

Методические аспекты формирования парсипативного направления медицины на примере использования различных видов биоматериала для диагностики COVID-19

Д. Г. Денисов, мед. директор¹

Д. Ю. Нохрин, к.б.н., доцент кафедры микробиологии, иммунологии и общей биологии биологического факультета²

В. С. Эмануэль, ординатор³

В. Л. Эмануэль, д.м.н., проф., акад. Метрологической академии, зав. кафедрой клинической лабораторной диагностики с курсом молекулярной медицины³

¹ООО «НПФ „Хеликс“», г. Санкт-Петербург

²ФГБОУ ВО «Челябинский государственный университет», г. Челябинск

³ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова» Минздрава России, г. Санкт-Петербург

Methodological aspects of formation of parsipative direction of medicine on example of using various types of biomaterial for COVID-19 diagnosis

D. G. Denisov, D. Yu. Nochrin, V. S. Emanuel, V. L. Emanuel

Helix Co., Saint Petersburg; Chelyabinsk State University, Chelyabinsk; First Saint Petersburg State Medical University n.a. I. P. Pavlov, Saint Petersburg; Russia

Резюме

Развитие лабораторной диагностики осуществляется не только технологической модернизацией, но и расширением объема неинвазивных исследований с активным участием пациентов при сборе биоматериалов. Результаты исследования у 68 пациентов показали, что наиболее эффективная верификация SARS-CoV-2 осуществляется при активном участии пациента при сборе биоматериала. Повышение информативности исследований развивают методы логического анализа, позволяющие получать новое знание о предметной области.

Ключевые слова: преаналитический этап, слюна, ПЦР, SARS-CoV-2, медицинская информатика.

Summary

The development of laboratory diagnostics is carried out not only by technological modernization, but also by the expansion of the volume of non-invasive studies with the active participation of patients in the collection of biomaterials. According to the results of the study with 68 patients the most effective verification of SARS-CoV-2 is carried out with the active participation of the patient in the collection of biomaterials. Increasing the information content of research is being developed by methods of logical analysis, which allow obtaining new knowledge about the subject area.

Key words: preanalytical stage, saliva, PCR, SARS-CoV-2, medical informatics.

Введение

Возрастающая информативность данных о составе и свойствах биологических материалов из организма человека за счет расширения спектра и технологической глубины, а также повышения качества исследований позволяет рассматривать это направление как одно из лидирующих в трансформации парадигмы здравоохранения, в том числе расширения партисипативной составляющей, то есть активного участия объекта исследования. Одним из компонентов этой проблемы являются методические вопросы при расширении спектра биологических материалов, особенно в современной тенденции увеличения роли неинвазивных технологий и активной роли пациентов по сбору биоматериалов. Особенно актуальным решение этой задачи становится в условиях существенного перегруза медперсонала, проявившегося при пандемии COVID-19.

Материал и методы

Материал – 68 пациентов: 16 мужчин и 52 женщины в возрасте от 20 до 93 лет, у которых вирус определялся одновременно в четырех биоматериалах: 1) мазок из носа (сбор осуществлял медперсонал); 2) мазок из зева (сбор осуществлял медперсонал); 3) мазок из зева (сбор осуществлял испытуемый самостоятельно); 4) слюна (сбор осуществлял испытуемый самостоятельно). Сбор биоматериала осуществлялся в соответствии с временными методическими рекомендациями «Профилактика, диагностика и лечение новой коронавирусной инфекции (COVID-19)», версия 7 от 03.06.2020. Пациент перед самостоятельным сбором биоматериала из зева получал инструктаж в форме памятки, иллюстрирующей необходимые манипуляции и поясняющий текст (схема 1).

Верификация SARS-CoV-2 проводилась методом ОТ-ПЦР на автоматических детектирующих амплификаторах DTrime фирмы «ДНК-Технология» с использованием наборов реагентов для РТ-ПЦР-ОТ SARS-CoV-2/SARS-CoV производства «ДНК-Технология». Положительный результат был подтвержден в дополнительных тестах путем повторного выделения генетического материала из первичного образца и повторной постановки ОТ-ПЦР на тест-системах другой серии.

В ходе статистического анализа использовали методы описательной статистики, выборочных сравнений и анализа диагностической эффективности. Для возраста рассчитывали: минимум и максимум; медиану и квартили; среднее с 95%-м доверительным интервалом (95% ДИ), вычисленным процедурой непараметрического бутстрепа (метод процентилей; $n = 99999$). Для всех ка-

качественных показателей рассчитывали абсолютные (в шт.) и относительные (в процентах) частоты с 95%-м ДИ, вычисленные по Джеффрису (байесовский априорный интервал) [1]. Для оценки величины эффекта различий по возрасту рассчитывали разность средних, а по соотношению качественных признаков (пол, градации возраста) – относительный риск *RR* и отношение шансов *OR*. Сравнения групп по возрасту проводили с помощью рандомизационного варианта *U*-критерия Манна–Уитни, а по полу – рандомизационной техникой Монте-Карло ($n = 99999$) для таблицы сопряженности 2×2 .

В ходе анализа диагностической эффективности наличие или отсутствие верифицированного диагноза учитывалось на момент проведения исследования, независимо от истории болезни пациента, и использовалось в качестве критерияльного («золотого») стандарта для расчетов чувствительности, специфичности и ROC-анализа. Сравнения результатов диагностики по разным биоматериалам между собой проводили с помощью точного биномиального критерия на симметрию таблицы 2×2 (точный вариант критерия Макнемара) и по разности между ROC-кривыми.

Расчеты выполнены в пакетах EpiTools [2], PAST 4.01 [3], и MedCalc 13.0. Статистически значимыми признавали различия при $P \leq 0,05$, незначимыми – при $P > 0,10$, в промежуточных случаях обсуждали тенденции к различиям.

Результаты

Отрицательный результат теста отмечен у 57 (83,8%) пациентов, положительный – у 11 (16,2%). Среди положительных результатов чаще всего верификация SARS-CoV-2 была получена из проб слюны (в 10 из 11 случаев). По другим биоматериалам положительные результаты распределились следующим образом: мазок из зева при самостоятельном заборе – 5; мазок из зева при сборе медперсоналом – 4; мазок из носа при сборе медперсоналом – 3. Верификация по всем четырем биоматериалам получена у 2 из 11 пациентов с положительным результатом на COVID-19.

Возрастные и гендерные различия

В ходе анализа на сопоставимость групп лиц с положительными и отрицательными результатами на наличие

ЗАБОР МАТЕРИАЛА

1. Мазки берут сухими стерильными зондами
2. Зонд вводят легким движением
3. **ПО НАРУЖНОЙ СТЕНКЕ** полости носа на глубину 2-3 см до нижней носовой раковины
4. Затем зонд слегка опускают книзу, вводят в нижний носовой ход
5. под нижнюю носовую раковину, и удаляют вдоль **НАРУЖНОЙ СТЕНКИ** полости носа, производя вращательные движения (3-4 см у детей и 5-6 см у взрослых)
6. Конец зонда отламывают с расчетом, чтобы он позволил плотно закрыть крышку пробирки.
7. Пробирку с раствором и рабочей частью зонда закрывают.



Нельзя обрезать зонды ножницами!

Схема 1. Памятка для испытуемого по сбору биоматериала для ПЦР исследования.

Таблица 1
Гендерные различия в частоте положительных результатов теста на COVID-19

Пол	Абсолютная (относительная) частота результата [95% ДИ]		Величина эффекта [95% ДИ]	Значимость различий
	Положительный	Отрицательный		
Мужчины ($n = 16$)	6 (37,5%) [17,4; 61,7]	10 (62,5%) [38,3; 82,6]	$RR = 3,91$ [1,37; 11,1] $OR = 5,65$ [1,43; 22,2]	$P_{\text{Монте-Карло}} = 0,016$
Женщины ($n = 52$)	5 (9,6%) [3,8; 19,8]	47 (90,4%) [80,2; 96,2]	$RR = 0,26$ [0,09; 0,73] $OR = 0,18$ [0,05; 0,70]	

Примечание: здесь и далее жирным шрифтом выделены статистически значимые эффекты.

Таблица 2
Возрастные различия выборок пациентов с разными результатами теста на COVID-19

Характеристики	Результат		Значимость различий
	Положительный (n = 11)	Отрицательный (n = 57)	
Минимум – максимум	23–93	20–62	$U_{(11; 57)} = 184$ $P = 0,029$
Медиана (квартили)	38 (28–60)	31 (28–36)	
Среднее [95% ДИ]	44,3 [34,2; 56,5]	32,3 [30,6; 34,2]	
Разность средних [95% ДИ]	12,0 [5,3; 18,7]		

вируса по возрасту и полу были обнаружены заметные различия, результаты представлены в табл. 1, 2 и на рис. 1.

В выборке больных COVID-19 статистически значимо преобладали мужчины: 37,5% всех мужчин в исследовании против 9,6% всех женщин. Полученные различия можно рассматривать как косвенный признак того, что относительный риск заболевания для мужчин был в 3,9 раза выше.

Пациенты с положительным результатом на COVID-19 были статистически значимо старше в среднем на 12 лет. При использовании возраста в качестве прогностического показателя в ROC-анализе было установлено, что максимальные значения чувствительности и специфичности достигаются при использовании в качестве точки отсечения значения в 36 лет, что косвенно указывает на увеличение риска заболевания после этого возраста.

Расчет показал, что у лиц старше 36 лет относительный риск заболевания выше в 6,4 раза – $RR = 6,4$ (95%-й ДИ: 1,89–21,70), а шансы в 10 раз – $OR = 10,0$ (95%-й ДИ: 2,30–43,60).

Различия между биоматериалами

Для оценки диагностической эффективности (в широком смысле) тестов на COVID-19 с использованием различных биоматериалов были рассчитаны показатели чувствительности, специфичности, диагностической эффективности (в узком смысле как среднее между чувствительностью и специфичностью), а также площади под ROC-кривой (*AUC*), которая для нашего случая качественного альтернативного показателя строилась только по трем точкам. Как видно из табл. 3, минимальной диагностической эффективностью характеризовалась процедура со взятием мазка из носа, а максимальной – с анализом слюны.

Таблица 3
Диагностическая эффективность тестов на COVID-19 с использованием различных биоматериалов

Показатели	Мазок из носа (медперсонал)	Мазок из зева (медперсонал)	Мазок из зева (самостоятельно)	Слюна
Чувствительность, % [95% ДИ]	27,3 [8,3; 56,5]	54,5 [27,0; 80,0]	81,8 [53,3; 96,0]	90,9 [64,7; 99,0]
Специфичность, % [95% ДИ]	98,2 [92,1; 99,8]	100,0 [95,7; 100,0]	100,0 [95,7; 100,0]	100,0 [95,7; 100,0]
Диагностическая эффективность, %	62,75	77,25	90,90	95,45
Площадь под ROC-кривой [95% ДИ]	0,628 [0,502; 0,742]	0,773 [0,655; 0,866]	0,909 [0,814; 0,965]	0,955 [0,875; 0,990]
Значимость диагностики	$P = 0,072$	$P < 0,001$	$P < 0,001$	$P < 0,001$

Таблица 4
Значимость парных различий между биоматериалами в результатах диагностики COVID-19 по точному биномиальному критерию (верхняя треугольная матрица) и по площади под ROC-кривой (нижняя треугольная матрица)

	Мазок из носа (медперсонал)	Мазок из зева (медперсонал)	Мазок из зева (самостоятельно)	Слюна
Мазок из носа (медперсонал)	–	$P = 0,688$	$P = 0,180$	$P = 0,070$
Мазок из зева (медперсонал)	$P = 0,138$	–	$P = 0,250$	$P = 0,219$
Мазок из зева (самостоятельно)	$P = 0,007$	$P = 0,053$	–	$P > 0,999$
Слюна (самостоятельно)	$P < 0,001$	$P = 0,074$	$P = 0,576$	–

Если оценивать идентичность данных, полученных с использованием разных биоматериалов, то следует использовать статистические критерии симметрии или критерии краевой однородности. В случае слабонасыщенных таблиц (с малым количеством данных) более предпочтительным является точный биномиальный критерий, который не требует введения поправок на непрерывность. Результаты сравнения биоматериалов с его помощью приведены в верхней части *табл. 4*. Согласно им имеется лишь тенденция к различию крайних по эффективности вариантов (мазок из носа – слюна). Если же относиться к сравнению методов с использованием различных биоматериалов именно как к сравнению диагностических процедур, то можно задействовать сравнение площадей под ROC-кривыми. Как видно из нижней части *табл. 4*, в этом случае статистически значимо различались методики с анализом мазка из носа, с одной стороны, и мазка из зева или слюны – с другой.

Заключение

В ходе исследования между группами пациентов с положительным и отрицательным результатом теста на COVID-19 были обнаружены статистически значимые различия по полу (у мужчин риск выше) и возрасту (у лиц старше 36 лет риск

выше). Наибольшей диагностической эффективностью характеризуется методика с самостоятельным сбором и последующим лабораторным исследованием слюны, наименьшей – с анализом мазка из носа. Также были выявлены статистически значимые отличия по показателям чувствительности и диагностической специфичности между вариантами взятия мазка из ротоглотки (зева) медицинским работником и самостоятельным взятием данного вида материала пациентом. По вышеуказанным показателям самостоятельное взятие материала превосходило методику взятия аналогичного мазка медицинским работником.

Следует отметить, что, несмотря на обнаружение статистически значимых эффектов, которые с высокой вероятностью будут воспроизведены в аналогичных исследованиях в границах, задаваемых доверительными интервалами, проведенное исследование характеризуется низкой мощностью. При оценке результатов исследований с ограниченным количеством измерений необходимо вносить коррекцию, основанную на законы математической статистики, в частности согласно формуле Бернулли [4].

В целом поиск, описание и структурирование закономерностей в данных о системно сложных объектах требуют особых математических

подходов, а также критериев оценки диагностических и прогностических моделей. Наиболее активно такие подходы в настоящее время развиваются в рамках направления, получившего название «Интеллектуальный анализ данных». Методы логического анализа, что очень важно, предоставляют возможность интерпретировать результаты анализа, получать новое знание о предметной области.

Результаты исследования свидетельствуют о возможности модуляции преаналитического этапа введением принципов партисипативной медицины, то есть при активном участии пациента. Иначе говоря, психологическая ориентация пациента на участие в получении истинных результатов лабораторного исследования, соответствующий инструктаж позволяют улучшать качество преаналитического этапа исследования и одновременно снизить профессиональные риски медперсонала.

Список литературы

1. В. А. Дюк, В. А. Эмануэль. Информационные технологии в медико-биологических исследованиях. СПб.: Питер. 2003. 528 с., ил.
2. Sergeant E. S. G. Epitools epidemiological calculators. Ausvet Pty Ltd., 2020. URL: <http://epitools.ausvet.com.au/content.php?page=CIPProportion> (дата обращения: 20.06.2020).
3. O. Hammer, D. A. T. Harper, P. D. Ryan. PAST: Paleontological statistics software package for education and data analysis. // *Paleontologia Electronica*. 2001. № 1. P. 1–9.
4. Методические рекомендации по порядку проведения экспертизы качества, эффективности и безопасности медицинских изделий. / ВНИИИМТ и ЦМИКЭ Росздравнадзора, 14.11.2013. 58 с.

