

На правах рукописи

Самков Алексей Александрович
ОПТИМИЗАЦИЯ ПОДХОДОВ К ВЕДЕНИЮ
ПАЦИЕНТОВ С COVID- 19

3.1.22. Инфекционные болезни

Автореферат

диссертации на соискание ученой степени

кандидата медицинских наук

Москва - 2024

Работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном учреждении «Национальный исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии имени почетного академика Н.Ф. Гамалеи» Министерства здравоохранения Российской Федерации в отделе эпидемиологии и референс центре по коронавирусной инфекции, лаборатории механизмов популяционной изменчивости патогенных микроорганизмов.

Научный руководитель: Бургасова Ольга Александровна, доктор медицинских наук, ведущий научный сотрудник отдела вирусных гепатитов и клинической вирусологии Федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии имени почетного академика Н.Ф. Гамалеи» Министерства здравоохранения Российской Федерации, профессор кафедры инфекционных болезней с курсами эпидемиологии и фтизиатрии медицинского факультета ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов имени Патриса Лумумбы» Министерства образования Российской Федерации

Официальные оппоненты:

Авдеева Марина Геннадьевна, доктор медицинских наук, профессор, заведующая кафедрой инфекционных болезней и фтизиопульмонологии «Кубанского государственного медицинского университета» Минздрава России.

Пшеничная Наталья Юрьевна-доктор медицинских наук, профессор, заместитель директора по клинико-аналитической работе ФБУН Центрального научно-исследовательского института эпидемиологии Роспотребнадзора

Ведущая организация: Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования "Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н. И. Пирогова" Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Защита диссертации состоится 16 мая 2024г в 18 часов 30 минут на заседании диссертационного совета ПДС 0300.010 в ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов имени Патриса Лумумбы» Министерства образования Российской Федерации по адресу: 117198, г. Москва, ул. Миклухо-Маклая, д. 8.

С диссертацией можно ознакомиться в Научной библиотеке ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов имени Патриса Лумумбы» (117198, г.Москва, ул. Миклухо-Маклая, д.6)

Объявление о защите и автореферат диссертации размещены на сайтах

<https://www.rudn.ru/science/dissovet>

<http://vak.minobrnauki.gov.ru>

Автореферат разослан «__» апреля 2024г.

Ученый секретарь диссертационного совета ПДС 0300.010

кандидат медицинских наук, доцент

Подопригора Ирина Викторовна

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

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 ведения пациентов.

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 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 заразительности 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]. Установлено, что 75% людей, умерших от COVID-19 в США люди в возрасте 65 лет и старше, наличие коморбидных заболеваний, таких как ХОБЛ, онкологические заболевания, болезни почек, ожирение с ИМТ 30 кг/м² и выше, заболевания сердечно-сосудистой системы увеличивают риск неблагоприятного прогноза течения COVID-19 [CDC, 2021,2023].

В этой связи представляется актуальным проведение исследований, позволяющих решить ряд аспектов этой проблемы, одним из которых является оптимизация подходов к ведению пациентов с COVID-19.

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.

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 персонифицированный 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 показана 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 клинико-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-генетическими подходом к этиологической диагностики COVID-19 может служить определение SARSCoV-2 в копрофильтрата 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 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» Минздрава России 26.11.2023г., протокол №7. Апробация диссертационного исследования состоялась на заседании клинического отдела вирусных гепатитов и клинической вирусологии ФГБУ «НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России: 14.12.2023 г., протокол № 5. Материалы диссертационной работы представлены на следующих мероприятиях: 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);

Международная научно-практическая конференция «Современные тенденции развития инфектологии, медицинской паразитологии, эпидемиологии и микробиологии» (4-5 апреля 2023 г., г. Ургенч, Узбекистан); X Всероссийская междисциплинарная научно-практическая конференция с международным участием «Социально-значимые и особо опасные инфекционные заболевания» (г. Сочи, 7-10 ноября 2023 г.); на научной конференции отдела вирусных гепатитов и клинической вирусологии ФГБУ «НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России (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, ведении пациентов с COVID-19 в период пандемии в «красных зонах», сборе и транспортировке биологического материала. 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 «НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России.

Внедрение результатов исследования в практику

Результаты диссертационного исследования внедрены в практику работы врачей-инфекционистов амбулаторного звена, 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» Минздрава России от 04.12.2023 г. Полученные результаты работы доведены до научно-практического сообщества.

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.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Материалы и методы исследования

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 1.

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..

Проведение исследований 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 клиническим наблюдением в период госпитализации. Были получены официальные документы: информированное согласие на сбор биологического материала, анкетные данные, внесенные в Google- таблицы.

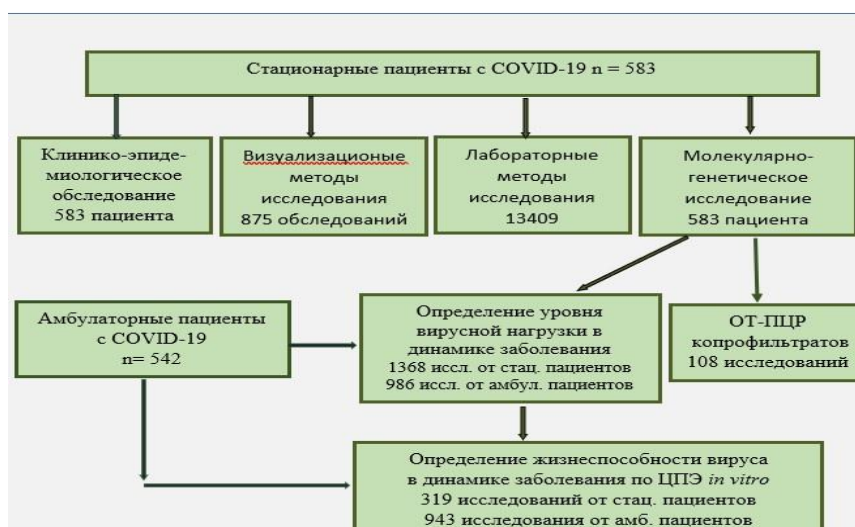


Рисунок 1 – Дизайн исследования

Пациентам проводили клинический осмотр, наблюдение в динамике заболевания, давали оценку лабораторным показателям, результатам визуализационных методов

исследования. В комплекс лабораторных методов исследований вошли: клинический и биохимический анализы крови, коагулограмма и др., проводимых на базе клинической лаборатории ГБУЗ «ИКБ №1 ДЗМ» по стандартам методикам. Всем пациентам проводили мультиспиральную компьютерную томографию органов грудной клетки или рентгенографию органов грудной клетки в 2-х проекциях, УЗИ, ЭКГ. Все пациенты были разделены на три группы: легкой степени тяжести, среднетяжелой и тяжелого течения, согласно критериям тяжести ВОЗ [2021 г.]

Для проведения молекулярно-генетических и вирусологических исследований проводили сбор биоматериала 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 и копрофильтрата от пациентов с COVID-19 осуществляли каждые 3 ± 2 дня, венозную кровь отбирали один раз в 5–7 дней.

Исследование образцов носоглоточных мазков проводили с использованием набора реагентов для экстракции и качественного определения РНК SARS-CoV-2 методом ОТ-ПЦР «SARS-CoV-2 FRT» производства ФГБУ «НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи», копрофильтрат дополнительно исследовали с использованием тест системы «COVID-19 Amp» (ФБУН НИИЭМ им. Пастера, Санкт-Петербург) согласно инструкциям производителей. Для валидации результатов ПЦР осуществляли изоляцию вируса из отрицательных образцов. Ни для одного из образцов успешных изоляций вируса не было.

Определение жизнеспособности вируса SARS-CoV-2 проводили с использованием клеточной линии 293T/ACE2 (со стабильной экспрессией ангиотензин превращающий фермент 2 рецептора человека). Клетки 293T/ACE2 получали с помощью лентивирусной трансдукции исходных клеток 293T. Производили оценку вирус-индуцированного цитопатического эффекта (ЦПЭ). В случае наличия ЦПЭ репродукцию вируса дополнительно подтверждали методом ОТ-ПЦР. За титр жизнеспособности вируса в геномных эквивалентах (ГЭ/мл) принимали последнее разведение исследуемого образца, при котором наблюдался ЦПЭ.

Статистический анализ проводился с использованием программного обеспечения SPSS Statisticsvery 26 (IBM, USA). Перед описательным анализом, распределение количественных переменных сравнивалось с нормальным (критерий Шапиро Уилка). Для сравнения двух независимых групп между собой использовался критерий Манна Уитни, для зависимых групп – критерий Фридмана. Для сравнения распределения качественных переменных были использованы t-критерий Стьюдента, критерий хи-квадрат, точный тест Фишера. Для определения срока сохранения жизнеспособности вируса при

инфицировании клеток 293 Т/АСЕ2 применяли метод Каплана-Майера. Вне зависимости от используемого статистического метода различия между группами считалось достоверным при $p \leq 0,05$

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ОБСУЖДЕНИЯ

Исследования и наблюдения за пациентами с COVID-19 в период с 17.11.2020 г. по 03.02.2021 г. приходились на первую - начало 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.

У всех пациентов в 100 % случаев был верифицирован диагноз «Коронавирусная инфекция, COVID-19, вирус идентифицирован» (U07.1 по МКБ), медиана госпитализации составила 7 [5-8] день болезни.

Возраст стационарных пациентов варьировал от 18 до 97 лет, медиана возраста составила 67 (58,0-78,5) лет (рисунок 2). Доминировали пациенты в возрасте от 51 до 90 лет (84,1±1,5 %); на возраст 61-70 лет приходилось 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 %. Доля госпитализированных лиц в возрасте до 30 лет и после 91 года была минимальной по 1,2±0,5 %. Соотношение мужчин и женщин составило соответственно 41,6 % и 58,4 %.

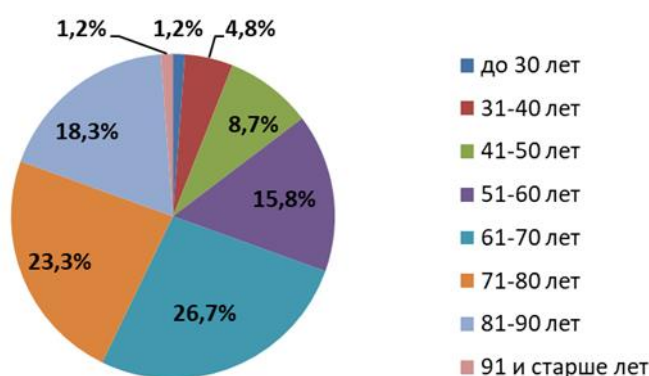


Рисунок 2 – Возрастная структура стационарных пациентов с COVID-19

Преимущественно заболевание протекало в среднетяжелой форме – 349 (59,6±2,03%), тяжелое течение заболевания отмечено у 234 (39,9± 2,02%) пациентов, у трех (0,5±0,3 %) имело легкое течение. Пациенты легкой группы не включены в

исследование из-за малой выборки. У пациентов старших возрастных групп COVID-19 проявлялся тяжелым течением заболевания с высоким показателем летальности (10,68 %) в сочетании с коморбидной патологией ($p \leq 0,05$). Летальный исход был зарегистрирован в 39 случаях, что составило $6,66 \pm 1,03\%$ от общего числа стационарных пациентов.

Анализ клинико-лабораторных данных показал, что тяжелое течение новой коронавирусной инфекции достоверно соотносилось с возрастом, у пациентов 70 лет и старше заболевание протекало тяжелее, чем в группе пациентов среднетяжелого течения. Основные клинические проявления у пациентов разной степени тяжести с COVID-19 были представлены типичным клиническим симптомокомплексом: преобладали симптомы интоксикации у 100 % стационарных пациентов, катарально-респираторный синдром не был ярко выражен, поражения органов дыхания отмечали в обеих группах наблюдения до 93,8% случаев, вовлеченность ССС чаще проявлялась функциональными нарушениями, среди неврологических расстройств преобладало головокружение (20 %), имели место симптомы поражения ЖКТ (18,3 %).

Значимыми коморбидными заболеваниями, ассоциированными с тяжестью течения COVID-19 были АГ 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. АГ достоверно определяла тяжесть COVID-19, даже в случае наличия только одного коморбидного состояния. При наличии одновременно 4-х и более коморбидных состояний заболевание во всех случаях протекало тяжело, наиболее частым сочетанием нозологий были АГ, ССЗ и ожирение. Летальность при тяжелом течении COVID-19 была ассоциирована с наличием АГ у 18,1% умерших пациентов, при наличии иной сердечно-сосудистой патологии летальный исход имел место в 26,2 % случаев.

Оценка острофазовых показателей воспаления, таких как, СРБ и ферритин, показала, что изменение некоторых из них коррелировало с активностью инфекционного процесса у пациентов с COVID-19 и уровнем вирусной нагрузки (ВН). Проведен корреляционный анализ высокой (до Ct 24) и низкой ВН (Ct от 25 и выше) с рядом острофазовых показателей воспаления.

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

Таблица 1 – Корреляционный анализ между показателями уровня вирусной нагрузки и ферритина у пациентов стационарных групп.

Острофазовый гематологический показатель	Уровень вирусной нагрузки (ВН)		Достоверность, р
	Высокий уровень ВН по Ct ≤24) (n = 31)	Низкий уровень ВН по Ct >25) (n = 66)	
М±SD (95 % CI)	759±547 (558 - 959)	354±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 %)	

Традиционно чувствительным и оказались острофазовые показатели – СОЭ и СРБ. В группе больных с низкой ВН повышение СОЭ свыше 30 мм/ч наблюдалось у 31 (49,2%) больных, а в группе с высокой ВН – в 80,0% случаев. Десятикратное повышение СРБ и более было зарегистрировано у пациентов в группе с низкой и высокой ВН: 86,9 % и 81,3 % соответственно.

Полученные данные дают основание постулировать, что для косвенного подтверждения сохраняющейся вiremии (SARS-CoV-2) и определения активности инфекционного процесса целесообразно оценочно использовать динамический контроль острофазовых маркеров: СРБ при его десятикратном повышении и более, показателя СОЭ при его повышении выше 30 мм.рт.ст, ферритин – повышение 250 мкг/л и более. Динамический контроль этих рутинных показателей на индивидуальном уровне, имеет диагностическую значимость и позволяет определить стратегию противовирусной терапии.

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

Количественный показатель ВН в ГЭ/мл в назофаренгиальных мазках у пациентов группах 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 2 -2,4 раза у пациентов со среднетяжелым течением заболевания – St_{max} 28,86 ($1,44 \times 10^5$ ГЭ/мл). При оценке медианы минимальных показателей ВН при тяжелом течении St_{min} 29,67 или $1,24 \times 10^5$ ГЭ/мл по сравнению со среднетяжелым течением отличались в 1,3 раз и

составили $C_{t_{min}}$ 29,58 ($9,61 \times 10^4$ ГЭ/мл). Полученные результаты свидетельствуют о значимости вирусной нагрузки при оценке 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 ВН 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 ВН ($p \geq 0,05$), однако к концу второй недели (14 день) было отмечено феномен увеличения уровня ВН, что может свидетельствовать о возможности повторного инфицирования пациентов с тяжелым коморбидным фоном 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.

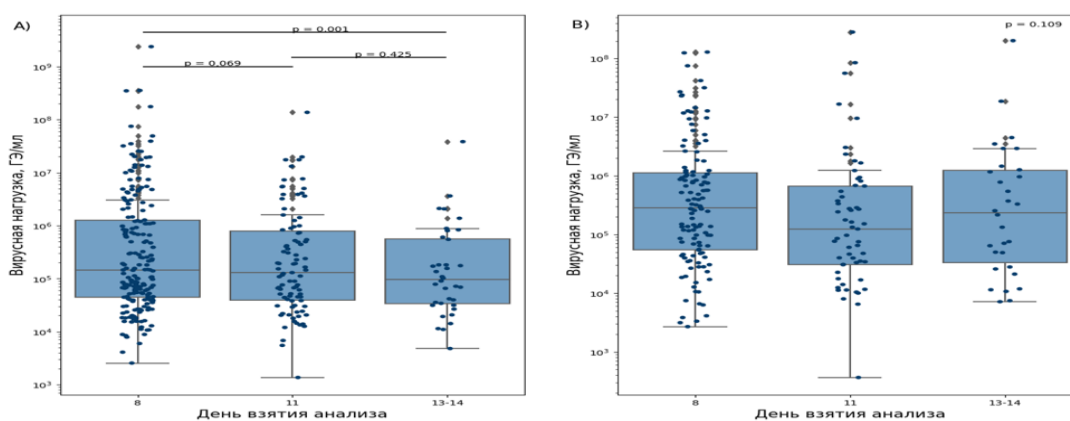


Рисунок 3 – Динамика уровня вирусной нагрузки SARS-CoV-2 для пациентов со среднетяжелым (А) и тяжелым течением (В) COVID-19.

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.

В связи с этим, дальнейшим этапом наших исследований было обоснование периода заразительности больного COVID-19 и сроков его изоляции, для понимания того, как долго больные являются источниками инфекции для восприимчивых лиц, что чрезвычайно важно с эпидемиологической точки зрения. Данная задача реализована в результате одновременного анализа ПЦР-положительных тестов с оценкой ВН и жизнеспособности вируса *in vitro* по цитопатогенному эффекту (ЦПЭ).

Предложенный нами подход позволил установить, что только 28,8 % ПЦР-положительных назофарингеальных 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 ВН 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.

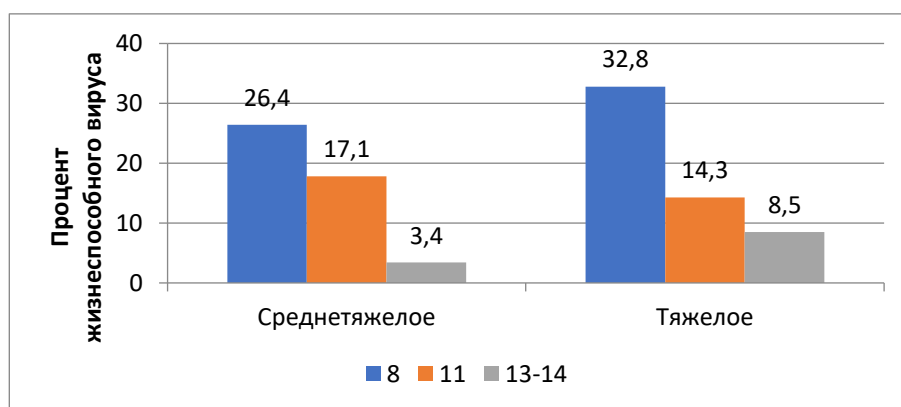


Рисунок 4 – Доля жизнеспособного вируса (ПЦР+ ЦПЭ+) в назофарингеальных мазках пациентов в динамике болезни при среднетяжелом и тяжелом течении COVID-19

Учитывая, что не во всех случаях известно в какие сроки болезни 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 1 сутки до 11,6 % на 7 сутки и составила 2,27 % на 14 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.

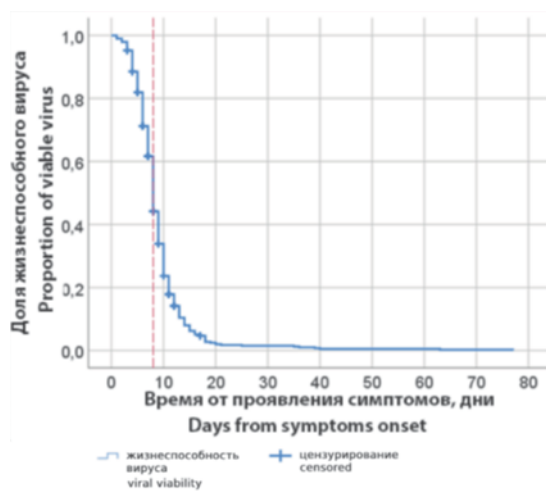


Рисунок 5 – Сохранение жизнеспособной активности вируса SARS-CoV-2 в назофарингеальных мазках пациентов в динамики заболевания COVID-19. Красной вертикальной линией показана медиана дня сохранения вируса (8 дней)

Вышесказанное 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 окружающих лиц 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 ВН 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 SARS-CoV-2 не выявлялась. Пик ВН в образцах верхних дыхательных путей 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 ВН 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 13 дня.

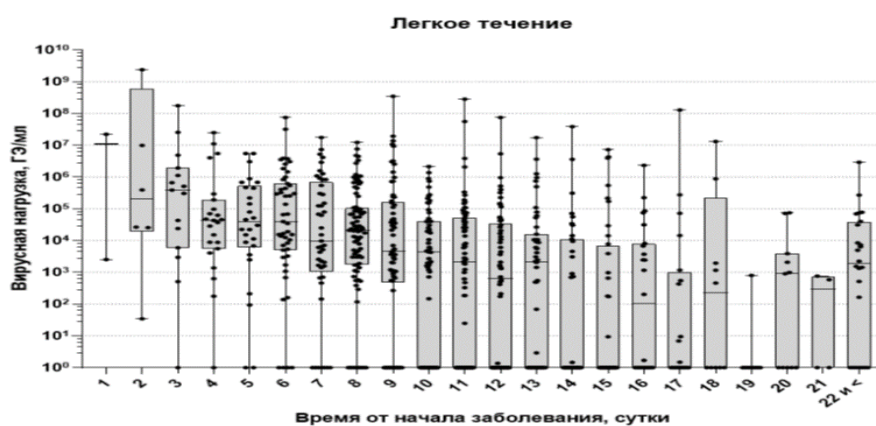


Рисунок 6 –Динамика изменения вирусной нагрузки в назофарингеальных мазках пациентов по дням болезни. Результаты представлены диаграммами размаха: горизонтальные линии - медианы; прямоугольники – межквартильный диапазон; расширение– минимальное и максимальное

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 ВН в копрофильtrate по Ст 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.

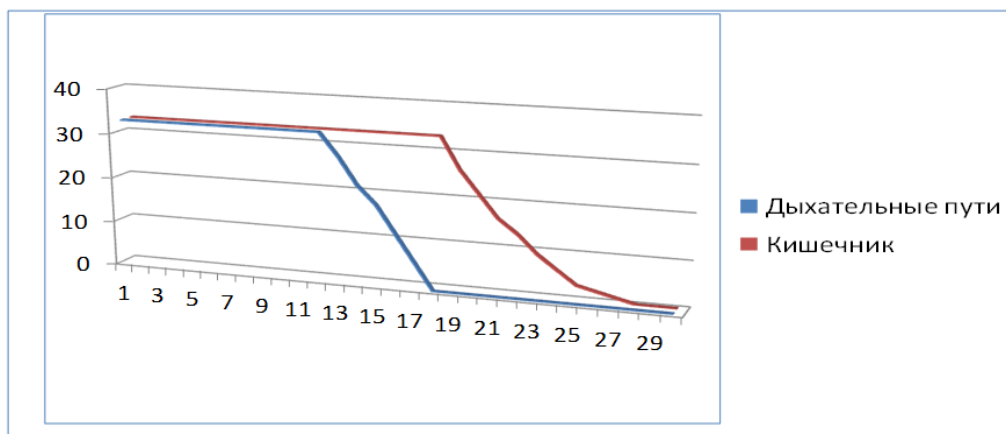


Рисунок 7 – Сроки обнаружения РНК вируса SARS-CoV-2 в различных биосубстратах в динамике течения COVID-19

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 персонифицированного подхода к ведению пациентов с COVID-19 в условиях стационара, при обосновании долечивания, выписки и сроков диспансерного наблюдения (рисунок 8), включающие:

1. Уровень ВН необходимо учитывать при оценке тяжести течения и возможности неблагоприятного исхода заболевания.
2. Мониторинг ВН 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.
5. 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.

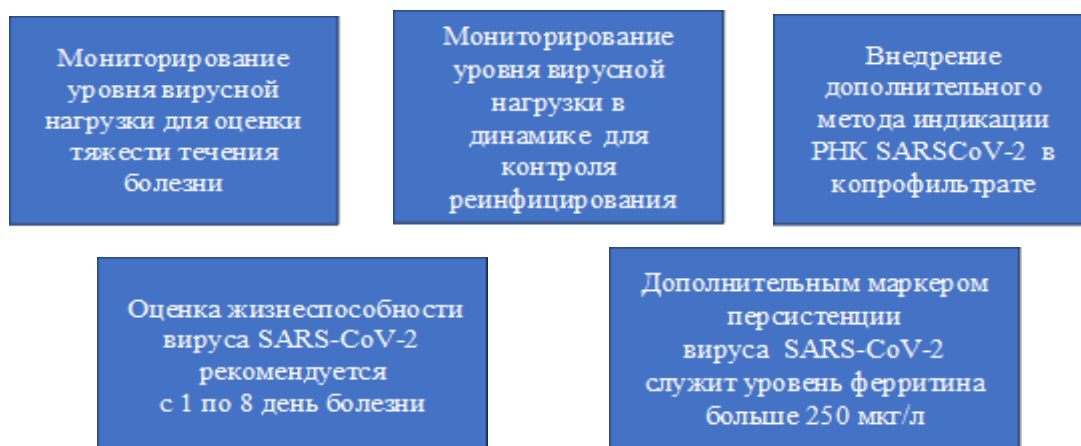


Рисунок 8 – Персонализированный подход к выписке и диспансерному наблюдению пациентов с COVID-19

Проведенные исследования ВН 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 ВН в копрофильtrate и сточных водах в ассоциации с уровнем заболеваемости на различных территориях России могут существенно дополнить изучение других механизмов передачи COVID-19.

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 оценке тяжести течения болезни.

4. У пациентов с тяжелым 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 пациентах 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 ДАЛЬНЕЙШЕЙ РАЗРАБОТКИ ТЕМЫ

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 персонифицированный лечебно-диагностический алгоритм. Дальнейшие исследования в этом направлении позволять 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 РАБОТ ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Кузнецова Н.А. Оценка динамики выявления жизнеспособного SARS-CoV-2 (Coronaviridae: Betacoronavirus: Sarbecovirus) в биологических образцах, полученных от пациентов с COVID-19 в условиях стационара, как одного из показателей инфекционности вируса / Н.А. Кузнецова, Д.А. Огаркова, В.А. Гушин, Н.А. Антипят, В.В. Бакалин, О.А. Бургасова, Л.А. Васильченко, **А.А. Самков**, Я.В. Симакова, Е.В. Дивисенко, А.Э. Синявин, А.П. Ткачук, Л.В. Колобухина, Е.В. Шидловская, И.Н. Тюрин, И.С. Кружкова, В.И. Злобин, М.А. Никифорова, М.А. Одноралов, А.Л. Гинцбург // Вопросы вирусологии. – 2023. – Т. 68, № 2. – С. 105-116.
2. **Самков А.А.** Значимость вирусной нагрузки при оценке клинического и эпидемиологического статуса пациентов с COVID-19 / А.А. Самков, О.А. Бургасова, Н.А.

Кузнецова, М.В. Чеснокова, Д.А. Огаркова, В.А. Гушин, И.Н. Тюрин // Инфекционные болезни. – 2023. – Т. 21, № 3. – С. 20-26.

3. Щегловитова О.Н. Особенности функционирования системы врожденного и адаптивного иммунитета у пациентов с COVID-19 старшей возрастной группы / О.Н. Щегловитова, Л.В. Колобухина, А.А. Бабаянц, И.С. Фролова, Е.И. Исаева, И.С. Кружкова, **А.А. Самков**, Н.А. Антипят, И.Н. Тюрин, А.Н. Наровлянский, Ф.И. Ершов // Журнал инфектологии. – 2023. – Т. 15, № 3. – С. 83-91.

4. Бургасова О. А. Клиническо-эпидемиологическая значимость контроля вирусной нагрузки и вирусной активности SARS-CoV-2 / О. А. Бургасова, **А. А. Самков**, В. А. Гушин, И. Н. Тюрин // Врач. – 2023. – Т. 34, № 4. – С. 23-26.

5. **Самков А.А.** Персонифицированный подход к выписке и диспансерному наблюдению пациентов с COVID-19 / А.А. Самков, О.А. Бургасова, М.В. Чеснокова, И.Н. Тюрин // Врач. – 2023. – Т. 34, № 11. – С. 37-41.

6. Бакалин В. В. Инфекционный потенциал SARS-CoV-2 у стационарных пациентов / В. В. Бакалин, **А. А. Самков**, О. А. Бургасова, В. А. Гушин // Инфекционные болезни в современном мире: эволюция, текущие и будущие угрозы: Сб.трудов XV Ежегодного Всероссийского Конгресса по инфекционным болезням им. акад. В.И. Покровского, Москва, 27–29 марта 2023 года. – Москва: ООО "Медицинское Маркетинговое Агентство", 2023. – С. 16-17.

7. Ахметова Е.Р., **Самков А.А.** Клинический случай среднетяжелого течения COVID-19 с оценкой вирусной нагрузки / Е.Р.Ахметова, А.А. Самков // Материалы X Всероссийской междисциплинарной научно-практической конференции с международным участием «Социально-значимые и особо опасные инфекционные заболевания», 7-10 ноября 2023 г, Сочи. – С. 14-16.

8. **Самков А.А.**, Бакалин В.В. Роль вирусологического мониторинга у пациентов с COVID-19. **Самков А.А.**, Бакалин В.В. // Сб. тезисов международной научно-практической конференции «Современные тенденции развития инфектологии, медицинской паразитологии, эпидемиологии и микробиологии», 4-5 апреля 2023, г.Ургенч, Узбекистан. – С. 195

Аннотация диссертации

Самкова Алексея Александровича

«ОПТИМИЗАЦИЯ ПОДХОДОВ К ВЕДЕНИЮ

ПАЦИЕНТОВ С COVID- 19»

Работа посвящена изучению влияния ряда биологических характеристик SARS-CoV-2, включая вирусную нагрузку на течение новой коронавирусной инфекции. Анализ указанных параметров необходим для разработки клиничко-лабораторного диагностического алгоритма, профилактики прогрессирования индуцированных вирусом

SARS-CoV-2 ответных иммунопатологических реакций организма, выработке тактики диспансерного наблюдения реконвалесцентов.

Исследования и наблюдения за пациентами с COVID-19 в период с 17.11.2020 г. по 03.02.2021 г. приходились на начальный период пандемии в г. Москве с циркуляцией геновариантов Ухань, Альфа и Дельта. Определение ряда 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 рациональное распределение ресурсов здравоохранения при маршрутизации большого числа пациентов. Доказано, что для косвенного подтверждения сохраняющейся виремии (SARS-CoV-2) и определения активности инфекционного процесса целесообразно оценочно использовать динамику острофазовых маркеров: СРБ при его десятикратном повышении и более, показателя СОЭ при его повышении с 30 мм.рт.ст и более, ферритин – при повышении 250 мкг/л и более.

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. Полученные результаты свидетельствуют о значимости вирусной нагрузки и ее оценки при прогнозировании тяжести течения болезни. В работе научно обоснованы период заразительности больного COVID-19 и сроки изоляции, 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).

Было показано, 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, что обосновывает сроки изоляции пациентов с COVID-19.

Впервые проведена детекция РНК SARS-CoV-2 и оценка уровня вирусной нагрузки в копрофильtrate у госпитализированных пациентов. 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.

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

Dissertation abstract

Samkov Alexey Alexandrovich

"OPTIMIZATION OF APPROACHES TO MANAGEMENT OF PATIENTS WITH COVID-19"

The study was dedicated to assessing the influence of a number of biological characteristics of SARS-CoV-2, including viral load, on the course of the new coronavirus infection. Analysis of these parameters is necessary for the development of a clinical and laboratory diagnostic algorithm, prevention of progression of immunopathological responses induced by the SARS-CoV-2 virus, and development of tactics for convalescents' follow-ups.

Research work was carried out during the initial period of the development of the pandemic in Moscow and circulation of the Wuhan, Alpha and Delta genovariants of COVID-19 from November 17th, 2020 till February 3rd, 2021. Determination of factors influencing unfavorable course of COVID-19 in patients with comorbid conditions made it possible to optimize management of patients at an early stage of the disease as well as the rational distribution of healthcare resources when routing a large number of patients.

It has been proven that to indirectly confirm persistent viremia (SARS-CoV-2) and determine the activity of the infectious process, it is advisable to evaluate the dynamics of acute-phase markers: CRP when it increases tenfold or more, ESR when it increases from 30 mmHg or more, ferritin – an increase of 250 mcg/l or more.

The quantitative indicator of viral load measured in GE/ml in nasopharyngeal smears of patients was characterized by variability of values with high levels in severely ill ones. The results indicate the importance of viral load level and its assessment in predicting severity of the disease. The work provides a scientific bases for determination of the period of contagiousness and the terms of the isolation of a COVID-19 patient. That was implemented by simultaneous analysis of a PCR-positive high viral load samples with the study of the viral viability in the same samples in vitro for the cytopathogenic effect (CPE).

It was shown that in 50% of patients elimination of the virus can be expected even in case of a positive PCR result by the 8th day of the disease on average [7.8-8.2]. And after 14 days in 95% patients with initially positive RT-PCR for SARS RNA -CoV-2 result the viable virus was not detected. This fact gives the foundation of the isolation terms of patients with COVID-19.

For the first time, SARS-CoV-2 RNA was detected and the level of viral load in the coprofiltrate of hospitalized patients was assessed. SARS-CoV-2 RNA was detected in the coprofiltrate of the patients with laboratory-confirmed COVID-19 in 37.0% of cases. The median viral load in the coprofiltrate according to Ct was set to 29.6 [28.1-30.5]. The terms of detection of specific RNA in coprofiltrate exceeded those from the respiratory tract and were 29 days (observational period). This proves significance of such samples testing as an additional biomaterial from patients in order to diagnose COVID-19.

An integrated approach with the evaluation of clinical, virological parameters, laboratory results and additional diagnostic methods made it possible to offer principles and scientifically based criteria for clinical and laboratory screening of patients with COVID-19 in a hospital setting as well as terms of treatment, dates of discharge from the hospital and post-discharge follow ups.

СПИСОК ОСНОВНЫХ СОКРАЩЕНИЙ

АГ – артериальная гипертензия

БА – бронхиальная астма

ВН – вирусная нагрузка

ДВС – иссемированное внутрисосудистое свертывание

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

ГН-CSF – гланулоцитарный макрофагальный колониестимулирующий фактор

IgA – иммуноглобулин 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