

ЗАВИСИМОСТЬ ДИАГНОСТИЧЕСКОЙ ИНФОРМАТИВНОСТИ АЛГОРИТМОВ ПРОГНОЗА ТЕЧЕНИЯ COVID-19 ОТ СМЕНЫ ГЕНОВАРИАНТА SARS-COV-2

З.Р. Коробова^{1,2}, Н.А. Арсентьева^{1,2}, А.А. Тотолян^{1,2}

¹Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Пастера,
г. Санкт-Петербург, Россия

²Первый Санкт-Петербургский медицинский университет им. акад. И.П. Павлова г. Санкт-Петербург, Россия

Резюме

Пандемия COVID-19 стала серьезным вызовом для систем здравоохранения во всем мире, потребовав быстрой разработки диагностических и лечебных протоколов. В условиях высокой нагрузки на медицинские учреждения критически важным было своевременное выявление пациентов с высоким риском тяжелого течения заболевания и осложнений. Для этого учеными по всему миру разрабатывались различные алгоритмы стратификации риска, учитывающие не только клинико-лабораторные маркеры, коморбидный фон и демографические факторы, но и ключевые иммунологические показатели, такие как уровень цитокинов. В исследование вошли 289 пациентов с подтвержденным диагнозом «U07.2 — Коронавирусная инфекция COVID-19». У данных пациентов методом мультиплексного анализа оценивали широкий спектр иммунологических маркеров: интерлейкинов (IL-1α, IL-6, IL-10, IL-17A и др.), интерферонов (IFNα2, IFNγ), факторов некроза опухоли (TNFα, TNFβ), хемокинов (CCL2/MCP-1, CXCL10/IP-10 и др.) и ростовых факторов (G-CSF, VEGF-A и др.). Больные были инфицированы следующими геновариантами SARS-CoV-2: оригинальный «Уханьский» штамм (n=56), и вариантами Альфа (B.1.1.7, n=95), Дельта (B.1.617.2, n=78), Омикрон (B.1.1.529, n=57). Для апробации были выбраны два диагностических алгоритма — для определения тяжести течения заболевания и для определения исхода у пациентов в острой фазе COVID-19. Первый алгоритм, взятый из литературы, включал в себя одномоментное определение IL-6 и IL-8 в плазме крови для выделения пациентов с легким и тяжелым течением заболевания. При проверке статистически значимых различий в значении точности между четырьмя геновариантами с применением критерия χ^2 мы получили значимые различия между точностью алгоритмов ($p=0,0065$) в зависимости от геноварианта вируса у пациента. Предиктивная способность демонстрировала тенденцию к снижению по мере изменчивости вируса. Второй алгоритм, разработанный авторами, основан на совместном определении двух цитокинов IL-18 и IL-6 для оценки исхода COVID-19. Применение критерия χ^2 вновь показало различия в точности в зависимости от геноварианта ($p<0,0001$). Несмотря на значительный объем накопленных данных, использование цитокинового профиля для прогнозирования тяжести COVID-19, его исхода и осложнений, остаётся ограниченным. Основные сложности связаны с высокой изменчивостью вируса, ведь каждый новый геновариант формирует уникальный иммунный ответ, что снижает точность ранее разработанных прогностических моделей.

Ключевые слова: COVID-19, цитокины, IL-6, IL-8, IL-18, летальный исход, тяжелое течение, геноварианты SARS-CoV-2.

DOI: 10.58953/15621790_2025_16_1-2_7

DEPENDENCE OF DIAGNOSTIC ACCURACY OF ALGORITHMS FOR COVID-19 PROGRESSION ON SARS-COV-2 VARIANT SHIFT

Z. Korobova^{1,2}, N. Arsentieva^{1,2}, A. Totolian^{1,2}

¹Saint Petersburg Pasteur Institute, Saint Petersburg, Russia

²First Saint Petersburg Pavlov University, Saint Petersburg, Russia

Summary

The COVID-19 pandemic posed a major challenge to global healthcare systems, demanding rapid development of diagnostic and treatment protocols. Amid overwhelming hospital admissions, timely identification of high-risk patients was critical. Researchers worldwide developed risk stratification algorithms incorporating clinical, laboratory, demographic, and comorbidity data, along with key immunological markers like cytokine levels. This study included 289 patients with confirmed COVID-19 (U07.2). Multiplex analysis assessed a broad panel of immune markers: interleukins (IL-1α, IL-6,

IL-10, IL-17A), interferons (IFN α 2, IFN γ), tumor necrosis factors (TNF α , TNF β), chemokines (CCL2/MCP-1, CXCL10/IP-10), and growth factors (G-CSF, VEGF-A). Participants were infected with distinct SARS-CoV-2 variants: original Wuhan strain (n=56), Alpha (B.1.1.7, n=95), Delta (B.1.617.2, n=78), and Omicron (B.1.1.529, n=57). Two diagnostic algorithms were tested: disease severity classification (based on single-timepoint IL-6/IL-8 levels). Chi-square tests revealed significant accuracy variations across variants (p=0.0065), with predictive power declining as viral mutations accumulated; and outcome prediction (using combined IL-18/IL-6 levels). Again, accuracy differed significantly by variant (p<0.0001). Despite extensive data, cytokine-based prognostic models face limitations. Viral evolution drives unique immune responses, reducing the reliability of existing algorithms. Thus, continuous refinement is essential to address SARS-CoV-2's variability.

Keywords: COVID-19, cytokines IL-6, IL-8, IL-18, lethal outcome, severe course, SARS-CoV-2 gene variants.

Введение

Пандемия COVID-19 стала серьезным вызовом для систем здравоохранения во всём мире, потребовав быстрой адаптации диагностических и лечебных протоколов. В условиях высокой нагрузки на медицинские учреждения критически важным было своевременное выявление пациентов с высоким риском тяжелого течения заболевания и осложнений. Для этого учеными по всему миру разрабатывались различные алгоритмы стратификации риска, учитывающие не только клинико-лабораторные маркёры, коморбидный фон и демографические факторы, но и ключевые иммунологические показатели, такие, как уровень цитокинов, субпопуляции лимфоцитов и маркёры системного воспаления.

Особую роль в патогенезе тяжёлых форм COVID-19 играют нарушения иммунной регуляции, в частности, гипервоспалительный ответ и «цитокиновый шторм», приводящие к полиорганной недостаточности [1]. Это подчеркивает важность оценки именно иммунологических маркёров в прогностических моделях. Однако вирус SARS-CoV-2 продолжает эволюционировать, что влияет не только на его контагиозность, но и на характер взаимодействия с иммунной системой человека. Новые штаммы могут изменять паттерны иммунного ответа, что требует пересмотра ранее установленных прогностических критериев [2–4].

В связи с этим актуальным остается изучение диагностической и прогностической значимости иммунологических параметров, предложенных в разные периоды пандемии. Комплексный анализ их динамики в условиях циркуляции новых вариантов вируса позволит уточнить алгоритмы стратификации риска, оптимизировать терапию и профилактику осложнений. Это особенно важно для своевременного выявления пациентов, склонных к чрезмерному воспалительному ответу, и персонализации подходов к терапии, что в конечном итоге повысит эффективность медицинской помощи и снизит нагрузку на систему здравоохранения.

Целью данной работы стала апробация алгоритмов прогнозирования тяжести и исхода COVID-19, вызванного Уханьским штаммом, и оценка их диагностической

информативности при инфекции, вызванной другими геновариантами SARS-CoV-2 Альфа (B.1.1.7), Дельта (B.1.617.2) и Омикрон (B.1.1.529).

Материалы и методы

Биологический материал был получен от пациентов, проходивших лечение в ФГБУ «СЗОНКЦ им. Л. Г. Соколова ФМБА России» и ПСПбГМУ им. акад. И. П. Павлова с подтвержденным диагнозом «U07.2 — Коронавирусная инфекция COVID-19».

В исследование вошли 289 пациентов, из которых 60% (n=174) составили женщины и 40% (n=115) — мужчины, медиана возраста 70 лет (Q25–Q75: 32–84). Диагноз COVID-19 был верифицирован детекцией РНК SARS-CoV-2 методом ПЦР (COVID-19 Amp, Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Пастера, Санкт-Петербург, Россия). Для генотипирования вируса при поступлении в стационар собирали назофарингеальные мазки, которые хранились в транспортной среде при –20 °C до анализа. Среди выявленных геновариантов SARS-CoV-2: оригинальный «Уханьский» штамм (n=56), и геноварианты Альфа (B.1.1.7, n=95), Дельта (B.1.617.2, n=78), Омикрон (B.1.1.529, n=57). В зависимости от тяжести течения заболевания пациенты были разделены на группы: среднетяжелое течение (47%, n=137) и тяжелое течение (52%, n=109), летальный исход — в 91 случае. Важно отметить, что среди инфицированных геновариантом Омикрон не было пациентов с летальным исходом.

Цитокиновый профиль плазмы крови анализировали с помощью мультиплексной системы Milliplex MAP (Millipore, США) на основе технологии Luminex xMAP. Исследование включало определение широкого спектра иммунологических маркёров: интерлейкинов (IL-1 α , IL-6, IL-10, IL-17A и др.), интерферонов (IFN α 2, IFN γ), факторов некроза опухоли (TNF α , TNF β), хемокинов (CCL2/MCP-1, CXCL10/IP-10 и др.) и ростовых факторов (G-CSF, VEGF-A и др.) с использованием набора Milliplex HCYTA-60K-PX48 (Merck-Millipore, США). Протокол анализа включал инкубацию образцов с магнитными микросферами, последующую детекцию

Рисунок 1.
Алгоритм определения тяжести COVID-19 на основании концентраций IL-6 и IL-8 в плазме крови у больных в острой фазе. Адаптировано из [6]

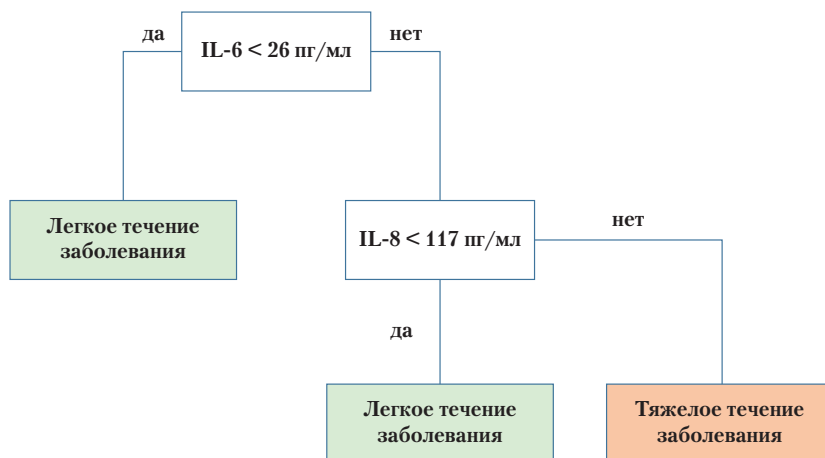
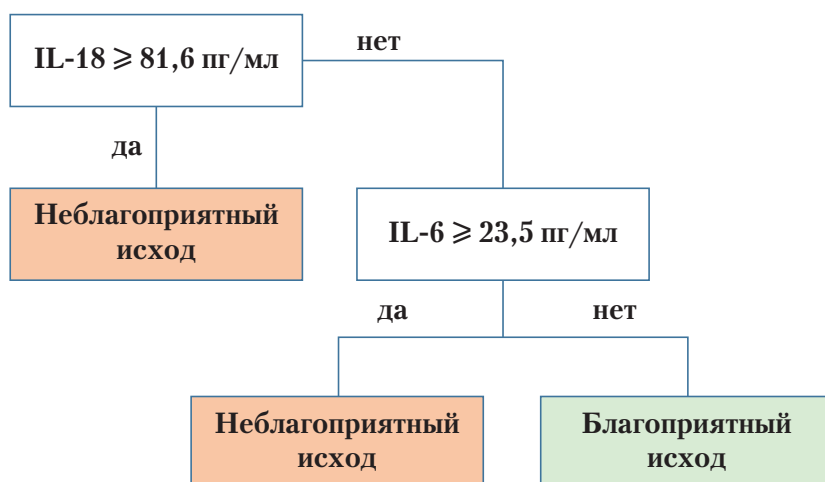


Рисунок 2.
Алгоритм определения исхода COVID-19 на основании концентраций IL-18 и IL-6 в плазме крови у больных в острой фазе. Адаптировано из [7]



с использованием стрептавидин-фикоэритрина и считывание сигнала на анализаторе Luminex.

Исследование проводилось в соответствии с принципами Хельсинкской декларации и российскими нормативными документами, включая «Правила надлежащей клинической практики» (Приказ Минздрава РФ № 200н от 01.04.2016). Все пациенты предоставили информированное согласие, а протокол исследования был одобрен Локальным этическим комитетом Института Пастера (заключение № 67 от 27.04.2021). Генотипирование SARS-CoV-2 выполнялось методом полногеномного секвенирования на платформе Illumina MiSeq (Illumina Inc., США).

«=ЕСЛИ(И(B2<=26; C2<=117); «mild»; ЕСЛИ(И(B2>26; C2>117); «severe»; «mild»))» — для оценки тяжести течения; «=ЕСЛИ(И(D2=«severe»; A2=«severe»); «Сработало»; «Не сработало»))» — для проверки прогнозируемого и полученного результатов.

Для апробации были выбраны два диагностических алгоритма — для определения тяжести течения заболевания [6] и для определения исхода [7] у пациентов в острой фазе COVID-19. Первый алгоритм опубликован Sabago и соавт. в 2021 году (Рис. 1).

Второй алгоритм, персонализированный подход для определения исхода заболевания, был опубликован нашим научным коллективом в 2022 году, но в его основу легли данные о пациентах первой волны COVID-19 (Рис. 2).

Для оценки информативности выстраивали матрицу ошибок (confusion matrix) с целью определения совпадения реальных и ожидаемых результатов. Далее рассчитывали ключевые метрики: чувствительность, специфичность, точность, положительная и отрицательная прогностическая ценность [8].

В случае, если алгоритм показывал чувствительность, специфичность и точность прогноза выше 80%, считалось, что его клиническая значимость достаточна. Для оценки значимости различий между вариантами применялся критерий χ^2 .

Расчет статистических данных производился в программах Excel 2016 (Microsoft, США), Graphpad Prism (Dotmatics, США) и среде R Studio (Posit, США).

Результаты и обсуждение

Первый диагностический алгоритм был опубликован в 2021 году и включал в себя одномоментное определение IL-6 и IL-8 в плазме для классификации пациентов на легкое и тяжёлое течение. Авторами показано, что при легком течении концентрации IL-6 не превышают 26 пг/мл, а IL-8—117 пг/мл. В случае, если у пациента концентрация IL-6 более 26 пг/мл, а IL-8 — более 117 пг/мл, говорят о тяжелом COVID-19. Исследование проводили методом мультиплексного анализа по технологии xMAP (Luminex, США) с использованием наборов с магнитными частицами. Заявленная авторами чувствительность составила 94%, а специфичность — 97%. Точность прогноза составила 96%.

Для проверки данного алгоритма в Excel мы использовали следующие формулы:

Таблица 1.

Ключевые метрики предиктивной силы алгоритма по определению тяжести течения COVID-19 на основании уровней IL-6 и IL-8 в плазме крови

	Оригинальный «Уханьский» штамм, n=56	Вариант Альфа, n=95	Вариант Дельта, n=78	Вариант Омикрон, n=57
Истинные результаты	45	58	38	33
Истинно положительные	25	32	20	8
Истинно отрицательные	20	26	19	25
Ложные результаты	11	37	40	24
Ложноположительные	6	16	31	7
Ложноотрицательные	5	21	9	17
Чувствительность	83%	60%	68%	32%
Специфичность	80%	61%	38%	78%
Положительная прогностическая ценность	81%	66%	39%	53%
Отрицательная прогностическая ценность	80%	55%	68%	59%
Точность	80%	61%	49%	58%
Клиническая значимость?	Да	Нет	Нет	Нет

Результаты апробации алгоритма с учетом деления на геноварианты представлены в таблице 1.

При проверке алгоритма на независимой выборке пациентов, инфицированных Уханьским штаммом, в рамках данного исследования чувствительность составила 83%, специфичность — 80%, а точность прогноза — 80%. Отличия от заявленной авторами точности прогноза в 96% могут объясняться как различиями между обучающей выборкой и независимой выборкой, на которой проводилась апробация, так и использованием наборов разных производителей для определения цитокинов (Bio-Plex Multiplex Human Cytokine and Growth Factor Kits, Bio-Rad, США против Milliplex HCYTA-60K-PX48, Merck-Millipore, США). Однако ранее было показано, что для оценки содержания IL-6 и IL-8 в крови данные этих наборов сопоставимы, демонстрируют высокую воспроизводимость и сильные корреляционные взаимосвязи [9]. Для Уханьского штамма данный алгоритм всё равно сохранил клиническую значимость, в отличие от других геновариантов.

При проверке статистически значимых различий в значении точности между четырьмя геновариантами с применением критерия χ^2 , мы получили значимые различия между точностью алгоритмов ($\chi^2=12,3$ при критическом значении 7,81 для $\alpha=0,05$, $p=0,0065$) в зависимости от геноварианта. Крайне высокая точность прогноза для Уханьского штамма сделала наибольший вклад в χ^2 , а для вариантов Альфа и Дельта точность прогноза была ниже средней.

Полученные результаты демонстрируют значительное снижение предиктивной способности данной модели. Установлено, что для каждого геноварианта наблюдались свои особенности. При исследовании оригинального Уханьского штамма, результаты хоть и не совпали по метрикам с результатами авторов оригинальной статьи, всё же установлена клиническая значимость применения данного алгоритма. При варианте Альфа выявлены сбалансированные, но сниженные метрики, не превышающие 61%, при этом низкая отрицательная прогностическая ценность говорит о частой встречаемости ложноотрицательных результатов. Для варианта Дельта положительная прогностическая ценность составила всего 39,2% — это значит, что каждый второй «положительный» (т.е., прогноз тяжелого течения) ошибочен. Прогноз для варианта Омикрон обладал самой низкой чувствительностью, что, при острой инфекции, говорит о «пропуске» 68% случаев тяжелого течения инфекции.

Авторы алгоритма, впрочем, сами подчеркивают снижение его дискриминативной мощности и сообщают о том, что на пациентах, заболевших во «второй волне» COVID-19, машинное обучение показало значимость других показателей, и только IL-6 сохранил свое значение.

Второй алгоритм, опубликованный нашим авторским коллективом, необходим для определения исхода заболевания. С этой целью нами был применен классификационный метод построения деревьев решений [10]. Совместное определение двух цитокинов IL-18 и IL-6

оказалось наиболее эффективным для оценки исхода COVID-19. Чувствительность составила 94%, специфичность — 100%, а точность — 95%.

Перед началом терапии оценивается уровень IL-6 и IL-18 в крови пациента. На первом этапе проводится анализ концентрации IL-18: если она равна 81,6 пг/мл или выше, это указывает на вероятность летального исхода. Если же уровень IL-18 ниже указанного значения, переходят ко второму этапу, где измеряют концентрацию IL-6. При значении 23,5 пг/мл и выше также прогнозируется летальный исход, а если уровень IL-6 ниже, то есть вероятность выздоровления.

При проверке данного алгоритма в Excel мы использовали следующие формулы:

«=ЕСЛИ(ИЛИ(C2>81,6; И(C2<81,6; B2>23,5));»lethal»;»survivor»)» — для предсказания исхода, «=ЕСЛИ(И(D2=»lethal»; A2=»lethal»);»Сработало»;»Не сработало»)» — для проверки ожидаемого и фактического исхода.

Применение критерия χ^2 вновь показало различия в точности в зависимости от геноварианта ($p<0,0001$). Общий χ^2 составил 34,5 при критическом значении для $\alpha=0,05$ —5,99.

Согласно последним данным, клиническое течение COVID-19 существенно различается в зависимости от геноварианта вируса, что отражается на особенностях иммунного ответа и тяжести заболевания.

Уханьский штамм (Wuhan-Hu-1) ассоциируется с классическим «цитокиновым штормом», характеризующимся резким повышением провоспалительных цитокинов, таких как IL-6, IL-1 β и TNF- α [11]. Этот паттерн коррелировал с высокой частотой ост-

рого респираторного дистресс-синдрома (ОРДС) и полиорганной недостаточности в ранние периоды пандемии. Вариант Дельта продемонстрировал отличный от уханьского штамма цитокиновый профиль: у пациентов отмечался более выраженный рост содержания IP-10/CXCL10 и MCP-1/CCL-2 в периферической крови [12]. Эти хемокины играют ключевую роль в активации моноцитов и эндотелиальных клеток, что может объяснять более высокую частоту тромбозов и микрососудистых осложнений при данной инфекции. Вариант Омикрон, напротив, сопровождается менее выраженным системным воспалением, но более выраженной иммуносупрессией, что проявляется снижением уровней ключевых провоспалительных меди-

торов и повышением регуляторных цитокинов, таких как IL-10 [3]. Это может объяснять его меньшую вирулентность, но большую способность к уклонению от иммунного ответа.

Несмотря на значительный объём накопленных данных, использование цитокинового профиля для прогнозирования тяжести COVID-19, его исхода и осложнений, остается ограниченным. Основные сложности связаны с высокой изменчивостью вируса, ведь каждый новый геновариант формирует уникальный иммунный ответ, что снижает точность ранее разработанных прогностических моделей. Вдобавок, на уровни цитокинов влияют не только вирусные факторы, но

Таблица 2.

Ключевые метрики предиктивной силы алгоритма по определению исхода COVID-19 на основании уровней IL-6 и IL-18 в плазме крови

	Оригинальный «Уханьский» штамм, n=56	Вариант Альфа, n=95	Вариант Дельта, n=78
Истинные результаты	55	52	44
Истинно положительные	15	36	24
Истинно отрицательные	40	16	20
Ложные результаты	1	43	34
Ложноположительные	0	31	31
Ложноотрицательные	1	12	3
Чувствительность	94%	75%	88%
Специфичность	100%	34%	40%
Положительная прогностическая ценность	100%	54%	44%
Отрицательная прогностическая ценность	97,6%	57%	87%
Точность	98,2%	55%	56%
Клиническая значимость?	Да	Нет	Нет

и генетические особенности пациента, коморбидный фон и предшествующий иммунный статус [13]. Уровень цитокинов в плазме меняется в зависимости от фазы инфекции, от применяемой терапии и наличия ко-инфекций [14].

Таким образом, определение цитокинов сохраняет свою ценность для понимания патогенеза COVID-19, а их использование в качестве универсальных прогностических биомаркёров сохраняет свою диагностическую значимость. Однако для улучшения информативности данных показателей требуется учитывать фактор геноварианта SARS-CoV-2.

Список литературы

1. Zanza C., Romenskaya T., Manetti A. et al. Cytokine Storm in COVID-19: Immunopathogenesis and Therapy // *Medicina (Kaunas)*. 2022 Jan 18;58(2):144 DOI: 10.3390/medicina58020144.
2. Torbati E., Krause K., Ussher J. The Immune Response to SARS-CoV-2 and Variants of Concern // *Viruses*. 2021 Sep 23;13(10):1911. DOI: 10.3390/v13101911.
3. Korobova Z.R., Arsentieva N.A., Liubimova N.E. et al. Cytokine Profiling in Different SARS-CoV-2 Genetic Variants // *Int J Mol Sci*. 2022 Nov 16;23(22):14146. DOI: 10.3390/ijms232214146.
4. Korobova Z.R., Arsentieva N.A., Liubimova N.E. et al. A Comparative Study of the Plasma Chemokine Profile in COVID-19 Patients Infected with Different SARS-CoV-2 Variants // *Int J Mol Sci*. 2022 Aug 13;23(16):9058. DOI: 10.3390/ijms23169058
5. Коробова З.Р., Любимова Н.Е., Арсентьева Н.А. и др. Лабораторные показатели крови при COVID-19 и их взаимосвязь с геновариантом вируса // *Инфекция и иммунитет*. – 2024. – Т. 14. – № 3. – С. 429–436. DOI: 10.15789/2220-7619-LBM-16765
6. Cabaro S., D'Esposito V., Di Matola T. et al. Cytokine signature and COVID-19 prediction models in the two waves of pandemics // *Sci Rep*. 2021 Oct 21;11(1):20793. DOI: 10.1038/s41598-021-00190-0.
7. Арсентьева Н.А., Любимова Н.Е., Вацунов О.К. и др. Прогнозная значимость специфических цитокинов в отношении летального исхода COVID-19 // *Инфекция и иммунитет*. 2022. Т. 12, № 5. С. 859–868. DOI: 10.15789/2220-7619-PVO-2043.
8. Бояркин А.В., Потапов А.Л.. Методология оценки информационной значимости диагностических тестов в анестезиологии и реаниматологии // *Вестн. анестезиол. и реаниматол.* – 2015. – Т. 12. С. 71–75. DOI: 10.21292/2078-5658-2015-12-5-71-75.
9. de Jager W., Velthuis H., Prakken B. et al. Simultaneous detection of 15 human cytokines in a single sample of stimulated peripheral blood mononuclear cells // *Clin. Diagn. Lab. Immunol.* – 2003. – Vol. 10. – P. 133–139. DOI: 10.1128/cdli.10.1.133-139.2003.
10. Robillard J., Jun J., Lai J., Feng T. The QUEST for quality online health information: validation of a short quantitative tool // *BMC Med Inform Decis Mak*. 2018 Oct 19;18(1):87. DOI: 10.1186/s12911-018-0668-9.
11. Carabelli A., Peacock T., Thorne L. et al. SARS-CoV-2 variant biology: immune escape, transmission and fitness // *Nat. Rev. Microbiol.* – 2023. – Vol. 21. – P. 162–177. DOI: 10.1038/s41579-022-00841-7.
12. Krivosova M., Hanusrichterova J., Lucansky V. et al. Comparative Study of Cytokine Profiles in SARS-CoV-2 Delta and Omicron Variants // *Bratisl. Med. J.* – 2025. – Vol. 126. – P. 286–298. DOI: 10.1007/s44411-024-00010-7.
13. Mallick S., Duttaroy A., Bose B. A Snapshot of Cytokine Dynamics: A Fine Balance Between Health and Disease // *J Cell Biochem*. 2025 Jan;126(1): e30680.. DOI: 10.1002/jcb.30680.
14. Ghaffarpour S., Ghazanfari T., Ardestani S. et al. Cytokine profiles dynamics in COVID-19 patients: a longitudinal analysis of disease severity and outcomes // *Sci Rep*. 2025 Apr 23;15(1):14209. DOI: 10.1038/s41598-025-98505-y.