

**Государственное бюджетное учреждение города Москвы
«Научно-исследовательский институт организации
здравоохранения и медицинского менеджмента
Департамента здравоохранения города Москвы»**

Н.Н. Камынина, А.Н. Цибин, М.Ф. Латыпова, Н.В. Позднякова, М.Ю. Шкурников,
А.Г. Комаров, В.А. Пузанов

**ТАКТИКА ПОВЕДЕНИЯ ВРАЧА НА ОСНОВАНИИ РЕЗУЛЬТАТОВ
МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИХ МЕТОДОВ
ПРИ ОБСЛЕДОВАНИИ ПАЦИЕНТОВ,
ИНФИЦИРОВАННЫХ КОРОНАВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИЕЙ**

Методические рекомендации

Москва
ГБУ «НИИОЗММ ДЗМ»
2022

УДК 614.2
ББК 51.1

Организация-разработчик: Государственное бюджетное учреждение «Научно-исследовательский институт организации здравоохранения и медицинского менеджмента Департамента здравоохранения города Москвы»

Составители:

Камынина Наталья Николаевна – заместитель директора по научной работе, руководитель Центра общественного здоровья ГБУ «НИИОЗММ ДЗМ», д.м.н.

Цибин Александр Николаевич – главный внештатный специалист по клинической лабораторной диагностике Департамента здравоохранения города Москвы, заведующий организационно-методическим отделом по клинической лабораторной диагностике ГБУ «НИИОЗММ ДЗМ»

Латыпова Мунира Фадисовна – ведущий научный сотрудник отдела организации и контроля деятельности лабораторной службы ГБУ «НИИОЗММ ДЗМ», к.м.н.

Позднякова Наталья Вячеславовна – директор по науке ООО «Система-БиоТех»

Шкурников Максим Юрьевич – заведующий лабораторией исследований молекулярных механизмов долголетия Факультета биологии и биотехнологии Национального исследовательского университета «Высшая школа экономики» (НИУ ВШЭ), к.м.н.

Комаров Андрей Григорьевич – директор ГБУЗ «ДЦЛИ ДЗМ»

Пузанов Владимир Алексеевич – врач-бактериолог ГБУЗ «ДЦЛИ ДЗМ», к.м.н.

Рецензенты:

Сон Ирина Михайловна, д.м.н., профессор, заслуженный деятель науки Российской Федерации, профессор кафедры организации здравоохранения и общественного здоровья ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Минздрава России;

Гажеева Анастасия Викторовна, к.м.н., доцент, начальник отдела координации организационно-методической работы в здравоохранении ГБУ «НИИОЗММ ДЗМ»

Тактика поведения врача на основании результатов молекулярно-генетических исследований при обследовании пациентов, инфицированных коронавирусной инфекцией: методические рекомендации / составители: Н.Н. Камынина, А.Н. Цибин, М.Ф. Латыпова, [и др.]. – М.: ГБУ «НИИОЗММ ДЗМ», 2022. – 32 с.

Данные методические рекомендации предназначены в помощь организаторам здравоохранения, врачам клинических специальностей, главным медицинским сестрам, заведующим клиничко-диагностическими и молекулярно-генетическими лабораториями, лабораторным специалистам с высшим медицинским/биологическим и средним медицинским образованием, медицинским специалистам смежных специальностей, принимающим участие в диагностике и лечении больных новой коронавирусной инфекцией. Методические рекомендации разработаны в рамках научно-исследовательской работы по теме «Изучение взаимосвязи прогноза течения заболевания новой коронавирусной инфекцией COVID-19 и штаммовой (подштаммовой) принадлежности вируса SARS-CoV-2» (в рамках реализации программы ДЗМ «Научное обеспечение столичного здравоохранения на 2020–2022 гг.).

*Утверждено и рекомендовано к изданию
Научно-методическим советом ГБУ «НИИОЗММ ДЗМ»
(Протокол № 10 от 20 декабря 2022 г.)*

© ГБУ «НИИОЗММ ДЗМ», 2022

© Коллектив авторов, 2022

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ	4
1. Общие требования к организации выявления генетических полиморфизмов, связанных с риском тяжелого течения респираторной инфекции COVID-19 методом ПЦР с гибридационно-флуоресцентной детекцией	6
1.1. Функциональное назначение	6
1.2. Для кого предназначен Набор	6
1.3. Для чего нужен Набор	7
1.4. Перечень задач, которые решает тест (информация для врача).....	8
1.5. Ограничения по использованию Набора	8
1.6. Целевые аналиты	8
1.7. Специфическая патология	8
1.8. Область применения	9
1.9. Предназначенные пользователи	9
1.10. Показания и противопоказания к применению	9
1.11. Принцип работы.....	10
1.12. Программа для ЭВМ «Определитель генотипов из RDML (RDMLtyper)».....	12
1.13. Аналитические характеристики	13
1.14. Диагностические характеристики	14
1.15. Результаты апробации набора.....	16
1.16. Рекомендации по генетическому тестированию, стратификации по тяжести течения и первичной терапии COVID-19	17
2. Рекомендации по использованию программного обеспечения «Аффисенс» для клинической оценки риска развития тяжелой формы течения коронавирусной инфекции COVID-19	22
2.1. Назначение программного обеспечения «Аффисенс» (далее ПО).....	22
2.2. Классификация.....	22
2.3. Определение среды, в которой применяется медицинское изделие	22
2.4. Определение показаний и противопоказаний к применению	22
2.5. Описание принципов, на которых основана работа медицинского изделия ..	23
2.6. Перечень групп риска, которые ПО способно обнаружить, с указанием клинических взаимосвязей	24
2.7. Рекомендации по генетическому тестированию, стратификации по тяжести течения и первичной терапии COVID-19.....	24
2.8. Результаты клинических испытаний ПО «Аффисенс».....	25
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ	26
ПРИЛОЖЕНИЕ	27

ВВЕДЕНИЕ

В 2019 г. мировая медицина столкнулась с глобальной угрозой здоровью человека в связи с появлением вируса SARS-CoV-2 с выраженной вирулентностью, обладающим широким спектром клинических проявлений и высокой летальностью относительно других представителей семейства. SARS-CoV-2 принадлежит к роду β -CoV и считается третьей крупной вспышкой коронавируса за последние 20 лет после тяжелого острого респираторного синдрома (SARS) и ближневосточного респираторного синдрома (MERS). Вирус с высокой скоростью распространился по всему миру и коронавирусная инфекция (COVID-19) приобрела характер пандемии.

Заболеваемость COVID-19 как в России, так и во всем мире, меняется волнообразно. Отчасти, высокий уровень заболеваемости связан с мутацией вируса в популяции. За весь период пандемии идентифицированы различные варианты возбудителя инфекции, приводящие к новым вспышкам заболевания. До ноября 2021 г. штамм Дельта считался широко распространённым вариантом вируса. Заболевание, вызванное этим штаммом, характеризовалось тяжелым течением, снижением эффективности лечения и увеличением летальных исходов [6]. С начала января 2022 г. отмечался пятый пик заболеваемости коронавирусной инфекцией, для которого был характерен резкий рост с максимальными за весь период пандемии абсолютными значениями числа заболевших. В конце июня 2022 г. вновь зафиксирован рост случаев заболеваемости COVID-19, сформировавший шестую «волну» (подъем). Два последних пика заболеваемости связаны с распространением нового варианта вируса SARS-CoV-2 Омикрон. Несмотря на значительное снижение патогенности последних генетических линий, пока нет оснований считать, что коронавирусная инфекция теряет свою актуальность и выходит из числа эпидемически значимых объектов.

Первый подтвержденный случай заражения штаммом Омикрон был выявлен 9 ноября 2021 г. в Южной Африке, а 26 ноября 2021 г. Всемирная организация здравоохранения зарегистрировала новый вариант вируса «вызывающий беспокойство» – Омикрон. Штамм Омикрон существенно отличается от предыдущих вариантов SARS-CoV-2: содержит >180 вариантов генома, имеет 3 общие мутации с Дельта-вариантом вируса, >35 уникальных мутаций, среди которых 15-точковые мутации в рецептор-связывающем домене (RBD) и имеет наибольшее число мутаций среди всех вариантов вируса SARS-CoV-2. Наличие этих мутаций повышает вирулентность возбудителя и позволяет уклониться от иммунного ответа, сформированного вследствие перенесенного заболевания или в результате вакцинации - ранее эффективно работавшие вакцины, в отношении новейших штаммов генетических линий Омикрон отчасти не проявляют выраженные протективные свойства.

На фоне пандемии распространения коронавирусной инфекции и регистрации тяжелых случаев с летальным исходом заболевания, научное медицинское сообщество в относительно короткие сроки разработало и предложило практикующим врачам ряд новых технологических решений, в результате чего медицинская генетика обогатилась новейшими молекулярно-генетическими методами, которые дополнительно к известным ПЦР-исследованиям позволяют получить важные персонализированные характеристики патологического процесса, ориентировать практического врача в дополнительных характеристиках специфического процесса, дают возможность корректировать тактику лечения больных, с высокой достоверностью прогнозировать тяжесть течения и возможный исход заболевания.

Актуальность использования классического метода ПЦР-исследований на коронавирусную инфекцию не подлежит сомнению, что демонстрируется значительным количеством произведенных анализов. В некоторых централизованных молекулярно-генетических лабораториях (как пример, ГБУЗ «ДЦЛИ ДЗМ») в пике востребованности общий объем исследований достигал в месяц более 505 тысяч образцов, что подтверждает востребованность данного вида молекулярно-генетических исследований. Как известно, ПЦР-исследования (при условии качественного выполнения ряда обязательных преаналитических и аналитических процедур и методов) по результату отвечают на исключительно важный вопрос: инфицирован пациент коронавирусной инфекцией или нет? Вместе с тем, возможности молекулярной (медицинской) генетики отнюдь не ограничиваются данным исключительно чувствительным и специфичным методом. В последние 1-2 года разработаны молекулярно-биологические и другие лабораторные методы, позволяющие лечащему врачу получить дополнительную важную информацию о состоянии иммунитета пациента, тяжести основного процесса, перспективах развития, прогноза лечения и исхода заболевания. Очевидно, что кейс современных методов, предлагаемых для рутинной практики медицинских учреждений и клиничко-диагностических лабораторий, отвечает запросу практикующих врачей и пациентов, концептуально отвечает на вызов времени и обеспечивает выполнение основных положений Санитарных правил и норм СанПиН 3.3686-21 «Санитарно-эпидемиологические требования по профилактике инфекционных болезней».

Данные методические рекомендации призваны познакомить практикующих врачей с тактикой оценки результатов некоторых новых (впервые разработанных и до настоящего времени не имеющих аналогов) молекулярно-генетических методов исследования крови или буккального соскоба, полученных от пациентов с подтвержденным диагнозом или подозрением на коронавирусную инфекцию.

1. Общие требования к организации выявления генетических полиморфизмов, связанных с риском тяжелого течения респираторной инфекции COVID-19 методом ПЦР с гибридационно-флуоресцентной детекцией

Возможность диагностики генетических полиморфизмов предполагает использование Набора SBT-PRO-Vi производства ООО «Система-БиоТех» (далее – Набор), который предназначен для генотипирования человеческой ДНК по 10 полиморфизмам методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) с гибридационно-флуоресцентной детекцией с целью выявления генотипов, связанных с риском тяжелого течения респираторной инфекции COVID-19. Матрицей для постановки ПЦР служит геномная ДНК человека, выделенная из периферической крови или другого биологического материала (например, буккального эпителия).

1.1. Функциональное назначение

Генетический тест с использованием Набора позволяет с достоверностью выше 90% прогнозировать вероятность развития опасных осложнений или смерти пациентов при заболевании COVID-19, что даёт возможность снизить уровень смертности среди инфицированных коронавирусом SARS-CoV-2, путем принятия своевременных лечебно-профилактических мер, при этом, уменьшить нагрузку на Отделения реанимации и интенсивной терапии (ОРИТ).

Данный тест также позволяет врачам подбирать персонализированное лечение больных с коронавирусной инфекцией и рекомендовать индивидуальную профилактическую терапию для уменьшения риска заболеваемости.

1.2. Для кого предназначен Набор

1.2.1. Для врачей первичной медико-санитарной помощи и стационаров, специалистов КДЛ

При поступлении в стационар пациента с признаками заболевания или с положительным ПЦР-тестом, врачу приемного отделения представляется возможность сразу назначить генетический тест, позволяющий оценить риск тяжести течения заболевания у данного пациента. В соответствии с назначением, кровь забирается в приемном отделении (процедурном кабинете) и доставляется в клинко-диагностическую лабораторию (КДЛ). Результат может быть получен в течение от 2,5 до 4-х часов от начала анализа. Результаты анализа позволяют ориентировать врача в выборе тактики лечения и выборе лекарственных препаратов применительно к данному пациенту. Кроме того, врач получает возможность определить необходимость госпитализации в стационар и отделение, в которое пациент должен быть маршрутизирован.

Данный тест не имеет аналогов в России и помогает дополнить линейку тест-систем важным и окончательным ответом на вопрос — каковы должны быть действия врача и пациента, если после вакцинации или при положительном ПЦР-тесте ему необходимо определить тактику лечения. Тест не является обязательным только для пациентов из групп риска — пожилым или людям с хроническими заболеваниями, а также тем, у кого есть подозрение на заболевание. В период пандемии его желательно делать абсолютно всем, в том числе пациентам без признаков заболевания.

1.2.2. Для пациента

Многочисленные наблюдения показали, что каждый раз заболевание может протекать по-разному. Вирусы обладают высокой мутагенной активностью, его контагиозность и патогенность меняются в зависимости от штаммов, имеющих распространение на данный период времени в конкретном регионе, которым возможно инфицирован пациент, а также индивидуальных особенностей макроорганизма. Знание о том, насколько высока или низка предрасположенность к риску, позволяет человеку, не теряя времени, обратиться к врачу. При этом неважно, имел ли человек контакт с больными коронавирусной инфекцией, тем более что в ряде случаев установить наличие контактов бывает исключительно сложно или не представляется возможным.

1.3. Для чего нужен Набор

1.3.1. Поиск причины

Заболевания вирусной природы могут быть причиной разрушения клеток организма и приводить к тяжелым полиорганным поражениям за счет чрезмерной воспалительной реакции. Основной причиной становится неадекватный иммунный ответ организма.

1.3.2. Быстрое принятие решения

Генетический тест позволяет получить быстрый ответ о вероятной степени тяжести протекания заболевания после выполнения молекулярно-генетического теста, об оптимальной маршрутизации пациента в зависимости от результата в стационар, либо в отделение интенсивной терапии, либо на амбулаторное лечение. Результат теста дает возможность прогнозировать действия врачей и в части назначаемой персональной терапии.

1.3.3. Предотвращение осложнений

Люди в работоспособном возрасте нередко сталкиваются с осложнениями после перенесенной инфекции COVID-19 и других вирусных инфекций. К сожалению, не всегда врач в состоянии предсказать, как будет протекать заболевание и какие осложнения в последствии последуют.

1.3.4. Высокая результативность

Своевременная превентивная диагностика на основе простого и доступного ПЦР-теста позволяет предположить риск тяжелого течения заболевания, снизить вероятность осложнений, своевременно назначить персонифицированное лечение в условиях стационара или на амбулаторном этапе лечения.

1.3.5. Цель теста

Цель теста: сохранение здоровья людей; сокращение сроков временной нетрудоспособности; снижение рисков от последствий тяжелого течения заболевания; возможность применения в практике врача недорогих, но эффективных и быстрых методов лечения; в случае снижения иммунитета и при контакте с новыми генетическими линиями коронавирусной инфекции применение теста позволяет быстрее справиться с заболеванием; экономия средств клиники на ведение и реабилитацию переболевших пациентов, учитывая, что затраты на пребывание пациента в стационаре, в среднем, составляют 10-40 тыс. рублей в сутки. В значительной части случаев не всем пациентам показана госпитализация.

1.4. Перечень задач, которые решает тест (информация для врача)

Результаты теста позволяют врачу определить:

- 1) относится ли пациент к категории высокого риска по тяжелому течению вирусной инфекции;
- 2) какой этап развития вирусной инфекции с наибольшей вероятностью приведет к развитию осложнений и какие рекомендации могут быть использованы для их предупреждения;
- 3) какие дефекты есть в генотипе пациента и как они связаны с эффективностью применяемого лечения;
- 4) какими препаратами можно компенсировать индивидуальные особенности иммунного ответа и сделать лечение высокоэффективным и персонализированным;
- 5) какие осложнения могут наступить в случае, если пациент заболит вышеперечисленными инфекционными заболеваниями;
- 6) оценить необходимость проведения вакцинации (ревакцинации);
- 7) оценить необходимость использования гормональных и антибактериальных препаратов и их эффективность;
- 8) оценить необходимость применения противовирусных и иммуномодулирующих препаратов;
- 9) оценить риск развития коронарных осложнений, ОРДС, пневмонии, дыхательной недостаточности, тромбоза, сепсиса, аллергических осложнений, «цитокинового шторма»;
- 10) определить тактику ведения пациента (госпитализация в стационар или возможность амбулаторного лечения, удаленного мониторинга).

1.5. Ограничения по использованию Набора

- 1) Результаты теста не являются единственным основанием для постановки диагноза или однозначной оценки тяжести развития заболевания. Эти результаты могут быть интерпретированы врачом только в сочетании с другими клиническими и лабораторными показателями состояния пациента;
- 2) Прогностические характеристики теста обеспечиваются при его рекомендованном применении для населения (популяции) России, для других популяций его прогностическая ценность может быть несущественно ниже.

1.6. Целевые аналиты

Целевыми аналитами (генетическими мишенями) являются 10 полиморфных маркеров человеческой ДНК, по которым выявляются генотипы, связанные с риском тяжелого течения COVID-19:

- 1) *LZTFL1* rs17713054, 2) *TNF* rs1800629, 3) *IFIH1* rs1990760, 4) *IFITM3* rs12252, 5) *CCR2* rs1799864, 6) *C3AR1* rs7842, 7) *TLR2* rs1898830, 8) *STAT3* rs744166, 9) *STAT6* rs324011, 10) *TMPRSS2* rs75603675.

1.7. Специфическая патология

Специфическая патология – острая респираторная вирусная инфекция COVID-19, вызываемая коронавирусом SARS-CoV-2.

1.8. Область применения

Область применения – клиническая лабораторная диагностика (генотипирование ДНК методом ПЦР). Набор предназначен для использования в клиничко-диагностических лабораториях (КДЛ) медицинских учреждений, в стационарных и мобильных ПЦР-лабораториях.

1.9. Предназначенные пользователи

Предназначенные пользователи – специалисты в области клинической лабораторной диагностики. Только для профессионального применения.

К работе с Набором допускаются только медицинские работники, обученные методам молекулярной диагностики, при проведении первичных (скрининговых) исследований без накопления и выделения возбудителя на базе лабораторий, имеющих санитарно-эпидемиологическое заключение на работу с возбудителями инфекционных болезней человека III - IV группы патогенности. При этом к работе допускаются специалисты, давшие письменное согласие и прошедшие подготовку/инструктаж по вопросам обеспечения требований биологической безопасности, проведенный сотрудниками организаций и учреждений Роспотребнадзора, осуществляющих деятельность с возбудителями инфекционных болезней человека II группы патогенности (работа по проведению таких инструктажей организуется на территориальном уровне путем сбора обращений, формирования учебных групп при согласовании территориальных органов Роспотребнадзора).

1.10. Показания и противопоказания к применению

1.10.1. Показания к применению

Набор используется для прогнозирования риска тяжелого течения COVID-19 при помощи генотипирования человеческой ДНК у лиц любого возраста независимо от наличия признаков или симптомов ОРВИ. Результаты данного теста позволяют высвободить часть коечного фонда для больных с COVID-19, обязательных к госпитализации по витальным причинам, а также подбирать персонализированное лечение и профилактическую терапию для снижения тяжести течения коронавирусной инфекции.

1.10.2. Противопоказания

В рамках установленного производителем назначения Набор не имеет противопоказаний, за исключением случаев, когда взятие биологического материала не может быть осуществлено по медицинским показаниям.

1.11. Принцип работы

1.11.1. Принцип работы генетического теста с использованием Набора

- 1) Генетический тест с использованием SBT-PRO-Vi основан на оценке наличия определённых вариантов в генах, отвечающих за поведение организма при попадании коронавируса SARS-CoV-2:
 - a) *LZTFL1* rs17713054, *TNF* rs1800629 – они позволяют определить предрасположенность к тяжелому течению COVID-19;
 - b) *IFIH1* rs1990760, *IFITM3* rs12252, *CCR2* rs1799864 – они позволяют определить генетически обусловленную предрасположенность к нарушениям у в сигнальных путях выработки цитокинов TLR7/8-IRAK-NFkB-TNF α и выработки эндогенного интерферона TLR3-TRAF3-IKK ϵ -IRF3-IFN α , как части врожденного иммунитета;
 - c) *C3AR1* rs7842, *TLR2* rs1898830, *STAT3* rs744166, *STAT6* rs324011, *TMPRSS2* rs75603675 – они позволяют определить предрасположенность к возможным осложнениям (затяжному течению, возможности развития вторичной бактериальной инфекции, цитокиновому шторму, острому респираторному дистресс-синдрому (ОРДС)).
- 2) На основании сопоставления взаимосвязей между мутациями в этих генах установлена закономерность, позволяющая оценить, тяжело или легко будет протекать заболевание.
- 3) В нуклеотидной последовательности каждого из генов могут быть однонуклеотидные мутации, ответственные за поведение организма в условиях заболевания.
- 4) Влияние фенотипических проявлений мутации в гене отражается в перечне рисков и рекомендациях по лечению, которые представляются в отчете о генетическом исследовании.
- 5) В результате проведенного генетического исследования при помощи программы для ЭВМ «Определитель генотипов из RDML (RDMLtyper)» формируется расширенный отчет с перечнем всех найденных мутаций (полиморфизмов), влияющих на оценку риска.
- 6) Отчет содержит перечень полиморфизмов, описание их влияния на организм человека и комментарии врача-генетика.
- 7) Комментарии врача-генетика содержат в том числе оценку эффективности лекарственной терапии для конкретного пациента, адресуемую врачу стационара или поликлиники.
- 8) Результаты публикуются в виде электронного отчета в личном кабинете врача или клиники.
- 9) По запросу формируется печатная версия для пациента (опционально, сроки подготовки отчета от 2 рабочих дней).

1.11.2. Принцип работы Набора реагентов

Принцип работы Набора реагентов SBT-PRO-Vi состоит в обнаружении 10 генотипируемых полиморфных маркеров ДНК человека с использованием метода полимеразной цепной реакции с детекцией продуктов ПЦР в реальном времени с помощью флуоресцентных зондов. Для проведения ПЦР используют два олигонуклеотидных праймера, фланкирующих нужный полиморфный участок гена и два флуоресцентно-меченых

олигонуклеотидных зонда, каждый из которых комплементарен одному из аллельных вариантов исследуемого полиморфного маркера.

Процесс амплификации специфичных фрагментов заключается в повторяющихся циклах температурной денатурации ДНК, отжига праймеров с комплементарными последовательностями и последующей достройке полинуклеотидных цепей с этих праймеров ДНК-полимеразой с детекцией результатов в режиме реального времени.

Гибридизационно-флуоресцентная детекция продуктов амплификации происходит при помощи двух флуоресцентных зондов одновременно и независимо друг от друга. Один зонд помечен флуоресцентным красителем HEX и предназначен для детекции аллеля 1, а второй зонд помечен флуоресцентным красителем FAM и предназначен для детекции аллеля 2.

Матрицей для постановки ПЦР служит геномная ДНК человека, выделенная из цельной периферической крови (стабилизированной ЭДТА), или из другого биологического материала (например, буккального эпителия).

Положительный контроль содержит смесь из 10 синтетических фрагментов ДНК, каждый из которых содержит один из генотипируемых полиморфных маркеров с гетерозиготным генотипом.

1.12. Программа для ЭВМ «Определитель генотипов из RDML (RDMLtyper)»

Программа для ЭВМ «Определитель генотипов из RDML (RDMLtyper)» (далее – программа RDMLtyper) – это специальная программа, при помощи которой проводится интерпретация результатов генетического исследования ДНК пациента.

Программа RDMLtyper разработана на основе математического моделирования и сочетания генотипов с биохимическими, физикальными, клиническими данными пациента. Прогностическая модель программы RDMLtyper учитывает следующие параметры: пол, возраст, вес, наличие артериальной гипертензии, атеросклероза, ишемической болезни сердца, диабета 2 типа, ожирения. С помощью программы RDMLtyper формируется расширенный отчет с перечнем всех найденных мутаций (полиморфизмов), влияющих на оценку риска тяжести течения заболевания.

Программа RDMLtyper предоставляет интерфейс к обученной модели нейронной сети для определения генотипов из предобработанных встроенным в амплификатор ПО csv-файлов или rdml-файлов, не прошедших обработку. Программа может обрабатывать CSV и RDML-файлы, совместимые с амплификаторами серии CFX (BIORAD), QuantStudio и Rotor-Gene. За счет использования программы обеспечивается эффективное выполнение операций ввода и анализа данных при работе с результатами PCR-реакции на основе значений светимости (RFU). Программа RDMLtyper работает на ЭВМ типа «IBM PC-совместимый персональный компьютер (ПК)» под управлением операционной системы (ОС) UNIX.

1.13. Аналитические характеристики

Аналитические характеристики Набора определены при испытаниях с использованием программируемого амплификатора с системой детекции флуоресцентного сигнала в режиме «реального времени» CFX96 (РУ № ФСЗ 2008/03399 от 21.06.2016, «Термоциклер для амплификации нуклеиновых кислот 1000», «Био-Рад Лабораториз, Инк.», США) и Комплекта реагентов для выделения РНК/ДНК из клинического материала «РИБО-преп» по ТУ 9398-071-01897593-2008 (РУ № ФСР 2008/03147 от 06.08.2021, ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора, Россия).

1.13.1. Предел обнаружения (аналитическая чувствительность)

Предел обнаружения Набора составляет 1×10^5 молекул ДНК в 1 мл образца биоматериала. Предел обнаружения выражается в геномных эквивалентах (ГЭ) ДНК в 1 мл пробы (используется как взаимозаменяемая единица с количеством копий ДНК на 1 мл). Исследования предела обнаружения проходили *in vitro* в лаборатории ООО «Система-БиоТех» в диапазоне концентраций от 1×10^4 до 1×10^6 ГЭ/мл, а в диапазоне от 1×10^5 до 1×10^6 ГЭ/мл ДНК была выявлена не менее чем в 19 из 20 повторностях. Предел обнаружения представлен как наименьшая концентрация целевого анализа в образце, которая может обнаруживаться изделием с 95% уровнем достоверности.

Для получения достоверного результата количество анализируемой ДНК должно быть не менее 1,0 нг на амплификационную пробирку, что соответствует $Ct \leq 32,0$ на канале детекции ВК (Hex).

При количестве ДНК менее 1,0 нг на амплификационную пробирку ($Ct > 32,0$ на канале детекции ВК (Hex)) после завершения реакции амплификации определяется недостоверный результат, и при этом производитель не гарантирует корректную работу Набора.

1.13.2. Аналитическая специфичность

Аналитическая специфичность генотипирования ДНК подтверждена *in vitro* методом секвенирования по Сэнгеру на генетическом анализаторе ABI 3500 (РУ № ФСЗ 2010/07007 от 28.03.2022, «Анализатор генетический Applied Biosystems 3500», АО «Термо Фишер Сайентифик», США).

Конкордантность определения генотипа на образцах ДНК от 700 пациентов с помощью Набора и секвенирования по Сэнгеру составила 100 %.

1.13.3. Потенциально интерферирующие вещества

Влияние потенциально интерферирующих веществ на результаты анализа при помощи Набора проверено *in vitro* в лаборатории ООО «Система-БиоТех». На результаты анализа не оказывают влияния нижеперечисленные потенциально интерферирующие вещества в концентрациях, указанных в таблице 1.

Таблица 1. Влияние потенциально интерферирующих веществ

Материал	Вид вещества	Потенциально интерферирующие вещества	Концентрация в образце	Наличие интерференции
Венозная кровь или буккальный эпителий	Эндогенное	Муцин	не более 5% по объему	Не обнаружено
		Гемоглобин	не более 0,5% по объему	Не обнаружено
	Экзогенное	Экзогенный лизирующий агент	не более 0,05% по объему	Не обнаружено

1.14. Диагностические характеристики

1.14.1. Информативность теста

Информативность генетического теста с использованием Набора определяется отношением шансов OR и значением вероятности P.

1) Отношение шансов OR («Odds Ratio», синоним «Cross-product ratio», «Relative odds») показывает, насколько риск развития того или иного осложнения выше (в случае положительного значения) или ниже (в случае отрицательного значения), чем в среднем по популяции. Значения OR для всех полиморфизмов при испытаниях Набора рассчитаны для популяции московского региона.

Отношение шансов OR – это один из ключевых параметров в современном статистическом анализе, когда дело касается сравнения двух групп по бинарному признаку (в случае заболеваний есть/нет). В исследованиях случай-контроль — это отношение шансов в пользу развития заболевания в случае экспозиции к шансам в пользу развития заболевания при отсутствии экспозиции. Чем ближе значения OR к единице, тем выше вероятность совместного появления заболевания к его отсутствию. Если $OR > 1$, то случай и контроль связаны (коррелируют) в том смысле, что появление случая повышает шансы развития заболевания. Если $OR < 1$, то случай и контроль имеют отрицательную корреляцию, и наличие одного события уменьшает шансы другого события.

2) Значение вероятности P (P-value или P-значение) – это статистическая величина, выражаемая числом от 0 до 1, которая используется для проверки гипотезы. В клинических испытаниях данная величина применяется для определения, является ли полученный в клинических испытаниях результат случайным. Сначала необходимо определить уровень значимости, который обычно равен 5 % (или 0,05), хотя в зависимости от исследования может быть выбран и другой показатель. Статистически значимым (и позволяющим отвергнуть нулевую гипотезу) при этом считается результат, P-значение которого равно уровню значимости или меньше его. Это, как правило, обозначается следующим образом: $P \leq 0,05$. В итоге P-значение – это вероятность получить результаты, схожие по значимости с наблюдаемыми в исследовании, при реальном отсутствии различий между вариантами лечения. При небольшом P-значении маловероятна случайность результатов, что дает основание отвергнуть предположение об отсутствии различий между двумя режимами лечения. При большом P-значении наблюдаемая разница может быть результатом случайности, и предположение об отсутствии различий между двумя режимами лечения не может быть отвергнуто.

Шкала риска развития тяжёлого течения коронавирусной инфекции COVID-19 была составлена на основе статистических моделей, основанных на бинарной, логистической регрессии с функцией последовательного включения и исключения как генотипических, так и фенотипических признаков. Для оценки популяционных различий в распространенности аллельных вариантов генов и разработки адаптированной модели для популяции московского региона проведено генотипирование и оценка влияния нескольких факторов риска в двух группах испытуемых: с тяжёлым течением и контрольная группа с лёгким течением или без симптомов. Генетические факторы риска, включенные в исследование: полиморфизмы в 10 генах иммунного ответа (*IFIH1*, *LZTFL1*, *CCR2*, *TLR2*, *TNF*, *IFITM3*, *STAT6*, *C3AR1*, *STAT3*, *TMPRSS2*).

Клинические факторы риска, включенные в исследование: возраст, пол, артериальная гипертензия, атеросклероз, ишемическая болезнь сердца, диабет 2 типа, ожирение. Разработанная модель является результатом комплексного анализа генетических и клинических факторов риска в исследуемой группе. Составлена статистическая модель

оценки индивидуального риска развития тяжёлого течения коронавирусной инфекции. Точность модели оценивалась показателем AUC (Area Under Curve) – площадью, ограниченной ROC-кривой и осью доли ложных положительных классификаций. AUC составила не менее 75%, что является хорошим результатом с учётом относительно небольшого количества входных данных для модели машинного обучения.

1.14.2. *Диагностические чувствительность и специфичность*

Диагностическая чувствительность определена в ходе клинико-лабораторных испытаний на 300 положительных образцах крови от больных респираторной инфекцией COVID-19, содержащих РНК коронавируса SARS-CoV-2. Точность определения генотипа составила 99,9%.

Из-за отсутствия зарегистрированного аналога (изделия сравнения) данного Набора в России не было возможности определить диагностические чувствительность и специфичность Набора в рамках сравнительных клинических исследований.

1.15. Результаты апробации набора

Набор прошел апробацию в лечебно-профилактических учреждениях ДЗМ и частных медицинских клиниках как генетическая тест-система, позволяющую предупредить развитие осложнений и риск смерти при заболевании коронавирусной инфекцией.

В 2021 г. было получено разрешение Департамента здравоохранения города Москвы на клиническую апробацию в столичных ЛПУ генетического теста для прогнозирования степени тяжести и облегчения течения заболевания коронавирусной инфекцией у пациентов. В результате проведенных клинических испытаний установлено, что тест позволяет врачам с высокой степенью достоверности (выше 90%) оценить вероятность развития опасных осложнений или смерти пациентов при COVID-19. Возможности врачей при использовании предлагаемых технологий позволят снизить нагрузку на Отделения реанимации и интенсивной терапии (ОРИТ), ввиду исключения случаев срочной госпитализации непоказанных больных. Таким образом, данные тесты позволят высвободить часть коечного фонда для больных, обязательных к госпитализации по витальным причинам, а также подбирать персонализированное лечение больных с коронавирусом, что снизит нагрузку на реанимационные отделения больниц и уровень смертности среди инфицированных. В результате масштабного генетического исследования среди россиян был выявлен ряд генетических маркеров, кодирующих наиболее распространенные клинические проявления коронавирусной инфекции: маркеры, достоверно связанные с риском возникновения заболевания и его тяжелого течения, а также защитные (протективные) маркеры как в отношении риска возникновения, так и тяжести протекания коронавирусной инфекции. В частности, определенные гены показывают вероятность высокой температуры, снижения сатурации и развития цитокинового шторма. Это значит, что носители защитных генов будут переносить заболевание легче, очевидно иметь менее выраженные осложнения и, соответственно, иметь более короткий период от начала заболевания до клинического выздоровления.

Тест с использованием данного Набора успешно прошел апробацию для оценки статуса пациента с COVID-19 в помощь врачу для подбора таргетной терапии. Как показала практика, генетическое тестирование позволяет примерно вдвое сократить длительность пребывания пациентов в стационаре в тяжёлых случаях, а в легких – вообще обойтись без госпитализации.

Генотипирование выявленных в результате исследования маркеров стандартными методами лабораторной диагностики, такими как ПЦР и секвенирование генома, может стать рутинным прогностическим тестом, показывающим вероятность перехода бессимптомной формы заболевания COVID-19 в форму с клиническими проявлениями или тяжелого течения. Методы генотипирования могут использоваться в условиях обычной КДЛ, результаты которых в срочном режиме будут доступны в личном кабинете врача. В перспективе подобные тесты можно будет использовать для прогнозирования тяжести течения и других респираторных вирусных инфекций.

Набор SBT-PRO-Vi успешно прошел двойные слепые клинические испытания (исследования) в ГБУЗ «ДЦЛИ ДЗМ» и в ГБУЗ «НИИ скорой помощи им. Н.В. Склифосовского ДЗМ» по программе, согласованной заместителем руководителя ДЗМ Антиповой Ю.О.

1.16. Рекомендации по генетическому тестированию, стратификации по тяжести течения и первичной терапии COVID-19

В силу особенности коронавирусной инфекции COVID-19 в зависимости от данных анамнеза заболевания, давности инфицирования, качества преаналитического этапа в части приготовления мазков из носоглотки и/или ротоглотки и других причин результаты ПЦР-анализа на выявление РНК SARS-CoV-2 могут быть отрицательными.

Принимая во внимание результаты международных клинических исследований, коронавирус SARS-CoV-2 сохраняется в кишечнике на протяжении до 12 месяцев после инфицирования. В связи с этим представляется возможность выполнить подтверждающий тест путем выделения и выявления РНК SARS-CoV-2 из биологического материала соскоба анальных складок.

Также следует руководствоваться результатами полного генетического исследования ДНК пациента, позволяющего оценить возможную перспективу и тенденцию развития коронавирусной инфекции в амбулаторных условиях. При получении результатов генетического исследования ДНК пациента следует руководствоваться клинической значимостью каждого из маркеров в соответствии с их назначением.

Пациенты с характерными жалобами на респираторное заболевание, поступающие в ЛПУ с диагнозом COVID-19, гетерогенны по генотипу. Поток пациентов на ранних этапах может быть разделен на группы пациентов с потенциально легким или тяжелым течением вирусной инфекции по факту наличия или отсутствия в генотипе пациента полиморфизмов в генах *LZTFL1* и *TNF*, в высокой степени ассоциированных с вариантом течения вирусной инфекции. Для этого первым этапом диагностики в приемном отделении, наряду со сбором анамнеза, физикальным обследованием и инструментальными обследованиями (пульсоксиметрией, ЭКГ, РГ, КТ) необходимо провести взятие биологического материала-отделяемого носоглотки и/или ротоглотки для постановки тестов на наличие коронавирусной инфекции одновременно с забором биоматериала для проведения ПЦР исследования ДНК пациента.

Это определяется путем проведения лабораторного анализа ДНК пациента путем ПЦР-детекции полиморфизмов: *LZTFL1* rs17713054 и *TNF* rs1800629.

Пациентам, поступающим в приёмные отделения государственных клиник, рекомендовано:

1. Подтвердить инфицирование коронавирусной инфекцией при помощи тест-системы для выявления РНК коронавируса SARS-CoV-2 на основе метода амплификации нуклеиновых кислот (МАНК).
2. В случае подтверждения COVID-19 выполнить генетическое исследование ДНК пациента с целью определения варианта генотипа пациента по следующим маркерам:
 - 1) Полиморфизмы 2-х генов *LZTFL1* rs17713054, *TNF* rs1800629 – они позволяют определить предрасположенность к тяжелому течению COVID-19 с точностью более 90%.

Полиморфизм гена *LZTFL1* rs17713054 является маркером межклеточного взаимодействия, и количественный уровень экспрессии этого гена в соответствующий ему белок связан с остротой и тяжестью течения коронавирусного заболевания COVID-19: чем выше уровень экспрессии этого гена, тем выше масштабность поражения тканей респираторного тракта. На основании уровня экспрессии *LZTFL1* rs17713054 врач может сделать вывод о высокой контагиозности в момент его определения, на основе которого следует принять решение об изоляции пациента.

Уровень экспрессии *LZTFL1* rs17713054 при его количественном определении в мазке из носоглотки и/или ротоглотки может служить альтернативой для подтверждения респираторной коронавирусной инфекции COVID-19.

Полиморфизм гена *TNF* rs1800629 также является значимым маркером, но вносит свой вклад совокупно с остальными генетическими маркерами в математической модели расчета коэффициента тяжести течения. В одиночку он не является основанием для принятия решения об изоляции пациента.

2) Полиморфизмы 3-х генов *IFIH1* rs1990760, *IFITM3* rs12252, *CCR2* rs1799864 – они позволяют определить предрасположенность к врожденному дефекту в сигнальном пути выработки цитокинов TLR7/8-IRAK-NFkB-TNF α и сигнальном пути выработки эндогенного интерферона TLR3-TRAF3-IKK ϵ -IRF3-IFN α , как части врожденного иммунитета.

При наличии повышенного риска в результатах генетического анализа по полиморфизмам 3-х генов *IFIH1* rs1990760, *IFITM3* rs12252, *CCR2* rs1799864 врач может сделать вывод, что у пациента присутствует врожденный дефект выработки эндогенного интерферона (альфа, бетта, но не гамма), что является основанием для принятия решений о госпитализации пациента.

Дополнительная информация для врача: врожденный многофакторный дефект выработки эндогенного интерферона ведет к удлинению периода формирования полноценного иммунного ответа. Иммунитет такого больного повышает эндогенный интерферон либо с опозданием на 3-5 дней от момента инфицирования, либо вообще не формирует адекватного иммунного ответа. Учитывая особенности такого генотипа по этим 3-м маркерам (*IFIH1* rs1990760, *IFITM3* rs12252, *CCR2* rs1799864), следует оценить период от момента заражения в часах: 24-72 часа или более 72 часов. Если у пациента наблюдается дефект выработки эндогенного интерферона, то в период 24-72 часа от момента заражения (в период «терапевтического окна») пациенту рекомендуется ингаляционное введение терапевтического интерферона альфа-2b (IFN α -2b) с целью сокращения титра вируса и локального повышения уровня интерферона в дыхательных путях пациента.

В случае, если пациент инфицирован более чем 72 часа назад, наличие повышенного риска по этим 3-м маркерам говорит о наступлении периода осложнений, и что пациента нужно госпитализировать. При желании оценить уровень иммунного ответа, а также определить необходимость проведения ингаляции интерферона альфа-2b, можно провести лабораторное исследование периферической крови с целью определения уровня интерферона.

Наиболее эффективное использование ингаляции интерферона достигается в период терапевтического окна. Данный подход позволяет сократить масштаб поражения, тяжесть течения болезни и летальность от COVID-19.

3) Полиморфизмы 5-и генов *C3AR1* rs7842, *TLR2* rs1898830, *STAT3* rs744166, *STAT6* rs324011, *TMPRSS2* rs75603675 – они позволяют определить предрасположенность к возможным осложнениям (затяжному течению, возможности развития вторичной бактериальной инфекции, цитокиновому шторму, острому респираторному дистресс-синдрому (ОРДС)).

Данные 5 маркеров на основании проведенных клинических исследований и выявленной взаимосвязи с коморбидными состояниями у пациентов всех возрастных групп от 18 до 80 лет показали, по каким направлениям возможно ожидать осложнения. При получении повышенного риска по этим 5-и маркерам врачу следует обратить внимание на профилактику коморбидных состояний, в

первую очередь связанных с рисками тромбоза, аллергического отека верхних дыхательных путей, обструкции, дыхательной недостаточности.

Для профилактики перечисленных осложнений у пациентов с соответствующими коморбидными заболеваниями (артериальной гипертензией, атеросклерозом, ишемической болезнью сердца, диабетом 2 типа, ожирением, аллергическим поллинозом, другими заболеваниями легких, туберкулезом, ВИЧ-инфекцией, системными заболеваниями), следует использовать наравне с базовой терапией антикоагулянты (против тромбоза), гипосенсибилизирующие препараты, антиоксиданты. Остальные препараты – на усмотрение лечащего врача.

На основании риска по этим 5-и маркерам врачу следует принять решение о госпитализации или амбулаторном лечении, ориентируясь на тяжесть течения коморбидных заболеваний. Продвинутые стадии коморбидных заболеваний занимают лидирующее место в тяжести течения и исходе сопутствующей коронавирусной инфекции COVID-19.

3. Интерпретацию результатов генетического исследования ДНК пациента провести при помощи программы для ЭВМ «Определитель генотипов из RDML (RDMLtyper)» (далее – программа RDMLtyper), разработанной на основе математического моделирования и сочетания генотипов вышеперечисленных генов с биохимическими, физикальными, клиническими данными. Прогностическая модель программы RDMLtyper учитывает следующие факторы: пол, возраст, вес, наличие артериальной гипертензии, атеросклероза, ишемической болезни сердца, диабета 2 типа, ожирения.

При разработке программы RDMLtyper тяжесть состояния пациентов оценивалась по процентной степени поражения легких на КТ. В перспективе планируется, что программа RDMLtyper сможет оценивать также совокупность имеющихся результатов клинико-лабораторной диагностики (включая анализ крови) и данных лучевой диагностики (КТ) пациента в соответствии с действующими *"Временными методическими рекомендациями «Профилактика, диагностика и лечение новой коронавирусной инфекции (COVID-19)»*. Версия 16 (18.08.2022).".

Результаты такого комплексного анализа позволяют стратифицировать пациентов по возможной тяжести течения COVID-19, а также рекомендовать своевременно применять ингаляционные формы интерферона у пациентов с риском врожденного эндогенного интерферона, связанного с вариантом наследуемого генотипа по генам IFIH1, IFITM3, CCR2 в первые 1-3 суток от момента заражения, или с ингибиторами сигнальных путей воспаления в период до 7 суток от момента появления симптомов заболевания.

Если уровень выработки эндогенного интерферона у пациента понижен (что может быть подтверждено наличием у пациента, как минимум, двух генетических мутаций в генах сигнального пути выработки эндогенного интерферона (IFIH1 rs1990760, IFITM3 rs12252, CCR2 rs1799864)), то в период с возможного момента заражения за 3 суток до начала клинических проявлений рекомендуется провести одну ингаляцию раствора интерферона альфа-2b (IFN α -2b) с целью сокращения титра вируса и повышения локального иммунитета в зоне «входных ворот» инфекции. Ингаляция интерферона проводится в соответствии с инструкцией по его применению с расчетом дозы на массу тела пациента.

1.16.1. Особенности тестирования у детей

Учитывая факт начала заболевания у детей со стертой клиникой или бессимптомным течением, можно предположить, что есть особая необходимость в выявлении заболевания COVID-19 среди детей младшего и среднего школьного возраста, по причине достаточного числа статистических данных о бессимптомном течении вирусной инфекции и обнаружении

последствий перенесенной инфекции в виде васкулитов, аутоиммунных эндотелиитов, развития системного суставного синдрома. Для реализации данной задачи может быть использован транскрипционный маркер, исследование которого осуществлялось в процессе слепого клинического исследования РНК коронавируса SARS-CoV-2 в биоматериале пациентов с разной активностью течения COVID-19. Для детей младшего и среднего школьного возраста рекомендуется к постановке тест ПЦР мазка из носоглотки и/или ротоглотки на активность гена IFI27, либо LZTFL1 rs17713054 (количественный).

Учитывая молодой возраст, дети обладают реактивным иммунным ответом, что приводит к незаметному протеканию острой фазы заболевания и долгое время маскирует наступившие аутоиммунные осложнения. При наличии клинической картины системного аутоиммунного заболевания рекомендовано провести диагностику при помощи анализа крови на циркулирующие иммунные комплексы и общие антитела.

«В качестве противовирусной терапии детей с COVID-19 в случаях заболеваний среднетяжелой и легкой степени тяжести рекомендуются препараты ИФН-α, при тяжелой степени тяжести используются внутривенные иммуноглобулины. Интерферон-альфа может снизить вирусную нагрузку на начальных стадиях болезни, облегчить симптомы и уменьшить длительность болезни. Исследования в КНР у детей показали возможность более длительного выделения вируса с фекалиями, чем из верхних дыхательных путей (до 28 против 14 дней). Поэтому обосновано применение препаратов ИФН-α в свечах, особенно с антиоксидантами, которые обеспечивают системное действие препарата, могут способствовать сокращению периода выделения вируса SARS-CoV-2 с фекалиями.» ["Временные методические рекомендации «Профилактика, диагностика и лечение новой коронавирусной инфекции (COVID-19)». Версия 16 (18.08.2022).” П.6, стр. 116].

1.16.2. Особенности тестирования у беременных

Генетическое исследование у беременных приобретает особое значение по причине наличия фактора, повышающего риск развития различных осложнений. Такими предрасполагающими факторами являются: компрометирование генетической предрасположенности к развитию артериальной гипертензии, эндотелиальной дисфункции, метаболическому синдрому, тромбозу вен нижних конечностей и органов малого таза, а также провокация в отношении преобладающих аутоиммунных состояний, таких как антифосфолипидный синдром, резус-конфликт, системная красная волчанка, псориаз, ревматоидный артрит, васкулит на фоне имеющейся беременности и коронавирусной инфекции.

Пациенты, имеющие исходно повышенные риски вышеперечисленных осложнений, на фоне коронавирусной инфекции повышают свои шансы на развитие осложнений, клинические проявления и дебюты перечисленных заболеваний. Причем риск развития осложнений у мамы превосходит риск развития осложнений со стороны плода. Имеет значение срок развития беременности, а также индивидуальный совокупный риск тяжести течения коронавирусной инфекции.

При проведении генетического исследования расчетный коэффициент будет соответствовать величине коэффициента для женщины вне беременности и будет указывать на ключевые риски, которых можно ожидать при найденном генотипе.

Полиморфизмы 5-и генов 3-й группы (C3AR1 rs7842, TLR2 rs1898830, STAT3 rs744166, STAT6 rs324011, TMPRSS2 rs75603675) позволяют определить наличие повышенного риска жизнеугрожающих состояний. Для подтверждения этого риска можно выполнить простые лабораторные тесты: коагулограмма, уровень интерлейкина-6.

1.16.3. Особенности тестирования у лиц старше 65 лет

Генетические детерминанты тяжести течения у мужчин и женщин в возрасте старше 65 лет имеют некоторое прогностическое отличие. В связи с отсутствием парных аллелей ряда генов, лоцированных на Y-хромосоме, у мужчин может наблюдаться уменьшенное количество или дефицит ряда белковых факторов, что было оценено в качестве влияния фактора пола на расчет итогового коэффициента тяжести COVID-19. При расчете коэффициента тяжести были учтены половозрастные отличия пациентов разных групп, в том числе старше 65 лет. При наличии одних и тех же факторов риска в виде патогенных генотипов в структуре генетического теста следует принимать во внимание, что степень риска у мужчин будет выше по отношению к женщинам с таким же генотипом.

Генетические маркеры, а именно варианты генотипа по группе исследуемых генов, являются неизменными и зачастую демонстрируют **врожденный риск** осложнений: тромбоза, цитокинового шторма, пневмонии и других осложнений. В связи с этим фактом все пациенты, имеющие патогенные варианты маркеров, связанные, в частности, с тромбозом, нуждаются в проведении профилактики независимо от эпизодов ТГВ/ТЭЛА в анамнезе.

У лиц пожилого возраста, как у мужчин, так и у женщин, наблюдаются изменения реактивности иммунного ответа. При наличии патогенных вариантов по генам в составе генетического теста эти изменения становятся более выраженными, соответственно нуждаются в коррекции, с учетом коморбидности каждого пациента индивидуально.

Все пациенты старше 65 лет относятся к категории геронтологических, а значит, имеют особенности метаболизма ксенобиотиков и базового метаболизма, что создает необходимость индивидуально оценивать дозирование лекарственных средств и подбирать кратность их применения. При категоризации пациентов старше 65 лет, как тяжелых, необходимо проводить профилактику всех ключевых осложнений наравне с основным заболеванием.

2. Рекомендации по использованию программного обеспечения «Аффисенс» для клинической оценки риска развития тяжелой формы течения коронавирусной инфекции COVID-19

2.1. Назначение программного обеспечения «Аффисенс» (далее ПО).

ПО предназначено для клинической оценки риска развития тяжелых форм течения коронавирусной инфекции COVID-19 на основе анализа результатов генотипирования аллелей генов HLA I класса.

ПО может быть применено по отношению к данным о генотипе аллелей генов HLA I класса, полученных в результате секвенирования, пациентов уже перенесших коронавирусную инфекцию COVID-19, вакцинированных от коронавирусной инфекции COVID-19, не переносивших коронавирусную инфекцию COVID-19 и не вакцинированных от неё.

ПО ориентировано на применение в практическом здравоохранении и секторе научных медико-биологических исследований, в том числе:

- в лечебных учреждениях, оказывающих специализированную и высокотехнологичную медицинскую помощь пациентам с коронавирусной инфекцией COVID-19;

- в научно-исследовательских учреждениях, занимающихся разработкой иммунотерапевтических препаратов для профилактики и лечения пациентов с коронавирусной инфекцией COVID-19.

ПО предназначено для врачей первичной медико-санитарной помощи и стационаров, специалистов клиничко-диагностической лаборатории (КДЛ). При поступлении в стационар пациента с признаками заболевания или с положительным ПЦР-тестом, врачу приемного отделения представляется возможность сразу назначить генетический тест, позволяющий оценить риск тяжести течения заболевания у данного пациента. В соответствии с назначением, кровь забирается в приемном отделении (процедурном кабинете) и доставляется в КДЛ. Результат может быть получен в течение от 24 до 48 часов от начала анализа. Результаты анализа позволяют ориентировать врача в выборе тактики лечения и выборе лекарственных препаратов применительно к данному пациенту. Кроме того, врач получает возможность определить необходимость госпитализации в стационар и отделение, в которое пациент должен быть маршрутизирован.

2.2. Классификация

Класс потенциального риска применения медицинского изделия в соответствии с номенклатурной классификацией медицинских изделий: 2а.

Вид медицинского изделия в соответствии с номенклатурной классификацией медицинских изделий: 333160. Код Общероссийского классификатора продукции для медицинского изделия: 58.29.32.000.

2.3. Определение среды, в которой применяется медицинское изделие

Медицинское изделие «Программное обеспечение для клинической оценки риска развития тяжелой формы течения коронавирусной инфекции COVID-19 ПО по ТУ 58.29.32-001-16992475-2021» предназначено для использования медицинскими работниками с высшим образованием, предварительно ознакомившихся с руководством пользователя ПО.

2.4. Определение показаний и противопоказаний к применению

Показания к применению: поддержка принятия врачебного решения в рамках диагностического анализа генотипа генов HLA I человека. Противопоказания: отсутствуют.

Противопоказания: ПО не предназначено для оценки риска развития тяжелой формы течения коронавирусной инфекции COVID-19 пациентов с сахарным диабетом 1 и 2 типа.

2.5. Описание принципов, на которых основана работа медицинского изделия

Молекулы HLA класса I являются одними из ключевых медиаторов первых звеньев развития специфического иммунного ответа на инфекцию COVID-19. Сразу после попадания в клетку SARS-CoV-2 инициирует трансляцию своих белков. Некоторые из этих белков попадают в протеасомы инфицированной клетки, расщепляются до пептидов длиной 8-12 аминокислотных остатков и связываются с белками HLA класса I. После связывания комплекс, состоящий из молекулы HLA класса I и вирусного пептида, переносится на поверхность инфицированной клетки, где он может взаимодействовать с T-клеточным рецептором CD8⁺ T-лимфоцитов. В ответ на взаимодействие T-клеточного рецептора с комплексом молекулы HLA класса I и вирусного пептида на поверхности инфицированной клетки CD8⁺ T-лимфоцит начинает секретировать перфорины и сериновые протеазы, что приводит к уничтожению инфицированной клетки. Значимость роли активации CD8⁺ T-клеток в иммунном ответе на COVID-19 была недавно продемонстрирована на группе пациентов с легкой формой заболевания.

Существует три основных типа белков HLA класса I: HLA-A, HLA-B и HLA-C. Белки каждого типа присутствуют в двух вариантах, унаследованных от родителей. Существуют десятки вариантов каждой аллели белков HLA-I. При этом каждая аллель обладает индивидуальной способностью распознавать различные чужеродные белки. Распределение аллелей зависит от популяционного состава населения страны.

Индивидуальные комбинации белков HLA класса I существенно влияют на тяжесть многих инфекционных заболеваний, включая малярию, туберкулез, ВИЧ и вирусный гепатит. Показана взаимосвязь между генотипом HLA и тяжестью SARS-CoV. Например, аллели HLA-B*07:03, HLA-B*46:01 и HLA-C*08:01 – факторы предрасположенности к тяжелой форме заболевания; аллель HLA-C*15:02 связана с легкой формой.

Информация о взаимосвязи генотипа HLA класса I и тяжести течения новой коронавирусной инфекции (COVID-19), вызванной SARS-CoV-2, немногочисленна. Выборка из 45 пациентов с разной степенью тяжести COVID-19 использовалась для подтверждения результатов теоретического моделирования взаимодействия пептидов вируса SARS-CoV-2 с различными аллелями HLA-I. Было показано, что количество пептидов с высокой константой взаимодействия связано с индивидуальным генотипом HLA: чем больше вирусных пептидов с высокой аффинностью связывается с HLA класса I, тем легче протекает заболевание. В параллельных исследованиях было показано, что частота встречаемости аллелей HLA-A*01:01 и HLA-A*02:01 связана с частотой заражения и уровнем смертности (на примере регионов Италии).

При разработке способа оценки риска развития тяжелой формы течения коронавирусной инфекции COVID-19 (патент от 14.02.2021 No RU2747097), реализованного в виде ПО, было проведено HLA-генотипирование 111 умерших пациентов с COVID-19, а также 428 человек из контрольной группы. Валидация способа оценки риска была проведена на выборке 45 пациентов с подтвержденным диагнозом коронавирусной инфекцией COVID-19. Результаты, полученные при разработке ПО, опубликованы в *Frontiers in Immunology*, doi: 10.3389/fimmu.2021.641900.

При разработке ПО учитывались Временные методические рекомендации «Профилактика, диагностика и лечение новой коронавирусной инфекции (COVID-19)» (Версия 13) Минздрава России. Согласно Временным рекомендациям, под тяжелым течением понималось течение COVID-19, сопровождавшееся тяжелой дыхательной недостаточностью:

сатурация ниже 91%, кислородная поддержка более двух суток, поражение легочной ткани, соответствующее КТ3 (вовлечение паренхимы легкого $\geq 50\%$ и выше).

2.6. Перечень групп риска, которые ПО способно обнаружить, с указанием клинических взаимосвязей

В классификации риска ПО лежат Временные методические рекомендации «Профилактика, диагностика и лечение новой коронавирусной инфекции (COVID-19)». ПО способно оценить риск развития тяжёлого и крайне тяжелого течения COVID-19 у пациентов без сопутствующего сахарного диабета с COVID-19 средней тяжести на момент госпитализации:

- Т тела $>38^{\circ}\text{C}$;
- ЧДД $> 22/\text{мин}$;
- одышка при физических нагрузках;
- изменения при КТ (рентгенографии) и/или УЗИ типичные для вирусного поражения (объем поражения минимальный или средний; КТ 1-2 и/или УЗИ 1-2а);
- SpO₂ $< 95\%$;
- СРБ сыворотки крови >10 мг/л.

Под тяжелым и крайне тяжелым течением COVID-19 понимается течение COVID-19, сопровождающееся тяжелой дыхательной недостаточностью: сатурация ниже 91%, кислородная поддержка более двух суток, поражение легочной ткани КТ 3 и выше. В данную группу входят пациента умершие от COVID-19.

Под лёгким и среднетяжелым течением COVID-19 понимается течение COVID-19, не сопровождающееся тяжелым поражением легочной ткани (КТ 0,1,2) и тяжелой дыхательной недостаточностью (без респираторной поддержки, либо инсуффляция увлажненного кислорода в течение 1-2 суток при сатурации 93-94%).

2.7. Рекомендации по генетическому тестированию, стратификации по тяжести течения и первичной терапии COVID-19

При выборе тактики лечения пациента следует руководствоваться результатами исследования генов HLA I, позволяющими оценить возможную перспективу и тенденцию развития коронавирусной инфекции.

Пациенты с характерными жалобами на респираторное заболевание, поступающие в ЛПУ с диагнозом COVID-19 (острая респираторная вирусная инфекция, вызываемая группой коронавирусов SARS-CoV-2), гетерогенны по генотипу. Поток пациентов на ранних этапах может быть разделен на группы пациентов с потенциально легким или тяжелым течением вирусной инфекции основываясь на значении «Индекса риска», определяемого ПО.

Для этого первым этапом диагностики в приемном отделении, наряду со сбором анамнеза, физикальным обследованием и инструментальными обследованиями (пульсоксиметрией, ЭКГ, РГ, КТ) необходимо провести взятие биологического материала – образца периферической крови или букального соскоба для проведения исследования генов HLA I пациента методом секвенирования следующего поколения (NGS).

Пациентам, поступающим в приёмные отделения государственных клиник, рекомендовано:

- 1) подтвердить инфицирование коронавирусной инфекцией при помощи тест-системы для выявления РНК коронавируса SARS-CoV-2 на основе метода амплификации нуклеиновых кислот (МАНК);
- 2) в случае подтверждения COVID-19 выполнить генетическое исследование генов HLA I пациента методом секвенирования следующего поколения с целью определения варианта генотипа пациента;

- 3) ввести данные о HLA I генотипе пациента в ПО согласно Руководству оператора;
- 4) в результате обработки результаты генотипирования генов HLA-A, HLA-B, HLA-C ПО пациенту присваивается т.н. «Индекс риска» – число в диапазоне от 0 (нуля) до 100, что пропорционально связано с повышением риска неблагоприятного течения заболевания;
- 5) в случае значения «Индекса риска» более 75, пациент относится к группе с высоким риском тяжелого течения COVID-19;
- 6) в отношении пациентов группы высокого риска тяжелого течения COVID-19 целесообразно принять следующие решения:
 - госпитализировать пациента;
 - с учетом того, что формирование адекватного иммунного ответа происходит с опозданием на 3-5 дней от момента инфицирования, следует оценить период от момента заражения в часах: 24-72 часа или более 72 часов. В период 24-72 часа от момента заражения пациенту рекомендуется ингаляционное введение терапевтического интерферона альфа-2b (IFN α -2b) с целью сокращения титра вируса и локального повышения уровня интерферона в дыхательных путях пациента;
 - следует обратить внимание на профилактику коморбидных состояний, в первую очередь связанных с рисками тромбоза, аллергического отека верхних дыхательных путей, обструкции, дыхательной недостаточности. Для профилактики перечисленных осложнений у пациентов с соответствующими коморбидными заболеваниями (артериальной гипертензией, атеросклерозом, ишемической болезнью сердца, ожирением, аллергическим поллинозом, другими заболеваниями легких, туберкулезом, ВИЧ-инфекцией, системными заболеваниями), следует использовать наравне с базовой терапией антикоагулянты (против тромбоза), гипосенсибилизирующие препараты, антиоксиданты. Остальные препараты – на усмотрение лечащего врача.

2.8. Результаты клинических испытаний ПО «Аффисенс»

ПО «Аффисенс» успешно прошло технические испытания в ФГБУ «ВНИИИМТ» Росздравнадзора (акт от 08.10.2021 № П-21-206) и клинические испытания в Центральной клинической больнице РАН (акт от 25.11.2021 № 566/11).

В результате клинических испытаний были установлены следующие характеристики ПО «Аффисенс»:

Чувствительность: 0,36;

Специфичность: 0,90;

Прогностическая ценность положительного результата: 0,78;

Удельный вес ложноположительных результатов: 0,217;

Удельный вес ложноотрицательных результатов: 0,415;

Точность: 0,63;

Сбалансированная оценка точности: 0,49.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- 1) «Временное руководство по лабораторной диагностике состояния иммунитета при COVID-19: методические рекомендации» (А. Н. Цибин, М. Ф. Латыпова. 2021).
<https://niioz.ru/upload/iblock/ff6/ff6dc5dc50cb76a4c48169672f926357.pdf>
- 2) «Временные методические рекомендации Минздрава России «Профилактика, диагностика и лечение новой коронавирусной инфекции (COVID-19)». Версия 16 (18.08.2022).».
https://static-0.minzdrav.gov.ru/system/attachments/attaches/000/060/193/original/BMP_COVID-19_V16.pdf
- 3) Minashkin, M.M.; Grigortsevich, N.Y.; Kamaeva, A.S.; Barzanova, V.V.; Traspov, A.A.; Godkov, M.A.; Ageev, F.A.; Petrikov, S.S.; Pozdnyakova, N.V. The Role of Genetic Factors in the Development of Acute Respiratory Viral Infection COVID-19: Predicting Severe Course and Outcomes. *Biomedicines* 2022, 10, 549. <https://doi.org/10.3390/biomedicines10030549>
- 4) Патент RU 2765686 C1, действует от 02.07.2021: «Способ прогнозирования рисков тяжелого течения респираторных заболеваний вирусной природы». Авторы: Камаева Анна Станиславовна (RU), Григорцевич Наталия Юрьевна (RU), Минашкин Михаил Михайлович (RU), Позднякова Наталья Вячеславовна (RU). Правообладатель: ООО «Система-БиоТех» (RU). <https://www.fips.ru/cdfi/fips.dll/ru?ty=29&docid=2765686>
- 5) Свидетельство о государственной регистрации программы для ЭВМ № 2021681109 от 17.12.2021: «Определитель генотипов из RDML (RDMLtyper)». Автор: Траспов Алексей Александрович (RU). Правообладатель: ООО «Система-БиоТех» (RU).
https://new.fips.ru/registers-doc-view/fips_servlet?DB=EVM&DocNumber=2021681109
- 6) А.А. Траспов, М.М. Минашкин, С.В. Поярков, А.Г. Комаров, И.А. Штинова, Г.И. Спешилов, И.А. Карбышев, Н.В. Позднякова. Полиморфизмы rs17713054 и rs1800629 генов *LZTFL1* и *TNF* ассоциированы с тяжестью течения COVID-19. «Вестник РГМУ», 6/2022. Опубликовано online 28.12.2022: <https://vestnik.rsmu.press/archive/2022/6/7/>,
<https://doi.org/10.24075/vrgmu.2022.065>
- 7) «Система-БиоТех» апробирует в московских клиниках первый в России тест, позволяющий снизить осложнения и смертельный риск при COVID-19. ПАО АФК «Система», Москва, 02.08.2021. <https://sistema.ru/press/pressreleases/-sistema-biotech-aprobiruet-v-moskovskikh-klinikakh-pervyy-v-rossii-test-pozvolayayushchiy-snizit-osl>
- 8) «Набор реагентов для определения генетических полиморфизмов, связанных с риском тяжелого течения респираторной инфекции COVID-19, вызываемой вирусом SARS-CoV-2, SBT-PRO-Vi». ООО «Система-БиоТех», <https://sistemabiotech.ru/pro-vi>
- 9) М.Ю. Шкурников, Д.А. Аверинская, А.Г. Комаров, И.А. Карбышев, Г.И. Спешилов, И.А. Штинова, Д.А. Дорошенко, В.И. Вечорко, академик РАН О.М. Драпкина. Взаимосвязь генотипа главного комплекса гистосовместимости класса I с летальностью COVID-19 у пациентов с сахарным диабетом. - ДОКЛАДЫ РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ НАУК. НАУКИ О ЖИЗНИ, 2022, том 507, с. 515–519 DOI: 10.31857/S2686738922060324.
- 10) М.Ю. Шкурников, Д.А. Аверинская, А.Г. Комаров, И.А. Карбышев, Г.И. Спешилов, И.А. Штинова, Д.А. Дорошенко, В.И. Вечорко. Взаимосвязь прогноза течения COVID-19 с мутациями белка NS8 SARS-COV-2 в зависимости от штаммовой принадлежности вируса - ДОКЛАДЫ РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ НАУК. НАУКИ О ЖИЗНИ, 2022, том 507, с. 460–464 DOI: 10.31857/S2686738922060312.
- 11) Патент RU 2 747 097 C1, дата регистрации 26.04.2021. Авторы: Шкурников М.Ю., Нерсиян С.А., Тоневицкий А.Г. Способ оценки риска развития тяжелой формы COVID-19.

**Отчет о проведении молекулярно-генетического исследования ДНК
для определения риска тяжелого течения COVID-19
при помощи Набора SBT-PRO-Vi**

1. Пример Отчета при лёгком течении COVID-19

Результат научного исследования № 0000054353 от 20.01.2022

Дата рождения:	Номер образца: 0000054353
Пол: женский	Заказчик исследования:
ID:	Врач:
Вид биоматериала: Буккальный эпителий	Причина обращения:
Дата забора биоматериала: 19.01.2022	Предварительный диагноз:
Дата регистрации: 19.01.2022	
Дата выпуска отчета: 20.01.2022	

**Анализ ДНК на генетическую предрасположенность и риск тяжелого течения
респираторной инфекции COVID-19, вызываемой коронавирусом SARS-CoV-2**

Точечное генотипирование ДНК проведено методом ОТ-ПЦР-РВ на следующей тест-системе:

- 1) Программируемый амплификатор с системой детекции флуоресцентного сигнала в режиме «реального времени» CFX96 (РУ № ФСЗ 2008/03399 от 21.06.2016, «Термоциклер для амплификации нуклеиновых кислот 1000», «Био-Рад Лабораториз, Инк.», США);
- 2) «Набор реагентов для определения генетических полиморфизмов, связанных с риском тяжелого течения респираторной инфекции COVID-19, вызываемой коронавирусом SARS-CoV-2, методом ПЦР с гибридационно-флуоресцентной детекцией, совместно с программой для ЭВМ «Определитель генотипов из RDML (RDMLtyper)», SBT-PRO-Vi по ТУ 21.20.23-008-16139243-2021», производства ООО «Система-БиоТех», Россия.





Результаты генотипирования ДНК подтверждены методом секвенирования по Сэнгеру на генетическом анализаторе ABI 3500 (РУ № ФСЗ 2010/07007 от 28.03.2022, «Анализатор генетический Applied Biosystems 3500», АО «Термо Фишер Сайентифик», США).

Результаты исследования:

№	Ген	Вариант	Генотип	Риск
1	<i>LZTFL1</i>	rs17713054	C/C	Среднепопуляционный
2	<i>TNF</i>	rs1800629	G/G	Среднепопуляционный
3	<i>IFIH1</i>	rs1990760	T/T	Среднепопуляционный
4	<i>IFITM3</i>	rs12252	A/A	Среднепопуляционный
5	<i>CCR2</i>	rs1799864	G/G	Среднепопуляционный
6	<i>C3AR1</i>	rs7842	T/T	Среднепопуляционный
7	<i>TLR2</i>	rs1898830	G/G	Пониженный
8	<i>STAT3</i>	rs744166	G/G	Пониженный
9	<i>STAT6</i>	rs324011	C/C	Среднепопуляционный
10	<i>TMPRSS2</i>	rs75603675	G/G	Среднепопуляционный

Риски развития осложнений и индивидуальной восприимчивости

Осложнения	Гены	<i>LZTFL1</i>	<i>TNF</i>	<i>IFIH1</i>	<i>IFITM3</i>	<i>CCR2</i>	<i>C3AR1</i>	<i>TLR2</i>	<i>STAT3</i>	<i>STAT6</i>	<i>TMPRSS2</i>	Превыше- ние риска
ОРДС (пневмония)												
Сепсис												
Тромбоз, тромбофилия												
Цитокиновый шторм												
Индивидуальная восприимчивость												

	— протективный вариант		— нейтральный вариант
	— патогенный вариант		— превышение риска (наличие двух и более патогенных вариантов)

Интерпретация

- В ходе проведенного молекулярно-генетического исследования выявлены:
 - протективные варианты генов *TLR2*, *STAT3*, связанные со снижением риска тяжелого течения респираторных вирусных инфекций и сниженной индивидуальной восприимчивостью организма к коронавирусу SARS-CoV-2;
- В результате проведенного исследования ДНК на основании выявленных генетических маркеров при помощи математической модели был определен суммарный риск **0.22**, ассоциированный с **легким** течением респираторной инфекции COVID-19, вызываемой коронавирусом SARS-CoV-2.
- При проведении генотипирования повышенный риск развития осложнений: **не** выявлен.

Заключение

- Анализ генотипов пациента отражает риск **легкого** течения респираторной инфекции COVID-19, вызываемой коронавирусом SARS-CoV-2.
- Предрасположенность к повышенной индивидуальной восприимчивости к заражению коронавирусом SARS-CoV-2 **не выявлена**.
- Комбинация возможных осложнений **не** выявлена.
- На основании выявленных генетических маркеров можно предположить эффективность следующих групп лекарственных средств:

Рекомендации по применению лекарственных препаратов

Группа лекарственных препаратов	Название препарата	Рекомендации
Интерфероны	Интерферон альфа-2b, Реаферон, Виферон, Генферон	1. Рекомендовано использовать при первых симптомах заболевания. 2. При ПЦР «+». 3. В течение первых семи дней от получения положительного результата ПЦР теста.

Глюкокортикоиды	Дексаметазон, Преднизолон, Гидрокортизон	Данная категория пациентов не нуждается в использовании глюкокортикоидов. Дексаметазон следует принимать с осторожностью, в связи с повышенным риском усиления воспалительных реакций (обусловлено генотипом гена <i>IFIH1</i>).
Моноклональные антитела	Тоцилизумаб, Актемра	Рекомендовано использовать при возрастающем поражении на КТ.
Антикоагулянты	Апиксабан, Гепарин низкомолекулярный	Рекомендовано использовать на протяжении всего периода заболевания.

Врач: _____ / _____

2. Пример Отчета при среднем течении COVID-19 (из Отчета приведена только значимая переменная его часть)

Результаты исследования:

№	Ген	Вариант	Генотип	Риск
1	<i>LZTFL1</i>	rs17713054	C/C	Среднепопуляционный
2	<i>TNF</i>	rs1800629	A/A	Повышенный
3	<i>IFIH1</i>	rs1990760	C/C	Повышенный
4	<i>IFITM3</i>	rs12252	A/G	Среднепопуляционный
5	<i>CCR2</i>	rs1799864	G/G	Среднепопуляционный
6	<i>C3AR1</i>	rs7842	T/T	Среднепопуляционный
7	<i>TLR2</i>	rs1898830	A/A	Среднепопуляционный
8	<i>STAT3</i>	rs744166	A/G	Среднепопуляционный
9	<i>STAT6</i>	rs324011	C/T	Среднепопуляционный
10	<i>TMPRSS2</i>	rs75603675	G/T	Повышенный

Риски развития осложнений и индивидуальной восприимчивости

Гены	<i>LZTFL1</i>	<i>TNF</i>	<i>IFIH1</i>	<i>IFITM3</i>	<i>CCR2</i>	<i>C3AR1</i>	<i>TLR2</i>	<i>STAT3</i>	<i>STAT6</i>	<i>TMPRSS2</i>	Превыше- ние риска
Осложнения											
ОРДС (пневмония)	Yellow	Red						Yellow	Yellow		
Сепсис		Red	Red	Yellow	Yellow						Red
Тромбоз, тромбофилия					Yellow	Yellow		Yellow			
Цитокиновый шторм		Red				Yellow		Yellow			
Индивидуальная восприимчивость	Yellow		Red		Yellow	Yellow	Yellow			Red	Red



— протективный вариант
— патогенный вариант



— нейтральный вариант
— превышение риска (наличие двух и более патогенных вариантов)

Интерпретация

1. В ходе проведенного молекулярно-генетического исследования выявлены:
 - патогенные варианты генов *TNF*, *IFIH1*, *TMPRSS2*, связанные с повышенной индивидуальной восприимчивостью к заражению вирусом SARS-CoV-2 и с небольшим риском усиленной воспалительной реакции.
2. В результате проведенного исследования ДНК на основании выявленных генетических маркеров при помощи математической модели был определен суммарный риск **0.60**, ассоциированный со **среднетяжелым** течением респираторной инфекции COVID-19, вызываемой коронавирусом SARS-CoV-2.
3. При проведении генотипирования повышенный риск развития осложнений: **сепсис**.

Заключение

1. Анализ генотипов пациента отражает риск **среднетяжелого** течения респираторной инфекции COVID-19, вызываемой коронавирусом SARS-CoV-2.
2. Обнаружена предрасположенность к **повышенной** индивидуальной восприимчивости к заражению коронавирусом SARS-CoV-2.
3. Комбинация возможных осложнений: **сепсис**.
4. На основании выявленных генетических маркеров можно предположить эффективность следующих групп лекарственных средств:

Рекомендации по применению лекарственных препаратов

Группа лекарственных препаратов	Название препарата	Рекомендации
Интерфероны	Интерферон альфа-2b, Реаферон, Виферон, Генферон	1. Рекомендовано использовать при первых симптомах заболевания. 2. При ПЦР «+». 3. В течение первых семи дней от получения положительного результата ПЦР теста.
Глюкокортикоиды	Дексаметазон, Преднизолон, Гидрокортизон	Рекомендовано использовать в период цитокинового шторма с постепенным снижением дозы на 20–25% на введение каждые 1–2 суток в течение 3–4 суток, далее на 50% каждые 1–2 суток до полной отмены. Применение дексаметазона улучшает эффективность терапии не более чем в 9–10% случаев. Использовать по решению лечащего врача.
Моноклональные антитела	Тоцилизумаб, Актемра	Рекомендовано использовать при возрастающем поражении на КТ.
Антикоагулянты	Апиксабан, Гепарин низкомолекулярный	Рекомендовано использовать на протяжении всего периода заболевания.

Врач: _____ / _____

3. Пример Отчета при тяжелом течении COVID-19
(из Отчета приведена только значимая переменная его часть)

Результаты исследования:

№	Ген	Вариант	Генотип	Риск
1	<i>LZTFL1</i>	rs17713054	T/T	Высокий
2	<i>TNF</i>	rs1800629	A/A	Повышенный
3	<i>IFIH1</i>	rs1990760	C/C	Повышенный
4	<i>IFITM3</i>	rs12252	G/G	Повышенный
5	<i>CCR2</i>	rs1799864	A/A	Повышенный
6	<i>C3AR1</i>	rs7842	T/C	Повышенный
7	<i>TLR2</i>	rs1898830	A/G	Среднепопуляционный
8	<i>STAT3</i>	rs744166	A/G	Среднепопуляционный
9	<i>STAT6</i>	rs324011	T/T	Повышенный
10	<i>TMPRSS2</i>	rs75603675	A/A	Повышенный

Риски развития осложнений и индивидуальной восприимчивости

Осложнения	<i>LZTFL1</i>	<i>TNF</i>	<i>IFIH1</i>	<i>IFITM3</i>	<i>CCR2</i>	<i>C3AR1</i>	<i>TLR2</i>	<i>STAT3</i>	<i>STAT6</i>	<i>TMPRSS2</i>	Превыше- ние риска
ОРДС (пневмония)	патогенный	патогенный	нейтральный	нейтральный	нейтральный	нейтральный	нейтральный	нейтральный	патогенный	нейтральный	превышение риска
Сепсис	нейтральный	патогенный	патогенный	патогенный	патогенный	нейтральный	нейтральный	нейтральный	нейтральный	нейтральный	превышение риска
Тромбоз, тромбофилия	нейтральный	нейтральный	нейтральный	нейтральный	патогенный	патогенный	нейтральный	нейтральный	нейтральный	нейтральный	превышение риска
Цитокиновый шторм	нейтральный	патогенный	нейтральный	нейтральный	нейтральный	патогенный	нейтральный	нейтральный	нейтральный	нейтральный	превышение риска
Индивидуальная восприимчивость	патогенный	нейтральный	патогенный	нейтральный	патогенный	патогенный	нейтральный	нейтральный	нейтральный	патогенный	превышение риска

— протективный вариант
 — нейтральный вариант
 — патогенный вариант
 — превышение риска
 (наличие двух и более патогенных вариантов)

Интерпретация

- В ходе проведенного молекулярно-генетического исследования выявлены:
 - патогенные варианты генов *LZTFL1*, *TNF*, *IFIH1*, *IFITM3*, *CCR2*, *C3AR1*, *STAT6*, *TMPRSS2*, связанные с повышенной индивидуальной восприимчивостью к заражению вирусом SARS-CoV-2 и с небольшим риском усиленной воспалительной реакции.
- В результате проведенного исследования ДНК на основании выявленных генетических маркеров при помощи математической модели был определен суммарный риск 0.8147226, ассоциированный с тяжелым течением респираторной инфекции COVID-19, вызываемой коронавирусом SARS-CoV-2.
- При проведении генотипирования повышенный риск развития осложнений: ОРДС (пневмония), сепсис, цитокиновый шторм, тромбоз.

Заключение

1. Анализ генотипов пациента отражает риск тяжелого течения респираторной инфекции COVID-19, вызываемой коронавирусом SARS-CoV-2.
2. Обнаружена предрасположенность к повышенной индивидуальной восприимчивости к заражению коронавирусом SARS-CoV-2.
3. Комбинация возможных осложнений: ОРДС (пневмония), сепсис, цитокиновый шторм, тромбоз.
4. На основании выявленных генетических маркеров можно предположить эффективность следующих групп лекарственных средств:

Рекомендации по применению лекарственных препаратов

Группа лекарственных препаратов	Название препарата	Рекомендации
Интерфероны	Интерферон альфа-2b, Реаферон, Виферон, Генферон	1. Рекомендовано использовать при первых симптомах заболевания. 2. При ПЦР «+». 3. В течение первых семи дней от получения положительного результата ПЦР теста.
Глюкокортикоиды	Дексаметазон, Преднизолон, Гидрокортизон	Рекомендовано использовать в период цитокинового шторма с постепенным снижением дозы на 20–25% на введение каждые 1–2 суток в течение 3–4 суток, далее на 50% каждые 1–2 суток до полной отмены. Применение дексаметазона улучшает эффективность терапии не более чем в 9–10% случаев. Использовать по решению лечащего врача.
Моноклональные антитела	Тоцилизумаб, Актемра	Рекомендовано использовать при возрастающем поражении на КТ.
Антикоагулянты	Апиксабан, Гепарин низкомолекулярный	Рекомендовано использовать на протяжении всего периода заболевания в профилактических или более высоких дозах.

Врач: _____ / _____