

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ  
«НАЦИОНАЛЬНЫЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ  
ЦЕНТР ЭПИДЕМИОЛГИИ И МИКРОБИОЛОГИИ ИМЕНИ  
ПОЧЕТНОГО АКАДЕМИКА Н.Ф. ГАМАЛЕИ»  
МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ  
РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

*На правах рукописи*

**Самков Алексей Александрович**

**ОПТИМИЗАЦИЯ ПОДХОДОВ К ВЕДЕНИЮ  
ПАЦИЕНТОВ С COVID- 19**

3.1.22. Инфекционные болезни

Диссертация на соискание ученой степени

кандидата медицинских наук

Научный руководитель:

**Бургасова Ольга Александровна,**

доктор медицинских наук, профессор

Москва – 2024

## ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ.....	4
ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ.....	11
1.1 Характеристика начального периода развития пандемии COVID-19 в мире и Российской Федерации.....	11
1.2 Клинико-патогенетические аспекты COVID-19 и вопросы организации медицинской помощи пациентам.....	23
1.3 Оценка биологических параметров SARS-CoV-2 в различных субстратах, их влияние на клинический статус пациентов.....	33
ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ.....	43
2.1 Характеристика групп наблюдения пациентов.....	43
2.2 Общеклинические, лабораторные, визуализационные методы исследования.....	45
2.3 Молекулярно-генетические и вирусологические исследования.....	46
2.3.1 Сбор и подготовка биоматериала к исследованию.....	46
2.3.2 Оценка вирусной нагрузки SARS-CoV-2.....	48
2.3.3 Определение жизнеспособности вируса SARS-CoV-2 в назофарингеальных мазках <i>in vitro</i> .....	50
2.3.4 Детекция РНК вируса SARS-CoV-2 в копроfiltrате.....	50
2.4 Статистические методы.....	51
ГЛАВА 3. КЛИНИЧЕСКАЯ И ЛАБОРАТОРНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА СТАЦИОНАРНЫХ ПАЦИЕНТОВ С COVID-19.....	53
ГЛАВА 4. ОЦЕНКА УРОВНЯ ВИРУСНОЙ НАГРУЗКИ У СТАЦИОНАРНЫХ ПАЦИЕНТОВ С РАЗЛИЧНОЙ СТЕПЕНЬЮ ТЯЖЕСТИ COVID-19.....	82

4.1 Обнаружение РНК SARS-CoV-2 в назофарингеальных мазках и оценка уровня вирусной нагрузки в динамике инфекционного процесса COVID-19.....	82
4.2 Детекция РНК SARS-CoV-2 в копрофильtrate у стационарных пациентов и оценка вирусной нагрузки.....	90
ГЛАВА 5. ОЦЕНКА ЖИЗНЕСПОСОБНОСТИ ВИРУСА У СТАЦИОНАРНЫХ ПАЦИЕНТОВ.....	97
5.1 Определение взаимосвязи между показателями вирусной нагрузки и наличием жизнеспособного вируса SARS-CoV-2 у госпитализированных пациентов.....	99
5.2 Определение жизнеспособности вируса у госпитализированных пациентов в динамике инфекционного процесса COVID-19.....	104
ГЛАВА 6. ВИРУСНАЯ НАГРУЗКА И ЖИЗНЕСПОСОБНОСТЬ ВИРУСА У АМБУЛАТОРНЫХ ПАЦИЕНТОВ С COVID-19.....	110
ГЛАВА 7. КРИТЕРИИ ВЫПИСКИ И ДИСПАНСЕРНОГО НАБЛЮДЕНИЯ ПАЦИЕНТОВ С COVID-19 В РАМКАХ ПЕРСониФИЦИРОВАННОГО ПОДХОДА.....	117
ЗАКЛЮЧЕНИЕ.....	127
ВЫВОДЫ.....	137
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ.....	139
ПЕРСПЕКТИВЫ ДАЛЬНЕЙШИХ ИССЛЕДОВАНИЙ.....	140
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ.....	141
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	142

## ВВЕДЕНИЕ

**Актуальность темы диссертации.** Пандемия COVID-19 дала импульс к глубокому изучению аспектов клинической и лабораторной диагностики этой инфекции, в том числе появилась необходимость оценить влияния ряда биологических характеристик SARS-CoV-2, включая вирусную нагрузку на течение новой коронавирусной инфекции. Анализ указанных параметров необходим для разработки клинико-лабораторного диагностического алгоритма, профилактики прогрессирования индуцированных вирусом SARS-CoV-2 ответных иммунопатологических реакций организма, выработке тактики диспансерного наблюдения реконвалесцентов.

В настоящее время нет однозначного мнения о значении вирусной нагрузки в качестве клинического и эпидемиологического маркера [Е.А. Орлова, 2021]. Одни исследователи считают, что высокая вирусная нагрузка обуславливает тяжесть течения COVID-19, увеличивает летальность и способствует более быстрому распространению заболевания, по сравнению с другими респираторными инфекциями [М. Marks, 2021, Н. Waller, 2023]. Другие указывают на отсутствие связи между вирусной нагрузкой SARS-CoV-2 и прогнозированием неблагоприятного клинического исхода заболевания [J. Fajnzylber, 2021].

По данным различных метаанализов средняя продолжительность обнаружения РНК SARS-CoV-2 составляет от 9,3 до 20,0 дней в дыхательных путях и от 14,4 до 20,1 дней в копрофильtrate. В случаях длительно протекающей инфекции продолжительность выявления специфической РНК может составлять более 100 дней [X. Wang, 2020, W. Chen, 2020]. Сроки выделения жизнеспособного вируса SARS-CoV-2 определяют противоэпидемические мероприятия в том числе, направленные на изоляцию пациентов с учетом их заразности для восприимчивых лиц. В одном из последних исследований установлен диапазон уровня порогового цикла (Ct) от 26,25 до 34,0 (95 %

доверительный интервал) с медианой 30,5 и средним значением 30,82 для образцов с наличием жизнеспособного вируса SARS-CoV-2 [X. Wang, 2020]. Однако эти данные требуют дальнейшего изучения с определением взаимосвязи жизнеспособности вируса с тяжестью течения COVID-19, определяемой по критериям ВОЗ [Nat. Med. – 2020]. По данным CDC [2023] 75% людей, умерших от COVID-19 в США люди в возрасте 65 лет и старше. Установлено, что наличие коморбидных заболеваний, таких как ХОБЛ, онкологические заболевания, болезни почек, ожирение с ИМТ 30 кг/м<sup>2</sup> и выше, заболевания сердечно-сосудистой системы и прочие увеличивают риск неблагоприятного прогноза для пациентов с COVID-19 [CDC, 2021].

**Степень разработанности темы.** Прогностические модели определения вероятности неблагоприятного течения и исхода COVID-19 у пациентов разрабатываются во всем мире с начала пандемии с учетом клинико-лабораторных характеристик, данных визуализационных методов. Однако, отсутствуют сведения об изучении биологических свойств SARS-CoV-2 у пациентов с различным течением COVID-19 в динамике инфекционного процесса, получение которых будет способствовать оптимизации ведения пациентов на амбулаторном или стационарном этапах оказания медицинской помощи. Полученные закономерности и тенденции необходимо экстраполировать для внедрения в клинико-эпидемиологическую работу и в лабораторную практику. Мониторинг вирусной нагрузки у пациентов с COVID-19 имеет перспективы при оценке эффективности противовирусной терапии.

**Цель исследования.** Совершенствование подходов к ведению пациентов с различным течением COVID-19 на основании совокупного изучения клинических предикторов тяжести и этиологических параметров SARS-CoV-2.

**Задачи исследования:**

1. Охарактеризовать клинико-лабораторные параметры у стационарных пациентов с COVID-19 в контексте вариабельности клинических форм и исходов болезни.

2. Дать оценку уровню вирусной нагрузки в динамике заболевания у стационарных пациентов с разной степенью тяжести COVID-19.

3. Определить жизнеспособность вируса у стационарных пациентов с COVID-19 в динамике заболевания.

4. Проанализировать вирусную нагрузку и жизнеспособность вируса SARS-CoV-2 у амбулаторной группы пациентов.

5. Обосновать персонафицированный подход к выписке из стационара и оптимальные сроки диспансерного наблюдения реконвалесцентов с COVID-19.

**Новизна исследования.** Проведенный углубленный анализ коморбидного статуса пациентов с количественной и качественной оценкой нозологий позволил установить факторы риска тяжелого течения заболевания, имеющие прогностическое значение, ведущими среди которых являются артериальная гипертензия, сердечно-сосудистые заболевания и метаболические нарушения.

Установлена вариабельность значений вирусной нагрузки SARS-CoV-2 в различных биологических субстратах в динамике заболевания и выявлен высокий уровень данного показателя у пациентов с тяжелым течением.

Впервые установлены сроки жизнеспособности вируса SARS-CoV-2 *in vitro* как у амбулаторной, так и у стационарной групп у пациентов, имеющих ПЦР-положительный тест. Медиана срока сохранения жизнеспособного вируса в респираторных мазках составила в среднем 8 [7,8-8,2, ДИ 95%] дней, что легло в основу обоснования сроков изоляции пациентов.

Впервые в России проведены исследования копрофильтрата у пациентов, заболевших в начальный период развития пандемии, определены сроки индикации РНК SARS-CoV-2 и возможность использования данного метода в этиологической диагностики COVID-19.

**Теоретическая и практическая значимость.** Полученные результаты проведенного исследования дополняют знания о иммунопатогенетических

механизмах COVID-19 и обосновывают новые подходы к тактике ведения и диспансерного наблюдения пациентов.

Обоснованы и предложены критерии лабораторного скрининга пациентов с COVID-19 в условиях стационара при обосновании тяжести течения болезни, основанные на мониторинге уровня ферритина и других острофазовых показателей воспаления в сыворотки крови в динамике заболевания.

Полученные данные исследования позволили предложить клинко-лабораторный алгоритм, основанный на мониторинге вирусной нагрузки, оценки жизнеспособности вируса и учета острофазовых показателей для коррекции ведения, выписки и диспансерного наблюдения пациентов с COVID-19.

Дополнительным молекулярно-генетическим подходом к этиологической диагностики COVID-19 может служить определение SARSCoV-2 в ко-профильtrate в динамике болезни. Детекция РНК вируса не позволяет реализовать инфицирование окружающих фекально-оральным механизмом.

**Методология и методы исследования.** Методологическая основа диссертационного исследования была спланирована на основании поставленной цели и включает применение методов научного познания с целью решения поставленных задач. Дизайн структурирован и включил в себя использование современных методов исследования в различных когортах пациентов с COVID-19. Диссертационное исследование по теме «Оптимизация подходов к ведению пациентов с COVID-19» одобрено Этическим комитетом ГБУЗ «Инфекционная клиническая больница №1 Департамента Здравоохранения г. Москвы» (протокол № 11 Б от 16 ноября 2020 г.).

**Положения, выносимые на защиту:**

1. Тяжесть течения COVID-19 ассоциируется с артериальной гипертензией, сердечно-сосудистыми заболеваниями, ожирением и количественной совокупностью коморбидных состояний. Повышенные значения острофазовых показателей воспаления (ферритин, С-реактивный белок ) служат

доказательством высокого уровня вирусной нагрузки и сохраняющейся персистенции SARS-CoV-2 .

2. Вирусная нагрузка у пациентов с COVID-19 характеризуется вариабельностью значений в биологических субстратах и высоким уровнем данного показателя у пациентов с тяжелым течением заболевания, что может рассматриваться, как критерий неблагоприятного клинического исхода. Частота обнаружения жизнеспособного вируса SARS CoV-2 характеризуется многовариантностью при различной тяжести течения COVID-19 и ограничена сроками болезни, что обосновывает дифференцированный подход к ведению пациентов.

3. Анализ острофазовых показателей воспаления, уровня вирусной нагрузки SARS-CoV-2 в совокупности с оценкой жизнеспособности вируса позволили разработать персонализированный подход к выписке и диспансерному наблюдению пациентов с COVID-19.

**Соответствие диссертации паспорту научной специальности.** Согласно Приказу Минобрнауки России от 24.02.2021 N 118 "Об утверждении номенклатуры научных специальностей, по которым присуждаются ученые степени, и внесении изменения в Положение о совете по защите диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук, на соискание ученой степени доктора наук, утвержденное приказом Министерства образования и науки Российской Федерации от 10 ноября 2017 г. N 1093" (Зарегистрировано в Минюсте России 06.04.2021 N 62998), диссертационное исследование соответствует формуле специальностей: 3.1.22. Инфекционные болезни пункты 1.2.3.7.

**Степень достоверности полученных результатов.** Работа выполнена в рамках в рамках Государственного задания ФГБУ «НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России: «Определение динамики изменения жизнеспособности вируса SARS-CoV-2 у пациентов с различным течением COVID-19, а также в экспериментальных условиях при контакте с модельными материалами» № 15н от 21.03.2019. Научные положения и выводы обоснованы



репрезентативной выборкой, применением современных технологий клинико-лабораторной диагностики новой коронавирусной инфекции, использованием современных методов статистической обработки данных, которые раскрывают цель и решают поставленные задачи.

**Апробация работы.** Тема диссертации утверждена на заседании Ученого совета ФГБУ «НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи» МЗ РФ 26.11.2023 г., протокол №7. Апробация диссертационного исследования состоялась на заседании клинического отдела вирусных гепатитов и клинической вирусологии ФГБУ «НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи» МЗ РФ 14.12.2023 г., протокол № 5. Материалы диссертационной работы представлены на следующих мероприятиях: 1. XV Ежегодный Всероссийский Конгресс по инфекционным болезням имени академика В.И. Покровского «Инфекционные болезни в современном мире: эволюция, текущие и будущие угрозы» (27-29 марта 2023 г., г. Москва); 2. Научно-практическая конференция «Современные тенденции развития инфектологии, медицинской паразитологии, эпидемиологии и микробиологии» (4-5 апреля 2023 г., г. Ургенч, Узбекистан); 3. X Всероссийская научно-практическая конференция с международным участием «Социально-значимые и особо опасные инфекционные заболевания» (г. Сочи, 7-10 ноября 2023 г.); 4. На научной конференции отдела вирусных гепатитов и клинической вирусологии ФГБУ «НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи» МЗ РФ (14 декабря 2023 г.).

**Личный вклад автора.** На всех этапах выполнения диссертационной работы участие автора заключалось в проведении анализа отечественных и зарубежных источников литературы, подготовке дизайна исследования, определении цели и задач исследования, мониторинговании пациентов с COVID-19 в период пандемии в «красных зонах», сборе и транспортировке биологического материала на лабораторные базы. Автором лично разработаны протоколы исследования, созданы базы данных и проведен анализ google-таблиц, подготовлен материал к проведению статистического анализа. Соискатель принимал непосредственное участие в получении, обработке и интерпретации

полученных результатов, а также в подготовке публикаций по выполненной работе. Экспериментальная часть работы выполнена в лаборатории механизмов популяционной изменчивости патогенных микроорганизмов отдела арбовирусов и экспериментального производства ФГБУ «Национальный исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии Российской Федерации академика Н. Ф. Гамалеи» Минздрава России.

**Внедрение результатов исследования в практику.** Результаты диссертационного исследования внедрены в практику работы врачей-инфекционистов амбулаторного звена, инфекционных отделений ИКБ №1 ДЗМ (справка о внедрении от 11.12.2023 г.). Использование результатов исследовательской работы в лекционных и методических материалах позволит повысить эффективность работы врачей-инфекционистов, эпидемиологов, клинических ординаторов и аспирантов (акт о внедрении результатов в практику учебной и научной работы ФГБУ «НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи» МЗ РФ от 04.12.2023 г.). Использование результатов исследовательской работы позволит повысить эффективность работы врачей-инфекционистов, эпидемиологов, клинических ординаторов и аспирантов кафедр инфекционных болезней.

**Публикации по теме диссертации.** Основные научные результаты по теме диссертационного исследования опубликованы в 8 научных работах, в том числе 3 статьи в журналах из перечня международной базы цитирования (Scopus-Q4), 2 статьи в журналах, рекомендованном ВАК Российской Федерации и РУДН.

**Структура и объем диссертации.** Диссертация изложена на 157 страниц машинописного текста и состоит из введения, обзора литературы, 6 глав собственных исследований, заключения, выводов, практических рекомендаций и перспектив научных исследований, списка использованной литературы, включающего 165 источников (44 отечественных и 151 зарубежных). Работа иллюстрирована 31 таблицами, 23 рисунками, 2 клиническими примерами.

## ГЛАВА 1 ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

### 1.1 Характеристика начального периода развития пандемии COVID-19 в мире и Российской Федерации

В конце 2019 г. мировое здравоохранение столкнулось с новой коронавирусной инфекцией COVID-19, возбудитель которой SARS-CoV-2 обладал высокой степенью вирулентности и стремительно распространялся по всему миру в связи с отсутствием сформированного популяционного иммунитета, что привело к пандемии. COVID-19 – самая масштабная вспышка коронавирусной инфекции, повлёкшая за собой на 01 августа 2023 г. 692532762 подтвержденных случаев COVID-19 и более 6,9 миллионов смертей [12].

Ранее в ноябре 2002 г. на территории Китая (провинция Гуандун) был зарегистрирован первый случай тяжелого острого респираторного синдрома (ТОРС). В течение нескольких месяцев количество случаев возросло, отмечались «завозные случаи» во Вьетнам, Канаду и Гонконг. В 2003 г. Всемирная организация здравоохранения (ВОЗ) объявила о наличии угрозы распространения инфекции из Юго-Восточной Азии по международным авиалиниям в связи с коротким инкубационным периодом (2-3 сут.). Вирус легко распространялся в госпитальных условиях, от одного заболевшего в среднем инфицировалось три-четыре контактных лиц, 60 % летальных исходов приходилось на медицинских работников [13]. Эпидемия затронула 37 стран мира, с числом заболевших более 8 тыс. человек, 774 из которых закончились летально; наибольшее количество заболевших выявлено в КНР, Сингапуре и Канаде. Был установлен этиологический агент – коронавирус SARS-CoV из рода *Betacoronavirus*, природным резервуаром которого были летучие мыши и панголины, путь передачи для людей воздушно-капельный, реже – алиментарный [13, 14]. Проведенные вирусологические исследования и секвенирование последовательностей генома SARS-CoV позволило разработать ПЦР тест-

системы для индикации вируса. Было показано, что в мокроте больных атипичной пневмонией выявляли высокие концентрации вирусной РНК до 100 млн. молекул в 1 мл, низкие – в сыворотке крови в острый период и в испражнениях в поздний период заболевания [14]. Проведение режимно-ограничительных и санитарно-эпидемиологических мероприятий, оперативное подтверждение диагноза с применением специфической диагностики, наблюдение за переболевшими лицами и выявление контактных позволило контролировать распространение инфекции. В дальнейшем в человеческой популяции вирус SARS-CoV не обнаруживался, хотя риск наличия возбудителя в природном резервуаре сохранялся [15, 16].

Вторая эпидемия, возникшая на территории Саудовской Аравии в 2012 г., известная как ближневосточный респираторный синдром (БВРС), была вызвана коронавирусом MERS-CoV, широко распространенным среди верблюдов, заражение которых происходит через продукты жизнедеятельности летучих мышей. Вирус относился также к роду *Betacoronavirus*. С 2012 г. зарегистрировано 2605 случаев инфекции, в том числе 936 летальных [17]. В настоящее время возбудитель MERS-CoV продолжает вызывать новые случаи болезни. По данным ВОЗ к 2020 г. летальность составила 35 %, особенно у больных с сопутствующими заболеваниями. Для передачи инфекции среди людей требовался более тесный контакт с больными в бытовых условиях или в медицинских организациях [18, 19]. Отличительной особенностью вспышки 2012 г. было активное выявление методом ПЦР бессимптомных носителей путем отслеживания возможных контактов с больными БВРС и проведение строгих изоляционно-обсервационных мероприятий [15]. Клинические проявления БВРС были аналогичны ТОРС и включали респираторные симптомы (температура, кашель, одышка), желудочно-кишечные нарушения (в т.ч. диарея), пневмонию, а также наблюдалось развитие острого респираторного синдрома, почечной недостаточности, перикардита и диссеминированного внутрисосудистого свертывания крови [20].

Что касается третьей эпидемии коронавирусной инфекции COVID-19 (COrona Virus Disease 2019), то первые сообщения о 27 случаях заболевания «пневмонией неизвестной этиологии» поступили в ВОЗ из КНР (г. Ухань, провинции Хубэй) 31 декабря 2019 год, всех заболевших объединяло посещение рынка морепродуктов, расположенного в этом городе, где до вспышки продавались и другие животные, такие как летучие мыши, ящеры и кролики [21]. Национальной комиссией здравоохранения Китая была высказана гипотеза о вирусной природе пневмонии и уже 8 января 2020 г. возбудителя удалось идентифицировать и опубликовать первые геномные последовательности вируса. Новый вирус SARS-CoV-2 (первоначально названный 2019-nCoV) относился к РНК содержащим вирусам, к роду *Betacoronavirus* и был включен во II группу патогенности микроорганизмов, в которую также входили SARS-CoV и MERS-CoV [16, 22]. Было высказано предположение, что SARS-CoV-2 является рекомбинантным вирусом между коронавирусом летучих мышей и неизвестным по происхождению коронавирусом. Генетическая последовательность SARS-CoV-2 оказалась близка к вирусу SARS-CoV на 79 %, но этот штамм коронавируса у людей ранее не выявлялся [23].

В настоящее время установлено, что основным источником инфекции является инфицированный человек, находящийся в конце инкубационного периода, продромальном периоде, во время клинических проявлений. Выделение вируса от больного может начинаться за 48 часов до проявления симптомов заболевания и максимально – в первые 1–3 дня от начала болезни, продолжается до 12 дней в легких/умеренных случаях и в течение более 2 недель в тяжелых случаях [24]. Инкубационный период при заболевании составляет от 2 до 14 суток, в среднем – 5–7 сут. У 80 % пациентов заболевание протекает в легкой форме. К группам риска тяжелого течения заболевания и риска летального исхода относятся люди старше 60 лет, а также пациенты с хроническими болезнями [24]. Передаваться вирус может воздушно-капельным путем (при кашле, чихании, разговоре), контактно-бытовым путем (через воду, пищевые

продукты, предметы: дверные ручки, экраны телефонов). Доказано значение для заболевания переноса возбудителя с рук на слизистые глаз, носа, ротовой полости, возможен фекально-оральный путь [22, 25].

Эпидемия в КНР продолжает развиваться, но случаи COVID-19 были обнаружены среди лиц (92,4 %), которые не были связаны с рынком морепродуктов. Передача вируса осуществлялась контактно-бытовым путем и через инфицированные предметы. Была установлена возможность передачи SARS-CoV-2 от человека к человеку в семейных очагах и в медицинских организациях [21, 26]. Передача SARS-CoV-2 от бессимптомных носителей приводила к быстрому нарастанию вспышки [27]. Рост заболеваемости удваивался каждые 7,4 дня, базовое репродуктивное число (среднее количество людей, заражающихся от одного больного) составляло 2,2 (ДИ 1,4-3, 9). Средний инкубационный период в среднем 6,4 дней. Клинические проявления были менее выражены, чем у заболевшие первыми, или могли отсутствовать, но сохранялась тяжесть в груди, кашель, тошнота и диарея [28]. COVID-19 чаще регистрировался среди мужчин в возрасте от 51 до 89 лет (68 %), лиц с иммунодепрессивным статусом, коморбидными состояниями, а также среди медицинских работников (4%) и пациентов хирургических стационаров [21, 29, 30]. Сообщение о первом летальном случае в КНР появилось 11 января 2020 г., а 13 января был подтвержден первый случай выявления COVID-19 за пределами КНР у 61-летней женщины, прибывшей из Китая в Бангкок (Таиланд), 16 января – два случая завоза из Китая в Таиланд и Японию [21]. К 26 января 2020 г. в Китае уже было зарегистрировано более 2000 лабораторно подтвержденных случаев COVID-19 и 56 летальных исходов.

30 января 2020 г. ВОЗ сообщает о чрезвычайной ситуации международного характера в области общественного здравоохранения. Правительством КНР в г. Ухань и еще в 17 городах вводит комплекс режимно-ограничительных мероприятий, включающих карантин и изоляцию контактных, закрываются аэропорты, железнодорожные станции, автомагистрали,

приостанавливается работа транспорта, закрываются общественные и учебные заведения, промышленные предприятия, что приводит к стабилизации эпидемиологической ситуации [31]. На 11 февраля 2020 г. в Китае с нарастающим итогом выявлено 42708 случаев, в том числе 1017 закончились летальным исходом, вне Китая – в 24 странах было зарегистрировано 394 случая с одним летальным исходом [32].

Учитывая, что на 10 марта 2020 г. в 108 странах мира было зарегистрировано 113439 случаев заболевания COVID-19 с высоким показателем летальности (3,5 %), ВОЗ 11 марта официально объявляет о пандемическом потенциале вспышки [33]. 24 марта 2020 г. Правительство Китая сообщает, что более 90 % заболевших уже выздоровели, в больницах осталось 5 тыс. человек [34]. Однако, распространение инфекции за пределы Китая приводит к переходу локальной эпидемической вспышки COVID-19 к ее глобальному распространению. Первый случай заболевания в Европе был зарегистрирован во Франции 24 января 2020 г. Лидерами по числу зарегистрированных случаев COVID-19 стали США, Бразилия, Индия, Россия, тяжелая эпидемиологическая ситуация по распространению COVID-19 и летальности от этого заболевания отмечалась в Италии, Испании, Иране, Южной Корее [34]. На 03 ноября 2020 г. COVID-19 был зарегистрирован на всех континентах, кроме Антарктиды, более чем в 210 странах мира заболели 47 327 323 человек, выздоровели 33 942600 человек, умерли 1211882 человек [35].

В Российской Федерации 27 января 2020 г. создается Оперативный штаб по предупреждению завоза и распространения инфекции на территории страны. В задачи штаба входит анализ и оценка ситуации, связанная с пандемией COVID-19, организация и проведение мероприятий, направленных на борьбу с распространением инфекции в отдельных субъектах РФ. При отсутствии в начальный период развития эпидемии популяционного иммунитета и специфической вакцинопрофилактики был взят курс на реализацию стратегии «опережающего реагирования» и поэтапному введению ограничительных

мероприятий с учётом развития эпидемической ситуации в каждом субъекте России [36, 37].

Два первых случая заболевания COVID-19 в РФ были выявлены 31 января 2020 г. у граждан КНР в Забайкальском крае и Тюменской области, успешно пролеченные и выписанные 13 февраля 2020 г. По Распоряжению Правительства закрывается российско-китайская граница, запрещается въезд туристических групп и граждан КНР на территорию РФ.

Следующий лабораторно подтвержденный случай COVID-19 зарегистрирован в г. Москве 2 марта 2020 г. у российского туриста, который 21 февраля прилетел из Италии, был госпитализирован в бокс инфекционного стационара и выписан после выздоровления 5 марта 2020 г. Затем 7 марта 2020 г. случай COVID-19 выявлен в г. Санкт-Петербурге у гражданина Италии. К 10 марта 2020 г. было уже зарегистрировано 20 случаев COVID-19, все они были связаны с туристическими поездками [34]. После закрытия с 30 марта 2020 г. государственной границы с Европой, пусковым механизмом, обуславливающим распространение COVID-19 на территории России, стало возвращение российских граждан из поездок в европейские страны. Эпидемический подъём заболеваемости начинается с крупных мегаполисов страны г. Москвы, г. Санкт-Петербурга, где удельный вес случаев COVID-19 в период «завоза» составляет 84% и инфекция начинает проникать вглубь страны, формируя внутренние очаги инфекции с пиком прироста заболеваемости к 16 апреля 2020 года, когда доля зарегистрированных случаев в других регионах РФ стала преобладающей – 69 % [38]. Специалисты Роспотребнадзора и Минздрава России принимают экстренные меры по сдерживанию распространения инфекции на территории Российской Федерации [39, 40]. Министерство здравоохранения России 03 февраля 2020 г. своим Распоряжением публикует «Временные методические рекомендации» для медицинских работников по эпидемиологии, диагностике, ведению пациентов и профилактике COVID -19», которые в



дальнейшем постоянно изменялись и дополнялись по мере накопления новых научных данных.

За два эпидемических года (30.03.2020 г. по 30.03. 2022г.) развития пандемии в России было зарегистрировано более 17 млн. случаев COVID-19 умерло 368 тыс. человек [35]. Динамика заболеваемости COVID-19 отличалась неравномерностью и условно подразделяется на несколько волн или периодов, в которых пик заболеваемости сменяется ее снижением. В первые два года развития эпидемии в России одни исследователи выделили пять волн заболеваемости [41], другие – на примере г. Москвы, определили семь близких по эпидемиологическим характеристикам периодов [42], сгруппированные данные представлены в таблицах 1, 2 и рисунке 1.

Таблица 1 – Заболеваемость COVID-19 в Российской Федерации с 30.03.2020 г. по 27.03.2022 гг. [41]

Периоды	Даты	Продолжительность, кал. нед.	Количество заболевших	Средний показатель заболеваемости, 100 тыс. нас.	Максимальный уровень заболеваемости, 100 тыс. нас.
I	30.03.2020-30.08.2020 г.	22	987989	30,72	51,31 (04-11.05.2020 г.)
II	31.08.2020-9.05.2021 г.	36	3889936	73,92	138,11 (24-27.12.2020 г.)
III	10.05.2021-12.09.2021 г.	18	2259808	85,89	119,59 (12-18.07.2021 г.)
IV	13.09.2021-9.01.2022 г.	17	3510779	141,28	192,45 (01-7.11.2021 г.)
V	10.01.2022-27.03.2022 г.	11	5640267	442,31	905,37 (7-13.02.2022 г.)

Особый интерес представляют исследования, проведенные на примере г. Москвы, позволившие оценить динамику развития эпидемического

процесса в зависимости от доминирования основных генетических вариантов возбудителя [43].

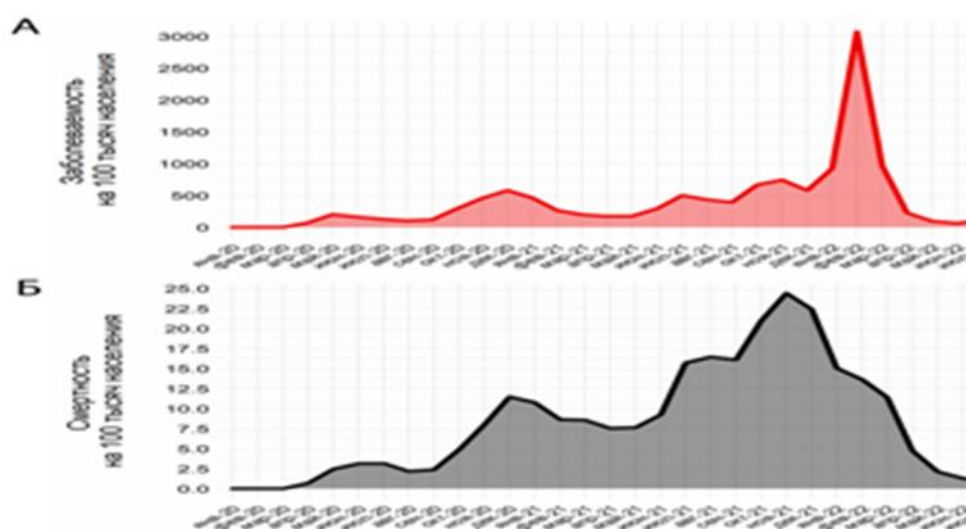


Рисунок 1 – Динамика заболеваемости и смертности в России по неделям с января 2020 г. по май 2022 г. (на 100 тыс. нас.) [43].

Таблица 2 – Заболеваемость COVID-19 в г. Москве с 30.03.2020 г. по 27.03.2022 гг. [42]

Периоды	Месяц, год	Продолжительность, мес.	Характеристика	Средний показатель, 100 тыс. нас.	Максимальный Показатель, 100 тыс. нас.
I	март-июнь 2020 г.	4	подъем	111,9	327,2
II	июль-сентябрь 2020 г.	3	стабилизация	38,0	50,2
III	октябрь 2020 г.- февраль 2021 г.	5	подъем	247,3	401,4
IV	март – май 2021г.	3	стабилизация	102,2	168,9
V	июнь-август 2021г.	3	подъем	230,4	425,0
VI	сентябрь-декабрь 2021 г.	4	подъем	210,4	385,9
VII	январь-март 2022 г.	3	резкий подъем	н. д.	1316,8

В период с марта по октябрь 2022 года выделено 11 периодов, в которых зарегистрировано шесть волн подъёмов заболеваемости. Установлено, что в четырех из шести волн, повышение заболеваемости COVID-19 происходило на фоне смены доминирующей генетической линии возбудителя. (рисунок 2).

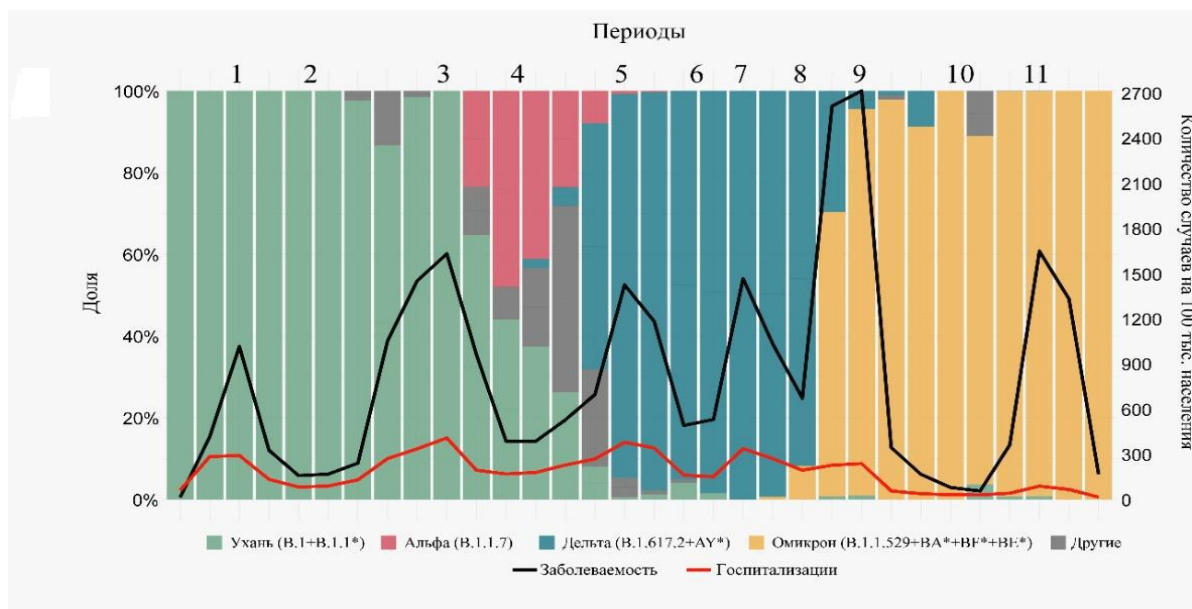


Рисунок 2 – Динамика заболеваемости и госпитализации COVID-19 в г. Москве по периодам эпидемического процесса и доля доминирующих генетических вариантов вируса SARS-CoV-2 с марта 2020 г. по октябрь 2022 г. [43].

С марта 2020 г. по декабрь 2020 гг. первая волна заболеваемости были вызваны вариантом Ухань (100%), вторая волна (конец декабря 2020 г.) – вариантом Альфа (47%) и Ухань (53%). Третья и четвертая волны обусловлены быстрым распространением варианта Дельта, пятая была связана с появлением варианта Омикрон (BA.2.x), а шестая – со сменой его на другую линию (BA.5.2) [44]. Появление новых вариантов SARS-CoV-2 сопровождалось повышением заболеваемости, ускорением темпов прироста, изменением доли тяжёлых случаев среди заболевших [42]. Сходные закономерности были установлены и для других регионов, и в целом для Российской Федерации [45].

Начальный этап развития эпидемии в России (март 2020 г. – апрель 2021 г.) включал два подъема заболеваемости. В период циркуляции варианта Ухань, снижение заболеваемости достигалось введением строгих режимно-ограничительных мероприятий на территории всех регионов России по разобщению и самоизоляции, введению единого периода нерабочих дней до 12.05.2020 г. В результате этих мероприятий не произошло «взрывного» роста заболеваемости и удалось подготовить медицинскую инфраструктуру для оказания медицинской помощи заболевшим.

Были установлены некоторые проявления эпидемического процесса при COVID-19 в этот период [46]. Среди инфицированных SARS-CoV-2 в РФ 46,7 % приходилось на мужчин, 53,3% – на женщин, увеличение доли госпитализированных лиц от 45 до 64 лет связывают с социальной активностью и большими контактами данной возрастной категории. Госпитальная летальность составила 3,89%, что указывало на то, что среди госпитализируемых наблюдалось больше пациентов с легким течением, так как в более поздние периоды отмечалась более высокая госпитальная летальность порядка 10 % [42]. Для лиц старше 56-65 лет летальность составил 7,1 %, 66-85 лет – 16,4 %, старше 85 лет – 36,2 % [42]. Необходимо отметить преобладающее распространение инфекции за счет близких контактов в семейных очагах (42,7 %), и значительный процент неустановленных причин заражения (18,8 %), что косвенно может подтверждать заражение вирусом SARS-CoV-2 от бессимптомных носителей. Выявлялись инфицированные среди работников медицинских организаций (7,6 %) или при посещении/пребывании в медицинских организациях (7,7 %), что свидетельствовало о важности соблюдения требований противоэпидемического режима [39, 40]. В структуре клинических проявлений преобладали легкие (54,2 %) и среднетяжелые формы (42,7 %), доля тяжелых форм составляла не более 3,1 %. Тяжесть течения заболевания снижалась, начиная со второй волны пандемии, а с третьей волны уменьшалась доля внебольничных пневмоний, что объясняется совершенствованием тактики лечения

больных COVID-19 [38]. Структура госпитализированных пациентов между периодами стабилизации и подъема заболеваемости по тяжести заболевания существенно не менялась, при этом тяжелые формы несколько преобладали в летний период 2020 г. среди возрастных группах 18–25, 26–35, 56–65, а в группе старше 85 лет – в летний подъем 2021 г. с появлением штамма Дельта [42]. Серологическое обследование, проведенное в различных регионах РФ в течение 2020 г. показало постепенный рост популяционного иммунитета у населения, однако этот показатель к концу 2020 г. не достигал порогового значения, что не исключало обострение эпидемиологической ситуации [47, 48].

Второй этап пандемии COVID-19 начался с января 2021 г. Он включал два подъема заболеваемости, связанные с геновариантами Дельта и наиболее резкий подъем заболеваемости, обусловленный доминированием варианта Омикрон. В этот период началось проведение массовой вакцинопрофилактики против COVID-19 вакциной «Гам-КОВИД-Вак» («Спутник V») и «Спутник Лайт».

В период доминирования варианта Дельта показатель летальности увеличился до 1,97-3,17%, а среди госпитализированных больных – 10%. Это объясняется большей контагиозностью вируса, определяемой по уровню вирусной нагрузки в показателях Ct (23,9 против 31,6 при варианте Ухань), что ускорило передачу вируса воздушно-капельным путем. Также значение имели выявленные мутации в составе RBD-домена, снижающие уровень вируснейтрализующих антител [43]. Достоверно установлено, что вакцинация снижает летальность и тяжесть течения заболевания COVID-19 [49, 50], однако не гарантирует абсолютной защиты от инфицирования и требует комплексного использования, наряду с применением неспецифических методов профилактики. Также к моменту появления варианта Дельта уровень популяционного иммунитета после вакцинации и перенесенного заболевания составлял не более 46 %, что было недостаточно для сдерживания инфекции [51]. Наиболее высокой стала заболеваемость в период циркуляции варианта Омикрон с пиком

заболеваемости 5 тыс. на 100 тыс. населения. Однако на фоне резкого роста заболеваемости наблюдалось снижение количества госпитализируемых, преобладание легких форм и уменьшение показателя летальности. В период прихода варианта Омикрон количество прошедших вакцинацию и перенесших COVID-19 достигает максимальных значений, увеличивается и уровень популяционного иммунитета, однако считается, что с приходом новых вариантов вируса значение популяционного иммунитета должно быть более высоким [43].

05 мая 2023 г. ВОЗ официально объявила об окончании пандемии COVID-19 и сняла режим международной чрезвычайной ситуации. Для снижения риска выделены следующие факторы: высокий уровень иммунитета населения в результате перенесенной инфекции и (или) вакцинации, стабильная вирулентность циркулирующих в настоящее время сублиний варианта SARS-CoV-2 «Омикрон», снижение случаев смерти, госпитализации и перевода пациентов в отделения интенсивной терапии, улучшение клинического ведения больных. [52].

Таким образом, пандемия в России, по масштабу развития, оказалась в ряду стран с наибольшим числом заболевших и умерших от COVID-19. За время пандемии разработаны необходимые меры противодействия: организация мер неспецифической профилактики (дистанцирование, ношение масок, использование дезинфицирующих средств); разработка средств специфической диагностики и вакцинопрофилактики, лекарственных препаратов и протоколов лечения. В то же время вирус SARS-CoV-2 продолжает эволюционировать, циркулирующие в настоящее время геноварианты не приводят к усилению тяжести заболевания. Постановлением главного Государственного врача РФ от 21.06.2023 г. «О мероприятиях по профилактике гриппа, острых респираторных вирусных инфекций и новой коронавирусной инфекции (COVID-19) в эпидемическом сезоне 2-3-2024 годов» система эпидемиологического надзора за COVID-19 интегрирована в систему эпиднадзора за

гриппом и разработаны меры по оптимизации, включающие: слежение за эпидемиологической ситуацией COVID-19; молекулярно-генетический мониторинг смены доминирующих геновариантов вируса SARS-CoV-2 для актуализации вакцинных препаратов и тест-систем для лабораторной диагностики; достижения целевых показателей в области вакцинации против COVID-19; тестирования на COVID-19; готовность медицинских организаций и диагностических лабораторий к работе в условиях эпидемиологического подъема заболеваемости COVID-19 с соблюдением требований биологической безопасности и усиления противоэпидемического режима; возможность оперативного перепрофилирования стационаров и развертывания отделений для своевременной дифференциальной диагностики и лечения больных COVID-19 в медицинских организациях стационарного и амбулаторно-поликлинического типа; оперативное проведение комплекса противоэпидемических мероприятий при регистрации эпидемических очагов COVID-19 [53] .

## **1.2 Клинико-патогенетические аспекты COVID-19 и вопросы организации медицинской помощи**

Проведение данного исследования пришлось на начальный этап развития эпидемии COVID-19, который по определению ряда авторов [43] относился к третьему периоду волнообразного течения эпидемического процесса COVID-19 в г. Москве. Рост заболеваемости и смертности в этот период был связан со снижением действия ограничительных мероприятий. Доминирующим вариантом возбудителя на фоне роста заболеваемости и до его максимального подъема были вариант Ухань (В.1) и в 46 % вариант Альфа. Популяционный иммунитет в г. Москве в это время достиг 22,1 %, доля серопозитивных среди лиц с бессимптомным течением заболевания – 82,4 % [47]. В этот период вакцинация еще не проводилась.

Проблемы организации медицинской помощи этого периода пандемии в РФ принципиально не отличались от мировых проблем. Стратегии системы здравоохранения были направлены на раннее выявление пациентов с новой коронавирусной инфекцией, структурирование оказания медицинской помощи на амбулаторном и стационарном звене. Грамотная организация оказания медицинской помощи обязательно включала знания основных клинических проявлений COVID-19, оценку тяжести течения заболевания (на основании клинико-лабораторных показателей, а также применения дополнительных методов диагностики), понимания периода болезни, необходимость которого обуславливала своевременность назначения противовирусных препаратов. Уже в самом начале пандемии практически сразу были определены характерные клинические синдромы и симптомы COVID-19, сходные с таковыми при других респираторных вирусных инфекциях. Ведущими синдромами, совпадающими с вирусемией, являлись: лихорадочно-интоксикационный (повышение температуры, слабость, головная боль, артралгии, миалгии), катарально-респираторный (боль в горле, умеренная ринорея, кашель сухой или с небольшим количеством мокрот) с возможной прогрессией до поражений нижних дыхательных путей (боли в грудной клетке, одышка, снижение оксигенации), диспепсический синдром (тошнота, рвота, диарея), а также синдром экзантем. Генез полиформных экзантем при COVID-19 можно рассматривать, как токсико-аллергический, где вирус является триггером этих изменений. Реже встречались конъюнктивит, дизгевзия и дизосмия, которые не являются патогномоничными для респираторных инфекций и встречаются при ряде других заболеваний. Как и при многих других респираторных инфекциях, имели место нарушения со стороны органов ЦНС (головная боль, менингизм, менингеальный синдром, вплоть до нарушения сознания при тяжелом течении) и вегетативной, сердечно-сосудистой системы и других. Тяжелые случаи COVID-19 часто сопровождаются развитием острого респираторного дистресс синдрома (ОРДС с гипоксемией) при которой может потребоваться кислородная



поддержка и искусственная вентиляция легких: почечной и полиорганной недостаточности.

Как при ряде инфекционных заболеваний тяжелое течение болезни обусловлено сочетанными факторами такими как, выраженная вирусемия, дезорганизация иммунных реакций, наряду с многочисленными факторами макро и микроорганизма.

Элиминация патогенов и купирование повреждений в инфицированном организме осуществляется посредством своевременной активации инантного и адаптивного иммунитета. Цитокинам принадлежит важная роль в реакции эффекторных клеток, которые усиливают иммунный ответ. Адекватная продукция цитокинов необходима для надлежащего иммунного контроля ряда системных инфекций, однако возможно патологическое влияние избыточной продукции цитокинов с развитием повреждений жизненно важных органов [54].

При попадании вируса в организм происходит активирование антиген-презентирующих клеток (АПК), в том числе макрофагов, лимфоцитов и других, что в свою очередь, приводит к выделению разных провоспалительных цитокинов, например:  $TNF\alpha$ ,  $IL-1\beta$ ,  $IL-2$ ,  $IL-6$ ,  $IFN\alpha$ ,  $IFN\beta$ ,  $IFN\gamma$ , MCP-1 (monocyte chemo attractant protein) и гранулоцитарный-макрофагальный колониестимулирующий фактор (GM-CSF). GM-CSF, активируя моноциты, способствует высвобождению  $IL-6$  и других факторов, что повторно воздействует на иммунные клетки. Таким образом,  $IL-6$  и GM-CSF, высвобождаемые Т-лимфоцитами и моноцитами, являются ключевым звеном «цитокинового шторма» вызванного COVID-19 [55]. При превышении определенного уровня цитокинов в организме возникает неконтролируемый объем цитокинов или т.н. «шторм» с высвобождением большого количества свободных радикалов и повреждением внутренних органов, развитием ОРДС и полиорганной недостаточности [56].

Для интернистов важно распознавание цитокинового шторма с прогностической целью и необходимостью его коррекции, поскольку цитокиновый шторм — это общее определение ряда клинических синдромов, связанных с нарушенной иммунной регуляцией, манифестирующих синдромом системного воспаления и полиорганной дисфункцией [57]. У большинства пациентов с «цитокиновым штормом» наряду с различными расстройствами (миалгии, артралгии, головная боль, анорексия, когнитивные неврологические нарушения, экзантема и диспепсия) отмечается высокая лихорадка [58]. Клинические случаи с цитокиновым штормом могут быстро прогрессировать до развития синдрома диссеминированного внутрисосудистого свертывания (ДВС синдром) с закупоркой сосудов и кровоизлияниями. Сочетание синдромов системного гипервоспаления, коагулопатии и тромбоцитопении у пациентов на фоне цитокинового шторма способствует риску спонтанного кровотечения. У пациентов также может развиваться острая печеночная, почечная недостаточность, кардиомиопатия [59]. Имеющееся повреждение эндотелия, диспротеинемия и острая почечная недостаточность могут привести к развитию анасарки [60]. Повреждения эндотелия обусловлено внедрением вируса в клетки, вовлечением АПФ-II-экспрессирующих клеток и созданием протромботической среды [61, 62, 63, 64]. Энцефалопатия, возникающая при COVID-19, может иметь смешанный генез: сосудистый, токсический или ассоциированный с синдромом высвобождения цитокинов [64, 65].

У некоторых категорий пациентов поражение органов дыхания обусловлено аутоимунным генезом, триггером которого является вирус [66]. Внелегочные проявления COVID-19 представлены признаками поражения желудочно-кишечного тракта, гепатобилиарной системы, неврологическими осложнениями, зрительными расстройствами [67, 68].

Прогностически опасным патологическим состоянием при COVID-19 является коагулопатии и ДВС- синдром, что имело место у 30 % пациентов [69], что типично для многих осложненных инфекционных заболеваний.

Тромботические осложнения могут приводить к различным острым состояниям: острый коронарный синдром, острой органной ишемии [70, 71, 72, 73, 74]. Частота развития тромбоэмболии у пациентов с тяжелой формой COVID-19 варьирует и может составлять 17–22 % [75, 76].

Поражение органов ЖКТ представлено многообразием классических проявлений и в большинстве случаев возникает не в первые дни заболевания у 12–61% пациентов [77]. Вероятно, эти проявления также связаны с диффузным воспалением эндотелия сосудов, наряду с прямым вирусным воздействием [64, 78].

Частота неврологических нарушений у пациентов с COVID-19 может достигать 40 % и сопровождаться следующими симптомами: головной болью, головокружением, миалгией, астеновегетативными проявлениями, а также спутанным сознанием [79]. В особо тяжелых случаях формируется воспалительная демиелинизирующая полиневропатия (синдром Гийена–Барре), некротизирующая энцефалопатия [80].

На протяжении указанной пандемии COVID-19 непрерывно анализировались и систематизировались знания об этиопатогенезе и совершенствовались диагностические и терапевтические мероприятия. Это отражалось в постоянном обновлении временных глобальных и локальных рекомендаций по тактике ведения пациентов. В недавно опубликованной версии Временных методических рекомендациях [81] представлены клинические варианты и проявления COVID-19: ОРВИ (поражение только верхних отделов дыхательных путей); пневмония без дыхательной недостаточности; ОРДС (пневмония с ОДН); сепсис, септический (инфекционно-токсический) шок; ДВС-синдром, тромбозы и тромбоэмболии.

Закономерности иммунного ответа могут различаться, особенно у пожилых лиц и пациентов с иммунной супрессией и наличием коморбидности, так как имеет место угнетение функции иммунной системы организма, большой риск развития «цитокинового шторма» и тяжелых осложнений. Иммунный

ответ при SARS-CoV-2 отличается от таковых при других коронавирусных инфекциях. Продолжение изучения иммунных механизмов, включая изучение феномена ускользания SARS-CoV-2 от распознавания иммунной системой, приводящего к отсроченной массивной гипериммунной реакции, позволит определить прогностические факторы и биомаркеры осложненного течения COVID-19, дополнительные терапевтические мишени. Описанные выше особенности иммунного ответа у лиц пожилого и старческого возраста обуславливают возможность атипичного и тяжелого течения заболевания.

Общепризнанными демографическими факторами риска являются возраст и пол пациентов, что также необходимо учитывать при оценке степени тяжести и прогнозе болезни. Некоторые из авторов описывают наличие тяжелого течения болезни у мужчин. В Великобритании более чем 90 % летальных исходов приходилось на людей старше 60 лет, а 60 % — на лиц мужского пола [82].

Накопленный опыт ведения пациентов с COVID-19 дает возможность оценить влияние хронической коморбидной патологии на риск инфицирования SARS-CoV-2, тяжесть течения и вероятность развития неблагоприятного исхода заболевания. Неоспоримо, что наличие сопутствующих заболеваний у пациентов, госпитализированных с COVID-19, влияет на течение и прогноз болезни [83, 84, 85]. Ряд авторов указывает, что диабет, сердечно-сосудистые заболевания и хронические болезни почек повышают риск развития тяжелых формы COVID-19 и риск летального исхода [86]. Пациенты с терминальной стадией хронической болезни почек особенно уязвимы к развитию тяжелой форме COVID-19 из-за пожилого возраста и высокой частоты коморбидных заболеваний [64, 87]. В других наблюдениях наиболее весомыми предикторами тяжелого течения COVID-19 считаются наличие артериальной гипертензии с высоким риском развития сердечно-сосудистых нарушений; патология почек, сахарного диабета 2 типа, ожирение, печеночная и сердечная недостаточность [88]. Повреждение миокарда встречается у 20–30 %

госпитализированных пациентов и доходит до 50 % у людей с уже диагностированной сердечной патологией [89].

Важной составляющей организации медицинской помощи пациентам с COVID-19 является регламент, касающийся выписки стационарных больных и диспансерного наблюдения пациентов. На сегодняшний день регламентирующие документы, отражающие эти вопросы представлены в официальных документах Министерства здравоохранения РФ [81, 90] и остаются основополагающими. Наблюдения за пациентами в указанные сроки носят рекомендательный характер.

Правила выписки пациентов из стационара и особенности диспансерного наблюдения регламентированы временными методическими рекомендациями [81, 90]. Пациенты с тяжелым или крайне тяжелым течением COVID-19 нуждаются в диспансерном наблюдении, которым проводилась неинвазивная и/или искусственная вентиляция легких. При диспансерном наблюдении этой группы лиц необходимо выявлять неврологические и другие органические нарушения в случае их наличия при выписке, рекомендовано дистанционное консультирование через 4 недели после выписки из стационара. Необходимо выявление депрессии, симптомов коагулопатий, тромбоэмболий, других угрожающих жизни состояний.

Следующий этап диспансерного наблюдения осуществляется в очном амбулаторном формате, через 8 недель с выполнением комплекса инструментальных исследований (при наличии показаний): рентгенографии органов грудной клетки, спирографии, измерения насыщения крови кислородом (сатурация) в покое и при нагрузке (возможно проведение теста с 6-минутной ходьбой с определением сатурации до и после теста), эхокардиографии (Эхо КГ). При необходимости возможно проведение других исследований (диффузионный тест, газы артериальной крови и др.).

Дальнейшая тактика диспансерного наблюдения определяется врачом в зависимости от результатов осмотра и обследования. При отсутствии жалоб и

патологических изменений по результатам исследований дальнейшее диспансерное наблюдение осуществляется в соответствии (Постановление Главного государственного санитарного врача Российской Федерации от 22.05.2020 N 15 Об утверждении санитарно-эпидемиологических правил СП 3.1.3597-20 "Профилактика новой коронавирусной инфекции (COVID-19)" (с изменениями на 20 июня 2022 года). При выявлении патологии – проведение КТ легких. (Версия 17 (14.12.2022) (в соответствии с Приказом Минздрава России №173н от 29.03.2019) с определением сатурации и проведением рентгенографии легких.

При проведении КТ исследования легких и выявлении патологических изменений (признаков легочного фиброза, интерстициальных болезней легких, васкулита) рекомендуется направление к специалисту (пульмонологу). При отсутствии патологических изменений на КТ легких, но наличии у пациента жалоб со стороны органов дыхания и др. рекомендуется провести дифференциальный диагноз с другими заболеваниями/состояниями. Пациенты с перенесенной пневмонией легкой или средней тяжести, которые не нуждались в лечении в ОРИТ (в том числе пациенты, которые проходили лечение амбулаторно), наблюдаются в соответствии с приказом Минздрава России от 29.03.2019 г. №173н «Об утверждении порядка проведения диспансерного наблюдения за взрослыми» с определением сатурации и проведением рентгенографии легких. В случае если в процессе стационарного лечения выявлено подозрение на злокачественное новообразование в легких, рекомендуется провести повторную рентгенографию органов грудной клетки через 6 недель после выписки, при необходимости направить пациента на КТ легких и проконсультироваться с онкологом. Если при выписке из стационара у пациента сохранялись изменения на рентгенограмме или КТ легких, рекомендуется визуализирующее исследование (рентгенография легких, КТ) через 8 недель после последнего КТ легких и/или рентгенографии органов грудной клетки.

В случаях выявления на рентгенограмме легких различных патологических изменений также может быть рекомендовано иное инструментальное исследование (спирографии, измерение насыщения крови кислородом (сатурация) в покое и при нагрузке, Эхо-КТ, КТ-ангиографию легочных артерий; КТ высокого разрешения (и диффузионный тест) с последующим направлением к специалистам (пульмонолог, кардиолог и др.) [81]

При диспансерном наблюдении необходимо проводить оценку психосоциальных факторов риска, включающую выявление симптомов тревожности и депрессии с помощью валидизированных опросников (например, госпитальной шкалы тревоги и депрессии), с последующей коррекцией выявленных отклонений, при необходимости с привлечением психолога, психиатра, социальных работников.

В случае прогрессирования или развития новых респираторных симптомов важно информировать пациентов о том, что, им следует обратиться за медицинской помощью. В целях организации проведения углубленной диспансеризации граждан, переболевших COVID-19, медицинской организацией на основании сведений региональных информационных систем обязательного медицинского страхования, интегрированных с государственной информационной системой обязательного медицинского страхования, составляется поименный перечень граждан, подлежащих углубленной диспансеризации. Перечень граждан подлежит ежемесячной актуализации медицинской организацией. Планируемая дата проведения углубленной диспансеризации устанавливается не ранее 60 календарных дней после выздоровления гражданина, перенесшего новую коронавирусную инфекцию COVID-19, при оказании ему медицинской помощи в амбулаторных условиях или в условиях стационара. Категории граждан, проходящих углубленную диспансеризацию утвержденному приказом Минздрава России от 01.07.2021 № 698н. составлении перечня граждан, подлежащих углубленной диспансеризации, а также при [81] актуализации указанного перечня учитывается категория, к которой относится

гражданин. При подозрении на наличие заболевания (состояния), диагноз которого не может быть установлен при проведении исследований и иных медицинских вмешательств, включенных в I этап, углубленная диспансеризация является завершённой в случае проведения исследований и иных медицинских вмешательств, включенных во II этап углубленной диспансеризации в соответствии с перечнем исследований и иных медицинских вмешательств, проводимых в рамках углубленной диспансеризации, приведенным в приложении № 4 к Программе государственных гарантий бесплатного оказания гражданам медицинской помощи (введен Постановлением Правительства Российской Федерации от 18.06.2021 № 927) (далее - Перечень исследований).

При выявлении у гражданина в процессе углубленной диспансеризации медицинских показаний к проведению осмотров (консультаций) врачами специалистами, исследований и иных медицинских вмешательств, не входящих в объем углубленной диспансеризации в соответствии с настоящим Порядком, они назначаются и выполняются в соответствии с положениями порядков оказания медицинской помощи по профилю выявленного или предполагаемого заболевания (состояния), с учетом стандартов медицинской помощи, а также на основе клинических рекомендаций.

Диспансеризация при ряде инфекционных заболеваний всегда была в фокусе внимания врачей амбулаторного звена здравоохранения после выписки пациента из стационара. Сроки диспансерного наблюдения практически при многих инфекционных заболеваниях, как правило, были согласованы с клинико-лабораторными изменениями в период реконвалесценции. Традиционно наблюдения за больными проходило в кабинете инфекционных заболеваний (КИЗ), через 1, 3, 6, 9, 12 месяцев. Сроки диспансерного наблюдения остается сегодня неопределёнными для реконвалесцентов COVID-19.

В настоящий раздел рекомендаций для выписки и диспансерного наблюдения не учитываются результаты мониторинга вирусной нагрузки, оценки жизнеспособности вируса SARS-CoV-2 в динамике заболевания,



проведение исследований клинико-патогенетических аспектов в ассоциации с биологическими свойствами вируса в динамике заболевания могут служить основой создания персонифицированного подхода к выписке и диспансерному наблюдению лиц, перенесших COVID-19.

### **1.3 Оценка биологических параметров SARS CoV-2 в различных биологических субстратах, их влияние на клинический статус пациентов**

Пандемия COVID-19 привела к глубокому и активному изучению аспектов клинической и лабораторной диагностики этой инфекции, в том числе появилась необходимость оценить влияния ряда биологических характеристик SARS-CoV-2, включая оценку вирусной нагрузки и жизнеспособность на течение новой коронавирусной инфекции. Анализ таких параметров крайне необходим для разработки клинико - лабораторного алгоритма, выработке ранней тактики противовирусной терапии с целью оценки эффективного лечения, профилактики прогрессирования индуцированных вирусом SARS-CoV-2 ответных иммунопатогенетических реакций организма с развитием уже хорошо известных: «цитокинового шторма», ОРДС, ДВС- синдрома, которые определяют неблагоприятный исход заболевания.

На сегодняшний день многие вопросы этой проблематики остаются дискуссионными. Основополагающими являются вопросы взаимосвязи одного из ведущих параметров вируса SARS-CoV-2, каким является вирусная нагрузка с клиническим профилем пациентов, обсуждается возможность применения полученных данных в практическом здравоохранении. Ряд авторов указывают, что мониторинг вирусной нагрузки у пациентов с COVID-19 имеет не только клиническое значение, но и важен в эпидемиологическом смысле. Такие исследования уже проведены при изучении других вирусных инфекциях, так эпидемиологические исследования при HBV - инфекции позволили

установить, что одним из определяющих факторов исхода хронической инфекции является уровень вируса в крови пациента, или вирусная нагрузка. Выявлена прямая зависимость между уровнем вирусной нагрузки и развитием гепатоцеллюлярной карциномой [91].

Внимание диагностических служб в пандемию новой коронавирусной инфекции в основном было уделено этиологическому подтверждению диагноза путем обнаружения РНК SARS-CoV-2 методом ОТ-ПЦР, что абсолютно объяснимо активным процессом внедрения в научно-практическую работу молекулярно-генетических методов диагностики. До настоящего времени для индикации РНК SARS-CoV-2 широко используются различные варианты ПЦР тест-систем в режиме реального времени [92]. Наборы реагентов на основе ПЦР позволяют обнаруживать присутствие нуклеиновой кислоты вируса в образцах, выделенных из мазков со слизистой оболочки носо- и ротоглотки с высокой чувствительностью и специфичностью. В подтверждение этого положения ВОЗ и Центры по контролю и профилактике заболеваний США (Centers for disease) рекомендуют использовать данный тест в качестве «золотого стандарта» диагностики COVID-19 [93, 94].

Для оценки результатов ОТ-ПЦР применяются ряд критериев, в том числе пороговый уровень вирусной нагрузки. Ведущие зарубежные исследователи утверждают, что значение  $Ct \leq 40$  соответствует положительному результату, значение  $Ct > 40$  отрицательному [95]. Однако, ПЦР тест-системы в режиме реального времени, в диапазоне  $35 < Ct < 40$  работают на пределе чувствительности и часто требуют перепроверки. Учитывая неопределенность в трактовке результатов при низкой вирусной нагрузке при диагностике SARS-CoV-2, чрезвычайно важным является разработка более чувствительных методов диагностики COVID-19 [96].

Российские ученые отмечают, что высокая концентрация РНК SARS-CoV-2, которая составляет более 100 копий/мкл в носоглоточных мазках у пациентов с COVID-19 регистрируется в период проявления клинических

симптомов, реконвалесценции вирусная нагрузка резко уменьшалась до  $>1$  копии/мкл. В пробах от пациентов с COVID-19 с бессимптомным течением заболевания была обнаружена низкая концентрация РНК SARS-CoV-2, которая составляла около 1 копии/мкл. Низкая вирусная нагрузка у этих групп пациентов может иметь большое значение для проведения лечения и карантинных мероприятий, хотя при этом вероятность инфицирования окружающих, по-видимому, сохраняется [97]. Другие авторы утверждают, что вирусная нагрузка в значительной степени способствует активной передаче возбудителя инфекции от человека к человеку, а высокая вирусная нагрузка создает большой риск передачи [98].

Другие ученые, описывая вирусную нагрузку в динамике заболевания, отмечают, что самая высокая вирусная нагрузка в мазках из носоглотки наблюдается с момента появления первых симптомов и сохраняется до 7-го дня болезни. Достаточно продолжительное выделение вируса SARS-CoV-2 объясняет более быстрое распространение его по сравнению с другими респираторными инфекциями [94]. Высокая вирусная нагрузка коррелируется с тяжестью течения заболевания и может наблюдаться при развитии вирусной пневмонии даже на 3-4 неделе от начала заболевания [93]. Интересные данные были получены российскими учеными, которые дали оценку средней вирусной нагрузки, ассоциированной с географически ограниченной популяцией. Было показано, что десятикратное увеличение среднемесячной вирусной нагрузки среди пациентов определенного региона с высокой вероятностью связано с неоднократным заражением индивидуума одновременно от нескольких выделителей вируса за счёт увеличения числа контактов, особенно в больших коллективах. Отмечается, что высокая вирусная нагрузка наблюдалась также в группах риска по COVID-19 – среди медицинских работников и взрослых/пожилых пациентов [1], полученные данные представляют интерес для эпидемиологов и могут использоваться для планирования эпидемических мероприятий.

По данным зарубежных авторов вирусная нагрузка SARS-CoV в носоглотке коррелировала с ростом числа тяжелых случаев коронавирусной инфекции и увеличением смертности среди пациентов [99, 100]. Ранее описано, что существуют значительные различия между вирусами SARS CoV и SARS-CoV-2, включая различия во времени выделения вируса [101, 102], его трансмиссивности [103], эпидемиологических [104] и клинических проявлений [105]. Другие исследователи высказывают противоположные мнения, считая, что назофарингеальная вирусная нагрузка SARS-CoV-2 при поступлении обычно высока у пациентов с COVID-19 и не зависит от тяжести заболевания, показатель вирусной нагрузки нельзя использовать в качестве независимого предиктора неблагоприятного клинического исхода [106] и для оценки тяжести течения заболевания.

Очевидную взаимосвязь между пожилым возрастом и высокой вирусной нагрузкой SARS-CoV-2, некоторые авторы рассматривают в комплексе факторов риска смертности от COVID-19 [107, 108]. Более высокая вирусная нагрузка у пожилых пациентов может индуцировать различные иммунные реакции, ассоциированные с тяжестью COVID-19. Выявлена достоверные соответствия между уровнем вирусной нагрузки SARS-CoV-2 и условиями передачи возбудителя. [108]. Показано, что смертность от COVID-19 в Южной Корее заметно возрастала с учетом возраста пациентов (0,06 % в возрасте 30 лет, 0,09 % в возрасте 40 лет, 0,29 % в возрасте 50 лет, 1,31 % в возрасте 60 лет, 6,19 % в возрасте 70 лет и 19,88 % в возрасте старше 80 лет). В ассоциации со смертностью отмечался рост вирусной нагрузки у пациентов с COVID-19 [5, 109, 110, 111]. Однако в ряде других исследований не сообщается о значимых отличиях в вирусной нагрузке в зависимости и от гендерного состава, возраста и (или) тяжести заболевания у пациентов с COVID-19 [6, 103, 112, 113].

Аналогичные данные получены и другими исследователями: анализ вирусной нагрузки в динамике заболевания показал, что вирусная нагрузка SARS-CoV-2 в назофарингеальных мазках у пациентов с COVID-19 при

поступлении обычно высокая, однако не зависит от тяжести заболевания, ее нельзя использовать в качестве автономного предиктора неблагоприятного клинического исхода [106]. Более поздние исследования, с применением новых молекулярно-генетических методов диагностики показали, что уровни N-антигена, которые легко определить в плазме пациента дает важную информацию о патогенезе и прогнозе COVID-19. Связь между уровнями вирусного антигена в плазме и клиническими исходами ранее не изучалась. Исследования показали, что существует взаимосвязь между концентрацией нуклеокапсидного антигена (N-антигена) SARS-CoV-2 в плазме и клиническими исходами. Мониторинг уровня N-антигена на ранних стадиях стационарного периода может улучшить стратификацию рисков развития тяжелой формы болезни, особенно у когорты «благополучных» пациентов, которых не рассматривали, как группу риска [114].

Наиболее часто при оценке взаимосвязи уровня вирусной нагрузки с гендерной характеристикой пациентов авторы показывают, что лица мужского пола имели более высокую вирусную нагрузку по сравнению с лицами женского пола, эти же пациенты имели повышенный риск смертности. Авторы предлагают необходимость осуществлять динамический контроль за состоянием представителей обоих полов со средним и высоким уровнем вирусной нагрузки (значения Ct 31 или меньше), отмечая, что в обеих группах пациентов была зарегистрирована высокая летальность [115].

Согласно исследованию, опубликованному в журнале *Clinical Infectious Diseases* [116] высокая вирусная нагрузка SARS-CoV-2 среди стационарных пациентов была непосредственно связана с увеличением рисков и потребности в кислороде при проведении ИВЛ (искусственной вентиляцией легких) и развитием высокой внутрибольничной летальности. Был проведен ретроспективный анализ данных 678 пациентов, госпитализированных с COVID-19 в период с 30 марта по 30 апреля 2020 года в клиники Нью-Йорка, США. Вирусную нагрузку SARS-CoV-2 оценивали с помощью ОТ ПЦР при исследовании

назофарингеальных мазков. Медиана пороговых значений Ct составила 27,9. Образцы с высокой вирусной нагрузкой были определены как Ct <25 (n=216), низкой – Ct = >30 (n=242). Медиана возраста пациентов с высокой, средней и низкой вирусной нагрузкой составила соответственно 72, 69 и 63 года (p<0,001). Пациенты, имеющие высокую вирусную нагрузку чаще имели коморбидную патологию в виде: ИБС (20 %, 21,8 %, 12,8 % соответственно, p=0,039), ХСН (12,7 %, 6,9 %, 5,4 % соответственно, p=0,004), цереброваскулярными заболеваниями (12,3 %, 6,9 %, 5,4 % соответственно, p=0,007), АГ (61,8 %, 66,7 %, 50 % соответственно, p=0,008), ХОБЛ (9,6 %, 5,1 %, 3,7 % соответственно, p=0,009), ХБП (14,6 %, 10,2 %, 8,3 % соответственно, p=0,032) и онкологической патологией (10,0 %, 6,5 %, 2,5 % соответственно, p=0,001). Среди них доминировали пациенты с ХОБЛ: высокая вирусная нагрузка зарегистрирована в 35,5 %, средняя – у 25,0 % и низкая в 25,6 % случаях. У пациентов с более высокой вирусной нагрузкой чаще развивался инфаркт миокарда (7,3 %, 4,6 %, 2,1 % соответственно, p=0,007) или острое повреждение почек, требующее гемодиализа (15,0 %, 8,3 %, 2,9 % соответственно, p<0,001). У пациентов, имеющих высокую вирусную нагрузку медиану сроков начала болезни до момента госпитализации составила 7 дней, по сравнению с аналогичным показателем у пациентов со средней и низкой вирусной нагрузкой, где медиана была 8-10 дней соответственно (p<0,001). В группе пациентов с высокой вирусной нагрузкой (Ct<25) внутрибольничная летальность составила 35% [117], тогда как в группе пациентов со средней вирусной нагрузкой (Ct 25-30) – 17,6 % и 6,2 % у пациентов с низкой вирусной нагрузкой (Ct>30) (p<0,001). Риск перевода на ИВЛ был выше у пациентов с высокой вирусной нагрузкой (29,1%), по сравнению со средней (20,8%) или низкой (14,9%) вирусной нагрузкой (p<0,001). Таким образом, степень вирусной нагрузки при госпитализации у пациентов с COVID-19 определялась пороговыми значениями и связана с риском перевода на ИВЛ и смертностью [117, 118].

В многофакторной модели, скорректированной с учетом возраста, расы, наличия ИБС, ХСН, цереброваскулярных заболеваний, АГ, ХОБЛ, количества дней от начала симптомов до поступления, симптомов при госпитализации, результатов рентгенографии органов грудной клетки и уровня сатурации крови в течение трех часов после госпитализации, наличие высокой вирусной нагрузки было достоверно связано с повышенным риском внутрибольничной летальности (ОШ = 6,05; 95 % ДИ, 2,92-12,52;  $p < 0,001$ ). У пациентов, имеющих высокую вирусную нагрузку риски перевода на ИВЛ (ОШ=2,73; 95 % ДИ 1,68-4,44;  $p < 0,001$ ) были статистически значимыми при сравнении с лицами, имеющими низкую вирусную нагрузку [117].

Ряд исследователей уделили внимание изучению вопроса взаимосвязи клинических проявлений с одновременной оценкой лабораторных маркеров воспаления в ассоциации с вирусной нагрузкой. Были подняты вопросы дифференциации вирусной нагрузки с острофазовыми показателями в зависимости от тяжести болезни и возраста [119, 120] Авторы дали оценку ряду индикаторов воспаления в динамике заболевания, основываясь на изменениях показателей ИЛ-6, СРБ и ЛДГ в плазме пациентов и респираторном тракте. Вирусная нагрузка, измеренная в респираторном секрете в течение всего периода заболевания, в значительной степени связана с системным воспалением у молодых пациентов и слабее или незначительна у пожилых пациентов. Оценка вирусной нагрузки в динамике заболевания на фоне проводимого лечения противовирусными препаратами и кортикостероидами могла изменяться на фоне приема этих препаратов пациентами [121].

Оценка вирусной нагрузки SARS-CoV-2 проводили в различных биологических субстратах, идентифицируя вирус методом ОТ-ПЦР. Некоторым авторам не удалось изолировать вирус из мочи и испражнений несмотря на то, что вирусная нагрузка в некоторых пробах превышала  $1,30 \log_{10}$  копий/мл [6, 104, 111]. Другие исследователи свидетельствуют о детекции вирусной РНК в фекалиях в 29 %, предполагая возможность фекально-орального механизма

передачи COVID-19 [5, 122, 123, 124, 125,]. Это подтверждает необходимость мониторингования сточных вод, что описано в работах некоторых авторов [127]. Одновременный рост заболеваемости COVID-19 и увеличение частоты выявления РНК SARS CoV-2 в сточных водах обосновывает фекально-оральный механизм передачи инфекции. Исследователями отмечено, что в когорте пациентов с клинически выраженными симптомами COVID-19 РНК SARS-CoV-2 в плазме крови обнаруживается в 45 % случаях. Эти результаты исследования указывают на возможную системную персистенцию вируса, что может быть использовано в стратегии противовирусного лечения [117].

В тканях легких умерших пациентов ОРИТ проводили оценку уровня вирусной нагрузки SARS-CoV-2 и было показано, что частота выявления РНК SARS-CoV-2 составила 100 % при диффузном альвеолярном повреждении легких (ДАП). В случаях отсутствия комплекса гистологических изменений, характерных для ДАП, средний уровень вирусной нагрузки был зарегистрирована 62,5 %. При пролиферативной и экссудативной фазе ДАП, средний уровень вирусной нагрузки в тканях легкого увеличивался в 60 раз. Средняя продолжительность пребывания в ОРИТ пациентов с экссудативной и пролиферативной фазами ДАП, составляла 10,64 (1-22) и 8,14 (1-21) койко-дней соответственно [109]. При сравнении уровней вирусной нагрузки у выживших и летальных пациентов показатели вирусной нагрузки достоверно не отличались [128].

Контроль вирусной нагрузки имеет не только определенное клиническое значение, но и важен в эпидемиологическом аспекте. Показано, что у пациентов с COVID-19 высокая вирусная нагрузка в мазках из ротоглотки отмечалась в продромальный период болезни, что обуславливает проведение противоэпидемических мероприятий с учетом высокой вероятности бессимптомного течения болезни [5, 103].

Проведенный мета-анализ по оценке продолжительности выделения вирусов SARS-CoV показал, что средняя продолжительность выделения РНК



SARS-CoV в верхних дыхательных путях составила 17,0 дней (95 % ДИ 15,5-18,6), в нижних дыхательных путях – 7,2 дня (95 ДИ 14,4-20,1), в копрофильtrate – 14,6 дней (95% ДИ 9,3-20,0) и 16,6 дня (95% ДИ 3,6-29,7) в образцах сыворотки крови. Максимальная продолжительность выделения SARS-CoV-2 составила 83 дня в верхних дыхательных путях, 59 дней в нижних дыхательных путях, 126 дней в стуле и 60 дней в сыворотке крови. Пик вирусной нагрузки SARS-CoV-2 в верхних дыхательных путях приходится на первую неделю болезни, тогда как у SARS-CoV-2 пик приходится на 10–14-й день. При этом ни в одном случае не выявлено жизнеспособного вируса после девятого дня болезни, несмотря на высокие показатели вирусной нагрузки, установленные на основании пороговых значений Ct [129]. На практике выявление РНК SARS-CoV-2 не доказывает способность вируса к репликации даже при сохранении положительных результатов ПЦР на более поздней стадии COVID-19. Можно предположить, что потенциальный риск передачи вируса будет низким, если вирус не изолирован и не культивируется в чувствительных к вирусу клетках. Однако установлена возможность изоляции жизнеспособного вируса на клетках Vero в мазках из носоглотки и образце слюны в 21,42 % [126, 127, 130].

Таким образом, можно констатировать, что наличие взаимосвязи между тяжестью COVID-19 и вирусной нагрузкой остаются не вполне убедительны. Практически равнозначно авторы как подтверждают наличие этой взаимосвязи, так и ее отвергают. Совершенно очевидно, что уровень вирусной нагрузки коррелирует с возрастом и чем старше человек, тем выше уровень вирусной нагрузки. Доказано, что для новой коронавирусной инфекции предикторами тяжести течения является возраст, коморбидность, что и определяет исход заболевания. Не получено точных данных о наличии взаимосвязи уровня вирусной нагрузкой SARS-CoV-2 и риском прогрессирования заболевания. Противоречивая информация и о динамике вирусной нагрузки в течение всего периода болезни. Ретроспективный и текущий мониторинг вирусной

нагрузки на индивидуальном уровне, а также оценка жизнеспособности SARS-CoV-2 с использованием современных молекулярно-генетических и культуральных методов исследования среди разных групп населения, анализ связи вирусной нагрузки и ряда клинических проявлений заболевания необходим для актуализации действующих клинико-диагностических рекомендаций по COVID-19.

## ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

### 2.1 Характеристика групп наблюдения пациентов

В исследование были включены 586 пациентов с этиологически подтвержденным диагнозом COVID-19, госпитализированные в разные дни болезни в инфекционную клиническую больницу № 1 Департамента здравоохранения города Москвы с 17.11.2020 г. по 03.02.2021 г. Амбулаторную группу составили 542 пациента с легким течением заболевания. Дизайн исследования представлен на рисунке 3.

*Критерием включения пациента в исследование:* возраст старше 18 лет, наличие РНК SARS-CoV-2 в биоматериале (назофарингеальные мазки, копрофильтрат), подтвержденные методом ОТ- ПЦР в динамике заболевания.

*Критерии исключения* – возраст младше 18 лет, беременные, пациенты с аутоиммунными заболеваниями; отсутствие РНК SARS-CoV-2 в биоматериале, подтвержденное методом ОТ- ПЦР в динамике заболевания.

Пациентам проводили первичный клинический осмотр, наблюдение в динамике заболевания, давали оценку объективных клинических данных, лабораторных показателей, результатов визуализационных методов исследования. Согласно критериям тяжести ВОЗ [131] все пациенты были разделены на три группы: легкой степени тяжести, среднетяжелой и тяжелого течения (таблица 3).

Проведение исследования было одобрено этическим комитетом ГБУЗ «Инфекционная клиническая больница № 1 Департамента здравоохранения города Москвы» (протоколы заседаний № 11а от 16.11.2020 и № 1 от 11.02.2021). Пациенты находились под нашим непосредственным клиническим наблюдением весь период заболевания. Были получены официальные

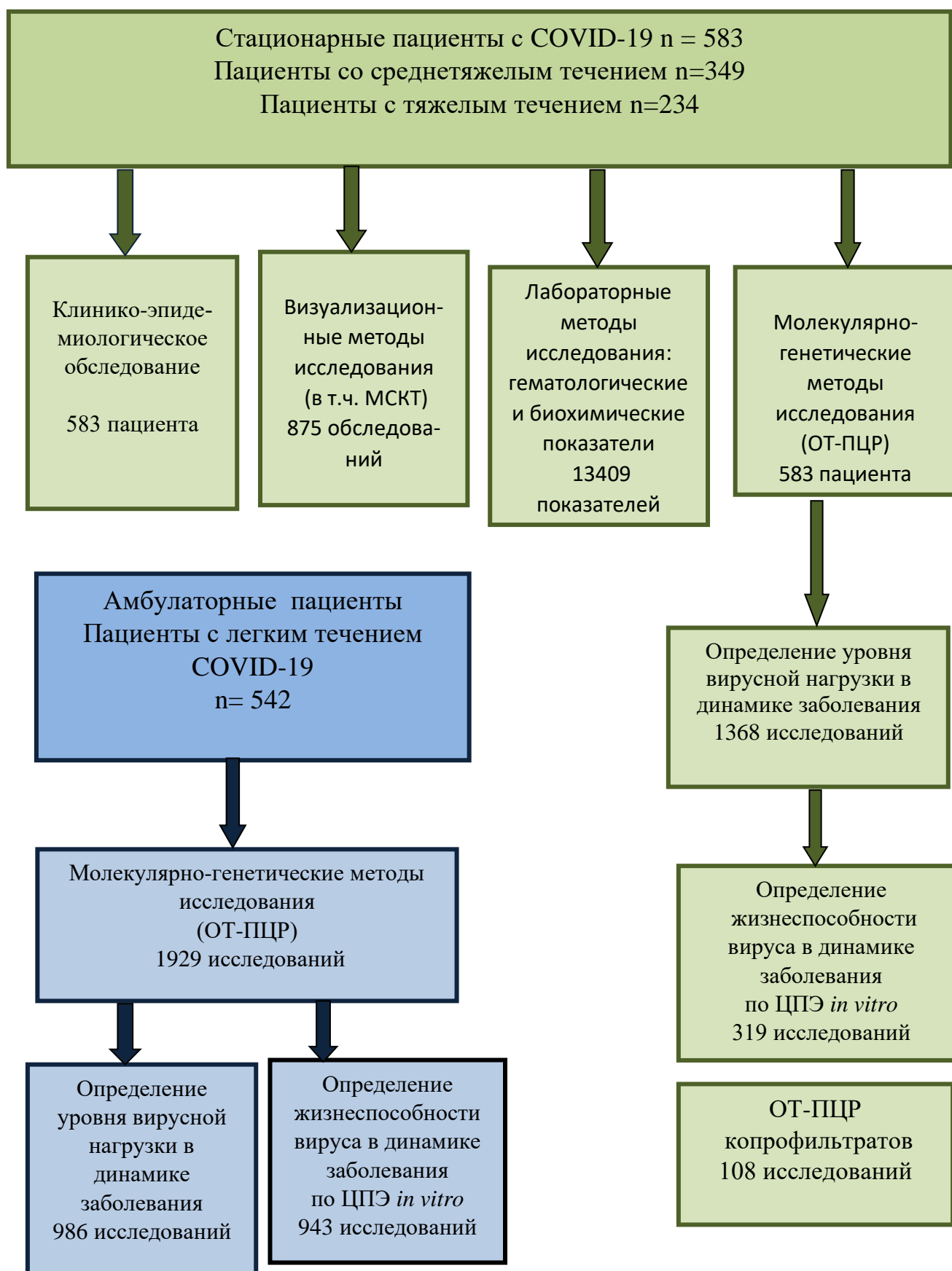


Рисунок 3 – Дизайн исследования.

Таблица 3 – Критерии тяжести течения коронавирусной инфекции по ВОЗ (2021)

Степень тяжести	Критерии
Легкое течение	Наличие клинических проявлений, соответствующих определению случая COVID-19, без признаков вирусной пневмонии или гипоксии
Среднетяжёлое течение	Наличие пневмонии, лихорадка, кашель, затрудненное и учащенное дыхание, $SpO_2 \geq 90\%$ на атмосферном воздухе (оценивать индивидуально, учитывая коморбидный фон и пороговую норму)
Тяжёлое	Наличие критериев средней тяжести + хотя бы один из следующих признаков: ЧДД $\geq 30$ вдохов/мин; тяжелый респираторный дистресс синдром; $SpO_2 < 90\%$ при дыхании атмосферным воздухом
Критическое	<ul style="list-style-type: none"> <li>• ОРДС</li> <li>• Сепсис</li> <li>• Септический шок</li> <li>• Острый тромбоз</li> </ul>

документы: информированное согласие на сбор биологического материала, анкетные данные, внесенные в Google- таблицы.

## 2.2 Общеклинические, лабораторные, визуализационные методы исследования

Обследование пациентов включало: сбор анамнеза morbi и эпидемиологического анамнеза, клинический осмотр в динамике заболевания. В комплекс лабораторных методов исследований входили: клинический анализ крови, биохимический анализ крови, коагулограмма и др. Согласно «Временным методическим рекомендациям по профилактике, диагностике и лечению новой коронавирусной инфекции (COVID-19)», версия 6 от 24.04.2020, «Временные методические рекомендации по профилактике, диагностике и лечению новой

коронавирусной инфекции (COVID-19)», версия 7 от 03.06.2020 при оказании медицинской помощи больным с COVID-19, дополнительно проводили мультиспиральную компьютерную томографию органов грудной клетки или рентгенографию органов грудной клетки в 2-х проекциях, УЗИ, ЭКГ.

Лабораторные исследования проводились на базе клинической лаборатории ГБУЗ «ИКБ №1 ДЗМ» по принятым стандартам и зарегистрированным методикам.

Исследование крови проводилось в клинической лаборатории ИКБ на аппарате Pentra XL 80, где определяли уровни эритроцитов, гемоглобина, лейкоцитов, лейкоцитарной формулы, тромбоцитов. Биохимическое исследование крови проводилось на аппарате Beckman Coulter AU680 и включало: аспартатаминотрансферазу (АЛАТ), аланинаминотрансферазу (АСАТ), щелочную фосфатазу (ЩФ), билирубин общий, билирубин прямой, билирубин непрямой, креатининкиназу, глюкозу, мочевины, креатинин, общий белок, лактатдегидрогеназу (ЛДГ), С-реактивный белок (СРБ), ферритин. Показатели свертываемости крови: МНО, протромбин, Д-димер определяли на аппарате ACL E lite Pro. При наличии показаний определяли уровень прокальцитонина.

Оценку гематологических показателей проводили с учётом референсных значений, предписанных в инструкции к аппаратам: Pentra XL 80, Beckman Coulter AU680, ACL Elite Pro и по общепринятым стандартам; общий анализ мочи с микроскопией мочевого осадка (UriSed, LabUMat2,77 Electronica ).

## **2.3 Молекулярно-генетические и вирусологические исследования**

### **2.3.1 Сбор и подготовка биоматериала к исследованию**

Сбор биоматериала для исследования методом количественной ОТ-ПЦР и вирусологического исследования назофарингеального мазка с использованием перmissive для репликации SARS-CoV-2 клеток осуществляли в

соответствии с СанПин3.3686-21 «Санитарно-эпидемиологические требования по профилактике инфекционных болезней» и МУ 1.3.2569 -09 «Организация работы лабораторий, использующих методы амплификации нуклеиновых кислот при работе с материалом, содержащим микроорганизмы I–IV групп патогенности».

Взятие назофарингеальных мазков осуществляли сухим стерильным тампоном (зондом) на пластиковом аппликаторе. Зонд вводили в нос по наружной стенке на глубину 2-3 см до нижней раковины, слегка опускали зонд вниз и вводили в нижний носовой ход под нижнюю носовую раковину до носоглотки, делали вращательное движение и извлекали зонд вдоль наружной стенки носа. Опускали зонд с тампоном в стерильную одноразовую пробирку с 1 мл фосфатно-солевого буфера, обламывали верхнюю рукоятку зонда по месту слома, пробирку закрывали крышкой и маркировали.

При поступлении биоматериала в вирусологическую лабораторию 100 мкл каждого назофарингеального образца отбирали для определения жизнеспособности вируса SARS-CoV-2 *in vitro* и 100 мкл – для экстракции нуклеиновых кислот. Оставшийся объем образца аликвотировали, замораживали и хранили при - 20°C.

В течение всего периода госпитализации биоматериал пациентов получали со следующей периодичностью: мазок из носоглотки исследовали каждые  $3 \pm 2$  дня, венозную кровь отбирали один раз в 5–7 дней в динамике заболевания. Диагностический алгоритм обязательно включал анализ эпидемиологических, клинико-лабораторных и инструментальных данных. Кровь забирала из вены в стерильных условиях в пробирке с активатором свертывания крови для ускорения процесса тромбообразования. Собранные образцы центрифугировали в течение 10 мин при 3000 об/мин при комнатной температуре и хранили до исследования при температуре +2–+8°C (но не более 24 часов), не допуская их замораживания.

### 2.3.2 Оценка вирусной нагрузки SARS-CoV-2

Исследование образцов носоглоточных мазков проводили с использованием набора реагентов для экстракции и качественного определения РНК коронавируса SARS-CoV-2 методом ОТ-ПЦР «SARS-CoV-2 FRT» производства ФГБУ «Национальный исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии имени почетного академика Н.Ф. Гамалеи» (ФГБУ «НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи») согласно инструкции производителя. Программа амплификации одностадийной реакции ОТ-ПЦР-РВ была следующей: 50°C – 15 мин; 95°C – 5 мин; 45 циклов при 95°C – 10 сек и 55°C в течение 1 мин. Количество копий РНК SARS-CoV-2 определяли с помощью калибровочной прямой. Для её построения при каждой постановке анализа тестировали калибровочные стандарты, которые представляли собой рекомбинантные конструкции, содержащие амплифицируемый фрагмент генома SARS-CoV-2 с известной концентрацией. В связи с тем, что сравнение количества фрагментов было относительным, РНК-фрагменты не использовались. Стадия обратной транскрипции контролировалась прохождением ПЦР по внутреннему РНК-контролю, предусмотренному системой.

Пример определения относительной концентрации РНК SARSCoV-2 в исследуемых образцах представлен на рисунке 4 и таблице 4.

В случае получения отрицательного результата ОТ-ПЦР проводили повторное исследование. Кроме этого, для валидации результатов ПЦР осуществляли изоляцию вируса из отрицательных образцов. Ни для одного из образцов успешных изоляций вируса не было получено.



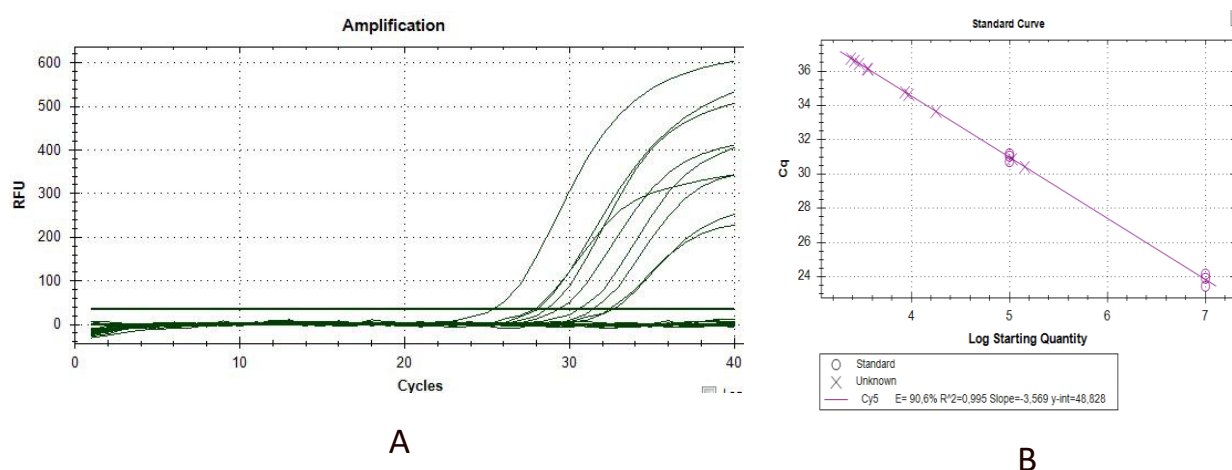


Рисунок 4 – Детекция результатов исследования РНК коронавируса SARS-CoV-2 методом ОТ-ПЦР. А - Регистрация накопления специфического продукта амплификации путем измерения интенсивности флуоресцентного сигнала; В - Калибровочная прямая.

Таблица 4 – Результаты определения относительной концентрации SARS-CoV-2 в исследуемых образцах

Номер образца	Пороговый цикл Ct	Концентрация
1	36,62	$2,64 \cdot 10^3$
2	36,13	$3,61 \cdot 10^3$
3	34,64	$9,42 \cdot 10^3$
4	34,79	$8,60 \cdot 10^3$
5	36,75	$2,42 \cdot 10^3$
6	36,15	$3,57 \cdot 10^3$
7	33,66	$1,78 \cdot 10^4$
8	36,46	$2,94 \cdot 10^3$
Стандарт $10^5$	31,18	$1,0 \cdot 10^5$
Стандарт $10^5$	30,72	$1,0 \cdot 10^5$
Стандарт $10^5$	31,04	$1,0 \cdot 10^5$
Стандарт $10^7$	23,46	$1,0 \cdot 10^7$
Стандарт $10^7$	23,92	$1,0 \cdot 10^7$
Стандарт $10^7$	24,16	$1,0 \cdot 10^7$
Отрицательный контроль	отрицательная	0

### 2.3.3 Определение жизнеспособности вируса SARS-CoV-2 в назофарингеальных мазках *in vitro*

Определение способности вируса SARS-CoV-2 вызывать заболевание проводили с использованием клеточной линии 293T/ACE2 (со стабильной экспрессией ангиотензин превращающий фермент2рецептора человека) [129]. Клетки 293T/ACE2 получали с помощью лентивирусной трансдукции исходных клеток 293T. Клетки культивировали в среде DMEM (Dulbecco's modified Eagles medium) («ПанЭко», Россия), содержащей 10% эмбриональную бычью сыворотку (HyClone, США), 1x L-глутамин и 1x раствор антибиотиков пенициллина/стрептомицина (Gibco, США). Эксперименты выполняли в 96-луночном планшете. Для этого образцы назофарингеальных мазков (в объеме 100 мкл) от больных COVID-19 вносили в планшеты с монослоем клеток линии 293T/ACE2 и делали последовательные десятикратные разведения. Планшеты инкубировали в течение 5 дней при 37°C и 5% CO<sub>2</sub>. Затем производили оценку вирус-индуцированного цитопатического эффекта (ЦПЭ). Для этого на предметный столик микроскопа устанавливали планшет со слоем клеток вверх и, используя малое увеличение (объектив x10, окуляр x10), осматривали слой. При этом сравнивали клетки, зараженные вирусом, с такими же клетками в планшете, не подвергавшимися заражению. В случае наличия ЦПЭ репродукцию вируса дополнительно подтверждали методом ОТ-ПЦР. За титр инфекционной активности вируса в геномных эквивалентах (ГЭ/мл) принимали последнее разведение исследуемого образца, при котором наблюдался ЦПЭ.

### 2.3.4 Детекция вируса SARS-CoV-2 в копрофильtrate

Для исследования копрофильtrата отбирали свежесобранные образцы фекалий в стерильную посуду. Сбор материала проводился со 2 до 29 дня

болезни включительно. Хранение и транспортировка материала до исследования осуществляли при температуре  $-30^{\circ}\text{C}$ .

При проведении ОТ-ПЦР использовали 2 набора: COVID-19 Amp (ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера Роспотребнадзора, Санкт-Петербург) и SARS-CoV-2 FRT (ФГБУ «НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России, Москва). Исследование осуществляли путем последовательных этапов: экстрагировали РНК из биологического материала и проводили реакцию обратной транскрипции РНК и ПЦР-амплификации кДНК с гибридизационно-флуоресцентной детекцией продуктов в режиме реального времени. При этом уровень флуоресценции увеличивался пропорционально количеству образовавшихся специфических ампликонов и измерялся на каждом цикле амплификации.

#### 2.4 Статистические методы

Статистический анализ проводился с использованием программного обеспечения SPSS Statistics ver. 26 (IBM, USA). Для построения графиков использовалась среда программирования Python, библиотеки matplotlib, pyplot и seaborn. Перед описательным анализом, распределение количественных переменных сравнивалось с нормальным (критерий Шапиро Уилка).

Так как большинство параметров отличались от нормального распределения ( $p < 0,05$ ), были использованы медиана и интерквартильный размах как характеристики распределения. Для сравнения двух независимых групп между собой использовался критерий Манна Уитни. Для сравнения зависимых групп – критерий Фридмана с последующими попарными сравнениями с помощью критерия Макнамара с поправкой на множественность Бонферрони. Для сравнения распределения качественных переменных были использованы t-критерий Стьюдента, критерий хи-квадрат, точный тест Фишера. Вне зависимости от используемого статистического метода различия между группами считались достоверным при  $p \leq 0,05$ . Для определения срока сохранения

жизнеспособности вируса при инфицировании клеток 293 T/ACE2 применяли метод Каплана-Майера: для анализа выживаемости вируса использованы кривые Каплана-Майера, позволяющие вычислить эмпирическую вероятность жизнеспособности вируса с учетом сроков наблюдения и цензурирования данных. Достоверность различий рассчитывали с помощью метода и критерий Мантеля-Кокса. Вне зависимости от используемого статистического метода различия между группами считалось достоверным при  $p \leq 0,05$ . При анализе количественных показателей использовали тест Шапиро-Уилка для сравнения распределений с нормальным. Для большинства групп распределения значимо ( $p > 0,05$ ) отличались от нормального, поэтому для описания центральных тенденций использовались медиана и межквартильный размах.

### ГЛАВА 3. КЛИНИЧЕСКАЯ И ЛАБОРАТОРНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА СТАЦИОНАРНЫХ ПАЦИЕНТОВ С COVID-19

Группа клинического наблюдения представлена 586 пациентами, госпитализированными в ГБУЗ «Инфекционная больница №1 Департамента здравоохранения г. Москвы» с верифицированным диагнозом «Коронавирусная инфекция, COVID-19, вирус идентифицирован» (U07.1 по МКБ) в 100 % случаях методом ОТ-ПЦР в период с 17.11.2020 года по 03.02.2021. Комплексные исследования и наблюдения за стационарной и амбулаторной группами пациентов были проведены в этот период. Период характеризовался циркуляцией наиболее распространенных вариантов вируса SARS-CoV-2 – Ухань, Альфа и Дельта. Этиологическое подтверждение диагноза проводили методом полимеразной цепной реакции в режиме реального времени с обратной транскрипцией (ОТ-ПЦР), направленной на обнаружение специфических фрагментов вирусной РНК SARS-CoV-2 при исследовании назофарингеальных мазков и копрофильтрата.

Для проведения сравнительного анализа частоты встречаемости основных клинических симптомов при комплексном обследовании группы стационарных пациентов, были включены результаты лабораторных и визуализационных методов исследования.

Все стационарные пациенты были разделены по степени тяжести заболевания, согласно существующим критериям ВОЗ (2021 г). Большинство (59,56 %) составила группа среднетяжелого течения – 349 больных; группа пациентов с тяжелым течением включала – 234 больных (39,93 %). В связи с небольшой выборкой пациентов с легким течением (3 человека) эта группа не подвергалась аналитическому исследованию. Небольшое количество стационарных пациентов с легким течением обусловлено соблюдением правил оказания медицинской помощи и регламентирующими документами, включающими показания для госпитализации, что прописано во Временных

методических рекомендациях (Версия 6,7, МЗ Российской Федерации). Согласно указанным рекомендательным документам, пациенты с легким течением, как правило, наблюдались и получали терапию в амбулаторном режиме.

Демографические и клинические характеристики пациентов, включенных в комплексное клинико-лабораторное обследование (n=378) представлены в таблице 5.

Возраст стационарных пациентов существенно варьировал от 18 до 97 лет, медиана возраста составила 67 (58,0-78,5) лет. Доминирующая группа по возрастному критерию, включала пациентов в возрасте от 51 до 90 лет (84,1±1,5 %); пациенты в возрасте 61-70 лет составили 26,7±1,8 %, 71-80 лет – 23,3±1,7 %, 81-90 лет – 18,3±1,6 % и 51-60 лет – 15,8±1,5 % от общего числа пациентов. Доли госпитализированных лиц в возрасте до 30 лет и в возрастной категории после 91 года были минимальными и составили по 1,2±0,5 % (рис. 5).

Гендерная характеристика исследуемой когорты пациентов представлена практически равнозначно: 244 (41,64 ±2,04%) больных представители мужского пола и 342 (58,36±2,04%) женского.

Подавляющее большинство больных было госпитализировано на 5-8 дни болезни. Минимальный день болезни на момент госпитализации составил – 1 день, максимальный – 76 день. Медиана продолжительности госпитализа-

Таблица 5 – Клинико-демографическая характеристика стационарных пациентов с COVID-19

Показатели	День болезни			
	минимальное значение	максимальное значение	медиана, Me	межквартильный размах, IQR
День болезни на момент госпитализации	1	76	7	5-8
Продолжительность госпитализации (n=378)	1	52	9	7-13

Возраст		18	97	67	58,0-78,5
Пол	Мужчины абс. (M±m %)	244 (41,64 ±2,04 %)			
	Женщины абс. (M±m %)	342 (58,36±2,04 %)			
Сте- пень тяже- сти	Легкая абс. (M±m %)	3 (0,51±0,29 %)			
	Среднетяжелая абс. (M±m %)	349 (59,56±2,03 %)			
	Тяжелая абс. (M±m %)	234 (39,93± 2,02 %)			
Летальность абс. (M±m %)		39 (6,66±1,03 %)			

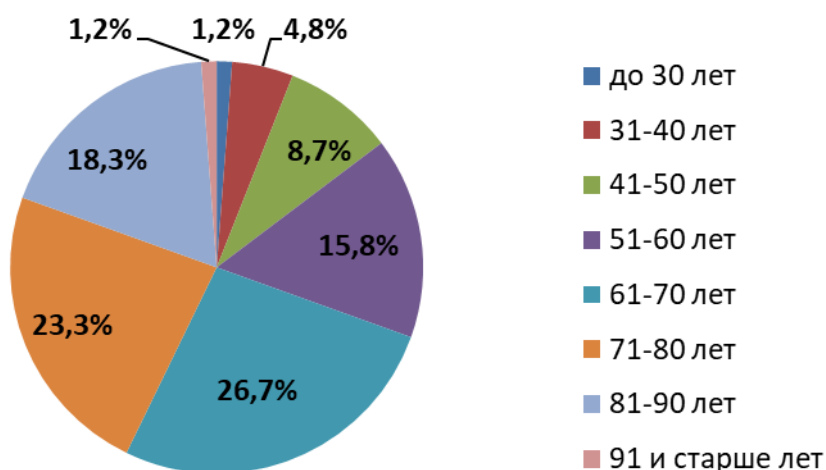


Рисунок 5 – Возрастная структура стационарных пациентов с COVID-19. Пациенты составили – 9 (7-13) дней, тогда как максимальная продолжительность госпитализации составила 52 дня. Преимущественно заболевание протекало в среднетяжелой форме – 349 (59,6±2,03%), тяжелое течение заболевания было отмечено у 234 (39,9± 2,02%) пациентов. Летальный исход был зарегистрирован в 39 случаях, что составило 6,66± 1,03% от общего числа стационарных пациентов. При сравнении показателя летальности с таковым на более ранних сроках пандемии, можно констатировать, что летальность в начале пандемии

достигала более высоких значений, преимущественно в группе тяжелого течения.

Пациенты обеих групп (с тяжелым и среднетяжелым течением COVID-19) были сопоставимы по основным исходным демографическим и клиническим критериям, что представлено в таблице 6.

Таблица 6 – Демографическая характеристика и некоторые клинические показатели сравниваемых групп пациентов с COVID-19

Показатели	Тяжесть течения заболевания		Критерии достоверности, р
	среднетяжелая n=349	тяжелая n=234	
Женщины абс. (M±m%)	205 (58,7±2,6%)	137 (58,5±3,2%)	1,0 (критерий хи-квадрат)
Мужчины абс. (M±m%)	144 (41,3±2,6%)	97 (41,5±3,2%)	1,0 (критерий хи-квадрат)
Возраст, Me (IQR)	66 (55,5-76)	70 (62-80)	< 0,001* (Манна-Уитни)
День госпитализации после появления симптомов, Me (IQR)	7 (5-8)	7 (5-9)	0,775 (Манна-Уитни)
Срок госпитализации, Me (IQR)	9 (7-13)	10 (7-14)	0,142 (Манна-Уитни)

Примечание: Me – медиана; IQR – межквартильный размах медианы;

\* – различия достоверны ( $p \leq 0,05$ ).

Сравниваемые по степени тяжести течения заболевания группы не имели статистически достоверной разницы по гендерному признаку (критерия хи-квадрат = 1,0,  $p \geq 0,05$ ) и распределение было эквивалентным. Также группы сравнения были сопоставимы и по критерию, оценивающему день болезни на момент госпитализации (критерия Манна-Уитни = 0,775,  $p \geq 0,05$ ), равнозначными оказались обе группы по показателю продолжительности госпитализации (критерия Манна-Уитни = 0,142,  $p \geq 0,05$ ).



Продолжение изучения и определение дополнительных факторов, влияющих на неблагоприятное течение COVID-19 у пациентов с коморбидным фоном, позволят оптимизировать тактику оказания квалифицированной медицинской помощи, с целью рационального распределения ресурсов здравоохранения при маршрутизации и сортировке большого числа пациентов в условиях пандемии.

Анализ наших данных показал, что, тяжелое течение новой коронавирусной инфекции достоверно ассоциирован с возрастным критерием, в группе пациентов старше 70 лет заболевание протекало значительно тяжелее.

Возраст пациентов с тяжелым течением COVID-19 достоверно превышал возраст заболевших со среднетяжелым течением болезни (критерий Манна-Уитни = 0,001,  $p \leq 0,05$ ) и составил в среднем 70 (62-80) лет.

Анализ клинической картины и доминирования клинических симптомов, проведенный в двух группах пациентов с COVID-19 (среднетяжелого и тяжелого течения болезни) показал, что все пациенты имели типичный симптомокомплекс. В двух группах наблюдения доминировали симптомы интоксикационного синдрома, в 100 % случаев у стационарных пациентов отмечалась слабость, чувство разбитости, повышение температуры тела до фебрильных значений. При этом, катарально-респираторный синдром был не ярко выражен, симптомы поражения органов дыхания в виде кашля отмечали в обеих группах наблюдения в 93,8%-90,9 % случаях, нарушения со стороны сердечно-сосудистой системы чаще проявлялось развитием глухости тонов сердца, нарушениями сердечного ритма, тахикардией выявляемых при аускультативной оценке, среди неврологических проявлений доминировали головокружение до 20 % случаев в группах наблюдения. Кроме того, у пациентов обеих группы присутствовали симптомы поражения желудочно - кишечного тракта (ЖКТ). Необходимо отметить наблюдение, что симптомы поражения со стороны органов ЖКТ наблюдались в группе пациентов с легким течением заболевания и составили 18,3 %, и практически в два раза меньше отмечались у

пациентов с тяжелым течением (9,7 %). Спектр и частота встречаемости клинических симптомов в группах пациентов с различной степенью тяжести заболевания отражены в таблице 7.

Таблица 7 – Спектр и частота встречаемости клинических симптомов в сравниваемых группах пациентов

Клинические симптомы	Среднетяжелое течение n = 349		Тяжелое течение n = 234		p-value
	n	%	n	%	
Озноб	104	29,8 %	73	31,0 %	0,867 (критерий хи-квадрат)
Температура тела (С <sup>0</sup> )	37,82±0,07	-	38,82±0,11	-	-
Слабость	349	100 %	233	98,3 %	0,114 (точный тест Фишера)
Головная боль	99	28,4 %	50	21,1 %	0,059 (критерий хи-квадрат)
Миалгия/арталгия	104	29,8 %	91	38,4 %	0,038 (критерий хи-квадрат)
Сыпь	6	1,7 %	2	0,8 %	0,593 (точный тест Фишера)
<b>Сердечно-сосудистая система</b>					
ЧСС >80	253	72,5 %	188	79,3 %	0,162 (критерий хи-квадрат)
Тоны сердца приглушены	221	63,3 %	196	82,7 %	<0,001 (критерий хи-квадрат)
Тоны сердца звучные	128	36,7 %	41	17,3 %	

Продолжение таблицы 7

<b>Респираторные симптомы</b>					
ЧДД более 22	136	39,0 %	156	65,8 %	<0,001 (критерий хи-квадрат)
Сатурация ≤90	34	9,7 %	115	48,5 %	<0,001 (критерий хи-квадрат)
Имели кашель	327	93,7 %	215	90,7 %	0,296 (критерий хи-квадрат)
Не имели кашель	22	6,3 %	22	9,3 %	0,431 (критерий хи-квадрат)

Влажный кашель	58	16,6 %	45	19,0 %	
Сухой кашель	269	77,1 %	170	71,7 %	
Боль в горле	49	14,0 %	38	16,0 %	0,574 (критерий хи-квадрат)
Хрипы в легких					
Нет	154	44,1 %	75	31,6 %	0,017 (критерий хи-квадрат)
Влажные	128	36,7 %	122	51,5 %	
Сухие	66	18,9 %	40	16,9 %	
Изменения в ротоглотке	135	38,7 %	97	40,9 %	0,681 (критерий хи-квадрат)
Одышка	289	82,8 %	228	96,2 %	<0,001 (критерий хи-квадрат)
Заложенность носа	69	19,8 %	36	15,2 %	0,264 (критерий хи-квадрат)
Неврологические симптомы					
Головокружение	61	17,5 %	59	24,9 %	0,081 (критерий хи-квадрат)
Нарушение обоняния (аносмия)	94	26,9 %	49	20,7 %	0,166 (критерий хи-квадрат)
Нарушение чувства вкуса (дисгевзия)	67	19,2 %	41	17,3 %	0,693 (критерий хи-квадрат)
Диспепсические симптомы					
Боли в животе	8	2,3 %	14	5,9 %	0,082 (точный тест Фишера)
Гепатомегалия	16	4,6 %	20	8,4 %	0,147 (критерий хи-квадрат)
Спленомегалия	6	1,7 %	5	2,1 %	0,693 (точный тест Фишера)
Диарея	64	18,3 %	23	9,7 %	0,042 (критерий хи-квадрат)
Тошнота, рвота	49	14,0 %	29	12,2 %	0,719 (критерий хи-квадрат)

Примечание: \* – различия достоверны ( $p \leq 0,05$ ).

Варианты сочетанной патологии в группах стационарных пациентов с различным клиническим течением принципиально отличалась. Нами был проведен анализ частоты встречаемости коморбидной патологии и их сочетаний в группах с различной степенью тяжести заболевания, результаты данного анализа представлены в таблице 8.

Таблица 8 – Варианты и частота встречаемости сочетанной патологии у пациентов сравниваемых групп с COVID-19

Нозологическая форма	Группа со средне тяжелым течением n (%)	Группа с тяжелым течением n (%)	Достоверность, р
Артериальная гипертензия	Известно 111 78 (70,3 %)	Известно 84 72 (85,7 %)	0,016* (критерий хи-квадрат)
Сердечно-сосудистые заболевания (ССЗ)	Известно 111 40 (36,0 %)	Известно 84 42 (50,0 %)	0,058 (критерий хи-квадрат)
Сахарный диабет	Известно 111 27 (24,3 %)	Известно 84 27 (32,1 %)	0,259 (критерий хи-квадрат)
ХНЗЛ	Известно 111 10 (9,0 %)	Известно 84 12 (14,3 %)	0,262 (критерий ха-квадрат)
ЖКТ	Известно 111 26 (23,4 %)	Известно 84 21 (25,0 %)	0,866 (критерий хи-квадрат)
Заболевания почек	Известно 111 7 (6,3 %)	Известно 84 13 (15,5 %)	0,055 (критерий хи-квадрат)
Бронхиальная астма	Известно 111 3 (2,7 %)	Известно 84 8 (9,5 %)	0,058 (точный тест Фишера)
Новообразования	Известно 111 13 (11,7 %)	Известно 84 5 (6,0 %)	0,215 (критерий хи-квадрат)
Ожирение 2 степени	Известно 102 56 (54,9 %)	Известно 82 59 (72,0 %)	0,022* (критерий хи-квадрат)
Другие нозологические формы	Известно 111 51 (45,9 %)	Известно 84 41 (48,8 %)	0,772 (критерий хи-квадрат)

Примечание: \* – различия достоверны ( $p \leq 0,05$ ).

Спектр коморбидной патология включал следующие заболевания:

1. ССЗ: ИБС, постоянная форма фибрилляций предсердий, ПИКС, ишемическая кардиомиопатия, атеросклероз, стенокардия АСКС, АВ блокада, ХСН, ХГИМ, открытое овальное окно, пролапс митрального клапана.
2. Хронические заболевания легких (ХНЗЛ): ХОБЛ, хронический бронхит, туберкулез, гидроторакс.

3. Хронические заболевания ЖКТ: ГЭРБ, хронический гастродуоденит, ЖКБ, хронический панкреатит, язвенная болезнь ДПК, полипоз толстой кишки, хронический калькулезный холецистит, хронический гастрит.
4. Хронические заболевания почек: ХБП, хронический пиелонефрит, киста почки, хронический цистит, нефропатия смешанного генеза (гипертонического, диабетического), мочекаменная болезнь.
5. Новообразования (активная форма): неопластома 12-перстной кишки, РМЖ, злокачественное новообразование уха и наружного слухового прохода, новообразование легкого, аденома предстательной железы, рак кожи, рак матки, злокачественное новообразование головного мозга, рак щитовидной железы, полипы сигмовидной и прямой кишки.
6. Другие нозологии: инфекционная и неинфекционная патология.

Проведенный статистический анализ показал, что наиболее часто встречающейся патологией, ассоциированной с тяжестью течения COVID-19, была артериальная гипертензия (АГ). Результаты нашего наблюдения, касающиеся данной ассоциации, согласуются с данными, полученными другими исследователями, подтверждающими повышенный риск тяжелого и осложненного течения данного инфекционного заболевания у пациентов с гипертензией и ССЗ [132]. Результаты проведенного анализа показали, что достоверно чаще (критерий хи-квадрат=0,016,  $p \leq 0,05$ ) артериальная гипертензия 85,7% встречалась в группе пациентов с тяжелым течением, по сравнению с группой пациентов, имеющих среднетяжелое течение, составив 70,3% случаев.

Второй по значимости нозологической формой, которая утяжеляла заболевания стали метаболические нарушения в виде развития ожирения II степени и увеличение индекса массы тела максимально (ИМТ  $\geq 35$  и  $< 40$ ). По результатам анализа частота выявления ожирения у пациентов с тяжелым течением COVID-19 составила 72,0 %; в то время как, этот показатель в группе среднетяжелого течения достоверно отличался (критерий хи-квадрат= 0,022,  $p \leq 0,05$ ) и составил 54,9 %.

Нами был проведен сравнительный статистический корреляционный анализ коморбидных патологий в группах сравнения, что нашло отражение в таблице 9.

Таблица 9 – Количество сочетанных заболеваний при экстраполировании на каждого пациента в сравниваемых группах

Количество коморбидных состояний	Группа средне-тяжелого течения	Группа тяжелого течения	Достоверность, р
1 заболевание	26 (23,4%)	8 (9,5%)	0,011* (критерий хи-квадрат с поправкой на множественность Бенджамини Хохберга)
2 заболевания	16 (14,4%)	14 (16,7%)	0,666 (критерий хи-квадрат с поправкой на множественность Бенджамини Хохберга)
3 заболевания	25 (22,5%)	22 (26,2%)	0,553 (критерий хи-квадрат с поправкой на множественность Бенджамини Хохберга)
4 и более заболеваний	37 (33,3%)	40 (47,6%)	0,043* (критерий хи-квадрат с поправкой на множественность Бенджамини Хохберга)

Примечание: \* – различия достоверны ( $p \leq 0,05$ ).

Достоверные различия показателя (критерий хи-квадрат= 0,011,  $p \leq 0,05$ ) взаимосвязи числа имеющихся у пациента коморбидных состояний отмечены в группе больных с тяжелым и среднетяжелым течением. Достоверно чаще тяжелое течение новой коронавирусной инфекции развивалось у пациентов, имеющих четыре и более сопутствующих заболеваний и в нашем наблюдении было зарегистрировано в 47,6 % случаев. Самыми частыми сочетанными патологиями оказались АГ, ССЗ и ожирение. При этом, частота ССЗ в группах с большим количеством сочетанных патологий растет (таблица 10, 11, 12, 13).

Таблица 10 – Структура коморбидной патологии при наличии у пациента одного заболевания

Нозологии	Среднетяжелое течение	Тяжелое течение
Артериальная гипертензия	7 (26,9 %)	4 (50 %)
Заболевания ЖКТ	3 (11,5 %)	1 (12,5 %)
Новообразования	1 (3,8 %)	0
Ожирения	12 (46,2 %)	2 (25,0 %)
Другое	3 (11,5 %)	1 (12,5 %)

Таблица 11 – Структура коморбидной патологии при наличии у пациента двух заболеваний

Нозологии	Среднетяжелое течение	Тяжелое течение
Артериальная гипертензия	13 (81,3 %)	9 (64,3 %)
Сердечно-сосудистые заболевания	3 (18,8 %)	3 (21,4 %)
Сахарный диабет	1 (6,3 %)	2 (14,3 %)
Заболевания легких	1 (6,3 %)	1 (7,1 %)
Заболевания ЖКТ	2 (12,5 %)	2 (14,3 %)
Заболевания почек	0	1 (7,1 %)
Ожирения	5 (31,3 %)	7 (50 %)
Другое	7 (43,8 %)	3 (21,4 %)

Таблица 12 – Структура коморбидной патологии при наличии у пациента трех заболеваний

Нозологии	Среднетяжелое течение	Тяжелое течение
Артериальная гипертензия	21 (84 %)	19 (86,3 %)
Сердечно-сосудистые заболевания	9 (36 %)	8 (36,4 %)
Сахарный диабет	9 (36 %)	7 (31,8 %)
Заболевания легких	1 (4 %)	3 (13,6 %)
Заболевания ЖКТ	8 (32 %)	3 (13,6 %)
Бронхиальная астма	1 (4 %)	3 (13,6 %)

Новообразования	1 (4 %)	0
Ожирения	13 (52 %)	16 (72,8 %)
Другое	12 (48 %)	7 (31,8 %)

Таблица 13 – Структура коморбидной патологии при наличии у пациента четырех заболеваний

Нозологии	Среднетяжелое течение	Тяжелое течение
Артериальная гипертензия	37 (100 %)	40 (100 %)
Сердечно-сосудистые заболевания	28 (75,7 %)	31 (77,5 %)
Сахарный диабет	17 (45,9 %)	18 (45 %)
Заболевания легких	8 (21,6 %)	8 (20 %)
Заболевания ЖКТ	13 (35,1 %)	15 (37,5 %)
Заболевания почек	7 (18,9 %)	12 (30 %)
Бронхиальная астма	2 (5,4 %)	5 (12,5 %)
Новообразования	11 (29,7 %)	5 (12,5 %)
Ожирения	26 (70,2 %)	34 (85 %)
Другое	29 (78,4 %)	30 (75 %)

При анализе показателей летальности (таблицы 14, 15) в группах с различной степенью тяжестью было отмечено, что летальность в группе тяжелого течения коррелировала с наличием артериальной гипертензии у 18,1 % умерших пациентов, в 26,2 % случаев с наличием других сердечно-сосудистых заболеваний. Показатель летальности был достоверно выше (точный тест Фишера = 0041,  $p \leq 0,05$ ) в группе пациентов с тяжелым течением COVID-19, при наличии у них трех коморбидных состояний летальный исход имел место в 18,2 % случаев, а при наличии у пациентов четырех и более сопутствующих заболеваний неблагоприятный исход в этой группе был зарегистрирован в 22,5 % случаев.

Таблица 14 – Показатели летальности в ассоциации с коморбидным статусом в сравниваемых группах



Наличие коморбидного состояния	Летальность в группах		Достоверность, р
	среднетяжелое течение n (%)	тяжелое течение n (%)	
Артериальная гипертензия	3/78 (3,8 %)	13/72 (18,1 %)	0,007* (критерий хи-квадрат)
Сердечно-сосудистые заболевания	2/40 (5,0 %)	11/42 (26,2 %)	0,004* (критерий хи-квадрат)
Сахарный диабет	0/27 (0 %)	5/27 (18,5%)	0,051 (точный тест Фишера)
Заболевания легких	0/10 (0 %)	4/12 (33,3%)	0,096 (точный тест Фишера)
Заболевания ЖКТ	1/26 (3,8 %)	4/21 (19,0%)	0,158 (точный тест Фишера)
Заболевания почек	2/7 (28,6 %)	5/13 (38,5%)	1,000 (точный тест Фишера)
Бронхиальная астма	0/3 (0 %)	1/8 (12,5%)	1,000 (точный тест Фишера)
Новообразования	1/13 (7,7 %)	0/5 (0%)	1,000 (точный тест Фишера)
Ожирение	3/56 (5,4 %)	9/59 (15,3%)	0,126 (критерий хи-квадрат)
Другое	3/51 (5,9 %)	7/41 (17,1%)	0,104 (точный тест Фишера)

Примечание: \* – различия достоверны ( $p \leq 0,05$ ).

Таблица 15 – Частота летальных исходов, ассоциированных с разными количественными показателями коморбидных патологий

Количество нозологий	Среднетяжелое течение	Тяжелое течение	Достоверность
1 заболевание	0/26 (0 %)	0/8 (0 %)	--
2 заболевания	0/16 (0 %)	0/14 (0 %)	--
3 заболевания	0/25 (0 %)	4/22 (18,2 %)	0,041* (точный тест Фишера)
4 и более заболевания	3/37 (8,1 %)	9/40 (22,5 %)	0,117 (критерий хи-квадрат)

Примечание: \* – различия достоверны ( $p \leq 0,05$ ).

В комплекс динамического обследования были включены рутинные и специальные лабораторно-инструментальные методы диагностики. Своевременное применение визуализационных методов у пациентов с COVID-19-ассоциированной пневмонией позволило диагностировать типичные изменения в легких, оценить, объем и степень поражения, что во многом влияло на тактику ведения пациентов исход заболевания. Согласно Временным методическим рекомендациям Российского общества рентгенологов и радиологов и Российской ассоциации специалистов по ультразвуковой диагностике в медицине, для быстрой оценки изменений в легких, выявленных при КТ, рекомендована так называемая «эмпирическая» визуальная шкала (S. Inui et al. Radiology: Cardiothoracic Imaging. 8 April 2020). Она основана на оценке примерного объема уплотненной легочной ткани, имеет 5 градаций, начинается с 0, далее деление с интервалом 25 %. Процент вовлечения паренхимы определяется отдельно по каждому легкому, а степень тяжести – по оценке паренхимы легкого с наибольшим поражением (таблица 16).

Анализ ряда воспалительных лабораторных маркеров острой фазы, таких как, СРБ, ИЛ-6 и ферритина осуществлялся в динамике заболевания с целью оценки степени активности инфекционного процесса у пациентов с COVID-19 в сравниваемых группах. Наряду с мониторингом указанных показателей, проводился динамический контроль лабораторных показателей гемограммы, биохимической панели, коагулограммы у пациентов обеих групп, что отражено в таблице 17.

Таблица 16 – Оценка тяжести заболевания по данным КТ

Степень тяжести	Основные проявления вирусной инфекции
КТ-0	Норма и отсутствие КТ-признаков вирусной пневмонии на фоне типичной клинической картины и релевантного эпидемиологического анамнеза



Лейкоциты, $\times 10^9/\text{л}$	32 (12,5%)	190 (74,5%)	33 (12,9%)	10 (7,8%)	81 (62,8%)	38 (29,5%)	<0,001* (критерий хи-квадрат)
Эритроциты, $\times 10^{12}/\text{л}$	10 (3,9%)	185 (72,5%)	60 (23,5%)	5 (3,9%)	99 (76,7%)	25 (19,4%)	0,662 (критерий хи-квадрат)
Гемоглобин, г/л	33 (13,0%)	193 (76,0%)	28 (11,0%)	12 (9,3%)	107 (82,9%)	10 (7,8%)	0,301 (критерий хи-квадрат)
Гематокрит, %	26 (10,2%)	200 (78,4%)	29 (11,4%)	9 (7,0%)	108 (83,7%)	12 (9,3%)	0,444 (критерий хи-квадрат)
Тромбоциты, $\times 10^9/\text{л}$	168 (65,9%)	86 (33,7%)	1 (0,4%)	75 (58,1%)	45 (34,9%)	9 (7,0%)	<0,001* (точный тест Фишера)
Лимфоциты, %	107 (42,5%)	135 (53,6%)	10 (4,0%)	83 (65,4%)	42 (33,1%)	2 (1,6%)	<0,001* (точный тест Фишера)
Моноциты, %	10 (4,0%)	186 (73,5%)	57 (22,5%)	10 (7,8%)	105 (82,0%)	12 (10,2%)	0,005* (критерий хи-квадрат)
Эозинофилы, %	124 (49,0%)	129 (51,0%)	-	66 (51,6%)	62 (48,4%)	-	0,665 (критерий хи-квадрат)
Базофилы, %	251 (99,2%)	2 (0,8%)	-	125 (97,7%)	3 (2,3%)	-	0,340 (точный тест Фишера)
Продолжение таблицы 17							
АСТ, Ед/л	-	262 (67,5%)	126 (32,5%)	-	120 (54,5%)	100 (45,5%)	0,002* (критерий хи-квадрат)
АЛТ, Ед/л	-	291 (75,4%)	95 (24,6%)	-	172 (78,2%)	48 (21,8%)	0,486 (критерий хи-квадрат)

Билирубин общий, мкмоль/л	7 (2,8%)	234 (94,4%)	7 (2,8%)	3 (2,4%)	119 (95,2%)	3 (2,4)	1,000 (критерий хи-квадрат)
Билирубин прямой, мкмоль/л	-	182 (83,5%)	36 (16,5%)	-	89 (78,8%)	24 (21,2%)	0,296 (критерий хи-квадрат)
Креатининкиназа, мкмоль/л)	-	74 (57,8%)	54 (42,2%)	-	39 (57,4%)	29 (42,6%)	1,000 (критерий хи-квадрат)
Глюкоза, ммоль/л	2 (0,9%)	52 (22,2%)	180 (76,9%)	1 (0,8%)	20 (16,7%)	99 (82,5%)	0,426 (точный тест Фишера)
Креатинин, мкмоль/л	36 (14,3%)	155 (61,8%)	60 (23,9%)	13 (10,2%)	75 (59,1%)	39 (30,7%)	0,263 (критерий хи-квадрат)
Мочевина, ммоль/л	3 (1,2%)	152 (60,6%)	96 (38,2%)	1 (0,8%)	53 (41,7%)	73 (57,5%)	0,001* (точный тест Фишера)
Общий белок, г/л	65 (26,2%)	183 (73,8%)	0 (0%)	112 (29,9%)	261 (69,8%)	1 (0,3%)	0,018* (точный тест Фишера)
ЛДГ, ЕД/л	-	64 (42,4%)	87 (57,6%)	-	14 (16,1%)	73 (83,9%)	<0,001* (критерий хи-квадрат)
СРБ, мг/л	-	18 (7,3%)	230 (92,7%)	-	4 (3,1%)	123 (96,9%)	0,162 (критерий хи-квадрат)
Продолжение таблицы 17							
Д-димер, мг/л	-	65 (45,8%)	77 (54,2%)	-	15 (21,1%)	56 (78,9%)	<0,001* (критерий хи-квадрат)
ИЛ-6 пг/мл	-	51 (32,5%)	106 (67,5%)	-	13 (15,1%)	73 (84,9%)	0,004* (критерий хи-квадрат)

Примечание: \* – различия достоверны ( $p \leq 0,05$ ).

Результаты проведенного корреляционного анализа избирательных острофазовых показателей и уровня вирусной нагрузки SARS CoV-2 в острый период болезни представлены в таблицах 18, 19.

Таблица 18 – Корреляционный анализ избирательных лабораторных показателей и уровней вирусной нагрузки (ВН) SARS-CoV-2 в острый период болезни.

Лабораторные показатели	Высокая ВН (уровень ВН по Ct от 16 до 25)	Низкая ВН (уровень ВН по Ct с 25 и выше)	Достоверность, р
СРБ >10 мг/л	13 (81,3%)	146 (86,9%)	0,460 (точный тест Фишера)
СОЭ > 30 мм.рт.ст.	4 (80,0%)	31 (49,2%)	0,357 (точный тест Фишера)
Д-димер >2000 нг/мл	1 (14,3%)	4 (4,0%)	0,294 (точный тест Фишера)
Тромбоцитопения меньше 150 тыс.	6 (37,5%)	66 (37,5%)	1,000 (точный тест Фишера)
Лейкопения 4000 тыс. и ниже	2 (12,5%)	28 (15,9%)	1,000 (точный тест Фишера)
Лимфопения <19 %	7 (43,8%)	85 (48,9%)	0,797 (точный тест Фишера)

Результаты проведенного сравнительного анализа показали, что достоверных различий между разными уровнями вирусной нагрузки у пациентов с COVID-19 и выбранными лабораторными маркерами не было. Достаточно чувствительным лабораторным показателем сохраняющейся персистенции

SARS-CoV-2, индуцирующий воспаление и активность инфекционного процесса, может служить общеизвестный маркер воспаления СРБ, повышение

Таблица 19 – Корреляционный анализ между показателями уровня вирусной нагрузки и ферритина у пациентов стационарной группы

Острофазовый гематологический показатель	Вирусологический показатель: уровень вирусной нагрузки (ВН)		Достоверность, р
Ферритин мкг/л	Высокий уровень ВН по Ct $\leq 25$ (n = 31)	Низкий уровень ВН по Ct $> 25$ (n = 66)	
M $\pm$ SD (95 % CI)	759 $\pm$ 547 (558 - 959)	354 $\pm$ 264 (289 - 419)	<0,001* (критерий Манна- Уитни)
Me [IQR]	642 [273 – 1177,5]	265 [150 - 496]	
Ферритин > 250 мкг/л	24 (77,4 %)	35 (53,0 %)	

Примечание: \* – различия достоверны ( $p \leq 0,05$ ).

которого 10-кратно и более было зарегистрировано у пациентов, как в группе с низкой вирусной нагрузкой, так и в группе с высокой нагрузкой в 86,9 % и 81,3 % случаев соответственно. Не менее чувствительным маркером воспаления при COVID-19 проявил себя такой рутинный классический показатель, как СОЭ, не всегда используемый для подтверждения вирусной инфекции. В значительном проценте случаев у пациентов, имеющих высокую вирусную нагрузку отмечено повышение показателя СОЭ, которое наблюдалось у 80 % больных. Учитывая, что полученные суждения были сделаны на небольшом количестве наблюдений, сложно сделать окончательные выводы по данной закономерности, которая требует исследования на большей выборке пациентов.

В качестве надежного показателя активности инфекционного процесса зарекомендовал себя ферритин, повышение которого свыше 250 мкг/л было зарегистрировано в группе пациентов с высокой вирусной нагрузкой у 24 пациентов (77,4 %), несколько реже повышение этого показателя наблюдался в группе пациентов с низкой вирусной нагрузкой – в 53,0 % случаев. В таблице

19 даны результаты сравнительного анализа показателя ферритина в группах с высокой и низкой вирусной нагрузкой SARS-CoV-2. Результаты проведенного исследования показали, что медиана показателя ферритина в группе с высокой вирусной нагрузкой достоверно превышала аналогичные показатели ферритина в группе с низкой вирусной нагрузкой и составила – 642 [273 – 1177,5].

Полученные данные дают основание постулировать, что для косвенного подтверждения сохраняющейся виремии (SARS-CoV-2) и активности инфекционного процесса целесообразно оценочно использовать следующие острофазовые маркеры: СРБ при его десятикратном повышении и более, показателя СОЭ при его повышении с 30 мм.рт.ст и более, ферритин свыше 250 мкг/л и более; динамический контроль этих показателей также может быть использован для оценки эффективности противовирусной терапии.

Контроль и наблюдение этих показателей, а также их правильная интерпретация на индивидуальном уровне, в свою очередь позволят своевременно начать и адекватно проводить противовирусную терапию, с целью предотвращения прогрессирования заболевания, развитие острого респираторного дистресс-синдрома, определяющих неблагоприятный прогноз заболевания.

Приводим клинические примеры среднетяжелого и тяжелого течения заболевания.

### ***Описание клинического случая среднетяжелого течения новой коронавирусной инфекции (COVID-19)***

*Под нашим наблюдением находилась пациентка N, 44 лет, которая поступила в ГБУЗ «ИКБ №1 ДЗМ» на 3 день болезни по экстренным показаниям с жалобами на дискомфорт в грудной клетке, одышку при минимальной физической нагрузке, частый сухой кашель, отсутствие обоняния, ломоту в теле, жидкий стул зеленого цвета и повышение температуры до 39°C за два дня до госпитализации.*



*Эпидемиологический анамнез: в течение последних 14 дней пациентка контактировала с больными имеющими COVID-19. За день до госпитализации самой пациентки была госпитализирована ее мать с диагнозом COVID-19.*

*Сопутствующие заболевания: Сахарный диабет (СД) 2 типа. Миома матки. Фиброзно-кистозная мастопатия. Ожирение 2 степени.*

*Анамнез заболевания: заболела остро, 05.02.2021г года появились редкий сухой кашель и субфебрильная температура. Лечилась самостоятельно; 06.02.21г кашель усилился, нарастали явления интоксикации, температура тела достигла фебрильных значений. Пациентка продолжала самостоятельно принимать антибактериальные и противовирусные лекарственные средства. 07.02.2021 состояние пациентки ухудшилось, пропало обоняние, одышка усилилась, температура тела 38,5°C. В связи с нарастающей дыхательной недостаточностью она была госпитализирована в 1 ИКБ ДЗМ.*

*При поступлении состояние больной было расценено как среднетяжёлое за счёт наличия синдрома дыхательной недостаточности. Объективные данные: сознание ясное, ориентирована во времени и пространстве; при этом отмечаются ажитация и беспокойство. Дыхание самостоятельное. Сатурация кислорода на атмосферном воздухе 94%, ЧДД 25 в мин. Гиперемия задней стенки глотки. Аускультативно: жесткое везикулярное дыхание по всей легочной поверхности с обеих сторон, наличие влажных мелкопузырчатых хрипов в нижних отделах обеих легких. ССС: АД 115/60 мм.рт.ст., пульс 81 удар в минуту, дефицита пульса не выявлено. Стул кашицеобразный, частый (до 4 раз в день), зелёного цвета. Менингеальные знаки и очаговые симптомы отсутствуют. Другие данные объективного обследования без патологических особенностей.*

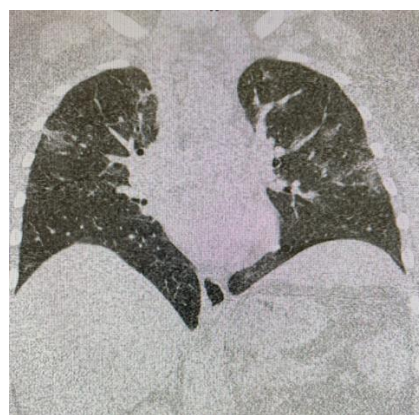
*Результаты обследования.*

*На момент поступления результат КТ ОГК: двусторонняя интерстициальная пневмония с высокой степенью вероятности, ассоциированная с*

*COVID-19. В паренхиме и периферических отделах легких визуализируются немногочисленные очаги и фокусы уплотнения по типу матового стекла. КТ-1 (рисунок 6). В динамике на 9 день болезни наблюдалось ухудшение состояния. Повторная рентгенография 13.02.21 ОГК выявила отрицательную динамику, появление новых очагов уплотнения легочной паренхимы по типу матового стекла во всех легочных полях и увеличение в размерах ранее выявленных очагов уплотнения. Выраженность интерстициального компонента в очагах уплотнения высокая (рисунок 7).*



*Рисунок 6 – МСКТ от 7.02.2021*



*Рисунок 7 – МСКТ от 13.02.21*

*Исследование мазка из ротоглотки на наличие SARS-CoV-2 методом ОТ-ПЦР показало положительный результат. В динамике в разгар заболевания анализ крови характеризовался уменьшением количества лейкоцитов с тенденцией к лейкопении (с  $5,7$  до  $3,5 \times 10^9/\text{л}$ ). В биохимическом анализе крови определялось невыраженное повышение сывороточных ферментов: АЛТ ( $49-64$  ЕД/л), АСТ ( $45-60$  ЕД/л); ЛДГ ( $243-743$  ЕД/л), ГГТП ( $47-55$  ЕД/л). Наблюдалось повышение уровня С-реактивного белка в сыворотке крови ( $16-35$  мг/л). Обращало на себя внимание повышение парциального давления углекислого газа в крови ( $56-65,2$  мм.рт.ст). Также выявлен повышенный уровень интерлейкина-6 в сыворотке крови ( $16$  пг/мл), что явилось причиной назначения Тоцилизумаба, после чего наблюдалось его значительное снижение наряду с*

положительной динамикой общего состояния больной. В период разрешения болезни и к моменту выписки из стационара большинство лабораторных показателей пришли в норму (таблица 20).

Таблица 20 – Основные гематологические показатели

Показатель	07.02.2021	13.02.2021	21.02.2021	Референсные значения
Количество лейкоцитов	5,7x10 <sup>9</sup> /л	3,5x10 <sup>9</sup> /л	6,7x10 <sup>9</sup> /л	4,0–9,0 x 10 <sup>9</sup> /л
СРБ	16 мг/л	35 мг/л	1 мг/л	0–5 мг/л
pCO <sub>2</sub>	54 мм.рт.ст	65,2 мм.рт.ст	58 мм.рт.ст.	42,0-55,0 мм.рт.ст.
АСТ	45 ЕД/л	60 ЕД/л	10 ЕД/л	0–35 ЕД/л
АЛТ	49 ЕД/л	64 ЕД/л	15 ЕД/л	0–35 ЕД/л

Дополнительно для этиологического подтверждения диагноза был выполнен ИФА тест с определением антител IgM и IgG к Coronavirus (SARS-COV-2); от 20.02.2021: IgM 26,76 (границы нормы [ГН] менее 2), IgG 26,67 (ГН менее 10).

Проводимое лечение. Противовирусная терапия: на 3-й день болезни (1-й день пребывания в стационаре) — фавипиравир 1800 мг 2 раза в сутки 1 день; фавипиравир 800 мг 2 раза в сутки 9 дней. Антибактериальная терапия: с 3-го по 4-й день болезни цефтриаксон 1.0г в/м 2 раза в сутки. С 3-го по 13-й дни болезни метронидазол 250 мг внутрь 3 раза в сутки с целью терапии антибиотико- ассоциированного колита. С 3-го по 8-ой день болезни бифидобактерии (бифидум) 500.0 млн КОЕ внутрь 3 раза в сутки. С 9-го по 19-й дни болезни левофлоксацин 500 мг внутрь 2 раза в сутки. На 7-й день болезни (5-й день госпитализации) был применен ингибитор ИЛ-6 - Тоцилизумаб однократно в/в капельно в дозе 400 мг. Пациентке проводилась антикоагулянтная, кортикостероидная терапия весь период пребывания в стационаре. Оксигенотерапия: увлажненный кислород 7л/мин с 9-го по 14-й день болезни.

*Несмотря на проводимую терапию состояние больной в первые дни болезни ухудшалось. Однако при добавлении к лечению антибиотиков и после применения ингибитора ИЛ-6 появились признаки положительной динамики заболевания. Спустя 17 дней от момента поступления в стационар, пациентка была выписана в удовлетворительном состоянии для дальнейшего наблюдения у врача инфекциониста по месту проживания.*

*Заключительный диагноз.*

*Основной диагноз: U07.1 Коронавирусная инфекция, COVID-19 вирус идентифицирован, среднетяжелое течение. Внебольничная двусторонняя интерстициальная пневмония (J12.8).*

*Сопутствующие заболевания: Гастроэнтерит и колит неуточненного происхождения (A09.9). Инсулиннезависимый сахарный диабет с неуточненными осложнениями (E11.8)*

*Приведенный клинический случай является примером среднетяжелого течения COVID-19, при котором проведение своевременной и полноценной терапии, в том числе и оксигенотерапии, показало положительные результаты. Приведенный клинический пример демонстрирует важность своевременной и адекватной терапии пациентов с сопутствующей патологией с целью предупреждения развития различных осложнений. В дополнение к этому клиницисты должны контролировать активность и адекватность реабилитационных мероприятий у такой категории пациентов. Нами проводилась дополнительные исследования у данной пациентки: детекция РНК вируса SARS-CoV-2 по дням заболевания, определение порогового числа циклов при проведении ПЦР-теста (Ct), определение вирусной нагрузки SARS-CoV-2 в геномных эквивалентах на 1 мл образца (ГЭ/мл). Согласно данным современных исследований и литературы известно, что высокая вирусная нагрузка нередко соотносится с тяжестью течения COVID-19, с показателем летальности и способствует более быстрому распространению заболевания, по сравнению с другими респираторными инфекциями [2, 3, 4]. Другие авторы указывают*

на отсутствие связи между вирусной нагрузкой SARS-CoV-2 и прогнозированием неблагоприятного клинического исхода заболевания [5,6].

Данная история болезни представлена, как демонстрация среднетяжелого течения заболевания, несмотря на полученные результаты высокого уровня вирусной нагрузки в динамике инфекционного процесса (Ct при поступлении на 3-й день болезни равнялось 19, в динамике через 5 дней сохранялось на высоких цифрах и составило (Ct 20). Полученные результаты могут быть использованы для обоснования и регламентирования эпидемиологических мер в отношении каждого случая что требует дополнительных исследований по оценке выявления жизнеспособности вируса SARS-CoV-2 у пациентов, как показателя вирусной активности (или патогенных свойств возбудителя).

#### **Описание клинического случая тяжелого течения новой коронавирусной инфекции (COVID-19)**

Под нашим наблюдением находился пациент N, 78 лет, который поступил в ГБУЗ «ИКБ №1 ДЗМ» из ГКБ им. Бахрушина, где провел 10 койко-дней, на 16 день болезни по экстренным показаниям с жалобами на повышение температуры до 40°C, одышку в состоянии покоя, сильную общую слабость, сухой кашель.

Эпидемиологический анамнез: в течение последних 10 дней находился в ГКБ им. Бахрушина, куда поступил по СМП. До этого контакт с больными COVID-19 отрицает.

Хронические заболевания: Артериальная гипертензия. ИБС: атеросклеротический кардиосклероз. Аденома предстательной железы.

Анамнез заболевания: заболел остро, 14.02.2021 г. появился редкий сухой кашель, повысилась температура тела до 38°C. Лечился самостоятельно, 20.02.2021г. кашель усилился, нарастали явления интоксикации, лихорадка фебрильная сохранялась, появилось затруднение дыхания в покое. Был госпитализирован в ГКБ им. Бахрушина диагнозом: «Пневмония неуточненная (вероятно, бактериальной этиологии). Правосторонняя полисегментарная

пневмония. Дыхательная недостаточность 1 степени». В связи с ухудшением состояния 02.03.2021г. госпитализирован в ГБУЗ «ИКБ №1 ДЗМ».

При поступлении состояние было расценено как среднетяжёлое за счёт наличия синдрома дыхательной недостаточности. Объективные данные: сознание ясное, ориентирован во времени и пространстве; при этом отмечаются ажитация и беспокойство. Кожные покровы бледные. Дыхание самостоятельное. Сатурация кислорода на атмосферном воздухе 92 %, ЧДД 26 в мин. Гиперемия задней стенки глотки. Аускультативно: жесткое везикулярное дыхание по всей легочной поверхности с обеих сторон, перкуторный звук притуплен. ССС: АД 92/57 мм.рт.ст., пульс 86 удара в минуту, дефицита пульса не выявлено. Менингеальные и очаговые знаки отсутствуют. Другие данные объективного обследования без патологических особенностей.

*Результаты обследования.*

На момент поступления (02.03.2021г.) результат КТ ОГК: двусторонняя интерстициальная пневмония с высокой степенью вероятности, ассоциированная с COVID-19; данные, свидетельствующие о разрешающейся бактериальной пневмонии. По сравнению с 20.02.2021г. плотный инфильтрат в нижней доле правого легкого регрессировал с формированием на его месте фиброзных тяжей, однако в обоих легких наблюдается новые «матовые» участки инфильтрации. В динамике, на 17 день пребывания в ГКБ 1, наблюдалось улучшение состояния. Повторная КТ 19.03.21 ОГК показала признаки положительной динамики заболевания: уменьшение площади уплотнения участков интерстициальной инфильтрации легких, с их частичной ретикулярной трансформацией. Неравномерные скопления жидкости в плевральных полостях, толщиной до 11 мм слева и 12 мм справа (рисунок 8,9).

Исследование мазка из ротоглотки на наличие вируса SARS-CoV-2 методом ОТ-ПЦР показало положительный результат. Исследование антител IgG к *Mycoplasma pneumoniae* в исследовании методом ИФА – положительный результат, что и послужило, вероятно, причиной первой госпитализации

пациента в ГКБ им. Бахрушина. При обследовании также обращали на себя внимание высокий уровень показателей: D-димера (338,81) и прокальцитонина (0,17) в разгаре заболевания.

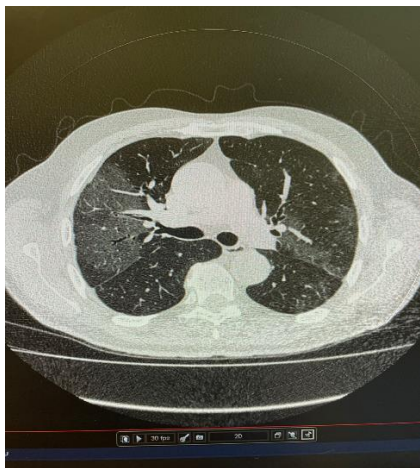


Рисунок 8 – МСКТ от 05.03.2021г.



Рисунок 9 – МСКТ от 19.03.21г.

В динамике в этом же периоде заболевания клинический анализ крови характеризовался увеличением количества лейкоцитов с тенденцией к лейкоцитозу (с  $8,5$  до  $12,3 \times 10^9/\text{л}$ ). В биохимическом анализе крови определялось повышение ферментов АЛТ (120–232 ЕД/л), АСТ (67–89 ЕД/л), повышение уровня глюкозы с последующей тенденцией к гипогликемии (8,6–3,5 ммоль/л). Наблюдалось повышение уровня С-реактивного белка в сыворотке крови (60–103 мг/л). В период разрешения болезни большинство лабораторных показателей пришли в норму (таблица 21).

Таблица 21 – Основные гематологические показатели

Показатель	02.03.2021	09.03.2021	22.03.2021	Референсные значения
Количество лейкоцитов	$5,7 \times 10^9/\text{л}$	$12,3 \times 10^9/\text{л}$	$9,3 \times 10^9/\text{л}$	$4,0-9,0 \times 10^9/\text{л}$
СРБ	60 мг/л	103 мг/л	3 мг/л	0–5 мг/л
Глюкоза	8,6 ммоль/л	3,9 ммоль/л	4,9 ммоль/л	4,1–5,9 ммоль/л
АСТ	67 ЕД/л	89 ЕД/л	25 ЕД/л	0–35 ЕД/л
АЛТ	120 ЕД/л	232 ЕД/л	31 ЕД/л	0–35 ЕД/л

Для этиологического подтверждения диагноза было проведено определение антител IgM и IgG к *Coronavirus (SARS-COV-2)* 09.03.2021: IgM 5,56 (менее 2) IgG 27,20 (менее 10).

Лечение. Антибактериальная терапия: со 2-го по 12-й день пребывания в стационаре (10 дней) пациент получал амоксициллин+клавулановая кислота 1 табл. внутрь 2 раза в сутки. С 09.03.21 Левелимаб 325,0 мг п/к однократно. Пациенту также проводилась антикоагулянтная, кортикостероидная терапия весь период пребывания в стационаре. Оксигенотерапия: больной получал увлажненный кислород 7л/мин с 9-го по 14-й день болезни.

Несмотря на проводимую терапию состояние больного в первые дни болезни ухудшалось, однако при добавлении к лечению антибиотиков и ГКС отмечена положительная динамика заболевания. Спустя 26 койко-дней пациент выписан в удовлетворительном состоянии.

Заключительный диагноз.

Основной диагноз: U07.1 Коронавирусная инфекция, COVID-19 вирус идентифицирован, тяжелое течение. Внебольничная двусторонняя интерстициальная пневмония (J12.8).

Сопутствующие заболевания: Артериальная гипертензия. ИБС: атеросклеротический кардиосклероз. Аденома предстательной железы.

Приведенный клинический случай является примером тяжелого затяжного течения COVID-19, при котором проведение своевременной и полноценной терапии, в том числе и оксигенотерапии, показало положительные результаты. Приведенный клинический пример демонстрирует важность своевременной и адекватной терапии пациентов с сопутствующей патологией с целью предупреждения развития различных осложнений. В данном случае пациент был сначала госпитализирован с внебольничной бактериальной пневмонией, однако после её разрешения заболел COVID-19, что на фоне



*ослабленного иммунитета и наличия коморбидного фона привело к затяжному течению заболевания.*

## **ГЛАВА 4. ОЦЕНКА УРОВНЯ ВИРУСНОЙ НАГРУЗКИ У СТАЦИОНАРНЫХ ПАЦИЕНТОВ С РАЗЛИЧНОЙ СТЕПЕНЬЮ ТЯЖЕСТИ COVID-19**

В настоящее время нет однозначного мнения о значении вирусной нагрузки в качестве клинического и эпидемиологического маркером [1]. Одни исследователи считают, что высокая вирусная нагрузка обуславливает тяжесть течения COVID-19, увеличивает летальность и способствует более быстрому распространению заболевания, по сравнению с другими респираторными инфекциями [2, 3, 4]. Другие авторы указывают на отсутствие связи между вирусной нагрузкой SARS-CoV-2 и прогнозированием неблагоприятного клинического исхода заболевания [5, 106].

«Золотым стандартом» лабораторной диагностики COVID-19 является обнаружение РНК SARS-CoV-2 методом ОТ-ПЦР из биоматериала, взятого преимущественно из верхних дыхательных путей. Однако качественное обнаружение вирусной РНК не служит объективным признаком контагиозности и фактором передачи возбудителя восприимчивым лицам [98, 126, 133]. В связи с этим необходимы дополнительные исследования не только по количественной оценке вирусной нагрузки, но и по установлению взаимосвязи между выявлением жизнеспособного вируса и уровнем вирусной нагрузкой, в том числе и в динамике у пациентов с различным течением COVID-19.

### **4.1 Обнаружение РНК SARS-CoV-2 в назофарингеальных мазках и оценка уровня вирусной нагрузки в динамике инфекционного процесса COVID-19**

Для оценки уровня вирусной нагрузки в процессе течения заболевания проводили периодическое исследование назофарингеальных мазков у госпитализированных пациентов в зависимости от тяжести течения заболевания. Сравнительная характеристика динамики инфекционного процесса проведена

по следующим показателям: детекция РНК вируса SARS-CoV-2 по дням заболевания, определение порогового числа циклов при проведении ПЦР-теста (Ct), определение уровня вирусной нагрузки SARS-CoV-2 в геномных эквивалентах на 1 мл образца (ГЭ/мл).

Первый назофарингеальный мазок (1 точка исследования) был взят в среднем на 8 [6-10] день болезни. В этот период в когорте обследованных РНК вируса SARS-CoV-2 обнаружена в  $54,72 \pm 2,06$  % (у 319 ПЦР-положительных из 583 обследованных). Не отмечено достоверных различий в выявлении РНК вируса в группах пациентов со среднетяжелым ( $56,4 \pm 2,7$  %) и тяжелым ( $52,1 \pm 3,3$  %) течением болезни (критерий хи-квадрат = 0,310,  $p \geq 0,05$ ) (рисунок 10).

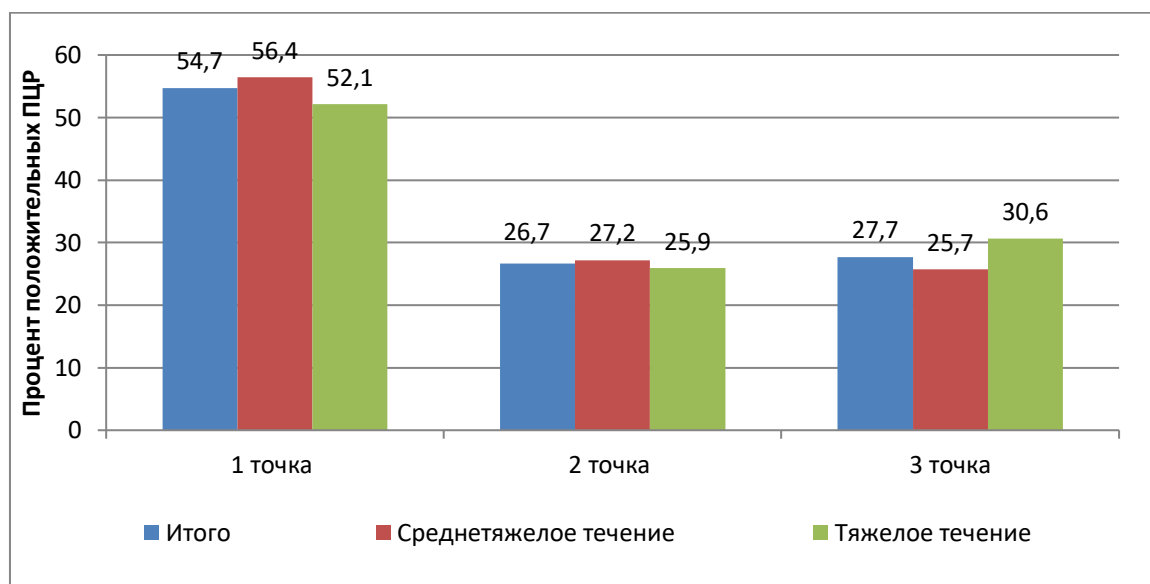


Рисунок 10 – Доля положительных результатов ОТ-ПЦР при исследовании назофарингеальных мазков в группах пациентов со среднетяжелым и тяжелым течением в динамике заболевания (%).

Медианные значения порогового числа циклов при ПЦР (Ct) в группе среднетяжелых больных составили 28,86 [26,54–30,86], у тяжелых больных – 27,99 [25,76–30,36] (критерия Манна–Уитни = 0,091,  $p \geq 0,05$ ). Определение количества копий вирусной РНК в назофарингеальных мазках (вирусная

нагрузка) не показало статистически значимых различий в группах наблюдения:  $1,44 \times 10^5$  ГЭ/мл [ $4,46 \times 10^4 - 1,28 \times 10^6$ ] при среднетяжелом течении и  $2,83 \times 10^5$  ГЭ/мл [ $5,41 \times 10^4 - 1,15 \times 10^6$ ] у больных с тяжелым течением (критерия Манна–Уитни=0,363,  $p \geq 0,05$ ) (таблица 22).

Таблица 22 –Выявления РНК SARS-CoV-2 и уровень вирусной нагрузки в динамике инфекционного процесса в зависимости от тяжести течения заболевания

Показатели	Тяжесть течения заболевания		Критерий достоверности, р
	среднетяжелая	тяжелая	
<b>Первая точка, n</b>	349	234	
Дни болезни Me [IQR]	8 [6–9]	8 [6–10]	0,639 (Манна–Уитни)
Положительная ПЦР абс. (M±m%)	197 (56,45±2,65%)	122 (52,14±3,27%)	0,310 (критерий $\chi^2$ )
St, Me [IQR]	28,86 [26,54–30,86]	27,99 [25,76–30,36]	0,091 (Манна–Уитни)
Вирусная нагрузка ГЭ/мл, Me [IQR]	$1,44 \times 10^5$ [ $4,46 \times 10^4 - 1,28 \times 10^6$ ]	$2,83 \times 10^5$ [ $5,41 \times 10^4 - 1,15 \times 10^6$ ]	0,363 (Манна–Уитни)
<b>Вторая точка, n</b>	331	216	
Дни болезни Me [IQR]	11 [9–13]	11 [9–13]	0,604 (Манна–Уитни)
Положительная ПЦР абс. (M±m%)	90 (27,19±2,45%)	56 (25,93±2,98%)	0,768 (критерий хи-квадрат)
St, Me [IQR]	28,92 [26,49–30,69]	29,67 [26,72–30,83]	0,346 (Манна–Уитни)
Вирусная нагрузка, ГЭ/мл, Me [IQR]	$1,30 \times 10^5$ [ $3,96 \times 10^4 - 7,86 \times 10^5$ ]	$1,24 \times 10^5$ [ $3,08 \times 10^4 - 6,70 \times 10^5$ ]	0,441 (Манна–Уитни)
<b>Третья точка, n</b>	140	98	
Дни болезни Me [IQR]	13 [11–15]	14 [12–16]	0,041* (Манна–Уитни)
Положительная ПЦР абс. (M±m%)	36 (25,71±3,69%)	30 (30,61±4,66%)	0,463 (критерий хи-квадрат)
St, Me [IQR]	29,58 [27,92–30,48]	29,25 [26,01–30,68]	0,436 (Манна–Уитни)
Вирусная нагрузка, ГЭ/мл, Me [IQR]	$9,61 \times 10^4$ [ $3,29 \times 10^4 - 5,79 \times 10^5$ ]	$2,35 \times 10^5$ [ $2,79 \times 10^4 - 1,27 \times 10^6$ ]	0,378 (Манна–Уитни)

Примечание: Me – медиана, St – значение порогового цикла при постановке ОТ-ПЦР, IQR–межквартильный размах медианы, \* – различия достоверны ( $p \leq 0,05$ ).

Второй назофарингиальный мазок (2 точка исследования) был взят в среднем на 11 [9-13] день болезни (таблица 17). В этот период у групп наблюдения общий показатель обнаружения РНК вируса SARS-CoV-2 снизился в 2,05 раз и составил  $26,69 \pm 1,89\%$  (у 146 ПЦР-положительных из 547 обследованных), но не коррелировался с тяжестью течения заболевания (критерий хи-квадрат=0,768,  $p \geq 0,05$ ) (рисунок 11). Статистически значимых различий у среднетяжелых и тяжелых пациентов в уровне вирусной нагрузки не выявлено: медианное значение Ct составило 28,92 [26,49–30,69] и 29,67 [26,72–30,83] соответственно (критерий Манна-Уитни=0,346); количество копий РНК  $1,30 \times 10^5$  ГЭ/мл [ $3,96 \times 10^4 - 7,86 \times 10^5$ ] при среднетяжелом течении и  $1,24 \times 10^5$  ГЭ/мл [ $3,08 \times 10^4 - 6,70 \times 10^5$ ] – у больных тяжелым течением (критерия Манна-Уитни=0,441,  $p \geq 0,05$ ) (табл.17).

Медиана третьего назофарингиального мазка (3 точка исследования) у пациентов с COVID-19 равна 13 [11-15] дню болезни при среднетяжелом течении и 14 [12-16] дню – при тяжелом течении болезни (таблица 17). В эти сроки у групп наблюдения частота обнаружения РНК вируса SARS-CoV-2 достоверно не увеличилась по сравнению со 2-ой точкой обследования и составила  $27,73 \pm 2,90\%$  (у 66 ПЦР-положительных из 238 обследованных), преимущественно за счет пациентов с тяжелым течением болезни (критерий хи-квадрат=0,463,  $p \geq 0,05$ ) (рисунок 11). По медианным показателям Ct и вирусной нагрузки все группы наблюдения оказались однородными и не имели статистически значимых различий. Так медианное значение Ct составило 29,58 [27,92–30,48] при среднетяжелом течении заболевания и 29,25 [26,01–30,68] – при тяжелом (критерий Манна-Уитни=0,436,  $p \geq 0,05$ ). Среднее значение количества копий РНК соответственно установлено в пределах  $9,61 \times 10^4$  ГЭ/мл [ $3,29 \times 10^4 - 5,79 \times 10^5$ ] и  $2,35 \times 10^5$  ГЭ/мл [ $2,79 \times 10^4 - 1,27 \times 10^6$ ] (критерия Манна-Уитни=0,378,  $p \geq 0,05$ ) (таблица 17).

Как было выше сказано, всего за наблюдаемый период зарегистрировано 39 летальных исходов, показатель летальности составил  $6,66 \pm 1,03\%$  (таблица

23). Установлено, что летальность при тяжелом течении заболевания наблюдалась в 2,7 раза чаще ( $10,68 \pm 2,02\%$ ), чем в группе пациентов со среднетяжелым течением ( $4,01 \pm 1,05\%$ ) (критерий хи-квадрат = 0,002,  $p \leq 0,005$ ). Средний возраст пациентов с летальным исходом составил  $72,49 \pm 1,95$  [68,54 – 76,43] лет. Сроки летального исхода практически не зависели от тяжести заболевания: при тяжелом течении болезни летальный исход наступал на 6 день болезни (минимальный), максимальный – на 10-ый день, средний на 8 день при тяжелом течении. Медиана наступления летального исхода у пациентов со среднетяжелым течением составила 8 [6-9] дней при 95 % ДИ (критерий Манна-Уитни = 0,639,  $p \geq 0,05$ ).

Таблица 23 – Уровень вирусной нагрузки у пациентов с летальным исходом

Показатели	Летальность (n=415)		Критерий достоверности, p
	среднетяжелая n=349	тяжелая n=234	
Число летальных исходов абс. (M±m %)	14 (4,01±1,05%)	25 (10,68±2,02%)	0,002* (точный критерий Фишера)
Дни болезни Me [IQR]	8 [6–9]	8 [6–10]	0,639 (Манна-Уитни)
St, Me [IQR]	28,86 [26,54–30,86]	27,99 [25,76–30,36]	0,091 (Манна-Уитни)
Вирусная нагрузка ГЭ/мл, Me [IQR]	$1,44 \times 10^5$ [ $4,46 \times 10^4$ – $1,28 \times 10^6$ ]	$2,83 \times 10^5$ [ $5,41 \times 10^4$ – $1,15 \times 10^6$ ]	0,363 (Манна-Уитни)

Примечание: Me – медиана, St - значение порогового цикла при постановке ОТ-ПЦР; IQR – межквартильный размах медианы, \* – различия достоверны ( $p \leq 0,05$ ).

Не выявлено статистически достоверных характеристик в уровне вирусной нагрузки у пациентов с летальным исходом при COVID-19. Так средняя

вирусная нагрузка при среднетяжелом и тяжелом течении по значению  $C_t$  составило соответственно 28,86 [26,54–30,86] и 27,99 [25,76–30,36] (критерий Манна-Уитни=0,091,  $p \geq 0,05$ ), медианное значение количества копий РНК  $1,44 \times 10^5$  ГЭ/мл [ $4,46 \times 10^4 - 1,28 \times 10^6$ ] и  $2,83 \times 10^5$  ГЭ/мл [ $5,41 \times 10^4 - 1,15 \times 10^6$ ] соответственно (критерия Манна-Уитни =0,363,  $p \geq 0,05$ ).

Несмотря на вышеописанные результаты анализа уровня вирусной нагрузки по отдельным точкам наблюдения в группах среднетяжелого и тяжелого течения мы дополнительно оценили вирусную нагрузку в этих же группах по количеству копий вирусной РНК (ГЭ/мл) в динамике заболевания среди общего пула ПЦР-положительных пациентов и внутри каждой из групп.

При анализе динамики изменения вирусной нагрузки в назофарингеальных мазках всего пула ПЦР-положительных пациентов отмечена вариабельность показателей вирусной нагрузки. Установлена тенденция к снижению вирусной нагрузки в динамике инфекционного процесса с 8-го по 13-14 дни болезни (критерий Фридмана менее 0,001,  $p \leq 0,05$ ). Статистически достоверные различия наблюдались между первой и второй (критерий Макнемара с поправкой Бонферрони=0,026,  $p \leq 0,05$ ), а также между первой и третьей точками наблюдения (критерий Макнемара с поправкой Бонферрони менее 0,001,  $p \leq 0,05$ ) (рисунок 11).

Далее мы провели анализ вирусной нагрузки внутри групп со среднетяжелым и тяжелым течением болезни. Показано, что в динамике заболевания у пациентов со среднетяжелым течением отмечалось закономерное уменьшение уровня вирусной нагрузки с 8-го по 13-14 дни болезни (критерий Макнемара с поправкой Бонферрони =0,001,  $p \leq 0,05$ ) (рисунок 12 А). Установлено, что в динамике заболевания (8 день, 11 день и 13-14 день болезни) уровень вирусной нагрузки изменился с  $1,44 \times 10^5$  ГЭ/мл по  $9,61 \times 10^4$  ГЭ/мл, однако снижение не имело статистически значимых различий (критерий Макнемара с поправкой Бонферрони =0,069 и 0,425 соответственно,  $p \geq 0,05$ ). Установленный факт согласуется с данными, полученными ранее другими авторами, где показано, что

пик вирусной нагрузки в верхних дыхательных путях приходится на первую неделю болезни [134, 135].

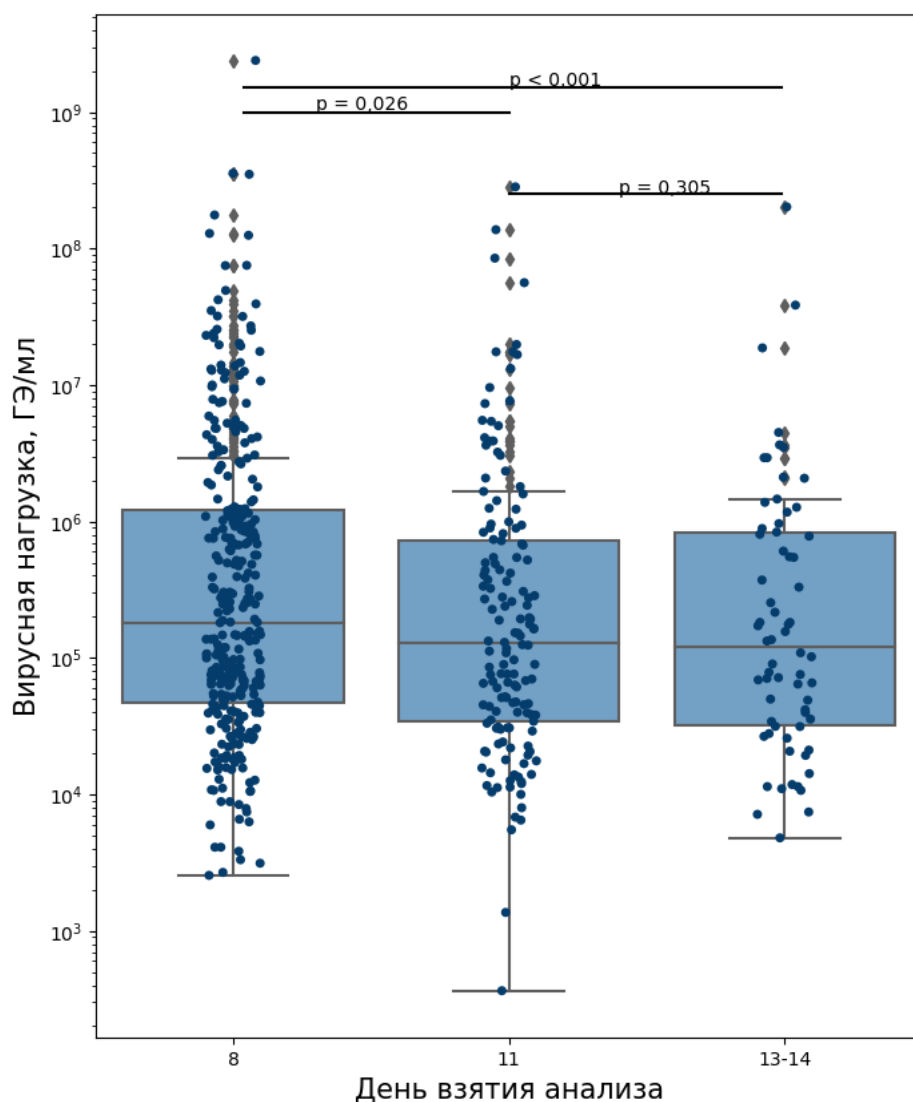


Рисунок 11 – Динамика уровня вирусной нагрузки SARS-CoV-2 для всех пациентов с COVID-19 без учета степени тяжести.

Примечание: по оси абсцисс представлены медианы точек наблюдения, по оси ординат – десятичный логарифм вирусной нагрузки, выраженный в ГЭ/ мл; прямоугольник – межквартильный размах IQR; горизонтальные линии внутри прямоугольников – медианы; расширение – вирусная нагрузка выше максимального и ниже минимального уровней. При  $p \leq 0,05$  различия считались статистически достоверными.



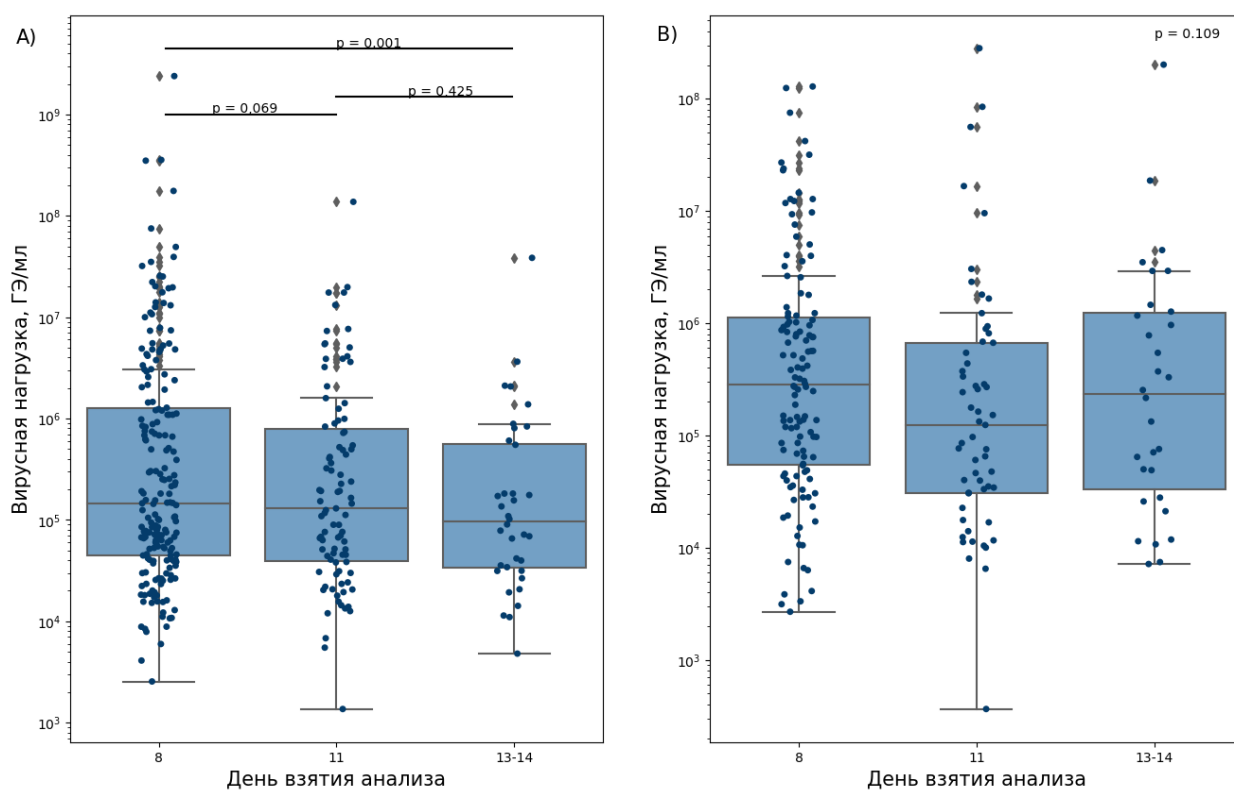


Рисунок 12 – Динамика уровня вирусной нагрузки SARS-CoV-2 для пациентов со среднетяжелым (А) и тяжелым течением (В) COVID-19.

Примечание: по оси абсцисс представлены медианы точек наблюдения, по оси ординат – десятичный логарифм вирусной нагрузки, выраженный в ГЭ/мл; прямоугольник – межквартильный размах IQR; горизонтальные линии внутри прямоугольника – медианы; расширение – вирусная нагрузка выше максимального и ниже минимального уровней. При  $p \leq 0,05$  различия считались статистически достоверными.

При тяжелом течении динамика изменения уровня вирусной нагрузки имела определенные закономерности: к концу второй недели (14 день) было отмечено неожиданное увеличение уровня вирусной нагрузки, что может свидетельствовать о возможности повторного инфицирования в период

пребывания в стационаре (в начальный период пандемии осуществлялась госпитализация пациентов в одну палату независимо от сроков болезни).

Уровень вирусной нагрузки  $2,83 \times 10^5$  ГЭ/мл на 8 день болезни в сравнении с уровнем  $2,35 \times 10^5$  ГЭ/мл на 14 день заболевания при тяжелом течении не имел достоверных различий (критерий Фридмана 0,109,  $p \geq 0,05$ ), однако отмечено повышение вирусной нагрузки к 14 суткам (3 точки наблюдения) относительно 1 точки наблюдения также без достоверной разницы ( $p \geq 0,05$ ) (рисунок 12 В). Повышение уровня вирусной нагрузки к 14 дню болезни свидетельствует о возможном повторном инфицировании у пациентов с тяжелым течением и выраженной иммуносупрессией.

Таким образом, оптимальной тактикой госпитализации и размещения пациентов в стационаре должно быть определение заболевших в Мельцеровский бокс, что будет способствовать профилактике реинфицирования.

#### **4.2 Детекция вируса SARS CoV-2 в копрофильtrate у стационарных пациентов и оценка вирусной нагрузки**

Клиническое течение COVID-19 у ряда пациентов сопровождалось развитием симптомов поражения желудочно-кишечного тракта в виде тошноты, рвоты, диареи, болей в животе. Наличие рецепторов ACE 2 в значительном количестве в эпителиоцитах кишечника дало основание появлению гипотезы о существовании фекально-орального механизма заражения, в связи с чем и патогенез COVID-19 уже может рассматриваться, как патогенез при ряде других инфекциях с фекально-оральным механизмом передачи [136]. Появились научные данные, свидетельствующие о том, что наличие диарейного синдрома у пациентов с COVID-19 определяло более легкое течение заболевания. Объяснение этого факта проанализировано в ассоциации с наличием специфических антител к другим коронавирусам и развитию более легкого течения болезни. Наличие протективного иммунитета к сезонным коронавирусам

способствовал формированию мукозального иммунитета, изменениям в микробиоте кишечника и наличию факторов, ингибирующих кишечную репликацию SARS-CoV-2 [137].

Одной из задач данного исследования стала детекции РНК SARS-CoV-2 и определение уровня вирусной нагрузки в различных биологических субстратах, в том числе в копрофильtrate госпитализированных пациентов. Был проведен сравнительный анализ результатов лабораторного скрининга 27 пациентов со среднетяжелым течением COVID-19, у которых в клинической картине заболевания, наряду с поражением респираторного тракта были выявлены симптомы поражения желудочно-кишечного тракта (подробная клиническая характеристика пациентов представлена в главе 3). Группа наблюдения включала 15 женщин (55,6 %) и 12 мужчин (44,4 %), средний возраст  $59 \pm 1,8$  и  $49 \pm 1,9$  лет соответственно. В данной группе пациентов дополнительно проводили исследование испражнений (копрофильtrатов) в динамике с 1-го по 29 день госпитализации (срок наблюдения). Для исследования испражнения собирались каждые 3-4 дня в стерильную посуду в количестве 1-3 г. после естественной дефекации. Хранение и транспортировку материала до исследования осуществляли при минус  $30^{\circ}\text{C}$ .

РНК вируса SARS-CoV-2 выявляли методом ОТ-ПЦР в режиме реального времени с помощью двух тест-систем: «SARS-CoV-2 FRT» производства ФГБУ «Национальный исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии имени почетного академика Н.Ф. Гамалеи» (ФГБУ «НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи») и «COVID-19 Amp» производства ФБУН НИИЭМ имени Пастера» согласно инструкции производителя. Сравнительная оценка этих тест-систем при исследовании копрофильtrата показало совпадение по частоте выявления РНК SARS-CoV-2, показав высокую специфичность и чувствительность обеих тест- систем.

Полученные результаты показали, что РНК SARS-CoV-2 была обнаружена в назофаренгиальных мазках у 16 (59,3 %) с 5 по 12 день болезни, в копрофильtrate – у 10 (37,0 %) пациентов с 7 по 18 день болезни (рисунок 13).

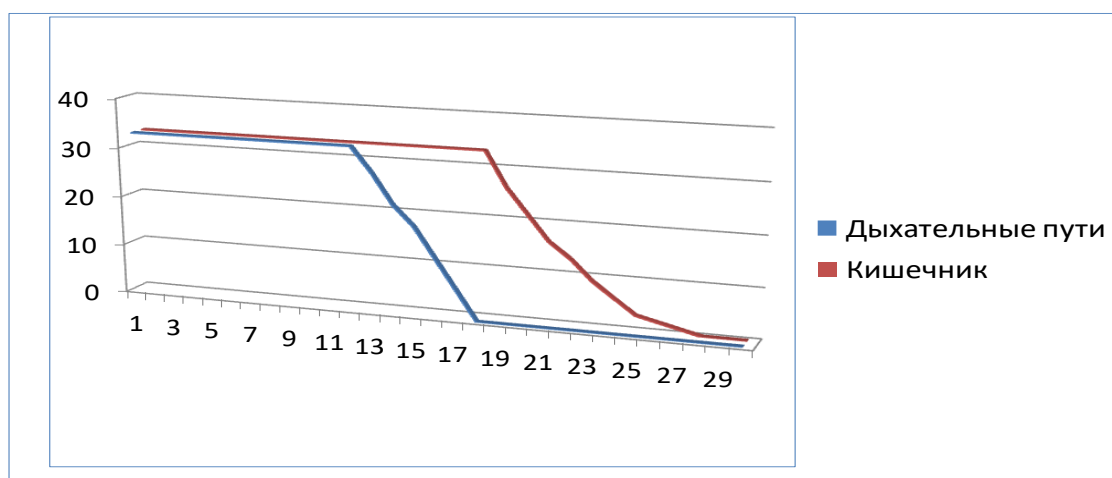


Рисунок – 13 Сроки обнаружения РНК вируса SARS-CoV-2 в различных биосубстратах в динамике течения COVID-19

Отмечено, что преимущественно РНК вируса регистрировали одновременно в назофаренгиальных мазках и в копрофильtrate. В одном случае от одного пациента продолжительность выявления РНК SARS-CoV-2 из копрофильtrата продолжалась до 29 дня болезни, что согласуется с исследованиями других авторов [7]. В двух случаях РНК SARS-CoV-2 в материале из респираторного тракта уже не обнаруживалась, хотя в копрофильtrate в ОТ-ПЦР был получен положительный результат.

Медиана порогового значения  $C_t$  в назофарингеальных мазках, при котором образец считался положительным, составила 32,0 [29,4-34,5], в копрофильtrate – 29,3 [28,1-30,5]. Причем, высокие значения  $C_t$  в материале из респираторного тракта отмечались у пациентов с низкой вирусной нагрузкой, и наоборот [138], что подтверждается и результатами наших исследований, которые демонстрируют наименьший уровень вирусной нагрузки  $1 \times 10^2$  ГЭ/мл при  $C_t 38,3$  и  $5 \times 10^8$  ГЭ/мл при  $C_t 20,2$ .

В нашей работе доля положительных находок РНК вируса в копрофильtrate среди положительных результатов ПЦР образцов назофаренгиальных мазков составила больше половины (63%), что выше значения, установленного другими авторами [7, 139]. Также величина вирусной нагрузки в копрофильtrate не зависела от дня заболевания, в отличие от полученных ранее данных [139]. Между тем, у большинства больных (51,9 %; 14 из 27 обследованных), в копрофильtrate которых не была выявлена РНК SARS-CoV-2 все же наблюдались выраженные диспепсические расстройства, в виде болей в животе, тошноты, рвоты и диареи.

Полученные результаты по детекции РНК вируса из кишечника больных COVID-19 с достаточно высоким потенциалом вирусной нагрузки позволяют не исключить вероятность фекально-орального механизма передачи инфекции [140, 141], что также подтверждается литературными данными, которые свидетельствуют об индикацией РНК SARS-CoV-2 в сточных водах [127]. Однако, до настоящего времени неизвестно как долго SARS CoV-2 сохраняется в окружающей среде [127] и через какой промежуток времени вирус, выделяемый из испражнений, становится нежизнеспособным [142].

Несмотря на дискутабельность данных вопросов риск инфицирования окружающей среды больными COVID-19 нельзя исключить, особенно в условиях низких температур и высокой влажности, а также среди заболевших с низким уровнем санитарно-гигиенических навыков [143, 144]. В пользу этого свидетельствует и то, что с сентября 2020 г. CDC запустила национальную систему наблюдения за сточными водами, наряду с национальной системой геномного наблюдения за SARS-CoV-2 и программой молекулярно-генетического обследования международных путешественников с целью раннего выявления завоза новых вариантов вируса SARS CoV-2 [145]. Эколого-эпидемиологический мониторинг сточных вод, может стать источником информации о наличии патогена в популяции людей, а также дополнительным инструментом эпидемиологического надзора за циркуляцией патогенных бактерий и

вирусов фекально-оральным механизмом передачи, в том числе SARSCOV-2 для ранней локальной оценки эпидемиологической ситуации с целью организации и проведения профилактических и противоэпидемических мероприятий.

Таким образом, наши данные показали, что длительность периода обнаружения РНК вируса в копрофильtrate была значительно больше, чем таковая при исследовании материала из респираторного тракта (12 дней) и составила 29 дней. Медиана вирусной нагрузки в копрофильtrate по Ct установлена в пределах 29,6 [28,1-30,5], что необходимо учитывать при планировании комплекса первичных противоэпидемических мероприятий в случае выявления источника инфекции – больного COVID-19.

Таким образом, на основании проведенных исследований показано, что пациенты с лабораторно подтвержденным диагнозом COVID-19 в среднем поступали на стационарное лечение на 7 [5-8] день болезни и медиана продолжительности их госпитализации составляла 9 [7-13] дней. В группах наблюдения соотношение мужчин и женщин достоверно не отличалось ( $p \geq 0,05$ ). У пациентов в возрасте старше 70 лет заболевание протекало преимущественно в тяжелой форме ( $p \leq 0,05$ ) в сочетании с коморбидной патологией. Летальность при тяжелом течении COVID-19 ( $10,68 \pm 2,02\%$ ) превышает соответствующий показатель при среднетяжелом течении ( $4,01 \pm 1,05\%$ ) ( $p \leq 0,05$ ).

Позднее поступление пациентов в стационар (медиана составила 8 дней) определяло не столь высокие уровни вирусной нагрузки. В процессе пребывания пациентов в стационаре детекция РНК вируса SARS-CoV-2 вне зависимости от тяжести заболевания на 8 сутки снижалась до  $54,72 \pm 2,65\%$  ( $p \leq 0,05$ ), на 11 день она составила  $26,69 \pm 1,89\%$  ( $p \leq 0,05$ ), на 13-14 день –  $27,73 \pm 2,90\%$  ( $p \leq 0,05$ ). При тяжелом течении болезни в сравнении со среднетяжелым ( $25,71 \pm 3,69\%$ ) на 13-14 день отмечался некоторый статистически не значимый подъем частоты выявления ПЦР-положительных образцов до  $30,61 \pm 4,66\%$  ( $p \geq 0,05$ ).

Количественный показатель вирусной нагрузки в ГЭ/мл в назофарингеальных мазках у групп наблюдения характеризовалась вариабельностью значений и высоким уровнем данного показателя у пациентов с тяжелым течением заболевания: медиана  $C_{t_{max}}$  составила 27,99 или  $2,83 \times 10^5$  ГЭ/мл, превышая аналогичные показатели в 1,97 раз у пациентов со среднетяжелым течением заболевания –  $C_{t_{max}}$  28,86 ( $1,44 \times 10^5$  ГЭ/мл). При оценке медианы минимальные показатели вирусной нагрузки при тяжелом течении  $C_{t_{min}}$  29,67 или  $1,24 \times 10^5$  ГЭ/мл по сравнению со среднетяжелым течением отличались в 1,29 раз и составили  $C_{t_{min}}$  29,58 ( $9,61 \times 10^4$  ГЭ/мл). Полученные результаты свидетельствуют о значимости вирусной нагрузки и ее оценки при прогнозировании тяжести течения болезни.

При сравнении медианы уровня вирусной нагрузки, выраженной в ГЭ/мл, в динамике инфекционного процесса в группах госпитализированных пациентов с COVID-19 выявлено статистически достоверное уменьшение вирусной нагрузки при среднетяжелом течении заболевания с 8 дня болезни ( $1,44 \times 10^5$  ГЭ/мл) по сравнению с 13-ым днем ( $9,61 \times 10^4$  ГЭ/мл) ( $p \leq 0,05$ ). При тяжелом течении не установлено значимых различий между 8 днем ( $2,83 \times 10^5$  ГЭ/мл) и 14 днем ( $2,35 \times 10^5$  ГЭ/мл) заболевания и вирусной нагрузкой ( $p \geq 0,05$ ), что может свидетельствовать о возможности повторного инфицирования в период пребывания в стационаре.

Длительность периода обнаружения РНК вируса в копрофильtrate по продолжительности превышала таковую при исследовании материала из респираторного тракта и составляла 29 дней (срок наблюдения). Медиана вирусной нагрузки в копрофильtrate по  $C_t$  установлена в пределах 29,6 [28,1-30,5].

Предполагаемый период наибольшей заразительности по показателю  $C_t \leq 32$  в назофарингеальных мазках составляет в среднем до 8-14 дней в зависимости от тяжести заболевания.

Полученные результаты могут быть использованы для обоснования эпидемиологической опасности больного человека, как источника инфекции, в

клинической практике, что необходимо учитывать при планировании комплекса первичных противоэпидемических мероприятий в эпидемическом очаге, но требуют дальнейших исследований по оценке выявления жизнеспособности вируса SARS-CoV-2 у пациентов в динамике заболевания, как показателя инфекционной активности вируса.



## Глава 5. ОЦЕНКА ЖИЗНЕСПОСОБНОСТИ ВИРУСА У СТАЦИОНАРНЫХ ПАЦИЕНТОВ

Пациенты, находящиеся в стационаре с этиологически подтвержденным диагнозом COVID-19 (ПЦР+), относятся к эпидемиологически опасным источникам инфекции в плане потенциальной передачи возбудителя SARS-CoV-2 другим пациентам и медицинскому персоналу. Больные легкой формой течения COVID-19 и переболевшее, находящиеся в постгоспитальном периоде, особенно пациенты, у которых длительное время обнаруживается РНК SARS-CoV-2 методом ПЦР, также могут передавать вирус окружающим их восприимчивым лицам как по месту жительства, так и при посещении амбулаторно-поликлинических учреждений, однако, до настоящего времени, сроки жизнеспособности SARS-CoV-2 остаются дискуссионными.

В настоящее время установлено, что РНК вируса обнаруживается в последние три дня инкубационного периода и у большинства пациентов сохраняется в верхних дыхательных путях до 7-10 дней при легком течении, тяжелом течении до 11 дней, но может наблюдаться и после 3-х недель болезни [146, 147]. Результаты ПЦР считаются положительными со значениями  $C_t$  не более 30-34 пороговых циклов, т.е. циклов репликации вируса, необходимого для получения флуоресцентного сигнала и отрыва его от фонового уровня [148, 149, 150]. Показано, что значение  $C_t$  обратно пропорционально количеству искомой РНК в реакции (вирусная нагрузка), т.е. чем больше количество РНК в пробе, тем раньше наблюдается начало роста сигнала флуоресценции и чем меньше пороговый цикл, а соответственно, чем меньше количество искомой РНК, тем больше количество циклом необходимо для достижения порогового уровня. Некоторыми исследователями [1] предложен стандартизированный подход к количественной оценке вирусной нагрузки SARS-CoV-2 по значению порогового цикла ( $C_t$ ) при постановке ОТ-ПЦР с коррекцией потерь при выделении тотальной РНК по  $C_t$  внутреннего контроля образца (ВКО).

Установлена взаимосвязь между значением  $C_t$  и возможностью изоляции вируса *in vitro* на культуре клеток: 100 % изоляция вируса наблюдается при  $C_t$  равном 13-17 пороговым циклам, при  $C_t$  больше 30 циклов вирус удается изолировать только у 3 % пациентов [148, 149, 150].

Авторы отмечают, что частота обнаружения РНК SARS-COV-2 при исследовании слюны составляет 95 %, бронхоальвеолярного лаважа – 92 %, мокроты – 72 %, мазков из носоглотки – 63 %, мазков из ротоглотки – 32 %, крови – 1 %, в моче РНК вируса не обнаруживается [151, 152]. Однако, выявление РНК SARS CoV-2 не доказывает способность вируса к репликации, даже при сохранении положительных результатов ПЦР на более поздней стадии COVID-19. Можно предположить, что потенциальный риск передачи вируса будет низким, если вирус не изолирован и не культивируется в чувствительных к вирусу клетках [118, 153, 154]. Возможность успешной изоляции жизнеспособного вируса зависит от срока заболевания и вирусной нагрузки. Установлено, что вирус SARS CoV-2 изолирован в мазках из носоглотки (16,66%) и мокроты (83,33%) в течение первой недели после появления симптомов заболевания, но из образцов, взятых после девятого дня и содержащих менее  $10^6$  копий/мл, успешной изоляции вируса не было [146]. Подобные результаты получены и другими авторами [151, 155]. Некоторые исследователи свидетельствуют о детекции вирусной РНК в фекалиях пациентов в 29 %, предполагая возможность фекально-орального механизма передачи COVID-19 [156, 157, 158, 159].

По данным ряда исследователей известно, что длительность обнаружения специфических фрагментов РНК SARS-COV-2 в верхних дыхательных путях от 17 до 83 дней, нижних дыхательных путях – от 14,6 до 59 дней, из прочих субстратов (кровь, испражнения) – от 16,6-17,2 до 60-126 дней соответственно [93]. Однако, рекомендациями ВОЗ, а также нормативно-методическими документами Минздрава и Роспотребнадзора РФ не регламентированы дополнительные обследования реконвалесцентов перед выпиской, а также не

предусматриваются количественные измерения вирусной нагрузки при диагностике COVID-19, что не исключает возможный риск передачи и дальнейшего распространения вируса SARS CoV-2 в постгоспитальном периоде.

В настоящее время, нет четкого понимания взаимосвязи между показателями вирусной нагрузки при обнаружении РНК SARS-CoV-2 и жизнеспособностью вируса. Это требует проведения дополнительных исследований для обоснования продолжительности периода заразительности больного, сроков его изоляции, правил выписки из стационара и дальнейшего диспансерного наблюдения.

### **5.1 Определение взаимосвязи между показателями вирусной нагрузки и наличием жизнеспособного вируса SARS CoV-2 у госпитализированных пациентов**

Следующим этапом нашей работы стало определение взаимосвязи между жизнеспособностью вируса, выявляемой *in vitro* по цитопатическому эффекту (ЦПЭ) в назофарингиальных мазках в отношении пациентов, госпитализированных в инфекционный стационар со среднетяжелой и тяжелой степенью течения заболевания и уровнем вирусной нагрузки.

Для исследования брали только ПЦР положительные образцы назофарингиальных мазков с пороговым циклом  $C_t$  не более 32. В группы сравнения вошли 319 пациентов из 583 исходно положительных. Первую группу составили пациенты ( $n=227$ ), имеющие положительный результат ПЦР, но не обладающий ЦПЭ вируса SARS-CoV-2 (биоматериал, не содержит жизнеспособный вирус). Вторая группа включала пациентов ( $n=92$ ) с положительным результатом ПЦР и наличием ЦПЭ, свидетельствующего об инфекционной активности вируса SARS-CoV-2 (биоматериал содержит жизнеспособный вирус).

Частота обнаружения жизнеспособного вируса у ПЦР-положительных пациентов была равна  $28,8 \pm 2,5$  %, в том числе у пациентов при среднетяжелом течении COVID-19 этот показатель составил  $26,4 \pm 3,1$  %, при тяжелом течении –  $32,8 \pm 4,3$  %. При оценке наличия жизнеспособного вируса SARS COV-2 по ЦПЭ у пациентов с COVID-19 не выявлено достоверно значимых различий в группах сравнения по полу (критерий хи-квадрат=0,499,  $p \geq 0,05$ ), возрасту (критерий Манна-Уитни = 0,133,  $p \geq 0,05$ ) и тяжести течения заболевания (точный критерий Фишера = 0,253,  $p \geq 0,05$ ) (таблица 24).

Таблица 24 – Наличие жизнеспособного вируса SARS-COV-2 по ЦПЭ у пациентов в зависимости от пола, возраста и тяжести течения COVID-19 (n=319)

Показатель	Первая группа ПЦР+ЦПЭ- (n=227)	Вторая группа ПЦР+ЦПЭ+ (n=92)	Критерий Достоверности, p
Пол, % мужской женский	141 (62,1 %) 86(37,9 %)	56 (60,9%) 36 (39,1%)	0,499 (критерий хи-квадрат)
Возраст, лет Me [IQR]	72 [61 - 81]	67,5 [62 – 78]	0,133 (критерий Манна Уитни)
Среднетяжелое течение, n=197	145 (73,6%)	52 (26,4 %)	0,253 (точный крите- рий Фишера)
Тяжелое течение, n=122	82 (67,2 %)	40 (32,8 %)	

Далее проведен корреляционный анализ между жизнеспособностью вируса и уровнем вирусной нагрузки у ПЦР положительных пациентов, в том числе и у пациентов различной тяжестью заболевания. Результаты исследования представлены в таблице 25.

Таблица 25 – Наличие жизнеспособного вируса SARS-COV-2 по ЦПЭ у пациентов в зависимости от вирусной нагрузки

Показатель	Первая группа ПЦР+ЦПЭ- (n=227)	Вторая группа ПЦР+ЦПЭ+ (n=92)	Критерий Достоверности, р
<b>Все пациенты</b>			
День болезни Me [IQR])	7,5 [5 – 9]	7 [5 – 9]	0,442 (критерий Манна Уитни)
Ct Me [IQR]	29,5 [27,5 – 31,0]	26,0 [23,7 – 28,4]	<0,001* (критерий Манна Уитни)
Вирусная нагрузка, ГЭ/мл Me [IQR]	$8,5 \times 10^4$ [ $3,3 \times 10^4$ - $6,2 \times 10^5$ ]	$1,2 \times 10^6$ [ $2,6 \times 10^5$ - $6,4 \times 10^6$ ]	<0,001* (критерий Манна Уитни)
<b>Ct Me [IQR]</b>			
Среднетяжелое течение	32,1 [29,7 – 34,6]	26,6 [23,5 – 29,3]	<0,001* (критерий Манна Уитни)
Тяжелое течение	32,6 [29,7 – 34,9]	26,0 [24,3 – 28,3]	<0,001* (критерий Манна Уитни)
Критерий Манна Уитни	0,385	0,491	
<b>Вирусная нагрузка, ГЭ/мл Me [IQR]</b>			
Среднетяжелое течение	$1,9 \times 10^4$ [ $3,3 \times 10^3$ - $8,0 \times 10^4$ ]	$1,2 \times 10^6$ [ $2,3 \times 10^5$ - $5,6 \times 10^6$ ]	<0,001* (критерий Манна Уитни)
Тяжелое течение	$1,5 \times 10^4$ [ $2,0 \times 10^3$ - $1,4 \times 10^5$ ]	$9,7 \times 10^5$ [ $2,1 \times 10^5$ - $5,8 \times 10^6$ ]	<0,001* (критерий Манна Уитни)
Критерий Манна Уитни	0,547	0,792	
Летальный исход абс., %	17 (7,5%)	11 (12,0 %)	0,274 (критерий хи-квадрат)

Примечание: \* - различия статистически значимы ( $p \leq 0,05$ )

Показано, что группы наблюдения достоверно не отличались по срокам исследования: медиана составила 7,5 [5 – 9] и 7 [5 – 9] дней соответственно для первой и второй групп (критерий Манна Уитни = 0,442,  $p \geq 0,05$ ). Уровень

вирусной нагрузки для групп сравнения у всех пациентов был статистически значим по показателям Ct и уровню вирусной нагрузки, выраженной в ГЭ/мл. Так отмечено, что в группе пациентов с жизнеспособным вирусом медиана порогового цикла была достоверно минимальной и составила 26,0 против медианы Ct 29,5 для группы пациентов без наличия ЦПЭ вируса (критерий Манна Уитни  $<0,001$ ,  $p \leq 0,05$ ). При этом количественный показатель вирусной нагрузки в группе пациентов с жизнеспособным вирусом был в 13,8 раза выше ( $1,2 \times 10^6$  ГЭ/мл) по сравнению с группой с отсутствием жизнеспособного вируса ( $8,5 \times 10^4$  ГЭ/мл) (критерий Манна Уитни  $<0,001$ ,  $p \leq 0,05$ ) (рисунок 14).

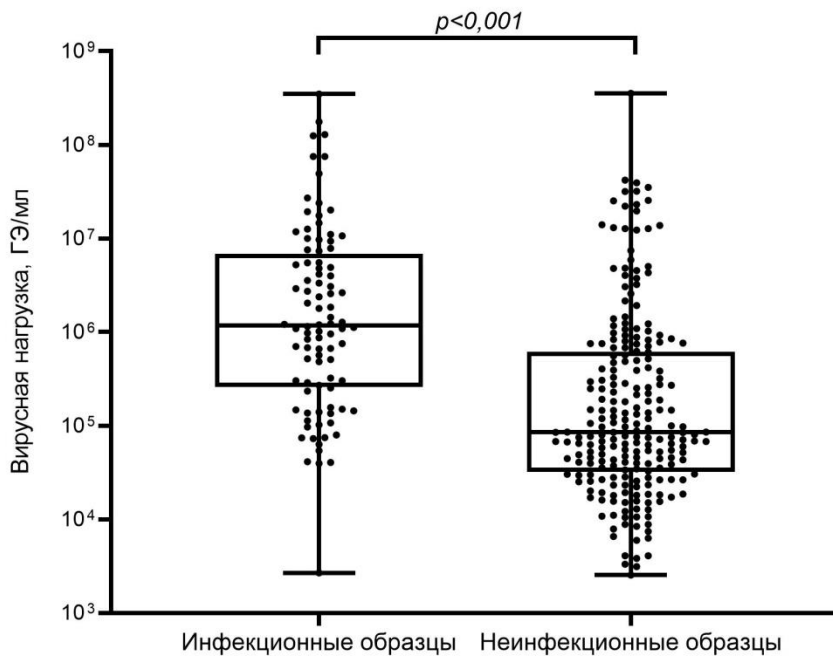


Рисунок 14 – Вирусная нагрузка в назофаренгиальных мазках, содержащих жизнеспособный («инфекционные образцы») и нежизнеспособный («неинфекционные образцы») вирус SARS CoV-2.

У пациентов с различной степенью течения заболевания COVID-19 жизнеспособность вируса по ЦПЭ характеризовалась достоверно более высоким уровнем вирусной нагрузки по сравнению с больными, у которых обнаружена

РНК вируса SARS CoV-2, не обладающая ЦПЭ: ЦПЭ+ при среднетяжелом течение Ct 26,6 или  $1,2 \times 10^6$  ГЭ/мл и ЦПЭ–Ct 32,1 или  $1,9 \times 10^4$  (критерий Манна Уитни  $<0,001$ ,  $p \leq 0,05$ ); ЦПЭ+ при тяжелом течение Ct 26,0 или  $9,7 \times 10^5$  ГЭ/мл и ЦПЭ–Ct 32,6 или  $1,5 \times 10^4$  (критерий Манна Уитни  $<0,001$ ,  $p \leq 0,05$ ) (рисунок 15).

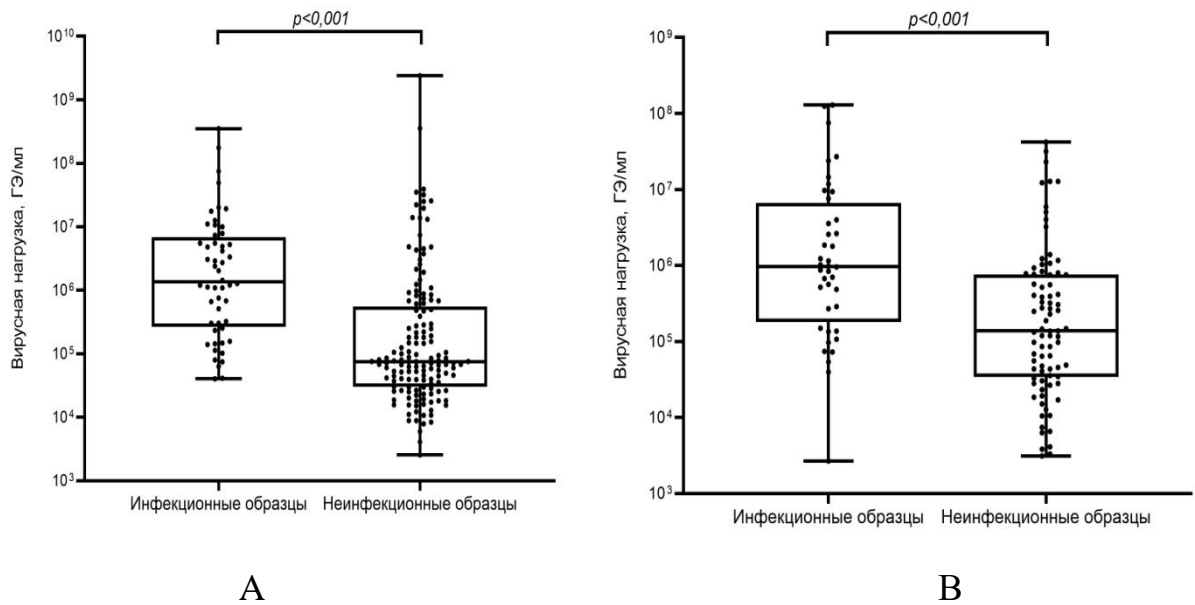


Рисунок 15 – Вирусная нагрузка в назофаренгиальных мазках, содержащих жизнеспособный («инфекционные образцы») и нежизнеспособный («неинфекционные образцы») вирус SARS CoV-2 при среднетяжелом течение (А) и тяжелом (В) течение COVID-19

Летальность в группе пациентов с жизнеспособным вирусом была в 1,6 раза выше, но не коррелировалась с ЦПЭ вируса (критерий хи-квадрат = 0,274,  $p \geq 0,05$ ).

## 5.2 Определение жизнеспособности вируса у госпитализированных пациентов в динамике инфекционного процесса COVID-19

Проведен анализ выявления жизнеспособности вируса у госпитализированных пациентов в динамике заболевания COVID-19. Медиана дня госпитализации и срок пребывания в стационаре не коррелировались с тяжестью течения заболевания и составляла соответственно 7 [5-8] и 9 [7-13] при среднетяжелом течении, 7 [5-9] и 10 [7-14] при тяжелом течении болезни (критерий Манна Уитни по дню госпитализации и сроку пребывания в стационаре соответственно 0,775 и 0,142,  $p \leq 0,05$ ).

По совокупности наблюдений показано, что на 8 [6–10] день болезни жизнеспособный вирус был обнаружен в назофарингеальных мазках у 92 пациентов ( $28,8 \pm 2,5$  %), на 11 [9-13] день болезни – у 24 пациентов ( $16,4 \pm 3,1$  %), на 13 [11-16] день болезни – у 6 пациентов ( $5,7 \pm 2,2$  %) и позже 13 дня жизнеспособный вирус по ЦПЭ не определялся (табл. 26).

Таблица 26 – Жизнеспособность вируса в назофарингеальных мазках пациентов в динамике инфекционного процесса

Точки наблюдения	День болезни (медиана и межквартильный размах)	Число наблюдений, n	Жизнеспособность вируса абс. (% $\pm$ m)
1	8 [6–10]	319	92 ( $28,8 \pm 2,5$ %)
2	11 [9-13]	146	27 ( $16,4 \pm 3,1$ %)
3	13 [11-16]	106	6 ( $5,7 \pm 2,2$ %)

При оценке жизнеспособности вируса в динамике заболевания достоверные различия наблюдались между 8 и 11 (критерий Кокрена менее 0,007,  $p \leq 0,05$ ) и между 8 и 13 днями болезни (критерий Кокрена менее 0,001,  $p \leq 0,05$ ), но отсутствовали между 11 и 13 днями болезни (критерий Кокрена с поправкой Бонферрони = 1,0,  $p \geq 0,05$ ) (рисунок 16).



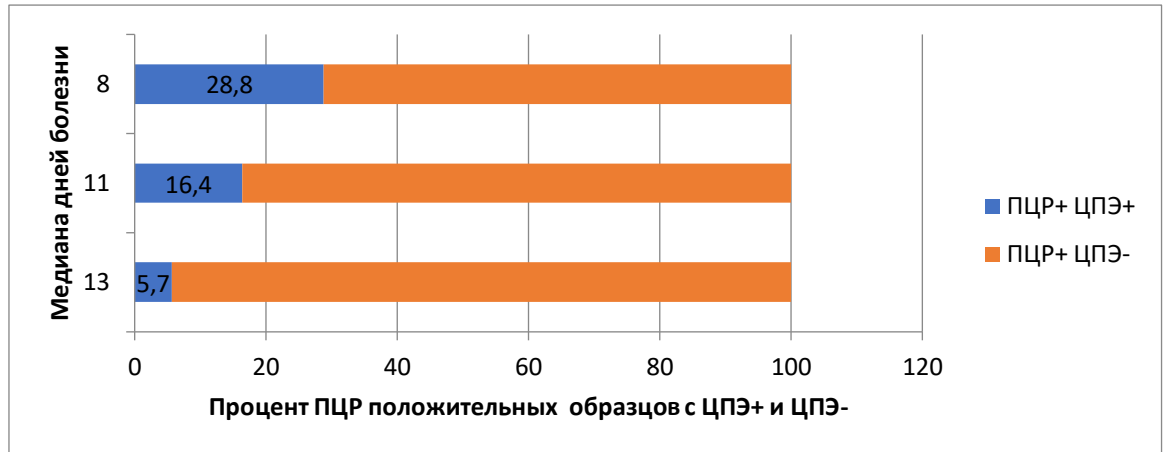


Рисунок 16 –Доля ПЦР положительных образцов назофарингеальных мазков с ЦПЭ у госпитализированных пациентов в динамике заболевания COVID-19 (%).

В группе пациентов со среднетяжелым течением заболевания жизнеспособность вируса постепенно снижалась с 26,4 % до 3,4 % и позже 13 дня болезни не определялась (таблица 27).

Таблица 27 – Сохранение жизнеспособности вируса SARS-CoV-2 в динамике заболевания

Тяжесть течения заболевания	День болезни	Количество обследованных	ПЦР положительный результат	Жизнеспособность вируса SARS-CoV-2
				ЦПЭ+ ПЦР+
	Me [IQR]	абс.	абс. (%)	абс. (%±m)
Среднетяжелое	8 [6–9]	349	197 (56,5±2,7 %)	52 (26,4±3,1 %)
	11 [9-13]	331	90 (27,2±2,4 %)	16 (17,8±4,0 %)
	13 [11-15]	140	59 (42,1±4,2 %)	2 (3,4±2,4 %)
Тяжелое	8 [6–10]	234	122 (52,1±3,3 %)	40 (32,8±4,3 %)
	11 [9-13]	216	56 (25,9 ±3,0 %)	8 (14,3±2,1 %)
	14 [12-16]	98	47 (48,0± 5,0 %)	4 (8,5±4,1 %)

Статистически значимые различия наблюдались между 8 и 13 днями болезни (критерий Кокрена = 0,04,  $p \leq 0,05$ ), но отсутствовали между 8 и 11 (критерий Кокрена = 0,472,  $p \geq 0,05$ ), 11 и 13 днями болезни (критерий Кокрена = 0,867,  $p \geq 0,05$ ) (рисунок 17). При тяжелом течение также установлена

достоверная тенденция к снижению доли жизнеспособного вируса между 8 и 11 и 8 и 14 днями болезни (критерий Кокрена = 0,009,  $p \leq 0,05$ ) и не имеющая статистических различий между 11 и 14 днями болезни (критерий Кокрена = 1,0,  $p \geq 0,05$ ). Отсутствие достоверных различий в уменьшении частоты обнаружения ЦПЭ на 14 день при тяжелом течении заболевания может быть обусловлено возможным реинфицированием пациентов в период пребывания в стационаре (рисунок 17).

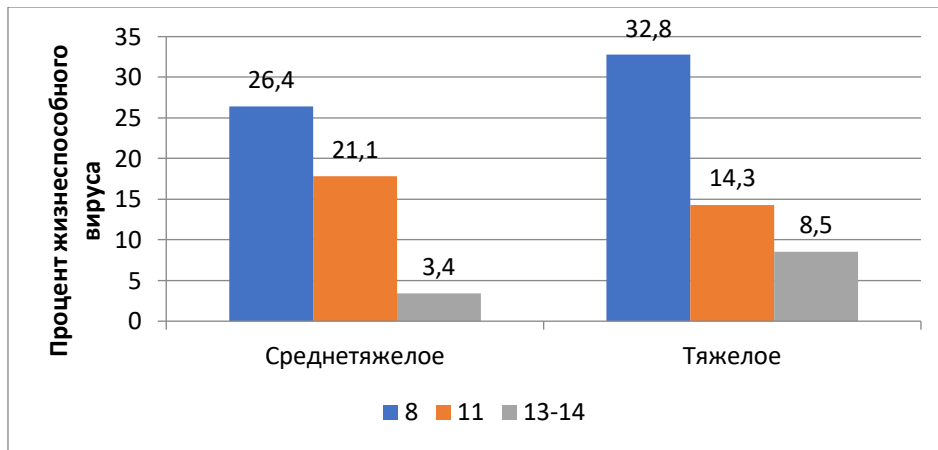


Рисунок 17 – Доля жизнеспособного вируса (ПЦР+ ЦПЭ+) в назофарингеальных мазках пациентов в динамике болезни при среднетяжелом и тяжелом течении COVID-19.

Поскольку, не для всех пациентов известно, когда произошла элиминация вируса, дальнейшие исследования были направлены на выявления сроков сохранения жизнеспособности вируса SARS-CoV-2. Для этого инфицировали клетки 293T/ACE2 носоглоточным секретом от ПЦР положительных пациентов на 0, 7 и 14 дни болезни с целью установления предполагаемой продолжительности заразного периода. Результаты проведенных исследований показали, что жизнеспособность вируса SARS-COV-2 в динамике инфекционного процесса имела тенденцию к снижению и сохранялась в носоглоточном секрете на 0 день в 71 % , на 7 день в 11,6 % и на 14 день в 2,27 % (табл. 28).

Таблица 28 – Сохранение жизнеспособного вируса в назофарингеальных мазках ПЦР-положительных пациентов

Дни наблюдения	Сохранность жизнеспособного вируса, %	
	да	нет
0	71	23
7	11,6	88,4
14	2,27	97,3

Используя метод Каплана - Майера было установлено, что медиана срока сохранения жизнеспособной активности вируса в мазках составила 8 дней с 95 % доверительным интервалом 7,8-8,2 (рисунок 18).

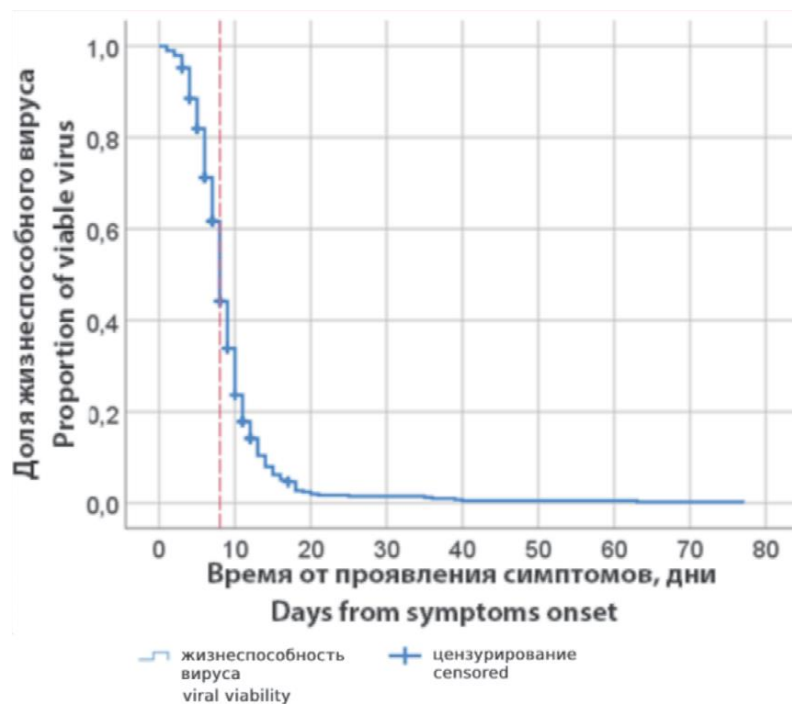


Рисунок 18 – Сохранение жизнеспособной активности вируса SARS-CoV-2 в назофарингеальных мазках пациентов в динамики заболевания COVID-19. Красной вертикальной линией показана медиана дня сохранения вируса (8 дней).

Полученные данные свидетельствуют о том, что у 50 % пациентов к 8-му дню болезни можно ожидать элиминацию вируса даже при условии получения ПЦР-положительного результата из носоглоточного секрета. При этом,

не обнаружено статистически достоверных различий в снижении выявления жизнеспособной активности вируса по ЦПЭ в динамике в зависимости от якости течения заболевания COVID-19 (критерий Мантеля-Кокса=0,529,  $p \geq 0,05$ ).

Таким образом, в ходе проведенных исследований установлено, что 28,8 % ПЦР-положительных назофарингеальных мазков от стационарных больных с тяжелым и среднетяжелым течением COVID-19 содержат жизнеспособный вирус SARS-CoV-2. Доля жизнеспособного вируса не имела достоверных различий в группах пациентов с тяжелым и среднетяжелым течением, составляя 26,4 % и 32,8 % соответственно (точный критерий Фишера= 0,253,  $p \geq 0,05$ ).

У пациентов с COVID-19, в назофарингеальных мазках которых обнаружен ЦПЭ, значение вирусной нагрузки (Ct26,0 [23,7 – 28,4] или  $1,2 \times 10^6$  ГЭ/мл [ $2,6 \times 10^5 - 6,4 \times 10^6$  ГЭ/мл]) достоверно превышает соответствующие показатели у пациентов (Ct29,5 [27,5 – 31,0] или  $8,5 \times 10^4$  ГЭ/м [ $3,3 \times 10^4 - 6,2 \times 10^5$ ]), в образцах биоматериала которых не обнаружен жизнеспособный вирус (критерий Манна Уитни  $< 0,001$ ,  $p \leq 0,05$ ), такая же закономерность установлена при среднетяжелом и тяжелом течение COVID-19. Полученные данные подтверждают большую вероятность проявления жизнеспособности вируса SARS-CoV-2 с увеличением вирусной нагрузки, измеренной методом ОТ-ПЦР в режиме реального времени.

Выявлена общая тенденция снижения жизнеспособности вируса по ЦПЭ по мере выздоровления у всех пациентов ( $p \leq 0,05$ ). В когорте пациентов со среднетяжелым течением COVID-19 жизнеспособный вирус обнаруживался на 8 [6-9] день заболевания в 26,4 %, на 11 [9-13] и 13 [11-15] день заболевания соответственно в 17,8 % и 3,4 % случаев ( $p \leq 0,05$ ) и позже 13 дня не определялся. У пациентов с тяжелым течением заболевания жизнеспособный вирус выявлялся на 8 [6-10] день заболевания в 32,8 %, на 11 [9-13] день происходило достоверное уменьшение частоты обнаружения жизнеспособного вируса до 14,3 % ( $p \leq 0,05$ ), однако в последующий срок наблюдения 14 [12-16] доля

жизнеспособного вируса (8,5 %) сохранялась на стабильном уровне ( $p \geq 0,05$ ) и позже 14 дня жизнеспособность вируса по ЦПЭ также не определялась.

Показано, что 97,3 % образцов не содержат жизнеспособный вирус даже при наличии положительного результата ПЦР, при этом медиана срока сохранения жизнеспособности вируса в мазках составила 8 дней с 95 % доверительным интервалом 7,8-8,2.

Полученные результаты обосновывают срок эпидемиологической опасности больного человека, как источника возбудителя инфекции (период заразительности) до 8 дня болезни (включительно). Изоляция больного может быть прекращена при отсутствии жизнеспособного вируса в ПЦР-положительных назофарингиальных мазках пациентов вне зависимости от тяжести течения заболевания.

## ГЛАВА 6. ВИРУСНАЯ НАГРУЗКА И ЖИЗНЕСПОСОБНОСТЬ ВИРУСА У АМБУЛАТОРНЫХ ПАЦИЕНТОВ С COVID-19

Амбулаторную группу составили 542 пациента с легким течением болезни и лабораторно подтвержденным диагнозом «Коронавирусная инфекция, COVID-19, вирус идентифицирован» (U07.1 по МКБ) в 100 % случаях методом ОТ-ПЦР. Возрастная структура заболевших возрасте: до 30 лет (5,5 %), 31 - 50 (17,0 %), 51 - 70 (42,1 %), старше 70 лет (38,6 %), средний возраст  $67,8 \pm 2,0$  лет. Гендерная характеристика исследуемой популяции: мужчины 225 (41,51 %), женщины 317 (58,49 %). Минимальный срок обращения пациентов за медицинской помощью 8 день болезни, максимальный – 25 день болезни.

Забор материала из рото- носоглотки от пациентов для подтверждения диагноза COVID-19 проводили при первичном обращении за медицинской помощью (1 точка наблюдения) и в дальнейшем в течение болезни каждые 3 дня до получения отрицательных результатов ОТ- ПЦР (2-4 точки наблюдения). Медиана, 95 % доверительный интервал сроков забора материала, результаты ПЦР исследования от пациентов с легким течением заболевания представлены в таблице 29 и на рисунке 19.

Таблица 29 – Сроки забора и результаты исследования назофарингеальных мазков методом ОТ-ПЦР от амбулаторных пациентов с легким течением заболевания

Показатели	Точки забора биоматериала и день заболевания				
	1 точка	2 точка	3 точка	4 точка	5 точка
Количество заболевших	542	296	104	33	11
Медиана, дни	8	11	13	17	20
IQR, дни	[8-11]	[10-14]	[13-15]	[16-19]	[17-25]
ПЦР+ абс. (%)	284 (52,4%)	152 (51,3%)	59 (56,7%)	18 (54,5%)	2 (18,2%)
ПЦР - абс. (%)	258 (47,6%)	144 (48,7%)	45 (43,3%)	15 (45,5%)	9 (81,8%)

Первый назофарингеальный мазок (1 точка исследования) был взят в среднем на 8 [8-11] дня болезни. В этот период РНК вируса SARS CoV-2 обнаружена у 284 пациентов из 542 обследованных, что составило  $52,4 \pm 2,1\%$ .

Второй назофарингеальный мазок (2 точка исследования) был взят на 11 [10-14] дня болезни. Показатель обнаружения РНК вируса SARS CoV-2 не изменился и составил  $51,3 \pm 2,9\%$  (152 ПЦР- положительных из 296 обследованных).

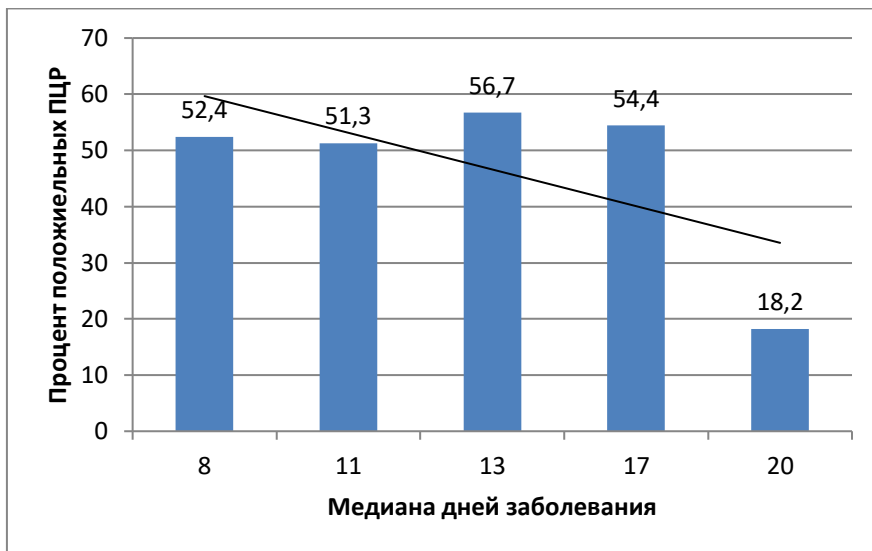


Рисунок 19 – Удельный вес ПЦР-положительных образцов у амбулаторных пациентов с легким течением заболевания COVID-19

Медиана третьего назофарингеального мазка (3 точка исследования) составила 13 [13-15] день болезни. В эти сроки обнаружение РНК вируса SARS CoV-2 незначительно увеличилось по сравнению со 2-ой точкой обследования и составило  $56,7 \pm 4,9\%$  (59 ПЦР-положительных из 104 пациентов, находящихся под наблюдением).

Забор четвертого назофарингеального мазка (4 точка исследования) приходился на 17 [16-19] день болезни. Показатель обнаружения РНК вируса

SARS CoV-2 не изменился и составил  $54,5 \pm 8,7$  % (18 ПЦР- положительных из 33 обследованных).

В пятой точке забора, взятой на 20 [17-25] день болезни, ПЦР-положительные результаты регистрировались от единичных пациентов в  $18,2 \pm 11,6$  % случаях (2 ПЦР-положительных из 11 обследованных) и характеризовались уменьшением выявления РНК вируса SARS CoV-2 в 2-3 раза по сравнению с первой – четвертой точками наблюдения.

При анализе динамики вирусной нагрузки в мазках пациентов с легким течением заболевания выявлено постепенное снижение уровня вирусной нагрузки в ГЭ/мл по дням болезни, при этом, рассчитанный нами коэффициент корреляции Спирмена равен – 0,39, что говорит об отсутствии взаимосвязи между уровнем вирусной нагрузки и продолжительностью заболевания. Тем не менее, отмечено, что вирусная нагрузка имеет тенденцию к снижению, начиная с 8-го дня болезни, однако у некоторых пациентов на 18 и позже 22 дня уровень вирусная нагрузка возрастал (рисунок 20).

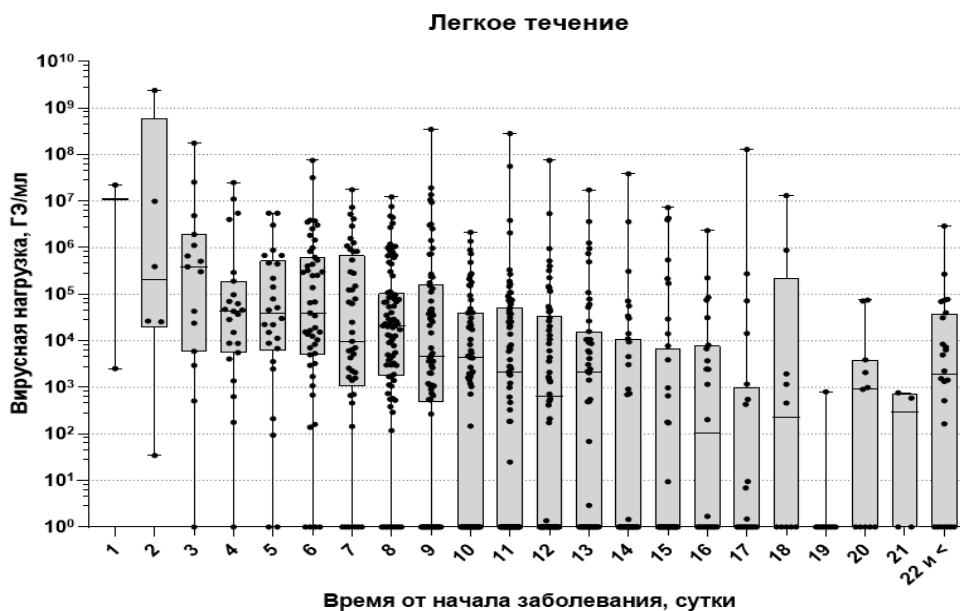


Рисунок 20 – Динамика изменения вирусной нагрузки в назофарингеальных мазках пациентов по дням болезни. Результаты представлены



диаграммами размаха: горизонтальные линии - медианы; прямоугольники – межквартильный диапазон; расширение – минимальное и максимальное

Группировка медианы вирусной нагрузки по неделям болезни позволила установить, что на второй неделе заболевания ( $1,7 \times 10^3$  [0,0 -  $2,8 \times 10^8$ ] ГЭ/мл) уровень вирусной нагрузки относительно первой ( $3,9 \times 10^4$  [ $2,4 \times 10^1$ - $2,4 \times 10^9$ ] ГЭ/мл) достоверно снизился в 22,9 раза (критерий Макнемара с поправкой Бонферрони  $p=0,0126$ ,  $p \leq 0,05$ ). Статистически значимые различия в снижении вирусной нагрузки выявлены на третьей и более неделе заболевания ( $3,3 \times 10^2$  [0,0 -  $3,8 \times 10^7$ ] ГЭ/мл) относительно второй ( $1,7 \times 10^3$  [0,0 -  $2,8 \times 10^8$ ] ГЭ/мл), в эти сроки уровень вирусной нагрузки снизился в 5,2 раза (критерий Макнемара с поправкой Бонферрони  $<0,0001$ ,  $p \leq 0,05$ ), а также на третьей неделе заболевания ( $3,3 \times 10^2$  [0,0 -  $3,8 \times 10^7$ ] ГЭ/мл) относительно первой ( $3,9 \times 10^4$  [ $2,4 \times 10^1$ - $2,4 \times 10^9$ ] ГЭ/мл) – критерий Макнемара с поправкой Бонферрони  $<0,0001$ ,  $p \leq 0,05$ ) (рисунок 21).

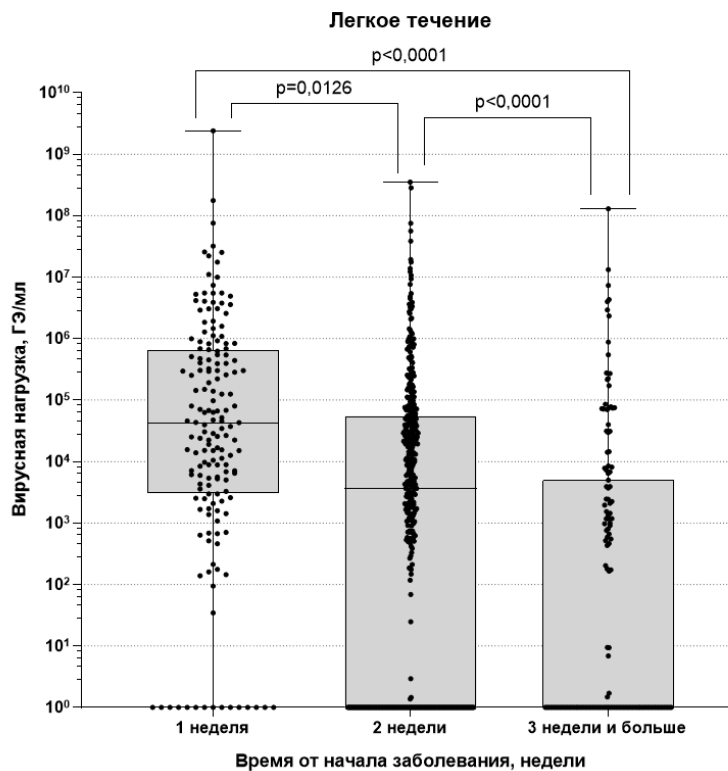


Рисунок 21 – Динамика изменения вирусной нагрузки в назофарингеальных мазках пациентов по неделям болезни. Результаты представлены диаграммами размаха: горизонтальные линии - медианы; прямоугольники – межквартильный диапазон; расширение – минимальное и максимальное.

Проведено сравнение уровня вирусной нагрузки образцов в группах амбулаторных пациентов с легким течением и стационарных пациентов со среднетяжелым и тяжелым течением болезни. Значения  $p$  рассчитаны с использованием критерия Манна-Уитни. При этом достоверно установлено, что уровень вирусной нагрузки в ГЭ/мл у пациентов с легким течением COVID-19 был достоверно ниже уровня вирусной нагрузки у больных со среднетяжелым и тяжелым течением развития COVID-19 ( $p \leq 0,05$ ) (таблица 30).

Таблица 30 – Динамика изменения уровня вирусной нагрузки SARS-COV-2 у пациентов в зависимости от тяжести заболевания

Точка наблюдения	Тяжесть течения заболевания, Ме [IQR] ГЭ/мл		
	легкая	среднетяжелая	тяжелая
1	$3,9 \times 10^4$ [ $2,4 \times 10^1 - 2,4 \times 10^9$ ]	$1,44 \times 10^5$ [ $4,46 \times 10^4 - 1,28 \times 10^6$ ]	$2,83 \times 10^5$ [ $5,41 \times 10^4 - 1,15 \times 10^6$ ]
2	$1,7 \times 10^3$ [ $0,0 - 2,8 \times 10^8$ ]	$1,30 \times 10^5$ [ $3,96 \times 10^4 - 7,86 \times 10^5$ ]	$1,24 \times 10^5$ [ $3,08 \times 10^4 - 6,70 \times 10^5$ ]
3	$3,3 \times 10^2$ [ $0,0 - 3,8 \times 10^7$ ]	$9,61 \times 10^4$ [ $3,29 \times 10^4 - 5,79 \times 10^5$ ]	$2,35 \times 10^5$ [ $2,79 \times 10^4 - 1,27 \times 10^6$ ]

В группе амбулаторных пациентов была дана оценка жизнеспособности вируса SARS CoV-2 в динамике заболевания. Совокупная оценка жизнеспособности вируса в наблюдаемой группе составила  $15,8 \pm 1,6$  % от общего количества ПЦР- положительных образцов. Наиболее высокий процент проб с жизнеспособным вирусом обнаруживался в первой точке (медиана 8 день болезни) и составил  $20,4 \pm 2,4$  %. Во второй точке (медиана 11 день) доля вируса, имеющего ЦПЭ, снизилась в 1,8 раза и составила  $11,6 \pm 2,7$  %. К четвертой

точке (медиана 17 день) образцов с жизнеспособным вирусом мы не зарегистрировала. Полученные результаты свидетельствует о наибольшей эпидемиологической опасности пациентов в первую неделю болезни (таблица 31).

Таблица 31 – Доля назофарингеальных мазков с жизнеспособным вирусом у пациентов с легким течением COVID-19

Тяжесть течения COVID-19	День болезни	Количество обследованных	ПЦР положительный результат	Жизнеспособность вируса SARS-CoV-2	
				ЦПЭ среди ПЦР+	ЦПЭ среди ПЦР+ в группе
	Me [IQR]	абс.	абс.	абс. (%±m)	%±m
Легкое течение	8 [8–11]	542	284	58 (20,4±2,4%)	15,8±1,6
	11 [10-14]	260	138	16 (11,6±2,7%)	
	13 [13-15]	98	54	4 (7,4±3,5%)	
	17 [16-19]	32	17	0	
	20 [17-15]	11	2	0	

При этом, установлена статистически значимая связь между частотой выявления жизнеспособности вируса и тяжестью COVID-19. Показаны достоверные различия между частотой обнаружения жизнеспособного вируса в группах с легким и среднетяжелым ( $p \leq 0,05$ ) и легким и тяжелым течением ( $p \leq 0,05$ ) (рисунок 22).

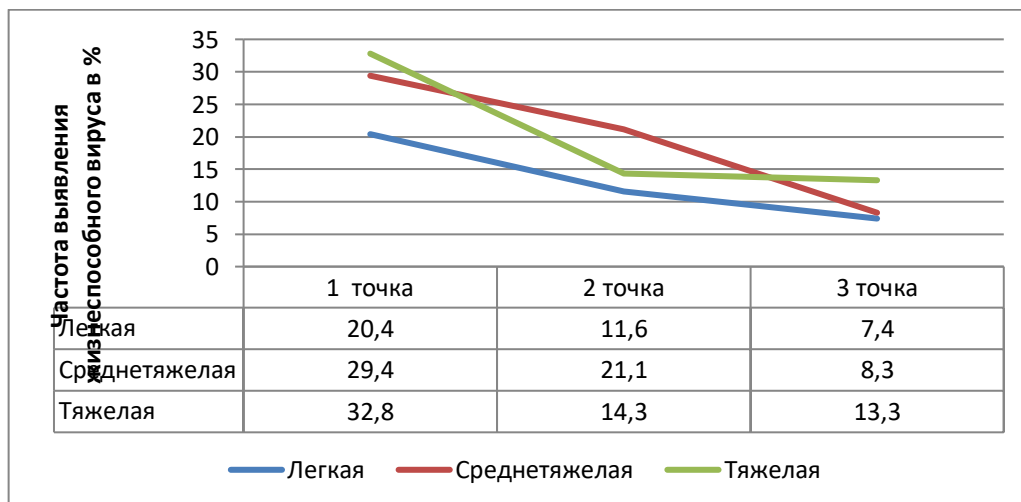


Рисунок 22 – Доля жизнеспособного вируса в сравниваемых группах пациентов с COVID-19: 1,2,3 точки: легкое – среднетяжелое ( $p \leq 0,05$ ); легкое – тяжелое ( $p \leq 0,05$ ); среднетяжелое – тяжелое ( $p \geq 0,05$ ).

Таким образом, по результатам исследования показано, что пациенты с легким течением заболевания обращались за медицинской помощью на 8 [8-11] день болезни, в этот срок детекция РНК вируса SARS-CoV-2 методом ОТ-ПЦР составила  $52,4 \pm 2,1$  %, в последующие сроки наблюдения частота выявления ПЦР-положительных образцов незначительно изменялась от  $51,3 \pm 2,9$  % до  $56,7 \pm 4,9$  % и на 20 [17-15] день уменьшилась больше чем в 2,5 раза и составила  $18,2 \pm 11,6$  % ( $p \geq 0,05$ ).

Пик вирусной нагрузки в верхних дыхательных путях приходился на 8 день болезни с последующим достоверным уменьшением в динамике заболевания: с первой недели заболевания ( $3,9 \times 10^4$  [ $2,4 \times 10^1 - 2,4 \times 10^9$ ] ГЭ/мл) относительно второй ( $1,7 \times 10^3$  [ $0,0 - 2,8 \times 10^8$ ] ГЭ/мл) и третьей ( $3,3 \times 10^2$  [ $0,0 - 3,8 \times 10^7$ ] ГЭ/мл) (критерий Макнемара с поправкой Бонферрони  $< 0,0001$ ,  $p \leq 0,05$ ). При этом уровень вирусной нагрузки у пациентов с легким течением COVID-19 был не высоким по сравнению с тяжелым и среднетяжелым течением ( $p \leq 0,05$ ).

Доля выявления жизнеспособного вируса SARS-CoV-2 у амбулаторных пациентов с легким течением болезни уменьшалась от  $20,4 \pm 2,4$  % до  $7,4 \pm 3,5$  % и к медиане 17 дня не выявлялась.

## **ГЛАВА 7. КРИТЕРИИ ВЫПИСКИ И ДИСПАНСЕРНОГО НАБЛЮДЕНИЯ ПАЦИЕНТОВ С COVID-19 В РАМКАХ ПЕРСониФИЦИРОВАННОГО ПОДХОДА**

В Российской Федерации в период развития пандемии новой коронавирусной инфекции поэтапно создавалась национальная система организации и проведения лечебно-диагностических и санитарно-противоэпидемических мероприятий, направленная на противодействия распространению COVID-19 в зависимости от развития эпидемиологической ситуации внутри страны. В эту систему входили следующие приоритетные мероприятия, проводимые во взаимодействии Роспотребнадзора и Министерства здравоохранения России [36,37]:

- 1) выявление, изоляция и обследование лиц, прибывающих с эпидемиологически неблагополучных территорий, в пунктах пропуска через государственную границу;
- 2) установление возможности и степени контакта с больными (сбор эпидемиологического анамнеза, отслеживание путей передачи);
- 3) соблюдение правил личной гигиены и использование средств индивидуальной защиты, включающие гигиеническое мытье рук, ношение одноразовых медицинских масок, соблюдение социальной дистанции от 1,5 до 2 метров;
- 4) проведение тестирования населения с применением разработанных тест-систем на обнаружение РНК или антигена SARS CoV-2;
- 5) наращивание мощностей медицинских организаций (увеличение коечного фонда, организация дополнительной госпитальной и лабораторной баз, кадрового потенциала) для оказанию медицинской помощи при госпитализации, обследовании и лечении больных (подозрительных) на COVID-19;
- 6) производство противовирусных препаратов, выработка принципов лечения;
- 7) разработка и создание отечественных вакцин, проведение вакцинации и ревакцинации;

- 8) создание системы молекулярно-генетического слежения за изменением циркулирующих вирусов SARS CoV-2;
- 9) еженедельный прогноз заболеваемости и введение ограничительных мероприятий и формирования нового социального поведения: самоизоляция, запрещение массовых мероприятий, временное прекращение работы предприятий общественного питания (за исключением торговли товарами первой необходимости), лечение на дому, самотестирование, работа в удаленном режиме, дистанционное обучение, волонтерство.

Постановлениями Главного государственного санитарного врача РФ от 22.05.2020 г. № 15 (ред. от 20.06.2022) вводятся СП 3.1.3597-20 «Профилактика новой коронавирусной инфекции (COVID-19)» [160] и от 21.06.2023 № 9 рекомендуются мероприятия «По профилактике гриппа, острых респираторных вирусных инфекций и новой коронавирусной инфекции (COVID-19) в эпидемическом сезоне 2023-2024 годов» [53].

Министерство здравоохранения России своим Распоряжением 03 февраля 2020 г. опубликовало первую версию методических рекомендаций «Временные методические рекомендации для медицинских работников по эпидемиологии, диагностике, ведению пациентов и профилактике COVID -19» [161] и систематически изменяет и дополняет этот документ по мере накопления новых научных и практических данных по клинико-эпидемиологическим особенностям COVID-19. В настоящее время порядок оказания медицинской помощи взрослым пациентам с установленным диагнозом COVID-19 определен приказом Министерства здравоохранения РФ 19.03.2020 № 198н (последняя ред. от 22.12.2022 г.) «О временном порядке организации работы медицинских организаций в целях реализации мер по профилактике и снижению рисков распространения новой коронавирусной инфекции COVID-19» [162]., а также временными методическими рекомендациями «Профилактика, диагностика и лечение новой коронавирусной инфекции (COVID-19)» Версия 17 от 14.12. 2022 г. и Версия 18 от 26.10.2023 г. [81,82].

Приказами Департамента здравоохранения города Москвы от 16.09.2022 № 902 [163] и от 18.09.2023 №973 [164]. регламентируются правила по организации стационарной и специализированной медицинской помощи пациентам с гриппом, ОРВИ, новой коронавирусной инфекцией COVID-19, внебольничными пневмониями на эпидемиологический сезон 2022-2023 гг. и 2023-2024 гг., в которых обозначаются алгоритм действий медицинских работников при выявлении больного COVID-19; медицинская сортировка, забор биоматериала и сроки направления его в клиничко-диагностическую лабораторию; госпитализация больного (подозрительного) на COVID-19 в инфекционные стационары в соответствии со стандартным определением случая; соблюдение противоэпидемического режима в медицинских организациях и требований биобезопасности для медицинских работников; учет и передача сведений в Федеральный регистр больных COVID-19; поддержание запаса противовирусных лекарственных препаратов, дезинфекционных средств и средств индивидуальной защиты, а также контроль и ответственные лица за обеспечением мероприятий [163,164].

На основании разработанных документов и полученных в ходе диссертационной работы результатов, выводов и практических рекомендаций мы сформулировали основные принципы персонифицированного клиничко-диагностического обследования пациентов с COVID-19 в условиях стационара, которые сводятся к следующему:

- 1) применение единого комплексного клиничко-лабораторного обследования пациентов, исходя из критериев тяжести течения заболевания;
- 2) использование метода ОТ-ПЦР для обнаружения возбудителя в исследуемом биоматериале (назофарингеальный мазок, копрофильтрат);
- 3) мониторинг уровня вирусной нагрузки и оценка жизнеспособности вируса SARS- CoV-2 в динамике инфекционного процесса;
- 4) учет критериев выписки, перевода из стационара и диспансерного наблюдения пациентов с COVID-19.

С учетом этих принципов предлагается рассмотреть возможность внесения дополнений в разделы «Временных рекомендаций...», касающихся правил выписки, перевода и диспансерного наблюдения за стационарными пациентами, перенесшие COVID-19.

*Алгоритм перевода и выписки пациентов в зависимости от тяжести течения новой коронавирусной инфекции (COVID-19).*

1. Пациенты с тяжелым и крайне тяжелым течением COVID-19, пациенты старше 65 лет с сопутствующими заболеваниями, а также пациенты с легким и среднетяжелым течением COVID-19, но проживающие в коммунальных квартирах, общежитиях, гостиницах и социальных учреждениях круглосуточного пребывания переводятся для долечивания в медицинские организации II типа при соблюдении следующих клинико-лабораторных критериев:

- ✓ стойкое улучшение клинической картины;
- ✓ уровень насыщения крови кислородом на воздухе  $\geq 93\%$ ;
- ✓ температура тела  $< 37,5$  °C;
- ✓ уровень С-реактивного белка  $< 30$  мг/л;
- ✓ уровень лимфоцитов крови  $> 1 \times 10^9$ /л
- ✓ наличие или отсутствие РНК вируса SARS CoV-2.

В случае положительного результата на обнаружения РНК SARS CoV-2 транспортировка при переводе переболевшего пациента COVID-19 проводится с соблюдением требований биологической безопасности

Рекомендуемые нами критерии:

- ✓ уровень ферритина более 250 мкг/л;
- ✓ оценка жизнеспособности вируса у ПЦР- положительных пациентов.

Обоснование предложенных критериев:

Установлено, что повышение уровня С- реактивного белка больше 10 мг/л и выше в группах пациентов с низкой (86,9 %) и высокой (81,3 %) вирусной нагрузкой и ферритина свыше 250 мкг/л в 53,0 % и 77,4 % соответственно служит косвенным доказательством сохраняющейся персистенции SARS-



CoV-2 с возможным развитием вирус индуцированного воспаления и активностью инфекционного процесса. Учитывая это, считаем целесообразным дополнить комплекс персонифицированных лабораторных исследований определением уровня ферритина.

На основании полученных нами результатов показано, что у пациентов с тяжелым течением COVID-19 уровень вирусной нагрузки по  $St_{max}$  – 27,99 ( $2,83 \times 10^5$  ГЭ/мл) и выше. Это необходимо учитывать при оценке тяжести течения заболевания, что может служить критерием неблагоприятного исхода заболевания. В группе пациентов с тяжелым течением COVID-19 уровень вирусной нагрузки, выраженная в ГЭ/мл, может возрасть на 14 день болезни и более. Установленный факт, с высокой вероятностью связан с реинфицированием вирусом SARS-CoV-2, что обосновывает мониторинг показателя вирусной нагрузки у пациентов каждые 3 дня пребывания в стационаре, в том числе для коррекции противовирусной терапии.

Отсутствие жизнеспособного вируса у 97,3 % пациентов после 8 дня болезни вне зависимости от тяжести заболевания у ПЦР-положительных пациентов служить показателем его не заразности при переводе в медицинские организации для долечивания сопутствующих заболеваний. С учетом полученных результатов оценки жизнеспособности вируса у ПЦР-положительных пациентов оценивается эпидемиологическая опасность больного в период реконвалесценции. Это позволит уменьшить затраты на проведение санитарной обработки транспорта и применение сопровождающим медицинским персоналом и водителем средств индивидуальной защиты при доставке таких пациентов на долечивание.

2. Выписка пациентов из стационара для продолжения лечения в амбулаторно-поликлинических условиях проводится при наличии клинико-лабораторных критериев:

- ✓ нормализация температуры тела ниже  $37,5^{\circ}\text{C}$ ;
- ✓ стойкое клиническое выздоровление;

- ✓ увеличение уровня насыщения крови кислородом выше 95 %;
- ✓ снижение уровня С-реактивного белка <10 мг/л;
- ✓ повышение уровня лимфоцитов крови > 1,2 x 10<sup>9</sup>/л;
- ✓ отрицательный результат ОТ-ПЦР не является обязательным.

Рекомендуемые нами критерии:

- ✓ оценка жизнеспособности вируса у ПЦР-положительных пациентов.

Обоснование предложенного критерия

Нами установлено сохранение у 50 % ПЦР-положительных пациентов инфекционной активности вируса до 8 дней заболевания с 95 % достоверным интервалом 7,8-8,2 дней и отсутствие жизнеспособного вируса у 97,3 % пациентов после 14 дня болезни, поэтому оценка жизнеспособности вируса после 8 дня болезни не имеет оснований. Следовательно, можно рекомендовать следующее: оценку жизнеспособного вируса по ЦПЭ для выписки на амбулаторно-поликлиническое лечение ПЦР-положительных реконвалесцентов проводить с 1 по 8 дни болезни.

3. Критериями выздоровления и допуска к трудовой деятельности считаются:

- ✓ нормализация температуры тела ниже 37,2°C;
- ✓ увеличение уровня насыщения крови кислородом выше 96 %.
- ✓ рентгенография и/или КТ перед выпиской для оценки динамики пневмонии не являются обязательными процедурами, но могут быть назначены лечащим врачом по клиническим показаниям

Рекомендуемые нами критерии:

- ✓ отсутствие жизнеспособного вируса по ЦПЭ после 8 дня болезни.

Полученные нами данные об отсутствии жизнеспособного вируса SARS-CoV-2 после 8 дня заболевания позволяют ускорить выписку для занятия трудовой деятельностью без лабораторного обследования методом ОТ-ПЦР при условии, если прошло 8 и более дней после заболевания. Если прошло менее 8 дней, то выписка и допуск пациентов к трудовой деятельности осуществляется при отрицательном результате ОТ-ПЦР. Это может быть учтено и при

принятии решения для выписки пациентов, проживающих в коммунальной квартире, учреждениях социального обслуживания с круглосуточным пребыванием, общежитиях и средствах размещения, предоставляющих гостиничные услуги.

*2. Диспансерное наблюдение за пациентами в зависимости от тяжести течения новой коронавирусной инфекции (COVID-19).*

Диспансерное наблюдение за пациентами проводится только в случае тяжелого течения COVID-19, которым длительно проводилась неинвазивная и/или искусственная вентиляция легких и у которых при выписке имелись признаки значительных функциональных/органических нарушений или существует высокий риск их развития. Порядок проведения диспансерного наблюдения за взрослыми регламентирован приказом Минздрава РФ от 29.03.2019 г. № 173 н «Порядок проведения диспансерного наблюдения за взрослыми» и осуществляется участковым-врачом-терапевтом или врачом кабинета (отделения) медицинской профилактики с привлечением узких специалистов [165].

Цель диспансерного наблюдения – своевременное выявление признаков развития хронических неинфекционных заболеваний. Диспансерное наблюдение пациентов, перенесших COVID-19 рекомендовано проводить в 2 этапа:

1 этап:

- ✓ Дистанционное консультирование через 1 мес. после выписки для оценки общего состояния, выявления депрессии, симптомов подозрительных на тромбоэмболию или других синдромов и заболеваний, требующих внимания.
- ✓ Через 2 мес. после выписки рекомендуется посещение врача и проведение (по показаниям): рентгенографии органов грудной клетки; спирометрии; сатурации в покое и при нагрузке; эхокардиографии и др.

2 этап (углубленное диспансерное наблюдение):

- ✓ Через 3 мес. после выписки дальнейшая тактика диспансерного наблюдения определяется врачом при наличии жалоб пациента в зависимости от результатов осмотра и обследования.

#### Наши рекомендации:

- ✓ в комплекс персонифицированных лабораторных исследований ввести определение уровня ферритина, как маркера персистенции вируса SARS-CoV-2.
- ✓ обнаружение РНК вируса SARS-COV-2 в копрофильtrate с определением вирусной нагрузки.

#### Обоснование рекомендаций:

Установлено, что повышение уровня С-реактивного белка от 10 мг/л и выше в группах пациентов с низкой (86,9%) и высокой (81,3 %) вирусной нагрузкой и ферритина свыше 250 мкг/л в 53,0 % и 77,4 % соответственно служит косвенным доказательством сохраняющейся персистенции SARS-CoV-2 с развитием вирус-индуцированного воспаления и активности инфекционного процесса. Учитывая это, считаем целесообразным дополнить комплекс персонифицированных лабораторных исследований определением уровня ферритина.

В нашем исследовании показано, что доля положительных находок РНК вируса в копрофильtrate составила 63%. Продолжительность периода обнаружения РНК установлена до 29 дней (срок наблюдения) и медиана вирусной нагрузки по  $C_t$  равна 29,6 с 95 % доверительным интервалом от 28,1 до 30,5. Это не исключает вероятность фекально-орального механизма передачи инфекции и риска инфицирования лиц, находящихся в окружении больного COVID-19, особенно при наличии у него жалоб со стороны желудочно-кишечного тракта (тошнота, рвота, диарея, боли в животе).

Таким образом, вспышка новой коронавирусной инфекции, вызванная SARS-CoV-2, стала экстраординарным событием, а также серьезным испытанием для современной системы здравоохранения в мире и России. В этих

условиях были разработаны и проводились мероприятия по сдерживанию распространения пандемии в нашей стране и особую актуальность приобрели вопросы организации и оказания медицинской помощи.

Предлагаем персонифицированный подход для обоснования долечивания, выписки и диспансерного наблюдения на основании научно-обоснованных данных, полученных в результате проведенного клинико-лабораторного скрининга пациентов с COVID-19 (рисунок 23):



Рисунок 23 – Персонифицированный подход к выписке и диспансерному наблюдению пациентов с COVID-19

1. Уровень вирусной нагрузки должен учитываться при оценке тяжести течения заболевания, так как он может служить критерием неблагоприятного исхода;
2. Мониторинг вирусной нагрузки в динамике заболевания необходим для оценки повторного инфицирования в период пребывания в стационаре.
3. Дополнительным показателем персистенции вируса SARS-CoV-2 является уровень ферритина свыше 250 мкг/л.
4. Дополнительным методом лабораторной диагностики является индикация РНК SARS-COV-2 в копрофильtrate, как минимум до 29 дня болезни (срок

наблюдения) для этиологического подтверждения и определения риска инфицирования фекально-оральным механизмом передачи.

5. У пациентов с ПЦР -положительным результатом оценка жизнеспособности вируса SARS-COV-2 после 14-го дня болезни не имеет оснований. В подавляющем большинстве случаев оценка жизнеспособности вируса проводится до 8-го дня болезни. Полученные данные позволяют определить контагиозный период у пациентов с COVID-19, сроки изоляции и продолжительности медицинского наблюдения.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Наши исследования и наблюдения за пациентами с новой коронавирусной инфекцией в период с 17.11.2020 г. по 03.02.2021 г. приходились на первоначало третьей волн развития эпидемии COVID-19 в г. Москве с циркуляцией геновариантов Ухань, Альфа и Дельта. Ежедневный показатель заболеваемости в этот напряженный для здравоохранения период составлял 37,32 на 100 тыс. населения (‰), госпитализации – 9,2 ‰, смертности – 0,48 ‰. Рост заболеваемости был связан со снятием ограничительных мероприятий и восстановлением социальной активности населения, не высоким показателем популяционного иммунитета (22,1 %), значительной долей серопозитивных лиц с бессимптомным течением заболевания (82,4 %) и отсутствием вакцинации.

Проведенные исследования позволили установить, что пациенты с лабораторно подтвержденным диагнозом COVID-19 поступали на стационарное лечение в среднем на 7 [5-8] день заболевания. Частота обнаружения РНК вируса SARS-CoV-2 в динамике заболевания характеризовалась снижением с  $54,72 \pm 2,65$  % (медиана 8 дня) до  $26,69 \pm 1,89$  % к 11 дню ( $p \leq 0,05$ ) и сохранялась на стабильном уровне до медианы 13 дня ( $p \geq 0,05$ ). При этом на последнем сроке наблюдения мы отмечали некоторое увеличение частоты ПЦР-положительных результатов при тяжелом течении заболевания по сравнению со среднетяжелым течением:  $30,61 \pm 4,66$  % и  $25,71 \pm 3,69$  % соответственно ( $p \geq 0,05$ ). Соотношение мужчин (41,6 %) и женщин (58,4 %) при госпитализации не имело статистически достоверных различий ( $p \geq 0,05$ ), а у пациентов старших возрастных групп (больше 70 лет) COVID-19 проявлялся тяжелым течением заболевания с высоким показателем летальности (10,68 %) в сочетании с коморбидной патологией ( $p \leq 0,05$ ).

Возраст стационарных пациентов варьировал от 18 до 97 лет, медиана возраста составила 67 (58,0-78,5) лет. Доминировали пациенты в возрасте от

51 до 90 лет ( $84,1 \pm 1,5$  %); на возраст 61-70 лет приходилось  $26,7 \pm 1,8$  %, 71-80 лет –  $23,3 \pm 1,7$  %, 81-90 лет –  $18,3 \pm 1,6$  % и 51-60 лет –  $15,8 \pm 1,5$  %. Доля госпитализированных лиц в возрасте до 30 лет и после 91 года была минимальной и составила по  $1,2 \pm 0,5$  %.

Преимущественно заболевание протекало в среднетяжелой форме – 349 ( $59,6 \pm 2,03$ %), тяжелое течение заболевания отмечено у 234 ( $39,9 \pm 2,02$ %) пациентов, и у трех ( $0,5 \pm 0,3$  %) имело легкое течение. Летальный исход был зарегистрирован в 39 случаях, что составило  $6,66 \pm 1,03$ % от общего числа стационарных пациентов. Определение факторов, влияющих на неблагоприятное течение COVID-19 у пациентов с коморбидным фоном, позволяли оптимизировать тактику введения пациентов на раннем этапе оказания квалифицированной и своевременной медицинской помощи, а также рационального распределения ресурсов здравоохранения при маршрутизации и сортировке большого числа пациентов.

Анализ клинико-лабораторных данных показал, что тяжелое течение новой коронавирусной инфекции достоверно ассоциировал с возрастом, в группе 70 лет и старше заболевание протекало тяжелее, чем в группе пациентов среднетяжелого течения. Основные клинические проявления в группах пациентов с различной степенью тяжести имели типичный клинический симптомокомплекс, по частоте встречаемости и достоверности можно констатировать, что преобладали симптомы интоксикации у 100 % стационарных пациентов: отмечалась слабость, катарально-респираторный синдром был не ярко выражен, симптомы поражения органов дыхания в виде кашля отмечали в обеих группах наблюдения  $93,8\%$ - $90,9\%$ , поражение сердечно-сосудистой системы чаще проявлялось изменениями аскультативной картины с развитием глухости тонов сердца, нарушениями ритма, среди неврологических проявлений доминировало головокружение до 20 %, развивались симптомы поражения желудочно - кишечного тракта. При этом, важно отметить, что симптомы



поражения желудочно-кишечного тракта наиболее часто ассоциировали с более легким течением заболевания.

Значимыми коморбидными заболеваниями, ассоциированными с тяжестью течения были артериальная гипертензия с частотой встречаемости до 85,7% в группе пациентов с тяжелым течением, а также избыточная масса тела с частой встречаемости до 72,0% у пациентов с тяжелым течением болезни. Артериальная гипертензия достоверно определяла тяжесть COVID-19, даже в случае наличия только одного коморбидного состояния. При наличии одновременно 4-х и более коморбидных состояний заболевание протекало тяжело, наиболее частым сочетанием нозологий были артериальная гипертензия, сердечно-сосудистые заболевания и ожирение. Летальность при тяжелом течении ассоциирована с наличием артериальной гипертензии у 18,1% умерших, с сердечно-сосудистыми заболеваниями в 26,2 %.

Оценка основных острофазовых показателей воспаления СРБ, ИЛ-6 и ферритина показала, что ряд из них коррелировали с активностью процесса у пациентов с новой коронавирусной инфекцией и уровнем вирусной нагрузки. У пациентов разной степени тяжести в динамике болезни мониторировали уровень вирусной нагрузки методом ОТ- ПЦР. Проведен корреляционный анализ высокой (до Ct 25 ) и низкой вирусной нагрузки ( Ct от 25 и выше) с рядом лабораторных показателей активности инфекционного процесса.

В качестве надежного показателя активности инфекционного процесса зарекомендовал себя ферритин, повышение которого свыше 250 мкг/л было зарегистрировано в группе пациентов с высокой вирусной нагрузкой у 24 пациентов (77,4 %), несколько реже повышение этого показателя наблюдался в группе пациентов с низкой вирусной нагрузкой – в 53,0 % случаев.

Не менее чувствительным был классический острофазовый показатель воспаления – СОЭ и СРБ. В группе больных с низкой вирусной нагрузкой повышение этого показателя свыше 30 мм/ч наблюдалось у 31 (49,2% %) больных, а в группе с высокой вирусной нагрузкой СОЭ был зарегистрирован в

80,0% случаев. Десятикратное повышение СРБ и более было зарегистрировано у пациентов в группе с низкой и высокой вирусной нагрузкой: 86,9 % и 81,3 % соответственно.

Полученные данные дают основание постулировать, что для косвенного подтверждения сохраняющейся виремии (SARS-CoV-2) и определения активности инфекционного процесса целесообразно оценочно использовать динамических следующих острофазовых маркеров: СРБ при его десятикратном повышении и более, показателя СОЭ при его повышении с 30 мм.рт.ст и более, ферритин – повышение 250 мкг/л и более. Правильная интерпретация этих показателей на индивидуальном уровне, в свою очередь позволят своевременно адекватно проводить этиотропную противовирусную терапию, с целью предотвращения прогрессирования заболевания с развитием острого респираторного дистресс-синдрома, определяющих неблагоприятный прогноз болезни.

В работе был проведен мониторинг вирусной нагрузки в динамике инфекционного процесса. Позднее поступление пациентов в стационар (медиана составила 8 дней) определяло не столь высокие уровни вирусной нагрузки. В процессе пребывания пациентов в стационаре детекция РНК вируса SARS-CoV-2 вне зависимости от тяжести заболевания на 8 сутки снижалась до  $54,72 \pm 2,65$  % ( $p \leq 0,05$ ), на 11 день она составила  $26,69 \pm 1,89$  % ( $p \leq 0,05$ ), на 13-14 день –  $27,73 \pm 2,90$  % ( $p \leq 0,05$ ). При тяжелом течении болезни в сравнении со среднетяжелым ( $25,71 \pm 3,69\%$ ) на 13-14 день отмечался некоторый статистически не значимый подъем частоты выявления ПЦР-положительных образцов до  $30,61 \pm 4,66$  % ( $p \geq 0,05$ ).

Количественный показатель вирусной нагрузки в ГЭ/мл в назофаренгиальных мазках у групп наблюдения характеризовалась вариабельностью значений и высоким уровнем данного показателя у пациентов с тяжелым течением заболевания: медиана  $St_{max}$  составила 27,99 или  $2,83 \times 10^5$  ГЭ/мл, превышая аналогичные показатели в 1,97 раз у пациентов со среднетяжелым

течением заболевания –  $St_{max}$  28,86 ( $1,44 \times 10^5$  ГЭ/мл). При оценке медианы минимальные показатели вирусной нагрузки при тяжелом течении  $St_{min}$  29,67 или  $1,24 \times 10^5$  ГЭ/мл по сравнению со среднетяжелым течением отличались в 1,29 раз и составили  $St_{min}$  29,58 ( $9,61 \times 10^4$  ГЭ/мл). Полученные результаты свидетельствуют о значимости вирусной нагрузки и ее оценки при прогнозировании тяжести течения болезни.

При сравнении медианы уровня вирусной нагрузки, выраженной в ГЭ/мл, в динамике инфекционного процесса в группах госпитализированных пациентов с COVID-19 выявлено статистически достоверное уменьшение вирусной нагрузки при среднетяжелом течении заболевания с 8 дня болезни ( $1,44 \times 10^5$  ГЭ/мл) по сравнению с 13-ым днем ( $9,61 \times 10^4$  ГЭ/мл) ( $p \leq 0,05$ ). При тяжелом течении не установлено значимых различий между 8 днем ( $2,83 \times 10^5$  ГЭ/мл) и 14 днем ( $2,35 \times 10^5$  ГЭ/мл) заболевания и вирусной нагрузкой ( $p \geq 0,05$ ), однако к концу второй недели (14 день) было отмечено неожиданное увеличение уровня вирусной нагрузки, что может свидетельствовать о возможности повторного инфицирования в период пребывания в стационаре. Нельзя не брать во внимание, что в ранний период пандемии госпитализация пациентов осуществлялась, зачастую, в одну палату без учета сроков болезни.

В связи с этим дальнейшим этапом наших исследований было обоснование периода заразительности больного COVID-19 и сроков его изоляции, понимание того, как долго больные являются источниками инфекции для восприимчивых лиц чрезвычайно важно с эпидемиологической точки зрения, что реализовано в результате одновременного анализа ПЦР-положительного результата с высокой вирусной нагрузкой с исследованием в этих образцах жизнеспособности вируса *in vitro* по цитопатогенному эффекту (ЦПЭ).

Предложенный нами подход позволил установить, что только 28,8 % ПЦР-положительных назофаренгиальных мазков стационарных больных с тяжелым и среднетяжелым течением COVID-19 содержат вирус SARS-CoV-2, сохраняющий жизнеспособность (наличие ЦПЭ). При этом доля

жизнеспособного вируса не имела достоверных различий в группах пациентов с тяжелым и среднетяжелым течением, составляя 26,4 % и 32,8 % соответственно (точный критерий Фишера= 0,253,  $p \geq 0,05$ ). Было показано, что вне зависимости от тяжести течения заболевания в назофарингеальных мазках пациентов, с наличием ЦПЭ, значение вирусной нагрузки достоверно превышало соответствующие показатели у пациентов, в образцах биоматериала которых не обнаружен жизнеспособный вирус: Ct 26,0 или  $1,2 \times 10^6$  ГЭ/мл и Ct 29,5 или  $8,5 \times 10^4$  ГЭ/м (критерий Манна Уитни меньше 0,001,  $p \leq 0,05$ ). Эти данные подтверждают большую вероятность проявления жизнеспособности вируса SARS-CoV-2 с увеличением уровня вирусной нагрузки и свидетельствуют о взаимосвязи этих двух показателей.

Далее мы провели оценку сохранения жизнеспособности вируса по наличию ЦПЭ в динамике развития заболевания. Полученные результаты выявили общую тенденцию снижения жизнеспособности вируса у всех заболевших ( $p \leq 0,05$ ). В когорте пациентов со среднетяжелым течением COVID-19 жизнеспособный вирус обнаруживался в 26,4 % случаев в среднем на 8 [6-9] день заболевания, в 17,8 % – на 11 [9-13] и в 3,4 % случаев на 13 [11-15] день заболевания ( $p \leq 0,05$ ). После 13 дня жизнеспособный вирус в биологическом материале пациентов не определялся. В группе пациентов с тяжелым течением заболевания доля жизнеспособного вируса была выше, чем при среднетяжелом течении заболевания, но тенденция к снижению сохранялась. Так частота жизнеспособного вируса достоверно уменьшалась ( $p \leq 0,05$ ) в динамике болезни с 32,8 % в среднем на 8 [6-10] день до 14,3 % случаев на 11 [9-13] день и сохранялась на стабильном уровне (8,5 %;  $p \geq 0,05$ ), а позже 14 дня не определялась.

Учитывая, что не для всех пациентов известно в какое время после появления симптомов произошла элиминация вируса, был проведен дополнительный эксперимент с анализом инфицированных клеток 293Т/ACE2 материалом от больных в динамике. Показано, что доля образцов, содержащих

жизнеспособный вирус с учетом цензурированных данных (наблюдения осуществляли до отсутствия вируса, способного к репликации) уменьшалась от 71,0 % на 7 сутки до 11,6 % на 14 сутки и составила 2,27 % на 21 сутки наблюдения. Анализ методом Каплана-Майнера показал, что у 50 % пациентов в среднем к 8 [7,8-8,2] дню болезни можно ожидать элиминацию вируса даже при наличии положительного результата в ПЦР, а после 14 дня 95 % пациентов с положительным результатом ОТ-ПЦР на РНК SARS-CoV-2 не содержали жизнеспособного вируса. Это позволило сделать предположение о сроках эпидемиологической опасности больного человека, как источника возбудителя инфекции. На основании полученных данных можно констатировать, что жизнеспособность вируса SARS-CoV-2 ограничена сроками от момента заболевания и не превышает 8 дней, что обосновывает сроки изоляции пациентов с COVID-19. Пациенты, выделяющие жизнеспособный вирус, являются эпидемиологически опасными для других пациентов и медицинского персонала и должны размещаться в отдельной палате (боксе) с соблюдением строгого противоэпидемического режима, в том числе при транспортировке и (или) переводе в другие медицинские организации для минимизации рисков передачи возбудителя инфекции.

Для группы амбулаторных пациентов с легким течением COVID-19, также была проведена оценка вирусной нагрузки и жизнеспособности вируса SARS-CoV-2. Установлено, что пациенты с легким течением заболевания обращались за медицинской помощью в среднем на 8-ой [8-11] день болезни. В эти сроки детекция РНК вируса SARS-CoV-2 методом ОТ-ПЦР составила  $52,4 \pm 2,1$  %, что совпадало с частотой выявления РНК у больных со среднетяжелым и тяжелым течением болезни. В отличие от стационарных пациентов, доля ПЦР-положительных образцов сохранялась практически на одном уровне ( $51,3 \pm 2,9$  -  $56,7 \pm 4,9$ ) до медианы 17 [16-19] дня и только на 20 [17-15] день резко уменьшалась до  $18,2 \pm 11,6$  % ( $p \geq 0,05$ ) и в последующие сроки наблюдения РНК коронавируса SARS-CoV-2 не выявлялась. Пик вирусной

нагрузки в верхних дыхательных путях приходился также на 8 день с последующим достоверным уменьшением с первой недели заболевания ( $3,9 \times 10^4$  ГЭ/мл) по сравнению со второй ( $1,7 \times 10^3$  ГЭ/мл) и третьей ( $3,3 \times 10^2$  ГЭ/мл) (критерий Макнемара с поправкой Бонферрони  $< 0,0001$ ,  $p \leq 0,05$ ). Однако, установлен более низкий уровень вирусной нагрузки у пациентов с легким течением COVID-19 по сравнению с тяжелым и среднетяжелым течением ( $p \leq 0,05$ ). Продолжительность выявления жизнеспособного вируса SARS-CoV-2 по ЦПЭ при легкой форме чаще обнаруживалась на первой неделе болезни, однако была достоверно ниже в сравнении с тяжелым и среднетяжелым течением болезни ( $p \leq 0,05$ ) и не выявлялась к медиане 17 дня.

Одним из направлений исследования стала детекции РНК SARS-CoV-2 и оценка уровня вирусной нагрузки в копрофильtrate у госпитализированных пациентов, в клинической картине которых, наряду с поражением респираторного тракта были выявлены симптомы поражения желудочно-кишечного тракта. Впервые в России показано, что РНК SARS-CoV-2 обнаруживалась в копрофильtrate от больных с лабораторно подтвержденным диагнозом COVID-19 в 37,0 % случаев, медиана вирусной нагрузки в копрофильtrate по Ct установлена в пределах 29,6 [28,1-30,5]. Продолжительность выявления специфической РНК превышала таковую при исследовании материала из респираторного тракта и составляла 29 дней (срок наблюдения). Это обосновывает исследование данного субстрата, как дополнительного биоматериала от заболевших лиц для этиологической диагностики COVID-19. Полученные результаты выявления РНК SARS-CoV-2 не позволяют исключить наличие фекально-орального механизма передачи инфекции, что подтверждается данными других исследователей по индикацией РНК SARS CoV-2 в сточных водах и требуют дальнейшего изучения.

На основании полученных в ходе диссертационной работы мы сформулировали основные принципы клинико-диагностического обследования пациентов с COVID-19 в условиях стационара, которые сводятся к следующему:

1) применение единого комплексного клинико-лабораторного обследования пациентов, исходя из критериев тяжести течения заболевания;

2) использование метода ОТ-ПЦР для обнаружения возбудителя в исследуемом биоматериале;

3) выявление уровня вирусной нагрузки и оценка инфекционной активности вируса SARS CoV-2 в динамике инфекционного процесса.

С учетом этих принципов научно-обоснованы критерии клинико-лабораторного скрининга пациентов с COVID-19 в условиях стационара при обосновании долечивания, выписки и сроков диспансерного наблюдения, включающие:

1. Показатель вирусной нагрузки в среднем 27,99 ( $2,83 \times 10^5$  ГЭ/мл) и выше необходимо учитывать при оценке тяжести течения и возможности неблагоприятного исхода заболевания.

2. Мониторинг вирусной нагрузки в динамике заболевания необходим для оценки возможности повторного инфицирования в период пребывания в стационаре.

3. Дополнительным достоверным показателем персистенции вируса SARS-CoV-2 является уровень ферритина, медиана которого составляет 642 нг/мл [273 – 1177,5].

4. Дополнительным подходом к этиологической диагностике является определение РНК SARS COV-2 в копрофильtrate методом ОТ-ПЦР с обоснованием возможного риска инфицирования фекально-оральным механизмом передачи.

4. Обследование пациентов с ПЦР положительным результатом для оценки жизнеспособности вируса SARS COV-2 после 8 дня болезни не имеет оснований. Оценка жизнеспособности вируса проводится с 1 по 8 день болезни. Полученные данные позволяют обосновать период заразительности больных с COVID-19, сроки изоляции и медицинского наблюдения.

Проведенные исследования вирусной нагрузки и оценка жизнеспособности вируса в динамике заболевания позволят оптимизировать и внедрить лечебно-диагностический алгоритм в практику. Дальнейшие исследования в этом направлении могут расширить обоснование применения противовирусных лекарственных препаратов для лечения пациентов с COVID. Детекция РНК SARS-CoV-2 и определение уровня вирусной нагрузки в копрофильtrate и сточных водах в ассоциации с уровнем заболеваемости на различных территориях России могут существенно дополнить изучение других механизмов передачи новой коронавирусной инфекции.

Комплексный подход с оценкой клинических, вирусологических параметров, результатов лабораторного и дополнительных методов исследования дал возможность предложить принципы и научно-обоснованы критерии клинико-лабораторного скрининга пациентов с COVID-19 в условиях стационара при обосновании долечивания, выписки и сроки диспансерного наблюдения.



## ВЫВОДЫ

1. Тяжелое течение COVID-19 развивалось, преимущественно, у пациентов с артериальной гипертензией или при наличии четырех и более коморбидных патологий, наиболее частыми из которых были артериальная гипертензия, сердечно-сосудистые заболевания и ожирение. В группе пациентов с летальным исходом доля больных с артериальной гипертензией составила 18,1 %, с другими заболеваниями сердечно-сосудистой системы – 26,2 %.

2. Персистенция SARS-CoV-2 в образцах носоглоточных мазков и пик активности инфекционного процесса коррелировал с двумя воспалительными маркерами – СРБ и ферритин. Повышение показателя СРБ было зарегистрировано в группах пациентов как с низкой, так и с высокой вирусной нагрузкой, тогда как достоверное повышение ферритина свыше 250 мкг/л отмечено в группе пациентов с высокой вирусной нагрузкой в 77,4% случаев.

3. Вирусная нагрузка в назофарингеальных мазках характеризовалась вариабельностью значений и достоверным уменьшением в динамике заболевания у ПЦР-положительных пациентов. Отмечена тенденция к более высоким показателям вирусной нагрузки в группе пациентов с тяжелым течением. Медиана вирусной нагрузки на первой неделе и третьей неделе болезни при тяжелом течении превышала аналогичные показатели соответственно в 2,0 и 2,4 раза у пациентов со среднетяжелым течением заболевания, что свидетельствует о значимости данного показателя и при оценки тяжести течения болезни.

4. У пациентов с тяжелом течением COVID-19 и наличием выраженного коморбидного статуса установлено повторное повышение уровня вирусной нагрузки к 14 дню болезни до  $2,35 \times 10^5$  ГЭ/мл, что с высокой вероятностью может свидетельствовать о повторном инфицировании в условиях стационара.

5. Дополнительным подходом к этиологической диагностике служит определение РНК SARS-COV-2 в копрофильtrate методом ОТ-ПЦР. При исследовании материала из респираторного тракта РНК SARS-COV-2 обнаруживалась в течение 12 дней, тогда как индикация РНК SARS-COV-2 в копрофильtrate достигала 29 дней.

6. Медиана срока сохранения жизнеспособного вируса SARS-COV-2 в респираторных мазках у стационарных пациента составила в среднем 8 [7,8-8,2, ДИ 95%] дней, а у амбулаторной группы – 13 [13-15, ДИ 95%] дней.

7. Предложены критерии лабораторного скрининга пациентов с COVID-19 в условиях стационара при обосновании выписки и диспансерного наблюдения, основанные на мониторинге вирусной нагрузки, жизнеспособности SARS-CoV-2 и уровня ферритина в сыворотке крови в динамике заболевания.

## ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. У стационарных пациентов с диагнозом COVID-19 целесообразно в комплекс лабораторных исследований включить определение уровня СРБ и ферритина. Сохраняющиеся десятикратное увеличение СРБ и более и ферритина более 250 мг/л могут служить маркерами персистенции SARS CoV-2.

2. При оценке объективного статуса пациентов с COVID-19 наличие 4-х и более коморбидных состояний, преимущественно артериальной гипертензии, ожирения, сердечно-сосудистых заболеваний является достоверным фактором риска тяжелого течения. Наличие сердечно-сосудистой патологии ассоциировано с риском развития летального исхода, что определяет выработку оптимальной тактики ведения этой группы больных.

3. Рекомендуется проведение клинического наблюдения и мониторинга вирусной нагрузки в группе пациентов с тяжелым течением в динамике заболевания. Стабильно повышенный уровень вирусной нагрузки до значения  $10^5$  ГЭ/мл и выше рассматривать, как показатель возможного повторного инфицирования в период пребывания пациента в стационаре.

4. В рамках персонифицированной диагностики COVID-19 ввести определение жизнеспособности вируса SARS-CoV-2 у ПЦР- положительных пациентов. Это позволит сократить сроки пребывания пациентов в стационарах, уменьшить количество дней нетрудоспособности у пациентов и даст возможность оценить контагиозный период у пациентов.

5. Дополнительным молекулярно-генетическими подходом к этиологической диагностики COVID-19 может служить определение РНК вируса SARSCoV-2 в копрофильtrate.

## ПЕРСПЕКТИВЫ ДАЛЬНЕЙШЕГО ИССЛЕДОВАНИЯ

Проведенные исследования вирусной нагрузки и оценка жизнеспособности вируса в динамике заболевания позволят активно применить эти данные на практике. Полученные результаты дадут возможность оптимизировать и внедрить в практику персонафицированный лечебно-диагностический алгоритм. Дальнейшие исследования в этом направлении позволят оценить эффективность применения противовирусных препаратов на основании проведения контроля вирусной нагрузки в динамике заболевания. Полученная доказательная база применения лекарственных средств ляжет в основу создания плана лечебных мероприятий. Дальнейшие исследования по детекции РНК SARS-CoV-2 и мониторинг вирусной нагрузки в копрофильtrate и сточных водах в ассоциации с уровнем заболеваемости на различных территориях России позволит определить наличие дополнительного фекально-орального механизма передачи COVID-19.

## СПИСОК ОСНОВНЫХ СОКРАЩЕНИЙ

АГ – артериальная гипертензия

БА – бронхиальная астма

ВН – вирусная нагрузка

ДАП – диффузная альвеолярное повреждение

ДВС – иссемированное внутрисосудистое свертывание

ДИ – доверительный интервал

ЖКТ – желудочно-кишечный тракт

ИБС – ишемическая болезнь сердца

МСКТ – мультиспиральная компьютерная томография

ОДН – острая дыхательная недостаточность

ОРВИ – острая респираторная вирусная инфекция

ОРДС – острый респираторный дистресс-синдром

ОТ-ПЦР – полимеразная цепная реакция с обратной транскрипцией

СД – сахарный диабет

ССЗ – сердечно-сосудистые заболевания

ХГИМ – хроническая ишемия головного мозга

ХСН – хроническая сердечная недостаточность

ЦПЭ – цитопатический эффект

COVID-19 – коронавирусная инфекция 2019

GH-CSF – гланулоцитарный макрофагальный колониестимулирующий фактор

IgA – иммуноглобулинс класса А

IgG Nc – иммуноглобулинс класса G к нуклеокапсиду

IgG RBD – иммуноглобулинс класса G к RB-домен

IgM – иммуноглобулинс класса M

S-белок – спайковый белок

**СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ**

1. Вирусная нагрузка при COVID-19: недооценённый клинический и эпидемиологический маркер [Текст] / Е.А. Орлова, О.Б. Огарков, С.Н. Жданова [и др.] // *Acta biomedical scientific.* – 2021. – Т.6, № 1. – С. 33–39.
2. Transmission of COVID-19 in 282 clusters in Catalonia, Spain: a cohort study [Text] / M. Marks, P. Millat-Martinez, D. Ouchi [et al.] // *Lancet Infect Dis.* – 2021. – Vol. 21, N 5. – 629–636.
3. Quantifying the relationship between SARS-CoV-2 viral load and infectiousness [Text] / A. Marc, M. Keriou, F. Blanquar [et al.] // *Elife.* – 2021. – Vol. 27, N. 10. – P. e69302.
4. Viral load at hospitalization is an independent predictor of severe COVID-19 [Text] / H. Waller, N. Carmona-Vicente, A. James [et al.] // *Eur. J. Clin. Invest.* – 2023. – Vol. 53, N 1. – P. e13882.
5. Massachusetts Consortium for Pathogen Readiness. SARS-CoV-2 viral load is associated with increased disease severity and mortality [Text] / J. Fajnzylber, J. Regan, K. Coxen [et al.] // *Nat. Commun.* – 2020. – Vol. 11, N. 1. – P. 5493.
6. Hospital COVID-19 working team. SARS-CoV-2 viral load in nasopharyngeal swabs is not an independent pre-dictor of unfavorable outcome [Text] / S. Salto-Alejandre, J. Berastegui-Cabrera, P. Camacho-Martínez [et al.] // *Sci. Rep.* – 2021. – Vol. 11, N 1. – P. 12931.
7. Fecal viral shedding in COVID-19 patients: Clinical significance, viral load dynamics and survival analysis [Text] / X. Wang, J. Zheng, L. Guo [et al.] // *Virus Res.* – 2020. – Vol. 289. – P. 198147.
8. Detectable 2019-n CoV viral RNA in blood is a strong indicator for the further clinical severity [Text] / W. Chen, Y. Lan, X. Yuan [et al.] // *Emerg. Microbes Infect.* – 2020. – Vol. 9, N 1. – P. 469–473.
9. Comparison of different samples for 2019 novel coronavirus detection by nucleic acid amplification tests [Text] / C. Xie, L. Jiang, G. Huang [et al.] // *Int. J. Infect. Dis.* – 2020 – Vol. 93. – P. 264-267.
10. COVID-19 Investigation Team. Clinical and virologic characteristics of the first 12 patients with coronavirus disease 2019 (COVID-19) in the United States [Text]. // *Nat. Med.* – 2020. – Vol. 26, N 6 – P. 861–868.
11. CDC. Underlying medical conditions associated with high risk for severe COVID-19: Information for healthcare providers. Centers for Disease Control and Prevention. Available at 2021. – Mar 29, Accessed: December 1. – 2021.

12. COVID-19 coronavirus pandemic. [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://www.worldometers.info/coronavirus/> (дата обращения: 05.08.2023 г.).
13. Львов, Д.К. Истоки пандемии COVID-19: Экология и генетика коронавирусов (Betacoronavirus: Coronaviridae) SARS-CoV, SARS-CoV-2 (подрод Sarbecovirus), MERS-CoV (подрод Merbecovirus) [Текст] / Д.К. Львов, С.В. Альховский // Вопросы вирусологии. – 2020. – Т. 65, №2. – С. 62–70.
14. Identification of a Novel Coronavirus in Patients with Severe Acute Respiratory Syndrome [Text] / C. Drosten, S. Günther, W. Preiser, S. [et al.] // New England Journal of Medicine. – 2003. – Vol. 348, N 20. – P. 1967–1976.
15. Касьяненко, К.В. Коронавирусные заболевания: уроки, современный опыт и перспективы [Текст] / К.В. Касьяненко, И.В. Потехин, Ю.И. Лященко // Историко-биологические исследования. – 2022. – Т. 14, № 4. – С. 114–123.
16. Бутаев, Т.М. Эпидемиологические аспекты и профилактика новой коронавирусной инфекции (COVID-19): обзор литературы [Текст] / Т.М., Бутаев А.С. Цирихова, Д.В. Кабалоева, Д.О. Кудухова // Анализ риска здоровью. – 2021. – № 3. – С. 167–176.
17. Ближневосточный респираторный синдром. Объединенные Арабские Эмираты: Всемирная организация здравоохранения [Электронный ресурс]. – Режим доступа <https://www.who.int/ru/emergencies/disease-outbreak-news/item/2023-DON478> (дата обращения: 05.08.2023).
18. Breban, R. Interhuman transmissibility of Middle East respiratory syndrome coronavirus: estimation of pandemic risk [Text] / R. Breban, J. Riou, A. Fontanet // The Lancet. – 2013. – Vol. 382, N 9893. – P. 694–699.
19. Hui, D.S. Advancing Priority Research on the Middle East Respiratory Syndrome Coronavirus [Text] / D.S. Hui, A. Zumla // Journal of Infectious Diseases. – 2014. – Vol. 209, N 2. – P. 173–176.
20. Sousa, R. MERS coronavirus: data gaps for laboratory preparedness [Text] / R. de Sousa, C. Reusken, M. Koopmans // Journal of Clinical Virology. – 2014. – Vol. 59, N 1. – P. 4–11.
21. Wang, C. A novel coronavirus outbreak of global health concern [Text] / C. Wang, P.W. Horby, F.G. Hayden, G.F. Gao // The Lancet. – 2020. – Vol. 395, N 10223. – P. 470–473.
22. High Contagiousness and Rapid Spread of Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 [Text] / S. Sanche, Y. T. Lin, C. Xu [et al.] // Emerg. Infect. Dis. – 2020. – Vol. 26, N. 7. – P. 1470–1477.

23. Попович, Ю.Г. COVID 19 – новая инфекция XXI века [Текст] / Ю.Г. Попович, Р.Ж. Рахимова, Д.О. Ахметжанова // Наука и здравоохранение. – 2020. – Т.22, №4. – С. 15–23.
24. Пандемия COVID-19. Меры борьбы с ее распространением в Российской Федерации [Текст] / Н.И. Брико, И.Н. Каграманян, В.В. Никифоров [и др.] // Эпидемиология и Вакцинопрофилактика. – 2020. – Т. 19, № 2. – С. 4–12.
25. Эпидемиология COVID-19 [Текст] / М.З. Шахмарданов, В.В. Никифоров, А.А. Скрябина [и др.] // Эпидемиология и инфекционные болезни. – 2021. – Т.26, № 1. – С.5–14.
26. A familial cluster of pneumonia associated with the 2019 novel corona virus indicating person-to-person transmission: a study of a family cluster [Text] / J.F.-W. Chan, S. Yuan, K.-H. Kok [et al.] // The Lancet. – 2020. – Vol. 395, N 10223. – P. 514–523.
27. Estimates of the severity of coronavirus disease 2019: a model-based analysis [Text] / R. Verity, L.C. Okell, I. Dorigatti [et al.] // Lancet Infect Dis. – 2020. – Vol. 20, N 6. – P. 669–677.
28. Early Transmission Dynamics in Wuhan, China, of Novel Coronavirus-Infected Pneumonia [Text] / Q. Li, X. Guan, P. Wu [et al.] // N. Engl. J. Med. – 2020. – Vol. 382, N 13. – P. 1199–1207
29. Gralinski, L.E. Return of the Coronavirus: 2019-nCoV [Text] / L.E. Gralinski, V.D. Menachery // Viruses. – 2020. – Vol. 12, N 2. – P. 135.
30. Wang, W. Updated understanding of the outbreak of 2019 novel coronavirus (2019-nCoV) in Wuhan, China [Text] / W. Wang, J. Tang, F. Wei // Journal of Medical Virology. – 2020. – Vol. 92, N 4. – P. 441–447.
31. Семенов, А.В. Рожденная в Ухане: уроки эпидемии COVID-19 в Китае [Текст] / Семенов, А.В., Пшеничная Н.Ю. // Инфекция и иммунитет. – 2020. – Т.20, № 2. – С. 210–220.
32. Novel Coronavirus (2019-nCoV). Situation Report-22. [Электронный ресурс]. – Режим доступа: [https://www.who.int/docs/default-source/coronaviruse/situation-reports/20200211-sitrep-22-ncov .pdf](https://www.who.int/docs/default-source/coronaviruse/situation-reports/20200211-sitrep-22-ncov.pdf) (дата обращения: 05.08.2022 г.).
33. WHO Director-General’s opening remarks at the media briefing on COVID-19. [Электронный ресурс] – Режим доступа: <https://www.who.int/dg/speeches/detail/who-director-general-s-opening-remarks-at-the-media-briefing-on-covid-19---3-march-2020> (дата обращения: 05.08.2022 г.).
34. Биличенко, Т. Н. Эпидемиология новой коронавирусной инфекции (COVID-19). Обзор данных [Текст] / Т. Н. Биличенко // Академия медицины и спорта. – 2020. – Т.1, № 2. – С.14–20.



35. Coronavirus (COVID-19) [Электронный ресурс] – Режим доступа: <https://coronavirus-monitorus.ru/> (дата обращения: 05.05.2021 г.).
36. Эпидемиологические особенности новой коронавирусной инфекции (COVID-19). Сообщение 1: Модели реализации профилактических и противоэпидемических мероприятий [Текст] / В.В. Кутырев, А.Ю. Попова, В.Ю. Смоленский [и др.] // Проблемы особо опасных инфекций. – 2020. – № 1. – С. 6–13.
37. Государственная стратегическая модель мер профилактики распространения коронавирусной инфекции [Текст] / В.В. Шкарин, С.Ю. Соболева, А.В. Соболев [и др.] // Волгоградский научно-медицинский журнал. – 2021. – №4. – С. 55–59.
38. Закономерности эпидемического распространения SARS-CoV-2 в условиях мегаполиса [Текст] / В.Г. Акимкин, С.Н. Кузин, Т.А. Семеновко [и др.] // Вопросы вирусологии. – 2020. – Т. 65, № 4. – С. 203–211.
39. Эпидемиологические особенности новой коронавирусной инфекции (COVID-19). Сообщение 2: Особенности течения эпидемического процесса COVID-19 во взаимосвязи с проводимыми противоэпидемическими мероприятиями в мире и Российской Федерации [Текст] / В.В. Кутырев, А.Ю. Попова, В.Ю. Смоленский [и др.] // Проблемы особо опасных инфекций. – 2020. – № 2. – С. 6–12.
40. Меры противодействия заносу и распространению коронавирусной инфекции медицинских организациях [Текст] / В.В. Никифоров, Т.Г. Суранова, В.Н. Комаренцев [и др.] // Медицина экстремальных ситуаций. – 2020, № 3. – С. 77–82.
41. COVID-19: эволюция пандемии в России. Сообщение I: Проявления эпидемического процесса COVID-19 [Текст] / В.Г. Акимкин, А.Ю. Попова, А.А. Плоскирева [и др.] // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. – 2022. – Т. 99, № 3. – С.269–286.
42. Клинико-эпидемиологические особенности пациентов, госпитализированных с COVID-19 в различные периоды пандемии в Москве [Текст] / Н.И. Брико, В.А. Коршунов, С.В. Краснова [и др.] // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. –2022. – Т. 99, № 3. – С. 287–299.
43. Гуцин, В.А. Молекулярно-эпидемиологический мониторинг и оценка эффективности средств специфической диагностики и профилактики новой коронавирусной инфекции [Текст]: автореферат дис. ...докт. биол. наук: 3.2.2.; 1.5.10 / Гуцин Владимир Алексеевич. – М., 2023. – 40 с.

44. Dynamics of SARS-CoV-2 Major Genetic Lineages in Moscow in the Context of Vaccine Prophylaxis [Text] / V.A. Gushchin, A.A. Pochtovyi, D.D., Kustova [et al.] // International Journal of Molecular Science. – 2022. – Vol. 23, № 23. – P. 14670
45. COVID-19: эволюция пандемии в России. Сообщение II: Динамика циркуляции геновариантов вируса SARS-CoV-2 [Текст] / В.Г. Акимкин, А.Ю. Попова, К.Ф. Хафизов [и др.] // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. – 2022. – Т. 99, №4. – С. 381–295.
46. Бургасова, О.А. COVID-19: от этиологии до вакцинопрофилактики: руководство для врачей [Текст] / О.А. Бургасова, В.В. Никифоров [и др.]. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2023. – 288 с.
47. Коллективный иммунитет к SARS-CoV-2 жителей Москвы в эпидемический период COVID-19 [Текст] / А.Ю. Попова, Е.Б. Ежлова, А.А. Мельникова [и др.] // Инфекционные болезни. – 2020. – Т.18, № 4. – С.8–16.
48. Популяционный иммунитет к SARS-CoV-2 населения Новосибирской области на фоне пандемии COVID-19 [Текст] / А.Ю. Попова, В.С. Смирнов, Е.Б. Ежлова [и др.] // Вопросы вирусологии. – 2021. – Т.66, №4. – P. 299–309.
49. Effectiveness and safety of SARS-CoV-2 vaccine in real-world studies: a systematic review and meta-analysis [Text] / Q. Liu, C. Qin, M. Liu, J. Liu [et al.] // Infect. Dis. Poverty. – 2021. – Vol.10, N1. – P. 132
50. Effectiveness against Hospitalization with COVID-19 during Omicron Dominance [Text] / A.S. Shkoda, V.A. Gushchin, D.A. Ogarkova [et al.] // Vaccines (Basel). – 2022. – Vol.10, N 6. – 938 p.
51. One-shot immunization with Sputnik Light (the first component of Sputnik V vaccine) is effective against SARS-CoV-2 Delta variant: efficacy data on the use of the vaccine in civil circulation in Moscow [Text] / I. V. Dolzhikova, V.A. Gushchin, D. V. Shcheblyakov [et al.] // medRxiv / The preprint server for health sciences. – 2021. – doi.org/10.1101/2021.10.08.21264715.
52. Итоговое заявление о работе пятнадцатого совещания Комитета Международных медико-санитарных правил (2005 г.) по чрезвычайной ситуации в связи с пандемией коронавирусной инфекции (COVID-19) [Электронный ресурс]. – Режим доступа: [https://www.who.int/ru/news/item/05-05-2023-statement-on-the-fifteenth-meeting-of-the-international-health-regulations-\(2005\)-emergency-committee-regarding-the-coronavirus-disease-\(covid-19\)-pandemic](https://www.who.int/ru/news/item/05-05-2023-statement-on-the-fifteenth-meeting-of-the-international-health-regulations-(2005)-emergency-committee-regarding-the-coronavirus-disease-(covid-19)-pandemic) (дата обращения: 07.08.2023 г.).
53. О мероприятиях по профилактике гриппа, острых респираторных вирусных инфекций и новой коронавирусной инфекции (COVID-19) в

эпидемическом сезоне 2023-2024 годов / Постановлением главного Государственного врача Российской Федерации от 21.06.2023 г. № 9. [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <http://publication.pravo.gov.ru/document/0001202307270034> (дата обращения: 07.08.2023 г.).

54. Fajgenbaum, D.C. Cytokine Storm [Text] / D.C. Fajgenbaum, C.H. June // *N Engl. J. Med.* – 2020. – Vol.383, N 23. – P. 2255–2273.

55. Aberrant pathogenic GM-CSF+ T cells and inflammatory CD14+ CD16+ monocytes in severe pulmonary syndrome patients of a new coronavirus [Text] / Y.G. Zhou, B.Q. Fu, X.H. Zheng [et al.] // *bioRxiv* 20.02.2020 [Preprint]. – URL: <https://www.biorxiv.org/content/10.1101/2020.02.12.945576v1> – (accessed: 15.01.2023).

56. Into the eye of the cytokine storm [Text] / J.R. Tisoncik, M.J. Korth, C.P. Simmons [et al.] // *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* – 2012. – Vol.76. – P.16–32.

57. Spiking pandemic potential: structural and immunological aspects of SARS-CoV2 [Text] / Y.-T. Wang, S. Landeras-Bueno, L.-E. Hsieh [et al.] // *Trends in Microbiol.* – 2020. – Vol. 28, N 8. – P.605–618.

58. Characterization of the receptor-binding domain (RBD) of 2019 novel coronavirus: implication for development of RBD protein as a viral attachment inhibitor and vaccine [Text] / W. Tai, L. He, X. Zhang [et al.] // *Cell Mol. Immunol.* – 2020. – Vol. 17. – P. 613–620.

59. Ou, X. Characterization of spike glycoprotein of SARS-CoV2 on virus entry and its immune cross-reactivity with SARS CoV [Text] / X. Ou, Y. Liu, X. Lei [et al.] // *Nat. Commun.* – 2020. – Vol. 11, N1. P. 1620.

60. Prompetchara, E. Immune responses in COVID19 and potential vaccines: Lessons learned from SARS and MERS epidemic [Text] / E. Prompetchara, C. Ketloy, T. Palaga // *Asian Pac. J. Allergy Immunol.* – 2020. – Vol. 38, N 1. – P. 1–9.

61. Criteria for releasing COVID-19 patients from isolation. – URL: <https://www.who.int/news-room/commentaries/detail/criteria-for-releasing-covid-19-patients-from-isolation>. Updated: June 17, 2020. – (accessed 10.08. 2020).

62. Scientific Brief: SARS-CoV-2 Transmission. – URL: <https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/science/science-briefs/sars-cov-2-transmission.html>. – (accessed 09.02.2022).

63. Science Brief: SARS-CoV-2 and Surface (Fomite) Transmission for Indoor Community Environments. – URL: <https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/more/science-and-research/surface-transmission.html>. – (accessed 09.02.2022).

64. Сычёва, А.С. Клинические и прогностические критерии осложненного течения новой коронавирусной инфекции (COVID-19) [Текст] / А.С. Сычёва, А.Л. Кебина, А.Л. Вёрткин // Медико-фармацевтический журнал "Пульс". – 2021. – Т. 23, № 9. – С. 147–153.
65. Comorbid chronic diseases and acute organ injuries are strongly correlated with disease severity and mortality among Covid-19 patients: A systemic review and metaanalysis [Text] / X. Wang, X. Fang, Z. Cai [et al.] /. Research (WashDC). – 2020 – Vol. 2020 – P. 2402961.
66. Иванников, А.А. Covid-19 и сердечно-сосудистая система. Часть II. Постковидный синдром [Текст] / А.А. Иванников, А.Н. Эсауленко, М.К. Васильченко // Журнал им. Н. В. Склифосовского «Неотложная медицинская помощь». – 2021. – Т. 10. № 2. – С. 248–258.
67. Канорский, С.Г. Постковидный синдром: распространенность и патогенез органных поражений, направления коррекции. Систематический обзор [Текст] / С.Г. Канорский // Кубанский научный медицинский вестник. – 2021. – Т. 28, № 6. – С. 90–116.
68. Маукаева, С.Б. Желудочно-кишечные проявления covid-19. клинический случай [Текст] / С.Б. Маукаева, Г.И. Нуралинова, Э.К. Исабаева // Наука и здравоохранение. – 2021. – № 1. – С. 74–76.
69. In Vitro diagnostics EUAs - antigen diagnostic tests for SARS-CoV-2. – URL: <https://www.fda.gov/medical-devices/coronavirus-disease-2019-covid-19-emergency-use-authorizations-medical-devices/in-vitro-diagnostics-euas-antigen-diagnostic-tests-sars-cov-2>. – (accessed 15.02. 2022).
70. Kanji, J.N. False negative rate of COVID-19 PCR testing: a discordant testing analysis [Text] / J.N. Kanji, N. Zelyas, C. MacDonald [et al.] // Virol. J. – 2021. – Vol.18, N 13.
71. Interim guidance for implementing home care of people not requiring hospitalization for coronavirus disease 2019. – URL: <https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/hcp/guidance-home-care.html>. Updated: March 1, 2020. – (accessed 05.05. 2020).
72. Underlying medical conditions associated with higher risk for severe COVID-19: Information for healthcare providers. – URL: [https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/hcp/clinical-care/underlyingconditions.html#anchor\\_1618433687270](https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/hcp/clinical-care/underlyingconditions.html#anchor_1618433687270). – (accessed 15.02. 2022).
73. What to do if you are sick. – URL: <https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/if-you-are-sick/steps-when-sick.html>. Updated: March 25, 2020. – (accessed 27.03.2020).

74. Therapeutic management of hospitalized pediatric patients with multisystem inflammatory syndrome in children (MIS-C) (With discussion on multisystem inflammatory syndrome in adults [MIS-A]). – URL: <https://www.covid19treatmentguidelines.nih.gov/management/clinical-management/hospitalized-pediatric-patients--therapeutic-management-of-mis-c/>. Updated: February 24, 2022. – (accessed 09.05.2022).
75. Therapeutic management of nonhospitalized adults with COVID-19. – URL: <https://www.covid19treatmentguidelines.nih.gov/management/clinical-management/nonhospitalized-adults--therapeutic-management/>. Updated: April 8, 2022. – (accessed 09.05.2022).
76. Risk for stillbirth among women with and without COVID-19 at delivery hospitalization — United States, March 2020–September 2021 [Text] / C.L. DeSisto, B. Wallace, R.M. Simeone [et al.] // *Morb. Mortal. Wkly. Rep.* – 2021. – Vol.70, N 47. – P.1640-1645.
77. COVID-19 Mortality Overview. – URL: <https://www.cdc.gov/nchs/covid19/mortality-overview.htm>. – (accessed 24.02.2022).
78. Yuki, K. COVID-19 pathophysiology: A review [Text] / K. Yuki, M. Fujiogi, S. Koutsogiannaki // *Clinical Immunology*. – 2020. – Vol.215. – P.108427.
79. Kojima, N. Protective immunity after recovery from SARS-CoV-2 infection [Text] / N. Kojima, J.D. Klausner // *Lancet Infect. Dis.* – 2022. – Vol.22, N 1. – P.12–14.
80. Prevent getting sick. – URL: <https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/prevent-getting-sick/index.html>. Updated: April 24, 2020. – (accessed 06.05.2020).
81. Временные методические рекомендации. Профилактика, диагностика и лечение новой коронавирусной инфекции (COVID-19). Версия 17 от 14.12.2022 г., Минздрав РФ. – [Электронный ресурс]. – Режим доступа: [https://www.consultant.ru/document/cons\\_doc\\_LAW\\_347896/](https://www.consultant.ru/document/cons_doc_LAW_347896/) (дата обращения 14.08.2023 г.).
82. NHS England. COVID-19 Daily Deaths. – 2020. – URL: <https://www.worldometers.info/coronavirus/country/uk/> – (accessed 06.05.2020).
83. Асфандиярова, Н.С. Постковидный синдром [Текст] / Н.С. Асфандиярова // *Клиническая медицина*. – 2021. – Т. 99, № 7-8. – С. 429–435.
84. Клинические проявления, патогенез и лечение отдаленных последствий поражения нервной системы при COVID-19 [Текст] / А.Н. Баринов, Л.С. Мошхоева, Е.В. Пархоменко [и др.] // *Медицинский алфавит*. – 2021. – № 3. – С. 14–22.

85. Коронавирусная инфекция COVID-19. Природа вируса, патогенез, клинические проявления. Сообщение 1 [Текст] / Н.А. Беляков, В.В. Рассохин, Е.Б. Ястребова [и др.] // ВИЧ-инфекция и иммуносупрессии. – 2020. – Т. 12, № 1. – С. 7–21.
86. COVID-19 и сердечно-сосудистая коморбидность: поиск новых подходов к снижению смертности [Текст] / С.С. Бунова, П.И. Охотникова, Ю.П. Скирденко [и др.] // Кардиоваскулярная терапия и профилактика. – 2021. – Т. 20, № 4. – С. 122–128.
87. COVID-19: clinical course and outcomes of 36 hemodialysis patients in Spain [Text] / M. Goicoechea, L.A. Sánchez Cámara, N. Macías [et al.] // *Kidney Int.* – 2020. – Vol. 98, N 1. – P.27-34.
88. Постковидный синдром: мультисистемные «дефициты» [Текст] / Н.Б. Амиров, Э.И. Давлетшина, А.Г. Васильева, Р.Г. Фатыхов [и др.] // Вестник современной клинической медицины. – 2021. – Т. 14, № 6. – С. 94–104.
89. Shust, G.F. Multisystem inflammatory syndrome in children [Text] / G.F. Shust, V.L. Soma, P. Kahn, A.J. Ratner // *Pediatr. Rev.* – 2021. – Vol. 42, N 7. – P. 399–401.
90. Временные методические рекомендации. Профилактика, диагностика и лечение новой коронавирусной инфекции (COVID-19). Версия 18 от 26.10.2023 г., Минздрав России. – [Электронный ресурс]. – Режим доступа: [https://www.consultant.ru/document/cons\\_doc\\_LAW\\_347896/](https://www.consultant.ru/document/cons_doc_LAW_347896/) (дата обращения (дата обращения 15.01.2023 г.)).
91. Григоренко Е. И. Значение вирусной нагрузки при хронической HBV-инфекции [Текст] / Е. И. Григоренко // Крымский терапевтический журнал. – 2008. – Т. 1, № 10. – С. 12–14.
92. The epidemiology, diagnosis and treatment of COVID-19 [Text] / P. Zhai, Y. Ding, X. Wu [et al.] // *Int. J. Antimicrob. Agents.* – 2020. – Vol. 55, N5. – 105955. – Epub. 2020 Mar 28.
93. Амвросьева, Т. SARS-CoV 2: лабораторная диагностика [Текст] / Т. Амвросьева, Н. Поклонская // Наука и инновации. – 2020. – №7. – С. 22–27.
94. SARS-CoV-2, SARS-CoV, and MERS-CoV viral load dynamics, duration of viral shedding, and infectiousness: a systematic review and meta-analysis [Text] / M. Cevik, M. Tate, O. Lloyd [et al.] // *Lancet Microbe.* – 2021. – Vol.2, N 1. – P.13–22.
95. Sethuraman, N. Interpreting diagnostic tests for SARS-CoV-2 [Text] / N. Sethuraman, S.S. Jeremiah, A. Ryo // *JAMA.* – 2020. – Vol. 323, N 22. – P. 2249–2251.

96. Detection of SARS-CoV-2 RNA in nasopharyngeal swabs from COVID-19 patients and asymptomatic cases of infection by real-time and digital PCR [Text] / V.A. Ternovoi, R. Yu. Lutkovsky, E.P. Ponomareva [et al.] // *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika (Russian Clinical Laboratory Diagnostics)*. – 2020. – Vol.65, N 12. – P.785-792.
97. Assessment of digital PCR as a primary reference measurement procedure to support advances in precision medicine [Text] / A.S. Whale, G.M. Jones, P. Jernej [et al.] // *Clinical Chemistry* – 2018. – N 64. – P. 1296–1307.
98. SARS-CoV-2 viral load and shedding kinetics [Text] / O. Puhach, B. Meyer, I. Eckerle [et al.] // *Nat. Rev. Microbiol.* – 2023. – Vol.21, N 3. – P.147–161.
99. Viral replication in the nasopharynx is associated with diarrhea in patients with severe acute respiratory syndrome [Text] / V.C. Cheng, I.F. Hung, B.S. Tang [et al.] // *Clin. Infect. Dis.* – 2004. – Vol. 38, N 4. – P.467–475.
100. Viral loads in clinical specimens and SARS manifestations [Text] / I.F.N. Hung, V.C.C. Cheng, A.K.L. Wu [et al.] // *Emerg. Infect. Dis.* – 2004. –Vol.10, N 9. – P. 1550–1557.
101. Temporal profiles of viral load in posterior oropharyngeal saliva samples and serum antibody responses during infection by SARS-CoV-2: an observational cohort study [Text] / K.K.W. To, O.T.Y. Tsang, W.S. Leung [et al.] // *Lancet. Infect. Dis.* – 2020. – Vol. 20, N 5. – P. 565–574.
102. Factors associated with prolonged viral RNA shedding in patients with coronavirus disease 2019 (COVID-19) [Text] / K. Xu, Y. Chen, J. Yuan [et al.] // *Clin. Infect. Dis.* – 2020. – Vol. 71, N 15. – P. 799–806.
103. Temporal dynamics in viral shedding and transmissibility of COVID-19 [Text] / X. He, E.H.Y. Lau, P. Wu [et al.] // *Nat. Med.* – 2020. – Vol. 26, N5. – P. 672–675.
104. Estimating clinical severity of COVID-19 from the transmission dynamics in Wuhan [Text] / J.T. Wu, K. Leung, M. Bushman [et al.] // *China Nat. Med.* – 2020. – Vol. 26, N 4. – P. 506–510.
105. Clinical characteristics of coronavirus disease 2019 in China [Text] /W. Guan, Z. Ni, Y. Hu [et al.] // *N. Engl. J. Med.* – 2020. – Vol. 382, N 18. – P.1708–1720.
106. SARS-CoV-2 viral load in nasopharyngeal swabs is not an independent predictor of unfavorable outcome [Text] / S. Salto-Alejandre, J. Berastegui-Cabrera, P. Camacho-Martínez [et al.] // *Sci. Rep.* – 2021. – Vol. 11, N 1. – P. 12931.
107. SARS-CoV-2 viral-load distribution reveals that viral loads increase with age: a retrospective cross-sectional cohort study [Text] / S. Euser, S. Aronson, I. Manders [et al.] // *Int. J. Epidemiol.* – 2022. – Vol. 50, N 6. P. 1795–1803.

108. The relationship between COVID-19 viral load and disease severity: A systematic review [Text] / O. Dadras, A.M. Afsahi, Z. Pashaei [et al.] // *Immun.Inflamm. Dis.* – 2022. – Vol. 10, N 3. – P.580.
109. Количественный анализ уровня вирусной нагрузки SARS-CoV-2 в легких умерших пациентов с COVID-19 [Текст] / А.А. Одилов, А.В. Волков, А.О. Абдуллаев [и др.] // *Туберкулез и болезни легких.* – 2021. – Т. 99, № 11. – С. 7–15.
110. SARS-CoV-2 Viral Load Predicts Mortality in Patients with and without Cancer Who Are Hospitalized with COVID-19 [Text] / L. F. Westblade, G.L. Brar, C. Pinheiro [et al.] // *Cancer Cell.* – 2020. – N 38. – P. 661–671.
111. Impact of SARS-CoV-2 viral load on risk of intubation and mortality among hospitalized patients with coronavirus disease 2019 [Text] / R. Magleby, L.F. Westblade, A. Trzebucki [et al.] // *Clin. Infect. Dis.* – 2020. – Vol. 30.– P. 851.
112. CoV-2 viral loads in young children do not differ significantly from those in older children and adults [Text] / S. Madera, E. Crawford, C. Langelier [et al.] // *Sci. Rep.* [Internet]. – 2021. – N 11. – P. 3044.
113. Association of viral load in SARS-CoV-2 patients with age and gender [Text] / W.H. Mahallawi, A.D. Alsamiri, A.F. Dabbour [et al.] // *Front. Med.* [Internet]. – 2021. – N 8. – P. 608215.
114. Plasma SARS-CoV-2 nucleocapsid antigen levels are associated with progression to severe disease in hospitalized COVID-19 [Text] / K.D. Wick, A. Leligdowicz, A. Willmore [et al.] // *Crit. Care* [Internet]. – 2022. – Vol. 26, N 1. – P. 278.
115. Evaluation of symptomatology and viral load among residents and healthcare staff in long-term care facilities: A coronavirus disease 2019 retrospective case-cohort study [Text] / van M. Hensbergen, den C.D.J. Heijer, S. Mujakovic [et al.] // *PLoS One.* – 2022. – Vol. 17, N 11. – e0276796.
116. Corrigendum: differential association of viral dynamics with disease severity depending on patients age group in COVID-19 [Text] / Y. Kim, S. Cheon, H. Jeong [et al.] // *Front Microbiol.* – 2023. – N 14. – P. 1178685; Erratum for: *Front Microbiol.* – 2021. – Vol. 23, N 12. – P. 712260.
117. Post – COVID -19 syndrome. SARS-CoV-2 RNA detection in plasma, stool, and urine in patients with persistent symptoms after COVID-19 [Text] / F. Tejerina, P. Catalan, C. Rodriguez-Grande [et al.] // *BMC Infect. Dis.* – 2022. – Vol. 22, N 1. – P.211.
118. Impact of severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 viral load on risk of intubation and mortality among hospitalized patients with coronavirus disease 2019



- [Text] /R. Magleby, L.F. Westblade, A. Trzebucki [et al.] // Clin. Infect. Dis. –2021. – Vol. 73, N 11. – P. 4197–4205.
119. Clinical characteristics of coronavirus disease 2019 in China [Text] / W.J. Guan, Z.Y. Ni, Y. Hu [et al.] // Engl. J. Med. – 2020. – Vol. 382. – P.1708–1720.
120. Clinical course and risk factors for mortality of adult inpatients with COVID-19 in Wuhan, China: a retrospective cohort study [Text] / F. Zhou, T. Yu, R. Du [et al.] // Lancet – 2020. – Vol. 395. – P. 1054–1062.
121. A review of potential suggested drugs for coronavirus disease (COVID 19) treatment [Text] / P. Tarighi, S. Eftekhari, M. Chizari [et al.] // Eur. J. Pharmacol. – 2021. – Vol. 895. – P.173890.
122. Waning of SARS-CoV-2 booster viral-load reduction effectiveness [Text] / M. Levine-Tiefenbrun, I. Yelin, H. Alapi [et al.] // Nat. Commun. – 2022 – Vol. 13, N 1. – P.1237.
123. Viral load of SARS-CoV-2 Omicron is not high despite its high infectivity [Text] / S. Yuasa, J. Nakajima, Y. Takatsuki [et al.] // J. Med. Virol. – 2022.– Vol. 94, N 11. – P. 5543–5546.
124. Viral kinetics of SARS-CoV-2 over the preclinical, clinical, and postclinical period [Text] / S. Jang, J.Y. Rhee, Y.M. Wi, B.K. Jung. [et al.] // Int. J. Infect. Dis. – 2021.– Vol.102. – P.561–565.
125. SARS-CoV-2 is associated with high viral loads in asymptomatic and recently symptomatic healthcare workers [Text] / M.C. Mc Ellistrem, C.J. Clancy, D.J. Buehrle [et al.] // PLoS One. – 2021. – Vol.16, N 3. – P. 0248347.
126. Positive rate of RT-PCR detection of SARS-CoV-2 infection in 4880 cases from one hospital in Wuhan, China, from Jan to Feb 2020 [Text] / R. Liu, H. Han, F. Liu [et al.] // Clin. Chim. Acta. – 2020. – N 505. – P.172–175.
127. Эколого-эпидемиологический мониторинг сточных вод и пандемия COVID-19 [Текст] / Е.Н. Сизова, Л.Н. Шмакова // Экология родного края: проблемы и пути их решения: Материалы XVII Всероссийской научно-практической конференции с международным участием, Киров, 26–27 апреля 2022 г. Т. 2. – Киров: Вятский государственный университет, 2022. – С. 141–145.
128. SARS-CoV-2 viral load in nasopharyngeal swabs in the emergency department does not predict COVID-19 severity and mortality [Text] / P. Le Borgne, M. Solis, F. Severac, H. Merdji [et al.] // Acad. Emerg. Med. – 2021. – Vol. 28, N 3.– P. 306–313.
129. Different Neutralization Sensitivity of SARS-CoV-2 Cell-to-Cell and Cell-Free Modes of Infection to Convalescent Sera [Text] /N. Kruglova, A. Siniavin, V. Gushchin, D. Mazurov // Viruses [Internet]. – 2021. – Vol. 13, N 6. – P.1133

130. SARS-CoV-2 viral load predicts COVID-19 mortality [Text] / E. Pujadas, F. Chaudhry, R. Mc Bride [et al.] // *Lancet Respir. Med.* – 2020. – Vol. 8. – P. 70.
131. WHO. Living guidance for clinical management of COVID-19. – [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://www.who.int/publications/i/item/WHO-2019-nCoV-clinical-2021-2> (дата обращения: 05.08.2023).
132. Arterial hypertension as a risk comorbidity associated with COVID-19 pathology [Text] / A. Kamyshnyi, I. Krynytska, V. Matskevych [et al.] // *Int. J. Hypertens.* – 2020. – Vol. 4. – P. 8019360.
133. Detection of 2019 novel coronavirus (2019-nCoV) by real-time RT-PCR [Text] / V.M. Corman, O. Landt, M. Kaiser [et al.] // *Eur. Surveill.* – 2020. – Vol. 25, N 3. – P. 2000045.
134. Weiss, A. Spatial and temporal dynamics of SARS-CoV-2 in COVID-19 patients: A systematic review and meta-analysis [Text] / A. Weiss, M. Jellings, M.O.A. Sommer // *EBio Medicine.* – 2020. – Vol. 58. – P. 102916.
135. Viral dynamics of SARS-CoV-2 across a spectrum of disease severity in COVID-19 [Text] / G. Lui, L. Ling, C. K. Lai [et al.] // *J. Infect.* – 2020 – Vol. 81, N 2. – P. 318–356.
136. Megyeri, K. COVID-19-associated diarrhea [Text] / K. Megyeri, Á. Dernovics, Z.I.I. Al-Luhaibi, A. Rosztóczy // *World J. Gastroenterol.* – 2021. – Vol. 27, N 23. – P. 3208–3222.
137. Rajkumar, R.P. Prior infection with intestinal coronaviruses moderates symptom severity and mortality in patients with COVID-19: A hypothesis and preliminary evidence [Text] / R.P. Rajkumar // *Med. Hypotheses.* – 2020. – Vol. 143. – P. 110116.
138. Rao, S.N. A Narrative Systematic Review of the Clinical Utility of Cycle Threshold Values in the Context of COVID-19 [Text] / S.N. Rao, D. Manissero, V.R. Steele, J. Pareja // *Infect. Dis. Ther.* – 2020. – Vol. 9. – P. 573–586.
139. Viral load dynamics and disease severity in patients infected with SARS-CoV-2 in Zhejiang province, China, January-March 2020: retrospective cohort study [Text] / S. Zheng, J. Fan, F. Yu [et al.] // *BMJ.* – 2020. – Vol. 369. – P. 1443.
140. Gastrointestinal symptoms of 95 cases with SARS-CoV-2 infection [Text] / L. Lin, X. Jiang, Z. Zhang [et al.] // *Gut.* – 2020. – Vol. 69, N 6. – P. 997–1001.
141. The effects of temperature and relative humidity on the viability of the SARS coronavirus [Text] / K.H. Chan, J.S. Peiris, S.Y. Lam [et al.] // *Adv. Virol.* – 2011. – P. 734690.

142. Utility of Stool PCR for the diagnosis of COVID-19: comparison of two commercial platforms [Text] / W.A. Szymczak, D.Y. Goldstein, E.P. Orner [et al.] // *J. Clin. Microbiol.* – 2020. – Vol. 58, N 9. – P. e01369
143. Van Doremalen, N. Stability of Middle East respiratory syndrome coronavirus (MERS-CoV) under different environmental conditions [Text] / N. Van Doremalen, T. Bushmaker, V.J. Munster // *Euro Surveill.* – 2013. – Vol. 18, N 40. – P. 20599.
144. Yeo, C. Enteric involvement of coronaviruses: is faecal–oral transmission of SARS-CoV-2 possible? [Text] / C. Yeo, S. Kaushal, D. Yeo // *Lancet Gastroenterol. Hepatol.* – 2020. – Vol. 5, N 4. – 335–337.
145. COVID-19: Wastewater Surveillance [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://www.worldometers.info/coronavirus/> (дата обращения: 28.07.2023).
146. Virological assessment of hospitalized patients with COVID-2019 [Text] / R. Wölfel, V.M. Corman, W. Guggemos [et al.] // *Nature.* – 2020. – Vol. 581, N 7809. – P. 465–469.
147. Asymptomatic cases in a family cluster with SARS-CoV-2 infection [Text] / X. Pan, D. Chen, Y. Xia [et al.] // *Lancet Infect. Dis.* – 2020. – Vol. 20, N 4. – P. 410–411.
148. Viral RNA load as determined by cell culture as a management tool for discharge of SARS-CoV-2 patients from infectious disease wards [Text] / B. La Scola, M. Le Bideau, J. Andreani [et al.] // *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* – 2020. – Vol. 39, N 6. – P. 1059–1061.
149. Assessing Viral Shedding and Infectivity of Asymptomatic or Mildly Symptomatic Patients with COVID-19 in a Later Phase [Text] / Y. Sohn, S.J. Jeong, W.S. Chung [et al.] // *J. Clin. Med.* – 2020. – Vol. 9, N 9. – P. 2924.
150. Viable SARS-CoV-2 in various specimens from COVID-19 patients [Text] / H.W. Jeong, S.M. Kim, H.S. Kim [et al.] // *Clin. Microbiol. Infect.* – 2020. – Vol. 26, N 11. – P. 1520–1524.
151. Detection of SARS-CoV-2 in Different Types of Clinical Specimens [Text] / W. Wang, Y. Xu, R. Gao [et al.] // *JAMA.* – 2020. – Vol. 323, N 18. – P. 1843–1844.
152. Diagnostics and monitoring of COVID-19 infection — current understanding [Text] / M. Bergant, A. de Marco // *Preprints.* – 2020. – P. 2020050316.
153. Temporal profiles of viral load in posterior oropharyngeal saliva samples and serum antibody responses during infection by SARS-CoV-2: an observational cohort study [Text] / K.K. To, O.T. Tsang, W.S. Leung [et al.] // *Lancet Infect. Dis.* – 2020. – Vol. 20, N 5. – P. 565–574.

154. Prolonged virus shedding even after seroconversion in a patient with COVID-19 [Text] / W.D. Liu, S.Y. Chang, J.T. Wang [et al.] // J. Infect. – 2020. – Vol. 81, N 2. – P. 318–356.
155. Infectious SARS-CoV-2 in feces of patient with severe COVID-19. [Text] / F.Xiao, J. Sun, Y. Xu [et al.] // Emerg. Infect. Dis. – 2020. – Vol. 26, N 8. – P.1920–1922.
156. Zhang, J. Fecal specimen diagnosis 2019 novel coronavirus-infected pneumonia [Text] / J. Zhang, S. Wang, Y. Xue // J. Med. Virol. – 2020. – Vol. 92, N 6. – P. 680–682.
157. Washington state 2019-nCoV case investigation team. first case of 2019 novel coronavirus in the United States [Text] / M.L. Holshue, C. DeBolt, S. Lindquist [et al.] // N. Engl. J. Med. – 2020. – Vol. 382, N 10. – P. 929–936.
158. Viral load kinetics of SARS-CoV-2 infection in first two patients in Korea [Text] / J.Y. Kim, J.H. Ko, Y. Kim [et al.] // J. Korean Med. Sci. – 2020. – Vol. 35, N 7. – P. e86.
159. Xu, Y. Characteristics of pediatric SARS-CoV-2 infection and potential evidence for persistent fecal viral shedding [Text] / Y. Xu, X. Li, B. Zhu [et al.] // Nat. Med. – 2020 – Vol. 26, N 4. – P. 502–505.
160. Санитарные правила СП 3.1.3597-20 «Профилактика новой коронавирусной инфекции (COVID-19)», утверждены Постановлением Главного государственного санитарного врача РФ от 22.05.2020 г. № 15 (ред. от 20.06.2022). [Электронный ресурс]. – Режим доступа: [https://www.consultant.ru/document/cons\\_doc\\_LAW\\_353494](https://www.consultant.ru/document/cons_doc_LAW_353494) (дата обращения: 05.08.2023г.).
161. Временные методические рекомендации для медицинских работников по эпидемиологии, диагностике, ведению пациентов и профилактике COVID -19. Версия 1 от 03.02.2020 г. Минздрав РФ. – [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://www.amursma.ru/goryachaya-liniya-po-koronavirusu/VMR/> (дата обращения 14.08.2023 г.).
162. Приказ Министерства здравоохранения Российской Федерации от 19.03.2020 № 198н (ред. от 22.12.2022 г.). «О временном порядке организации работы медицинских организаций в целях реализации мер по профилактике и снижению рисков распространения новой коронавирусной инфекции COVID-19». – [Электронный ресурс]. – Режим доступа: [https://www.consultant.ru/document/cons\\_doc\\_LAW\\_348101/](https://www.consultant.ru/document/cons_doc_LAW_348101/) (дата обращения 14.08.2023 г.).
163. Приказ Департамента здравоохранения города Москвы «Об утверждении правил по организации стационарной и специализированной медицинской помощи пациентам с гриппом, ОРВИ, новой коронавирусной инфекцией

COVID-19, внебольничными пневмониями в эпидемический сезон 2022-2023 годов», утвержденные от 16.09.2022 № 902. – [Электронный ресурс]. – Режим доступа: [https://mosgorzdrav.ru/ru-RU/document/default/search.html?phrase=&interval=&group\\_id=19/](https://mosgorzdrav.ru/ru-RU/document/default/search.html?phrase=&interval=&group_id=19/) (дата обращения 14.08.2023 г.).

164. Приказ Департамента здравоохранения города Москвы «Правила по организации стационарной и специализированной медицинской помощи пациентам с гриппом, ОРВИ и новой коронавирусной инфекцией COVID-19 на эпидемиологический сезон 2023-2024» утвержденные от 18. 09. 2023 №973.

165. Приказ Министерства здравоохранения Российской Федерации «Порядок проведения диспансерного наблюдения за взрослыми» от 29.03.2019 г. № 173н. – [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://normativ.kontur.ru/document?moduleId=1&documentId=421040/> (дата обращения 14.08.2023 г.).