

**Заключение экспертной комиссии диссертационного совета
Д 75.2.020.01 при Автономной научной некоммерческой организации
высшего образования Научно-исследовательский центр
«Санкт-Петербургский институт биорегуляции и геронтологии»
по диссертации на соискание ученой степени кандидата
биологических наук ЕВНЕВИЧ Юлии Владимировны на тему:
«Особенности микробиоты отделяемого нижних дыхательных путей
у лиц пожилого и старческого возраста при COVID-19»**

Для рассмотрения работы Ю.В. Евневич была создана комиссия из членов диссертационного совета в составе: з.д.н. РФ, д.м.н., проф. И.М. Кветной (председатель); з.д.н. РФ, д.б.н., проф. А.В. Арутюнян, д.б.н. И.Г. Попович.

Комиссия ознакомилась с диссертацией и представленными документами.

Работа выполнена в лаборатории возрастной клинической патологии отдела клинической геронтологии и гериатрии Автономной научной некоммерческой организации высшего образования Научно-исследовательский центр «Санкт-Петербургский институт биорегуляции и геронтологии» (АННО ВО НИЦ «Санкт-Петербургский институт биорегуляции и геронтологии») и СПб ГБУЗ «Городская многопрофильная больница № 2» под руководством доктора медицинских наук, профессора О.Н. Титовой.

Диссертация была апробирована 17 февраля 2023 г. протокол № 02 на совместном заседании отделов биogerонтологии, клеточной биологии и патологии, клинической геронтологии и гериатрии АННО ВО НИЦ «Санкт-Петербургский институт биорегуляции и геронтологии» и рекомендована к защите на Диссертационном совете Д 75.2.020.01 по защите докторских и кандидатских диссертаций по специальности 3.1.31 - геронтология и гериатрия (биологические науки).

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.

Микробиота респираторного тракта остается малоизученной, однако заболевания именно этого отдела относятся к одной из наиболее распространенных причин смертности во всем мире. В настоящее время пандемия коронавирусной болезни, вызванной, вызванной SARS-CoV-2, считается главной чрезвычайной ситуацией в области здравоохранения. У большинства пациентов развивается пневмония, поэтому изучение микробиоты дыхательных путей актуальность данной проблемы возрастает.

Большинство исследований свидетельствуют о повышенном риске тяжелого течения COVID-19 у людей пожилого и старческого возраста. У данной возрастной когорты заболевание протекает гораздо сложнее, приобретает тяжелые формы, что связывают со снижением возрастных функций иммунной системы, физиологических резервов и может стать причиной смертности.

Отмечают, что 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.

В связи с тем, что особенности микробиоты у лиц пожилого и старческого возраста при коронавирусной инфекции остаются недостаточно изученными, данная тема, несомненно, представляет научный и практический интерес.

Наиболее значимые результаты, полученные в работе.

При коронавирусной инфекции отмечаются 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. Кроме этого, выявляется статистически значимое увеличение патогенных микроорганизмов у лиц пожилого и старческого возраста по сравнению 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.

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 (представителя резидентной микрофлоры), а так же *Candida albicans* в 1,8 раз (возбудителя кандидоза) и *Neisseria subflava* в 11,3 раза (показателя 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).

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%.

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

Достоверность работы подтверждена большим объемом клинического и лабораторного материала, использованием современных микробиологических методов и методов математико-статистической обработки полученных данных, позволяющих решить поставленные в исследовании задачи.

Новизна работы.

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.

Теоретическая значимость.

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-гемолитических стрептококков с увеличением возраста.

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 выделены микроорганизмы, которые влияют на неблагоприятный исход при COVID-19 (у людей пожилого возраста данными бактериями является *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.

Практическая значимость.

Полученные данные позволили создать программу для ЭВМ (микроКОВИД), которая позволяет прогнозировать состав микробиоты нижних дыхательных путей при 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.

Результаты исследования используются в научно-исследовательской работе лаборатории возрастной клинической патологии отдела клинической геронтологии и гериатрии Автономной научной

некоммерческой организации высшего образования Научно-исследовательский центр «Санкт-Петербургский институт биорегуляции и геронтологии» и лечебно-диагностической практике Санкт-Петербургского государственного бюджетного учреждения здравоохранения «Городская многопрофильная больница № 2».

Рекомендации для дальнейшего использования результатов, полученных в работе.

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.

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.

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.

Анализ локальных данных микробиологического мониторинга у лиц старшей возрастной группы позволяет планировать и своевременно корректировать рациональную и эффективную стратегию применения антибактериальных препаратов.

Заключение.

На основании вышеизложенного можно заключить, что диссертация на соискание ученой степени кандидата биологических наук Евневич Юлии Владимировны на тему: «Особенности микробиоты отделяемого нижних дыхательных путей у лиц пожилого и старческого возраста при COVID-19» может быть оценена как законченная самостоятельная научно-квалификационная работа, которая полностью соответствует требованиям п. 9 - 14 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации № 842 от 24.09.2013 г. (в ред. Постановления Правительства РФ от 21.04.2016 № 335; от 01.10.2018 г. № 1168, от 11.09.2021, № 1539), предъявляемым к кандидатским диссертациям на соискание ученой степени кандидата биологических наук. В диссертации представлено решение актуальной научной задачи для современной геронтологии и гериатрии, заключающееся в оценке влияния микробиоты нижних дыхательных путей у лиц пожилого и старческого возраста на тяжесть течения коронавирусной инфекции, разработана программа для ЭВМ,

позволяющая прогнозировать состав микробиоты нижних дыхательных путей при COVID-19 с учетом возраста, что указывает на то, что диссертация может быть принята к защите по специальности 3.1.31 – геронтология и гериатрия (биологические науки).

В качестве официальных оппонентов предлагаются:

Родионов Геннадий Георгиевич, доктор медицинских наук, доцент, ведущий научный сотрудник научно-исследовательского отдела биоиндикации Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения «Всероссийский центр экстренной и радиационной медицины имени А.М. Никифорова» МЧС России, 194044, Санкт-Петербург, ул. Академика Лебедева, д. 4/2, лит. А, пом. 1Н;

Агарков Николай Михайлович, доктор медицинских наук, профессор кафедры биомедицинской инженерии Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Юго-Западный государственный университет», 305040, Курская область, г. Курск, ул. 50 лет Октября, 94.

Предлагается направить работу Евневич Юлии Владимировны «Особенности микробиоты отделяемого нижних дыхательных путей у лиц пожилого и старческого возраста при COVID-19» на отзыв Ведущего учреждения в Академию постдипломного образования Федерального государственного бюджетного учреждения «Федеральный научно-клинический центр специализированных видов медицинской помощи и медицинских технологий Федерального медико-биологического агентства» 125371, г. Москва, Волоколамское шоссе, 91.

Предлагается список специалистов, которым необходимо направить автореферат в дополнение к основному списку рассылки:

1.	Иванов Андрей Михайлович, член-корреспондент РАН, доктор медицинских наук, профессор	Заведующий кафедрой клинической биохимии и лабораторной диагностики, Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова Минобороны РФ, 194044, Россия, Санкт-Петербург, Пироговская наб., 1.
2.	Голубцова Наталья Николаевна, доктор биологических наук, профессор	Заведующая кафедрой общей и клинической морфологии и судебной медицины медицинского факультета ФГБОУ ВО «Чубашский государственный университет им. И.Н. Ульянова»
3.	Сивак Константин Владимирович, кандидат биологических наук.	Заведующий отделом доклинических исследований, ФГБУ «Научно-исследовательский институт гриппа имени А.А. Смородинцева» МЗ РФ, 197376, Россия, Санкт-Петербург, ул. Профессора Попова 15/17.

4.	Виноградова Ирина Анатольевна, доктор медицинских наук, профессор	Заведующая кафедрой фармакологии, организации и экономики фармации ФГБОУ ВО «Петрозаводский государственный университет». 185910, Россия, Республика Карелия, г. Петрозаводск, пр. Ленина, д. 33.
5.	Голованова Елена Дмитриевна, доктор медицинских наук, профессор	Заведующая кафедрой общей врачебной практики, поликлинической терапии с курсом гериатрии факультета дополнительного профессионального образования ФГБОУ «Смоленский государственный медицинский университет» МЗ РФ, 214019. Смоленск, ул. Крупской, 28.
6.	Саканян Елена Ивановна, доктор фармацевтических наук, профессор	Директор по науке Акционерного общества «Научно-производственное объединение по иммунобиологическим препаратам» «Микроген». 115088, Россия, Москва, 1-я Дубровская ул., д. 15, стр. 2

Предполагаемый срок защиты:

07 июля 2023 г.

Председатель комиссии:

з.д.н. РФ, доктор медицинских наук,
профессор

И.М. Кветной

Члены комиссии:

з.д.н. РФ, доктор биологических наук,
профессор

А.В. Арутюнян

доктор биологических наук,

И. Г. Попович

«05» мая 2023 г.

Подписи з.д.н., проф. И.М. Кветной, з.д.н., проф.
А.В. Арутюнян и И. Г. Попович заверяю.
Начальник ОК АНАО ВО «ИИИ» Санкт-Петербургский
институт биорегуляции и фармакологии



Соколова М. В.