

ISSN 2782-3806
ISSN 2782-3814 (Online)
УДК 578.834.1

ЗАВИСИМОСТЬ ТЯЖЕСТИ ТЕЧЕНИЯ COVID-19 ОТ ВИРУСНОЙ НАГРУЗКИ У ГОСПИТАЛИЗИРОВАННЫХ ПАЦИЕНТОВ

Голодяева М. В.^{1, 2}, Лабинцева Е. В.¹

¹ Государственное областное автономное учреждение здравоохранения «Мурманский областной центр специализированных видов медицинской помощи», Мурманск, Россия

² Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр имени В. А. Алмазова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Санкт-Петербург, Россия

Контактная информация:

Голодяева Мария Владимировна,
ФГБУ «НМИЦ им. В. А. Алмазова»
Минздрава России,
ул. Аккуратова, д. 2, Санкт-Петербург,
Россия, 197341.
E-mail: tunicate@yandex.ru

Статья поступила в редакцию 25.05.2023
и принята к печати 16.06.2023.

РЕЗЮМЕ

Клиническая манифестация COVID-19 варьируется у разных пациентов от бессимптомного течения до тяжелой полиорганной недостаточности. Причины такой вариабельности до конца не известны. Целью данного исследования явился анализ тяжести течения COVID-19 у госпитализированных пациентов в зависимости от исходной вирусной нагрузки SARS-CoV-2. В исследование были включены 156 пациентов 18 лет и старше. При проведении исследований методом РВ-ПЦР вирусная нагрузка оценивалась по результатам C_t (пороговое значение цикла амплификации). Результат считался положительным, когда значения C_t при определении целевых генов были < 40 , и отрицательными, когда C_t были ≥ 40 . В ходе исследования были выделены 3 группы по 52 человека в каждой с различными траекториями течения заболевания: 1 — легкое, 2 — среднетяжелое, 3 — тяжелое/летальный исход. Значения медианы порога цикла C_t при поступлении пациентов группы 3 в стационар были значительно ниже, что указывает на более высокие исходные уровни вирусной РНК у пациентов с более тяжелым течением заболевания. Эта закономерность сохранялась в течение 28-дневного периода, и именно в этой 3 группе на протяжении всего времени определялись более высокие уровни вирусной РНК по сравнению с другими траекториями течения заболевания. Таким образом, показано влияние исходной вирусной нагрузки SARS-CoV-2 и ее динамики в период госпитализации на тяжесть течения COVID-19. Данный параметр может выступать прогностическим маркером для оценки клинического состояния пациентов в ходе лечения.

Ключевые слова: вирусная нагрузка, исследование методом ПЦР, COVID-19, SARS-CoV-2.

Для цитирования: Голодяева М.В., Лабинцева Е.В. Зависимость тяжести течения COVID-19 от вирусной нагрузки у госпитализированных пациентов. Российский журнал персонализированной медицины. 2023; 3(4):59-65. DOI: 10.18705/2782-3806-2023-3-4-59-65.

DEPENDENCE OF THE SEVERITY OF THE COURSE OF COVID-19 ON VIRAL LOAD IN HOSPITALIZED PATIENTS

Golodyaeva M. V.^{1,2}, Labintseva E. V.¹

¹ Murmansk Regional Center for Specialized Types of Medical Care, Murmansk, Russia

² Almazov National Medical Research Centre, Saint Petersburg, Russia

Corresponding author:

Golodyaeva Mariya V.,
Almazov National Medical Research
Centre,
Akkuratova str., 2, Saint Petersburg,
Russia, 197341.
E-mail: tunicate@yandex.ru

Received 25 May 2023; accepted
16 June 2023.

ABSTRACT

Clinical manifestations of COVID-19 vary in different patients from asymptomatic to severe multiple organ failure. The aim of this study was to analyze the severity of COVID-19 in hospitalized patients depending on the initial viral load of SARS-CoV-2. Study included 156 patients 18 years old and more. In the RT-PCR test, viral load was assessed by amplification cycle threshold Ct. The result was considered positive for Ct values < 40 and negative for Ct ≥ 40. 3 groups of 52 people each with different trajectories of the course of the disease were identified: 1 — mild, 2 — moderate, 3 — severe/fatal. The values of the median Ct cycle threshold upon admission of patients in group 3 to the hospital were significantly lower, indicating higher initial levels of viral RNA in patients with more severe disease. This pattern persisted over a 28-day period, and it was in this 3 group that higher levels of viral RNA were detected throughout the time compared to other disease trajectories. In conclusion, the effect of the initial SARS-CoV-2 viral load and its dynamics during hospitalization on the severity of COVID-19 is shown. This parameter can be a prognostic marker for assessing the clinical condition of patients during treatment.

Key words: COVID-19, PCR test, SARS-CoV-2, viral load.

For citation: Golodyaeva MV, Labintseva EV. Dependence of the severity of the course of COVID-19 on viral load in hospitalized patients. Russian Journal for Personalized Medicine. 2023; 3(4):59-65. (In Russ.) DOI: 10.18705/2782-3806-2023-3-4-59-65.

ВВЕДЕНИЕ

Вирус SARS-CoV-2, ставший причиной пандемии COVID-19 и вызывающий развитие пневмонии, острого респираторного дистресс-синдрома, а также поражение других органов и систем организма, привел к серьезной угрозе жизни и здоровью населения всех стран мира [1]. Геном SARS-CoV-2 содержит одноцепочечную РНК длиной около 30 тыс. нуклеотидов, инкапсулированную в мембранную оболочку со средним диаметром 75–150 нм, которая покрыта «шипами» гликопротеина, придающими вирусу вид, похожий на корону [2, 3]. COVID-19 очень трансмиссивная и быстро распространяющаяся инфекция, так как может передаваться воздушно-капельным и контактным путями. Клиническая манифестация COVID-19 варьируется у разных пациентов от бессимптомного течения до тяжелой полиорганной недостаточности. Причины такой вариабельности до конца не известны, предполагается, что на степень тяжести заболевания может влиять возраст больного, этническая принадлежность, сопутствующие заболевания, штамм коронавируса инфекции, наличие или отсутствие вакцинации [4, 5]. В любом случае точный диагноз крайне важен. Клинический диагноз COVID-19 в первую очередь основан

на эпидемиологическом анамнезе и клинических проявлениях, подтвержденных различными методами, в том числе компьютерной томографией (КТ) и лабораторной диагностикой, включающей методы анализа нуклеиновых кислот и серологические исследования (рис. 1) [6, 7].

Однако в настоящее время золотым стандартом лабораторной диагностики является количественное определение SARS-CoV-2 методом полимеразной цепной реакции в реальном времени (РВ-ПЦР) в мазке из носа и зева (рис. 2) [1]. Метод включает сбор образцов (шаги 1–2), выделение вирусной РНК (шаг 3), преобразование РНК в комплементарную ДНК (кДНК) путем обратной транскрипции (шаг 4), амплификацию образца кДНК с помощью количественной РВ-ПЦР и выявление вируса по наличию флуоресцентного сигнала. Как правило, используется около 50 циклов амплификации, позволяющих проводить полуколичественный или даже количественный (по количеству копий) анализ кДНК SARS-CoV-2.

Еще одной важной задачей клинической лабораторной диагностики является определение маркеров прогноза течения коронавирусной инфекции. Была показана значимость таких лабораторных показателей, как число тромбоцитов и лимфоцитов, уровень ферритина, Д-димера, С-реактивного

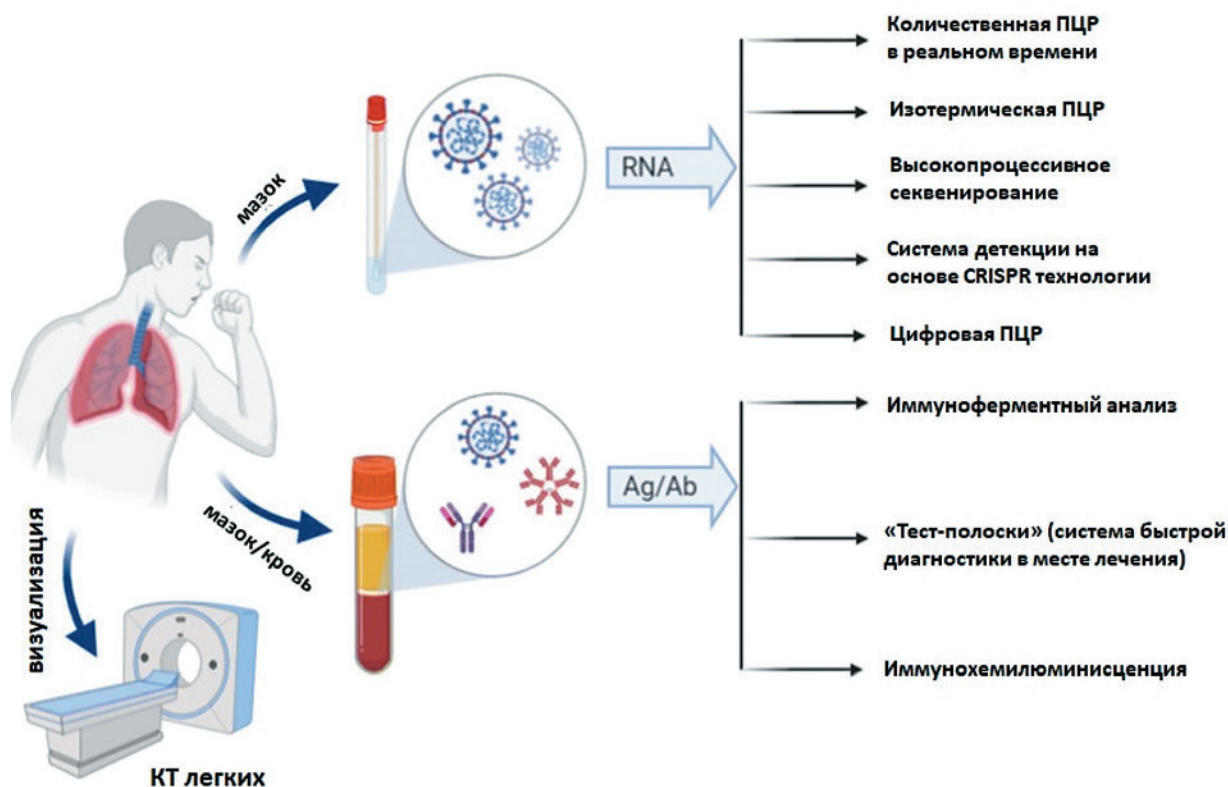


Рис. 1. Методы диагностики COVID-19 (по Rai P. и др., 2021, с модификациями [7])

белка, лактатдегидрогеназы, интерлейкинов, количество внеклеточных микровезикул плазмы крови [7–13]. Однако логично предположить, что на тяжесть течения COVID-19 будет влиять и исходная вирусная нагрузка.

Таким образом, целью данного исследования явился анализ тяжести течения COVID-19 у госпитализированных пациентов в зависимости от исходной вирусной нагрузки SARS-CoV-2.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В исследование были включены пациенты 18 лет и старше, поступившие в стационарное отделение ГОАУЗ «МОЦСМП» для лечения новой коронавирусной инфекции COVID-19 в период с июля 2020 по март 2022 гг. Данные о лабораторных исследованиях и тяжести течения COVID-19 были получены из электронных медицинских карт. Биологический материал из зева и носа собирался

в транспортную среду и в течение часа доставлялся в лабораторию. Забор биологического материала осуществлялся трижды: в первый день госпитализации (1-я точка); между первой и второй неделями госпитализации (2-я точка); с 14 по 28 день нахождения в стационаре (3-я точка).

Для анализа были отобраны 156 пациентов по продолжительности пребывания в стационаре до 28 дней, а также тяжелые больные, которые в связи с их состоянием переводились в реанимационные отделения в другие лечебные учреждения.

Все пациенты давали добровольное информированное согласие на участие в исследовании.

При проведении исследований методом РВ-ПЦР вирусная нагрузка оценивалась по результатам C_t (пороговое значение цикла амплификации). Для диагностики использовались тест-системы «Реал-Бест» РНК SARS-CoV-2. Методика определения SARS-CoV-2 основана на полностью автоматизированной подготовке образцов (экстракция и очистка

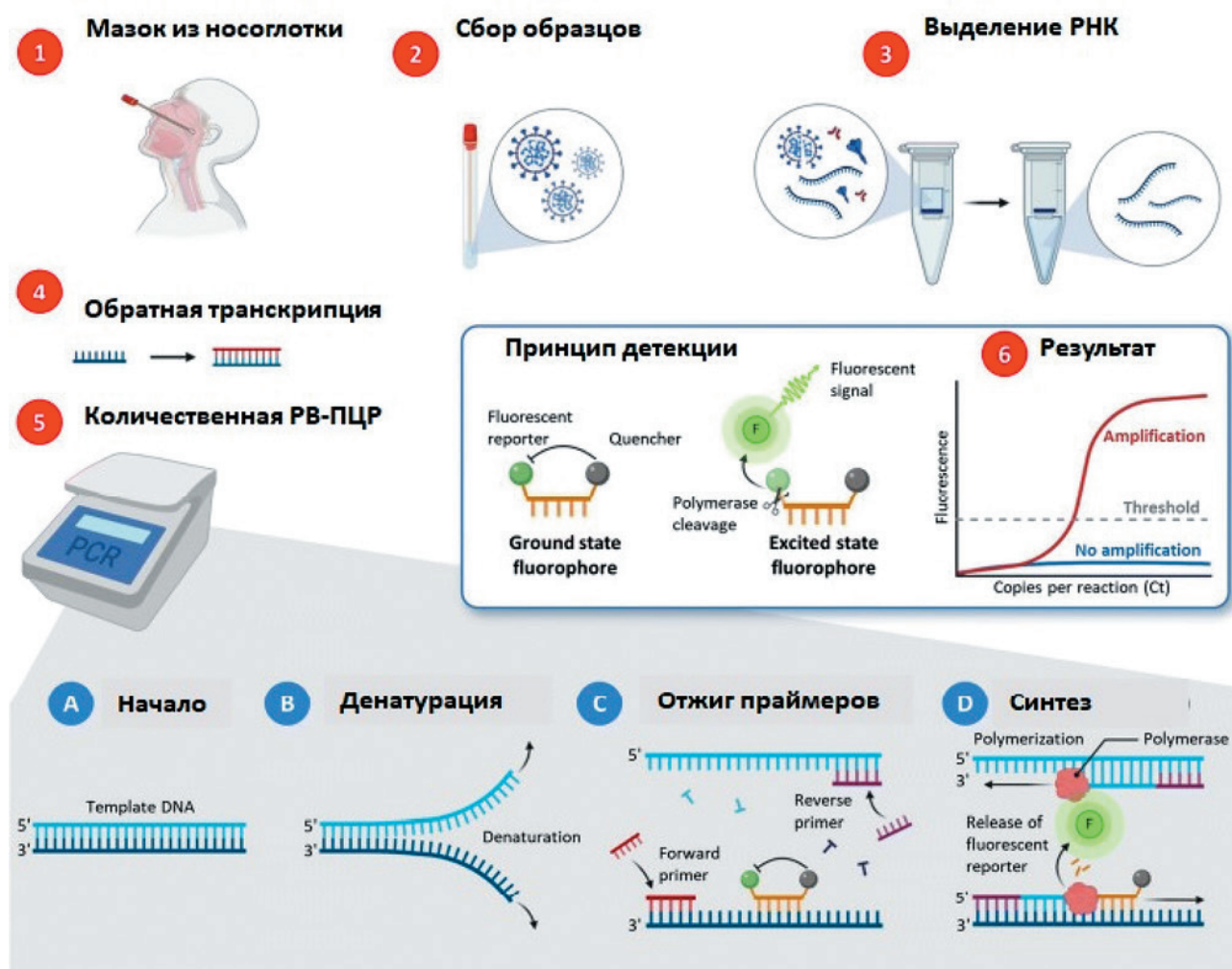


Рис. 2. Типичная процедура диагностики COVID-19 с помощью РВ-ПЦР (по Majumder J., Minko T., 2021, с модификациями [1])

нуклеиновых кислот) с последующей амплификацией и обнаружением целевых областей в геноме SARS-CoV-2. Результат считался положительным, когда значения Ct при определении целевых генов были < 40 , и отрицательными, когда Ct были ≥ 40 .

Статистическую обработку результатов выполняли с помощью программного пакета Statistica 10 for Windows (StatSoft, США). Количественные переменные представляли в виде «Me [Q25; Q75]», где Me — медиана, Q — квантили.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЯ

При анализе электронной медицинской документации пациентов, находящихся в условиях стационара, были выделены 3 группы по 52 человека в каждой с различными траекториями течения заболевания:

- Траектория 1 — короткая продолжительность пребывания в стационаре, легкое течение (группа 1);

- Траектория 2 — средняя продолжительность пребывания в стационаре, среднетяжелое течение (группа 2);

- Траектория 3 — длительная госпитализация и тяжелое течение, летальные исходы (группа 3).

Для анализа данных были определены медианные пороги циклов Ct РВ-ПЦР в трех группах (рис. 3). Значения медианного порога цикла Ct для траектории 3 при поступлении пациентов в стационар были значительно ниже, что указывает на более высокие исходные уровни вирусной РНК у пациентов с более тяжелым течением заболевания (рис. 3а). Эта закономерность сохранялась в течение 28-дневного периода, и именно в этой группе на протяжении всего времени определялись более высокие уровни вирусной РНК, измеренной в точках 2 и 3, по сравнению с другими траекториями течения заболевания (рис. 3б, 3в).

Для первой и второй траекторий наблюдалось устойчивое снижение уровня вирусной нагрузки РНК в первую неделю после госпитализации с отрицательным результатом к 10–14 дню (2-я точка измерений) (рис. 4).

В группе 3 скорость снижения вирусной нагрузки была замедлена между первой и второй неделями госпитализации и стабилизировалась

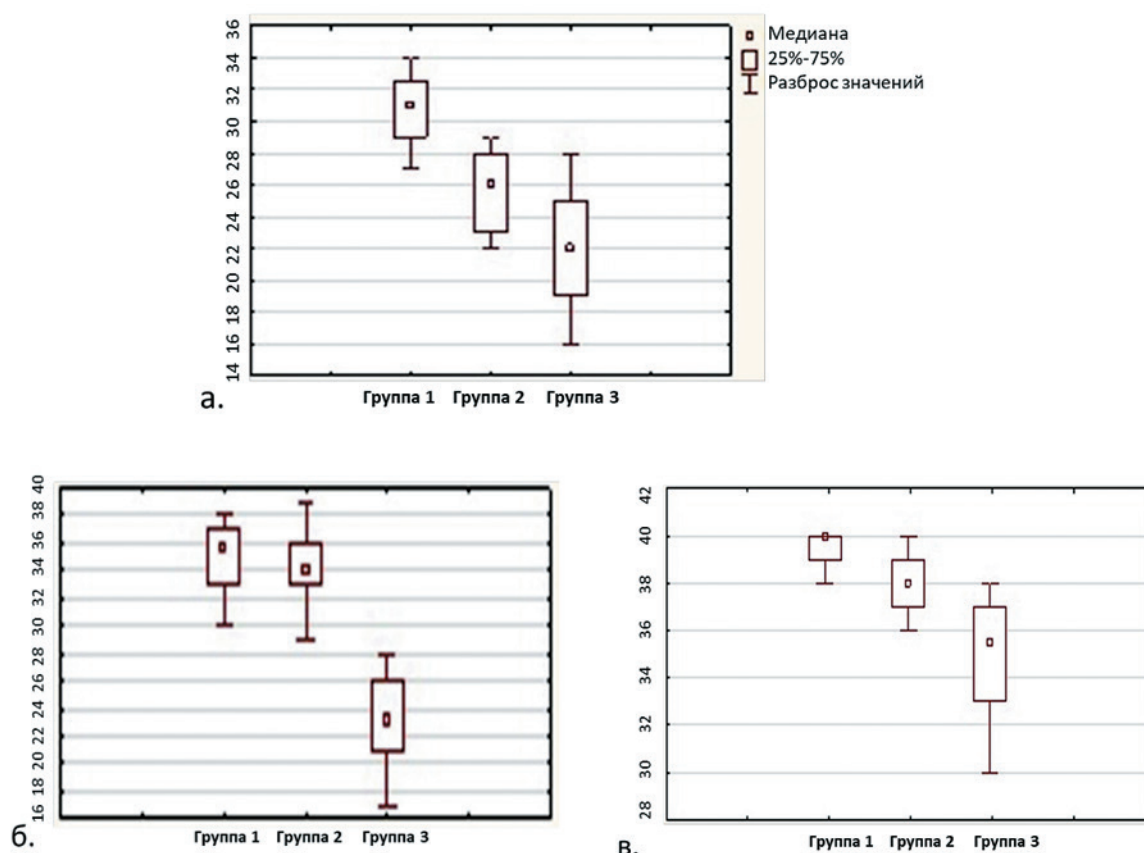


Рис. 3. Медианные пороги циклов Ct РВ-ПЦР в трех исследуемых группах при поступлении в стационар (а), на 10–14 дни (б) и на 14–28 дни (в)

на значении Ct 25 в течение второй недели госпитализации. Это указывает на персистенцию вирусной нагрузки РНК при тяжелом течении COVID-19 (рис. 4в). К 14–28 дням госпитализации у таких пациентов наблюдалось постепенное снижение вирусной нагрузки.

Соответственно, в ходе данного исследования было выявлено, что высокая исходная вирусная нагрузка и ее постоянство в период между первой и второй неделями заболевания были связаны с более тяжелым течением COVID-19 и случаями летального исхода. В настоящем исследовании не ставилось задачи оценить уровни антител IgG, однако при анализе электронных карт пациентов, переболевших новой коронавирусной инфекцией, была отмечена взаимосвязь не только между низкими значениями Ct при определении SARS-CoV-2 методом РВ-ПЦР и тяжестью течения заболевания, но и связь между тяжестью течения COVID-19 и низкими уровнями IgG у них. Эти наблюдения свидетельствуют о том, что нарушение функционального противовирусного иммунного ответа, необходимого для элиминации вируса, может играть ключевую роль в тяжелом течении COVID-19

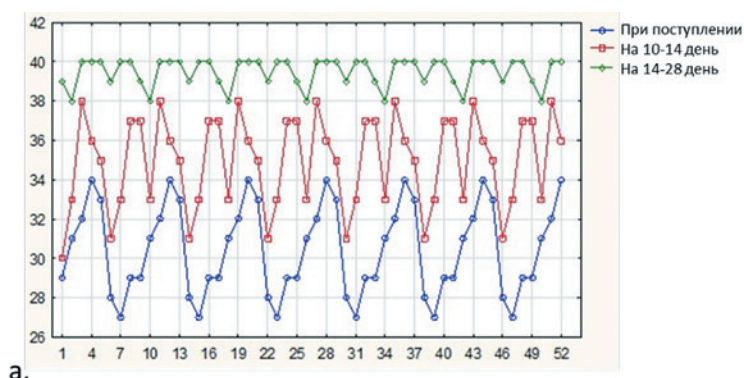
и краткосрочной смерти. Результаты проведенного исследования коррелируют с данными Ozonoff A. и соавторов (2022 г.), которые показали, что исходная вирусная нагрузка и значение Ct коррелируют с тяжестью COVID-19 у госпитализированных пациентов, а низкий уровень IgG может выступать фактором риска летального исхода [5]. О важности наблюдения за динамикой вирусной нагрузки с точки зрения оценки клинического состояния пациентов с COVID-19 говорят и другие авторы [14, 15].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

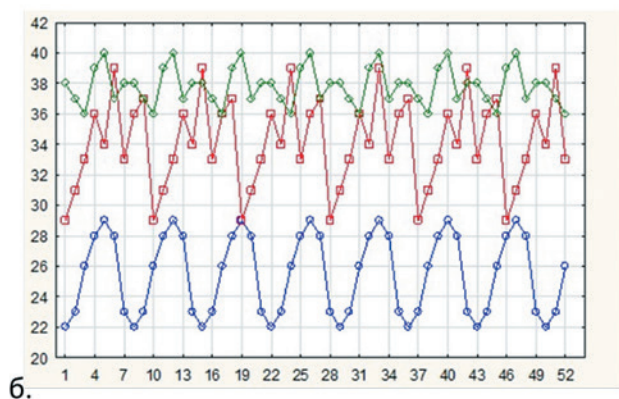
В ходе работы показано влияние исходной вирусной нагрузки SARS-CoV-2 и ее динамики в период госпитализации на тяжесть течения COVID-19. Таким образом, данный параметр может выступать прогностическим маркером для оценки клинического состояния пациентов в ходе лечения.

Конфликт интересов / Conflict of interest

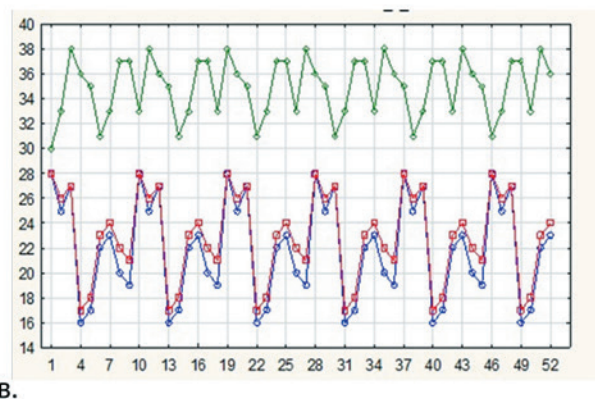
Авторы заявили об отсутствии потенциального конфликта интересов. / The authors declare no conflict of interest.



а.



б.



в.

Рис. 4. Динамика вирусной нагрузки в группах 1 (а), 2 (б) и 3 (в). По оси X указаны пациенты, по оси Y — значения Ct

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Majumder J, Minko T. Recent Developments on Therapeutic and Diagnostic Approaches for COVID-19. *AAPS J.* 2021;23(1):14. DOI: 10.1208/s12248-020-00532-2.
2. Petrosillo N, Viceconte G, Ergonul O, et al. COVID-19, SARS and MERS: are they closely related? *Clin Microbiol Infect.* 2020;26(6):729–34. DOI: 10.1016/j.cmi.2020.03.026.
3. Wu F, Zhao S, Yu B, et al. A new coronavirus associated with human respiratory disease in China. *Nature.* 2020;579(7798):265–269. DOI: 10.1038/s41586-020-2008-3.
4. Mackey K, Ayers CK, Kondo KK, et al. Racial and Ethnic Disparities in COVID-19-Related Infections, Hospitalizations, and Deaths: A Systematic Review. *Ann Intern Med.* 2021;174(3):362–373. DOI: 10.7326/M20-6306.
5. Ozonoff A, Schaenman J, Jayavelu ND, et al. Phenotypes of disease severity in a cohort of hospitalized COVID-19 patients: Results from the IMPACC study. *EBioMedicine.* 2022;83: 104208. DOI: 10.1016/j.ebiom.2022.104208.
6. Safiabadi Tali SH, LeBlanc JJ, Sadiq Z, et al. Tools and Techniques for Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 (SARS-CoV-2)/COVID-19 Detection. *Clin Microbiol Rev.* 2021;34(3): e00228–20. DOI: 10.1128/CMR.00228-20.
7. Rai P, Kumar BK, Deekshit VK, et al. Detection technologies and recent developments in the diagnosis of COVID-19 infection. *Appl Microbiol Biotechnol.* 2021;105(2):441–455. DOI: 10.1007/s00253-020-11061-5.
8. Jin X, Duan Y, Bao T, et al. The values of coagulation function in COVID-19 patients. *PLoS One.* 2020;15(Nº10): e0241329. DOI: 10.1371/journal.pone.0241329.
9. KarimiShahri M, Niazkar HR, Rad F. COVID-19 and hematology findings based on the current evidences: A puzzle with many missing pieces. *Int. J. Lab. Hematol.* 2021;43(Nº 2):160–168. DOI: 10.1111/ijlh.13412.
10. Sirotkina OV, Ermakov AI, Gaykovaya LB, et al. Microparticles of blood cells in patients with COVID-19 as a marker of hemostasis activation. *Tromboz, Gemostaz i Reologiya.* 2020; № 4: 35–40. In Russian [Сироткина О.В., Ермаков А.И., Гайковская Л.Б. и др. Микрочастицы клеток крови у больных COVID-19 как маркер активации системы гемостаза. *Тромбоз, гемостаз и реология.* 2020;4: 35–40]. DOI: 10.25555/THR.2020.4.0943.
11. Sirotkina OV, Ermakov AI, Zhilenkova Yul, et al. Dynamics of microvesicle formation in blood in patients with COVID-19 at different stages of the disease. *Preventive and clinical medicine.* 2021;81(Nº4): 68–74. In Russian [Сироткина О.В., Ермаков А.И., Жиленкова Ю.И. и др. Динамика образования микровезикул клеток крови у больных COVID-19 на разных стадиях заболевания. *Профилактическая и клиническая медицина.* 2021;4(81):68–74]. DOI: 10.47843/2074-9120_2021_4_68.
12. Sirotkina OV, Ulitina AS, Kulabukhova DG, et al. Correlation of laboratory markers of hemostatic system activation with concentration and size of plasma extracellular microparticles in patients with COVID-19. *The Scientific Notes of the Pavlov University.* 2022;29(1):28–36. In Russian [Сироткина О.В., Улитина А.С., Кулабухова Д.Г. и др. Корреляция лабораторных маркеров активации системы гемостаза с концентрацией и размером внеклеточных микрочастиц плазмы крови у пациентов с COVID-19. *Ученые записки СПбГМУ им. акад. И. П. Павлова.* 2022;29(1):28–36]. DOI: 10.24884/1607-4181-2022-29-1-28-36.
13. Kudryavtsev I, Kalinina O, Bezrukh V, et al. The Significance of Phenotyping and Quantification of Plasma Extracellular Vesicles Levels Using High-Sensitivity Flow Cytometry during COVID-19 Treatment. *Viruses.* 2021; 13:767. DOI: 10.3390/v13050767.
14. Song KH, Kim DM, Lee H, et al. Dynamics of viral load and anti-SARS-CoV-2 antibodies in patients with positive RT-PCR results after recovery from COVID-19. *Korean J Intern Med.* 2021;36(1):11–14. DOI: 10.3904/kjim.2020.325.
15. Serrano-Cumplido A, Ruiz Garcia A, Segura-Fragoso A, et al. Application of the PCR number of cycle threshold value (Ct) in COVID-19. *Semergen.* 2021;47(5):337–341. In Spanish. DOI: 10.1016/j.semerg.2021.05.003.

Информация об авторах:

Голодяева Мария Владимировна, старший биолог централизованной диагностической лаборатории ГОАУЗ «Мурманский областной центр специализированных видов медицинской помощи», магистрант ФГБУ «НМИЦ им. В. А. Алмазова» Минздрава России по направлению подготовки 06.04.01 Биология;

Лабинцева Елена Владимировна, заведующий централизованной диагностической лабораторией ГОАУЗ «Мурманский областной центр специализированных видов медицинской помощи».

Author information:

Golodyaeva Mariya V., Biologist Murmansk Regional Center for Specialized Types of Medical Care, Almazov National Medical Research Centre;

Labintceva Elena V., Head of the centralized diagnostic laboratory Murmansk Regional Center for Specialized Types of Medical Care.