

КЛИНИЧЕСКАЯ ЛАБОРАТОРНАЯ ДИАГНОСТИКА CLINICAL LABORATORY DIAGNOSTICS

DOI: 10.29413/ABS.2021-6.1.5

Вирусная нагрузка при COVID-19: недооценённый клинический и эпидемиологический маркер

Орлова Е.А., Огарков О.Б., Жданова С.Н., Хромова П.А., Синьков В.В.,
Хаснатинов М.А., Рычкова Л.В., Колесникова Л.И.

ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека» (664003, г. Иркутск, ул. Тимирязева, 16, Россия)

Автор, ответственный за переписку: Орлова Елизавета Андреевна, e-mail: elizaveta.a.orlova@gmail.com

Резюме

Обоснование. Вирусная нагрузка SARS-CoV-2, возбудителя новой коронавирусной инфекции, приобретает всё большее значение в клиническом и эпидемиологическом контекстах. Несмотря на это, существуют значительные ограничения во внедрении количественного измерения вирусной нагрузки в клиническую практику.

Цель данной работы заключалась в разработке подхода для количественной оценки вирусной нагрузки SARS-CoV-2 по значению пороговых циклов образца (Ct) относительно Ct внутреннего контрольного образца, получаемых в ходе рутинной лабораторной ПЦР-диагностики вируса, и в его использовании для мониторинга вирусной нагрузки среди первично выявленных пациентов из Иркутской области.

Материалы и методы. С использованием регрессионных моделей на основе метода наименьших квадратов разработан подход для определения количества копий РНК SARS-CoV-2 в 1 мл носоглоточного секрета. Проведён мониторинг вирусной нагрузки SARS-CoV-2 в образцах носоглотки и зева, полученных от 1370 пациентов из гг. Иркутск и Ангарск с первично диагностированным положительным ПЦР-результатом в период с 1 июля по 10 ноября 2020 г.

Результаты. Выявлено десятикратное увеличение среднемесячной вирусной нагрузки среди пациентов в сентябре-октябре 2020 г. Мы предполагаем, что изменение эпидемиологической модели распространения новой коронавирусной инфекции в этот период ассоциировано с повышением количества контактов в популяции, связанным с началом учебного года. Более высокая вирусная нагрузка наблюдается в группах риска по COVID-19 – среди медицинских работников и взрослых/пожилых пациентов.

Заключение. Разработка стандартизованного количественного определения вирусной нагрузки SARS-CoV-2 в мазке может служить прогностическим клиническим маркером и надёжным инструментом для совершенствования эпиднадзора за COVID-19 при использовании предложенного подхода по оценке средней вирусной нагрузки в географически ограниченной популяции.

Ключевые слова: COVID-19, SARS-CoV-2, вирусная нагрузка, количественная ПЦР, пороговое число циклов, Ct

Для цитирования: Орлова Е.А., Огарков О.Б., Жданова С.Н., Хромова П.А., Синьков В.В., Хаснатинов М.А., Рычкова Л.В., Колесникова Л.И. Вирусная нагрузка при COVID-19: недооценённый клинический и эпидемиологический маркер. *Acta biomedica scientifica*. 2021; 6(1): 33-39. doi: 10.29413/ABS.2021-6.1.5.

Viral Load in COVID-19: Underestimated Clinical and Epidemiological Marker

Orlova E.A., Ogarkov O.B., Zhdanova S.N., Khromova P.A., Sinkov V.V.,
Khasnatinov M.A., Rychkova L.V., Kolesnikova L.I.

Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems (Timiryazeva str. 16, Irkutsk 664003, Russian Federation)

Corresponding author: Elizaveta A. Orlova, e-mail: elizaveta.a.orlova@gmail.com

Abstract

Background. The viral load of severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2), the causative agent of the new coronavirus infection, is becoming increasingly important in clinical and epidemiological contexts. Despite this, there are significant complexities in the implementation of viral load quantitative measurement into clinical practice due to the limited approaches to its assessment.

The aim of this work was to develop an approach for SARS-CoV-2 viral load analysis by the value of sample threshold cycles (Ct) relative to the Ct of the internal control sample obtained in routine PCR diagnostics of the COVID-19, and to use this approach for quantitative monitoring of viral load in patients with first positive SARS-CoV-2 test from the Irkutsk region.

Materials and methods. Using regression models based on the least squares method, an approach to determine the number of copies of SARS-CoV-2 RNA in 1 ml of nasopharyngeal secretion was developed. The viral load of SARS-CoV-2 was assessed in nasopharyngeal and pharyngeal samples obtained from 1370 patients from Irkutsk and Angarsk with primary diagnosed positive PCR result in the period from July 1 to November 10, 2020.

Results. A tenfold increase in the average monthly viral load among patients in September-October 2020 was revealed. We assume that the change in the epidemiological pattern of the spread of the new coronavirus infection during this period is associated with an increase in the number of contacts in the population due to the school year beginning. Higher viral loads are observed in populations at risk for COVID-19 – among healthcare workers and adults/elderly patients. **Conclusion.** The development of a standardized quantification of SARS-CoV-2 viral load in the nasopharyngeal samples can be a predictive clinical marker and a reliable tool for improving COVID-19 surveillance using the proposed approach to assess average viral load in a local population.

Key words: COVID-19, SARS-CoV-2, viral load, qPCR, cycle threshold, Ct

For citation: Orlova E.A., Ogarkov O.B., Zhdanova S.N., Khromova P.A., Sinkov V.V., Khasnatinov M.A., Rychkova L.V., Kolesnikova L.I. Viral Load in COVID-19: Underestimated Clinical and Epidemiological Marker. *Acta biomedica scientifica*. 2021; 6(1): 33-39. doi: 10.29413/ABS.2021-6.1.5.

ОБОСНОВАНИЕ

Коронавирус тяжёлого острого респираторного синдрома (SARS-CoV-2) впервые был идентифицирован в городе Ухань, Китай, в конце 2019 г. [1], а заболевание, получившее название COVID-19, быстро превратилось в глобальную пандемию. Хотя к настоящему моменту COVID-19 затронул уже более 100 млн пациентов и привёл более чем к 2,2 млн смертельных исходов [2], в наших знаниях о патогенезе заболевания остаются большие пробелы. Было выяснено, что артериальная гипертония и сахарный диабет являются ключевыми предикторами тяжёлого течения заболевания, а более высокая смертность ассоциирована с пожилым возрастом [3], мужским полом [4], рядом сердечно-сосудистых заболеваний и ожирением [5, 6]. Остаётся неясной взаимосвязь между уровнями репликации возбудителя и тяжестью заболевания. При анализе вспышки SARS-CoV-1 вирусная нагрузка в носоглотке была связана с ухудшением тяжести заболевания и увеличением смертности [7, 8]. Однако также очевидно, что существуют значительные различия между вирусами SARS-CoV-1 и SARS-CoV-2, включая различия во времени выделения вируса [9, 10], его трансмиссивности [11], эпидемиологических [12] и клинических проявлениях [13]. Связь между вирусной нагрузкой SARS-CoV-2 и риском прогрессирования заболевания остаётся в значительной степени неопределённой для COVID-19 [14]. Необходимы дополнительные исследования, чтобы определить, может ли уровень репликации вируса SARS-CoV-2 в верхних дыхательных путях или других отделах предсказать исход заболевания.

Определение количества копий вируса может также обеспечивать более надёжный эпидемиологический надзор за счёт оценки вирусной нагрузки в сообществе (Community Viral Load) – совокупности индивидуальных вирусных нагрузок людей, инфицированных в конкретной популяции. Этот показатель полезен как мера средней заразности и используется, например, при оценке распространённости ВИЧ-инфекции [15].

Однако несмотря на то, что вирусная нагрузка приобретает всё большее значение в качестве потенциального клинического и эпидемиологического маркера, текущие клинические рекомендации не предусматривают её количественного измерения при диагностике COVID-19. Стандартный молекулярный метод выявления SARS-CoV-2 – это полимеразная цепная реакция с обратной транскрипцией (ОТ-ПЦР) в реальном времени [16], которая предоставляет значение порогового цикла (Ct), обратное пропорциональное вирусной нагрузке. Измерение порогового цикла может служить косвенным методом определения количества копий вирусной РНК

в образце, однако значение Ct зависит от эффективности экстракции РНК и амплификации, что затрудняет интерпретацию результатов.

В рамках настоящего исследования мы предлагаем стандартизованный подход количественной оценки вирусной нагрузки SARS-CoV-2 по значению порогового цикла, получаемого в ходе рутинной лабораторной ПЦР-диагностики вируса, с коррекцией потерь при выделении тотальной РНК по Ct внутреннего контрольного образца (ВКО). Используя этот подход, мы провели мониторинг вирусной нагрузки в образцах носоглоточного секрета при исследовании инфицированных субъектов из Иркутской области.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследование одобрено Этическим комитетом ФГБНУ НЦ ПЗСРЧ (протокол № 4 от 16.11.2020).

Дизайн исследования

В работе использованы положительные ПЦР-результаты, полученные в рамках рутинных процедур обследования населения Иркутской области на поражённость вирусом SARS-CoV-2. В исследование вошли пациенты с первично диагностированным положительным результатом ПЦР-теста, пациенты с диагнозами COVID-19 или ОРВИ исключены из анализа. Количественную оценку вирусной нагрузки проводили, опираясь на результаты ПЦР-исследования 1265 носоглоточных мазков, полученных в период с 01.07.2020 по 10.11.2020 от жителей г. Иркутска, и 105 носоглоточных мазков, полученных в период с 01.07.2020 по 30.10.2020 от жителей г. Ангарска. Характеристика обследованных выборок представлена в таблице 1.

Таблица 1
Характеристика обследованных выборок
Table 1
Characteristics of the examined samples

Показатель	Иркутск	Ангарск	Всего
N	1265	105	1370
Мужчины, % (N)	36,5 (462)	47,6 (50)	37,4 (512)
Женщины, % (N)	63,5 (803)	52,4 (55)	62,6 (858)
Средний возраст, лет	41,6 ± 16,9	27,1 ± 19,4	40,5 ± 17,5
Дети, % (N)	9,3 (118)	47,6 (50)	12,3 (168)
Взрослые (18–64 года), % (N)	81,6 (1032)	49,5 (52)	79,1 (1084)
Пожилые (65–88 лет), % (N)	9,1 (115)	2,9 (3)	8,6 (118)
Медработники, % (N)	27 (341)	18,1 (19)	26,3 (360)
Общее население, % (N)	73 (924)	81,9 (86)	73,7 (1010)

Выделение генетического материала из образцов проводили набором реагентов «РеалБест экстракция 100», ПЦР-исследования проводили набором реагентов «РеалБест PHK SARS-CoV-2» для выявления PHK коронавируса SARS-CoV-2 методом ОТ-ПЦР в режиме реального времени на амплификаторе Real-time CFX96 Touch (BioRad) по протоколу производителя. Для стандартизации полученных результатов во всех случаях уровень пороговой флуоресценции для ВКО, положительного контрольного образца (ПКО) и исследуемых клинических образцов устанавливали на значение флуоресценции 1000.

Построение регрессионной модели

Для определения количества копий PHK SARS-CoV-2 в клинических образцах применяли регрессионный анализ на основе метода наименьших квадратов (МНК). Для оценки неизвестных параметров регрессионной модели использовали эмпирические данные, полученные при калибровке ВКО и ПКО.

Используя калибровочную кривую ВКО, описывающую зависимость Ct от серийного разведения ВКО (рис. 1), мы получили степенное уравнение регрессии и преобразовали его в формулу для оценки потерь генетического материала на этапе экстракции PHK (1).

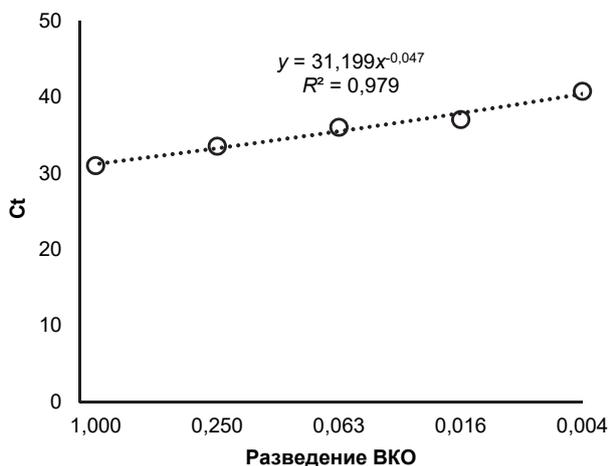


Рис. 1. Калибровочная кривая и эмпирическое уравнение регрессии, описывающее изменения Ct в зависимости от разведения ВКО. По оси абсцисс – логарифмическая шкала разведения ВКО, по оси ординат – значения Ct

Fig. 1. Calibration curve and empirical regression equation for changing the value of threshold cycle (Ct) depending on the internal control (IC) dilution. The abscissa shows the logarithmic scale of IC dilution, the ordinate – Ct values

$$\text{Разведение ВКО} = \frac{Ct^{-1/0,047}}{31,199} \quad (1)$$

Построив аналогичную калибровочную кривую для ПКО (рис. 2), мы получили степенное уравнение регрессии, описывающее зависимость Ct от разведения ПКО.

В качестве минимальной чувствительности теста принимали параметры, заявленные производителем (25 копий SARS-CoV-2 в ПЦР-пробе, что соответствует 1×10^3 копий/мл исходного образца). Пороговое значение Ct, при котором образец считается положительным, принимали равным 40, согласно инструкции. С учётом заявленной чувствительности теста для последующих вычислений мы принимали Ct = 40 соответствующим концентрации 1×10^3 копий в 1 мл раствора ПКО. С учё-

том этих данных с помощью эмпирического уравнения регрессии (см. рис. 2) были приведены в соответствие значения концентрации ПКО (копий/мл) со значениями его серийного разведения. Построив таким образом кривую зависимости Ct ПКО от количества копий/мл образца (рис. 3), мы получили степенное уравнение регрессии и, наконец, преобразовали его в формулу для оценки вирусной нагрузки SARS-CoV-2 в геном-эквивалентах на 1 мл носоглоточного секрета (2).

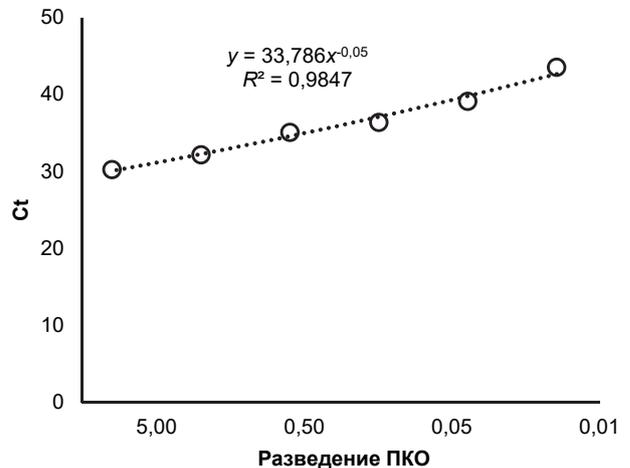


Рис. 2. Калибровочная кривая и эмпирическое уравнение регрессии, описывающее изменения Ct в зависимости от разведения ПКО. По оси абсцисс – логарифмическая шкала разведения ПКО, по оси ординат – значения Ct

Fig. 2. Calibration curve and empirical regression equation for changing the value of Ct depending on the positive control (PC) dilution. The abscissa shows the logarithmic scale of PC dilution, the ordinate – Ct values

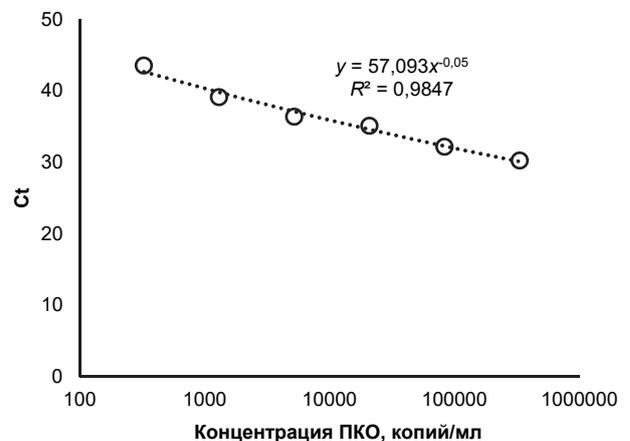


Рис. 3. Калибровочная кривая и эмпирическое уравнение регрессии, описывающее изменения Ct в зависимости от концентрации ПКО. По оси абсцисс – логарифмическая шкала концентрации ПКО (копий/мл), по оси ординат – значения Ct

Fig. 3. Calibration curve and empirical regression equation for changing the value of Ct depending on the PC concentration. The abscissa shows the logarithmic scale of PC concentration (copies/ml), the ordinate – Ct values

$$\text{Количество геном-эквивалентов в 1 мл образца} = \frac{Ct^{-1/0,05}}{57,093} \quad (2)$$

Статистический анализ

Значение вирусной нагрузки для клинических образцов выражали как десятичный логарифм от значения

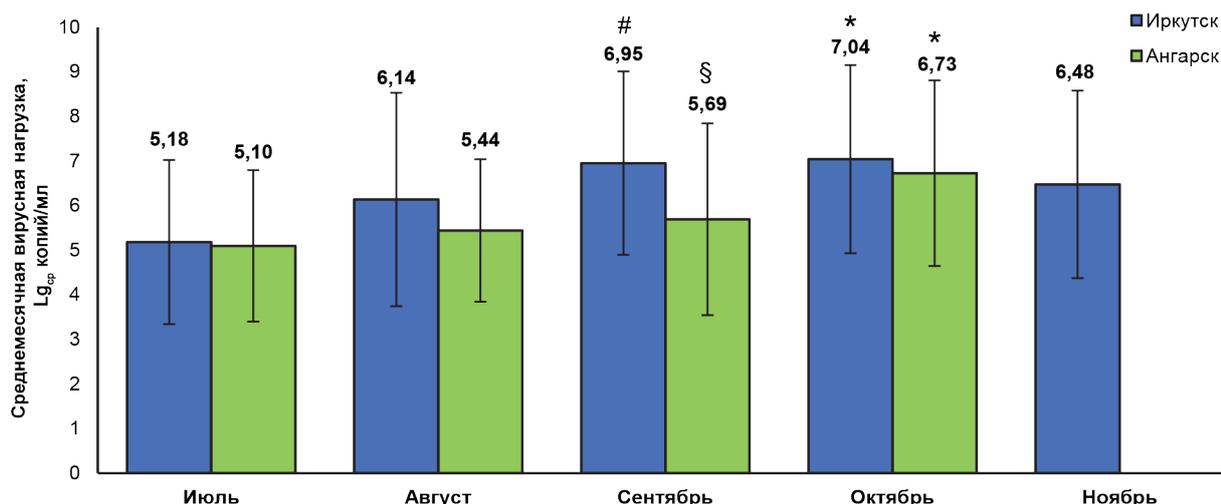


Рис. 4. Среднемесячная вирусная нагрузка среди пациентов из гг. Иркутск и Ангарск в июле-ноябре 2020 г. Здесь и далее по оси ординат – средние логарифмические значения нормализованного количества копий вируса в мл образца (Lg_{cp} копий/мл). Статистически значимые различия пиков среднемесячной вирусной нагрузки: * – в октябре от других месяцев; # – в июле-сентябре для г. Иркутска (P < 0,01); § – в сентябре между гг. Иркутск и Ангарск (P = 0,03)

Fig. 4. Average monthly viral load among patients from Irkutsk and Angarsk in July-November 2020. Hereinafter, the ordinate shows the mean logarithmic values of the normalized number of viral copies per ml of the sample (Lg_{cp} copies/ml). Statistically significant differences between the peaks of the average monthly viral load: * – in October and other months; # – in July-September in Irkutsk (P < 0.01); § – in September between Irkutsk and Angarsk (P = 0.032)

нормализованного по ВКО количества копий вируса в 1 мл образца. Статистическую значимость различий между выборками оценивали с помощью U-критерия Манна – Уитни с учётом нормальности выборок, определяемой по критерию Шапиро – Уилка. Построение регрессионных моделей проводили в пакете программ Microsoft Excel, версия 2101, статистические расчёты проведены с помощью Past3 и STATISTICA 10.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Динамика средней вирусной нагрузки SARS-CoV-2

Мониторинг динамики средней вирусной нагрузки SARS-CoV-2 среди обследуемых популяций проводили по среднемесячному значению. На рисунке 4 представлена динамика средней вирусной нагрузки среди пациентов гг. Иркутск и Ангарск в течение изучаемого периода. В сентябре произошло почти десятикратное возрастание средней вирусной нагрузки среди пациентов г. Иркутска до значений $6,79 \times 10^9$ копий/мл, различия статистически значимы относительно результатов, полученных в июле (U = 1128; P << 0,01). Аналогичные тренды наблюдались в г. Ангарске, однако различия не достигли статистической значимости, что, наиболее вероятно, связано с существенно меньшим объёмом выборки. Максимум среднемесячной вирусной нагрузки, приходящийся в Иркутске на октябрь 2020 г., составил $1,17 \times 10^{10}$ копий/мл и статистически значимо отличался от других месяцев, кроме сентября (P < 0,01 для каждой сравниваемой выборки). Пик среднемесячной вирусной нагрузки в Ангарске ($1,36 \times 10^{10}$ копий/мл) также пришёлся на октябрь, однако статистически значимо отличался только от июля (U = 399; P << 0,01). Сравнение данных между городами показало, что наблюдаемые изменения среднемесячной вирусной нагрузки в целом синхронно происходили в двух географически ограниченных популяциях. Более низкие титры вируса

у пациентов из г. Ангарска выявлялись только в период сентября (U = 186; P = 0,032).

Анализ средней вирусной нагрузки в группах риска

Для анализа средней вирусной нагрузки среди контингентов, различных по восприимчивости к COVID-19, мы объединили данные о пациентах из двух городов для повышения репрезентативности выборки. Как и ожидалось, средняя вирусная нагрузка среди медработников с первично выявленным COVID-19 статистически значимо выше (U = 1,58E05; P = 0,0005), чем у остального обследованного населения (рис. 5). Среди медработников наблюдались одни из самых высоких титров вируса, выявляемых в данном исследовании, – до $5,33 \times 10^{11}$ копий/мл.

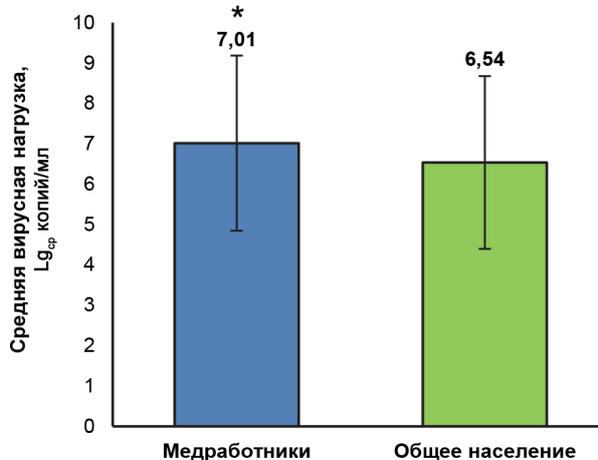


Рис. 5. Средняя вирусная нагрузка у медработников с первично выявленным COVID-19 выше, чем у остального обследованного населения (P = 0,0005)

Fig. 5. Average viral load among healthcare workers with primary diagnosed COVID-19 is higher in comparison with other population (P = 0.0005)

Средняя вирусная нагрузка у детей в 10 раз ниже ($U = 65933$; $P << 0,01$), чем у взрослых пациентов от 18 до 64 лет, и более чем в 10 раз ниже ($U = 6909,5$; $P << 0,01$) по сравнению с пожилыми пациентами от 65 до 88 лет (рис. 6). Наиболее высокий выявленный в данном исследовании уровень вирусной нагрузки ($2,13 \times 10^{12}$ копий/мл) наблюдался у пациентки 71 года.

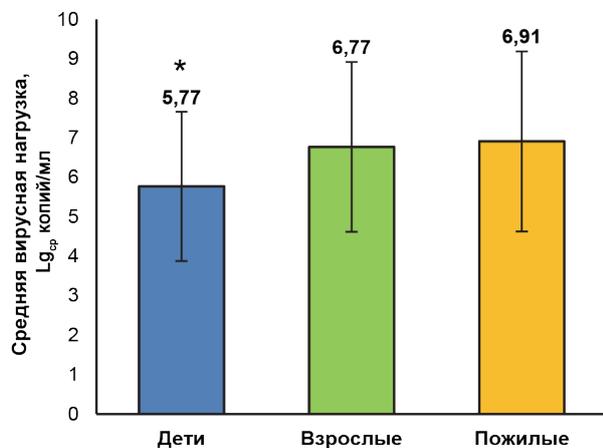


Рис. 6. Средняя вирусная нагрузка у детей в 10 раз ниже, чем у пациентов других возрастных групп ($P << 0,01$)

Fig. 6. Average viral load in children is 10 times lower than in patients of other age groups ($P << 0.01$)

Сравнение средней вирусной нагрузки по полам не выявило статистически значимых различий ($U = 2,12E05$; $P = 0,3$) между мужчинами и женщинами (рис. 7).

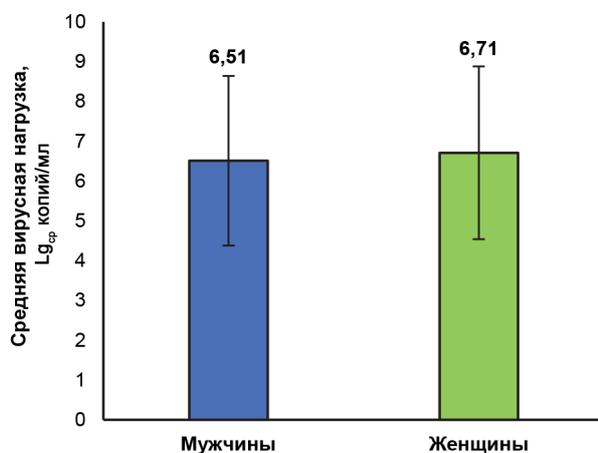


Рис. 7. Средняя вирусная нагрузка у мужчин и женщин

Fig. 7. Average viral load in men and women

ОБСУЖДЕНИЕ

Для диагностики COVID-19 достаточно качественных результатов ПЦР-теста на РНК SARS-CoV-2, но совокупность имеющихся данных указывает на то, что пороговое число циклов при ПЦР имеет связь с тяжестью заболевания и вероятностью передачи вируса [17], поэтому Ct приобретает всё большее значение в клиническом и эпидемиологическом контекстах. Фактические значения Ct, полученные в ходе рутинной диагностики SARS-CoV-2, могут быть преобразованы в вирусную нагрузку, а стандартизацию результатов можно проводить по Ct внутреннего контроля, предусмотренного в большинстве ПЦР-платформ.

Используя регрессионное моделирование на основе МНК, мы разработали подход для количественной оценки вирусной нагрузки SARS-CoV-2 в носоглоточных мазках на основе значений Ct, измеренных при рутинном обследовании населения на поражённость вирусом. Поскольку экстракция РНК и эффективность ПЦР могут варьировать от партии к партии, мы внесли поправку, экстраполируя данные об изменении Ct ВКО, добавляемого по протоколу производителя к каждому клиническому образцу. Согласно проведённым расчётам, потеря половины генетического материала на этапе экстракции РНК приводит к разнице в 1 цикл при ПЦР-амплификации ВКО. Учитывая эти данные, мы нормировали полученные по формуле 2 (см. Материалы и методы) значения количества геном-эквивалентов вируса SARS-CoV-2 в 1 мл носоглоточного секрета каждого клинического образца. Данный подход доступен для диагностических лабораторий, выявляющих РНК SARS-CoV-2 тест-системами с внутренним контролем экстракции и амплификации нуклеиновых кислот. Расчёт коэффициентов регрессионных уравнений легко воспроизводим эмпирическим путём при построении калибровочных кривых серийных разведений ВКО и ПК. Применив описанный подход, мы провели мониторинг динамики средней вирусной нагрузки SARS-CoV-2 среди 1265 пациентов из г. Иркутска и 105 пациентов из г. Ангарска и сравнили уровни репликации вируса в группах риска по COVID-19 по половозрастному и профессиональному признакам.

Обнаруженный в настоящей работе феномен почти десятикратного возрастания вирусной нагрузки в двух городах Иркутской области свидетельствует, по всей видимости, об изменении в сентябре 2020 г. эпидемиологической модели распространения новой коронавирусной инфекции. С большой долей уверенности можно предполагать, что резкое повышение количества контактов в популяции, связанное с началом учебного года, привело к тому, что среднезаражающая доза SARS-CoV-2 выросла за счёт многократных контактов с инфицированными источниками. В свою очередь возрастание среднего титра вируса с миллиона копий в 1 мл до десятков миллионов неизбежно привело к дальнейшему росту средней вирусной нагрузки в последующие месяцы 2020 г.

Увеличение вирусной нагрузки в группах риска по COVID-19 является характерной чертой эпидемического процесса. Вероятно, множественные заражения от нескольких вирусовывделителей во время оказания помощи больным COVID-19 стали причиной высоких титров вируса среди медицинских работников, а высокая нагрузка SARS-CoV-2 у взрослых и пожилых пациентов отражает большую уязвимость этих групп.

Мы не обнаружили различий в средней вирусной нагрузке среди мужчин и женщин несмотря на то, что мужской пол является одним из факторов риска тяжёлого течения инфекции. Обнаруженный феномен, скорее, может быть связан с ограничением настоящего исследования анализом только пациентов с первично диагностированным положительным результатом ПЦР-теста, чем свидетельствовать против связи между уровнем репликации вируса у мужчин и тяжестью заболевания. Поскольку известно, что вирусная нагрузка SARS-CoV-2 меняется в течение инфекции [11], необходимы продолжительные клинические исследования уровня репликации вируса на разных этапах заболевания у обоих полов.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Разработка стандартизованного количественного определения вирусной нагрузки в мазке при COVID-19 может иметь как клиническое, так и эпидемиологическое значение при использовании предложенного нами подхода по оценке средней вирусной нагрузки в географически ограниченной популяции. Десятикратное увеличение среднемесячной вирусной нагрузки среди пациентов гг. Иркутск и Ангарск в сентябре-октябре 2020 г., вероятно, связано с множественным заражением от нескольких вирусовыделителей за счёт увеличения числа контактов в начале учебного года. Более высокая вирусная нагрузка наблюдается в группах риска по COVID-19 – среди медицинских работников и взрослых/пожилых пациентов.

Исследование проведено с использованием оборудования ЦКП «ПЦР-диагностика» ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека».

Конфликт интересов

Авторы данной статьи сообщают об отсутствии конфликта интересов.

Источник финансирования

Исследование выполнено в рамках НИР «Исследование особенностей эпидемического процесса социально значимых и возвращающихся инфекций в Северной Азии» (AAAA-A18-118051190033-0).

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Wu F, Zhao S, Yu B, Chen YM, Wang W, Song ZG, 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
2. World Health Organization. *COVID-19 weekly epidemiological update* 22. 2021. URL: https://www.who.int/docs/default-source/coronavirus/situation-reports/weekly_epidemiological_update_22.pdf.
3. Zhou F, Yu T, Du R, Fan G, Liu Y, Liu Z, et al. Clinical course and risk factors for mortality of adult inpatients with COVID-19 in Wuhan, China: a retrospective cohort study. *Lancet*. 2020; 395(10229): 1054-1062. doi: 10.1016/S0140-6736(20)30566-3
4. Peckham H, de Groot NM, Raine C, Radziszewska A, Ciurtea C, Wedderburn LR, et al. Male sex identified by global COVID-19 meta-analysis as a risk factor for death and ICU admission. *Nat Commun*. 2020; 11(1): 1-10. doi: 10.1038/s41467-020-19741-6

5. Li X, Xu S, Yu M, Wang K, Tao Y, Zhou Y. Risk factors for severity and mortality in adult COVID-19 in patients in Wuhan. *J Allergy Clin Immunol*. 2020; 146(1): 110-118. doi: 10.1016/j.jaci.2020.04.006
6. Richardson S, Hirsch JS, Narasimhan M, Crawford JM, McGinn T, Davidson KW, et al. Presenting characteristics, comorbidities, and outcomes among 5700 patients hospitalized with COVID-19 in the New York city area. *JAMA*. 2020; 323(20): 2052-2059. doi: 10.1001/jama.2020.6775
7. Cheng VCC, Hung IFN, Tang BSF, Chu CM, Wong MML, Chan KH, et al. Viral replication in the nasopharynx is associated with diarrhea in patients with severe acute respiratory syndrome. *Clin Infect Dis*. 2004; 38(4): 467-475. doi: 10.1086/382681
8. Hung IFN, Cheng VCC, Wu AKL, Tang BSF, Chan KH, Chu CM, et al. Viral loads in clinical specimens and SARS manifestations. *Emerg Infect Dis*. 2004; 10(9): 1550-1557. doi: 10.3201/eid1009.040058
9. To KKW, Tsang OTY, Leung WS, Tam AR, Wu TC, Lung DC, et al. Temporal profiles of viral load in posterior oropharyngeal saliva samples and serum antibody responses during infection by SARS-CoV-2: an observational cohort study. *Lancet Infect Dis*. 2020; 20(5): 565-574. doi: 10.1016/S1473-3099(20)30196-1
10. Xu K, Chen Y, Yuan J, Yi P, Ding C, Wu W, et al. Factors associated with prolonged viral RNA shedding in patients with coronavirus disease 2019 (COVID-19). *Clin Infect Dis*. 2020; 71(15): 799-806. doi: 10.1093/cid/ciaa351
11. He X, Lau EHY, Wu P, Deng X, Wang J, Hao X, et al. Temporal dynamics in viral shedding and transmissibility of COVID-19. *Nat Med*. 2020; 26(5): 672-675. doi: 10.1038/s41591-020-0869-5
12. Wu JT, Leung K, Bushman M, Kishore N, Niehus R, de Salazar PM, et al. Estimating clinical severity of COVID-19 from the transmission dynamics in Wuhan, China. *Nat Med*. 2020; 26(4): 506-510. doi: 10.1038/s41591-020-0822-7
13. Guan W, Ni Z, Hu Y, Liang W, Ou C, He J, et al. Clinical characteristics of coronavirus disease 2019 in China. *N Engl J Med*. 2020; 382(18): 1708-1720. doi: 10.1056/NEJMoa2002032
14. Fajnzylber J, Regan J, Coxen K, Corry H, Wong C, Rosenthal A, et al. SARS-CoV-2 viral load is associated with increased disease severity and mortality. *Nat Commun*. 2020; 11(1): 1-9. doi: 10.1038/s41467-020-19057-5
15. Das M, Chu PL, Santos GM, Scheer S, Vittinghoff E, McFarland W, et al. Decreases in community viral load are accompanied by reductions in new HIV infections in San Francisco. *PLoS One*. 2010; 5(6): e11068. doi: 10.1371/journal.pone.0011068
16. Tang YW, Schmitz JE, Persing DH, Stratton CW. Laboratory diagnosis of COVID-19: Current issues and challenges. *J Clin Microbiol*. 2020; 58(6): e00512-e00520. doi: 10.1128/JCM.00512-20
17. Tom MR, Mina MJ. To interpret the SARS-CoV-2 test, consider the cycle threshold value. *Clin Infect Dis*. 2020; 71(16): 2252-2254. doi: 10.1093/cid/ciaa619

Сведения об авторах

Орлова Елизавета Андреевна – младший научный сотрудник лаборатории эпидемиологически и социально-значимых инфекций, аспирант, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», e-mail: elizaveta.a.orlova@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0003-2169-0242>

Огарков Олег Борисович – доктор медицинских наук, заведующий отделом эпидемиологии и микробиологии, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», e-mail: obogarkov@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-3168-1983>

Жданова Светлана Николаевна – доктор медицинских наук, старший научный сотрудник лаборатории эпидемиологически и социально-значимых инфекций, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», e-mail: svetnii@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-7160-9700>

Хромова Полина Андреевна – младший научный сотрудник лаборатории эпидемиологически и социально-значимых инфекций, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», e-mail: polina.and38@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-6449-5060>

Синьков Вячеслав Владимирович – кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник лаборатории эпидемиологически и социально-значимых инфекций, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», e-mail: vsinkov@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0003-3396-9590>

Хаснатинов Максим Анатольевич – доктор биологических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории трансмиссивных инфекций, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», e-mail: khasnatinov@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-8441-3640>

Рычкова Любовь Владимировна – доктор медицинских наук, член-корреспондент РАН, профессор РАН, директор, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», e-mail: iph@sbamsr.irk.ru, <https://orcid.org/0000-0002-0117-2563>

Колесникова Любовь Ильинична – доктор медицинских наук, профессор, академик РАН, научный руководитель, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», e-mail: iph@sbamsr.irk.ru, <https://orcid.org/0000-0003-3354-2992>

Information about the authors

Elizaveta A. Orlova – Junior Research Officer at the Laboratory of Epidemic and Socially Significant Infections, Postgraduate, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems, e-mail: elizaveta.a.orlova@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0003-2169-0242>

Oleg B. Ogarkov – Dr. Sc. (Med.), Head of the Department of Epidemiology and Microbiology, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems, e-mail: obogarkov@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-3168-1983>

Svetlana N. Zhdanova – Dr. Sc. (Med.), Senior Research Officer at the Laboratory of Epidemic and Socially Significant Infections, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems, e-mail: svetnii@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-7160-9700>

Polina A. Khromova – Junior Research Officer at the Laboratory of Epidemic and Socially Significant Infections, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems, e-mail: polina.and38@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-6449-5060>

Vyacheslav V. Sinkov – Cand. Sc. (Med.), Senior Research Officer at the Laboratory of Epidemic and Socially Significant Infections, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems, e-mail: vsinkov@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0003-3396-9590>

Maksim A. Khasnatinov – Dr. Sc. (Biol.), Leading Research Officer at the Laboratory of Arthropod-Borne Infections, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems, e-mail: khasnatinov@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-8441-3640>

Lyubov V. Rychkova – Dr. Sc. (Med.), Corresponding Member of the RAS, Professor of the RAS, Director, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems, e-mail: iphr@sbamsr.irk.ru, <https://orcid.org/0000-0002-0117-2563>

Lyubov I. Kolesnikova – Dr. Sc. (Med.), Professor, Academician of the RAS, Scientific Advisor, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems, e-mail: iphr@sbamsr.irk.ru, <https://orcid.org/0000-0003-3354-2992>

Статья получена: 09.02.2021. Статья принята: 17.02.2021. Статья опубликована: 26.02.2021.

Received: 09.02.2021. Accepted: 17.02.2021. Published: 26.02.2021.