68.

25. Еще раз об антибиотиках, их безопасности и антибиотиках, их безопасности и антибиотикорезистентности. Часть 2 / Т. Н. Мудрицкая [и др.] // Крымский терапевтический журнал. 2021. №1. С. 20-25.

26. История изучения и современная классификация коронавирусов (Nidovirales: Coronaviridae) / М. Ю. Щелканов [и др.] // Инфекция И Иммунитет. 2020. № 2 (10).

27. Кайбышева В. О. Пробиотики с позиции доказательной медицины / В. О. Кайбышева, Е. Л. Никонов // Доказательная гастроэнтерология. 2019. №8 (3). С. 45-54.

28. Камашева Г. Р. Морфофункциональные аспекты старения, определяющие течение заболеваний органов дыхания в пожилом и старческом

- возрасте / Г. Р. Камашева, А. В. Синеглазова, Е. В. Архипова // Вестник современной клинической медицины. — 2022. — Т. 15, вып. 2. — С.95—102.
29. Киселев В. В. Концепция единого дыхательного пути: возможности клинического применения / В. В. Киселев, М. Г. Лукашевич // Российская ринология. 2020. №3 Т. 28. С. 151-156.
30. Клинико-лабораторные особенности бактериальных осложнений COVID-19 у госпитализированных больных / Е. А. Бурдакова [и др.] // Медицинский оппонент. 2022. №3 (19). С. 65-69.
31. Козлов Р. С. Остановить темпы роста антибиотикорезистентности микроорганизмов сегодня - дать шанс на выживание человечества завтра / Р. С. Козлов, А. В. Голуб // Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. 2019. № 4 (21). С. 310–315.
32. Колонин К. Геронтологические изменения в ротовой полости / К. Колонин, Е. Лосева, А. Плетень // Deutsche Internationale Zeitschrift für zeitgenössische Wissenschaft. 2021. №24. С. 38-41.
33. Колосова Н. Г. Подходы к терапии бактериальных инфекций дыхательных путей с учетом современных данных о микробиоме / Н. Г. Колосова, Н. А. Геппе, И. А. Дронов // Российский вестник перинатологии и педиатрии. 2019. № 1 (64). С. 125–129.
34. Куркина Е. С. Математическое моделирование и прогнозирование распространения эпидемии коронавируса COVID-19 / Е. С. Куркина, Е. М. Кольцова // Проектирование будущего. Проблемы цифровой реальности: труды 4-й Международной конференции (4-5 февраля 2021 г., Москва). — М.: ИПМ им. М. В. Келдыша, 2021. — С. 178-192.
35. Лазарева А. А., Лопатиева С. О. Структура заболеваний дыхательной системы и причины смерти людей старших возрастных групп, умерших на отделениях Санкт-Петербургского госпиталя для ветеранов войн в 1991-2002 годы / А. А. Лазарева, С. О. Лопатиева // FORCIPE. 2021. № S1 (4). С. 843–844.

36. Местный иммунитет слизистой оболочки полости рта и колонизационной резистентности / Н. О. Савичук [и др.] // *Стоматология. Эстетика. Инновации*. 2020. Т. 4. № 1. С. 74-88.
37. Микробиом человека: особенности использования данных секвенирования из открытых источников / М. С. Никитин [и др.] // *Природа*. 2020. №11. С. 15-22.
38. Микробиом, пробиотики и COVID-19: перспективные подходы к поддержке систем врожденного и приобретенного иммунитета / О. А. Громова [и др.] // *Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология*. 2021. № 4 (0). С. 68–75.
39. Микробиота нижних дыхательных путей при внебольничных пневмониях, в том числе ассоциированных с SARS-CoV-2 / Л. В. Катаева [и др.] // *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*, 2021. № 5. С. 528–537.
40. На коже человека обнаружены ранее неизвестные микроорганизмы / Х. А. Хизриев [и др.] // *Наука и Просвещение (ИП Гуляев Г.Ю.)*, 2022. С. 123–124.
41. Нарастание резистентности к антибактериальным средствам в постковидный период в поликлинике и многопрофильном стационаре / В. А. Батурин [и др.] // *Проблемы стандартизации в здравоохранении*. 2021. № 5–6. С. 50–54.
42. Некоторые аспекты развития пневмонии на фоне хронической обструктивной болезни легких в пожилом возрасте (на основании анализа протоколов патологоанатомических исследований) / И. А. Зарембо [и др.] // *Пульмонология*. 2004. № 3 (0). С. 22–24.
43. Новая коронавирусная инфекция (COVID-19) и нефроцереброваскулярная система / И. Т. Муркамилов [и др.] // *The Scientific Heritage*. 2020. № 46. С. 42-49.
44. Новая коронавирусная инфекция SARS-CoV-2 у пациентов пожилого и старческого возраста: особенности профилактики, диагностики и лечения.

Согласованная позиция экспертов Российской ассоциации геронтологов и гериатров / О. Н. Ткачева [и др.] // Кардиоваскулярная терапия и профилактика. 2020. № 3 (19).

45. Особенности лабораторных показателей при новой коронавирусной инфекции COVID-19 на фоне сахарного диабета и хронической сердечной недостаточности / Е. Ю. Плотникова [и др.] // Медицинский совет. 2022. №17 Т. 16. С. 116-120.

46. Особенности микрофлоры дыхательных путей при различных респираторных заболеваниях / Г. Б. Ермолина [и др.] // Нижегородский медицинский журнал. 2004. №1 С. 106-109.

47. Оценка объема вовлеченной легочной ткани при пневмонии, вызванной вирусом COVID-19 / А. Л. Попович [и др.] // Многопрофильный стационар. 2021. №1. Т. 8. С.52-55.

48. Оценка резистентности микроорганизмов многопрофильного стационара и модернизация схем антимикробной терапии в условиях пандемии COVID-19 / Р. О. Михайлович [и др.] // Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. 2021. № 3 (23). С. 293–303.

49. Оценка резистентности микроорганизмов многопрофильного стационара и модернизация схем антимикробной терапии в условиях пандемии COVID-19 / О. М. Ромашов [и др.] // Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. 2021. № 3 (23). С. 293–303.

50. Паромова Я. И., Барышникова Ю. М. Микробиом кишечника как фактор иммунной защиты организма / Я. И. Паромова, Ю. М. Барышникова // Наука и просвещение. 2020. С. 160–163.

51. Проблемы эффективной фармакотерапии пациентов пожилого и старческого возраста / Л. А. Король [и др.] // Терапевтический архив. 2022. №94 (7). С. 914-919.

52. Программа СКАТ (Стратегия Контроля Антимикробной Терапии) при оказании стационарной медицинской помощи / С. Я. Яковлев, М. В. Журавлева, Д. Н. Проценко [и др.] // Методические рекомендации для

лечебно-профилактических учреждений Москвы. *Consilium Medicum*. 2017; 19 (7.1. Хирургия). С. 15–51.

53. Распространение мультиантибиотикорезистентных возбудителей инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи, в стационарах для лечения пациентов с COVID-19 | Гончаров А. Е. [и др.] // *Эпидемиология и Вакцинопрофилактика*. 2021. № 2 (20). С. 68–73.

54. Синдром старческой астении: неоднозначная роль воспалительного старения / О. В. Артемьева [и др.] // *Иммунология*. 2022. № 6 (43). С. 746–756.

55. Сравнительный клинико-лабораторный анализ Covid-19 ассоциированной пневмонии с внебольничной пневмонией бактериальной этиологии / М. В. Стулова [и др.] // *Современные проблемы науки и образования*. 2020. № 3.

56. Факторы риска, способствующие возникновению новой коронавирусной инфекции (covid-19) среднетяжелой и тяжелой степени тяжести / Е. Н. Иевлев [и др.] // *Modern Science*. 2020. № 12–2. С. 109-111.

57. Хайтович А. Б., Ермачкова П. А. Коронавирусные инфекции (мутации, генотипы) / А. Б. Хайтович, П. А. Ермачкова // *Крымский журнал экспериментальной и клинической медицины*. 2021. № 1 (11). С. 61–75.

58. Черешнева Н. Д. Фармакоэкономический анализ антимикробной терапии COVID-19 у гериатрических больных в условиях стационара / Н. Д. Черешнева, Т. Ф. Черных, Х. М. Батаев // *Медико-фармацевтический журнал «Пульс»*. - 2022. Т. 24. №6. – С. 5-10.

59. Шабашова Н. В., Данилова Е. Ю. Местный иммунитет и микробиота ротовой полости (обзор) / Н. В. Шабашова, Е. Ю. Данилова // *Проблемы медицинской микологии*. 2015. №4. Т. 17. С. 4-13.

60. Шампева О. В. Новый коронавирус COVID-19 (SARS-CoV-2) // *Детские инфекции*. 2020. № 19(1). С. 5-6.

61. A Novel Coronavirus from Patients with Pneumonia in China, 2019 / N. Zhu [et al] // *The New England Journal of Medicine*. 2020. № 8 (382). P. 727–733.

62. Aerosol and Surface Stability of SARS-CoV-2 as Compared with SARS-

CoV-1 / N. van Doremalen [et al] // The New England Journal of Medicine. 2020. № 16 (382). P. 1564–1567.

63. Age-related changes in gut microbiota composition from newborn to centenarian: a cross-sectional study / T. Odumaki [et al] // BMC microbiology. 2016. (16). P. 90.

64. AlGhatrif M. The Dilemma of Coronavirus Disease 2019, Aging, and Cardiovascular Disease: Insights From Cardiovascular Aging Science / M. AlGhatrif, O. Cingolani, E. G. Lakatta // JAMA cardiology. 2020. № 7 (5). P. 747–748.

65. An effective model for the outpatient management of COVID-19 / Y. Xiao [et al] // Infection Control and Hospital Epidemiology. 2020. № 8 (41). P. 986.

66. An investigation of transmission control measures during the first 50 days of the COVID-19 epidemic in China / H. Tian [et al] // Science (New York, N.Y.). 2020. № 6491 (368). P. 638–642.

67. Antibiotic prescribing in patients with COVID-19: rapid review and meta-analysis / B. J. Langford [et al] // Clinical Microbiology and Infection: The Official Publication of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases. 2021. № 4 (27). P. 520–531.

68. Antibiotics Use in COVID-19 Patients: A Systematic Literature Review / G. Granata [et al] // Journal of Clinical Medicine. 2022. № 23 (11). P. 7207.

69. Assessing bacterial populations in the lung by replicate analysis of samples from the upper and lower respiratory tracts / E. S. Charlson [et al] // PloS One. 2012. № 9 (7). P. e42786.

70. Association between age and clinical characteristics and outcomes of COVID-19 / Y. Liu [et al] // The European Respiratory Journal. 2020. № 5 (55).

71. Association between age and clinical characteristics and outcomes of COVID-19 / L. Yang [et al] // European Respiratory Journal. 2020. № 55(5). 2001112.

72. Atypical clinical picture of COVID-19 in older patients / M. G. M. Olde Rikkert [et al] // Nederlands Tijdschrift Voor Geneeskunde. 2020. (164). P. D5004.

73. Aw D. Immunosenescence: emerging challenges for an ageing population /

- D. Aw, A. B. Silva, D. B. Palmer // *Immunology*. 2007. № 4 (120). P. 435–446.
74. Bacterial and fungal coinfection among hospitalized patients with COVID-19: a retrospective cohort study in a UK secondary-care setting / S. Hughes [et al] // *Clinical Microbiology and Infection: The Official Publication of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*. 2020. № 10 (26). P. 1395–1399.
75. Bacterial and Fungal Coinfection in Individuals With Coronavirus: A Rapid Review To Support COVID-19 Antimicrobial Prescribing / T. M. Rawson [et al] // *Clinical Infectious Diseases: An Official Publication of the Infectious Diseases Society of America*. 2020. № 9 (71). P. 2459–2468.
76. Bacterial factors required for *Streptococcus pneumoniae* coinfection with influenza A virus / Y.-Y. Chen [et al] // *Journal of Biomedical Science*. 2021. № 1 (28). P. 60.
77. Bacterial infections and patterns of antibiotic use in patients with COVID-19 / Mendes Neto A. Goncalves [et al] // *Journal of Medical Virology*. 2021. № 3 (93). P. 1489–1495.
78. Bana B., Cabreiro F. The Microbiome and Aging / B. Bana, F. Cabreiro // *Annual Review of Genetics*. 2019. (53). P. 239–261.
79. Bronchial asthma in the elderly patient / L. Longobardi [et al] // *Journal of Gerontology and Geriatrics*. 2016. (2016). P. 55–65.
80. Characterization of the Human Oropharyngeal Microbiomes in SARS-CoV-2 Infection and Recovery Patients / M. Gao [et al] // *Advanced Science*. 2021. № 20 (8). P. 2102785.
81. Clinical and inflammatory features based machine learning model for fatal risk prediction of hospitalized COVID-19 patients: results from a retrospective cohort study / X. Guan [et al] // *Annals of Medicine*. 2021. № 1 (53). P. 257–266.
82. Clinical characteristics and manifestations in older patients with COVID-19 / C. Wei [et al] // *BMC geriatrics*. 2020. № 1 (20). P. 395.
83. Clinical Characteristics of 138 Hospitalized Patients With 2019 Novel Coronavirus-Infected Pneumonia in Wuhan, China / D. Wang [et al] // *JAMA*. 2020.

№ 11 (323). P. 1061–1069.

84. Clinical Characteristics of Coronavirus Disease 2019 in China / W. J. Guan [et al] // *N Engl J Med*. 2020.

85. Clinical Characteristics of Elderly Patients with COVID-19 in Hunan Province, China: A Multicenter, Retrospective Study / T. Guo [et al] // *Gerontology*. 2020. 66(5). P. 467-475.

86. Clinical Characteristics of Hospitalized Individuals Dying With COVID-19 by Age Group in Italy / L. Palmieri [et al] // *The Journals of Gerontology. Series A, Biological Sciences and Medical Sciences*. 2020. № 9 (75). P. 1796–1800.

87. Clinical characteristics of older patients: The experience of a geriatric short-stay unit dedicated to patients with COVID-19 in France / L. Godaert [et al] // *The Journal of infection*. 2020. № 1 (81).

88. Clinical course and risk factors for mortality of adult inpatients with COVID-19 in Wuhan, China: a retrospective cohort study / F. Zhou [et al] // *The Lancet*. 2020. № 10229 (395). P. 1054–1062.

89. Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China / C. Huang [et al] // *Lancet (London, England)*. 2020. № 10223 (395). P. 497–506.

90. Clinical, laboratory and imaging features of COVID-19: A systematic review and meta-analysis / A. J. Rodriguez-Morales [et al] // *Travel Medicine and Infectious Disease*. 2020. (34). P. 101623.

91. Co-infection with respiratory pathogens among COVID-2019 cases / X. Zhu [et al] // *Virus Research*. 2020. (285). P. 198005.

92. Co-infections in people with COVID-19: a systematic review and meta-analysis / L. Lansbury [et al] // *The Journal of Infection*. 2020. № 2 (81). P. 266–275.

93. Community dynamics and the lower airway microbiota in stable chronic obstructive pulmonary disease, smokers and healthy non-smokers / G. G. Einarsson [et al] // *Thorax*. 2016. № 9 (71). P. 795–803.

94. Comorbidity and its impact on 1590 patients with Covid-19 in China: A Nationwide Analysis / W. J. Guan [et al] // *Eur Respir J*. 2020.
95. Coronavirus disease 2019 in elderly patients: Characteristics and prognostic factors based on 4-week follow-up / L. Wang [et al] // *The Journal of Infection*. 2020. № 6 (80). P. 639–645.
96. COVID-19 and Older Adults: What We Know / Z. Shahid [et al] // *Journal of the American Geriatrics Society*. 2020. № 5 (68). P. 926–929.
97. COVID-19: A Global Challenge with Old History, Epidemiology and Progress So Far / M. Khan [et al] // *Molecules (Basel, Switzerland)*. 2020. № 1 (26). P. 39.
98. Culture and molecular-based profiles show shifts in bacterial communities of the upper respiratory tract that occur with age / J. C. Stearns [et al] // *The ISME journal*. 2015. № 5 (9). P. 1246–1259.
99. Deep Learning-Based Time-to-Death Prediction Model for COVID-19 Patients Using Clinical Data and Chest Radiographs / T. Matsumoto [et al] // *Journal of Digital Imaging*. 2022. P. 1–11.
100. Defining the healthy «core microbiome» of oral microbial communities / E. Zaura [et al] // *BMC Microbiology*. 2009. № 1 (9). P. 1–12.
101. Development and validation of a prediction model for severe respiratory failure in hospitalized patients with SARS-CoV-2 infection: a multicentre cohort study (PREDI-CO study) / M. Bartoletti [et al] // *Clinical Microbiology and Infection: The Official Publication of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*. 2020. № 11 (26). P. 1545–1553.
102. Diagnosis and Management of First Case of COVID-19 in Canada: Lessons Applied From SARS-CoV-1 / X. Marchand-Sénécal [et al] // *Clinical Infectious Diseases: An Official Publication of the Infectious Diseases Society of America*. 2020. № 16 (71). P. 2207–2210.
103. Dolgova V.I. Immunophysiological Indicators in Elderly Teachers in the School-Year Dynamics / V.I. Dolgova, O.A. Gizinger, N. V. Mamylyna // *Advances in Gerontology*, 2020, V. 10, N1, P. 94-100.

104. Dynamics of the Upper Respiratory Tract Microbiota and Its Association with Mortality in COVID-19 / L. Ren [et al] // *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*. 2021. № 12 (204). P. 1379–1390.
105. Dysbiosis of the gut and lung microbiome has a role in asthma / K. Hufnagl [et al] // *Seminars in Immunopathology*. 2020. № 1 (42). P. 75–93.
106. Effect of hydroxychloroquine with or without azithromycin on the mortality of coronavirus disease 2019 (COVID-19) patients: a systematic review and meta-analysis / T. Fiolet [et al] // *Clinical Microbiology and Infection: The Official Publication of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*. 2021. № 1 (27). P. 19–27.
107. Effect of Underlying Comorbidities on the Infection and Severity of COVID-19 in Korea: a Nationwide Case-Control Study / W. Ji [et al] // *Journal of Korean Medical Science*. 2020. № 25 (35). P. e237.
108. Enrichment of lung microbiome with supraglottic taxa is associated with increased pulmonary inflammation / L. N. Segal [et al] // *Microbiome*. 2013. № 1 (1). P. 19.
109. Epidemiological and clinical characteristics of 99 cases of 2019 novel coronavirus pneumonia in Wuhan, China: a descriptive study / N. Chen [et al] // *The Lancet*. 2020. № 10223 (395). P. 507–513.
110. Epidemiological and clinical characteristics of coronavirus disease (COVID-19) cases at a screening clinic during the early outbreak period: a single-centre study / M. Khan [et al] // *Journal of Medical Microbiology*. 2020. № 8 (69). P. 1114–1123.
111. Erensoy S. SARS-CoV-2 and Microbiological Diagnostic Dynamics in COVID-19 Pandemic // *Mikrobiyoloji Bulteni*. 2020. № 3 (54). P. 497–509.
112. Factors associated with COVID-19-related death using OpenSAFELY / E. J. Williamson [et al] // *Nature*. 2020. № 7821 (584). P. 430–436.
113. Finlay B. B., Finlay J. M. The Whole-Body Microbiome: How to Harness Microbes—Inside and Out—for Lifelong Health / B. B. Finlay, J. M. Finlay // *The Experiment*, 2019. P. 322
114. From ESKAPE to ESCAPE, from KPC to CCC / Francesco G. De Rosa [et

al] // *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America*. 2015. № 8 (60). P. 1289-1290.

115. Fungal and bacterial coinfections increase mortality of severely ill COVID-19 patients / D. L. Silva [et al] // *The Journal of Hospital Infection*. 2021. (113). P. 145–154.

116. Fungal co-infection in COVID-19 patients: Should we be concerned? / J. Pemán [et al] // *Revista Iberoamericana De Micologia*. 2020. № 2 (37). P. 41–46.

117. Fungal Infections in COVID-19-Positive Patients: A Lack of Optimal Treatment Options / L. N. Silva [et al] // *Current Topics in Medicinal Chemistry*. 2020. № 22 (20). P. 1951–1957.

118. Gawronska K., Lorkowski J. Falls as One of the Atypical Presentations of COVID-19 in Older Population / K .Gawronska, J. Lorkowski // *Geriatric Orthopaedic Surgery & Rehabilitation*. 2021. (12). P. 1-5.

119. Gut microbiota metabolism of dietary fiber influences allergic airway disease and hematopoiesis / A. Trompette [et al] // *Nature Medicine*. 2014. № 2 (20). P. 159–166.

120. Harapan B. N., Yoo H. J. Neurological symptoms, manifestations, and complications associated with severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2) and coronavirus disease 19 (COVID-19) / B. N. Harapan, H. J. Yoo // *Journal of Neurology*. 2021. № 9 (268). P. 3059–3071.

121. Hasöksüz M. Coronaviruses and SARS-COV-2 / M. Hasöksüz, S. Kiliç, F. Saraç // *Turkish Journal of Medical Sciences*. 2020. № SI-1 (50). P. 549–556.

122. Hematologic, biochemical and immune biomarker abnormalities associated with severe illness and mortality in coronavirus disease 2019 (COVID-19): a meta-analysis / B. M. Henry [et al] // *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine*. 2020. № 7 (58). P. 1021–1028.

123. Higher vs lower doses of dexamethasone in patients with COVID-19 and severe hypoxia (COVID STEROID 2) trial: Protocol and statistical analysis plan / M. W. Munch [et al] // *Acta Anaesthesiologica Scandinavica*. 2021. № 6 (65). P. 834–845.

124. Hooper L. V., Gordon J. I. Commensal host-bacterial relationships in the gut / L. V. Hooper, J. I. Gordon // *Science* (New York, N.Y.). 2001. № 5519 (292). P. 1115–1118.
125. Imai Y. The discovery of angiotensin-converting enzyme 2 and its role in acute lung injury in mice / Y. Imai, K. Kuba, J. M. Penninger // *Experimental Physiology*. 2008. № 5 (93). P. 543–548.
126. Induction of pro-inflammatory cytokines (IL-1 and IL-6) and lung inflammation by Coronavirus-19 (COVI-19 or SARS-CoV-2): anti-inflammatory strategies / P. Conti [et al] // *Journal of Biological Regulators and Homeostatic Agents*. 2020. № 2 (34). P. 327–331.
127. Kirtipal N. From SARS to SARS-CoV-2, insights on structure, pathogenicity and immunity aspects of pandemic human coronaviruses / N. Kirtipal, S. Bharadwaj, S. G. Kang // *Infection, Genetics and Evolution: Journal of Molecular Epidemiology and Evolutionary Genetics in Infectious Diseases*. 2020. (85). P. 104502.
128. Langford B. J. [et al]. Bacterial co-infection and secondary infection in patients with COVID-19: a living rapid review and meta-analysis / B. J. Langford [et al] // *Clinical Microbiology and Infection: The Official Publication of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*. 2020. № 12 (26). P. 1622–1629.
129. Lawani M. B., Morris A. The respiratory microbiome of HIV-infected individuals / M. B. Lawani, A. Morris // *Expert Review of Anti-Infective Therapy*. 2016. № 8 (14). P. 719–729.
130. Layikh H. A. Conjunctivitis and other ocular findings in patients with COVID-19 infection / H. A. Layikh, Z. A. Hashim, A. A. Kadum // *Annals of Saudi Medicine*. 2021. № 5 (41). P. 280–284.
131. Lee S. G. Coagulopathy associated with COVID-19 / S. G. Lee, M. Fralick, M. Sholzberg // *CMAJ: Canadian Medical Association journal = journal de l'Association medicale canadienne*. 2020. № 21 (192). P. E583.
132. Lethal synergism between influenza and *Streptococcus pneumoniae* / J.M. Rudd [et al] // *J Infect Pulm Dis*. 2016. № 2 (2). P.10.

133. Lung-enriched organisms and aberrant bacterial and fungal respiratory microbiota after lung transplant / E. S. Charlson [et al] // *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*. 2012. № 6 (186). P. 536–545.
134. Magryś A. Microbiota: A Missing Link in The Pathogenesis of Chronic Lung Inflammatory Diseases // *Polish Journal of Microbiology*. 2021. № 1 (70). P. 25–32.
135. Mahmoudi H. Bacterial co-infections and antibiotic resistance in patients with COVID-19 // *GMS hygiene and infection control*. 2020. (15). P. Doc35.
136. Man W. H. The microbiota of the respiratory tract: gatekeeper to respiratory health / W. H. Man, W. A. A. de Steenhuijsen Piters, D. Bogaert // *Nature Reviews. Microbiology*. 2017. № 5 (15). P. 259–270.
137. Mechanism of the Gut Microbiota Colonization Resistance and Enteric Pathogen Infection / I. Khan [et al] // *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*. 2021.
138. Metabolome-Microbiome Crosstalk and Human Disease / K. A. Lee-Sarwar [et al] // *Metabolites*. 2020. № 5 (10). P. E181.
139. Metatranscriptomic Characterization of Coronavirus Disease 2019 Identified a Host Transcriptional Classifier Associated With Immune Signaling / H. Zhang [et al] // *Clinical Infectious Diseases*. 2021. № 3 (73). P. 376–385.
140. Murphy T. F., Sethi S. Chronic obstructive pulmonary disease: role of bacteria and guide to antibacterial selection in the older patient / T. F. Murphy, S. Sethi // *Drugs & Aging*. 2002. № 10 (19). P. 761–775.
141. New strains of bacteria and exacerbations of chronic obstructive pulmonary disease / S. Sethi [et al] // *The New England Journal of Medicine*. 2002. № 7 (347). P. 465–471.
142. Novel Coronavirus (COVID-19) Epidemic: What Are the Risks for Older Patients? / A. Garnier-Crussard [et al] // *Journal of the American Geriatrics Society*. 2020. № 5 (68). P. 939–940.
143. Pneumococcal neuraminidase A (NanA) promotes biofilm formation and synergizes with influenza A virus in nasal colonization and middle ear infection / J. T. Wren [et al] // *InfectImmune*. 2017. № 85 (4).

144. Preliminary estimates of the prevalence of selected underlying health conditions among patients with coronavirus disease 2019 / N. Chow [et al] // *MMWR Morb Mortal Wkly Rep.* 2020. vol. 69. №. 13. P. 382-386.
145. Respiratory microbiota and lower respiratory tract disease / M. Lanaspá [et al] // *Expert Review of Anti-Infective Therapy.* 2017. № 7 (15). P. 703–711.
146. Risk Factors Associated With Acute Respiratory Distress Syndrome and Death in Patients With Coronavirus Disease 2019 Pneumonia in Wuhan, China / C. Wu [et al] // *JAMA internal medicine.* 2020. № 7 (180). P. 934–943.
147. Risk factors for severe and critically ill COVID-19 patients: A review / Y.-D. Gao [et al] // *Allergy.* 2021. № 2 (76). P. 428–455.
148. SARS-CoV-2 and COVID-19 in older adults: what we may expect regarding pathogenesis, immune responses, and outcomes / J. Nikolich-Zugich [et al] // *GeroScience.* 2020. № 2 (42). P. 505–514.
149. SARS-CoV-2 infection and viral load are associated with the upper respiratory tract microbiome / C. Rosas-Salazar [et al] // *Journal of Allergy and Clinical Immunology.* 2021. № 4 (147). P. 1226-1233.
150. Schulman S. Coronavirus Disease 2019, Prothrombotic Factors, and Venous Thromboembolism // *Seminars in Thrombosis and Hemostasis.* 2020. № 7 (46). P. 772–776.
151. Secondary Bacterial Infections in Patients With Viral Pneumonia / P. Manohar [et al] // *Frontiers in Medicine.* 2020. (7). P. 420.
152. Severity-related changes of bronchial microbiome in chronic obstructive pulmonary disease / M. Garcia-Nunez [et al] // *Journal of Clinical Microbiology.* 2014. № 52(12). P. 4217-4223.
153. Siegel S.J. Influenza promotes pneumococcal growth during coinfection by providing host sialylated substrates as a nutrient source / S.J. Siegel, A.M. Roche, J.N. Weiser // *Cell Host Microbe.* 2014. № 16 (1) P. 55–67.
154. Similarity in Case Fatality Rates (CFR) of COVID-19/SARS-COV-2 in Italy and China / R. Porcheddu [et al] // *Journal of Infection in Developing Countries.* 2020. № 2 (14). P. 125–128.

155. Singhal T. A Review of Coronavirus Disease-2019 (COVID-19) // *The Indian Journal of Pediatrics*. 2020. № 4 (87). P. 281–286.
156. Signatures of COVID-19 severity and immune response in the respiratory tract microbiome / C. Merenstein [et al] // *mBio*. 2021. № 4 (12). e01777-21.
157. Sleator R. D. The human superorganism – Of microbes and men // *Medical Hypotheses*. 2010. № 2 (74). P. 214–215.
158. State-of-the-art review of secondary pulmonary infections in patients with COVID-19 pneumonia / W. H. Chong [et al] // *Infection*. 2021. № 4 (49). P. 591–605.
159. Structure, functions, and diversity of the healthy human microbiome / T. Ahrodia [et al] // *Progress in Molecular Biology and Translational Science*. 2022. № 1 (191). P. 53–82.
160. Survey of antibiotic and antifungal prescribing in patients with suspected and confirmed COVID-19 in Scottish hospitals / R. A. Seaton [et al] // *The Journal of Infection*. 2020. № 6 (81). P. 952–960.
161. Tackling antimicrobial resistance in the COVID-19 pandemic / H. Getahun [et al] // *Bulletin of the World Health Organization*. 2020. № 7 (98). P. 442-442.
162. Atypical presentation of COVID-19 in a frail older person / H. S. Tay, R. Harwood // *Age and Ageing*. 2020. № 4 (49). P. 523–524.
163. The Deadly Quartet (Covid-19, Old Age, Lung Disease, and Heart Failure) Explains Why Coronavirus-Related Mortality in Northern Italy Was So High / G. Calcaterra [et al] // *Current Cardiology Reviews*. 2021. № 1 (17). P. 74–77.
164. The early-life microbiome: the key to respiratory health? / E. de Koff [et al] // *The Lung Microbiome*. 2019. P. 67–87.
165. The first nationwide multicenter study of *Acinetobacter baumannii* recovered in Serbia: emergence of OXA-72, OXA-23 and NDM-1-producing isolates / B. Lukovic [et al] // *Antimicrobial Resistance and Infection Control*. 2020. № 1 (9). P. 101.
166. The Human Microbiome Project / P. J. Turnbaugh [et al] // *Nature*. 2007. № 7164 (449). P. 804–810.

167. The Intestinal and Oral Microbiomes Are Robust Predictors of Covid-19 Severity the Main Predictor of Covid-19-Related Fatality / D. V. Ward [et al] // University of Massachusetts Medical School Faculty Publications. 2021.
168. The loss of topography in the microbial communities of the upper respiratory tract in the elderly / F. J. Whelan [et al] // Annals of the American Thoracic Society. 2014. № 4 (11). P. 513–521.
169. The lower respiratory tract microbiome of critically ill patients with COVID-19 / P. Gaibani [et al] // Scientific Reports. 2021. № 1 (11). P. 10103.
170. The Lung Microbiome during Health and Disease / K. Yagi [et al] // International Journal of Molecular Sciences. 2021. № 19 (22). P. 10872.
171. The microbial coinfection in COVID-19 / X. Chen [et al] // Applied Microbiology and Biotechnology. 2020. № 18 (104). P. 7777–7785.
172. The microbiome of the upper respiratory tract in health and disease / C. Kumpitsch [et al] // BMC biology. 2019. № 1 (17). P. 87.
173. The nasal cavity microbiota of healthy adults / P. M. Bassis [et al] // Microbiome. 2014. (2). P. 27.
174. The Natural History, Pathobiology, and Clinical Manifestations of SARS-CoV-2 Infections / J. Machhi [et al] // Journal of Neuroimmune Pharmacology: The Official Journal of the Society on NeuroImmune Pharmacology. 2020. № 3 (15). P. 359–386.
175. The origin, transmission and clinical therapies on coronavirus disease 2019 (COVID-19) outbreak – an update on the status / Y.-R. Guo [et al] // Military Medical Research. 2020. № 1 (7). P. 11.
176. The Role of Bacterial and Fungal Human Respiratory Microbiota in COVID-19 Patients / S. Soltani [et al] // BioMed Research International. 2021. (2021). P. 6670798.
177. The role of pneumonia and secondary bacterial infection in fatal and serious outcomes of pandemic influenza a(H1N1)pdm09 / C. R. MacIntyre [et al] // BMC infectious diseases. 2018. № 1 (18). P. 637.
178. The temporal dynamics of bacterial communities across human anterior nares

- / A. Camarinha-Silva [et al] // *Environmental Microbiology Reports*. 2012. № 1 (4). P. 126–132.
179. The trinity of COVID-19: immunity, inflammation and intervention / M. Z. Tay [et al] // *Nature Reviews. Immunology*. 2020. № 6 (20). P. 363–374.
180. Topographical continuity of bacterial populations in the healthy human respiratory tract / E. S. Charlson [et al] // *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*. 2011. № 8 (184). P. 957–963.
181. Tveito K. Cytokine storms in COVID-19 cases? // *Tidsskr Nor Laegeforen*. 2020. Vol. 23, P. 140.
182. Unraveling the Interconnection Patterns Across Lung Microbiome, Respiratory Diseases, and COVID-19 / E. Stavropoulou [et al] // *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*. 2021.
183. Viral dynamics in mild and severe cases of COVID-19 / Y. Liu [et al] // *The Lancet. Infectious Diseases*. 2020. № 6 (20). P. 656–657.
184. Wong J. L., Evans S. E. Bacterial Pneumonia in Patients with Cancer: Novel Risk Factors and Management / J. L. Wong, S. E. Evans // *Clinics in Chest Medicine*. 2017. № 2 (38). P. 263–277.
185. World Health Organization declares global emergency: A review of the 2019 novel coronavirus (COVID-19) / C. Sohrabi [et al] // *International Journal of Surgery (London, England)*. 2020. (76). P. 71–76.
186. Wu Y.-C. The outbreak of COVID-19: An overview / Y.-C. Wu, C.-S. Chen, Y.-J. Chan // *Journal of the Chinese Medical Association: JCMA*. 2020. № 3 (83). P. 217–220.
187. Wu Z., McGoogan J. M. Characteristics of and Important Lessons From the Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) Outbreak in China: Summary of a Report of 72 314 Cases From the Chinese Center for Disease Control and Prevention / Z. Wu, J. M. McGoogan // *JAMA*. 2020. № 13 (323). P. 1239–1242.
188. Zheng D. Interaction between microbiota and immunity in health and disease / D. Zheng, T. Liwinski, E. Elinav // *Cell research*. 2020. № 6 (30). P. 492-506.