Федеральное государственное автономное образовательное учреждение
высшего образования Российской Федерации
«Крымский федеральный университет имени В.И. Вернадского»
Институт «Медицинская академия имени С.И. Георгиевского»
Центральная научно-исследовательская лаборатория

Научно-исследовательская работа на тему:

«ОСОБЕННОСТИ ПАНДЕМИИ COVID-19 В КРЫМУ И ЕЁ ВЛИЯНИЕ НА ЗАБОЛЕВАЕМОСТЬ ХИРУРГИЧЕСКОЙ ПАТОЛОГИЕЙ ЩИТОВИДНОЙ ЖЕЛЕЗЫ»

ретроспективное клиническое исследование
по специальности 14.03.03 – патологическая физиология

Исполнитель:
студентка 6 курса
1 медицинского факультета
Максимова Полина Евгеньевна

Симферополь, 2022

СОДЕРЖАНИЕ

ПЕРЕЧЕНЬ УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ И СОКРАЩЕНИЙ 3

ВВЕДЕНИЕ 4

ГЛАВА 1. ПАНДЕМИЯ COVID-19: ТЕХНОЛОГИЧЕСКИЕ РАЗРАБОТКИ В ОПЕРАТИВНОЙ ДИАГНОСТИКЕ, ОЦЕНКА ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКОЙ СИТУАЦИИ И КОМПЛЕКСНОЙ ИММУННОЙ ЗАЩИТЫ, А ТАКЖЕ ВЛИЯНИЕ ПАНДЕМИИ НА ЗАБОЛЕВАМОСТЬ ЩИТОВИДНОЙ ЖЕЛЕЗЫ (**ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ**) 8

ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ 13

ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ 16

3.1. Эпидемиологические особенности новой коронавирусной инфекции в Республике Крым по данным ПЦР-тестирования лаборатории молекулярной биологии ЦНИЛ 16

3.2. Производственно-организационные решения в медицинской лабораторной практике Центральной научно-исследовательской лаборатории (ЦНИЛ) 20

3.3. Клеточный и гуморальный иммунитет при COVID-19 22

3.4. Влияние пандемии COVID-19 на хирургию щитовидной железы27

ВЫВОДЫ 34

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ 36

ПЕРЕЧЕНЬ УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ И СОКРАЩЕНИЙ

COVID-19 – новая коронавирусная инфекция

ИФА – иммуноферментный анализ

ТАПБ – тонкоигольная аспирационная пункционная биопсия

ПЦР – полимеразная цепная реакция

T_3 –трийодтиронин

T_4 – тетрайодтиронин

ЦНИЛ – Центральная научно-исследовательская лаборатория

ВОЗ – Всемирная Организация Здравоохранения

КЛД – клиническая лабораторная диагностика

ОРВИ – острая респираторная вирусная инфекция

ОТ-ПЦР – полимерная цепная реакция с обратной транскрипцией

АГ-1 – Антиген 1

АГ-2 – Антиген 2

p – достоверность статистического показателя

IGRA ELISPOT -Interferon GammaReleaseAssay, Enzyme-LinkedSPOTanalysis

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы исследования. Пандемия COVID-19 стала бременем для общественного здравоохранения мира. Страны пережили пандемию COVID-19 по-разному, Всемирная Организация Здравоохранения по состоянию на 31.07.2022 публикует данные о статистике заболеваемости и смертности, где место Российской Федерации среди европейских стран сопоставимо с соседними государствами, аналогичная ситуация наблюдалась и в Республике Крым среди субъектов РФ. Во всех странах на фоне пандемии возник приоритет экстренной помощи с приостановлением плановых обследований и программ скрининга, хирургической деятельности. Постепенно эта диагностическая работа и хирургия возобновились, а врачи столкнулись с непривычной структурой заболеваемости. Пандемия повлияла на патоморфоз заболеваний не только исходя из экономико-социальных причин, но и патофизиологическим воздействием инфекционного процесса и его лекарственной терапии, стрессом, изменением образа жизни, иммунодепрессией, что особенно актуально для онкологических пациентов. Пандемия COVID-19 потребовала мобилизации лабораторной службы в разработке методов для совершенствования диагностики SARS-COV-2 и оценке восприимчивости населения для прогнозирования и анализа эпидемиологической ситуации. В Республике Крым в наиболее сложный период пандемии (с июня 2020 по февраль 2022 года) применена преимущественно централизованная модель ПЦР-тестирования с маршрутизацией большинства проб в лабораторию молекулярной биологии ЦНИЛ Института «Медицинская академия им. С.И. Георгиевского» КФУ. Это 50-75% всех тестов в Республике Крым. ПЦР-тестирования выполняются Центральной научной исследовательской лабораторией с начала пандемии, с получением точного и своевременного результата в первые сутки. Такая преимущественная централизация показала свою эффективность за счет высокой скорости работы, оптимальной логистики и высоких требований к качеству в университетской лаборатории. Потребовался поиск множества организационно-технологических решений, которые были разработаны и внедрены в практику благодаря разработке технологической

карты, повысившей продуктивность лаборатории в 5 раз при сохранении ключевых показателей скорости и качества. Работа с большими объемами тестов дала возможность анализа эпидемиологической ситуации, выявившего ряд закономерностей, наряду с лабораторной оценкой естественного, поствакцинального и гибридного иммунитета у населения.

Также в связи со спецификой влияния вируса на заболеваемость патологией щитовидной железы, и в связи со специализацией деятельности лаборатории по предоперационной диагностике хирургической патологии данного органа, мы были приглашены в мультицентровое мировое исследование ученых из университета Кальяри, Италия. Нами был выполнен ретроспективный анализ заболеваемости и выявлен ряд закономерностей, имеющих практическое значение.

Результатам данных направлений деятельности лаборатории за период 2,5 лет посвящена представленная работа.

В связи с этим, **цель исследования** – изучить особенности пандемии COVID-19 в Республике Крым и взаимосвязь между пандемией и хирургической патологией щитовидной железы.

Для достижения поставленной цели решали следующие **задачи**:

1. Оценить уровень заболеваемости населения Республики Крым SARS-COV-2 на протяжении периода пандемии.

2. Разработать технологические решения для повышения эффективности диагностики в лабораториях Республики Крым.

3. Оценить уровень иммунитета у жителей Республики Крым к SARS-COV-2 в разные этапы периода пандемии и вакцинации.

4. Оценить влияние пандемии SARS-COV-2 на заболеваемость хирургической патологией щитовидной железы.

Новизна исследования. С момента начала выполнения Центральной научно-исследовательской лаборатории ПЦР-тестирований для диагностики SARS-COV-2, требовалось найти решение, позволившее повысить продуктивность лаборатории. В связи с этим была разработана уникальная технологическая карта. Благодаря данной технологической разработке лаборатория могла проводить до 5000 исследований за

сутки, своевременно оценивать и выдавать результаты ПЦР-тестов, а также отсылать отчетные формы контролирующим организациям для последующей быстрой оценки эпидемиологической ситуации и принятия мер по предотвращению распространения коронавирусной инфекции в Республике Крым. Разработанное технологическое решение играет важную роль в повышении эффективности лаборатории в условиях нехватки ключевых ресурсов (таких как специалисты, время, финансы, приборы, реагенты), позволяет максимально использовать ресурсы помещений, оборудования, медицинского персонала и эффективно вписать технологию ПЦР-диагностики в 12-часовую рабочую смену с соблюдением требований дезинфекционного режима и законодательства о труде.

Впервые проведен анализ заболеваемости новой коронавирусной инфекцийв Крыму и формированию иммунного ответа на основании показателей гуморального и клеточного иммунитета в сравнении. А также впервые была проанализирована эффективность различных способов исследования специфического естественного, поствакцинального и гибридного иммунитета у жителей Республики Крым.

Впервые был проведен анализ влияния пандемии COVID-19 в Крыму на хирургические аспекты заболеваний щитовидной железы.

Практическая значимость работы.

1. Благодаря проведению диагностики большей части населения Республики Крым, на основании ежедневных и еженедельных отчетных формах по ПЦР- и ИФА-тестированию, были проанализированы основные эпидемиологические особенности распространения вирусной инфекции и становления коллективного иммунитета у перенесших инфекцию в результате естественной иммунизации и у привитых вакциной «Гам-Ковид-Вак» (искусственная иммунизация) за период лето 2020 г.-февраль 2022г.

2. Обработка статистических данных по выявляемости вируса среди разных категорий заболевших является ценной информацией для оценки эффективности естественной и искусственной иммунизации и получения данных для контроля пандемии в будущем.

3. Полученные результаты позволили оценить в динамике процессы влияния пандемии COVID-19 на развитие заболеваний щитовидной железы.

4. Полученные результаты могут служить основой для дальнейшего изучения, разработки и внедрения в клиническую практику методов профилактики патологии щитовидной железы.

Апробация результатов. Результаты исследований доложены на Алмазовском Молодежном Медицинском Форуме, г.Санкт-Петербург (12-15 мая 2021 г.) с сообщением на тему: «Эпидемиологические особенности коронавирусной инфекции в Республике Крым по данным ПЦР-тестирования и ИФА-диагностики Лаборатории молекулярной биологии ЦНИЛ» (1 место); Международном медицинском форуме «Эстафета Вузовской науки-2022», г. Москва (28-29 апреля 2022) с проектом на тему: «Технологические диагностические решения для защиты от пандемии COVID-19 в Крыму» (1 место); Всероссийской научно-практической конференции с международным участием, посвященной 90-летию со дня основания Медицинского Вуза в Крыму «Теоретические и практические аспекты современной медицины» (Симферополь, 15 апреля 2021 года) с докладом: «Эпидемиологические особенности новой коронавирусной инфекции в Республике Крым по данным ПЦР-тестирования лаборатории молекулярной биологии ЦНИЛ» (3 место); IX медицинском конгрессе «Актуальные вопросы врачебной практики» (6–9 сентября 2022 г., Республика Крым, г. Ялта) с докладом: «Клеточный и гуморальный иммунитет при COVID-19».

Публикации. По материалам исследовательской работы опубликовано 5 работ, из них 3 – статьи в журналах и сборниках, цитируемых в РИНЦ, 1 – ВАК.

Объем и структура работы. Исследовательская работа выполнена по общепринятому для научных работ плану и состоит из введения, обзора литературы, материалов и методов исследования, раздела собственных исследований, выводов, списка использованных литературных источников. Библиографический перечень содержит 38 наименований работ. Текст иллюстрирован 4 таблицами и 8 рисунками.

ГЛАВА 1

ПАНДЕМИЯ COVID-19: ТЕХНОЛОГИЧЕСКИЕ РАЗРАБОТКИ В ОПЕРАТИВНОЙ ДИАГНОСТИКЕ, ОЦЕНКА ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКОЙ СИТУАЦИИ И КОМПЛЕКСНОЙ ИММУННОЙ ЗАЩИТЫ, А ТАКЖЕ ВЛИЯНИЕ ПАНДЕМИИ НА ЗАБОЛЕВАМОСТЬ ЩИТОВИДНОЙ ЖЕЛЕЗЫ (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ)

Коронавирусная инфекция является глобальной медико-социальной проблемой, обусловленной быстрым повсеместным распространением вируса, высоким уровнем развития осложнений и смертельных исходов. Коронавирусная инфекция COVID-19 – острое респираторное заболевание с преимущественно аэрозольным механизмом передачи. Заболевание часто протекает в бессимптомной форме, что может способствовать его распространению. При этом наиболее частым осложнением является развитие пневмонии с отсутствием или наличием острой дыхательной недостаточности и респираторного дистресс-синдрома, зачастую приводящех к летальному исходу [1–5]. Данные характеристики заболевания, наряду с практически полным отсутствием иммунитета у населения всего мира (до начала массового распространения), позволили коронавирусу SARS-CoV-2 беспрепятственно распространиться во всех странах. Так, впервые выявленный в декабре 2019 г. коронавирус SARS-CoV-2 в Китайской Народной Республике в городе Ухань [6, 7] уже в феврале – марте 2020 г. стал регистрироваться в других странах земного шара с дальнейшим быстрым распространением среди населения [8–11], в связи с чем генеральный директор ВОЗ охарактеризовал ситуацию с COVID-19 как пандемию [12]. По данным ВОЗ, на начало сентября 2020 г. случаи заболевания COVID-19 зарегистрированы в 216 странах: всего в мире заболели 27 417 497 человек, умер 894 241 человек, показатель летальности составил 3,2 %. Наиболее пострадавшими от коронавирусной инфекции считаются США, где на начало сентября 2020 г. заболели 6 248 989 человек, что составляет 22,7 % от всех зарегистрированных случаев заболевания COVID-19 в мире; умерли 188 172

человека – 21,0 % от всех зарегистрированных случаев смерти от COVID-19 в мире. В Российской Федерации, по данным ВОЗ, заболели 1 041 007 человек (3,8 % от всех заболевших COVID-19 в мире), умерли 5218 человек (0,6 % от всех зарегистрированных случаев заболевания COVID-19 в мире). По числу заболевших Российская Федерация находится на 4-м месте в мире, однако в пересчете на население показатель заболеваемости составил 723,1 (49-е место в мире), показатель смертности составил 12,6 % (57-е место в мире), показатель летальности 1,7 % (116-е место в мире) [13–15].

В связи с высокими объемами тестирований и показателей заболеваемости SARS-COV-2 лабораториям приходилось искать способы совершенствования ПЦР-диагностики для более быстрого выполнения исследований и незамедлительной постановки диагноза для своевременного оказания специализированной помощи заболевшим. Известно, что в лабораторной практике используются требования к организации и технологии: GLP (надлежащая лабораторная практика), нормативные документы МЗ (приказ Министерства здравоохранения Российской Федерации от 18.05.2021 № 464н "Об утверждении Правил проведения лабораторных исследований"), инструкции по работе с реагентами и оборудованием, требования к охране труда и нормированию труда специалистов [16]. Эти базовые требования реализуются в рабочем процессе конкретных условий разных лабораторий. Работа в период пандемии идет в условиях сочетания очень высокой скорости и биологического и производственного риска лабораторных работ, где приоритетом становятся другие ключевые точки, например: контроль качества (молекулярно-генетические исследования), взаимодействие с пациентом и лечащим врачом и организация мультидисциплинарных пациенториентированных команд с участием врача-морфолога или врача КЛД (морфология, онкология, лабораторная генетика). И везде для оптимальной работы необходимы производственно-организационные решения [17,18].

Оценка иммунного ответа также является важным этапом в медицинской практики в период пандемии. Структурные и молекулярные характеристики SARS-CoV-2 и этапы иммунного ответа явились основой разработки различных

лабораторных диагностических тестов для верификации иммунитета при COVID-19 [19]. После перенесенного COVID-19 формируется иммунитет, который включает: 1) антитела (классов A, G, M), 2) SARS-CoV-2-специфичные Т-клетки (CD8+ и CD4+), и 3) В-клетки памяти. На практике для COVID-19 есть две точки приложения диагностики иммунного ответа: специфические антитела и активированные Т-клетки. Базовыми объектами исследования стали IgG и IgM SARS-CoV-2-специфичные антитела (концентрация в сыворотке крови, определяемая иммуноферментной (ИФА) детекцией), а также Т-клетки, синтезирующие интерферон-гамма в ответ на антигены вируса [20, 21]. С развитием пандемии наблюдали быструю эволюцию ИФА-методов от качественного скрининга суммарных антител IgA, IgM, IgG к вирусу до количественного выявления нейтрализующих антител IgG в том числе к рецептор-связывающему домену (RBD) S-белка SARS-CoV-2 с тенденцией на расширение референсного интервала (производители тест-систем увеличили уровень положительных значений от пяти крат до нескольких тысяч). В исследовании клеточного иммунного ответа актуальны три метода: цитофлоуметрия (по пролиферативному ответу Т-хелперов (CD4 +) и Т-киллеров (CD8 +) на рестимуляцию антигена in vitro), ELISPOT, Tigra-test-Sars-cov-2 (по количеству продуцирующих IFNγ антиген-специфических Т-клеток), ELISA (по изменениям секреции интерферона-γ в мононуклеарах крови). Реже используется метод PNA, когда псевдовирус SARS-CoV-2 инфицирует клетки, экспрессирующие рецептор ACE2, а после инкубации с тестируемой сывороткой на основе значения люминесценции производят расчет степени нейтрализации псевдовируса [22].В исследовании Шанхайского клинического центра и Российскими исследователями показано, что на 21 день от начала заболевания плазма около 30% выздоровевших пациентов имеет низкие титры антител, специфичных для SARS-CoV-2 и не содержит нейтрализующих антител [23,24]. Поэтому SARS-CoV-2 – специфические Т-клетки важны для долгосрочной защиты от COVID-19, а с точки зрения лабораторной диагностики серологического исследования недостаточно. Тяжелая форма течения COVID-19 вызывает более выраженный Т-клеточный ответ, устойчивый до 15 месяцев, Т-клетки широко

продуцируются в ответ на инфекцию и вакцинацию (показана эффективность оценки иммуногенности вакцин клеточными диагностическими методами), а тест-системы на основе IGRA-ELISPOT выявляют на 51% больше людей, перенесших COVID-19, чем ИФА тесты на IgG [25].

В настоящее время реакция мирового исследовательского сообщества на победу в борьбе с пандемией COVID-19 была энергичной, и было проведено множество исследований, касающихся различных аспектов болезни (то есть профилактики, диагностики и терапии) [26]. Данные о связи между COVID-19 и щитовидной железой появляются и быстро увеличиваются с марта 2020 года [27]. Известно, что щитовидная железа и вирусная инфекция участвуют в сложном взаимодействии через гормоны и иммуномодулирующие сигнальные молекулы [28, 29]. Эти связи были установлены в физиологических и патологических условиях [28, 29]. Вирусы со связанными с ними воспалительно-иммунными реакциями можно рассматривать как основную переменную, которая может влиять на пожизненную функцию щитовидной железы, что, следовательно, способствует определению «биографии щитовидной железы» на индивидуальном уровне [30]. Гормоны щитовидной железы модулируют врожденный и адаптивный иммунный ответ посредством как геномных, так и негеномных механизмов [28]. Физиологические концентрации Т4 и Т3 стимулируют продукцию и высвобождение цитокинов, которые также являются компонентами «цитокинового шторма», потенциально характеризующего системные вирусные инфекции [31,32]. Более того, тиреоидные гормоны способны потенцировать противовирусное действие IFN-γ [28]. Также интересно, что некоторые пути (т. е. цитокиновый и гиперактивация хелперных клеток Th1) иммунного ответа на вирусную инфекцию наблюдаются при заболеваниях щитовидной железы (например, классические аутоиммунные заболевания щитовидной железы), связанные с интерфероном-альфа заболевания щитовидной железы. [29, 33–36]. Тем не менее, клиницисты хорошо знакомы с доказательствами того, что инфекция может быть идентифицирована как стимул окружающей среды, провоцирующий или ускоряющий развитие заболеваний щитовидной железы [29, 37]. С другой стороны, респираторные инфекции

потенциально могут спровоцировать тиреоидный шторм у пациентов с декомпенсированным гипертиреозом, что, в свою очередь, может повысить риск смертности, связанной с инфекцией, из-за сердечно-сосудистых заболеваний [38]. Эти и другие замечания требуют более глубокого понимания взаимосвязи между COVID-19 и щитовидной железой.

ГЛАВА 2
МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Для проведения ПЦР-диагностики новой коронавирусной инфекции использовались преимущественно тест-системы ПОЛИВИР SARS-CoV-2 – ООО НПФ «Литех». Изучены цифровые ежедневные показатели Лаборатории молекулярной биологии ЦНИЛ по следующим отчетным формам: о количестве поступивших образцов биоматериала, мониторинговых показателей отобранных проб, проведенных исследований и результатов тестирования формы № 69, еженедельных отчетах формы № 107. Для математической обработки использовано программное средство Excel для сведения цифровых показателей, вычисления средних величин и их отклонений от параметров сравнения. После проведения 100 000 ПЦР-исследований, было необходимо разработать технологическую карту, позволившую бы повысить скорость выполнения ПЦР-тестирования, при этом удерживая ключевые показатели качества исследований.

Для сравнительной оценки методов определения иммунного ответа летом 2021 г. выполнено исследование на 24 добровольцах (сотрудниках университета), 10 мужчин и 14 женщин с известным анамнезом в отношении COVID-19 и вакцинации. Добровольцы давали информированное согласие на исследование, на базе университетской клиники у них брали венозную кровь в две герметичные пробирки (с коагулянтом с цитратом натрия). Анализ на наличие гуморального и Т-клеточного иммунитета методами ИФА и ELISPOT проводили в Центральной научно-исследовательской лаборатории. Критериями включения были возраст 20-40 лет; отсутствие какого-либо заболевания в острой фазе. Исследование проводили согласно инструкциям наборов реагентов: 1) ЗАО «ЭКОлаб» IgM и IgG для выявления иммуноглобулинов к различным компонентам коронавируса SARS-CoV-2, в том числе поствакцинальных антитела к S белку методом ИФА; 2) для in vitro выявления Т-лимфоцитов, специфически отвечающих на антигены вируса SARS-COV-2 «ТиграТест® SARS-CoV-2» (ООО «Генериум»). Это версия ИФА метода

IGRA ELISPOT (Interferon GammaReleaseAssay, Enzyme-LinkedSPOTanalysis), в котором цитокин интерферон-гамма (IFNγ) связывается на поверхности мембраны культурального планшета рядом с секретирующими его клетками. Обработка хромогенным субстратом, который преобразуется щелочной фосфатазой в окрашенное пятно нерастворимого преципитата в месте реакции, дает возможность увидеть реакцию. Каждое пятно (спот) является отпечатком одной Т-клетки, секретирующей IFNγ в ответ на контакт с антигеном вируса, а подсчет пятен количественно характеризует содержание специфичных для антигенов SARS-COV-2 CD4+ и CD8+ Т-клеток в крови. Результатом анализа является подсчет количества пятен в лунках с контролями и антигенами.Для ретроспективного исследованиягуморального иммунитета в популяции оценили 10 000 ИФА-тестов (ЗАО «ЭКОлаб» IgM и IgG), выполненных в нашей лаборатории за период с июля 2020 по январь 2022 г, жителям и гостям Крыма без признаков респираторного заболевания, обратившимся с целью верификации перенесенного ранее COVID-19 в субклинической или ПЦР-негативной форме, для планирования вакцинации или оценки ее эффективности.Статистическую обработку выполнили с использованием STATISTICA 10.0. Методом Шапиро-Уилка определяли нормальность распределения признака: количество спотов в лунках с антигеном к пептиду белка S (АГ1) и с антигеном к пептидам белков N, M, O3, O7 (АГ2) при оценке клеточного иммунитета. Отличия между группами оценивали методом Краскела-Уоллиса. Влияние факторов на количество спотов в лунках с антигенами оценивали методом ANOVA. Контролируемыми факторами считали наличие и сроки заболевания и вакцинации (из анамнеза). Достоверными считали отличия при $p \leq 0,05$.

Для оценки влияния SARS-COV-2 на возникновение заболеваний щитовидной железы были собраны данные из отделения эндокринной хирургии Клинического медицинского центра Святителя Луки (университетская клиника) и Центральной научно-исследовательской лаборатории Института «Медицинская академия имени С.И. Георгиевского» ФГАОУ ВО «КФУ им. В.И. Вернадского»в период - до, - во время и - после пандемии в Крыму. Проведена статистическая работа с: 1) заключениями цитологической диагностики и 2) заключениями

патоморфологической послеоперационной диагностики, выполненной авторами. Тип исследования: региональное ретроспективное. Критерии включения: пациенты, обратившиеся с 01.01.2019 по 31.07.2022 года в отделение эндокринной хирургии с заболеваниями щитовидной железы. Критерии исключения: пациенты с патологией щитовидной железы, не требующей хирургического лечения, и лица, обратившиеся вне исследуемого периода.Были собраны данные: демографические; цитологический класс по Bethesda на дооперационном этапе (для узловых образований); вид оперативного вмешательства; диагноз. Для злокачественных новообразований дополнительно учитывали подробные морфологическиеданные. Также использована классификация риска рецидива заболевания по рекомендациям Американской ассоциации щитовидной железы [4].

Согласно поставленной цели пациенты были разделены на три группы в зависимости от даты операции:

- группа 1: январь 2019 г. – февраль 2020 г., 14 месяцев (до COVID);
- группа 2: март 2020 г. – январь 2022 г.,22 месяца (во время COVID);
- группа 3: февраль 2022 г. – июль 2022 г.,6 месяцев (после COVID).

Применен статистический анализ данных: среднее значение ± стандартное отклонение, доли в %. Данные проанализированы непараметрическими методамипо критерию хи-квадрат в Excel со значимостьюразницы не менее $p < 0,05$ [5].Исследование выполнено в соответствии с требованиями Хельсинкской декларации Всемирной медицинской ассоциации (в ред. 2013 г.).

ГЛАВА 3
РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

3.1. Эпидемиологические особенности новой коронавирусной инфекции в Республике Крым по данным ПЦР-тестирования лаборатории молекулярной биологии ЦНИЛ

За период 2 года (июнь 2020 года – май 2022 года) лаборатория выполнила 616 000 ПЦР-исследований. Летом 2020 года лаборатория работала только на скрининге здоровых лиц. За этот период в среднем объем тестирований в неделю составлял 2 887 пациентов. С сентября по настоящее время – уже среди всех категорий (больные ОРВИ, пневмонии, контактные и здоровые лица). Количество обследованных за неделю пациентов выросло в среднем до 9 260- 10 053 проб в неделю.Также важно отметить, что при развитии пневмонии не только мазок из зева и носа, но даже ПЦР-тест из биоматериала мокроты не дает высоких цифр выявления вируса. Используемые нами тест-системы мы считаем оптимальными для скрининга больших объемов проб, они имеют два больших преимущества за счет выявления именно реплицирующегося вируса и большой точности и скорости исследования. Благодаря чему мы могли проводить тестирование всех проб за одни сутки, что наиболее важно в эпидемиологически тяжелой ситуации.

Первые положительные случаи выявлены со второй половины июля 2020 года.Доля выявленных положительных проб среди здоровых лиц составил за летний период 1,26% от всех обследованных. Значительное изменение эпидемиологической ситуации отмечено с конца сентября. Так, за осенний период доля положительных результатов составила 4,85%. Максимально высокие показатели были выявлены в зимний период 2020 года, когда средние значения выявленных положительных проб составили 8,04% с пиком 12,05% в начале декабря. А также летом 2021 года – пик середина июля – 14,98% выявленных положительных случаев. А средний процент выявленных за лето составил 10,96%.Сравнивая количество положительных

результатов среди всех категорий населенияза осенний период, доля людей, выделяющих коронавирус, среди здоровых лиц выросла втрое и составила 3,62%, среди больных – 9,30%, среди контактных 4,87%.Более высокие показатели были в декабре 2020 года-первой неделе января 2021 года. Среди здоровых лиц это были 4,19% положительных, среди больных ОРВИ и пневмониями – 14,05% и среди контактных – 8,60% выделяющих коронавирус людей с положительными ПЦР-тестами.

После столь тяжелого периода с высокими параметрами заболеваемости в январе-феврале был отмечен резкий спад процента выявленных позитивных ПЦР-тестов. Причина его, по-видимому, связана не только с разобщением больших организованных коллективов работающих и обучающихся на период зимних каникул, новогодних праздников и сессий, но и с активной естественной иммунизацией населения, передавшей эстафету искусственной иммунизации путем вакцинации отдельных категорий, а затем и всех желающих. С 11-го января еженедельно средний процент выявленных положительных проб снижался на 1,5-2,0% в неделю, снизившись к концу февралю с 11% до 3,92% за счет здоровых и больных лиц, при этом среди больных этот показатель составляет стабильные 10%, а среди здоровых 0,7-1% проб, в зависимости от обследуемого региона. Однако с конца марта наблюдается увеличение количества положительных результатов тестирования. Так, к началу апреля процент выявленных положительных проб составил 5,36%. Видимо, это связано с еще недостаточно сформированным коллективным иммунитетом, а также с послаблением профилактических мер, предпринимаемых каждым человеком самостоятельно. Среди лиц, больных ОРВИ/ пневмониями средний показатель за весенний период составил 11,78% положительных результатов ПЦР-тестирования. Что касается ПЦР-диагностики, проводимой с профилактической целью (скрининг населения) за весенний период средний процент, выявленных позитивных ПЦР-тестов составил 1,48%. Категорию контактных лиц к этому периоду уже не обследовали, были закрыты обсерваторы и показатели сошли «на нет».Летом 2021 года ситуация ухудшилась из-за повышенного туристического потока в Крым. Показатели инфицированности среди

больных ОРВИ, пневмониями возросли до 17,26% - это наивысший процент за 14 месяцев работы лаборатории.В течение июля росли показатели заболеваемости и достигали значений 300-400 положительных ПЦР-тестов за сутки.

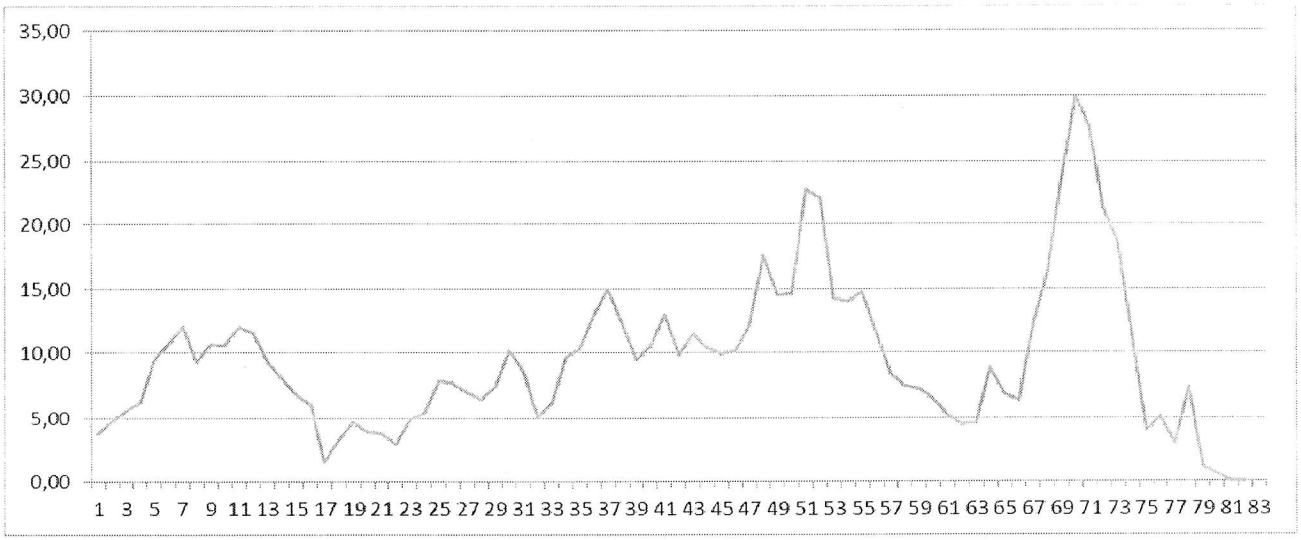


Рис.1 Процент положительных результатов ПЦР-исследований за период июнь 2020 года – май 2022 года.

Месяца	Средний возраст положительных
Август 2020	46
Сентябрь 2020	37
Октябрь 2020	48
Ноябрь 2020	50
Декабрь 2020	51
Январь 2021	54
Февраль 2021	50
Март 2021	58
Апрель 2021	49
МАЙ 2021	49
Июнь 2021	50
Июль 2021	49
Август 2021	47

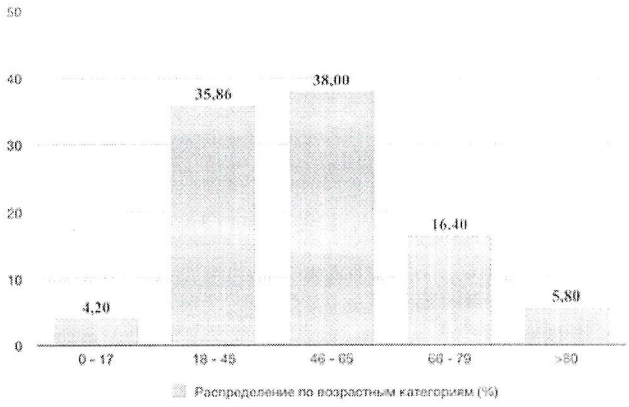


Рис.2 Возрастное распределение пациентов, проходивших тестирование на COVID-19.

Средний возраст лиц с положительными результатами ПЦР-тестирования за 13 месяцев составил 49 лет. На момент проведения анализа возрастная структура выявленных случаев заболевания распределилась следующим образом: 0 – 17 лет — 4,2 %, 18 – 45 лет — 35,86 %, 46 – 65 лет — 38 %, 66 – 79 лет — 16,4 %, старше 80 лет — 5,8 %. Среди выявленных случаев преобладает возрастная группа 46 – 65 лет и 18 – 4 5 лет.

Сравнив показатели заболеваемости сотрудников Симферопольской подстанции скорой помощи за период 2020 года и 2021 года, мы получили следующие показатели: процент выявленных положительных тестов за 2020 год составил 2,2%, а за 2021 год – показатели снизились и составили 0,68%.

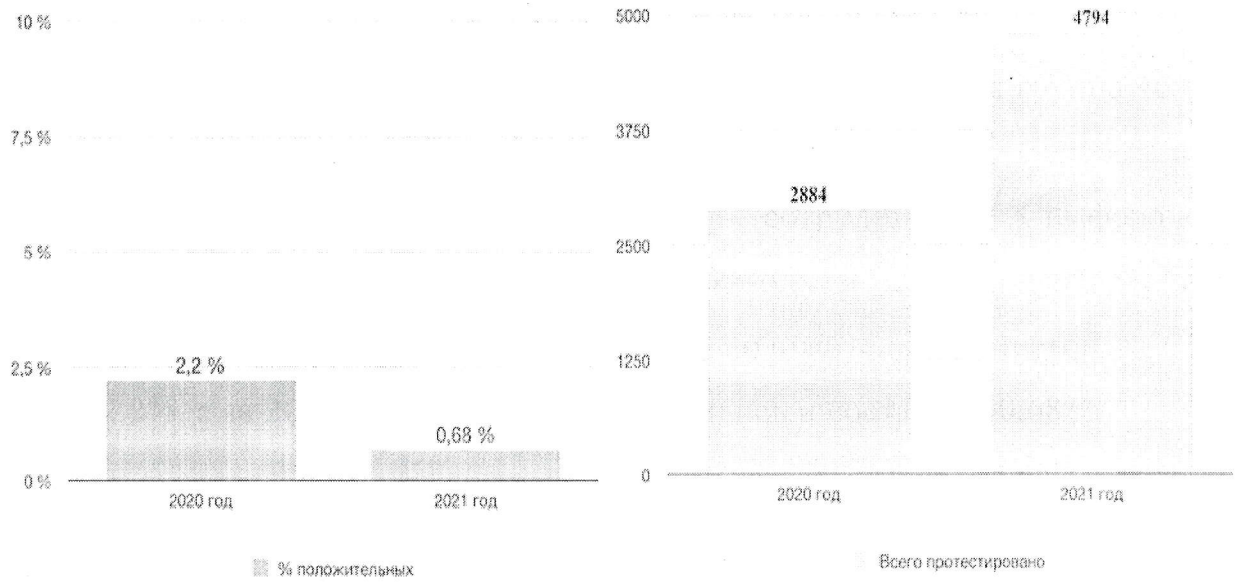


Рис.3 Распределение заболеваемости сотрудников Симферопольской подстанции скорой помощи, проходивших тестирование на COVID-19.

3.2 Производственно-организационные решения в медицинской лабораторной практике центральной научно-исследовательской лаборатории (ЦНИЛ)

Примером производственно-организационного решения является создание технологической карты работ для ПЦР-диагностики COVID-19. Диагностическое тестирование важно в период пандемии COVID-19для принятия клинических и управленческих решений, разумного использования ограниченных ресурсов[2,3]. ПЦР-тестирования выполняются в ЦНИЛс начала пандемии, с получением результата в первые сутки. В разгар эпидемии это было 50-75% всех тестов в регионе. Данные показатели стали возможны благодаря разработке технологической карты, повысившей продуктивность лаборатории в 5 раз от базовой при сохранении ключевых показателей скорости и качества. Это позволило своевременно оказывать помощь пациентам, изолировать носителей, осуществлять выписку и увеличить койко-оборот госпиталей, избежать экономических и трудовых потерь (особенно среди медиков) при ожидании тестов в изоляторах. Принцип технологии основан на быстром выделении РНК, разделении работ и организации деятельности по методу эстафеты, использовании времени дезинфекции на отдых и другие виды работ, чередование ручных работ с автоматизацией для эффективной работы людей и приборов.

Первым этапом является прием проб, подготовка образцов к экстракции РНК: сверка актов и маркировки доставленных проб; подготовка пробирок типа Epindorf на 1,5 мл; вскрытие транспортировочной тары и перенос 200 мкл пробы в подготовленную пробирку; внесение реактива для выделения РНК. Вторым этапом проводится выделение РНК: инкубация в течение 15 мин при 95°С; центрифугирование 1 мин при 10-12 тыс.об./мин; затем супернатант, содержащий РНК используют для постановки ОТ-ПЦР в течение 15 мин. Особенность данного этапа технологической карты сводится к минимальной затрате времени – выделение РНК первого 96-ти луночного планшета занимает 20 мин, следующие прогоны занимают 15 мин, так как пока одна партия стоит в термостате, центрифигуируется

предыдущая и раскапывается следующая. Третий этап: амплификация и оценка результатов: подготовка реакционной смеси (РС) (5 мин), перенос реакционной смеси в пробирки для амплификации многоканальным дозатором (1 мин), перенос РНК в РС (5 мин), постановка ПЦР (1,24 ч первые пробы и 1,05 ч последующие). За 2 ч работы (с перерывом) ставится 6 амплификаций, из которых 4 завершаются и 2продолжаются.

3.3 Клеточныйи гуморальный иммунитет при COVID-19

При изучении эффективности методик оценки иммунитета, согласно анамнезу исследуемые распределились так: 1 группа не болели, не вакцинировались – 12%; 2 группа не болели, вакцинировались – 21%; 3 группа болели, не вакцинировались – 38%; 4 группа болели, а после вакцинировались – 29%.

Важно отметить, что исследование выполнено спустя 12 месяцев от начала пандемии в Крыму и уровень антител на 100% отразил анамнез ретроспективой лишь на 6 месяцев. То есть у всех лиц 1 группы уровень антител был негативный, а у лиц 2, 3, 4 групп позитивный уровень IgM или IgG выявлен лишь в случае перенесенного заболевания (с ПЦР-подтверждением) или вакцинации в период последнего полугодия, в случае болезни или вакцинации в более ранний период – у лиц 2, 3, 4 групп уровень антител был негативным. Для однородности исследования, в число вакцинированных добровольцев вошли только лица, привитые вакциной SputnikV (1 и 2 компоненты).

В результате исследования методом ELISPOT согласно его интерпретации, группы «перераспределились»: 1 – 4%, 2 – 17%, 3 – 46%, 4 – 33%. Лишь 1 человек не имел клеточного иммунитета, у остальных (анамнестически и серо-негативных) выявились споты в лунках с АГ1 и АГ2 в количествах, свидетельствующих о субклинически перенесенном заболевании. Среди лиц второй группы один из пяти человек имел споты в панели АГ2, что свидетельствует о перенесенном после вакцинации заболевании в скрытой форме. Среди лиц третьей и четвертой групп

совпадение результатов исследования и данных анамнеза оказалось полным, но эти группы увеличились за счет лиц, которые ранее составляли группы 1 и 2 (по данным анамнеза и уровню антител). При этом следует отметить, что есть достоверная связь между сроками заболевания и количеством спотов в обеих панелях антигенов у лиц группы 3 и в панели АГ2 у пациентов из группы 4. Так, чем больше времени прошло с момента выздоровления, тем меньшее количество активированных Т-клеток обнаруживали. Количество спотов в панели антигенов к S-белку у вакцинированных лиц составляло от 35 до 75 штук даже через 6 месяцев после вакцинации (рис. 1).

Результаты статистики представлены на рисунках 2 и 3. При сравнении числа спотов в лунках с АГ1 и АГ2 между группами выяснилось, что в группе вакцинированных число спотов в лунке АГ1 достоверно выше, чем у лиц групп 1 и 3, не получавших вакцину. Люди из группы 3, переболевшие ПЦР-подтвержденной коронавирусной инфекцией, имели статистически значимо большее количество спотов в лунках с АГ2, чем лица из групп, не болевших ранее, либо болевших в скрытой форме. Однофакторный анализ ANOVA показал достоверное влияние наличия заболевания и его сроков на количество спотов в лунке с АГ2 ($F=12,40$ и $F=7,88$ соответственно). Наличие и сроки вакцины оказывают достоверное влияние на количество спотов к обеим панелям антигенов ($F=21,98$ для АГ1 и $F=21,01$для АГ2). При этом стоит отметить, что при вакцинации количество спотов в лунке с АГ1 к S-белку достоверно выше, а в лунке с АГ2 к пептидам белков N, M, O3, O7 наоборот достоверно ниже, чем при ее отсутствии. Срок вакцины оказывает аналогичное влияние, однако степень его значительно ниже ($F=10,10$ для АГ1 и $F=5,05$ для АГ2).

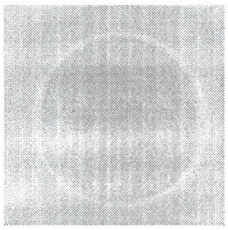
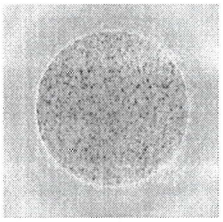
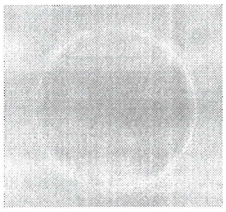
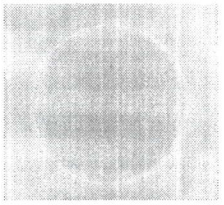
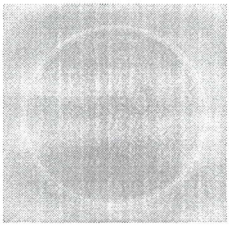
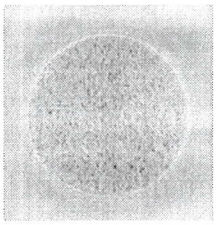
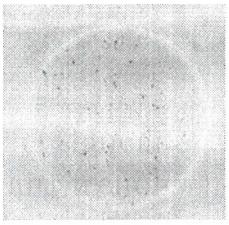
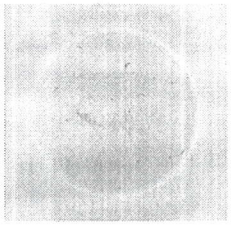
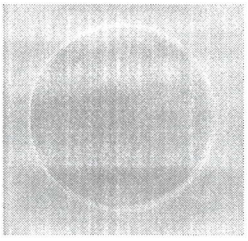
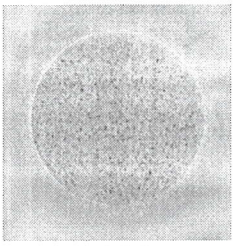
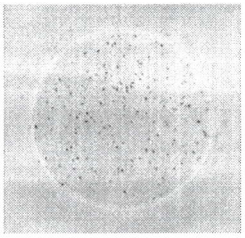
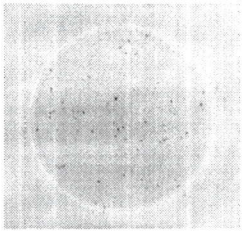
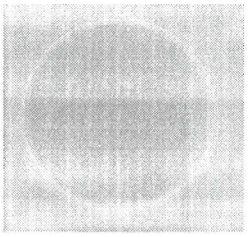
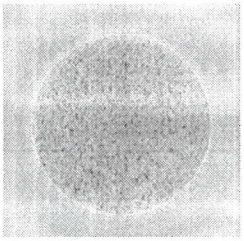
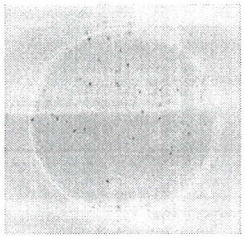
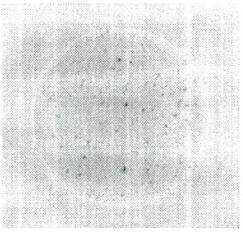
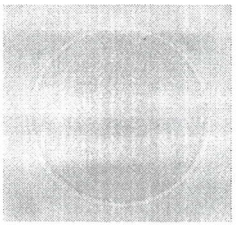
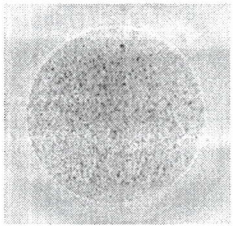
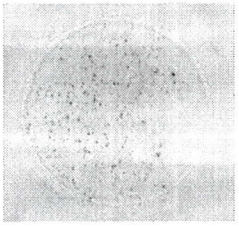
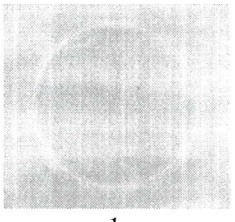
Пациент	Негативный контроль	Позитивный контроль	Панель антигенов #1 (пептиды белка S)	Панель антигенов #2 (пептиды белков N, M, O3, O7)
не болел, не вакцинирован	 2	 >100	 1	 1
болел за 6 месяцев до исследования, вакцинирован за 1 месяц до исследования	 0	 >100	 35	 10
вакцинирован за 4 месяца до исследования, переболел за 2 месяца до исследования	 0	 >100	 75	 25
не вакцинирован, перенес заболевание за 3 месяца до исследования	 0	 >100	 31	 40
не болел, вакцинирован за 3 месяца до исследования	 0	 >100	 53	 1

Рис. 4. Результаты исследований на примере пациентов из различных групп. Фотографии лунок после инкубации лимфоцитов с антигенами и визуализации активированных на выработку интерферона клеток цветными метками, увеличение 20х.

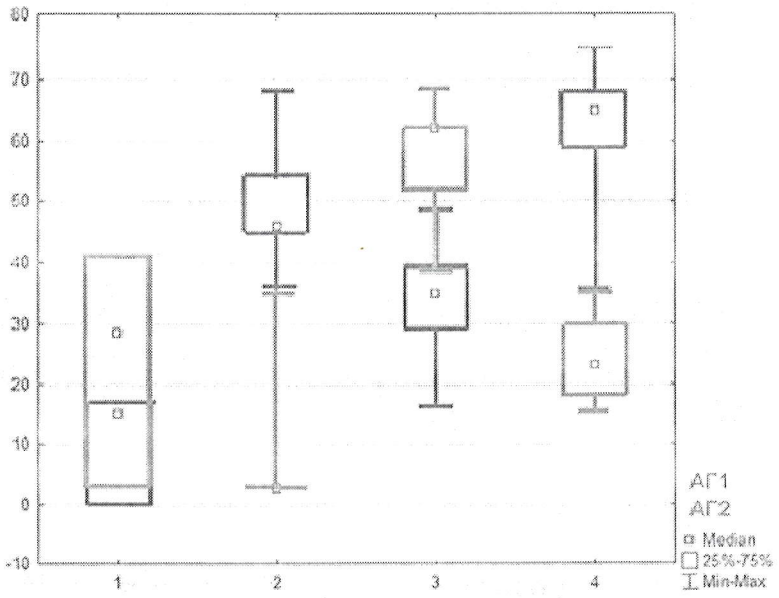


Рис. 5. Средние показатели количества спотов в лунках с антигенами к S-белку (АГ1) и к белкам N, M, O3, O7 (АГ2).

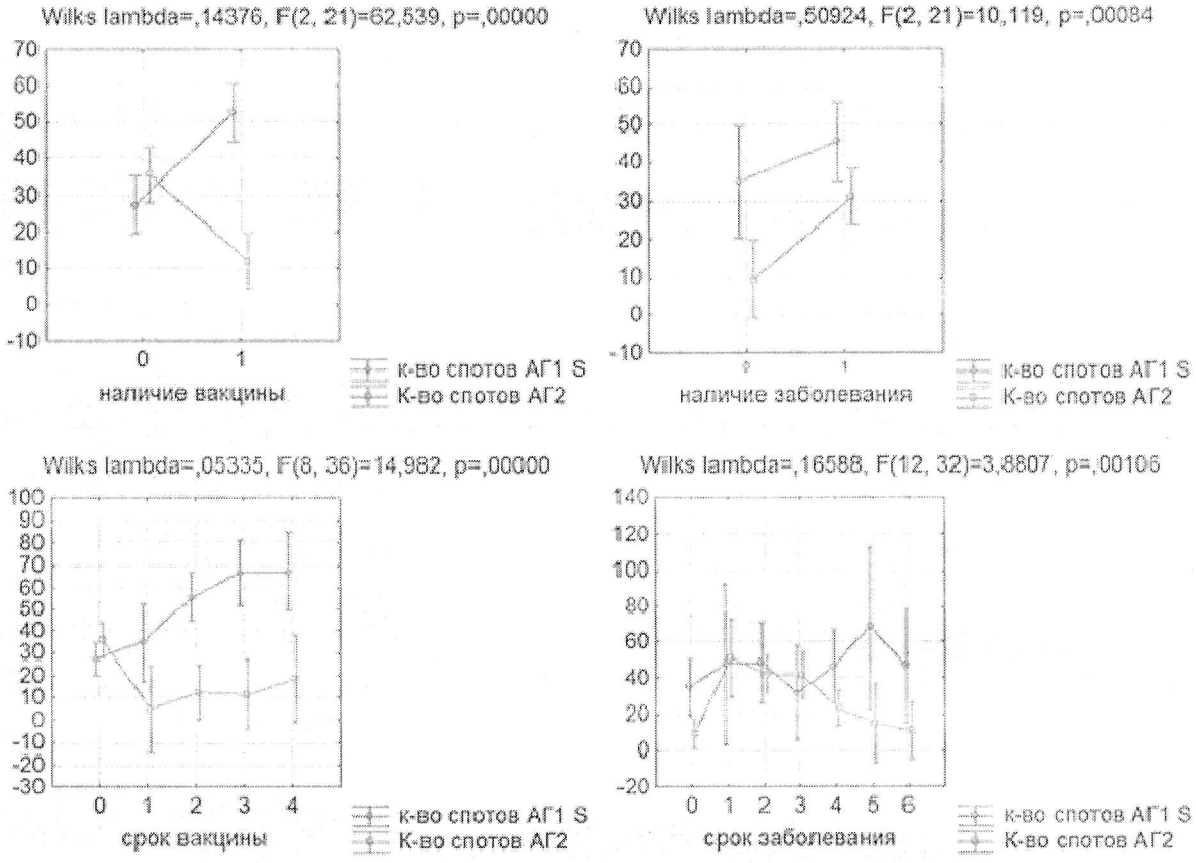


Рис. 6. Степень влияния различных факторов на количество спотов (активированных Т-клеток) к панелям АГ1 и АГ2. Оценивали влияние таких факторов, как наличие и сроки заболевания, наличие и сроки вакцинации.

Ретроспективный анализ гуморального иммунитета показал прогрессивное нарастание иммунизации населения Республики Крым. В осенне-зимний период 2020-2021 г. положительный тест на какой-либо класс антител имели 26% пациентов, у большинства преобладали IgG; весной 2021 г. – процент положительных проб составил 47% с преобладанием IgG и суммарных поствакцинальных антител. Далее процент положительных проб нарастал летом и осенью 2021 г. до 61-63%; к зиме 2021-2022 г. – до 87%. Положительная динамика данных мониторинговых показателей в Республике Крым свидетельствует об активной иммунизации населения и рост числа иммунизированных лиц до 80-87% совпал с резким спадом, фактически прекращением волны эпидемии в регионе.

3.4. Влияние пандемии COVID-19 на хирургию щитовидной железы

Всего было включено 1244 случая (828 исследований пунктатов тонкоигольной аспирационной биопсии (ТАПБ) и 416 тиреоидэктомий больных хирургической патологией щитовидной железы). Данные пациентов в таблицах 1 и 2.

Таблица 1.

Результаты цитологии материала аспирационной биопсии узловых образований щитовидной железы в разные периоды пандемии COVID-19

Группа относительно пандемии	Количество обследованных(n)	Распределение (в %) по Bethesda Thyroid Classification					
		I	II	III	IV	V	VI
1 (до)	80	18,8	72,5	0,0	3,8	0,0	5,0
2 (во время)	561	9,4	76,5	3,0	3,6	1,4	6,1
3 (после)	187	5,9	77,5	6,4	4,3	2,7	3,2

Суммарно растет процент узловых образований, требующих оперативного вмешательства по причине подозрения на атипию или с достоверными признаками рака (III-VI категории по Bethesda) от 8,8% до пандемии, до 14,1% во время и 16,6% в первые 6 месяцев после ее стихания. При сравнении этих цифр до пандемии и после нее по критерию χ^2 значимость изменений высокая, а вероятность ошибки не более 0,0003.

Таблица 2.

Данные о пациентах с заболеваниями щитовидной железы, прошедших оперативное лечение в разные периоды пандемии COVID-19

Группа относительно пандемии	Число операций (n)	Средний возраст ± *sd*			% рака среди всех нозологий		
		все пациенты	мужчины	женщины	все пациенты	мужчины	женщины
1 (до)	93	51,9±14,4	48,6±17,1	52,2±13,9	38,7	55,6	36,9
2 (во время)	252	51,8±14,0	52,4±11,8	51,6±14,1	31,0	25,0*	30,6
3 (после)	71	51,2±10,6	41,4±5,4	51,8±10,7	40,8**	20,0*	42,4**

Примечание: * - значимо по отношению к периоду до пандемии, ** - к периоду пандемии.

Количество женщин-пациенток клиники эндокринной хирургии с заболеваниями щитовидной железы больше, чем мужчин, особенно в 2019 году (разница в 24 раза), а после начала пандемии в 10-13 раз. Средний возраст женщин составляет 51 год, мужчин – 47 лет, у женщин он стабилен в разные периоды

пандемии, а у мужчин снижается на 7,2 года в период после пандемии. Это может свидетельствовать о преимуществе гендерных факторов влияния (а именно возраста прекращения женских репродуктивных циклов) на возраст развития болезней щитовидной железы у женщин. Обращает на себя внимание рост выявления рака щитовидной железы среди всех пациентов после стихания пандемии: на 2,1% рак в 2022 году выявляется чаще по сравнению с периодом до и на 9,8% (P=0,045) – по сравнению с периодом разгара пандемии. Это изменение соотношения доброкачественных и злокачественных заболеваний в пользу последних характерно для женщин, составляющих подавляющее большинство пациентов эндокринных хирургов, но в отличие от женщин, у мужчин тенденция прямо противоположная. У мужчин до пандемии в более чем половины случаев поводом к оперативному вмешательству на щитовидной железе является рак, а в период пандемии и после нее появляются другие конкурирующие заболевания железы, требующие хирургического вмешательства, снижающие удельный вес рака с 55,6% до 20% (P≤0,001).

Более подробно нозологические формы выявленных на операции болезней щитовидной железы представлены в таблице 3.

Результаты послеоперационного этапа демонстрируют три ключевые тенденции в связи с пандемией COVID-19: 1) во время пандемии обратимо увеличилось количество операций по поводу токсического зоба (более чем в 2,5 раза) (P≤0,001); 2) менее заметно, но необратимо в исследуемом периоде начался рост доли злокачественных опухолей после пандемии, для папиллярного рака на 10,3% (P=0,005); 3) увеличилась частота встречаемости В-клеточных аденом (онкоцитарных или Гюртлеклеточных)(P≤0,001).

Таблица 3.

Частота основных нозологических форм заболеваний щитовидной железы в разные периоды пандемии COVID-19

Группа относительно пандемии	Распределение (в %) по нозологическим формам										
	КЗ	АИТ	ТЗ	ТА	ФА	В-кл А	ПР	ПРФ	ПРВ	ПРМ	МР +
1 (до)	20,4	5,4	10,8	2,2	17,2	5,4	22,6	8,6	2,2	2,2	3,2
2 (во время)	14,3	7,1	26,6*	2,8	15,9	2,4	21,4	6,0	1,2	0	2,4
3 (после)	15,1	5,5	12,3**	0	19,2	8,2**	32,9***	4,1	0	1,4	1,4

Примечание: КЗ – коллоидный зоб (плюс варианты аденоматозный и многоузловой), АИТ – аутоиммунный тиреодит (плюс тиреоидит Риделя),ТЗ – токсический зоб, ТА – токсическая аденома, ФА – фолликулярная аденома, В-клеточная аденома (Гюртлеклеточная, онкоцитарная), ПР – папиллярный рак, ПРФ – папиллярный рак, фолликулярный вариант, ПРВ - В-клеточный (Гюртлеклеточный) вариант папиллярного рака, ПРМ – метастаз папиллярного рака, МР - медуллярный рак и низкодифференцированная злокачественная опухоль.

* - значимо по отношению к периоду до пандемии, ** - к периоду пандемии.

Таблица 3 в целом отражает динамику заболеваемости в женской популяции. А у мужчин в связи с пандемией прирост заболеваемости связан с более частым выявлением фолликулярных аденом и (также как и у женщин) – токсического зоба и разных форм рака, в том числе низкодифференцированного.

Таблица 4 отражает особенности злокачественных новообразований.

Таблица 4.

Результаты гистологии злокачественных новообразований щитовидной железы в разные периоды пандемии COVID-19

Группа относительно пандемии	Средний размер узла (см) ± *sd*	Данные микроскопии среди всех форм рака (в %)						
		микро-карцинома	tallcell высокие клетки	инвазия рака в капсулу	прорастание капсулы	мультицентрический рост	метастазы в лимфатические узлы	ангиоинвазия
1 (до)	1,2 ± 0,6	13,9	8,3	16,7	19,4	25,0	25,0	16,7
2 (во время)	1,0 ± 0,8	39,5*	5,3	3,9*	11,8	11,8*	15,8*	10,5*
3 (после)	1,4 ± 0,8	31,0*	0,0	10,3**	6,9*	13,8**	31,0**	3,4*

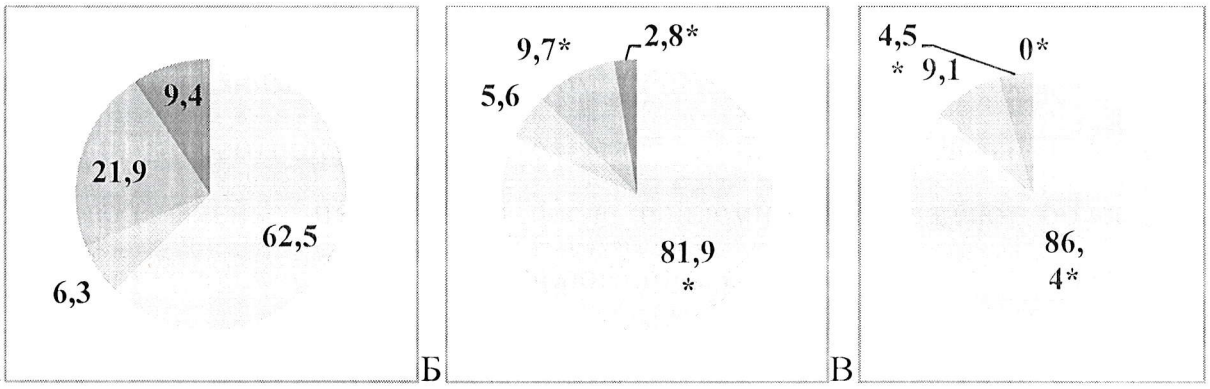
Примечание: * - значимо по отношению к периоду до пандемии, ** - к периоду пандемии.

Средний размер узлов, как правило, меньше в группе пациентов, перенесших операцию во время пандемии с противоположной тенденцией после завершения пандемии, когда средний размер узла вырос. Это сопровождается ростом числа микрокарцином как во время пандемии, так и после нее по сравнению с 2019 годом. В постпандемиечский период выявлено одновременное увеличение и числа микрокарцином (в 2,5 раза по сравнению с 2019 годом) ($P \leq 0,001$) и рост среднего размера узла. Это свидетельствует о двух разнонаправленных тенденциях: как о приросте пациентов с вновь появившимися новообразованиями и более раннем их обращении к врачу в связи с жалобами и манифестацией заболевания, так и о наличии категории пациентов, отложивших визит в хирургическую клинику в связи

с пандемией. Рано обратившиеся пациенты обеспечили статистику снижения частоты большинства показателей экстратиреоидного распространения опухолей – инвазия и прорастание в капсулу (P≤0,05), ангиоинвазия в пандемию и после нее – резко меньше, чем в 2019 году. Но это не касается метастазирования в лимфатические узлы – совместно с группой пациентов, не прооперированных вовремя, они демонстрируют прирост числа случаев с метастазами в лимфатические узлы яремной после завершения пандемии по сравнению с ее разгаром.

При анализе риска рецидива на основании калькулятора ATA, количество пациентов с низким и средним риском до пандемии соотносится как 3:1, а в период пандемии это соотношение меняется до 6:5 и снижается после завершения пандемии до первоначальных цифр. До и после пандемии преобладают более стабильные формы опухолей, более дифференцированные с низким прогнозом риска.

Если оценить данные удаленных опухолей по классификатору TNM, обращает на себя внимание следующее: минимальное число опухолей, прооперированных на стадии 1 было в период до пандемии, резко сократившей число операций на стадии 3 и 4 (рис. 7)



А Б В

Рисунок 7. Распределение всех прооперированных опухолей по группам, выделенным исходя из размера опухоли по TNM. А – до пандемии COVID-19; Б – во время пандемии COVID-19; В – после пандемии COVID-19. Интенсивность заливки пропорциональна размеру 1 2 3 4

Можно предположить, что это связано с актуализацией вопросов здоровья в пандемию, появлением соматической симптоматики болезни щитовидной железы,

ее метаболическими и кардио-проявлениями, манифестировавшими на фоне заболевания новой коронавирусной инфекцией или стресса, побудившими пациентов обратиться к врачу, где дополнительной своевременной находкой стала опухоль.

Мы полагаем, что ключевое изменение количественных данных заболеваемости разными формами тиреоидной патологии связано с новой коронавирусной инфекцией, ее лечением и осложнениями болезни, а также побочными эффектами терапии; снижением активности клеточного иммунитета, стрессом и затруднением быстрой своевременной госпитализации в эндокринологический хирургический стационар у той категорий пациентов (небольшая группа), где были выявлены опухоли на поздних стадиях.

Обобщенную картину динамики злокачественных опухолей отражает комплексная диаграмма (рис. 8).

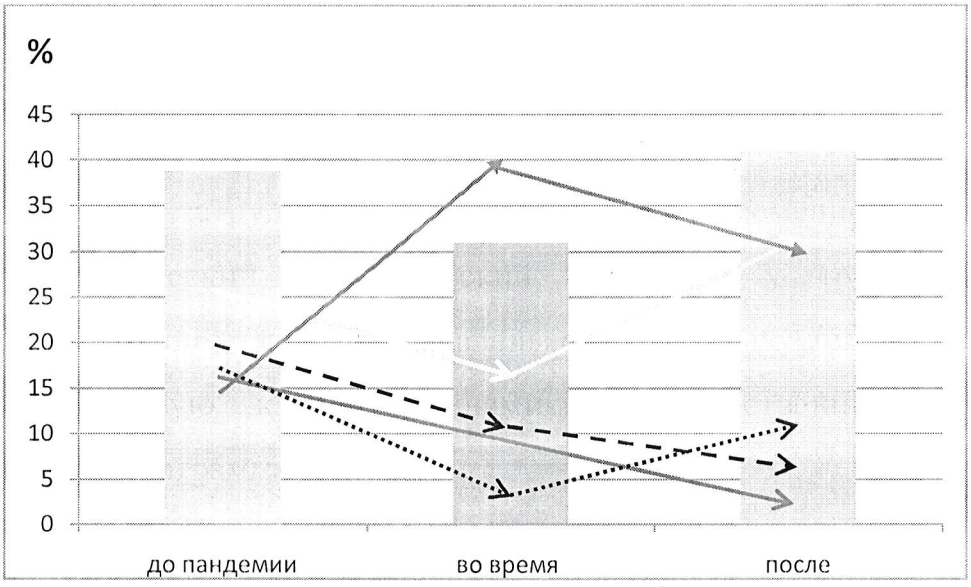


Рисунок 8. Процент выявления рака щитовидной железы (суммарно все формы)среди пациентов, прооперированных до, во время и после пандемии, а также частота выявления микрокарцином, экстратиреоидного распространения и метастазирования.

Столбцы указывают процент рака среди всех операций, а стрелки– частоту микрокарцином (сиреневые стрелки), метастазирования в лимфатические узлы (желтые стрелки), ангиоинвазию (красные стрелки), инвазии (мелкий черный пунктир) и прорастания капсулы(крупный черный пунктир).

В целом во время пандемии COVID-19 произошло не сокращение, а напротив, увеличение числа тиреоидэктомий по поводу доброкачественных и злокачественных новообразований щитовидной железы. Во время пандемии не наблюдалось большей доли агрессивных опухолей. Тем не менее, этот аспект следует тщательно контролировать, поскольку задержка в программах скрининга и плановых обследованиях может привести к увеличению количества пропущенных диагнозов и числа агрессивных опухолей. Учитывая новую эскалацию пандемии на момент написания работы, настоятельно рекомендуется пациентам не откладывать программы скрининга и плановые визиты.

ВЫВОДЫ

1.Выполнение массовой ПЦР-диагностики 2/3 населения Республики Крым позволило своевременно оказывать медицинскую помощь пациентам, имеющим положительный результат ПЦР-тестирования, изолировать носителей, своевременно осуществлять выписку и увеличить койко оборот ковидных госпиталей, избежать экономических и трудовых потерь в период ожидания тестов в изоляторах, в том числе и в первую очередь для медицинских работников. В свою очередь, обработка статистических данных по выявляемости вируса среди разных категорий заболевших является ценной информацией для оценки эффективности естественной и искусственной иммунизации и получения данных для контроля пандемии в будущем.

2. Разработанная технологическая карта позволила проводить до 5000 исследований за сутки при одновременной работе 4-х амплификаторов, своевременно оценивать и выдавать результаты ПЦР-тестов, а также отсылать отчетные формы Региональному и Федеральному управлению Роспотребнадзора для быстрой оценки эпидемиологической ситуации и принятия мер по предотвращению распространения коронавирусной инфекции в РК и РФ. Таким образом, технологическая карта производственного процесса является важным этапом организации и планирования работ (создания технологий в условиях ограничения ресурсов ив период повышенной нагрузки), она способствует калькуляции многих аспектов деятельности лаборатории (например, экономической эффективности), позволяет объективизировать рабочий процесс, делает его наглядным, что позволяет лучше им управлять в стабильных условиях и при их изменении, планировать работы, помогает при проверке контролирующих организаций для демонстрации соблюдения норм и их расчетов.

3. Определение уровня активных в отношении вируса SARS-CoV-2 Т-клеток дополняет выявление антител в комплексной оценке иммунного ответа. Технологии диагностики Т-клеток могут быть использованы для решения ряда задач: выявление потенциально защищенных от инфекции пациентов, прогноз тяжести и исхода течения заболевания, выявление длительности поствакцинального или гибридного

иммунного ответа, определение иммуногенности вакцин. Результаты исследований методом ELISPOT с использованием набора реагентов для выявления in vitro в крови Т-лимфоцитов, специфически отвечающих на антигены вируса SARS-COV-2 «ТиграТест® SARS-CoV-2» показали, что данная методика является более чувствительной, чем ИФА метод, способна выявлять перенесенные в скрытой форме заболевания, а также демонстрирует эффективность вакцины против вируса SARS-COV-2.

4. Изучив влияние COVID-19 на заболеваемость хирургической патологией щитовидной железы, был выявлен рост процента узловых образований, требующих оперативного вмешательства по причине подозрения на атипию или с достоверными признаками рака, после начала эпидемии. Установлен обратимый рост во время пандемии количества операций по поводу токсического зоба инеобратимый рост доли злокачественных опухолей (особенно папиллярного рака)после пандемии,; увеличение частоты встречаемости В-клеточных аденом; преобладание после пандемии более дифференцированных форм рака с низким прогнозом риска, а также опухолей на более ранних стадиях роста. Для пандемии характерно изменение гендерной структуры заболеваемости, рост обращений пациентов с первичной манифестацией болезней, рост числа токсических зобов и аденом с гиперфункцией железы, снижение хирургической активности при раке щитовидной железы у небольшой категории пациентов.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

1. Воробьева О.В., Ласточкин А.В. Клинико-морфологический случай COVID-19. Эпидемиология и инфекционные болезни. Актуальные вопросы. 2020. Т. 10. № 2. С. 90–93.

2. Брико Н.И., Каграманян И.Н., Никифоров В.В. и др. Пандемия COVID-19. Меры борьбы с ее распространением в Российской Федерации. Эпидемиология и Вакцинопрофилактика. 2020. Т. 19. № 2. С. 4–12.

3. Kobayashi T, Jung SM, Linton NM, et al. Communicating the risk of death from novel coronavirus disease (COVID-19). J Clin Med. 2020; 9(2):580. DOI: https://doi.org/10.3390/jcm9020580

4. Hu Z, Song C, Xu C, et al. Clinical characteristics of 24 asymptomatic infections with COVID-19 screened among close contacts in Nanjing, China. Sci China Life Sci. 2020;63(5):706–711. DOI: https://doi.org/10.1007/s11427-0201661-4

5. Liu K, Chen Y, Lin R, et al. Clinical features of COVID-19 in elderly patients: A comparison with young and middleaged patients. J Infect. 2020;80(6):e14-e18. DOI: https://doi.org/10.1016/j.jinf.2020.03.005.

6. Ceccarelli M, Berretta M, Rullo E, et al. Differences and similarities between Severe Acute Respiratory Syndrome (SARS) – CoronaVirus (CoV) and SARS-CoV-2. Would a rose by another name smell as sweet? Eur Rev Med Pharmacol Sci. 2020; 24(5):2781–2783. DOI: https://doi.org/10.26355/eurrev_202003_20551

7. Rothe C, Schunk M, Sothmann P, et al. Transmission of 2019-nCoV infection from an asymptomatic contact in Germany. N Engl J Med. 2020; 382(10):970–971. DOI: https://doi.org/10.1056/NEJMc2001468

8. Abdollahi E, Champredon D, Langley JM, et al. Temporal estimates of case–fatality rate for COVID-19 outbreaks in Canada and the United States. CMAJ. 2020; 192(25):E666–E670. DOI: https://doi.org/10.1503/cmaj.200711

9. Wu F, Zhao S, Yu B, et al. A new coronavirus associated with human respiratory disease in China. Nature. 2020;579(7798):265–269. DOI: https://doi.org/10.1038/s41586020-2008-3

10. Львов Д.К., Альховский С.В., Колобухина Л.В. и др. Этиология эпидемической вспышки COVID-19 в г. Ухань (провинция Хубэй, Китайская Народная Республика), ассоциированной с вирусом 2019-nCoV (Nidovirales, Coronaviridae, Coronavirinae, Betacoronavirus, подрод Sarbecovirus): уроки эпидемии SARS-CoV. Вопросы вирусологии 2020. Т. 65 № 1 . С. 6–15.

11. Shen M, Peng Z, Xiao Y, et al. Modeling the epidemic trend of the 2019 novel coronavirus outbreak in China. Innovation (N Y). 2020; 1(3):100048. DOI: https://doi.

org/10.1016/j.xinn.2020.100048

12. Flahault A. COVID-19 cacophony: is there any orchestra conductor? Lancet. 2020; 395(10229):1037. DOI: https://doi.org/10.1016/S0140-6736(20)30491-8

13. Callaway E, Cyranoski D. China coronavirus: Six questions scientists are asking. Nature. 2020; 577(7792):605–607.DOI: https://doi.org/10.1038/d41586-020-00166-6

14. Wu D, Wu T, Liu Q, et al. The SARS-CoV-2 outbreak: What we know. Int J Infect Dis. 2020; 94:44–48. DOI: https://doi.org/10.1016/j.ijid.2020.03.004

15. Sebastiani G, Massa M, Riboli E. Covid-19 epidemic in Italy: evolution, projections and impact of government measures. Eur J Epidemiol. 2020; 35(4):341–3

16. Haeckel R. The meaning of good laboratory practice (GLP) for the medical laboratory// Clin Chem Lab Med. 1999. № 37(2):169. doi: 10.1515/CCLM.1999.031. PMID: 10219508.

17. Detection technologies and recent developments in the diagnosis of COVID-19 infection. [Rai P. et al] // Appl Microbiol Biotechnol. 2021;105(2):441-455. doi: 10.1007/s00253-020-11061-5. Epub 2021 Jan 4. PMID: 33394144; PMCID: PMC7780074.

18. Laboratory Diagnosis of COVID-19: Current Issues and Challenges [Tang Y.W. et al] // J Clin Microbiol. 2020;58(6):e00512-20. doi: 10.1128/JCM.00512-20. PMID: 32245835; PMCID: PMC7269383.

19. Falzone L., Gattuso G., Tsatsakis A., Spandidos D.A., Libra M. Current and innovative methods for the diagnosis of COVID-19 infection (Review). International Journal of Molecular Medicine. 2021:47:100. https://doi.org/10.3892/ijmm.2021.4933

20. Cox, R.J., Brokstad, K.A. Not just antibodies: B cells and T cells mediate immunity to COVID-19. Natural Reviews Immunology. 2020;20:581–582. https://doi.org/10.1038/s41577-020-00436-4

21. Hai-qiong Y., Bao-qing S., Zhang-fu F., Jin-cun Z., Xiao-yu L., Yi-min L. et al. Distinct features of SARSCoV-2-specific IgA response in COVID-19 patients. European Respiratory Journal. 2020;56(2):2001526. https://doi.org/10.1183/13993003.01526-2020.

22. Kudlay D., Kofiadi I., Khaitov M. Peculiarities of the T Cell Immune Response in COVID-19. Vaccines. 2022;10(2):242. https://doi.org/10.3390/vaccines10020242

23. Martynova E., Hamza S., Garanina E. E., Kabwe E., Markelova M., Shakirova V. et al. Long Term Immune Response Produed by the SputnikV Vaccine. International Journal of. Molecular Science. 2021; 22(20):11211. https://doi.org/10.3390/ijms222011211

24. Tukhvatulina A.I., Dolzhikovaa I.V., Shcheblyakova D.V., Zubkovaa O.V., Dzharullaevaa A.S., Kovyrshina A.V. et al. An open, non-randomised, phase 1/2 trial on the safety, tolerability, and immunogenicity of single-dose vaccine "Sputnik Light" for prevention of coronavirus infection in healthy adults. The Lancet Regional Health – Europe. 2021;11: 100241. https://doi.org/10.1016/j.lanepe.2021.100241.

25. Sushentseva N. N., Popov O. S., Polkovnikova I. A., Al'pako S. V., Shcherbak S. G. Differences in Characteristics of T-Cell Immunity to SARS-CoV-2 in Clinically Healthy Subjects. Cell Technologies in Biology and Medicine. 2022;1:133-138. DOI 10.1007/s10517-022-05508-0.

26. COVID-19 Clinical Research Coalition Global coalition to accelerate COVID-19 clinical research in resource-limited settings. *Lancet.* 2020;395(10233):1322–5. doi: 10.1016/S0140-6736(20)30798-4.

27. Hennessey JV. COVID-19 and how it is affecting me as a thyroidologist. *Clin* Thyroidology. 2020;32:154–5. doi: 10.1089/ct.2020;32.154-155.

28. De Vito P, Incerpi S, Pedersen JZ, Luly P, Davis FB, Davis PJ. Thyroid hormones as modulators of immune activities at the cellular level. Thyroid. 2011;21(8):879–90. doi: 10.1089/thy.2010.0429.

29. Tomer Y, Davies TF. Infection, thyroid disease, and autoimmunity. *Endocr Rev.* 1993;14(1):107–20. doi: 10.1210/edrv-14-1-107.

30. Franceschi C, Ostan R, Mariotti S, Monti D, Vitale G. The aging thyroid: A reappraisal within the geroscience integrated perspective. *Endocr Rev.* 2019;40(5):1250–70. doi: 10.1210/er.2018-00170.

31. Shih CH, Chen SL, Yen CC, et al. Thyroid hormone receptor-dependent transcriptional regulation of fibrinogen and coagulation proteins. *Endocrinology.* 2004;145(6):2804–14. doi: 10.1210/en.2003-1372.

32. Davis PJ, Glinsky GV, Lin HY, Mousa SA. Actions of thyroid hormone analogues on chemokines. *J Immunol Res.* 2016;2016:3147671. doi: 10.1155/2016/3147671.

33. Bartalena L, Brogioni S, Grasso L, Martino E. Interleukin-6 and the thyroid. *Eur J Endocrinol.* 1995;132(4):386–93. doi: 10.1530/eje.0.1320386.

34. Mazziotti G, Sorvillo F, Piscopo M, et al. Innate and acquired immune system in patients developing interferon-alpha-related autoimmune thyroiditis: A prospective study. *J Clin Endocrinol Metab.* 2005;90(7):4138–44. doi: 10.1210/jc.2005-0093.

35. Ferrari SM, Fallahi P, Galetta F, Citi E, Benvenga S, Antonelli A. Thyroid disorders induced by checkpoint inhibitors. *Rev Endocr Metab Disord.* 2018;19(4):325–33. doi: 10.1007/s11154-018-9463-2.

36. Scappaticcio L, Castellana M, Virili C, et al. Alemtuzumab-induced thyroid events in multiple sclerosis: A systematic review and meta-analysis. *J Endocrinol Invest.* 2020;43(2):219–29. doi: 10.1007/s40618-019-01105-7.

37. Nishihara E, Ohye H, Amino N, et al. Clinical characteristics of 852 patients with subacute thyroiditis before treatment. Intern Med. 2008;47(8):725–9. doi: 10.2169/internalmedicine.47.0740.

38. Akamizu T. Thyroid storm: A japanese perspective . Thyroid. 2018;28(1):32–40. doi: 10.1089/thy.2017.0243.