

Doktori (PhD) - értekezés

**A COVID-19 betegség patomechanizmusának és
lefolyásának vizsgálata: epidemiológiai,
diagnosztikai, klinikai és intenzív osztályos
vonatkozások**

dr. Hamar Ágoston László

Pécsi Tudományegyetem, OGYDHT Pécs

2024

Doktori (PhD) - értekezés

dr. Hamar Ágoston László

témavezető: dr. Gombos Katalin PhD, egyetemi docens

**A COVID-19 betegség patomechanizmusának és
lefolyásának vizsgálata: epidemiológiai, diagnosztikai,
klinikai és intenzív osztályos vonatkozások**



Pécsi Tudományegyetem, OGYDHT Pécs

Klinikai Orvostudományok Doktori Iskola

Doktori Iskola vezető: Prof. Dr. Bogár Lajos egyetemi tanár

**Doktori program: Molekuláris patológiai és laboratóriumi vizsgálatok jelentősége az
orvosi diagnosztikában és terápiában**

Programvezető: Dr. Miseta Attila egyetemi tanár, DSc

2024

Tartalomjegyzék

Rövidítésjegyzék	4
1. Bevezetés	7
1.1 A koronavírusok besorolása	7
1.2 A koronavírusok szerkezete	8
1.3 A SARS-CoV-2 vírus szerkezete, molekuláris patomechanizmusa	9
1.4 A SARS-CoV-1 és a MERS-CoV, viszony a SARS-CoV-2 vírushoz	10
1.5 Mutációk, vírusvariánsok, nomenklatúra	11
1.5.1 A SARS-CoV-2 legjelentősebb mutációi	
1.6 A COVID-19 járvány epidemiológiája	15
1.6.1 Reprodukciós ráta	
1.7 A legfontosabb variánsok	16
1.7.1 Korai európai variánsok	
1.7.2 Alfa variáns	
1.7.3 Delta variáns	
1.7.4 Omikron variáns	
1.8 A SARS-CoV-2 fertőzés diagnosztikája	17
1.8.1 Nukleinsav amplifikációs tesztek	
1.8.2 Antigén tesztek	
1.8.3 Antitest / szerológiai tesztek	
1.9 A COVID-19 betegség	21
1.10 Komorbiditások	21
1.11 Intenzív osztályos laboratóriumi- és klinikai paraméterek	22
1.12 Gépi tanulós módszerek	24
2. Célkitűzés	26
2.1 A dinamikus, interaktív epidemiológiai térképre vonatkozó célkitűzések	26
2.2 A Panbio rapid antigén teszt vizsgálatára vonatkozó célkitűzések	27

2.3 A súlyos kimenetelű SARS-CoV-2 infekcióhoz társuló klinikai, laboratóriumi és	
molekuláris genetikai paraméterek vizsgálatára vonatkozó célkitűzések	27
3. Anyagok és módszerek	28
3.1 A dinamikus, interaktív epidemiológiai térképre vonatkozó anyag- és módszertan	28
3.1.1 Mintagyűjtés – PCR	
3.1.2 Adatgyűjtés, adatkezelés	
3.1.3 Adatfeldolgozás, vizualizáció	
3.2. A Panbio rapid antigén teszt analitikai teljesítményének vizsgálatára vonatkozó anyag- és módszertan	30
3.2.1 Mintagyűjtés	
3.2.2 Nukleinsav extrakció és reverz-transzkripcióval való idejű polimeráz láncreakció (RT-qPCR)	
3.2.3. Adatgyűjtés, adatkezelés	
3.3 A súlyos kimenetelű SARS-CoV-2 infekcióhoz társuló klinikai, laboratóriumi és molekuláris genetikai paraméterek vizsgálatára vonatkozó anyag- és módszertan	32
3.3.1 Vírusvariáns alapú analízis	
3.3.2 Adatgyűjtés, adatfeldolgozás	
3.3.3 Random forest analízis	
3.3.4 Teljes genom szekvenálás (WGS)	
3.4. Etikai vonatkozások	37
3.5 Statisztika	38
4. Eredmények	39
4.1 A dinamikus, interaktív epidemiológiai térképre vonatkozó analízis	39
4.2 A Panbio RAT diagnosztikus teljesítményére vonatkozó vizsgálatok	48
4.3. A súlyos kimenetelű SARS-CoV-2 infekcióhoz társuló klinikai, laboratóriumi és molekuláris genetikai paraméterek vizsgálata	53
5. Megbeszélés	71
5.1 A dinamikus, interaktív epidemiológiai térkép	71

5.2 A Panbio RAT diagnosztikus teljesítménye	72
5.3 A súlyos kimenetelű SARS-CoV-2 infekcióhoz társuló klinikai, laboratóriumi és molekuláris genetikai paraméterek vizsgálata	75
6. Összefoglalás	82
7. Új eredmények	84
8. Irodalomjegyzék	85
9. Köszönetnyilvánítás	102
10. Függelék	103

Rövidítésjegyzék

ACE2 - angiotenzin konvertáló enzim-2

ANOVA - varianciaanalízis

AUC - görbe alatti terület (area under the curve)

cDNS - komplement DNS

CI - konfidencia intervallum

CK - kreatin kináz

CKD - krónikus vesebetegség

CLIA - kemilumineszcens immunoassay

COPD - krónikus obstruktív tüdőbetegség

CRP - C-reaktív protein

Ct - cycle threshold, küszöbérték

CT - komputer tomográfia

CTSS - komputer tomográfia súlyossági pontszám (CT severity score)

DM - cukorbetegség

DNS - dezoxiribonukleinsav

E protein - koronavírus borítékfehérje (envelope)

ECDC - Európai Betegségmegelőzési és Járványvédelmi Központ (European Centre for Disease Prevention and Control)

ELISA - enzimhez kötött immunoszorbens assay

ETI - endotracheális intubáció

GGO - tejüveg-homály (ground glass opacity)

GISAID - Global Initiative On Sharing Avian Influenza Data

HE protein - hemagglutinin-észteráz

HFNO2 - nazális nagy áramlású oxigénterápia (high-flow nasal oxygen)

HT - magas vérnyomás, hipertónia

ICTV - Nemzetközi Vírustaxonomiai Bizottság (International Committee on Taxonomy of Viruses)

ICS - inhalációs kortikoszteroid

IFN- β - interferon-béta

IgG - immunglobulin G

IgM - immunglobulin M

IL-6 - interleukin-6

IQR - interkvartilis terjedelem

ITO - intenzív terápiás osztály

JSON - JavaScript Object Notation

kb - kilobázis

kDa - kilodalton

LDH - laktát dehidrogenáz

LFIA - lateral flow immunoassay

M protein - koronavírus membránfehérje

MDA - átlagos pontosság csökkenés (MeanDecreaseAccuracy)

MDG - átlagos Gini-score csökkenés (MeanDecreaseGini)

MDS - multidimenziós skálázás

MERS-CoV - Middle East Respiratory Syndrome Coronavirus

MNP - mágneses nanorészecske

mRNS - messenger ribonukleinsav

N protein - koronavírus nukleokapszid fehérje

NA - hiányzó adatok (not available)

NAAT - nukleinsav amplifikációs tesztelés (nucleic acid amplification testing)

NIH - Nemzeti Egészségügyi Intézetek (National Institutes of Health)

NIV - non-invazív ventilációs maszk

NPV - negatív prediktív érték

OR - esélyhányados (odds ratio)

P/F - PaO₂ / FiO₂ / Horovitz-index, az artériás oxigén parciális nyomásának és a belélegzett oxigén frakciójának hányadosa

PCT - prokalcitonin

PPV - pozitív prediktív érték

PTE KK - Pécsi Tudományegyetem Klinikai Központ

R_0 - reprodukciós ráta

RAT - rapid antigén teszt

RBD - receptorkötő domén (receptor binding domain)

RdRp - RNS-függő RNS polimeráz

RF - random forest

RNS - ribonukleinsav

ROC - "hatásfokmérő karakterisztika" (receiver operating characteristics)

RT-LAMP - reverz transzkripció loop-mediált izotermális amplifikáció

RT-qPCR - valós idejű, reverz transzkripció kvantitatív polimeráz lánreakció

S protein - koronavírus tüskefehérje (spike)

SARS-CoV - Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus

SGTF - S-célgen detektálási hiba (S gene target failure)

TMPRSS2 - transzmembrán szerin proteáz 2

TNF- α - tumor nekrozis faktor alfa

VOC - aggodalomra okot adó variáns (Variant Of Concern)

VOI - érdeklődésre okot adó variáns (Variant Of Interest)

VTE - vénás tromboembóliás események

VTM - vírus transzport médium

VUM - megfigyelés alatt álló variáns (Variant Under Monitoring)

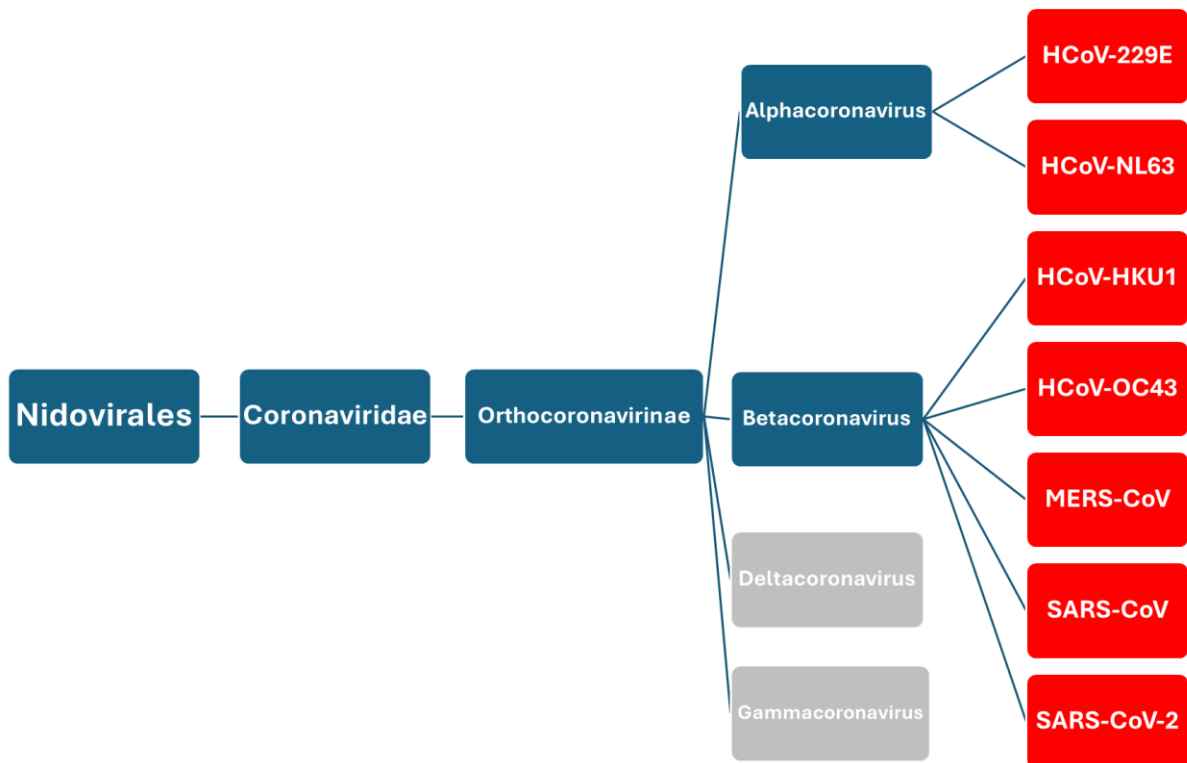
WGS - teljes genom szekvenálás (whole genom sequencing)

WHO - Egészségügyi Világszervezet (World Health Organization)

1. Bevezetés

1.1. A koronavírusok besorolása

A Nemzetközi Vírustaxonómiai Bizottság (ICTV) legfrissebb taxonómiája szerint ([1. online hivatkozás](#)) a koronavírusok a Nidovirales rend Coronaviridae család Orthocoronavirinae alcsaládjába tartoznak. A Nidovirales rend azon vírusokat foglalja magában, melyek fészekszerű messenger ribonukleinsavat (mRNS)-t használnak replikációjukhoz. A koronavírusok alcsaládján belül megkülönböztetjük az alfa-, béta-, delta-, és gammakoronavírusok nemzetségét, melyek közül emberre az alfa- és bétakoronavírusok veszélyesek. A humán fertőző alfakoronavírusok közé tartozik a HCoV-229E és HCoV-NL63, a bétakoronavírusok közé pedig a HCoV-HKU1, HCoV-OC43, Middle East Respiratory Syndrome Coronavirus (MERS-CoV), Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus (SARS-CoV), és a SARS-CoV-2.



1. ábra: A koronavírusok taxonómiája, humán fertőző koronavírusok (pirossal jelölve)

1.2. A koronavírusok szerkezete

A koronavírusok nevüket az elektronmikroszkóp alatt megfigyelhető koronaszerű szerkezetükről kapták (McIntosh et al., 1967). Pozitív egyszálú RNS örökítőanyaggal rendelkeznek, illetve egy külső kapszidfehérjével (Masters & Perlman, 2013). Az RNS vírusok közül a koronavírusok rendelkeznek a legnagyobb genommal, mely 26 – 32 kilobázis [kb] méretű (Su et al., 2016).

A vírus borítékfehérjeje a vírus RNS genomja által kódolt és a gazdasejt által termelt fehérjéből származik, és glikoprotein tüskéket tartalmaz. A vírusgenom a nukleokapszidon belül, az N proteinhez kötődve, védve található. Az RNS a gazdasejt citoplazmájában replikálódik. A koronavírus genomja 4-5 struktúrfhérjét tartalmaz: tüskefehérje (spike, S), a transzmembrán M protein, a kapszidot alkotó borítékfehérje (envelope, E), a nukleokapszid protein (N) illetve a vírusgenom által kódolt fehérjék között megtalálható a hemagglutinin-észteráz is (HE).

Az S protein 150-200 kDa méretű, gazdagon N-glikozilált, a fehérje trimerjei hozzák létre a jellegzetes tüske mintázatot a vírus felszínén (Beniac et al., 2006)(Delmas & Laude, 1990). Ez a trimerikus struktúra segíti a receptorhoz való kötődést (Collins et al., 1982). Gyakran a gazdasejt proteáza hasítja az S proteint S1 és S2 funkcionális doménokra (Abraham et al., 1990)(Luytjes et al., 1987): az S1 a receptorkötődéshez, az S2 a szerkezeti stabilitáshoz járul hozzá (de Groot et al., 1987).

Az M protein 25-30 kDa méretű, három transzmembrán doménnal rendelkező fehérje, melynek van egy N-terminális ekto-, és egy C-terminális endodoménje (Armstrong et al., 1984. Dimer struktúrában van jelen, segít a membrángörbület fenntartásában, illetve a nukleokapszidhoz való kötődésben (Neuman et al., 2011).

Az E protein 8-12 kDa méretű, ioncsatorna-aktivitással rendelkezik, a vírus összeszerelésében és sejtől való kijuttatásában vesz részt, a fertőzőképesség szempontjából fontos szerepe van.

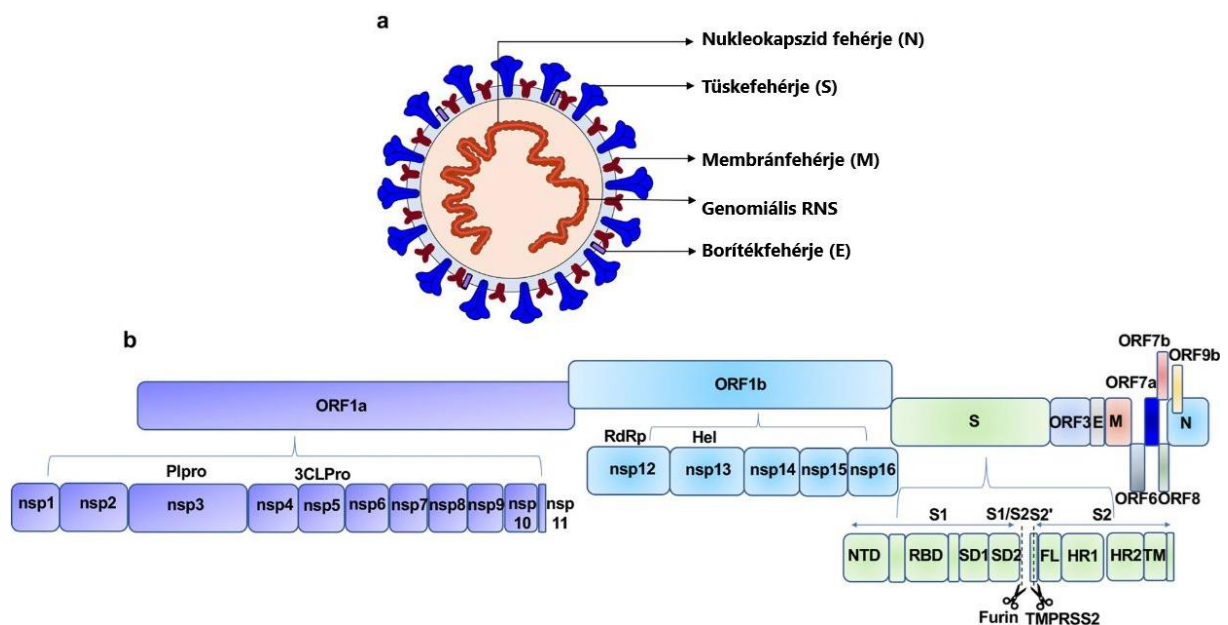
Az N protein a nukleokapszid része, a virális RNS-hez kötődik, mellyel együtt létrehoznak egy gyöngyfüzér-szerű struktúrát. Segíti a kapsziddal borított vírusgenom vírusrészecskébe történő csomagolását: interakcióba lép az M és NSP3 fehérjével (amely a replikáz komplex része, elősegíti a replikáz-transzkriptáz komplex kötődését).

A HE protein mindössze néhány bétakoronavírusban található meg. A HE a virion glikoproteinek felszínén lévő szialsavhoz képes kötődni: a kötődés hatására, illetve az észteráz-aktivitásával a gazdasejtbe történő belépést segíti elő, az S protein közreműködésével

(Klauegger et al., 1999). A HE proteinek a nyálkahártyán való terjedésben is szerepet játszanak (Cornelissen et al., 1997).

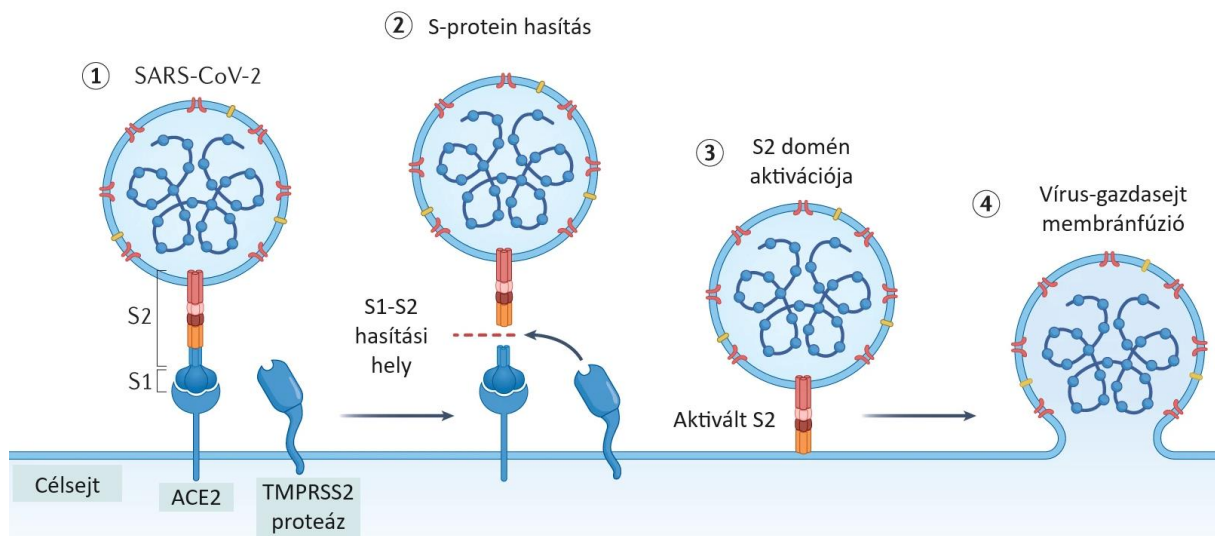
1.3. A SARS-CoV-2 vírus szerkezete, molekuláris patomechanizmusa

A SARS-CoV-2 genomja közel 30 kb méretű, 29 fehérjét kódol, 4 struktúrfehérjével: S, M, E, N proteinek. A nem struktúrfehérjék (pl. RNS-függő RNS polimeráz, RdRp) az RNS-replikációban, immunrendszer kikerülésében játszanak szerepet, a kiegészítő fehérjék pedig a fertőzésben, túlélésben, gazdasejtek közötti kapcsolatban vesznek részt.



2. ábra: a SARS-CoV-2 vírus (a) és genom (b) sematikus szerkezete. ORF: open reading frame, nsp: non-strukturális protein, PLpro: papain-like proteáz, 3CLPro: 3C-like proteáz, Hel: helikáz, NTD: N-terminális domén, RBD: receptorkötő domén, SD1-2: szubdomén, FL: fusion loop, HR1-2: heptád repeat, TM: transzmembrán domén. Forrás: (Zhang et al., 2021)

A tüskefehérje két alegységből áll: az S1 alegység (mely tartalmazza a receptorkötő domént [RBD]) kapcsolódik az ACE2 receptorához, az S2 pedig a későbbi membránfúzióban vesz részt. Az S1 és S2 alegység határán egy furin hasítási elem helyezkedik el. Ehhez kapcsolódik a gazdasejt transzmembrán szerin proteáz 2 (TMPRSS2) enzime, ami elhasítja a tüskefehérjét az S1-S2 határon (Hoffmann et al., 2020) (W. Li et al., 2003)(Beumer et al., 2021). Ennek hatására az S2 alegység aktiválódik, és konformációváltozást követően a vírus és gazdasejt lipid kettősrétegeinek fuzionálását kezdeményezi, ezt követően a vírus ribonukleoprotein komplexe a gazdasejtbe kerül.



3. ábra: A SARS-CoV-2 fertőzési mechanizmusa (Lamers & Haagmans, 2022)

A tüskefehérje a fent említett ACE2 receptort ismeri fel, és kötődik hozzá. Az ACE2 az ACE homológja, egy membránhoz kötött fehérje, megtalálható a szívizom-, vese proximális tubulus-, vékonybél-, tüdő – (különösen a II. típusú alveoláris hámsejtek) sejtjeiben. Legfontosabb feladata az angiotenzin II lebontása angiotenzin-(1-7)-té, mely fontos szerepet tölt be a vérnyomásszabályzásban (KEIDAR et al., 2007). A SARS-CoV-2 tüskefehérjéje szignifikánsan magasabb affinitással kötődik az ACE2 receptorhoz, mint a SARS-CoV (Walls et al., 2020), amely hozzájárulhat a fertőzés gyorsabb terjedéséhez. A SARS-CoV és SARS-CoV-2 tüskefehérjék között kb. 24% szerkezeti eltérés található.

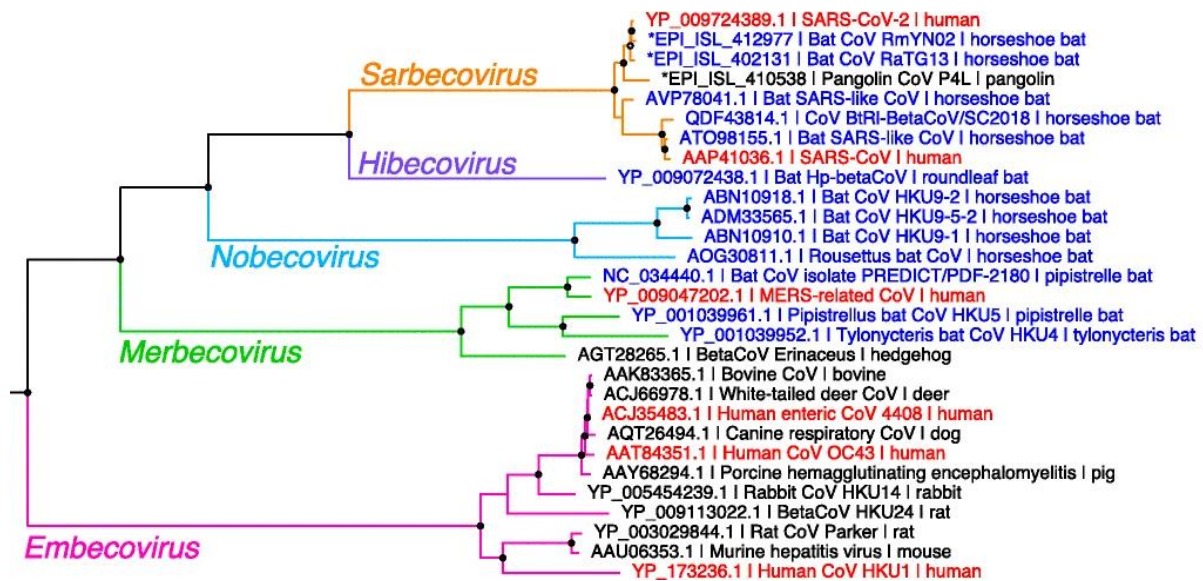
1.4. A SARS-CoV-1 és a MERS-CoV, viszony a SARS-CoV-2 vírushoz

A SARS-CoV-1-et a kínai Guangdong régióban azonosították először 2002-ben, a járvány kitörése egy Hong Kong-i hotelből származik. Forrását egy élőállat-piachoz kötik, gazdaállatként a kínai patkósdenevéreket megjelölve (Lau et al., 2005) (W. Li et al., 2005). A SARS-CoV-1 tünetei között leggyakrabban a láz, izomfájdalom, légszomj, fejfájás, nem produktív köhögés szerepelt. Mortalitása 9% volt, a fertőzés átvitele kizárólag direkt kontaktus útján terjedt, amelyre a karantén egy effektív megoldást jelentett: 2003 júniusa után gyakorlatilag megszűnt a járvány.

A MERS-CoV 2012-ben jelent meg Szaúd-Arábiában, melyet szintén denevérektől származtatnak, azonban a köztes gazdaállatok a fertőzött egypúpú tevék, melyeknek érintése, vagy tejének / húsának fogyasztása volt az emberi fertőződés forrása. A MERS-CoV tünetei

hasonlóak voltak a SARS-CoV-1-hez (torokfájdalom is előfordult), azonban mortalitása 34% volt.

A SARS-CoV-1 és SARS-CoV-2 patomechanizmusát tekintve a humán angiotenzin konvertáló enzim-2 (ACE2) receptorhoz kötődik (lsd. következő fejezet), míg a MERS-CoV a dipeptidil-peptidáz 4 (DPP4) receptorhoz kapcsolódik. Szekvenciáját tekintve a SARS-CoV-2 két denevér eredetű koronavírushoz hasonlít 88%-ban, az embereket fertőző SARS-CoV-1-hez 79%-ban, míg a MERS-hez 50%-ban (R. Lu et al., 2020). A három vírus filogenetikai viszonya az alábbi, 4. ábrán látható.



4. ábra: a bétakoronavírusok filogenetikai ábrája (piros: humán, kék: denevér, Nakagawa & Miyazawa, 2020)

1.5. Mutációk, vírusvariánsok, nomenklatúra

A mutációk a vírusreplikáció természetes velejárói. Az RNS-vírusoknak alapvetően magasabb mutációs rátájuk van a dezoxiribonukleinsav (DNS) vírusokhoz képest - az RNS polimeráz proofreading-aktivitás hiánya (Drake, 1993), a magasabb replikációs ráta (Sanjuán et al., 2010), és az esetleges rekombináció miatt (Simon-Loriere & Holmes, 2011). A koronavírusok esetén azonban alapvetően kevesebb mutáció keletkezik, ugyanis az RdRp mellett rendelkeznek egy hibajavító enzimmal. A mutációk sorsa a természetes szelekció által dől el – ami előnyös a vírus számára (pl. immunrendszer kikerülése, fertőzőképesség növekedése), az nagyobb valószínűséggel marad fenn. A nomenklatúrában gyakran szinonimaként felváltva használják a mutáció, variáns, törzs (*mutation, variant, strain*) kifejezéseket, pedig az egyes különbségek fontosak. A mutáció a szekvencia tényleges változására utal: pl. a D614G a tüskefehérje 614-es pozíciójában lévő aszparaginsavból glicinre történő kicserélődést jelöli. A szekvenciájukban

eltérő genomokat gyakran nevezik variánsoknak. Ez a kifejezés némileg kevésbé pontos, mivel két variáns egymástól különbözhet egy- vagy több mutációval is. Szigorúan véve egy variánst akkor nevezhetünk vírustörzsnek, ha bizonyíthatóan eltérő fenotípussal rendelkezik (pl. különbség van az antigénképességben, a terjedésben vagy a virulenciában)(Lauring & Hodcroft, 2021). Lineage alatt a közeli rokonságba tartozó vírusok egy csoportját értjük, melyek egy közös őssel rendelkeznek. Sublineage alatt egy adott lineage-ból való egyenes ágú leszármazást értjük, pl. a BA.2.75 sublineage a BA.2 lineage-hoz tartozik ([2. online hivatkozás](#)).

A különböző adatbázisok (Pango, Global Initiative On Sharing Avian Influenza Data [GISAID], Nextstrain) által alkalmazott nevezéktani rendszerek a kutatók által világszerte használatosak. Mindegyik nevezéktani rendszernek megvan a maga előnye és hátránya, azonban a tudományos neveket gyakran nehéz kimondani, előfordul a tévesztés. A hétköznapi emberek egyes variánsokat gyakran az először azonosított földrajzi hely alapján neveznek el, ami diszkriminatív és megfélemlítő lehet. Ezek elkerülése érdekében az Egészségügyi Világszervezet (World Health Organization, WHO) Vírusevolúciós Munkacsoportja 2021 májusában azt a döntést hozta, hogy megkülönböztetésre kerülnek a Variant of Concern (VOC, „aggodalomra okot adó”), Variant of Interest (VOI, „érdeklődésre okot adó”), és Variant under Monitoring (VUM, „megfigyelés alatt álló”) variánsok, melyek közül a VOC és VOI csoportba tartozó vírusok görög ábécé szerinti nevet kaptak. Ez az álláspont 2023 márciusában módosult, ezt követően csak a VOC csoportba tartozó vírusok kerültek görög ábécé szerinti nevezéktan alá ([3. online hivatkozás](#)).

VUM definíció: Olyan SARS-CoV-2 variáns, amelynek genetikai változásai feltehetően befolyásolják a vírus jellemzőit és a növekedési előny (fertőzői képesség / immunrendszer elkerülése / gyorsabb replikáció) korai jeleit más jelenlévő variánsokhoz képest (pl. növekedési előny, amely globálisan, vagy csak egy WHO-régióban fordulhat elő), de amelynek fenotípusos vagy járványügyi hatására vonatkozó bizonyítékok továbbra sem egyértelműek, és amely új bizonyítékok megjelenéséig fokozott megfigyelést és újraértékelést igényel. Ha egy variáns szokatlanul nagyszámú mutációval rendelkezik ismert antigénhelyeken, de nagyon kevés szekvenciával, és nem lehet megbecsülni a relatív növekedési előnyét, akkor egy ilyen variáns VUM-nak nevezhető, ha ≥ 2 országban 2-4 hetes időszakon belül közösségi terjedésre is van bizonyíték.

VOI definíció: Olyan SARS-CoV-2 variáns, amelynek genetikai változásai előre jelzett vagy ismert módon befolyásolják a vírus olyan jellemzőit, mint a terjedés, virulencia, ellenanyag-kikerülés, terápiás szerekre való érzékenység és a kimutathatóság; ÉS - azonosított növekedési előnnyel rendelkezik más keringő variánsokkal szemben több mint egy WHO-régióban, növekvő relatív prevalenciával, az esetek számának időbeli növekedése mellett, vagy más olyan nyilvánvaló járványügyi hatással, amely a globális közegészségügyre jelentkező kockázatra utal.

VOC definíció: Olyan SARS-CoV-2 variáns, amely megfelel a VOI definíciójának (lásd fent), és más variánsokkal összehasonlítva legalább az alábbi kritériumok egyikének megfelel:

- A klinikai betegség súlyosságának fokozódása; VAGY
- A COVID-19 epidemiológiájában bekövetkező változás, amely jelentős hatást gyakorol az egészségügyi rendszerek azon képességére, hogy a COVID-19-ben vagy más betegségben szenvedő betegeket ellássák, és ezért jelentős közegészségügyi beavatkozásokat igényel; VAGY
- A rendelkezésre álló vakcinák hatékonyságának jelentős csökkenése a súlyos betegség elleni védelemben.

WHO-név	PANGO-név	Azonosítás helye	Terjedés	Súlyosság	Kivezetés oka
Alfa	B.1.1.7	Egyesült Királyság	sokkal gyorsabb	súlyosabb	jelentősen csökkent aktivitás, vakcina hatékony ellene
Gamma	P.1	Brazília	gyorsabb	súlyosabb	gyakorlatilag nem detektálható előfordulás
Delta	B.1.617.2	India	gyorsabb	súlyosabb	jelentősen csökkent aktivitás

Omikron	B.1.1.529	Dél-Afrika	gyorsabb	enyhébb lefolrás	jelentősen csökkent aktivitás
---------	-----------	------------	----------	---------------------	-------------------------------------

1. táblázat: néhány példa a korábbi aggodalomra okot adó variánsokra
(egeszsegvonal.gov.hu)

1.5.1. A SARS-CoV-2 legjelentősebb mutációi

A SARS-CoV-2 tüskefehérje RBD-je és a gazdasejt ACE2 receptora közötti interakció kulcsfontosságú, ugyanis az egyes aminosav-mutációk befolyásolhatják a kapcsolódást, hasítást, ezáltal a vírusfertőzés lefolyására, terjedésére hatással vannak. A legelső észlelt mutáció a már korábban említett D614G volt, melyet 2020 februárjában detektáltak. A D614G mutáció hatására a tüskefehérje rugalmasabbá vált, és könnyebben tudta a gazdasejt proteáza hasítani (Yan et al., 2021). Emiatt ez a mutáció a fertőzőképesség növekedésével, és a fertőzött egyénekben magasabb víruskópiaszámmal járt (Korber et al., 2020). Azok a variánsok, melyek ezt a mutációt tartalmazták (PANGO lineage B.1 és leszármazottjai), gyorsan kiszorították a többi variánst és először Európában, majd világszerte dominánssá váltak.

A következő fontos mutáció az N501Y volt, mely egy fokozott ACE2-receptor affinitással rendelkezett a vad-típusú SARS-CoV-2 tüskefehérjéhez képest (R. Wang et al., 2021): megnövekedett fertőzőképességgel társult és szintén gyors terjedés volt rá jellemző, az Egyesült Királyság területén fedezték fel először az alfa (B.1.1.7) variáns kapcsán.

A tüskefehérje H69/V70 deléciós mutációja miatt egyes diagnosztikai kitek nem tudták az S célgénnt azonosítani, ezt a jelenséget S-célgén detektálási hibának (S gene target failure, SGTF) nevezik, szintén először az alfa variáns kapcsán derült rá fény. Ez a mutáció nem társul antitest-elkerülési mechanizmussal, de szükséges a hatékony tüskefehérje-beépüléshez és a fertőzőképességhez (Meng et al., 2021).

A delta (B.1.617.2) variánsban jelenlévő L452R és T478K mutáció fokozza a vírus terjedését, növeli a betegség súlyosságát, csökkenti a vakcinahatékonyt (Dhawan et al., 2022).

Az omikron variáns (B.1.1.529) számos alvariánsal és rendkívül széles mutációs spektrummal rendelkezik, itt figyelhető meg legnagyobb mértékben az „escape” mutációk előfordulása, melyek segítik a vírust az immunrendszer kikerülésében (pl. az E484A a BA.1, BA.2, BA.3 alvariánsok esetén (Kumar et al., 2022)).

1.6. A SARS-CoV-2 epidemiológiája

A SARS-CoV-2 vírust 2019 decemberében észlelték először Vuhan (Kína) városában. Az első megfertőződött betegeket ismeretlen eredetű tüdőgyulladás diagnózisával szállították kórházba, esetükben a közös kapcsolódási pont a vuhani élőállat- és halpiac volt (Bogoch et al., 2020) (H. Lu et al., 2020). 2020 január 30-ig 7734 igazolt kínai fertőzött, és 90 egyéb, más országban (Tajvan, Thaiföld, Fülöp-szigetek stb.) fertőzött beteg adatai alapján a halálozási ráta 2,2% volt (Bassetti et al., 2020). A vírus megjelenése óta eltelt több, mint 4 év alatt a halálozás jelentős ingadozást mutatott mind variánstól, mind országos adatoktól függően. Jelen bekezdés írásakor a worldometers.info alapján a világon több, mint 704 millió fertőzést igazoltak, melyhez több, mint 7 millió halál társult.

1.6.1. Reprodukciós ráta

A reprodukciós ráta (R_0) megmutatja, hogy egy fertőzött beteg hány további másodlagos fertőzéshez vezet egy immunitással nem rendelkező populációban. Amennyiben $R_0 > 1$, a járvány növekedő fázisú terjedést mutat, $R_0 = 1$ esetén stagnálás figyelhető meg, $R_0 < 1$ esetén pedig a járvány terjedése csökken. A legelső adatok alapján a SARS-CoV-2 R_0 értéke 1,9 és 6,5 között helyezkedett el, a legtöbb tanulmányban 2 és 3 közötti R_0 értékek szerepeltek (Park et al., 2020), (Q. Li et al., 2020). Variánsokra történő lebontás esetén már kisebb értékeket találunk (Manathunga et al., 2023):

Alfa $R_0 = 1,22$

Delta $R_0 = 1,38$

Omikron $R_0 = 1,9$.

A R_0 -n kívül egy újonnan megjelenő kórokozó megfékezésének képessége attól is függ, mennyire hatékonyan lehet a fertőző egyéneket elkülöníteni (Fraser et al., 2004). Ez viszont a tünetmentes, vagy csak enyhén tüneteket mutató (és ezért a surveillance során könnyen figyelmen kívül eső) fertőzések arányától és átviteli potenciáljától függ. Függ továbbá a tünetek kialakulása előtt fertőző egyének által történő tünetmentes átvitel lehetőségétől is. Az első tünetmentes fertőzésre vonatkozó becslések 2020 február és márciusában láttak napvilágot, melyek óceánjáró hajókon és repülőutakon történt fertőzéseket és a karanténban töltött időszakot dokumentálták. Ezek alapján a tünetmentes egyének előfordulását 18-31% közé becsülték (Mizumoto et al., 2020), (Nishiura et al., 2020). A korai adatokból az is kiderült, hogy az enyhe tünetekkel járó betegség volt a leggyakoribb kimenetel, különösen a fiatalabb

korcsoportokban. Fontos, hogy a kontaktkövetéses vizsgálatok a tünetek megjelenése idején nagyfokú fertőzőképességet mutattak ki, gyakori volt a transzmisszió a tünetmentes és enyhe tünetekkel rendelkező egyénekről (He et al., 2020), (Johansson et al., 2021), (Ganyani et al., 2020), és bár ritkábban, de volt példa a fertőzés átadására teljesen tünetmentes egyénekről is (Qiu et al., 2021). A tünetmentes egyének előfordulása a tesztelt populációban 0,25% volt, az igazolt COVID-19 eseteknél pedig 40,5% egy közel 30 millió fő adatait tartalmazó, 95 tanulmányt magában foglaló metaanalízis szerint (Ma et al., 2021).

1.7. A legfontosabb variánsok

1.7.1. Korai európai variánsok

Az első jelentős korai európai variáns a B.1.177 (20E.EU1) volt, mely a 2020-as nyár elején került azonosításra Spanyolországban, és Európában dominánssá vált. Ezt követte a B.1.160 (20A.EU2), mely a D614G mutáción kívül egy új, S477N aminosav cserét is tartalmazott, amely a 2020-as őszi, második hullámban a pozitív esetek jelentős részéért volt felelős Európában (Hodcroft et al., 2021), köztük Magyarországon is. Az S477N mutáció segíti a vírus kötődését az ACE2 receptorhoz, ezáltal növeli a fertőzőképességet (Barton et al., 2021). Egy magyar tanulmány szerint (Ari et al., 2022) azonban a fertőzőképesség növekedésére nincs kellő bizonyíték a B.1.160 esetén.

1.7.2. Alfa variáns (B.1.1.7)

Az alfa variánst az Egyesült Királyságban azonosították először, a vuhani vírustörzshöz képest 17 mutációval rendelkeznek. A 17 mutációból 8 a tüskefehérjét érinti. Ide tartozik a korábban említett N501Y és H69/V70 deléció, illetve a P681H is, ami közvetlenül a furin hasítási hely mellett helyezkedik el, elősegíti a tüskefehérje hasítását, illetve rezisztenciát mutat az interferon-béta (IFN- β) ellen a tüdő légzőhámsejtjeiben (Lista et al., 2022). Az alfa variáns általi újrafertőződés nem gyakoribb a vad törzshöz képest (Graham et al., 2021), illetve a vakcinák által indukált immunválaszra is érzékeny.

1.7.3. Delta variáns (B.1.617.2)

A delta variánst először Indiában azonosították 2020 októberében, és idővel fokozatosan kiszorította az alfa variánst. Az alfa variánsnál említett P681-es pozíció ebben az esetben is

mutálódott: P681R, amely fokozott tüskefehérje-hasításhoz, és fokozott gazdasejt-fúziós aktivitáshoz vezet. Az N501Y nincs jelen a delta variánsban, azonban számos további tüskefehérje-mutáció jelen van: T19R, G142D, del157/158, L452R, T478K, D614G, D950N. Az L452R mutáció fokozza a fertőzőképességet, és kikerüli a sejtes immunválaszt (Motozono et al., 2021)(X. Deng et al., 2021). A delta variáns alá tartoznak az „AY.” előtaggal rendelkező sublineage-ok is, pl.: AY.4, AY.43, AY.122.

1.7.4. Omikron variáns (B.1.1.529)

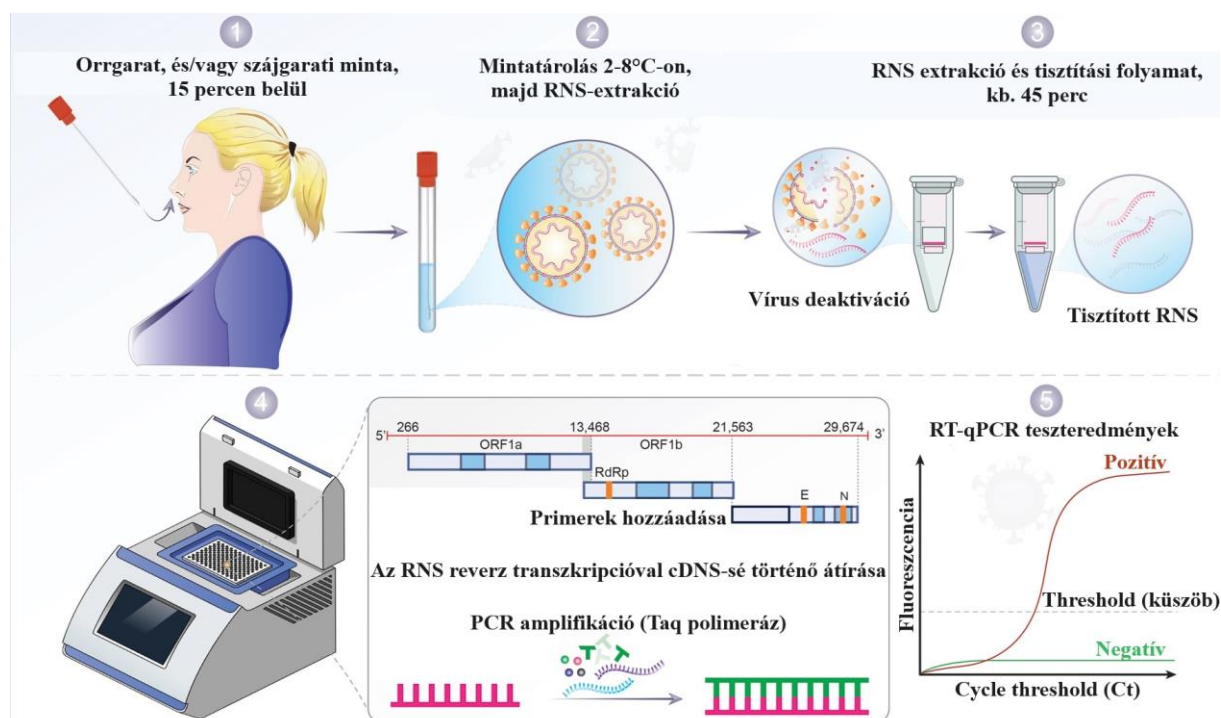
Az omikron variánst 2021 novemberében azonosították Dél-Afrikában, és minden korábbinál több, 32 db tüskefehérje-mutációval rendelkezett. Emiatt a megelőző variánsokhoz képest is kiemelkedően gyorsan terjedt, magas reprodukciós rátával rendelkezett. A BA.1, BA.1.1, BA.2 és BA.3 sublineage esetén 11 közös mutáció van, ami a RBD-t érinti, amely szignifikánsan hozzájárulhat a gyorsabb terjedéshez és az immunrendszer kikerüléséhez (Kumar et al., 2022). A gyors terjedéshez azonban szignifikánsan kevesebb hospitalizáció társult (Mohsin & Mahmud, 2022). A korábban említett SGTF a BA.1, BA.4 és BA.5 sublineage esetén fordult elő (McMillen et al., 2022). Az omikron variáns alá tartozó XBB a BA.2.10.1 és BA.2.75 sublineage rekombinációjából jött létre, számos országban okozott fertőzéseket. A disszertáció írásakor aktuális variáns a JN.1, mely a BA.2.86 leszármazottja. A SARS-CoV-2 törzsek folyamatosan mutálódnak, melyeknek hatása a fertőzésre, megbetegedés súlyosságára, halálra is ezzel egyidőben változik. Emiatt a naprakész surveillance rendszer, a vírustörzsek monitorozása fontos, hogy a hatásokat, változásokat mihamarabb észleljük és reagáljunk rá.

1.8. A SARS-CoV-2 fertőzés diagnosztikája

1.8.1. Nukleinsav amplifikációs tesztek (NAAT)

A molekuláris diagnosztika három nagy kihívása az a) alacsony mennyiségű virális RNS kimutatása az álnegatív eredmények kiszűrése érdekében, b) a pozitív jel megkülönböztetése a különböző kórokozók között az álpozitív eredmények csökkentése érdekében, c) nagy kapacitás elérése, hogy gyorsan és hatékonyan lehessen széles populációt tesztelni, elkerülve az álnegatív és álpozitív eredményeket. A NAAT-ek kiemelkedő szenzitivitással és specificitással rendelkeznek, melyek egy- vagy több virális RNS genomszakaszt detektálnak. A gold standard, leggyakrabban alkalmazott módszer a valós idejű, reverz transzkripción alapuló kvantitatív polimeráz láncreakció (RT-qPCR). A PCR vizsgálatokon belül a több vírus / egy vírus

genomban több konzervatív szakasz egyidejű kimutatását multiplex PCR-nak, az egy vírust / genomszakaszt kimutató teszteket pedig monoplex PCR teszteknek nevezzük.



5. ábra: A RT-qPCR folyamatábrája a mintavételtől az eredményig (Kevadiya et al., 2021)

A szakirodalomban elsőként megjelenő publikációk alapján a diagnózis a tüskefehérje detektálásán alapult, jó specificitással (a SARS-CoV-2-t a SARS-CoV-1-től el tudta különíteni), de limitált szenzitivitással (P. Zhou et al., 2020). Amikor további vírusspecifikus géneket integráltak (pl. RdRp, N, E gének), a szenzitivitás tovább növekedett (Corman et al., 2020). A WHO ajánlásai is a különböző kombinációban összeállított több gén detekciójának alkalmazását javasolták. Az RNS extrakció módszereit alapvetően két csoportra oszthatjuk, aszerint, hogy a reverz transzkripció és a polimeráz láncreakció egy- vagy két lépésben történik. Az egylépéses RT-PCR reakcióban az RT és a PCR lépések egymás után, egy reakcióterben zajlanak, ezáltal a kontamináció esélye csökkenthető, míg a kétlépéses RT-PCR esetén a reverz transzkripció külön lépésben történik, így a képződő komplementer DNS (cDNS) elraktározható, és később további tesztelésre alkalmas lehet.

NAAT módszer	Előny	Hátrány
RT-qPCR	referencia módszer: magas szenzitivitás és specificitás, kompatibilis az automatizációval, multipanelekkel	hosszú átfutási idő automatizáció nélkül

nested PCR	fokozott szenzitivitás az extra pre-amplifikációs lépésnek köszönhetően	hosszú átfutási idő, alacsonyabb specificitás a magasabb kontaminációs veszély miatt
RT-LAMP	rövidebb átfutási idő	alacsonyabb szenzitivitás lehetséges
Gene expert	automatizált, magas szenzitivitás és specificitás, molekuláris gyorseszteszt	drága, az egyszerre felhasznált minták száma limitált
MNP alapú módszerek	gyors, automatizációval kompatibilis	

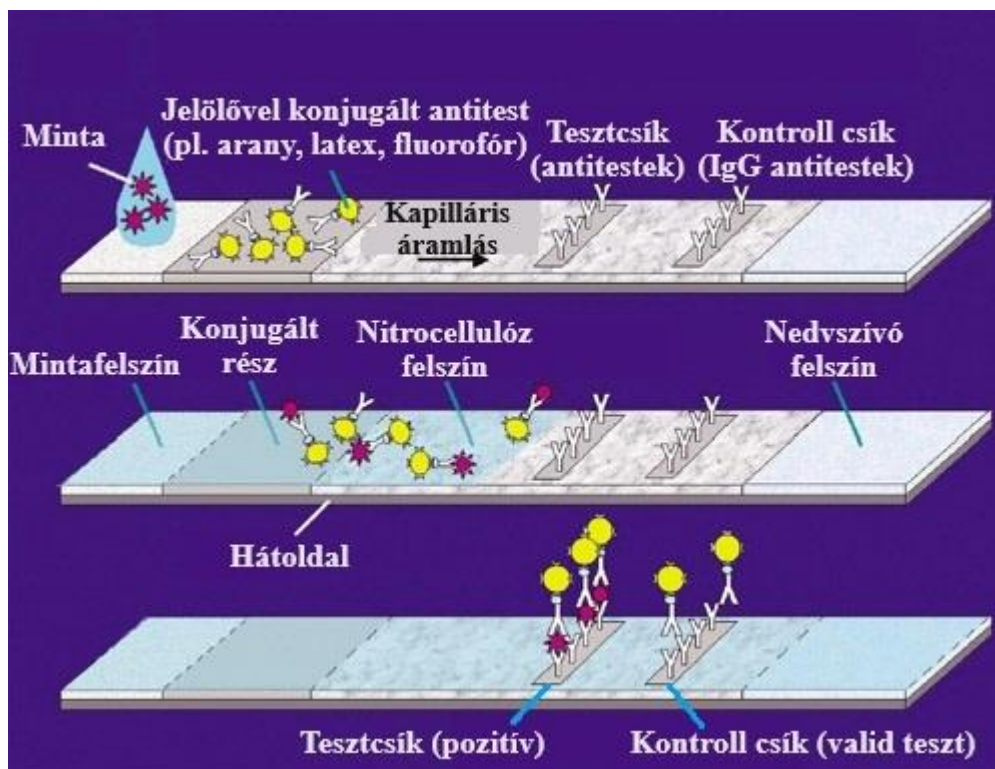
2. táblázat: A különböző molekuláris diagnosztikai módszerek előnyei és hátrányai a SARS-CoV-2 detekciója esetén (Caruana et al., 2020)

Rövidítések: RT-LAMP: reverz transzkripció loop-mediált izotermális amplifikáció; MNP: mágneses nanorészecske

A NAAT-ek jó teljesítménye ellenére fennáll az álnegatív eredmény kockázata. Ezek többsége preanalitikai hiba, pl.: mintavétel időzítése (túl korai / késői), mintavétel minősége (keves / nem megfelelő), mintavétel típusa (bronchoalveolaris lavage, köpet, orr-/szájgarati, széklet, stb.), mintaszállítás (nem megfelelő tárolás, extrém hőmérséklet, stb.) (Chávez, 2019)(Kucirka et al., 2020). A tesztek analitikai teljesítményét csökkentheti a vírus mutációs képessége is (ha olyan virális RNS régió szekvenciája változik meg, amelyre a primerek specifikusan hibridizálódnak), vagy ha a minta PCR inhibitorot tartalmaz (Schrader et al., 2012). A garatmintákban és köpetben a vírusürítés a tünetek megjelenése után öt-hat nappal tetőzik, és 10^4 - 10^7 kópia/ml között mozog, ez a légutak magasabb vírusszintjét tükrözi (Eigner et al., 2019). A fertőzött egyének orrgarati mintáiból történő vírus RNS kimutatás megközelítette a 100%-ot. A vér, nyál, és könnymintákból vett pozitivitási ráta 88, 78 és 16%.

1.8.2. Antigén tesztek

Az antigéntesztek olyan immunvizsgálatok, amelyek kimutatják a specifikus vírusfehérjék, az úgynevezett antigének jelenlétét. A legtöbb antigén teszt a lateral flow immunoassay (LFIA) technikán alapul, melynek működése a légúti mintákban található SARS-CoV-2 N protein kimutatását célozza meg. Egy példa antigén teszt működése az alábbi, 6. ábrán látható.



6. ábra: Egy LFIA teszt működése (forrás: NASA)

A pozitív teszt aktuális fertőzést jelez, a negatív teszt viszont nem zárja ki a fertőzést. Az antigén-alapú teszt előnye, hogy gyors, aránylag olcsó, magas specificitással rendelkezik, laboratórium- és egészségügyi személyzet nélkül is elvégezhető vizsgálat. Ugyanakkor hátránya, hogy szenzitivitása függ a tünetek fennállásának idejétől, a vírus kópiaszámától (alacsonyabb kópiaszám mellett jelentősen csökken)(Brümmer et al., 2022), a nem megfelelő használat esetén előfordulhatnak álpozitív esetek. Az orr- vagy szájgaratminták önálló gyűjtése (önmintavétel) megkönnyíti a nagy mintaszámú lakossági helyszíni vizsgálatokat, amelyek az előbb említett LFIA-n kívül enzimhez kötött immunoszorbens assay (ELISA), illetve kemilumineszcens immunoassay (CLIA) módszerekkel történnek leggyakrabban (Moulahoum et al., 2021).

1.8.3. Antitest / szerológiai tesztek

Szenzitív és specifikus szerológiai tesztekkel a fertőzéskor megjelenő antinukleokapszid-IgM és -IgG, illetve szerológiai módszerekkel az immunizálás hatására kialakuló anti-spikeRBD-protein-IgG humorális immunválasz mérhető. Egy közel 100 tanulmány adatait magában foglaló metaanalízis alapján az IgG-IgM alapú ELISA tesztek rendelkeztek a legjobb teljesítménnyel (Vengesai et al., 2021). A szerológiai vizsgálatok fontos kiegészítői a COVID-

19 diagnózisának a tartós tünetekkel rendelkező betegeknél, különösen a betegség második hetében. A szerológiai diagnosztikai tesztek értéke a betegség első hetében korlátozott, és további értéket a szeroprevalencia-vizsgálatokban képviselnek (Kundu et al., 2022). Egy magyar tanulmányban 6 hónap után mind a fertőzésen átesettek, mind a vakcinával immunizáltak jelentősen csökkenő IgG-védelmet mutattak, mely rávilágít az emlékeztető vakcina fontosságára és az anti SARS-CoV-2 IgG monitorozásának potenciális értékére (Gervain et al., 2022).

1.9. A COVID-19 betegség

A SARS-CoV-2 vírus által kiváltott fertőzés következtében kialakuló COVID-19 betegség klinikai spektruma a tünetmentességtől a kritikusan súlyos állapotig terjed. Az amerikai Nemzeti Egészségügyi Intézetek (National Institutes of Health, NIH) legfrissebb, 2024-es ajánlásában az alábbi csoportokat különböztetjük meg:

Tünetmentes / tünetek megjelenése előtti fertőzés - azok a személyek, akiknek a SARS-CoV-2 tesztje virológiai tesztel (azaz nukleinsav-amplifikációs tesztel [NAAT] vagy antigén tesztel) pozitív, de nincsenek a COVID-19-re jellemző tünetek.

Enyhe betegség - a COVID-19 különböző tünetei (pl. láz, köhögés, torokfájás, rossz közérzet, fejfájás, izomfájdalom, hányinger, hányás, hasmenés, íz- és szaglászvesztés), de nincs légszomj, nehézlégzés vagy rendellenes mellkasi képalkotó vizsgálat.

Mérsékelt betegség - azok a személyek, akiknél a klinikai vizsgálat vagy a képalkotás során alsó légúti betegségre utaló jelek mutatkoznak, és akiknél a pulzoximéterrel mért oxigén szaturáció (SpO_2) $\geq 94\%$.

Súlyos betegség - azok a személyek, akiknek $SpO_2 < 94\%$ szobai levegőn, az artériás oxigén parciális nyomásának és a belélegzett oxigén frakciójának (PaO_2/FiO_2 , P/F, Horovitz-index) aránya < 300 , légzésszám > 30 légzés/perc, vagy tüdőérintettség $> 50\%$.

Kritikus betegség - légzési elégtelenségben, septicus sokkban vagy többszervi elégtelenségben szenvedő személyek.

1.10. Komorbiditások

Komorbiditások alatt olyan hosszútávon fennálló egészségügyi állapotokat – elsősorban társbetegségeket – értünk egy egyénben, amelyek a COVID-19 betegséggel egyidejűleg állnak fenn. A multimorbiditás ezzel szemben pedig egy egyénben két- vagy több jelenlévő krónikus egészségügyi állapotra utal, ami a COVID-19 betegségtől függetlenül egy folyamatosan növekvő népegészségügyi kihívás (van Oostrom et al., 2016). Egy korai modellező tanulmány becslései szerint világszerte 1,7 milliárd ember rendelkezik legalább egy olyan társbetegséggel, ami a súlyos COVID-19 kialakulásának fokozott kockázatával jár (Clark et al., 2020). Egy 17 millió felnőtt kórházi ellátási adatait elemző, több mint 10 ezer COVID-19 betegséghez köthető halálozást tartalmazó brit kutatás szerint a legtöbb komorbiditás fokozott halálozás rizikóval jár, ideértve a cukorbetegséget, magas vérnyomást, szív-és érrendszeri betegségeket, krónikus obstruktív tüdőbetegségeket, vese-, máj-, és neurológiai betegségeket, elhízást, autoimmun betegségeket és malignitásokat (Williamson et al., 2020). Egy közel 45 ezer ember adatait magában foglaló kínai tanulmány szerint is a magas vérnyomás, cukorbetegség, malignus betegségek rizikófaktornak minősültek a COVID-19 halálozás szempontjából (G. Deng et al., 2020). Egy 88 publikáció adatait tartalmazó metaanalízis erős összefüggést talált a COVID-19 betegséggel kapcsolatos hospitalizáció és szervtranszplantáción átesett betegek, elhízás, alvási apnoé, vesebetegség, szívritmuszavar, cukorbetegség, stroke között (Vardavas et al., 2022).

1.11. Intenzív osztályos laboratóriumi- és klinikai paraméterek

Az elmúlt évek során a COVID-19 betegséggel összefüggésben számos klinikopatológiai sajátosságot azonosítottak, közöttük az intenzív osztályon legfontosabb, a klinikai kimenetelt befolyásoló tényezőket is. Egy magyar, 78 tanulmányt magában foglaló metaanalízis alapján az alacsony limfocitaszám, magas fehérvérsejtszám, magas C-reaktív protein (CRP), laktát-dehidrogenáz (LDH), kreatin-kináz (CK) és D-dimer szintek fokozott halálozással társultak (Kiss et al., 2021). Az alacsony limfocitaszámnak egy fontos korai prognosztikus értéke van, szignifikáns rizikót jelent a súlyos- és halálos kimenetelt illetően. A túlélő betegek esetén az intenzív osztályos felvételt követő néhány nap után általában elkezdett emelkedni a limfocitaszám, azonban az elhunytak esetén nem nőtt, hanem még tovább csökkent (F. Zhou et al., 2020), (J. Li et al., 2020). A megfelelő számú CD3-, CD4- és CD8 pozitív sejtek jelenléte kulcsfontosságú az immunrendszer túlzott reakciójának megelőzése érdekében, ugyanis ezen sejtek száma jelentősen csökkent értékeket jelzett az elhunyt betegcsoportokban (Du et al.,

2020), (Liu et al., 2020), (Shaw et al., 2013). Az alacsony összesített fehérvérsejtszám protektív faktornak minősült: azon betegek, akiknek magasabb fehérvérsejtszámuk volt, rosszabb prognózissal rendelkeztek (Javanian et al., 2020). A neutrofil granulociták felelősek a pro-inflammatorikus mediátorok termeléséért (pl. interleukin-1 [IL-1], interleukin-6 [IL-6], tumor nekrosis faktor alfa [TNF- α]); ezen mediátorok túlzott jelenléte citokinviharhoz vezethet, ami a nagyon súlyos, illetve halálos kimenetek jelentős részéhez hozzájárult a COVID-19 betegek esetén (Mehta et al., 2020), (Wu et al., 2020). Magasabb ferritin-szinteket is megfigyeltek a kritikus állapotban lévő, illetve elhunyt betegcsoportokban (F. Deng et al., 2021), (Shakaroun et al., 2023). A citokinvihar szempontjából nagy kockázatú betegek időben történő azonosítása kulcsfontosságú a megfelelő, és időben történő kezelés szempontjából.

A procalcitonin (PCT) alapvetően a bakteriális fertőzés markere, így emelkedett értéke a COVID-19 vírusfertőzés szempontjából első körben nem tűnhet mérvadónak. Azonban ennek ellenére fontos a megítélése, mert az emelkedett PCT-szint is a halálozás előrejelzője lehet; több kutatás alapján a magas PCT-szint rosszabb prognózissal társul (Hu et al., 2020), (Hoodbhoy et al., 2021), melynek oka a SARS-CoV-2 vírusfertőzést követő bakteriális felülfertőződés lehet, amely gyors és súlyos állapotromláshoz, többszervi elégtelenséghez, végül halálhoz vezethet. A D-dimer szint is számos tanulmány középpontjában állt, annak megítélése érdekében, hogy vajon egy jó biomarker-e a betegség súlyosság, illetve halálozás szempontjából. A COVID-19-hez kapcsolódó koagulopátiák gyakran járnak emelkedett D-dimer szinttel, illetve számos komorbiditás jelenléte esetén is magasabb értékekkel találkozhatunk. A tanulmányok többségében hasznos prognosztikai markernek bizonyult (Poudel et al., 2021), (Nemec et al., 2022), a COVID-19 betegséggel összefüggő vénás tromboembóliás események (VTE) észlelésében jó szenzitivitással bír, de aránylag alacsony specificitással (H. Zhan et al., 2021). A képalkotó vizsgálatok közül a mellkas CT-t érdemes megemlíteni: diagnosztikus szempontból nézve teljesítménye elmarad a RT-qPCR-től (limitált szenzitivitás, alacsony specificitás), de kiegészítő vizsgálatként rendkívül hasznos, különösen a tünetes egyének esetén (Waller et al., 2020). A leggyakoribb radiológiai CT-leírások között szerepel a tejüveg-homály (ground glass opacity [GGO]), GGO kevert konszolidációval, pleurális megvastagodás, interlobuláris szeptum megvastagodás, levegő-bronchogram. A leggyakoribb érintettség a jobb- és bal alsó tüdőlebeny volt, illetve a kettő együttes előfordulása (Bao et al., 2020). Számos pontozási rendszer készült a mellkas CT felvételek súlyosságának megítélésére, melyek közül a leggyakrabban használt a CTSS (computer tomography severity score) volt. Ebben az esetben a tüdőlebenyeket egyesével 0-5 skálán értékelték a százalékos érintettség alapján (1: <5% érintettség, 2: 5-25% érintettség, 3: 26-49% érintettség, 4: 50-75% érintettség, 5: >75%

érintettség), végül pedig összegezve egy 0-25 közötti skálán helyezkedett el a végső érték. A rövidtávú mortalitásban a $CTSS \geq 18$ jó prediktornak bizonyult (Francone et al., 2020), illetve átlagosan a tünetek kezdetét követő 10 nap után találták a legsúlyosabb tüdőeltéréseket a CT-vizsgálatok során (Pan et al., 2020).

A COVID-19 betegség során az oxigenizációs adatok is kiemelt fontosságúak, elsősorban a Horovitz-index (P/F arány; PaO_2/FiO_2 arány). Egy több, mint 1500 fős brazil kutatásban, illetve egy 2020 február-április közti adatokat feldolgozó kínai tanulmányban is a P/F arány csökkenése korrelációt mutatott a mortalitással (Ferreira et al., 2021), (Gu et al., 2021). Egy olasz tanulmányban, nem intenzív osztályos környezetben mért P/F arány csökkenése jelentős összefüggést mutatott a kedvezőtlen kimenetellel (Sartini et al., 2021).

1.12. Gépi tanulási módszerek

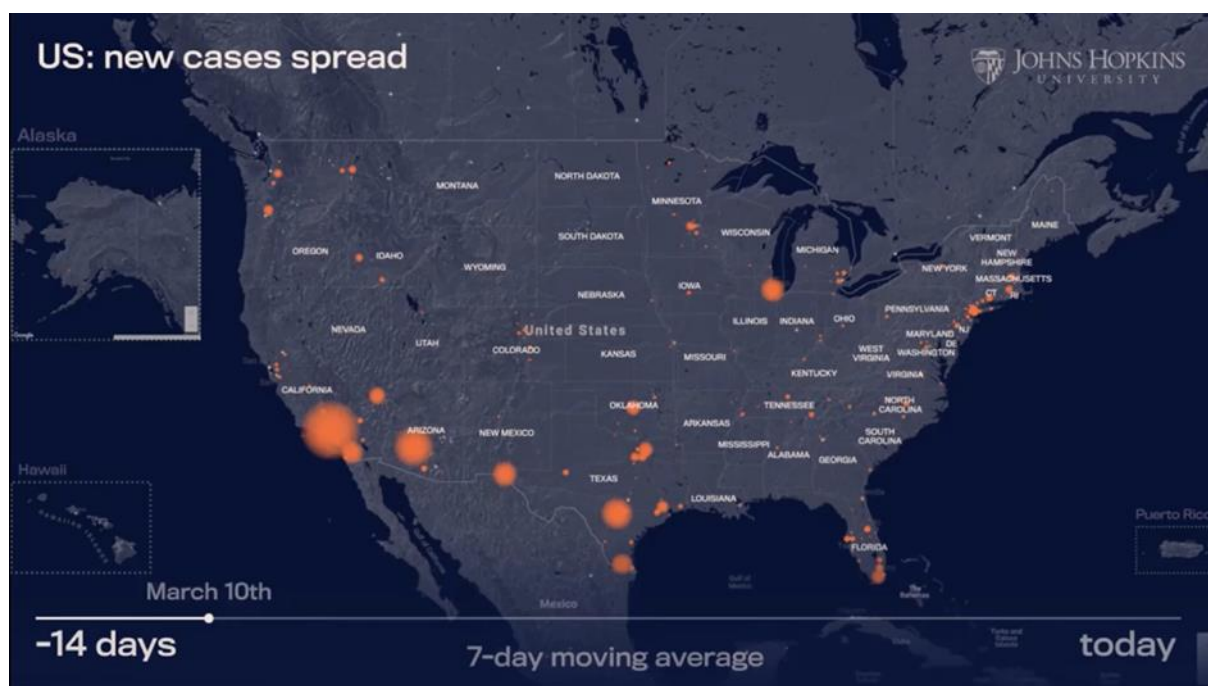
A gépi tanulás (machine learning) egy gyorsan növekvő tudományterület, ami hasznos és alkalmas a nagy mennyiségű, összetett egészségügyi adatok elemzésére és az orvosi döntéshozatal támogatására. A fertőző betegségek kimenetelének előrejelzésében a gépi tanulási modellek képesek olyan (akár rejtett) összefüggéseket felfedni az adatokban, amelyek segítenek a betegségek súlyosságának, a kimenetelnek és a túlélés valószínűségének előrejelzésében. A COVID-19 járvány kitörése óta számos tanulmány vizsgálta a gépi tanulási módszerek alkalmazását a betegek halálozási kockázatának előrejelzésére. A gépi tanulási módszereket komplexitás alapján két nagy csoportra oszthatjuk: sekély (shallow) és mély (deep) tanulási módszerek. Előbbi egyszerűbb szerkezetű, könnyebben tanítható, kevesebb réteget tartalmaz, emiatt a kutatások jelentős része is ezen módszereket alkalmazza. A mély tanulás (pl. neurális hálók) komplex struktúrákat és kiemelkedően nagy mennyiségű adatot, számítógépes erőforrást igényel, ami miatt feltehetően kevésbé elérhető a kutatók, különálló egészségügyi intézmények számára. Az irodalomban a SARS-CoV-2 intenzív osztályos kutatásokra vonatkoztatva a gépi tanulási módszerek közül a sekély tanulás „standalone” csoportjához tartozó módszereket alkalmazták a leggyakrabban (Viderman et al., 2023). Ezek jellegzetessége, hogy nem egy nagyobb algoritmus részei, hanem más modellektől függetlenül működnek, és képesek önállóan a bemenetek alapján előrejelzéseket / osztályzásokat végezni. Ilyen módszerek például a random forest (RF), a logisztikus regresszió, a decision tree, és a support vector machine. A RF az egyik leggyakrabban alkalmazott gépi tanulási algoritmus, népszerűsége annak köszönhető, hogy kevésbé hajlamos a „túltanulásra” (az új, ismeretlen adatok előrejelzésében is megbízható teljesítményt nyújt, nem csak a tanuló adathalmazon),

képes számos paraméter egyidejű figyelembevételére, és többszörös döntési fák kombinációján alapul (Breiman et al., 2001). A RF a SARS-CoV-2 intenzív osztályos beteganyagot érintő kutatásokban is kiemelt szerepet kap, melyre részletesebben a megbeszélésben (78. oldal) térek ki.

2. Célkitűzés

2.1. A dinamikus, interaktív epidemiológiai térkép fejlesztésére vonatkozó célkitűzések

A Baltimore városához tartozó, neves amerikai Johns Hopkins egyetem munkatársai voltak az elsők, akik egy dinamikus térképet hoztak létre, melyen hétről hétre nyomon lehetett követni először az USA különböző államaiban, illetve később világszerte aktuális fertőzéseket.



7. ábra: Térkép az USA államairól, a 2021.03.10-én aktuális Covid-19 fertőzésekkel (Johns Hopkins)

Munkacsoportunk célja egy ehhez hasonló, digitális, dinamikus, idővonal szerű térkép létrehozása volt a dél-dunántúli (Baranya, Somogy, Tolna megye) régióban, mely részletesebb információkkal szolgál, és színkód alkalmazásával egy populáció-arányos epidemiológiai áttekintést ad. Itt megjelenítjük a nyers és népsűrűsége vetített adatokat a tesztekre vonatkozóan – különös tekintettel a pozitív esetekre -, illetve egyéb adatokat is bemutatunk: átlagéletkor, tünet jelenléte, a PCR tesztek cycle threshold (Ct) értéke, a vírusvariánsok előfordulása. Ezáltal a regionális adatok, tendenciák láthatóvá válnak, és a későbbiekben a térkép alapját más célokra is fel lehet használni, pl. más fertőző betegség felbukkanása esetén, vagy akár egyéb, nem fertőző betegségek regionális vizualizációja kapcsán is, amennyiben

eleendő és megfelelő adat rendelkezésre áll. Célunk volt továbbá az azonosított vírusvariánsok analízise is.

2.2. A Panbio rapid antigén teszt analitikai teljesítményének vizsgálatára vonatkozó célkitűzések

A SARS-CoV-2 vírus azonosítására a gold standard a RT-qPCR vizsgálat, azonban a különböző rapid antigén tesztek is egyre népszerűbbé váltak. Retrospektív vizsgálatunk célja a PTE KK-ban egy adott időintervallumban kizárólag egyedül elérhető, Abbott Panbio rapid antigén teszt diagnosztikus teljesítményének megállapítása volt, elsősorban a RT-qPCR-rel összehasonlítva, klinikai körülmények között.

2.3.A súlyos kimenetelű SARS-CoV-2 infekcióhoz társuló klinikai, laboratóriumi és molekuláris genetikai paraméterek vizsgálata

A COVID-19 járvány legnagyobb terhelése az intenzív osztályra összpontosult. Kutatásunk célja a vírusgenom-szekvenálási eredmények alapján a három fő vírusvariáns (alfa, delta, omikron) összehasonlítása volt, számos különböző klinikai- és laboratóriumi paraméter segítségével. A fókuszban a halálozás, társbetegségek szerepeltek. Ezenkívül egy gépi tanulási modell, a random forest algoritmus alkalmazása, mellyel a halálozás előrejelzése, illetve az előrejelzéshez legfontosabb klinikai- és laboratóriumi paraméterek meghatározása volt a cél.

3. Anyagok és módszerek

3.1. A dinamikus, interaktív epidemiológiai térképre vonatkozó anyag- és módszertan

3.1.1. Mintagyűjtés - PCR

A betegektől egy orrgarati minta került levételre az Országos Mentőszolgálat (OMSZ) képzett munkatársai, vagy önkéntes orvos-/egészségtudományi hallgatók által, illetve a kórházakban ápoló- és orvosszemélyzet segítségével. Az orrsövény ellentétes oldaláról, az ornyálkahártya felszínére enyhe nyomást helyezve történt a mintavételezés, majd a mintavevő pálca a vírus transzport médiumot (VTM) tartalmazó csőbe került belemosásra. Az orr- és/vagy szájgarat mintát tartalmazó mintavételi swab VTM csőbe helyezve, kupakkal szorosan lezárva, és kétszeres, légmentesen zárt csomagolásban, 4°C-os hőmérsékleten történő szállítást követően került a mintafeldolgozás helyszínéül szolgáló laboratóriumba.

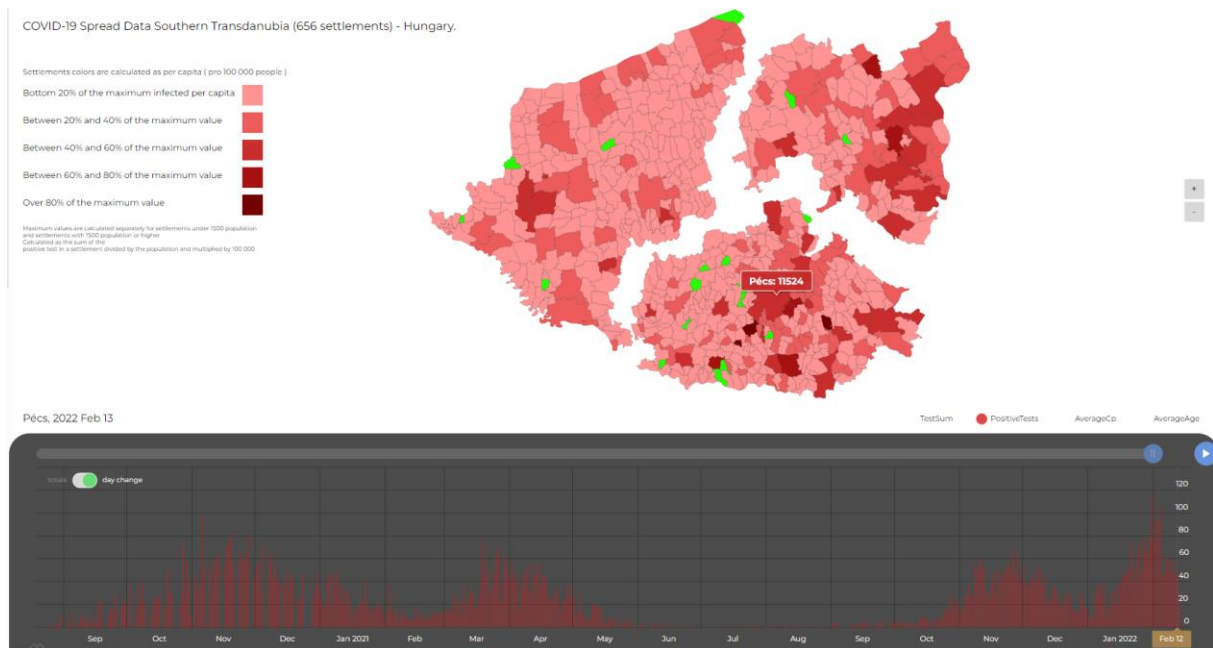
3.1.2. Adatgyűjtés, adatkezelés

Az adatgyűjtés a 2020.08.19. és 2022.02.13. közötti időintervallumot öleli fel, és 271,849 darab COVID-19 tesztre vonatkozó adatot tartalmaz, melyek Baranya-, Somogy-, és Tolna megyéből származnak.

Az adatok részben manuálisan, a Laboratóriumi Medicina Intézet adminisztrátorai rögzítették a vizsgálati kérőlapok alapján, részben pedig a helyi kórházi informatikai rendszerből (e-MedSolution, T-Systems, Magyarország) nyertük ki. A végleges adatbázist egy anonimizált Excel-táblázatban (Microsoft, Redmond, WA, USA) tároltuk, az alábbi adatokkal: tesztelés dátuma, születési idő, életkor, nem, irányítószám, megye, lakóhely (település), PCR vizsgálat eredménye (pozitív / negatív), tünet jelenléte (igen / nem), a pozitív PCR vizsgálat cycle threshold értéke, illetve a vírusvariáns típusa, ha történt vírusgenom-szekvenálás.

3.1.3. Adatfeldolgozás, vizualizáció

Az anonim adatok feldolgozását, weboldalon történő vizualizációját a PCSUNIQ Kft.-vel közös pályázat keretében végeztük. A végeredmény a <https://covid-pte.vercel.app/dashboard> weboldalon megtekinthető, egy képernyőképet bemutat a 8. ábra.



8. ábra: Képernyőkép a <https://covid-pte.vercel.app/dashboard> weboldalról

Az Excel-fájl egy scriptbe került átírásra, két külön fájl készült: az első fájlban naponkénti bontásban megtalálhatóak az anonim adatok (pozitív / negatív teszt, tünet jelenléte, életkor, nem, cycle threshold érték), a második fájl pedig tartalmazza napi bontásban a településeket a hozzájuk tartozó lakosságszámmal (2019-es Központi Statisztikai Hivatal-i adatok alapján), az összesített tesztszámot és kimenetelt (pozitív / negatív). A JSON (JavaScript Object Notation) objektum egy hagyományos kulcs-érték pár alapon működik, és ezeket a párokat objektumokban tárolja el. Egy objektumban egy entitás kulcs-érték párai találhatóak meg, a fájl ilyen objektumok összessége. Ennek a fájlnek az adatait olvassa be a program, és tölti be tömbökbe az oldal betöltése során. A tömbök azok az egységek, amikben a program futása alatt tárolja az adatokat a gyors hozzáférhetőség érdekében. Az adatok a térképen azonosító alapján kerülnek megjelenítésre. Minden település rendelkezik egy azonosítóval és ezek az azonosítók megtalálhatóak a teszt adatok között is. A térkép hátere egyedileg készült: alapját a Baranya – Somogy – Tolna megye <https://www.openstreetmap.org>-on szabadon elérhető verziója adja. Koordinátapontok szeparációjával a megyék szét lettek választva a jobb vizualizáció érdekében, így mind a 656 település látszik, és a településenkénti pozitív esetek előfordulása (fertőzöttség) színskálán alapján van megjelenítve: az összes pozitív eset egy településen el van osztva a százezer főre vonatkoztatott lakosságszámmal. A maximum érték 0-20%-a, 20-40%-a, 40-60%-a, 60-80%-a, és 80-100%-a alapján zöldtől mélyvörösre terjedő színskálán jelenítettük meg a településeket. A torzítás elkerülése érdekében külön színskálás van alkalmazva az 1500-nál nagyobb és kisebb lélekszámú településeknél. A weboldalon az

AmCharts segítségével grafikonon megjeleníthető az összesített és napi bontásban elérhető összesített- és pozitív tesztszám, átlagéletkor, átlagos cycle threshold érték, tünetes és tünetmentes esetek száma. A weboldal alján megtekinthető és kereshető az összesített tesztszám, pozitív esetszám, tünetes és tünetmentes esetek száma településre lebontva.

A fő vírusvariánsok (európai, alfa, delta, omikron) szintén településre és esetszámmra lebontva megtalálhatóak a <https://covid-19-spread-map-nuxt.vercel.app/> weboldalon.

3.2. A Panbio rapid antigén teszt analitikai teljesítményének vizsgálatára vonatkozó anyag- és módszertan

Retrospektív vizsgálatunkban 2021. január 21. és 2021. április 30. közötti időszakban gyűjtött adatokat elemeztük. A vizsgálati protokoll során minden Panbio RAT-tel vizsgált betegnél párhuzamosan SARS-CoV-2 RT-qPCR vizsgálatot is végeztek. A vizsgálatba való bekerülés kritériuma a SARS-CoV-2 Panbio teszt eredményének megléte volt RT-qPCR teszteredménnyel kombinálva, mindkettő 24 órán belül elvégezve. A Panbio tesztekét képzett egészségügyi szakemberek végezték és értékelték. A diagnosztikai PCR-teszteket a PTE KK Laboratóriumi Medicina Intézetben végeztük a Nemzeti Akkreditációs Hatóság által akkreditált protokoll szerint (NAH-9/0008/2021, L7/6 MLMB 06 2020.4-1).

3.2.1. Mintagyűjtés

A betegetől két orrgarati mintát vettek képzett ápolók és/vagy orvosok a PTE KK különböző osztályain. A Panbio (Abbott Rapid Diagnostics, Jena, Németország, 41FK10-es referenciaszám) tesztet közvetlenül az első orrgarati minta levétele után végezték el, a gyártó utasításainak teljes mértékben megfelelően. A második orrgarati mintát a vírusszállító közeget tartalmazó mintagyűjtő csőbe (CE tanúsítvánnyal rendelkező, Biolabs Kft., Magyarország) mosták. A mintavevő eszközt a barázdánál megtörték, a pálca maradék részét eltávolították és biztonságosan eldobták. A mintagyűjtő csöveket egyenként steril duplafalú műanyag zacskókba csomagolták, és 4 °C-on a laboratóriumba szállították a nukleinsav-extrakcióhoz. A kiskorú betegeket és kísérő gondviselőiket is tesztelték. Az egészségügyi dolgozókat azt követően tesztelték, hogy szoros kapcsolatban álltak egy megerősített SARS-CoV-2 pozitív egyénnel, vagy ha légúti tüneteket mutattak. Az egyéneket az ECDC COVID-19 esetdefiníciója szerint tekintették tünetesnek (pl. szaglász vagy ízlelés elvesztése, torokfájás, láz, száraz köhögés, izomfájdalom stb.)([4. online hivatkozás](#)).

3.2.2. Nukleinsav extrakció és reverz-transzkripció valós idejű polimeráz láncreakció (RT-qPCR)

A nukleinsavat 200 µl mintából nyertük ki MagNaPure 96 automatizált nukleinsav extrakciós rendszerrel (Roche, Mannheim, Németország), vagy kézi extrakcióval. Az automatizált extrakciót a MagNA Pure 96 DNS és vírus NA SV Kit (Cat No. 654358800, Roche) segítségével optimalizáltuk a gyártó protokolljának teljes mértékben megfelelően. Ezenkívül a manuális nukleinsav extrakció során a HighPure RNS izoláló készletet (Cat No. 11858882001, Roche) használtuk a gyártó által ajánlott protokollnak teljes mértékben megfelelően. Mind az automatizált, mind a kézi nukleinsav extrakciós eljárások során a LightMix Modular EAV RNS extrakciós kontrollt (Cat No. 61090996, TIB Molbiol) alkalmaztuk az extrakció és a reverz transzkripció ellenőrzésére. A kivont RNS-ből öt mikroliternyi használtunk az RT-qPCR-analízishez, hogy kimutassuk a SARS-CoV-2 RNS jelenlétét, amely a pozitív egyszálú vírusgenom három régióját célozta meg: a borítékfehérjét (E-gén), a nukleokapszid fehérjét (N-gén) és az RNS-függő RNS-polimerázt (RdRP-gén) kódoló szekvenciák konzervált fragmentumait. A LightMix Modular SARS-CoV (COVID19) E-gén (Cat No. 53077696), a LightMix Modular SARS-CoV (COVID19) N-gén (Cat No. 53077596) és a LightMix Modular SARS-CoV (COVID19) RdRP (Cat No. 53077796) a LightMix Modular EAV RNS 610 extrakciós kontrollal kombinálva került alkalmazásra a PCR-target szekvencia és az extrakciós kontroll szekvencia egyidejű kimutatására. PCR Master mixeket készítettünk, amelyek 0,5 µl target specifikus primer és próba keveréket, 0,5 µl extrakciós kontroll target specifikus primer-próba keveréket, 4 µl Real Time ready Virus Master reakciópuffert és 0,4 µl Real Time ready Virus Master RT enzimet (Cat No. 05992877001, Roche), 10,4 µl PCR minőségű vizet és 5 µl RNS mintát tartalmaztak. A negatív kontrollok tekintetében figyelembe véve olyan Master mixet készítettünk, amelyben a templát RNS-t PCR minőségű vízzel helyettesítettük. A PCR-amplifikációt Cobas Z 480 PCR-rendszerrel végeztük a következő körülmények között (reverz transzkripció 1 ciklus: 55°C 5 percig; enzimaktiválás 1 ciklus: 95° C 5 percig; amplifikáció 45 ciklus {95° C 5 s, 60° C 15 s és 72° C 15 s. Az eredményeket elemeztük, és a fluoreszcencia adatokat az Exor 4.0 szoftver segítségével értékeltük. A cycle threshold (Ct) értékeket az Exor 4.0 szoftverrel számoltuk ki. A kit gyártójának utasítása és a FIND értékelési útmutatója azt tanácsolta, hogy a cut-off értéket 1-2 ciklussal magasabbra határozzuk meg, mint a megfigyelt Ct értéket a 10 kópia/ul koncentrációjú hígítás esetén. A kit ellenőrző futtatása során átlagosan 33,14-et mért a 1000 kópia/ul kontroll legalacsonyabb (10/10-es) hígításában, ami azt eredményezte, hogy a cut-off értéket 35,0 Ct értéken határoztuk meg. A PCR hatékonyságának és az esetleges pipettázási hibák ellenőrzésére a LightMix Modular E, N és RdRP kitekhez

mellékelt pozitív kontrollok hígítási sorozatai alapján standard görbét készítettünk RT-qPCR-en, amelyeket korábban a droplet digital PCR rendszerrel (BioRad QX200 ddPCR platform és BioRad ddPCR Expert Design Assay: 2019-nCoV CDC ddPCR Triplex Probe Assay) kvantitatívan analizáltunk. A PCR hatékonyságát a futtatásban jelenlévő standard hígítási sor alapján számoltuk ki. A PCR-eredményeket abban az esetben fogadtuk el a lemezen, ha az elvégzett standard hígítások $\leq 0,2 \log_{10}$ eltérést mutattak a standard görbék megfelelő hígításaitól az egyes célgének (E, N és RdRP) esetében. A lefuttatott standard hígítási sor (10^1 - 10^4) szerinti alacsony vagy magas kiugró Ct értékeket tartalmazó lemezeket megismételtük. Az itt bemutatott statisztikai elemzésekbe a vizsgált minták SARS-CoV-2 E-génre vonatkozó Ct-értékeit vontuk be.

3.2.3. Adatgyűjtés, adatkezelés

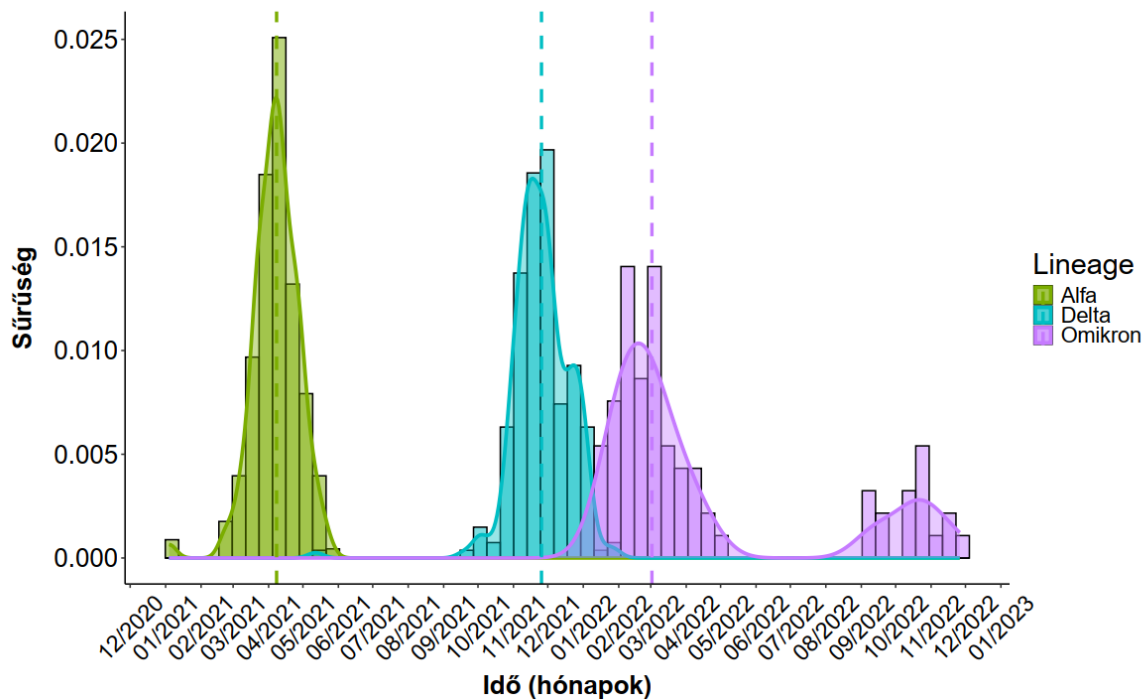
Összesen 5,136 párhuzamos Panbio RAT és RT-qPCR mintát vontunk be a Pécsi Tudományegyetem Klinikai Központjának (PTE KK) valamennyi osztályáról. A rapid antigén teszthez tartozó adatok a MedSol informatikai rendszerből lettek kinyerve. A végleges adatbázis egy anonimizált Excel-táblázatban tartalmazza az alábbi adatokat: nem, életkor, vizsgálat időpontja és helye (osztály), összes tesztelés száma, egyedi azonosító, halálozás (igen / nem), Panbio teszteredmény, PCR teszteredmény, cycle threshold érték, negatív tesztig eltelt napok száma, tünet jelenléte (igen / nem).

3.3. A súlyos kimenetelű SARS-CoV-2 infekcióhoz társuló klinikai, laboratóriumi és molekuláris genetikai paraméterek vizsgálata

3.3.1. Vírusvariáns alapú analízis

Retrospektív vizsgálatunk 503 COVID-19 ITO-n kezelt páciens klinikai és laboratóriumi paramétereinek adataiból áll, mely 2021 januárja és 2022 novembere közötti időintervallumot foglalja magában. Ebben az időszakban az alfa (B.1.1.7), delta (B.1.617.2) és omikron (B.1.1.529) fő variánsok, illetve az ezek alá tartozó sublineage-ok domináltak Magyarországon, elsősorban a dél-dunántúli régióban. Az 'Eredmények' részben az alfa variáns alatt kizárólag a B.1.1.7-et, a delta variáns alatt a B.1.617.2-t, és az AY. jelzésű sublineage-okat, az omikron variáns alatt a B.1.1.529-et és a BA. jelzésű sublineage-okat kell érteni. Olyan intenzív osztályos betegeket vontunk be, akiknek pozitív SARS-CoV-2 RT-qPCR teszteredménye volt,

és COVID-19 betegség miatt kerültek felvételre. Kizáró kritériumok voltak azok a SARS-CoV-2 pozitív betegek, akiket nem a COVID-19 betegség, vagy ahhoz kapcsolódó szövődmények miatt vettek fel az intenzív osztályra (pl. politrauma, traumás agysérülés, diabéteszes ketoacidózis stb.), a hematológiai malignitásban szenvedő betegek és más SARS-CoV-2 variánsok, mint például a B.1.160 (20A.EU2). 201 beteg rendelkezett WGS (teljes genomszekvenálás) eredménnyel, a további 302 beteg egy 95%-os intervallumbecslést követően lett besorolva, ami a disszertációm első részében található epidemiológiai térkép regionális vírusszekvenálási adatbázisán alapul. Eredetileg 510 beteg volt a vizsgálatunkban, azonban 7 beteg kizárásra került, mert a delta és omikron variánsok közti átmeneti időszakában voltak hospitalizálva (2022. december utolsó- és 2023. január első hete), és nem lehetett az intervallumbecslést kellő megbízhatósággal elvégezni. A betegek megoszlása az alábbi, 9. ábrán látható.



9. ábra: Az intenzív osztályos betegek lineage szerinti megoszlása az idő függvényében

3.3.2. Adatgyűjtés, adatfeldolgozás

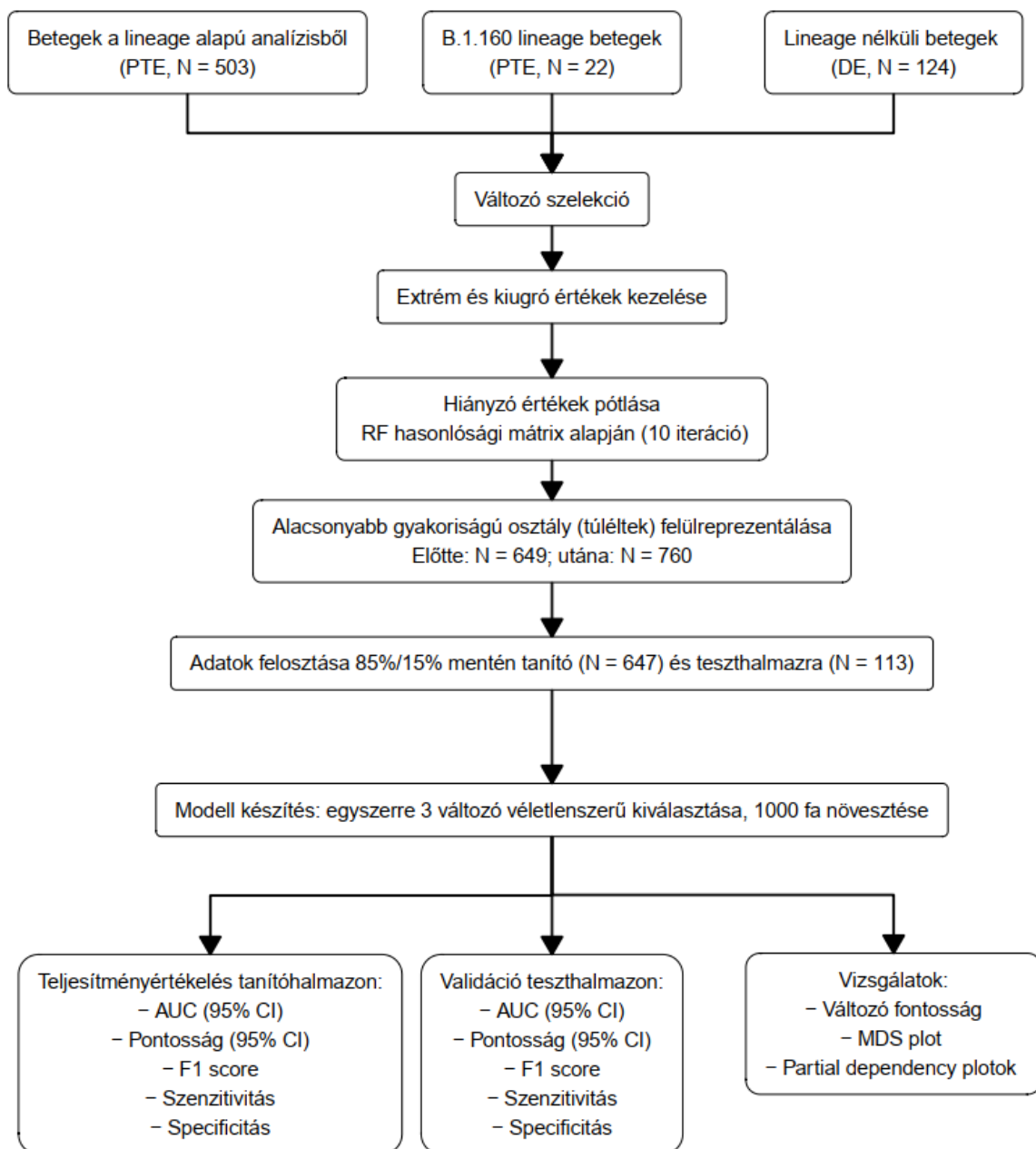
Az intenzív osztályos betegadatokat a kórházi informatikai rendszerekben voltak eredetileg dokumentálva (IntelliSpace Critical Care and Anesthesia-Philips Medical Systems, USA, és MedSolution), a vírus szekvenálási eredményei pedig a Szentágotthai Kutatóközpont Genomikai és Bioinformatikai Core Facility részlegén. Összesített adatbázisunk az alábbi paramétereket tartalmazza: anonim azonosító, nem, életkor, a tesztelés időpontja, cycle threshold érték, vírusvariáns típusa, intenzív osztályon töltött napok száma, mellkas CT

súlyossági score (a tüdőlebenyek érintettsége alapján 1-5 skálán osztályzás lebenyenként, maximum érték 25), ITO-s halálozás, COVID vakcina-anamnézis, első mért oxigénszaturáció és az ahhoz tartozó modalitás (körlevegő, orrszonda, 50-es maszk, 100-as maszk, HFNO₂, NIV maszk, intubáció), Horovitz-index (az ITO-s felvételt követő legelső érték, illetve a felvételt követő 24 órán belüli legalacsonyabb érték), a legsúlyosabb szükséges oxigén-szupplementáció típusa, az ITO-t elhagyást követő 28 napos utánkövetés kimenetele (túlélés / halál), laborparaméterek (az ITO-s felvételt követő első CRP, PCT, ferritin, IL-6, limfocita-, fehérvérsejt-, neutrofil granulocitaszám, D-dimer), komorbiditások (hipertónia, diabétesz, krónikus obstruktív tüdőbetegség [inhalációs kortikoszteroidhasználat], krónikus vesebetegség). A C-reaktív protein, procalcitonin, ferritin, IL-6 és D-dimer esetén az elsődleges mérési tartományok maximum értékénél állapítottunk meg egy határt, az efeletti értékeket a kiugró adatok torzításának csökkentése érdekében egységesen a maximum értéknek vettük, így az ábrákon tisztább módon láthatóak.

A debreceni adatbázisban szereplő 124 beteg vonatkozásában az adatgyűjtemény az alábbi adatokat tartalmazta: nem, életkor, tesztelés időpontja, ITO-n töltött napok száma, mellkas CTSS, Horovitz-index, laborparaméterek, komorbiditások.

3.3.3. Random forest analízis

Az intenzív osztályos vizsgálatunk második fele egy gépi tanulási algoritmuson alapuló módszert tartalmaz, melynek neve random forest (RF) analízis. Az 503 pécsi beteg elsődleges vizsgálata kis esetszámúnak bizonyult, és alacsony megbízhatóságú értékeket kaptunk a komplex statisztikai módszerek használatánál, emiatt kollaborációhoz folyamodtunk. A Debreceni Egyetem ITO-ról további 124 páciens sikerült bevonnunk. Ezen betegeknél nem állt rendelkezésre adat a vírusvariánsról, így a korábbi három fő variáns (alfa, delta, omikron) kívül még bevontunk további 22, pécsi centrumban lévő, B.1.160 variánssal rendelkező beteget is, így összesen 649 beteg állt rendelkezésre ehhez a vizsgálatához. Az analízis lépéseit bemutató grafikon a 10. *(folyamat)ábrán* látható.



10. ábra: A random forest analízis lépései

A halálozás-becsléshez kiválasztottunk néhány potenciális prediktort, illetve azokat, amik egymással jelentős mértékben korreláltak, kizártuk. Egyes paraméterek esetén voltak hiányzó adatpontok (pl. a Horovitz-indexnél az adatok 16%-a), emiatt imputációra volt szükség, amely a rfImpute függvényt használta a randomForest (v4.7-1.1) R packageből ((Breiman, 2001), (Liaw & Wiener, 2002)). A függvény az RF-modellből származó közelítési mátrixot használja a prediktív változók hiányzó értékeinek imputációjához. Az algoritmus a mediánok vagy a móduszok imputációjával kezdi, majd az RF-modellt illeszti az immár teljes adatokhoz. Ezt követően a közelítési mátrixot használja a hiányzó értékek imputációjának fokozására. Ez az

iteratív folyamat egy előre meghatározott számú iteráción keresztül folytatódik. Folyamatos változók esetében a nem hiányzó megfigyelések súlyozott átlagát, kategorikus változók esetében pedig a legnagyobb átlagú közelítést imputálja. Tíz iteráció történt az imputációval, minden alkalommal 500 döntési fát használva.

Tekintettel arra, hogy a halálozás kimenetele nem volt kiegyensúlyozott (59% elhunyt – 41% túlélte), egy kiegyenlítési (balancing) lépést kellett végrehajtani, melyet az „ovun.sample” függvénnyel a ROSE v.0.0.4 R Package-ből (Lunardon et al., 2014) oldottunk meg. A kiegyenlítésre, azaz a kisebbségi osztály (túléltek) felülreprezentációjára (oversampling) azért volt szükség, hogy elérjük a 0.5-ös arányt (50% túlélte, 50% elhunyt), ugyanis ez teszi lehetővé a modell hatékony tanulását és pontosabb becslését. Kiegyenlítés nélkül a modellt az elhunyt esetek dominálnák, ha ezen tanulna a modell, akkor egy torzítás valósulna meg, és a modell a későbbiekben hajlamos lenne túlbecsülni a halálozás valószínűségét egy új, még a modell által korábban nem látott ismeretlen csoporton. A függvény a két kimeneteli osztály alapján feltételes kernel sűrűségbecslést használva új szintetikus adatokat generált, ami által megnövelte az osztályok feature terét. A részletes módszertan Menardi és Torelli által ismert (Menardi & Torelli, 2014). Az oversampling után 760 adatpont lett az eredeti 649 beteghez képest. Ezt véletlenszerűen szétválasztottuk egy training (n = 647) és teszt (n = 113) adathalmazra, majd a training adathalmazt felhasználtuk az RF modell illesztésére a randomForest (v4.7-1.1) R package-ből származó randomForest segítségével. Az algoritmus egyszerre véletlenszerűen választott ki 3 változót az osztályozási fa létrehozásához (classification tree growing). Ezen módszer segítségével 1,000 független osztályozási fát hoztunk létre. A modell illesztése után megvizsgáltuk a RF modell teljesítményét először a training adathalmazon (amin tanult a modell), majd a teszt (egy új, a modell által még korábban nem látott) adathalmazon, a leggyakrabban használt metrikus paraméterekkel jellemezve: pontosság (95%-os konfidencia intervallummal), szenzitivitás, specificitás, görbe alatti terület (AUC). A RF modell 1 – közelítési mátrix használatával egy klasszikus multidimenziós skálázást (MDS) is készítettünk (Cox & Cox, 2008), (GOWER, 1966). A változók fontosságának sorrendjét is meghatároztuk, az átlagos Gini score csökkenése és az átlagos pontosságcsökkenés alapján.

3.3.4. Teljes genom szekvenálás (WGS)

A SARS-CoV-2 teljes genom szekvenálás a PTE SZKK Genomikai és Bioinformatikai Core Facility-ben történt. A vírus RNS Omega MagBind Viral DNS/RNS kitékkel (Omega Bio-Tek) lett extrahálva Hamilton Starlet Automated Liquid Handling System (Hamilton) segítségével a

gyártó utasításai szerint. Az izolált RNS minőségi ellenőrzését a Qubit 3.0 (Invitrogen) segítségével végezték. A cDNS átírás a High-Capacity cDNA Reverse Transcription Kit használatával történt random primerek segítségével. A könyvtárkészítés a Swift Normalase™ Amplicon Panel (SNAP) SARS-CoV-2 Kit (Swift BioScience) felhasználásával végeztük, amely során az egyszálú cDNS-ből SARS-CoV-2 specifikus primerek használatával amplifikálásra került a cél régió, majd a második PCR reakcióban a fragmenteket adapter szekvenciákkal jelöltük. A könyvtárak minőségét TapeStation 4200 Agilent és Qubit 3.0 készülékek segítségével ellenőriztük. A könyvtárak szekvenálása NovaSeq 6000 (Illumina) készülékkel készült, 2x150 bázispár párosított végű leolvasás céljából. A nyers szekvenciák minőségellenőrzése FastQC-vel (Andrews, 2019) történt. A következő lépés során az adapter szekvenciák trimmelése Trimmomatic (Bolger et al., 2014) segítségével történt. A megmaradt jó minőségű leolvasások az MN908947 referenciaszekvenciához térképeztük. A térképezéshez a Geneious (Geneious Prime 2020.0.3) alapértelmezett algoritmust alkalmaztuk az alapértelmezett paraméterekkel. A variánsok a Samtools mpileup (Danecek et al., 2021) és varscan mpileup2cns (Koboldt et al., 2009) segítségével lettek meghatározva. Az így kapott variánsokat felhasználva készült el a konszenzusszekvencia. Ahol a lefedettség nem érte el a 15-ös értéket, ott N IUPAC nukleotidkód lett alkalmazva a bizonytalanság kiküszöbölése miatt. Az így elkészült konszenzusszekvenciák a PANGOLIN szoftver (github.com/cov-lineages/pangolin) által lettek feldolgozva, ezt követően történt a lineage besorolás (teljes genom szekvenciák elemzése alapján).

3.4. Etikai vonatkozások

A vizsgálataim minden esetben retrospektív adatanalízisen alapultak, nem befolyásolták a klinikai diagnosztikai vagy betegellátási protokollt, így beleegyező nyilatkozatra az adatgyűjtés során érintett betegektől nem volt szükség egyik esetben sem a törvényes magyar jogszabályok szerint. A Panbio rapid antigén teszt 18 éven aluli személyei esetén a vizsgálat elvégzéséről írásos beleegyező nyilatkozat állt rendelkezésre a gyermekek közeli hozzátartozója / törvényes gyámja által. A kutatási engedélyeket a Pécsi Tudományegyetem Regionális Kutatásetikai Bizottsága állította ki a 8668-PTE 2021, KK/978-1/2022, 9429-PTE 2022 hivatkozási számok alatt. A debreceni intenzív osztályos adatokra vonatkozóan a Debreceni Egyetem Regionális és Intézményi Kutatásetikai Bizottsága állított ki kutatási engedélyt DE RKEB/IKEB 6594-2023 hivatkozási számmal.

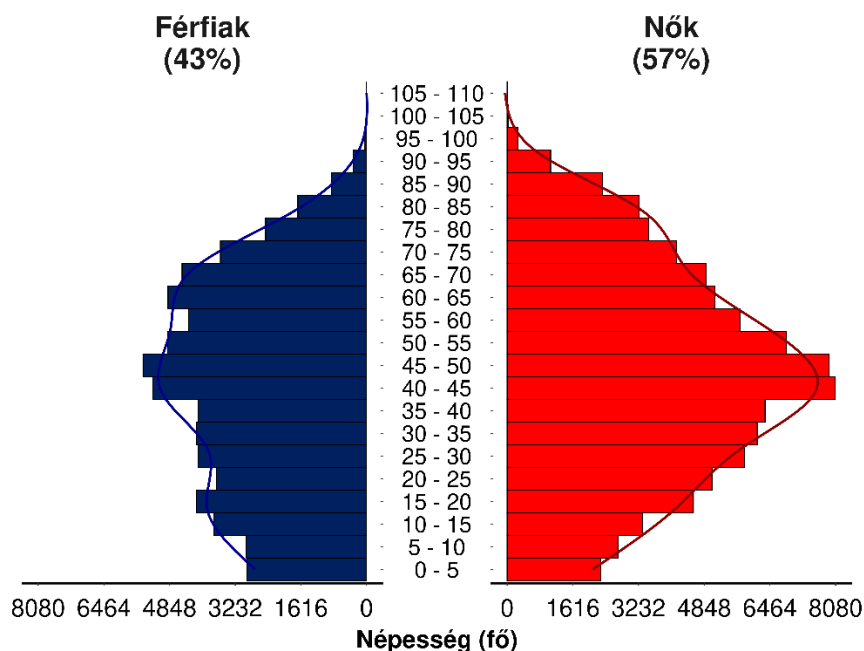
3.5. Statisztika

Az eredményekben bemutatott összes ábra, statisztika és táblázat (a weboldalt leszámítva) az R Statistics (R Foundation for Statistical Computing, Bécs, Ausztria) 4.3.2-es verziójával készült. A 0,05-nél kisebb p-érték volt kétoldali szignifikanciaszintként meghatározva.

4. Eredmények

4.1. A dinamikus, interaktív epidemiológiai térképre vonatkozó analízis

A vizsgálatunk 271,849 tesztre vonatkozó adatot tartalmazott 2020.08.19 és 2022.02.13 között. Egyénekre lebontva ez 158,036 személy, aki Baranya-, Somogy-, és Tolna megyéhez tartozott. Az összesített medián életkor 44 év volt (IQR 27-61), a férfi-női megoszlás 43,3% / 56,7%. A részletes korfa a nemekkel együtt a *11. ábrán* látható.



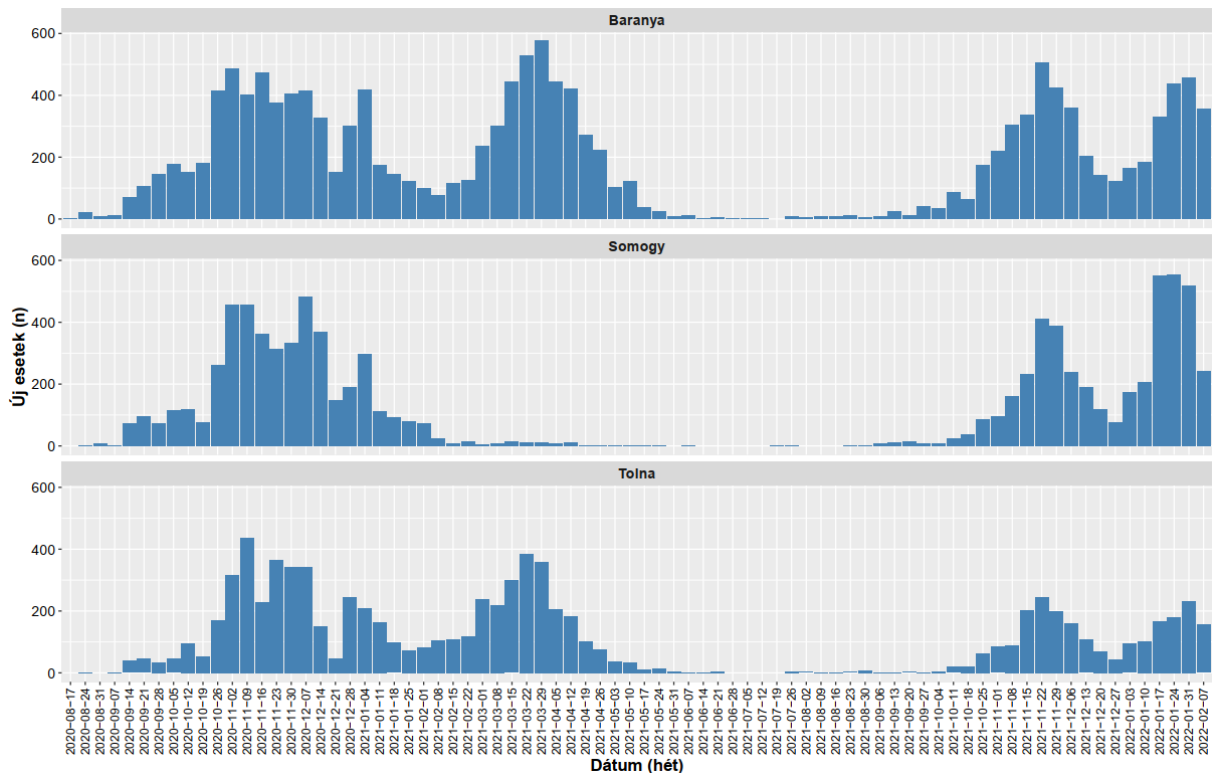
11. ábra: Összesített korfa a három megyéből, nemek szerint elválasztva

A tesztelt egyének százalékos lebontása megyékre nézve az alábbi volt: Baranya – 55,26%, Somogy – 22,05%, Tolna – 22,69%. A pozitív PCR tesztek legmagasabb százalékban Somogy (26,1%), Tolna (23,3%), míg legalacsonyabb százalékban Baranya megyében (16,8%) fordultak elő. A tünetes egyének megoszlása szintén Somogy megyében volt a legmagasabb (72,2%), ezt követte Tolna megye (62,9%), és Baranya megyében volt a legalacsonyabb (47,3%). A részletes lebontások az alábbi, *3. táblázatban* láthatóak.

Változók	N	Összesen, N = 158,037	Baranya, N = 87,325	Somogy, N = 34,855	Tolna, N = 35,857
Életkor	158,036 (100%)				
N (% teljes adatsor)		158,036 (100%)	87,325 (100%)	34,855 (100%)	35,856 (100%)
Átlag (SD)		44 (23)	45 (23)	42 (23)	44 (22)
Medián (IQR)		44 (27, 61)	45 (27, 62)	42 (23, 58)	45 (28, 61)
Minimum; Maximum		0; 107	0; 103	0; 101	0; 107
NA		1	0	0	1
Nem, n (%)	158,035 (100%)				
Férfi		68,496 (43,3%)	37,731 (43,2%)	14,929 (42,8%)	15,836 (44,2%)
Nő		89,539 (56,7%)	49,592 (56,8%)	19,926 (57,2%)	20,021 (55,8%)
NA		2	2	0	0
Pozitív PCR eredmények, n (%)	158,037 (100%)	32,138.0 (20,3%)	14,686.0 (16,8%)	9,084.0 (26,1%)	8,368.0 (23,3%)
Tünetes, n (%)	158,037 (100%)	89,027 (56,3%)	41,288 (47,3%)	25,170 (72,2%)	22,569 (62,9%)

3. táblázat: A vizsgált megyékben előforduló egyéni demográfiai és klinikai adatok

Az új esetek előfordulása hetenkénti bontásban a következő, 12. ábrán követhető. A 2021 február – 2021 áprilisa közti Somogy megyei alacsony esetszám háttérében egy országos eljárásrendi változás állt, ebben az időszakban átmenetileg az Országos Vérellátó Szolgálat dolgozta fel a Somogy megyei minták jelentős részét, így ebben az időszakban az ábrán látható új esetszámok nem mutatnak valós képet.

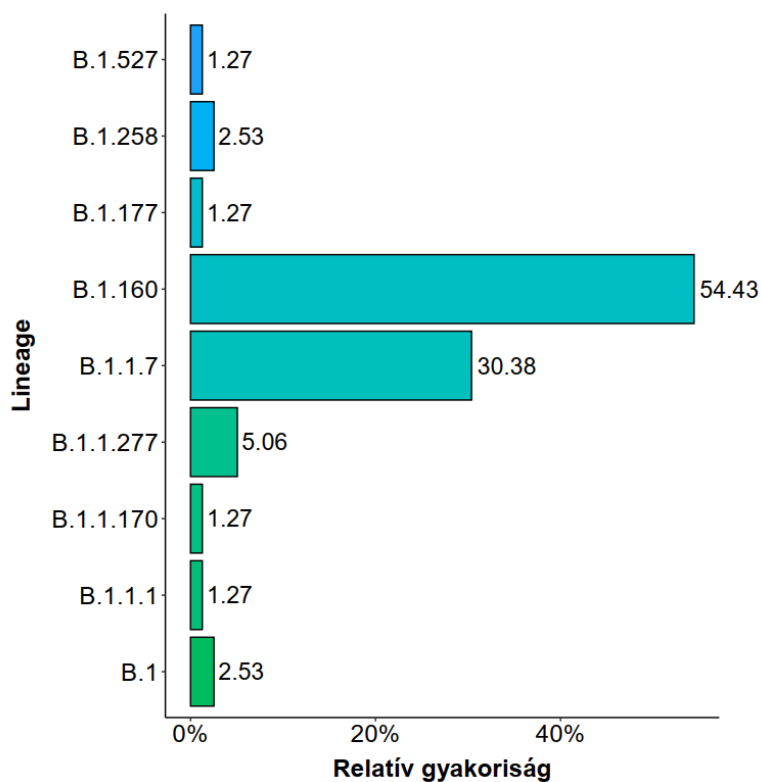


12. ábra: Új esetszámok a három megyében a vizsgált időintervallum alatt

A három megyében jelenlévő 656 településre vetített összesített tesztszám, pozitív tesztszámok, a tünetmentes és tünetes esetek száma a covid-pte.vercel.app/dashboard weboldalon megtekinthető. Két kiemelendő adat: A vizsgált személyek átlagéletkora Pécssett 2020 augusztus 31-ig 26,3 év volt. 2020 december 31-ig Cserénfán az átlagéletkor 80,1 év volt, az átlagos cycle threshold érték pedig 24,54.

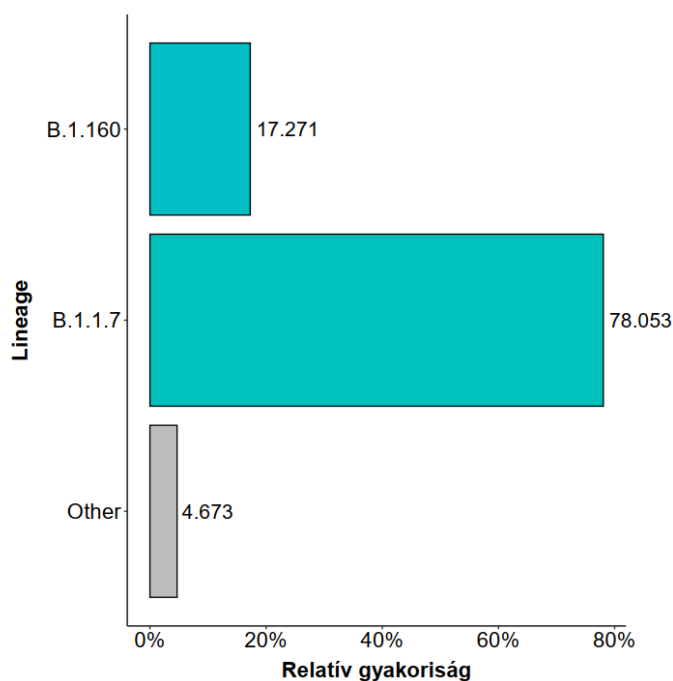
Szekvenálási eredmények

A vizsgált időintervallumban 77 különböző SARS-CoV-2 lineage-et azonosítottunk 2,975 egyéntől, melyek túlnyomó többsége besorolható az európai, alfa, delta és omikron variánsok közé. Az első időintervallum többségét a korai európai lineage-ok fedik le, ahogy a 13. ábra mutatja.



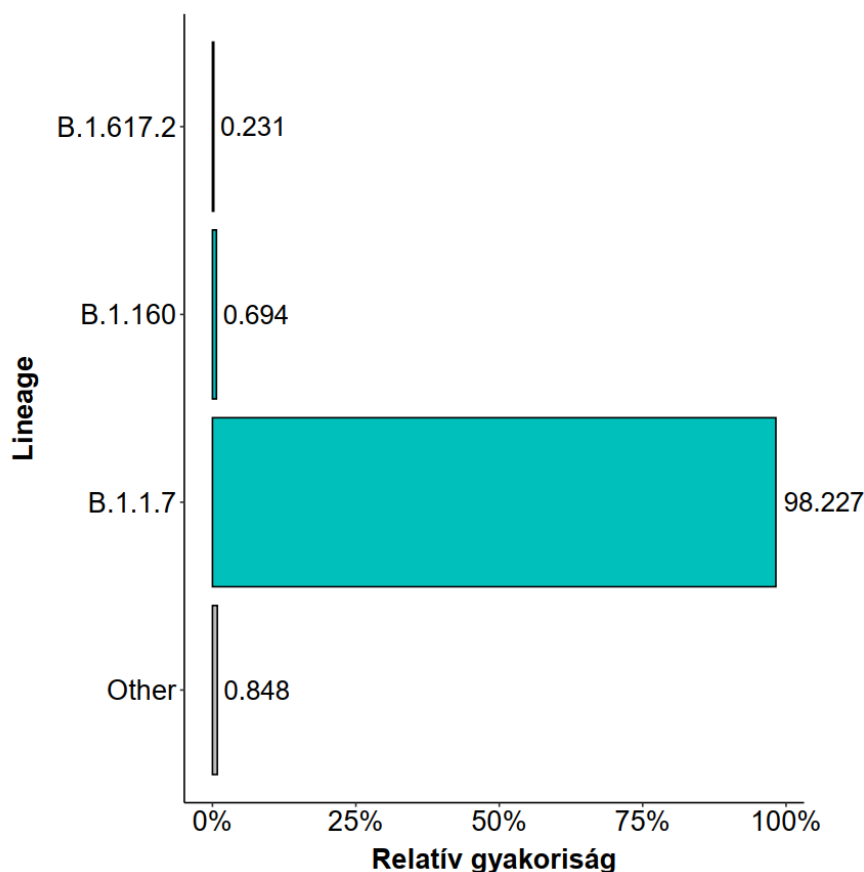
13. ábra: 2020.08.19-2020.12.31 között előforduló szekvenált lineage-ok

2021 első negyedében az alfa variáns 78,05%-ban fordult elő, a B.1.160 17,27%-ban, az egyéb, korai európai lineage-ok pedig 4,67%-ban voltak jelen (14. ábra).



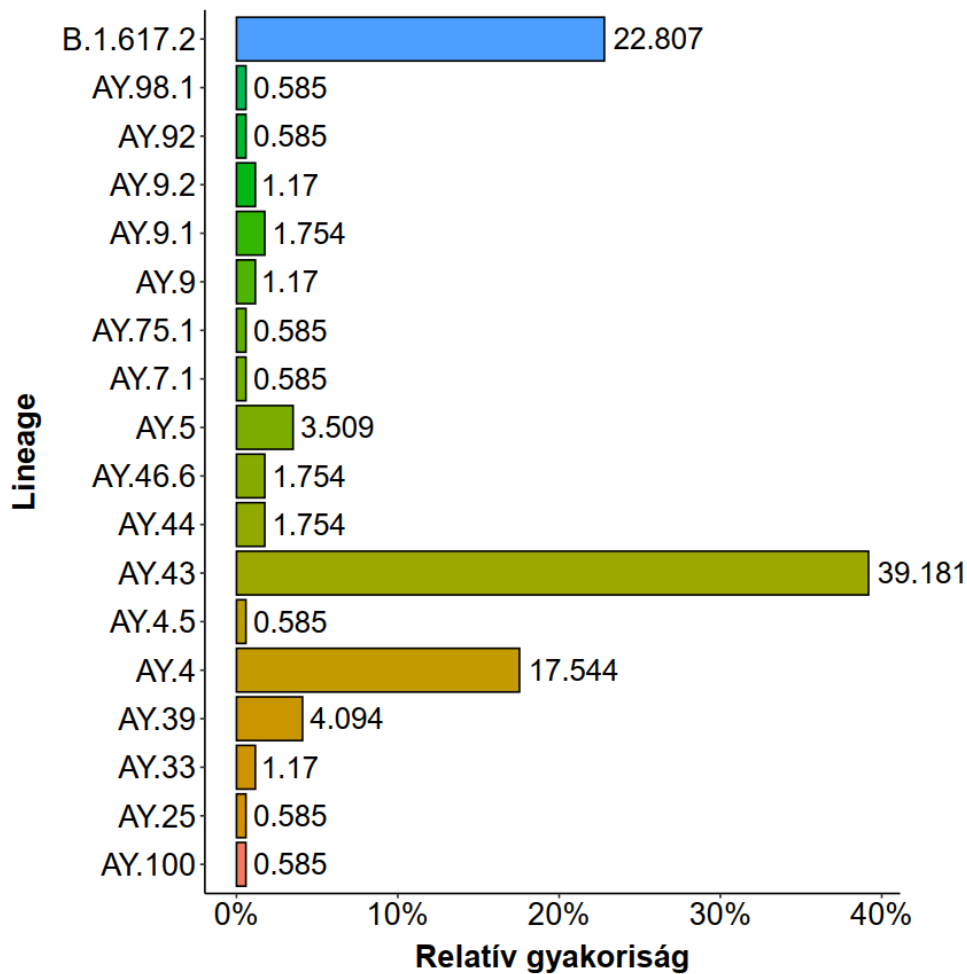
14. ábra: 2021.01.01-2021.03.31 között előforduló szekvenált lineage-ok

2021 második negyedében az alfa variáns 98,23%-ban volt jelen, megjelent először a delta (B.617.2) lineage 0,23%-kal, illetve az egyéb, korai európai, illetve brazil lineage-ok tesznek ki közel 1%-ot (15. ábra).



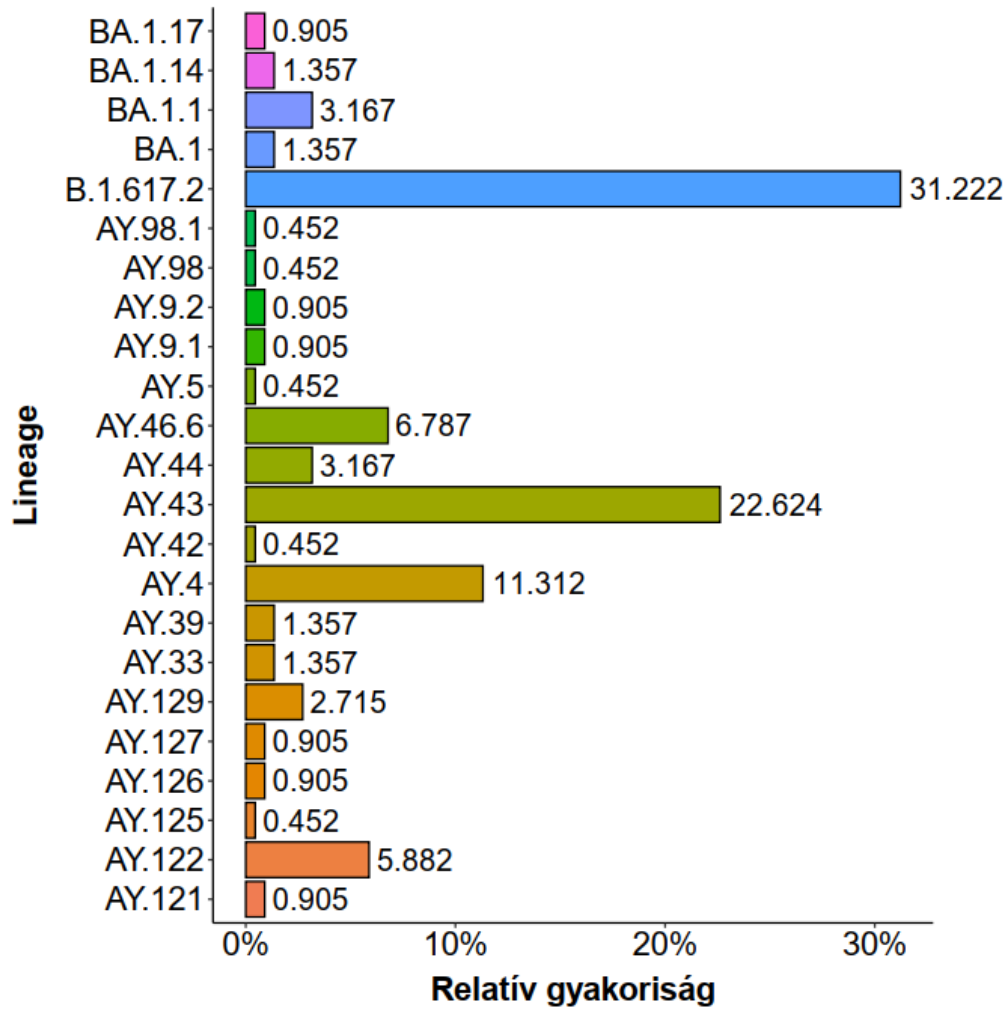
15. ábra: 2021.04.01-2021.06.30 között előforduló szekvenált lineage-ok

2021 harmadik negyedében kizárólag a delta variáns és ahhoz tartozó sublineage-ok voltak jelen. Legnagyobb százalékban az AY.43 (39,18%), ezt követte a B.1.617.2 (22,81%), majd az AY.4 (17,54%). Az egyéb sublineage-ok a relatív előfordulási gyakoriságukkal a 16. ábrán olvashatóak.



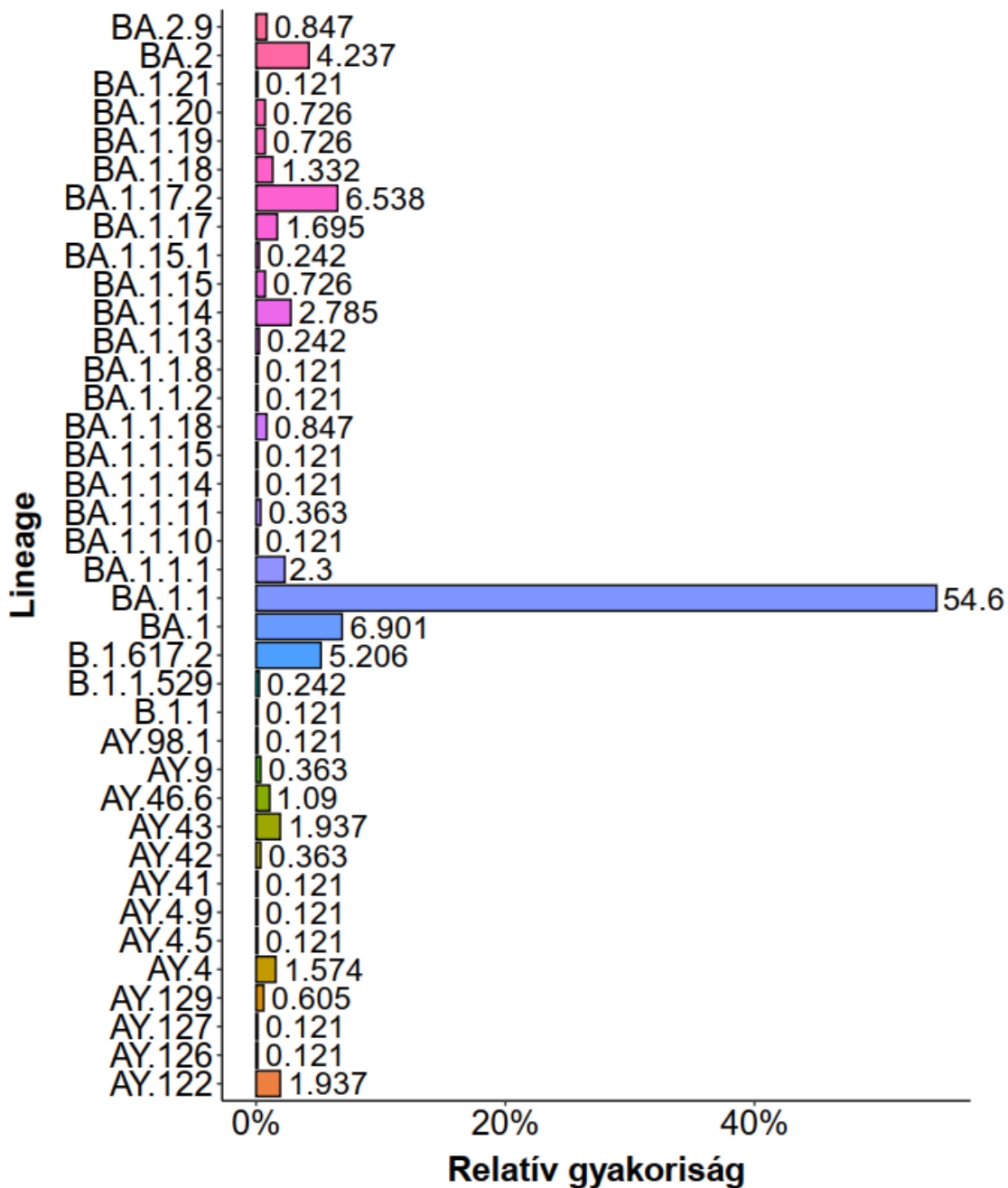
16. ábra: 2021.07.01-2021.09.30 között előforduló szekvenált lineage-ok

2021 utolsó negyedében a fő delta variáns (B.1.617.2) volt jelen a legnagyobb arányban (31.22%), ezt követték a további delta sublineage-ok (AY.43 – 22,63%, AY.4 – 11,31%, AY.46.6 – 6,79%, AY.122 – 5,88%), de megjelentek az első omikron családba tartozó sublineage-ok is, a BA.1.1 3.17%-kal, a BA.1 1,36%-kal volt jelen. Az egyéb sublineage-ok a 17. ábrán láthatóak.



17. ábra: A 2021.10.01-2021.12.31 között előforduló szekvenált lineage-ok

Vizsgálatunk utolsó szakaszában 39 különböző lineage-et azonosítottunk, melyek az omikron és variáns alá tartoztak. Legnagyobb arányban a BA.1.1 (54,6%), BA.1 (6,9%), BA.1.17.2 (6,54%) fordult elő, az egyéb lineage-okat a 18. ábra tartalmazza.



18. ábra: A 2022.01.01-2022.02.13 között előforduló szekvenált lineage-ok

Ha a szekvenált lineage-okat csoportosítjuk a fő vírusvariánsok alapján, négy csoportot kapunk: európai, alfa, delta és omikron csoportok. A medián életkorban szignifikáns különbség ($p < 0,001$) volt az egyes csoportok között: európai – 65 év, alfa – 54 év, delta – 46 év, omikron – 40 év. Ha az életkort 5 különböző csoportra osztjuk, szintén szignifikáns különbséget ($p < 0,001$) figyelhetünk meg a csoportok között. A nemi megoszlásnál nem volt szignifikáns különbség ($p = 0,249$). A tünetek jelenléte esetén is szignifikáns különbség volt jelen ($p < 0,001$)

a négy vírusvariáns csoportjai közt. A medián cycle threshold értékek esetén szintén szignifikáns különbség ($p = 0,003$) megfigyelhető a csoportok között: legalacsonyabb a delta (25,3), alfa (25,5), ezt követően az európai (26,0) és az omikron (26,2). A részletes adatokat, illetve a megyénkénti megoszlást a 4. táblázatban tüntetem fel.

Változók	Összesen	SARS-CoV- 2 variánsok				p-érték
	N = 3,641 (100%)	Európai	Alfa	Delta	Omikron	
		N = 293 (8%)	N = 2,128 (58%)	N = 494 (14%)	N = 726 (20%)	
Életkor						<0,001₁
Átlag (SD)	50 (22)	61 (20)	53 (21)	47 (22)	40 (21)	
Medián (IQR)	51 (34, 67)	65 (48, 76)	54 (39, 70)	46 (31, 63)	40 (23, 54)	
Minimum; Maximum	0; 101	0; 95	0; 101	0; 93	0; 92	
Korcsoport, n (%)						<0,001₂
0–17	289 (7,9%)	10 (3,4%)	107 (5,0%)	47 (9,5%)	125 (17,2%)	
18–44	1,145 (31,4%)	55 (18,8%)	601 (28,2%)	187 (37,9%)	302 (41,6%)	
45–64	1,152 (31,6%)	81 (27,6%)	720 (33,8%)	147 (29,8%)	204 (28,1%)	
65-74	508 (14,0%)	64 (21,8%)	330 (15,5%)	55 (11,1%)	59 (8,1%)	
75+	547 (15,0%)	83 (28,3%)	370 (17,4%)	58 (11,7%)	36 (5,0%)	
Nem, n (%)						0,249 ₂
Férfi	1,685 (46,3%)	141 (48,1%)	1,000 (47,0%)	232 (47,0%)	312 (43,0%)	
Nő	1,956 (53,7%)	152 (51,9%)	1,128 (53,0%)	262 (53,0%)	414 (57,0%)	
Tünet jelenléte						<0,001₂
Tünetmentes	794 (21,8%)	95 (32,4%)	473 (22,2%)	71 (14,4%)	155 (21,3%)	
Tünetes	2,847 (78,2%)	198 (67,6%)	1,655 (77,8%)	423 (85,6%)	571 (78,7%)	
Megye, n (%)						<0,001₂
Baranya	2,265 (62,2%)	164 (56,0%)	1,471 (69,1%)	302 (61,1%)	328 (45,2%)	

Somogy	478 (13,1%)	29 (9,9%)	58 (2,7%)	94 (19,0%)	297 (40,9%)	
Tolna	898 (24,7%)	100 (34,1%)	599 (28,1%)	98 (19,8%)	101 (13,9%)	
Cycle threshold						0,003₁
Átlag (SD)	25,3 (4,5)	25,6 (4,6)	24,9 (4,4)	25,7 (5,9)	25,7 (3,2)	
Medián (IQR)	25,6 (22,5, 28,4)	26,0 (22,3, 29,1)	25,5 (22,2, 28,0)	25,3 (21,5, 29,8)	26,2 (23,4, 28,4)	
Minimum; Maximum	10,3; 39,7	15,4; 36,7	10,3; 39,2	10,4; 39,7	15,4; 33,6	
NA	1,276	143	984	41	108	
₁ Kruskal-Wallis-féle rangösszeg teszt						
₂ Pearson-féle khi négyzet próba						

4. táblázat: Változók a különböző variánsok alapján szétválasztva

4.2. A Panbio RAT diagnosztikus teljesítményére vonatkozó vizsgálatok

5,136 párhuzamosan elvégzett Panbio RAT és SARS-CoV-2 RT-qPCR mintát dolgoztunk fel 4,440 olyan személytől, akik a PTE KK osztályain kerültek tesztelésre 2021. január 21. és 2021. április 30. között. A minták százalékos megoszlása az alábbiak szerint alakult: sürgősségi osztály – 48,1%, gyermekgyógyászati osztályok – 22,5%, belgyógyászati osztályok – 10,1%, szülészeti és nőgyógyászati – 7,4%, neurológia és idegsebészet – 3,7%, egyéb – 8,3%. A tesztelt egyének életkora 0 – 101 év között volt (medián: 53 év, IQR 30 – 72 év). A nemi megoszlás 57,2% nő / 42,8% férfi volt. A medián Ct-érték szignifikánsan alacsonyabb volt a tünetes csoportban, a tünetmentessel szemben (28,2 vs. 35,0, $p < 0,001$). Az 5. táblázat bemutatja a Panbio RAT és RT-qPCR teszteredményeket a Ct-értékekkel együtt a tünetmentes és tünetes egyéneknél. A tünetes csoporthoz 1,249 eset tartozott. A Panbio pozitív esetek 91,8%-a (256/279) tünetes betegektől származott.

Változók	N	Összesen, N = 5,136	Tünetes		p-érték ¹
			Nem, N = 3,887	Igen, N = 1,249	
Panbio eredmény	5,136 (100,0%)				<0,001
Negatív		4,857 (94,6%)	3,864 (99,4%)	993 (79,5%)	
Pozitív		279 (5,4%)	23 (0,6%)	256 (19,5%)	
PCR eredmény	5,136 (100%)				<0,001
Negatív		4,401 (85,7%)	3,661 (94,2%)	740 (59,3%)	
Pozitív		735 (14,3%)	226 (5,8%)	509 (40,7%)	
Cycle threshold	735 (14,3%)				<0,001
Átlag (SD)		29,2 (5,7)	32,6 (3,6)	27,7 (5,9)	
Medián (IQR)		30,6 (25,1, 35,0)	35,0 (31,1, 35,0)	28,2 (23,2, 32,9)	
Minimum; Maximum		11,0; 35,0	20,8; 35,0	11,0; 35,0	
NA		4,401	3,661	740	

¹Pearson-féle khi-négyzet próba; Wilcoxon-féle rangösszeg teszt

5. táblázat: A Panbio, PCR tesztek, Ct-értékek eredményei a tünetek függvényében

A Panbio antigén teszt analitikus teljesítménye

Az összes tesztet (5,136) figyelembe véve kiszámoltuk a Panbio RAT analitikus teljesítményét. Hétszázharmincöt pozitív tesztet azonosított a RT-qPCR, a Panbio RAT pedig 279 pozitív esetet. Kétszázhatvanöt bizonyult valódi pozitívnak, 14 álpozitívnak, 4,387 valódi negatívnak és 470 álnegatívnak. Az összesített szenzitivitás 36,1% (95% CI 32,7-39,6%), a specificitás 99,7% (95% CI 99,5-99,8%) volt. A pozitív prediktív érték (PPV) 95,0% (95% CI 91,8-97,0%), negatív prediktív érték (NPV) 90,3% (95% CI 89,5-91,1%)-nak bizonyult. Az eredmények az alábbi, 6. táblázatban összefoglalva szerepelnek.

	Panbio pozitív	Panbio negatív	
PCR pozitív	265 (5,2%)	470 (9,2%)	Szenzitivitás: 36,1% (95% CI 32,7-39,6%)
PCR negatív	14 (0,3%)	4,387 (85,4%)	Specificitás: 99,7% (95% CI 99,5-99,8%)
	PPV: 95,0% (95% CI 91,8-97,0%)	NPV: 90,3% (95% CI 89,5-91,1%)	

6. táblázat: Panbio RAT analitikus teljesítménye, az összes tesztet figyelembevéve

A rétegzett statisztikai elemzés elvégzéséhez a torzítás elkerülése érdekében kizártuk az összes ismétlődő vizsgálatot, így ebben az elemzésben minden egyén SARS-Cov-2 Panbio és RT-

qPCR mintája csak egyszer szerepel (a legelső vizsgálat). Így összesen 696 mintát zártunk ki, 4,440 minta maradt meg, az eredmények a 7. táblázatban láthatóak. A 4,440 mintából 609 volt pozitív RT-qPCR esetén, tehát a prevalencia 13,7% volt. A Panbio 251 (5,7%) pozitív esetet észlelt. Ebben az esetben a szenzitivitás 41,2% (95% CI 37,4-45,2%) volt, a specificitás 99,7% (95% CI 99,4-99,8%)-nak bizonyult. A PPV 95,1% (95% CI 91,8-97,1%), a NPV 91,4% (95% CI 90,5-92,2%) volt.

	Panbio pozitív	Panbio negatív	
PCR pozitív	251 (5,7%)	358 (8,1%)	Szenzitivitás: 41,2% (95% CI 37,4-45,2%)
PCR negatív	13 (0,3%)	3,818 (86,0%)	Specificitás: 99,7% (95% CI 99,4-99,8%)
	PPV: 95,1% (95% CI 91,8-97,1%)	NPV: 91,4% (95% CI 90,5-92,2%)	

7. táblázat: Panbio RAT analitikus teljesítménye, az ismétlődő (696 db) tesztek kizárásával

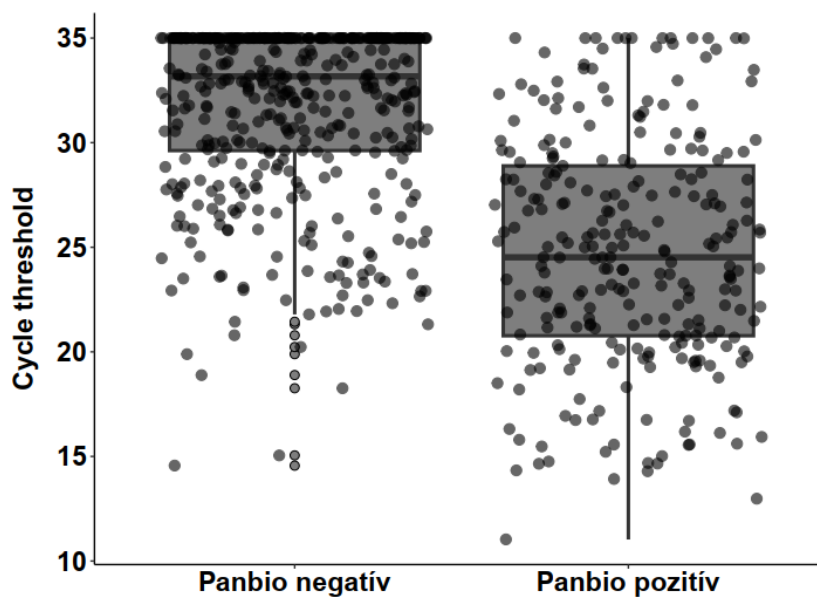
A következő, 8. táblázatban a Panbio RAT szenzitivitását láthatjuk a különböző Ct-kategóriák szerint. A ≤ 20 csoportban 91,2%, 20-25 közt 68,6%, 25-30 közt 47,9%, 30 és 35 közt pedig 12,6% volt a szenzitivitás.

	Összesen, N = 735	Cycle threshold csoportok				p-érték ¹
		≤ 20 , N = 57	20-25, N = 124	25-30, N = 165	30-35, N = 389	
Panbio eredmény						<0,001
Negatív	470 (63,9%)	5 (8,8%)	39 (31,4%)	86 (52,1%)	340 (87,4%)	
Pozitív	265 (36,1%)	52 (91,2%)	85 (68,6%)	79 (47,9%)	49 (12,6%)	

¹ Pearson-féle khi-négyzet próba

8. táblázat: Panbio szenzitivitás a különböző Cycle threshold csoportok szerint

Az összesített átlagos Ct-érték 29,2 volt. A Panbio pozitív egyének medián Ct-értéke 24,5 volt, amely szignifikánsan alacsonyabb ($p < 0,001$), mint a Panbio negatív medián Ct-értéke, mely 33,2 volt (19. ábra).



19. ábra: Cycle threshold értékek Panbio pozitív és negatív egyéneknél

Ha csak a tünetes betegek csoportját vizsgáljuk, a Panbio RAT szenzitivitása 48,7% volt (95% CI: 44,4-53,1%), specificitása 98,9% (95% CI 97,9-99,5%). A pozitív prediktív érték 96,9% (95% CI: 94-98,4%), negatív prediktív érték 73,7% (95% CI: 70,9-76,4%) volt.

A SARS-CoV-2 fertőzések utánkövetése

Azon egyének esetén, akiknek az első SARS-CoV-2 RT-qPCR tesztjük pozitív lett, és ezt követően számos további RT-qPCR tesztjük készült, megfigyeltük, hány nap telt el az első negatív RT-qPCR teszteredményig (9. táblázat). A legalacsonyabb tesztszám egyénenként 2 volt, a legmagasabb pedig 11. Az első teszt során Panbio negatív és Panbio pozitív csoportok között szignifikáns különbség volt a medián eltelt napok közt.

	Összesen, N = 291 (100%)	Panbio negatív, N = 166 (57,0%)	Panbio pozitív, N = 125 (43,0%)	p-érték ¹
Napokban eltelt idő az első negatív PCR tesztig				<0,001
Átlag (SD)	12 (7)	9 (6)	15 (7)	
Medián (IQR)	10 (7, 15)	8 (5, 12)	15 (10, 19)	
Minimum; Maximum	1; 35	1; 34	2; 35	

¹Wilcoxon-féle rangösszeg teszt

9. táblázat: A SARS-CoV-2 fertőzések utánkövetése a Panbio teszteredmények szerint

Az általánosan tesztelt populáció összehasonlítása a halálos kimenetelű esetekkel

Összehasonlítottunk demográfiai és klinikai adatokat 80 olyan beteg esetén, akik elhunytak a SARS-CoV-2 fertőzés / annak szövődményei kapcsán, az általánosan tesztelt populációval szemben (10. táblázat). Szignifikáns különbség volt a nemi megoszlásban: az általános populációban 57.5% volt a nők aránya, míg az elhunyt csoportban 41.2% ($p = 0,004$). A medián életkorban is szignifikáns ($p < 0,001$) különbség mutatkozott: 52 év (IQR 30-71) volt az általános populációban, míg az elhunyt csoportban 78 év (IQR 70 – 87) volt.

Változók	N	Összesen, N = 4440	Általános populáció, N = 4360	SARS-CoV-2 szövődmények miatti halálozás, N = 80	p-érték
Nem	4440 (100,0%)				0,004 ¹
Férfi		1901 (42,8%)	1854 (42,5%)	47 (58,8%)	
Nő		2539 (57,2%)	2506 (57,5%)	33 (41,2%)	
Panbio eredmény	4440 (100,0%)				<0,001 ²
Negatív		4176 (94,1%)	4138 (94,9%)	38 (47,5%)	
Pozitív		264 (5,9%)	222 (5,1%)	42 (52,5%)	
Ct érték	609 (13,7%)				
Átlag (SD)		28,8 (5,8)	29,1 (5,8)	27,0 (6,0)	
Medián (IQR)		29,9 (24,5, 35,0)	30,4 (24,8, 35,0)	26,9 (22,8, 32,6)	0,002 ³
Minimum; Maximum		11,0; 35,0	11,0; 35,0	14,6; 35,0	
NA		3831	3831	0	
Tünetes	4440 (100,0%)	1083 (24,4%)	1009 (23,1%)	74 (92,5%)	<0,001 ¹
Életkor	4440 (100,0%)				
Átlag (SD)		50 (25)	50 (25)	78 (11)	
Medián (IQR)		53 (30, 72)	52 (30, 71)	78 (70, 87)	<0,001 ³
Minimum; Maximum		0; 101	0; 101	55; 98	
Ct csoport	609 (14%)		529	80	0,019 ²
≤20		53 (8,7%)	44 (8,3%)	9 (11,3%)	
20-25		111 (18,2%)	92 (17,4%)	19 (23,8%)	
25-30		143 (23,5%)	118 (22,3%)	25 (31,3%)	
30-35		302 (49,6%)	275 (52,0%)	27 (33,8%)	
NA		3831	3831	0	

¹ Pearson-féle ká négyzet próba; ²Fisher-féle egzakt teszt; ³Wilcoxon-féle rangösszeg teszt

10. táblázat: Az általános- és elhunyt populáció összehasonlítása különböző paraméterek

szerint

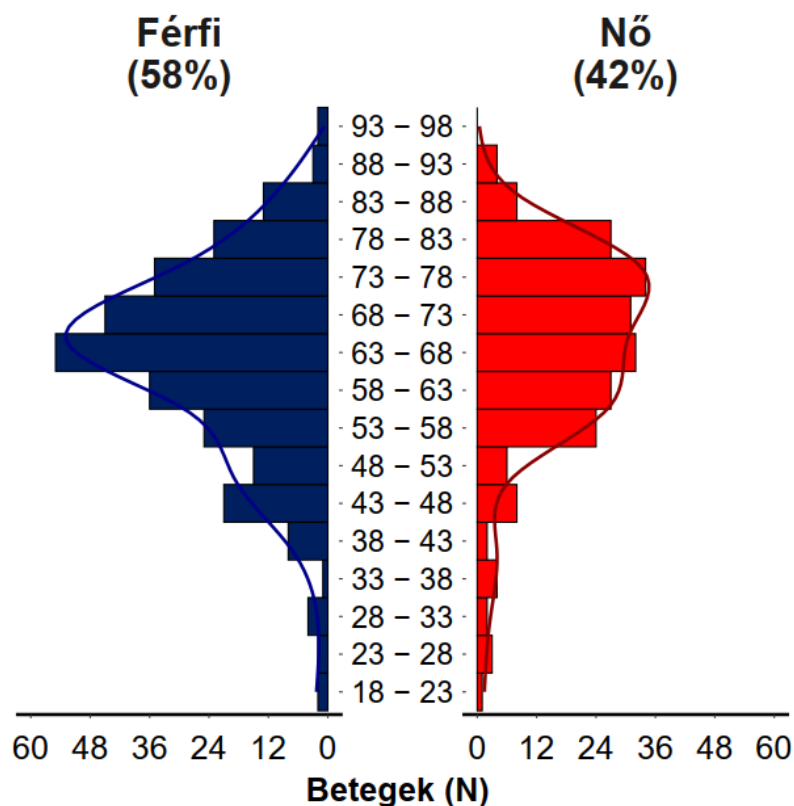
4.3.A súlyos kimenetelű SARS-CoV-2 infekcióhoz társuló klinikai, laboratóriumi és molekuláris genetikai paraméterek vizsgálata

Lineage-alapú analízis

Az analízishez 503 beteg tartozik, akik 2021 januárja és 2022 novembere között voltak a PTE KK AITI COVID-19 osztályokon.

Demográfia

A betegek életkora 18 – 96 év között volt (medián: 66 év, IQR 57-73 év). A férfi – nő megoszlás 58% / 42% volt. A részletes életkori csoportok az alábbi, 20. ábrán megtekinthetők.



20. ábra: Az ITO-s betegek nemi és életkori megoszlása

A korábbiakban bemutatott dél-dunántúli térképes adatbázis 2,975 szekvenált adatokkal rendelkező, nem intenzív osztályos betegekkel hasonlítottuk össze az 503 ITO-s beteget. Az átlagéletkor minden vizsgált variáns esetén szignifikánsan magasabb volt az intenzív osztályos betegpopulációban. A férfi nem szignifikánsan magasabb előfordulást mutatott az alfa ($p < 0,001$) és delta ($p = 0,005$) csoportokban, de az omikron variáns esetén ez nem volt megfigyelhető ($p = 0,139$). Az életkort három csoportra osztottuk: 50 év alatti, 50-65 év közötti,

és 65 év feletti populáció. Mindhárom csoportban szignifikáns ($p < 0,001$) különbség volt jelen az intenzív- és nem intenzív osztályos populáció között.

Változó k	Alfa, N = 2001				Delta, N = 685				Omikron, N = 792			
	Össz, N = 2,001	ITO, N = 194	Nem ITO, N = 1,807	p-érték	Össz, N = 685	ITO, N = 230	Nem ITO, N = 455	p-érték	Össz, N = 792	ITO, N = 79	Nem ITO, N = 713	p-érték
Életkor				<0,001 ¹				<0,001 ¹				<0,001 ¹
Átlag (SD)	52 (20)	64 (13)	51 (21)		52 (21)	63 (13)	46 (21)		42 (22)	70 (14)	39 (20)	
Medián (IQR)	53 (38, 67)	65 (56, 73)	51 (36, 66)		56 (36, 68)	65 (58, 72)	44 (30, 62)		43 (25, 59)	71 (62, 81)	40 (22, 53)	
Minimum : Maximum	0; 101	25; 90	0; 101		0; 93	17; 90	0; 93		0; 96	20; 96	0; 92	
N (% nem hiányos)	2,001 (100)	194 (100)	1,807 (100)		685 (100)	230 (100)	455 (100)		792 (100)	79 (100)	713 (100)	
Nem				<0,001 ²				0,005 ²				0,139 ²
Férfi	964 (48,2 %)	117 (60,3 %)	847 (46,9 %)		341 (49,8 %)	132 (57,4 %)	209 (45,9 %)		349 (44,1 %)	41 (51,9 %)	308 (43,2 %)	
Nő	1,037 (51,8 %)	77 (39,7 %)	960 (53,1 %)		344 (50,2 %)	98 (42,6 %)	246 (54,1 %)		443 (55,9 %)	38 (48,1 %)	405 (56,8 %)	
Korcsoport, N				<0,001 ²				<0,001 ²				<0,001 ²
<50	927 (46,3 %)	27 (13,9 %)	900 (49,8 %)		305 (44,5 %)	32 (13,9 %)	273 (60,0 %)		518 (65,4 %)	7 (8,9 %)	511 (71,7 %)	
50 - 65	502 (25,1 %)	71 (36,6 %)	431 (23,9 %)		185 (27,0 %)	91 (39,6 %)	94 (20,7 %)		139 (17,6 %)	20 (25,3 %)	119 (16,7 %)	
>65	572 (28,6 %)	96 (49,5 %)	476 (26,3 %)		195 (28,5 %)	107 (46,5 %)	88 (19,3 %)		135 (17,0 %)	52 (65,8 %)	83 (11,6 %)	

¹ Egyutas ANOVA; ² Pearson-féle khi-négyzet próba,

11. táblázat: Életkor és nem megoszlás a lineage-ok között

Letalítás és komorbiditások

Az 503 ITO-s beteg közül 317 hunyt el az intenzív osztályon. Az alfa csoportban a halálozás 65,5% volt (127/194 beteg), a delta csoportban 66,1% (152/230 beteg), az omikron csoportban 48,1% (38/79 beteg). Életkor szerinti összehasonlításban szignifikáns különbség volt az alfa

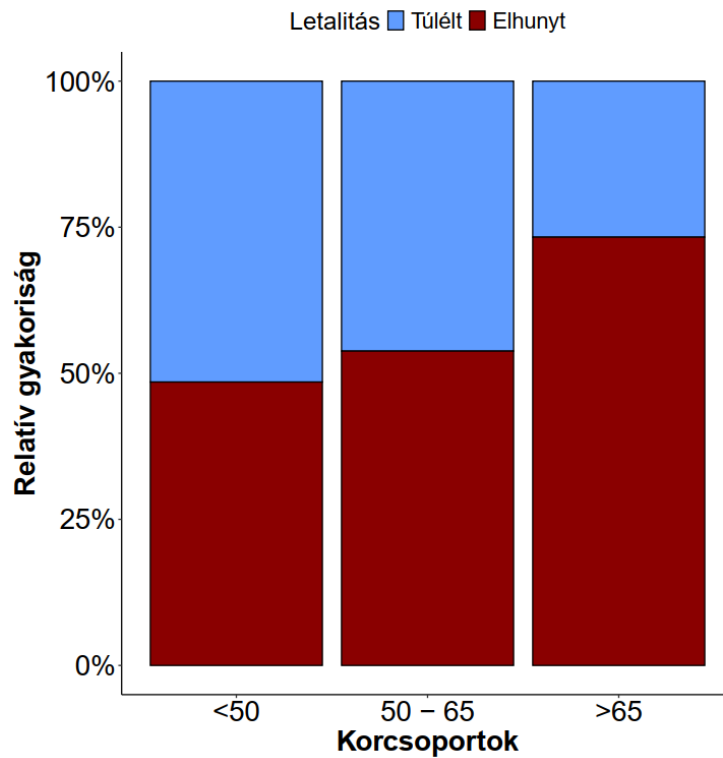
($p=0,001$) és delta ($p<0,001$) csoportoknál a túlélő és elhunyt betegek közt, az omikron csoportban nem volt szignifikáns ($p=0,073$) különbség. A korcsoportok esetén szintén az alfa és delta csoportok esetén volt szignifikáns ($p<0,001$) különbség, míg az omikron esetén ez nem volt megfigyelhető ($p=0,089$). Nemek esetén egyik lineage csoportban sem volt szignifikáns különbség a túlélő és elhunyt betegek közt. Az ITO túlélők intenzív osztályról elbocsátást követő 28-napos utánkövetés során további 10 ember az alfa csoportban, 17 ember a delta csoportban, és 10 ember az omikron csoportban elhunyt.

Változók	Alfa, N = 194				Delta, N = 230				Omikron, N = 79			
	Összes, N = 194	Túlélő, N = 67	Elhunyt, N = 127	P-érték	Összes, N = 230	Túlélő, N = 78	Elhunyt, N = 152	P-érték	Összes, N = 79	Túlélő, N = 41	Elhunyt, N = 38	P-érték
Életkor				0,001¹				<0,001¹				0,073 ₁
Átlag (SD)	64 (13)	60 (13)	66 (13)		63 (13)	59 (13)	65 (12)		70 (14)	67 (15)	73 (12)	
Medián (IQR)	65 (56, 73)	61 (54, 67)	69 (57, 74)		65 (58, 72)	61 (54, 69)	67 (60, 74)		71 (62, 81)	69 (60, 77)	76 (66, 82)	
Minimum; Maximum	25; 90	25; 90	29; 88		18; 90	18; 84	18; 90		20; 96	20; 95	40; 96	
Korcsoportok				<0,001^{2,3}				<0,001^{2,3}				0,089 _{2,3}
<50	27 (13,9%)	11 (16,4%)	16 (12,6%)		32 (13,7%)	17 (21,5%)	15 (9,7%)		7 (8,9%)	6 (14,6%)	1 (2,6%)	
50 - 65	71 (36,6%)	39 (52,2%)	36 (28,3%)		91 (39,6%)	37 (47,4%)	54 (35,5%)		20 (25,3%)	12 (29,3%)	8 (21,1%)	
>65	96 (49,5%)	21 (31,3%)	75 (59,1%)		107 (46,5%)	24 (30,8%)	84 (54,6%)		52 (65,8%)	23 (56,1%)	29 (76,3%)	
Nem				0,855 ³				0,947 ³				0,745 ₃
Férfi	117 (60,3%)	41 (61,2%)	76 (59,8%)		132 (57,4%)	45 (57,7%)	87 (57,2%)		41 (51,9%)	22 (53,7%)	19 (50,0%)	
Nő	77 (39,7%)	26 (38,8%)	51 (40,2%)		98 (42,6%)	33 (42,3%)	65 (42,8%)		38 (48,1%)	19 (46,3%)	19 (50,0%)	

¹ Wilcoxon-féle rangösszeg teszt
² Fisher-féle egzakt teszt
³ Pearson-féle khi-négyszet próba

12. táblázat: Variánsok közti életkor és nem megoszlás az ITO-s betegek közt

Az életkor egy szignifikáns tényezőnek bizonyult az intenzív osztályos, és az utánkövetéses időszakban mindhárom variáns esetén. A 65 év feletti betegek esetén a halálozás relatív gyakorisága nagyobb volt (187/255 beteg, 73,33%), mint az 50 év alatti- (32/66 beteg, 48,48%), és az 50-65 év közötti (98/182 beteg, 53,85%) csoportban, ez az alábbi, 21. ábrán megfigyelhető.



21. ábra: A letalitás relatív előfordulási gyakorisága a korcsoportok között

A komorbiditások, mint HT, DM és COPD jelentős hatást gyakorolt a vizsgált vírusvariánsokhoz tartozó betegek letalitására. A HT az Omikron csoport esetén ($p < 0,003$), míg a DM a Delta csoport esetén bizonyult szignifikánsnak ($p = 0,04$). Együttesen, a HT és DM az Omikron csoportba tartozó páciensek esetén volt szignifikáns ($p = 0,023$). A COPD az Omikron csoport esetén szignifikáns hatással ($p = 0,05$) volt a letalitásra. Az inhalált kortikoszteroid (ICS) készítmények használata esetén nem tapasztaltunk halálozás-csökkenést.

Komorbiditások	Alfa, N = 194				Delta, N = 230				Omikron, N = 79			
	Összes, N = 194	Túlélés, N = 67	Elhunyt, N = 127	p-érték	Összes, N = 230	Túlélés, N = 78	Elhunyt, N = 152	p-érték	Összes, N = 79	Túlélés, N = 41	Elhunyt, N = 38	p-érték
Hipertónia, N (%)	134 (69,1%)	47 (70,1%)	87 (68,5%)	0,814 ₃	162 (70,4%)	51 (65,4%)	111 (73,0%)	0,229 ₃	56 (70,9%)	23 (56,1%)	33 (86,8%)	<0,003 ³
Cukorbetegség, N (%)	74 (38,1%)	24 (35,8%)	50 (39,4%)	0,628 ₃	89 (38,7%)	23 (29,5%)	66 (43,4%)	0,040 ₃	23 (29,1%)	10 (24,4%)	13 (34,2%)	0,337 ₃
HT és DM				0,922 ₂				0,193 ₂				0,023 ₂
Egyik sem	51 (26,3%)	18 (26,9%)	33 (26,0%)		59 (25,7%)	25 (32,1%)	34 (22,4%)		21 (26,6%)	16 (39,0%)	5 (13,2%)	
Mindkettő	65 (33,5%)	22 (32,8%)	43 (33,9%)		80 (34,8%)	21 (26,9%)	59 (38,8%)		21 (26,6%)	8 (19,5%)	13 (34,2%)	
Diabétesz	9 (4,6%)	2 (3,0%)	7 (5,5%)		9 (3,9%)	2 (2,6%)	7 (4,6%)		2 (2,5%)	2 (4,9%)	0 (0,0%)	
Hipertónia	69 (35,6%)	25 (37,3%)	44 (34,6%)		82 (35,7%)	30 (38,5%)	52 (34,2%)		35 (44,3%)	15 (36,6%)	20 (52,6%)	
COPD, N (%)	16 (8,2%)	5 (7,5%)	11 (8,7%)	0,773 ₃	31 (13,5%)	9 (11,5%)	22 (14,5%)	0,537 ₃	18 (22,8%)	13 (31,7%)	5 (13,2%)	0,05 ³
COPD-ICS, N (%)	6 (3,1%)	3 (4,5%)	3 (2,4%)	0,418 _{3,4}	18 (7,8%)	6 (7,7%)	12 (7,9%)	0,957 _{3,4}	12 (15,2%)	9 (22,0%)	3 (7,9%)	0,082 _{2,3}

² Fisher-féle egzakt teszt
³ Pearson-féle khi-négyszet próba

13. táblázat: Komorbiditások a különböző variánsok között

Logisztikus regressziót végeztünk a letalitás és az életkorcsoportok közötti korreláció meghatározásához. A 65 év feletti életkor szignifikánsan hozzájárult a letalitás növekedéséhez: 2,92 volt az esélyhányados (odds ratio; OR), 95% CI 1,68-5,12, p-érték<0,001). A cukorbetegség is szignifikánsan hozzájárult a letalitás növekedéséhez: OR=1.55, 95% CI: 1,06-2,29, p-érték=0,025). A multivariáns analízis esetén a HT és DM-nek nem volt fokozott hatása a letalitásra. Bár a férfi nem mindhárom variánsban magasabb arányban volt jelen az intenzív osztályos betegek, és a letalitás esetén is, a nemi megoszlás nem volt szignifikáns hatással a letalitásra.

Változók	Egyváltozós analízis					Többváltozós analízis				
	N	Halál N	OR ¹	95% CI ²	P-érték	N	Halál N	OR ¹	95% CI ²	P-érték
Korcsoport	503	317				503	317			
<50	66	32	—	—		66	32	—	—	
50 - 65	182	98	1,24	0,71, 2,18	0,5	182	98	1,17	0,65, 2,11	0,7
>65	255	187	2,92	1,68, 5,12	<0,001	255	187	2,70	1,48, 4,95	<0,001
Cukorbetegség	503	317								
Nem	317	188	—	—						
Igen	186	129	1,55	1,06, 2,29	0,025					
Hipertónia	503	317								
Nem	151	86	—	—						
Igen	352	231	1,44	0,98, 2,13	0,065					
Nem	503	317				503	317			
Férfi	290	182	—	—		290	182	—	—	
Nő	213	135	1,03	0,71, 1,48	0,9	213	135	0,94	0,64, 1,38	0,8
HT és DM	503	317				503	317			
Egyik sem	131	72	—	—		131	72	—	—	
Mindkettő	166	115	1,85	1,15, 2,99	0,012	166	115	1,39	0,83, 2,34	0,2
Cukorbetegség	20	14	1,91	0,72, 5,68	0,2	20	14	2,01	0,74, 6,06	0,3
Hipertónia	186	116	1,36	0,86, 2,14	0,2	186	116	1,12	0,69, 1,82	0,6

¹ OR = Odds Ratio (esélyhányados)

² CI = Confidence Interval

14. táblázat: Logisztikus regresszió az életkor és komorbiditások tekintetében

Oltási adatok

Az 503 betegből 339 nem rendelkezett SARS-CoV-2 elleni védőoltással. A nem oltott betegek 65,5%-a hunyt el (222/339 beteg). Harmincöt beteg rendelkezett egy dózissal, ebben a csoportban a halálozás 68,6% volt (24/35 beteg). Azon betegeket, akik 2 oltási dózissal rendelkeztek, és legalább 14 nap eltelt a második oltás felvétele óta, a „teljes oltás” (azaz befejezett teljes oltási protokoll) kategóriába soroltuk. Ide 82 beteg tartozott, 64,6%-uk hunyt el (53/82 beteg). 47 beteg rendelkezett 3 oltással, 38,3%-uk hunyt el (18/47 beteg). Azon betegeket, akik teljes oltással rendelkeztek és/vagy egy harmadik, booster oltással rendelkeztek, a kórházi felvétel és az oltás között 6 hónapnál kevesebb idő telt el, „védett” kategóriába

soroltuk. Ehhez a betegcsoporthoz 55 beteg tartozott, a 49,1%-uk hunyt el (26/49 beteg). A 437 nem védett beteg 64,3%-a (281 beteg) hunyt el. Említésre méltó, hogy volt 11 beteg, aki a teljes oltás kategóriába tartozott, azonban nem állt rendelkezésre információ az oltás időpontjáról. A 11 betegből 9 elhunyt. A khi-négyzet próba elvégzését követően a védett csoportba tartozó betegeknek szignifikánsan ($p=0,028$) alacsonyabb volt a halálozásuk, mint a nem védett betegeknek.

Változók	Oltási dózis				Total	p-érték	Védett		Összes	p-érték
	Nulla	Egy	Kettő (teljes)	Három			Nem	Igen		
Letalítás						0,003¹				0,028¹
Túlélt	117 (35%)	11 (31%)	29 (35%)	29 (62%)	186 (37%)		156 (36%)	28 (51%)	184 (37%)	
Elhunyt	222 (65%)	24 (69%)	53 (65%)	18 (38%)	317 (63%)		281 (64%)	27 (49%)	308 (63%)	
Összes, n (%)	339 (100%)	35 (100%)	82 (100%)	47 (100%)	503 (100%)		437 (100%)	55 (100%)	492 (100%)	

¹ Pearson-féle khi négyzet próba

15. táblázat: Letalítás az oltási adatok függvényében

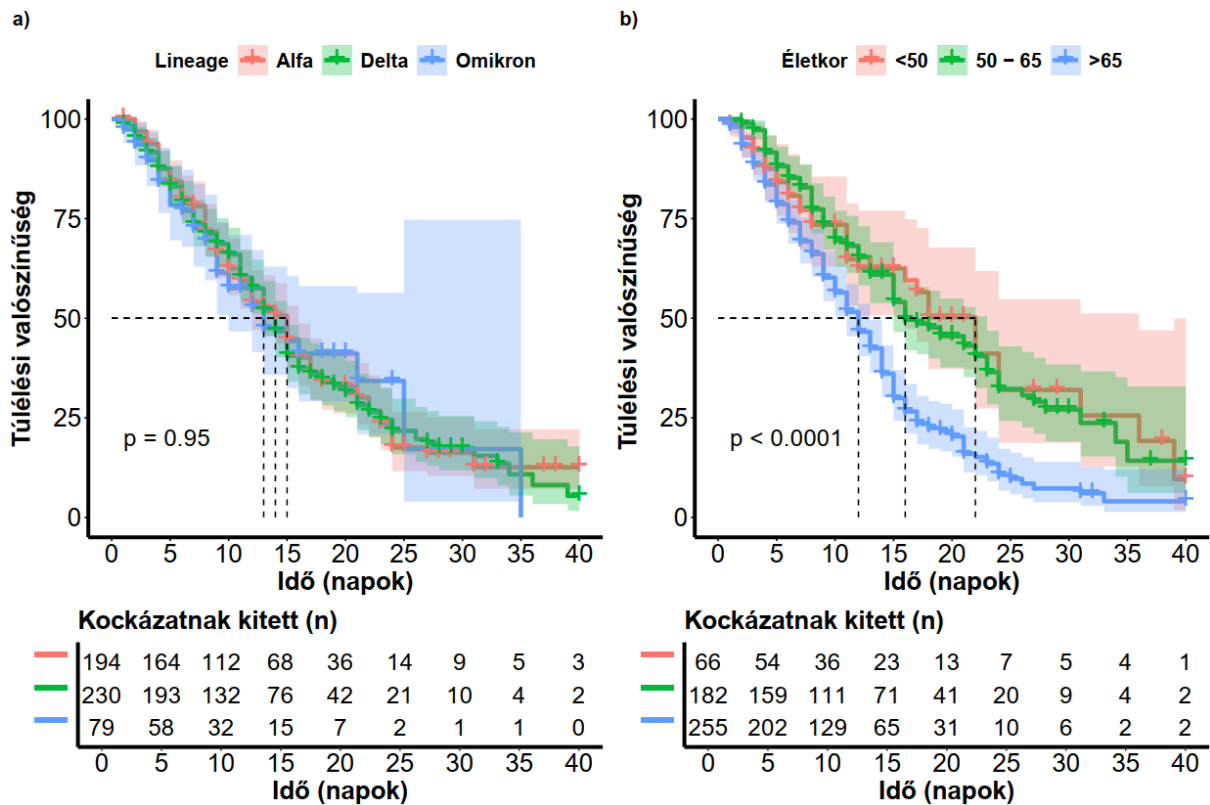
Betegek utánkövetése

A túlélőket 28 napig követtük az intenzív osztály elhagyását követően. Az alfa csoport 67 túlélője közül 10 (14,93%) hunyt el az utánkövetés során. A delta csoport esetén 78 túlélőből 17 (21,79%) hunyt el az utánkövetés során. Az omikron csoport esetén a 41 túlélő közül 10 (24,4%) elhunyt. Az alfa- és delta csoport túlélők medián életkora is 61 év volt, az omikron csoportnál volt a legmagasabb ez a szám, 69 év. Az inhalatív kortikoszteroidot használó betegek közül az alfa esetén 1/3 beteg hunyt el, delta esetén 1/6, omikron esetén pedig 6/9.

Változók	Alfa ITO túlélők N = 67	Delta ITO túlélők N = 78	Omikron ITO túlélők N = 41
ITO túlélők életkora (medián)	61	61	69
Az utánkövetés során elhunytak életkora (medián)	69	65	69
ITO-utáni letalítás (28 napos utánkövetés, betegek száma)	10	17	10
“Védett” csoportba tartozó betegek	2	9	17
Nem (Férfi/Nő arány)	41/26	45/33	22/19
Letalítás a COPD-ICS csoportban (elhunyt/összes)	1/3	1/6	6/9

16. táblázat: Részletes lebontása az ITO túlélőknek, és az ITO-utáni letalításnak

A Kaplan-Meier túlélési görbe az egyik legjobb módszer a kezelés után adott ideig élő betegek követésére, amely esetünkben az intenzív osztályos felvétellel kezdődik. A 22. ábra a) része bemutatja a lineage szerint ábrázolt túlélési görbéket. Az 50%-os túlélési valószínűséget a 15., 14., és 13. napon érték el az alfa, delta és omikron csoportba tartozó betegek. A variánsok között nem volt szignifikáns ($p=0,95$) különbség. A három életkorcsoport (<50 év, 50-65 év, >65 év) összehasonlítására is Kaplan-Meier túlélési görbét alkalmaztunk, mely a 22. ábra b) részén megfigyelhető. Az 50 év alatti csoport az 50%-os túlélési valószínűséget a 22. napon érte el, az 50-65 év közötti csoport a 16. napon, míg a 65 év feletti csoport 50%-a a 12. napon. A korcsoportok és az 50%-os túlélés között kiemelkedően szignifikáns ($p<0,0001$) összefüggés volt jelen.



22. ábra: Kaplan-Meier görbe, a túlélési valószínűsége vonatkoztatva

a) Alfa, delta, omikron csoportok közötti 50%-os túlélési valószínűség

b) 50 év alatti, 50-65 év közötti, 65 év feletti korcsoportok közötti 50%-os túlélési valószínűség

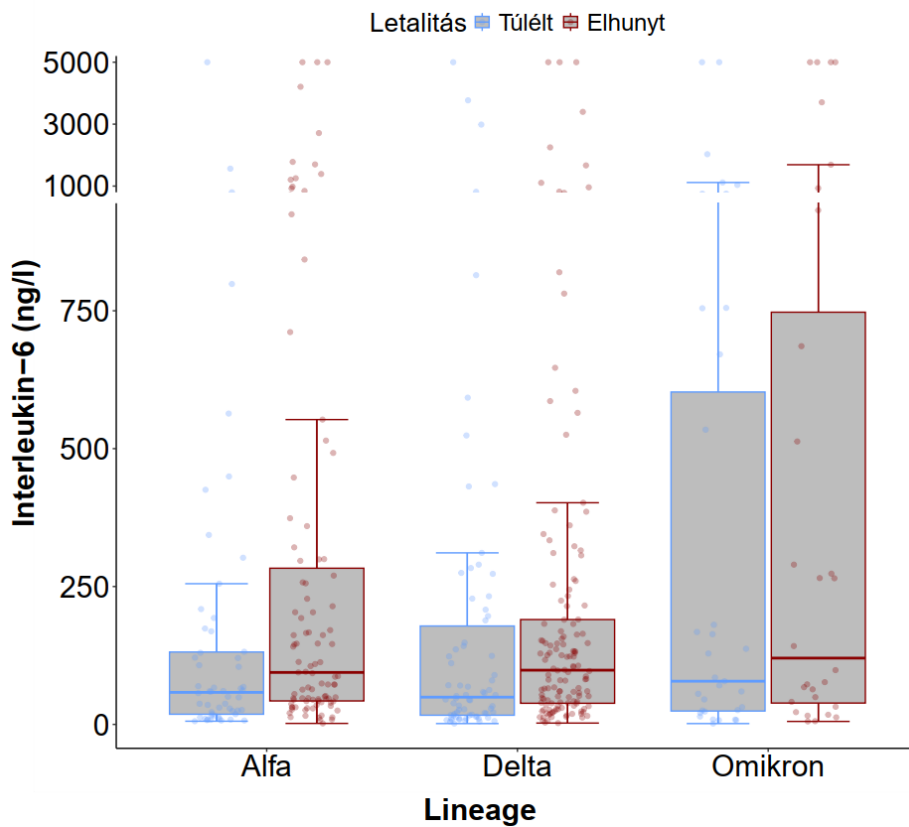
Klinikai- és laborparaméterek eltérései a súlyos COVID-19 megbetegedést okozó SARS-CoV-2 variánsok között

Az IL-6 szintek esetén a túlélő és elhunyt betegek között szignifikáns különbség mutatkozott az alfa ($p=0,006$) és delta ($p=0,008$) csoportok esetén, azonban az omikron esetén nem ($p=0,391$). A ferritin szintek esetén a túlélő és elhunyt betegek között szignifikáns különbség volt jelen a delta ($p=0,009$) és omikron ($p=0,026$) csoportok esetén, azonban az alfa csoportnál nem ($p=0,649$). A részletes értékek az alábbi, 17. táblázatban láthatóak, illetve vizuálisan a 23-26. ábrákon.

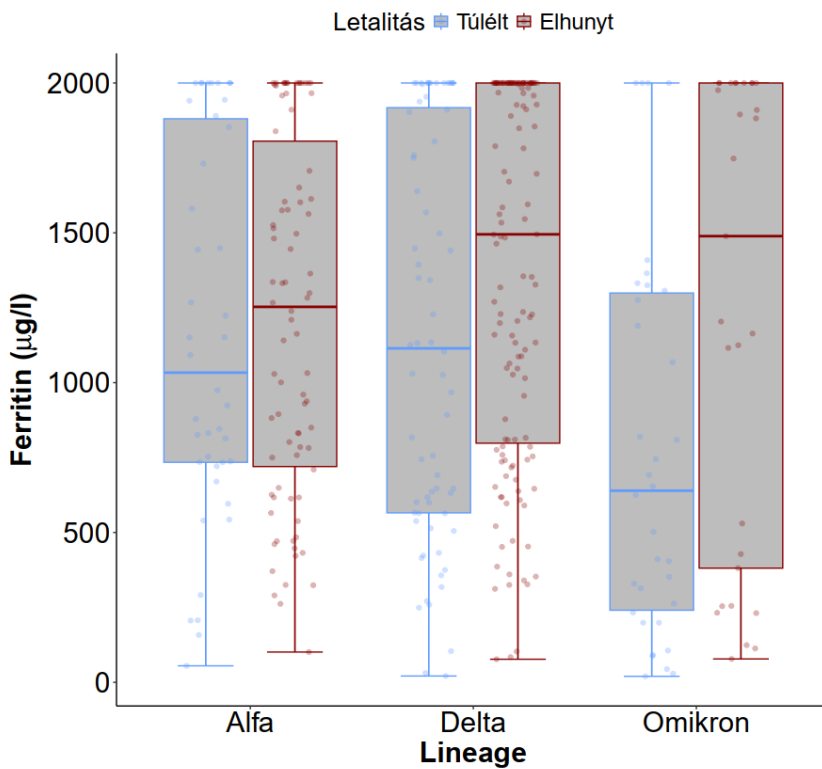
	Alfa				p-érték	Delta				p-érték	Omikron				
	Összes	Túlél	Elhunyt			Összes	Túlél	Elhunyt			Összes	Túlél	Elhunyt	p-érték	
Interleukin-6 (ng/l)					0,006^l					0,008^l					0,391^l
Átlag (SD)	369 (922)	227 (708)	449 (1,018)		299 (814)	275 (810)	312 (818)		807 (1,546)	589 (1,261)	1,048 (1,803)				
Medián (IQR)	69 (31, 214)	58 (18, 131)	94 (43, 283)		80 (27, 190)	49 (17, 178)	98 (38, 190)		85 (26, 678)	78 (24, 603)	120 (39, 747)				
Minimum; Maximum	2; 5,000	6; 5,000	2; 5,000		2; 5,000	2; 5,000	2; 5,000		2; 5,000	2; 5,000	5; 5,000				
N (% nem hiányos)	149 (77%)	54 (81%)	95 (75%)		204 (89%)	70 (90%)	134 (88%)		59 (75%)	31 (76%)	28 (74%)				
NA	45	13	32		26	8	18		20	10	10				
Ferritin (µg/l)					0,649^l					0,009^l					0,026^l
Átlag (SD)	1,198 (602)	1,161 (629)	1,217 (591)		1,309 (638)	1,150 (666)	1,389 (611)		989 (741)	771 (637)	1,246 (782)				
Medián (IQR)	1,158 (731, 1,862)	1,034 (734, 1,881)	1,253 (720, 1,806)		1,353 (720, 2,000)	1,115 (566, 1,918)	1,495 (798, 2,000)		819 (259, 1,889)	640 (241, 1,299)	1,489 (381, 2,000)				
Minimum; Maximum	55; 2,000	55; 2,000	101; 2,000		21; 2,000	21; 2,000	77; 2,000		20; 2,000	20; 2,000	78; 2,000				
N (% nem hiányos)	124 (64%)	42 (63%)	82 (65%)		203 (88%)	68 (87%)	135 (89%)		63 (80%)	34 (83%)	29 (76%)				
NA	70	25	45		27	10	17		16	7	9				
D-dimer (µg/l)					0,157^l					0,016^l					0,057^l
Átlag (SD)	3,094 (2,718)	2,777 (2,634)	3,264 (2,758)		2,906 (2,694)	2,252 (2,255)	3,244 (2,844)		3,556 (2,748)	2,818 (2,214)	4,421 (3,076)				
Medián (IQR)	1,570 (1,004, 5,661)	1,428 (910, 3,945)	1,742 (1,025, 5,792)		1,468 (959, 4,592)	1,318 (754, 2,527)	1,586 (996, 7,005)		2,308 (1,227, 6,687)	1,885 (1,227, 4,358)	5,538 (1,227, 7,650)				
Minimum; Maximum	312; 7,650	385; 7,650	312; 7,650		316; 7,650	316; 7,650	325; 7,650		477; 7,650	606; 7,650	477; 7,650				
N (% nem hiányos)	175 (90%)	61 (91%)	114 (90%)		214 (93%)	73 (94%)	141 (93%)		76 (96%)	41 (100%)	35 (92%)				
NA	19	6	13		16	5	11		3	0	3				

Limfocita (G/l)				0,001^l				0,169 ^l				0,411 ^l
Átlag (SD)	0,70 (0,37)	0,81 (0,38)	0,65 (0,36)		0,86 (0,55)	0,91 (0,54)	0,84 (0,56)		0,72 (0,52)	0,71 (0,41)	0,73 (0,63)	
Medián (IQR)	0,61 (0,40, 0,91)	0,76 (0,56, 1,08)	0,54 (0,38, 0,84)		0,74 (0,53, 1,06)	0,79 (0,58, 1,17)	0,70 (0,52, 1,02)		0,54 (0,38, 0,91)	0,67 (0,42, 0,94)	0,49 (0,38, 0,88)	
Minimum; Maximum	0,18; 2,29	0,18; 1,76	0,18; 2,29		0,13; 3,15	0,13; 3,15	0,14; 3,11		0,05; 3,10	0,05; 1,97	0,28; 3,10	
N (% nem hiányos)	187 (96%)	63 (94%)	124 (98%)		212 (92%)	67 (86%)	145 (95%)		74 (94%)	38 (93%)	36 (95%)	
NA	7	4	3		18	11	7		5	3	2	
Mellkas CTSS				0,088^l				0,056 ^l				0,097 ^l
Átlag (SD)	18,8 (5,8)	18,3 (5,4)	19,0 (6,0)		18,8 (5,7)	17,6 (6,7)	19,5 (5,0)		12 (9)	10 (8)	13 (9)	
Medián (IQR)	20,0 (17,0, 23,0)	19,0 (16,0, 22,0)	20,0 (17,0, 23,0)		20,0 (17,0, 23,0)	18,0 (16,0, 22,0)	20,0 (17,5, 23,0)		15 (0, 19)	12 (0, 17)	17 (3, 22)	
Minimum; Maximum	0,0; 25,0	0,0; 25,0	0,0; 25,0		0,0; 25,0	0,0; 25,0	0,0; 25,0		0; 25	0; 22	0; 25	
N (% nem hiányos)	190 (98%)	65 (97%)	125 (98%)		208 (90%)	73 (94%)	135 (89%)		71 (90%)	36 (88%)	35 (92%)	
NA	4	2	2		22	5	17		8	5	3	
Horovitz-index (P/F arány)				0,055^l				<0,001^l				0,009^l
Átlag (SD)	73 (39)	81 (47)	68 (33)		68 (34)	80 (46)	62 (23)		99 (70)	113 (75)	82 (60)	
Medián (IQR)	62 (52, 78)	65 (55, 90)	61 (51, 75)		60 (50, 71)	63 (55, 84)	57 (49, 67)		79 (54, 120)	85 (65, 132)	59 (48, 101)	
Minimum; Maximum	27; 322	31; 322	27; 307		27; 301	33; 301	27; 187		34; 390	34; 390	35; 357	
N (% nem hiányos)	152 (78%)	51 (76%)	101 (80%)		194 (84%)	66 (85%)	128 (84%)		77 (97%)	41 (100%)	36 (95%)	
NA	42	16	26		36	12	24		2	0	2	
^l Wilcoxon-féle rangösszeg teszt												

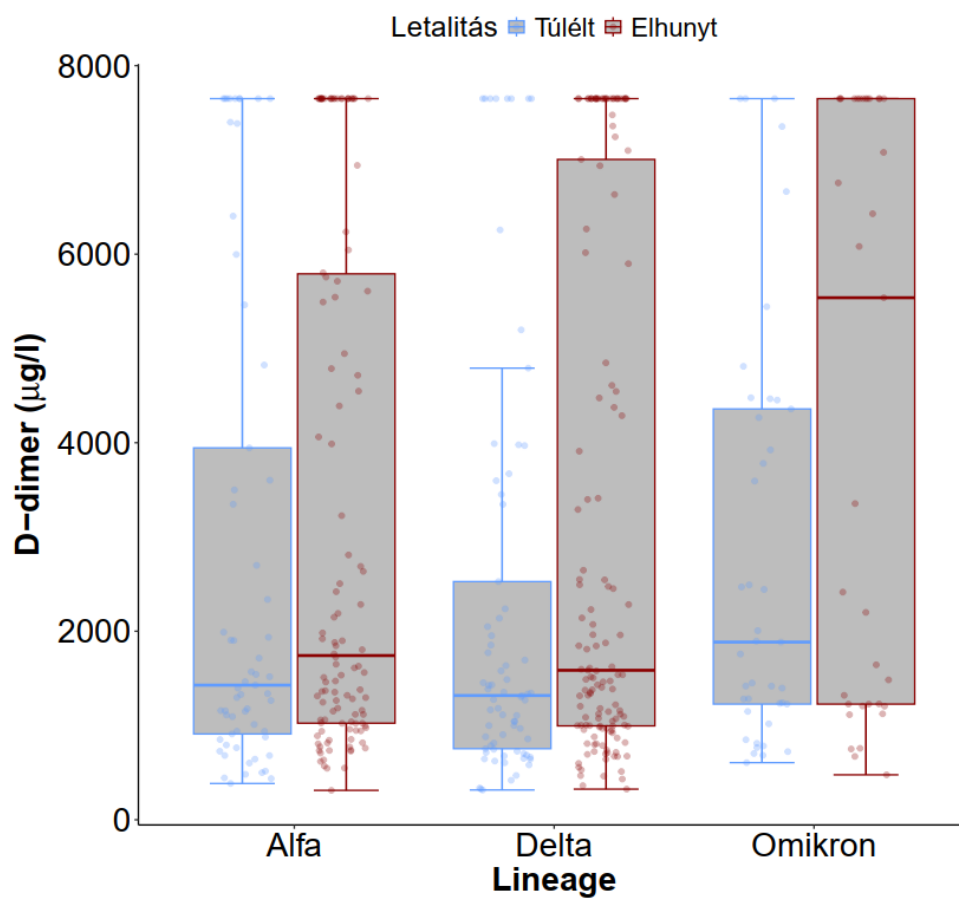
17. táblázat: Laboratóriumi- és klinikai paraméterek a 3 vírusvariáns túlélő és elhunyt csoportjaiban



23. ábra: IL-6 szintek a túlélő és elhunyt betegpopulációban a 3 vírusvariáns csoportjai közt

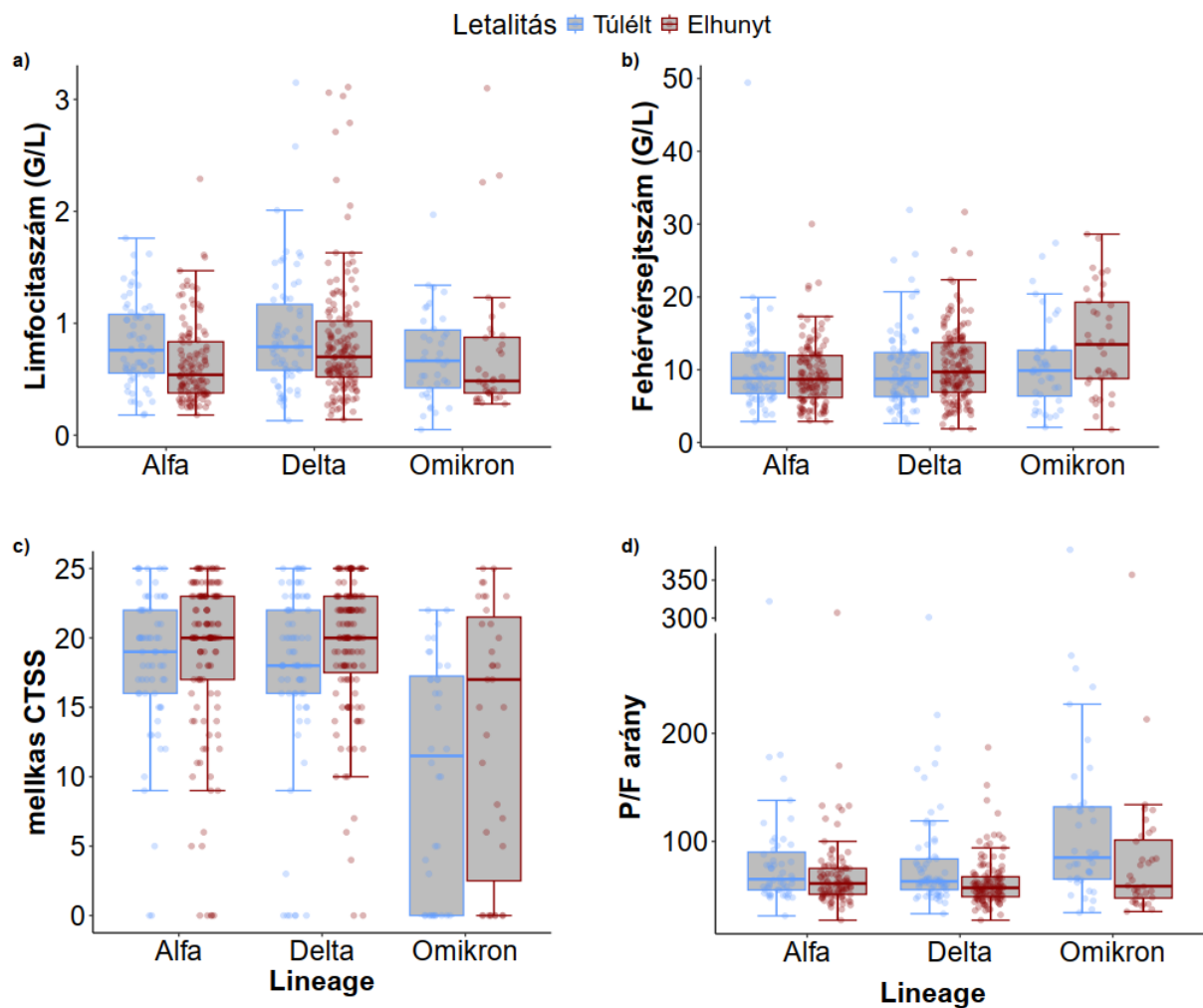


24. ábra: Ferritin szintek a túlélő és elhunyt betegpopulációban a 3 vírusvariáns csoportjai közt



25. ábra: D-dimer szintek a túlélő és elhunyt betegpopulációban a 3 vírusvariáns csoportjai között

A 26. ábra a), b), c) és d) része a limfocita, fehérvérsejt, mellkas CTSS, és P/F arányt ábrázolja az alfa-, delta- és omikron-variánshoz tartozó túlélő és elhunyt betegcsoportok esetén.



26. ábra: Klinikai- és laboratóriumi paraméterek az alfa-, delta-, omikron variáns túlélő és elhunyt betegcsoportjaiban

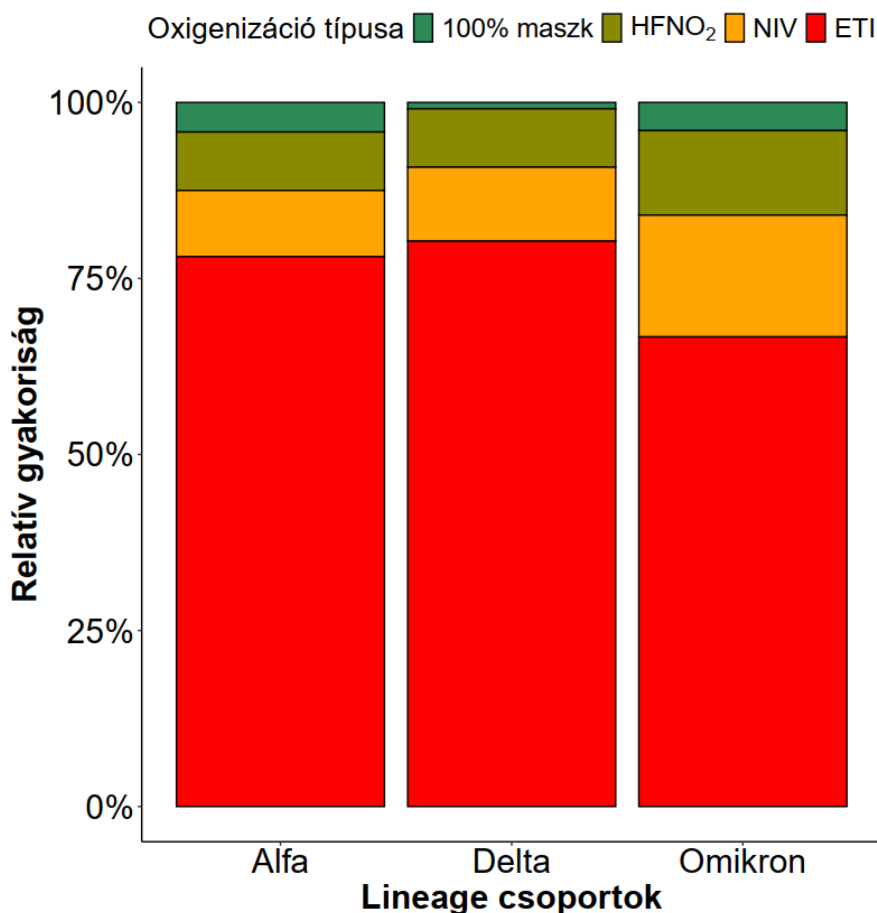
a) Limfocitaszám

b) Fehérvérsejtszám

c) mellkas CTSS

d) P/F arány (Horovitz-index)

Az oxigén-supplementációval kapcsolatban is gyűjtöttünk adatokat. Az endotracheális intubációra (ETI) szoruló betegek száma az alfa-, delta- és omikron variánsok esetén 150, 183 és 50 volt. A non-invazív ventilációs (NIV) maszkot használó betegek száma az alfa-, delta- és omikron variánsok esetén 18, 24 és 13 volt. A nazális nagy áramlású oxigénterápia (HFNO₂) által oxigenizált betegek száma az alfa-, delta- és omikron variánsok esetén 16, 19 és 9 volt. Az arányok az alábbi, 27. ábrán láthatóak.



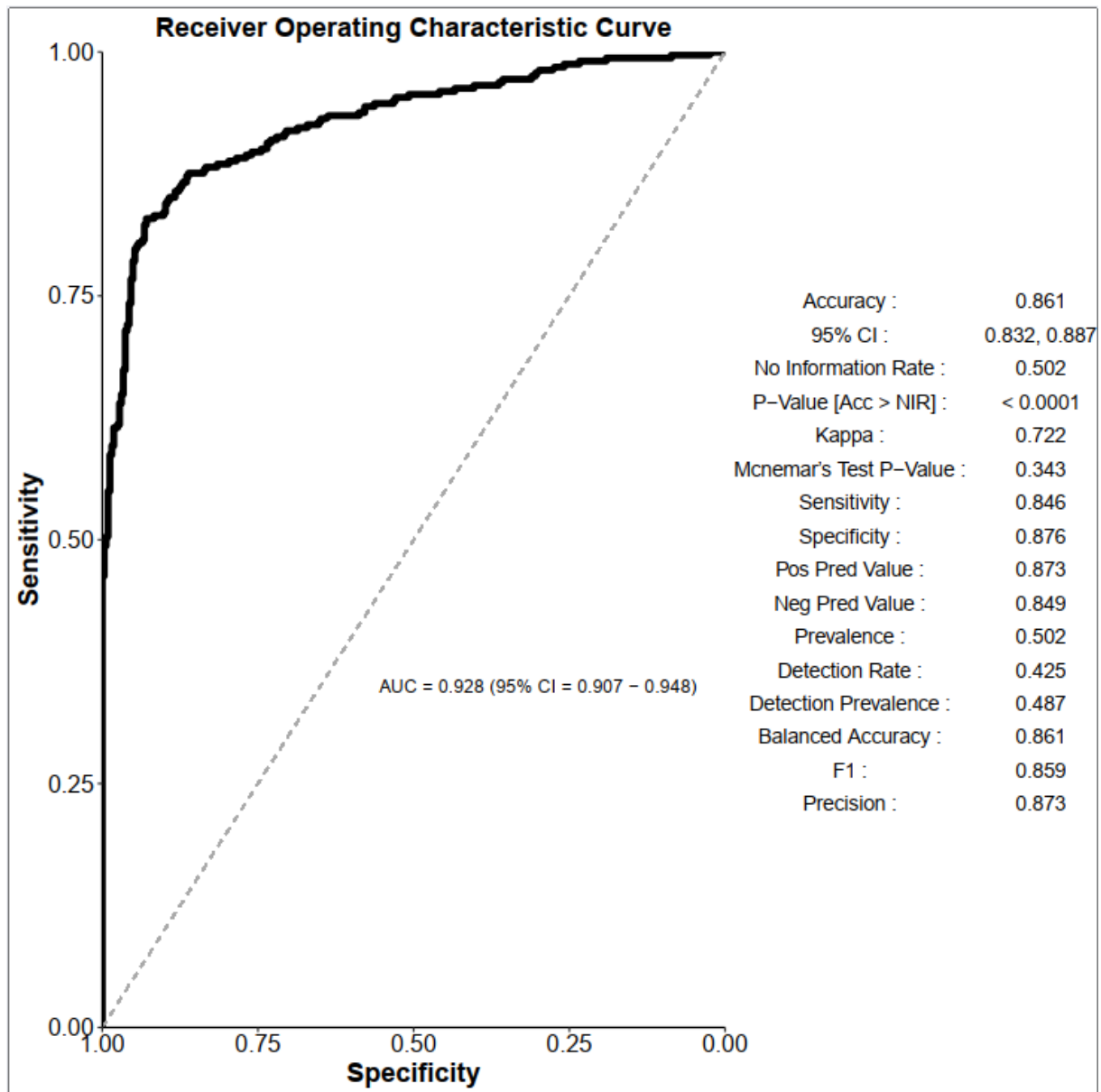
27. ábra: Az oxigénszupplementáció típusainak relatív gyakorisága az ITO-s betegek közt

A pozitív PCR tesztek cycle threshold átlagértékei az alfa-, delta-, és omikron variánshoz tartozó csoportoknál 24,0, 24,9, és 26,2 volt, mely szignifikáns különbségnek ($p < 0,01$) bizonyult.

Random forest

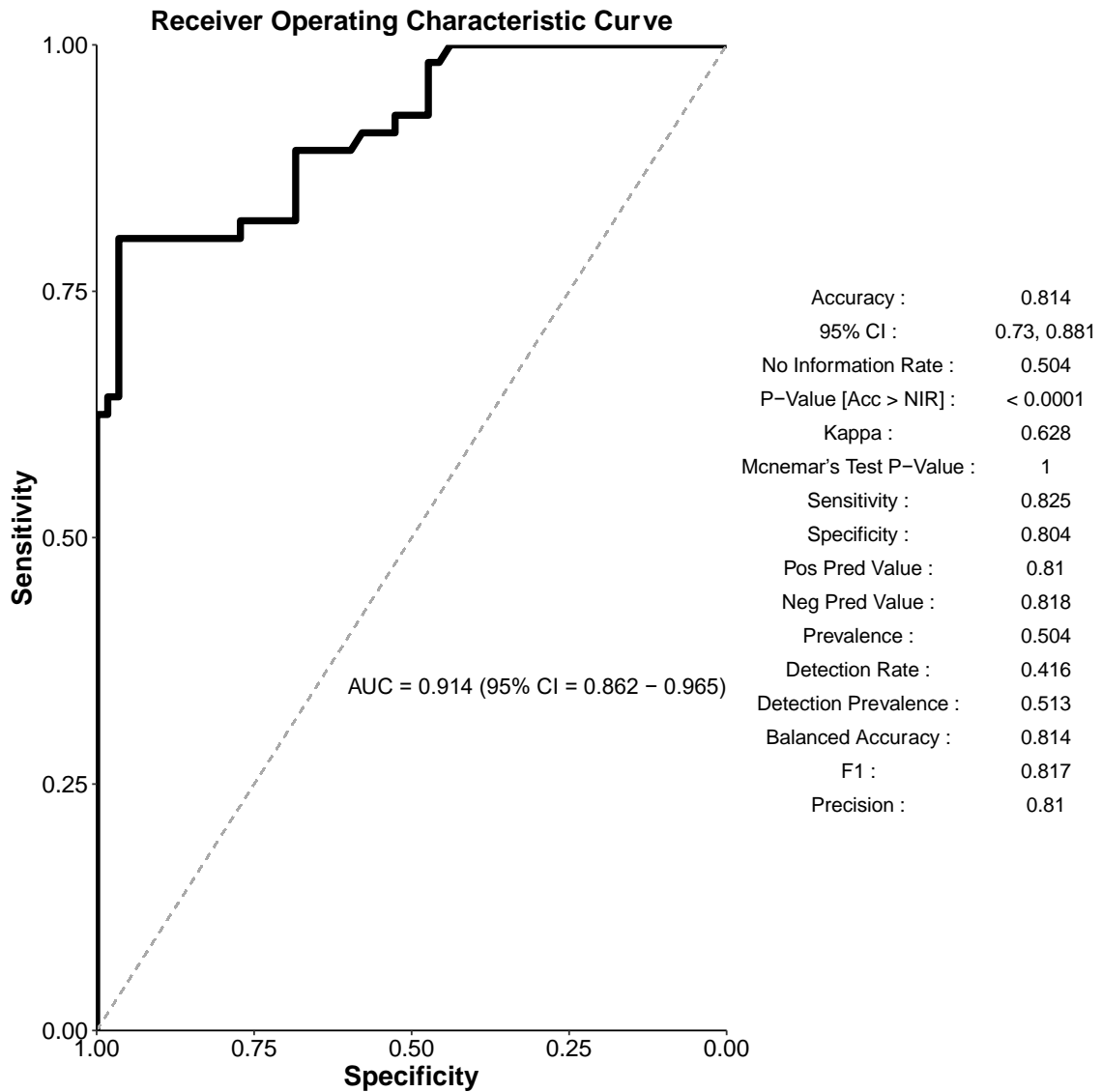
A Random forest (RF) analízis 649 ITO-s beteg adatát tartalmazza: 503 beteg az eredeti, lineage-alapú analízisből, 22 beteg, aki B.1.160 lineage-val rendelkezett, és 124 beteg a DE COVID-ITO adatbázisából. Imputációt és kiegyenlítést követően 760 adatpontunk volt. A RF 1000 fát tartalmaz, minden fa 3 változót használ az elágazásoknál. Az out-of-bag hibaszázalék 13.76%-nak bizonyult. A training modell pontossága 0.8624 volt (95% CI 0.8335-0.8881), a no information rate 0.5023, Kappa 0.7249-nek bizonyult, p -érték $< 2e-16$. A szenzitivitás 0.8523, a

specifitás 0.8727 volt. A további teljesítményre vonatkozó értékek az alábbi, 28. ábrán olvashatók.



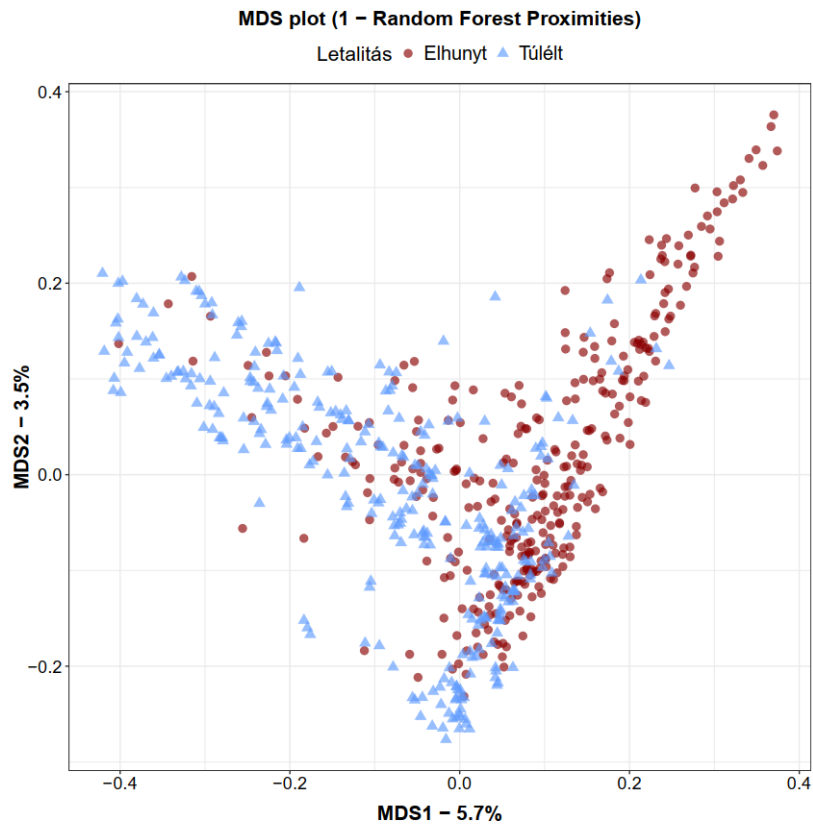
28. ábra: A training modell teljesítmény mérőszámai az ROC görbével

A tesztmodell pontossága 0.814 (95% CI 0.73-0.881) volt, $0.0001 < p$ -érték mellett. A NIR 0.5024-nek bizonyult, $Kappa=0.628$. A szenzitivitás és specifitás értékei 0.825 és 0.804 voltak. A további metrikák a 29. ábrán olvashatóak.

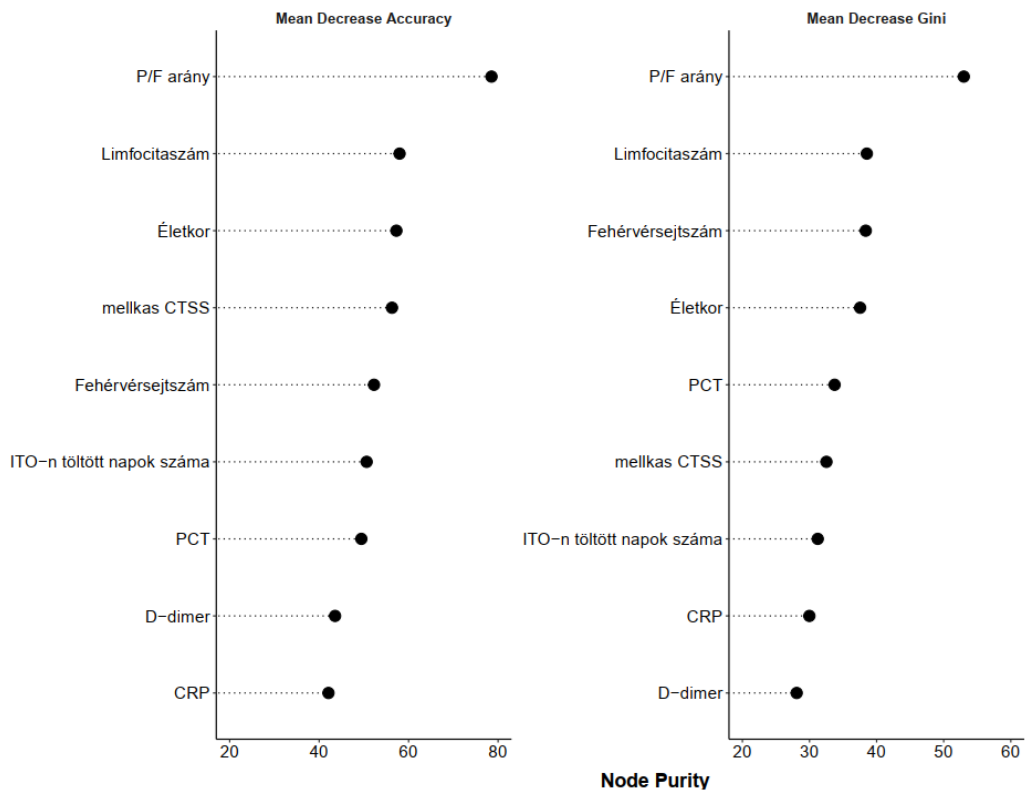


29. ábra: A tesztmodell teljesítmény mérőszámai az ROC görbével

A multidimenzionális skála plot az elhunytak és túlélők esetén a 30. ábrán látható, a legfontosabb változók a MeanDecreaseAccuracy (MDA) és MeanDecreaseGini (MDG) értékekkel a 31. ábrán szerepelnek.



30. ábra: Multidimenziós skála plot a letalítás szerint



31. ábra: A legfontosabb paraméterek MDA és MDG értékei

5. Megbeszélés

5.1. A dinamikus, interaktív epidemiológiai térkép

Az online interaktív epidemiológiai térképünkkel kapcsolatban számos megfigyelést lehet tenni annak alapos áttanulmányozását követően – az egyik, amit fontos megemlíteni, az a pozitív diagnosztikus tesztekkel rendelkező esetek idővonalon változó átlagéletkora. Ha megnézzük a pécsi adatokat 2020.09.02 előtt, a vizsgált időintervallumunk legelső két hetében az átlagéletkor mindössze 25,9 év volt. Ennek oka az, hogy a legelső tesztek a PTE különböző gólyatáborából származtak, itt detektáltuk az első pozitív eseteket. Ezt követően már fokozatosan emelkedett az átlagéletkor (a csúcs 50,9 év volt), majd a magasabb kontagiozitású omikron variáns megjelenésével kezdett el a fertőzöttek átlagéletkora ismét csökkenni, mely vizsgálatunk végén 48,4 év volt. Egy másik figyelemre méltó jelenség a sajátos demográfiai adatokkal jellemezhető járványügyi góccok azonosítása a térképünkön, pl. az egyes településeken működő idősotthonoknak megfelelően. Cserénfa egy mindössze 217 lélekszámú település Somogy megyében, ahol kiemelkedően sok pozitív esetet azonosítottunk. Az első tesztek 2020 novemberében érkeztek: egy hónap alatt 26 pozitív tesztet azonosítottunk, az átlagéletkor 80,1 év volt, az átlagos cycle threshold érték pedig 24,54 volt, mely egy meglehetősen magas vírus kópiaszámot jelöl. A SARS-CoV-2 magyarországi megjelenését követően a vad típus által dominált járványperiódus rövid felfutó szakaszában az idősotthonok és krónikus betegellátó intézmények jól azonosítható járványügyi gócként szerepeltek. Baranya megyében jelentősen alacsonyabb volt a tünetes betegek előfordulása (47,3%), mint Somogy- (72,2%) vagy Tolna (62,9%) megyében. A pozitív esetek aránya is hasonló tendenciát mutat: Baranya megyében 16,8%, szemben a Somogy- és Tolna megyei 26,1% és 23,3%-kal. Ezen különbségek oka nagy valószínűséggel Baranya megye (és elsősorban a PTE KK) magasabb szűrési kapacitásában keresendő, ami magában foglalta az egészségügyi szakdolgozókat, hallgatókat, míg a másik két megyében a tesztelés inkább tünet-orientált volt.

Ami az esetek előfordulását illeti, a vizsgálati időszakunkban régióinkban megfigyelt esetek idővonalszerű hullámszerűsége tökéletesen ráilleszthető a teljes Magyarországot reprezentáló adatsorra, illetve egyes trendek - pl. a nyári drasztikus esetszámcsökkenés, melyre előzetesen is több kutatás utalt (Aboubakr et al., 2021)(Chen et al., 2021) - is megfigyelhetőek voltak.

A molekuláris epidemiológiára reflektálva, az általunk detektált 77-féle sublineage nem kirívó, egy szlovén kutatás (Janezic et al., 2023), mely 2021 első 9 hónapját vizsgálta genomikailag,

64 sublineage-t azonosított, és a vizsgálatban idővonal szerűen megjelenő variánsok, tendenciák (köztük a nyári alacsony esetszám) is a nálunk észlelt változásokkal azonosak. Az alfa-, delta- és omikron variánsok, illetve a sublineage-ok gyors váltakozását, egymás kiszorítását egy spanyol tanulmány is részletesen dokumentálta (Viver et al., 2023), melynek vizsgálati időtartama (2021 január - 2022 július) jelentős átfedést mutat a mi kutatásunkkal. A delta- és omikron sublineage-ok monitorozását, a régiónkénti szekvenált esetek előfordulását egy észak-brazil publikációban is megfigyelhetjük (de Sousa et al., 2023). A demográfiai adatok, illetve az adott régió pozitív esetszámainak megjelenítése egy másik, északkelet-brazil publikációban is olvasható (da Silva et al., 2023).

Az alapvető epidemiológiai statisztikákat időszakos hírként publikálva (tesztelt egyének száma, pozitív egyének száma, hospitalizáció, halálozások, vakcinára vonatkozó adatok) általában egy adott ország kormányának releváns hivatala közölte. A koronavírus járvány elleni intézkedések, stratégiák is rendkívül szerteágazóak voltak világszerte, ami részben az eltérő mértékű koronavírus-érintettség, különböző földrajzi adottságok, gazdasági helyzet stb. befolyásolta. Ami a mi földrajzi régiókat (országunk és szomszédai) illeti, a worldometers.info adatai alapján (2024.05.23) Ausztria végezte el egymillió lakosra vetítve messze a legtöbb tesztet (23,3 millió), ezt követte Szerbia és Románia (kb. 1,5 millió teszt), Horvátország, Szlovénia, Szlovákia (kb. 1,4 millió teszt), Magyarország (kb. 1,2 millió teszt), és Ukrajna (kb. 755 ezer teszt). Az egymillió lakosra vetített COVID-19 halálozásban Magyarországra 5,106 eset jutott, ezt követte Horvátország (4,604), Szlovákia (3,887), Románia (3,622), Szlovénia (3,417), Ukrajna (2,603), Ausztria (2,486) és Szerbia (2,087).

5.2. A Panbio RAT diagnosztikus teljesítménye

A SARS-CoV-2 rapid antigén tesztek első alkalmazásuk óta számos nagy populációs vizsgálatban, országos közösségi alapú vizsgálatban lettek ellenőrizve (Venekamp et al., 2022), többszörösen értékelve a diagnosztikai pontosságukat. A Cochrane könyvtár 94,5%-os diagnosztikai szenzitivitásról ír, amennyiben Ct-értékek ≤ 25 voltak (95% CI 91,0-96,7%; 36 vizsgálat, 2613 eset), míg a 25 feletti Ct-értékek esetén a szenzitivitás mindössze 40,7% volt (95% CI 3,8-50,3%; 36 tanulmány, 2632 eset)(Dinnes et al., 2020). A Panbio RAT előzetes klinikai vizsgálatokban magas specificitást (94,9-100% között) mutatott (Fenollar et al., 2021)(Gremmels et al., 2021). Egy heidelbergi tanulmány 95,8%-os érzékenységet mutatott ki < 25 Ct-értékek és a tünetek megjelenésétől számított 7 napon belül (Krüger et al., 2021).

Nagyobb vizsgálati populációkban a Panbio szenzitivitás 33,3% (Masiá et al., 2021) és 55,3% (Landaas et al., 2021) között volt tünetmentes betegeknél. Egy több, mint 1,000 fős német tanulmány 46,7%-os összesített szenzitivitást írt le (Wagenhäuser et al., 2021), míg egy olasz, 4,167 főt magában foglaló kutatás 66,8%-os szenzitivitásról számolt be (Treggiari et al., 2022).

Tanulmányunk 5,136 teszt adatait tartalmazza, amelyben a SARS-CoV-2 Panbio RAT általános szenzitivitását alacsonynak, 36,1%-nak találtuk. A teszt érzékenysége 41,2%-ra javult, amikor az ismétlődő követéses vizsgálatokat kizártuk az elemzésből, ami elsősorban a fenntartott cut-off szinthez és a qPCR legalacsonyabb kimutatási határához közeli alacsony víruskópiával rendelkező minták kizárásának köszönhető. A kórházba került populáció COVID-19-hez kapcsolódó, COVID-19-hez társuló és COVID-19-től független problémákkal került be egészségügyi ellátó rendszerünkbe. A SARS-CoV-2 Panbio RAT időpontjában tünetmentes, később negatívnak bizonyult populáció viszonylag magas volt. Az adatok PCR Ct-érték specifikus rétegzését alkalmazva a szenzitivitás elérte a 91,2%-ot, amikor a SARS-CoV-2 RT-PCR Ct-értéke 20 vagy az alatti volt, ami rendkívül magas vírus kópiaszámnak felel meg. Az érzékenység a Ct-értékek növekedésével csökkent: 68,6% a 20 és 25 közötti Ct-tartományok esetében, 47,9% 25 és 30 között, és a legtöbb eset 30 és 35 közötti Ct-értékek között fordult elő, ahol az érzékenység 12,6%-ra csökkent. A szenzitivitás a fent említett vizsgálatokban széles skálán mozgott, függött a mintavétel minőségétől és az alkalmazott SARS-CoV-2 PCR-módszer különbségeitől. A magas szenzitivitással kapcsolatos kulcstényezők feltételezhetően a magas vírus kópiaszámtól és a tünetek jelenlététől függenek.

Egy Kölnből származó tanulmány (Platten et al., 2021) szerint a pozitív esetek 52,6%-át, amelyek Ct-értéke > 28 volt, nem detektálták a rapid antigén tesztekkel. Eredményeink összhangban vannak a fent említett tanulmányban foglaltakkal: a SARS-CoV-2 szövődményei miatt elhunyt 80 beteg Ct-értékének mediánja 27,0 volt, a Panbio érzékenysége pedig esetükben 47,5%. A PPV és NPV nagymértékben függ a prevalenciától. A publikált irodalomban a PPV $< 10\%$ -os prevalencia esetén 89,3% (Merino et al., 2021) és 100% (Eleftheriou et al., 2021) között volt megfigyelhető. Az NPV 72,2 és 98,3% között volt, ha a prevalencia 6,3% volt (Wagenhäuser et al., 2021). A vizsgált időszakban a magyar lakosság körében 9,2-14,7%-os prevalenciáról számoltak be (Ritchie et al., 2021), amikor a járvány a közösségi terjedési fázisban volt. Összességében a PPV 95,0% (95% CI 91,8-97,0%), az általános NPV 90,3% (95% CI 89,5-91,1%) volt. A PPV és NPV eredményeket befolyásolta, ha a vizsgált populációt a tünetek jelenléte szerint rétegezték, ami a tüneteket mutató vizsgálati csoport esetében növekedést mutatott. Klinikai vizsgálatunk eredményei rávilágítanak a SARS-CoV-2 RT-

qPCR-rel kapcsolatos egyetemes megfigyelésre: ez a legmegbízhatóbb eszköz az aktív SARS-CoV-2 fertőzés kimutatására. Bár a SARS-CoV-2 RAT számos előnyt kínál a SARS-CoV-2 RT-qPCR-rel szemben még klinikai körülmények között is, az ellátás helyén történő tesztelés (POCT) alkalmazása és a gyors átfutási idő miatt, ezek a tesztek kevésbé érzékenyek a fertőzés kritikusán alacsony prevalenciája esetén, és a pontos vizsgálat és az ebből következő diagnózis tekintetében nem tekinthetők kielégítőnek. Eredményeink azt mutatják, hogy a tünetek szerinti rétegzés növelheti a teszt pontosságát. A fokozott diagnosztikai teljesítmény eléréséhez azonban tesztalkalmazási ajánlásokra van szükség, amelyeket a járványgörbe különböző fázisaihoz kell igazítani. A SARS-CoV-2 RAT ideálisan alkalmas a járvány kitörésének exponenciális- és platófázisában.

Diagnosztikai stratégiánk szerint a SARS-CoV-2 örökítőanyagát a pozitív egyéneknél legfeljebb 35 napig tudtuk kimutatni, ami nem függött a párhuzamos Panbio-pozitivitástól. Ez az eredmény megerősíti, hogy a PCR-pozitivitás önmagában nem korrelál erősen a betegre vonatkozó fertőzöttséggel. A víruskultúra-vizsgálatok megerősítették, hogy a SARS-CoV-2 a tünetek megjelenését követően 10-14 napig fertőzőképes maradhat (Bullard et al., 2020). Ezáltal a SARS-CoV-2 RT-qPCR a replikációra képes, „aktív” vírusról kívül képes kimutatni a vírus RNS maradványait is. Az RT-qPCR-re vonatkozó fenti képesség tükröződik a jelenlegi vizsgálatban, amelyet figyelembe kell venni, amikor a beteg felvételének vagy elbocsátásának kérdése felmerül egy klinikai osztályon belül. A SARS-CoV-2 RAT és a szimultán SARS-CoV-2 PCR hatékony eszköznek bizonyult a pontos SARS-CoV-2 diagnosztikában és a fertőzőképesség fázisának becslésében.

A szimultán SARS-CoV-2 Panbio és RT-qPCR által vizsgált populációban 80 halálos kimenetelű esetet figyeltünk meg a vizsgálati időszak alatt. Az elhunyt populáció csoportjának statisztikai értékelése során jelentős különbségeket állapítottunk meg a(z) (később betegségből felépülő) általános populációhoz képest a nem, az életkor és a tünetek jelenlétét illetően az első teszt és a PCR Ct csoportok szerinti beosztása során. Az idősebb életkor, a férfi nem, a klinikai tünetekkel járó státusz és az alacsonyabb Ct-tartomány szignifikánsan korrelált a betegség halálozásával. Hangsúlyozzuk azonban, hogy a betegek közül hatnak (7,5%) nem voltak COVID-19 betegséggel összefüggő klinikai tünetei az első teszt során, és a SARS-CoV-2 Panbio RAT 38 személynél, a halálos kimenetelű esetek 47,5%-ánál negatív volt. Ezek a számok azt sugallják, hogy a RAT nem lehet az egyetlen vizsgálat, amelyet a súlyos betegség kialakulásának magas kockázatának kitétt populációkban alkalmaznak.

A tünetek megjelenésére vonatkozóan nem volt ismert információnk, amit figyelembe kell venni a diagnosztikai teljesítménnyel való összehasonlításakor. A folyamatos nagy napi aktivitás miatt nem volt lehetőség a rapid antigén- vagy RT-qPCR-tesztek megismétlésére ugyanazon mintákból, ami miatt fennállhat az emberi hiba lehetőségét (pl. a RAT értékelése az ajánlott időkereten túl), annak ellenére, hogy azt kizárólag egészségügyi szakemberek végezték és értékelték. Magyarországon a SARS-CoV-2 domináns genetikai változata a vizsgálati időszakban (2021. január 21. és április 30. között) a B.1.1.7 (alfa) változat volt. Bár a laboratóriumi alapú vizsgálatokban, amelyekre hivatkozva az Abbott-Panbio rapid antigén teszt teljesítményét ellenőrizték, nem befolyásolták a variánsok, a COVID-19 antigén vizsgálat (COVAG) valós körülmények között, 2215 résztvevőt és 338 RT-qPCR megerősített SARS-CoV-2 pozitív esetet tartalmazó COVID-19 antigén vizsgálatban (COVAG) az Abbott-Panbio RAT 72,3%-os érzékenységet mutatott az alfa variáns hordozói esetében, szemben a vad típusú SARS-CoV-2-vel fertőzött esetek 84,0%-os érzékenységgel. Az alfa variáns tesztérzékenységet csökkentő hatását a SARS-CoV-2 antigen self test nasal (Roche)-rapid antigén tesztben is megfigyelték (Wertenauer et al., 2022). Ezenfelül egy holland tanulmányban is csökkent szenzitivitást találtak az alfa variáns esetén a Panbiot illetően (van Ogtrop et al., 2021), mindezt figyelembe kell venni a mi eredményeink viszonylag alacsony szenzitivitásánál és pozitív prediktív értékénél is.

5.3. A súlyos kimenetelű SARS-CoV-2 infekcióhoz társuló klinikai, laboratóriumi és molekuláris genetikai paraméterek vizsgálata

Egyre több bizonyíték áll rendelkezésre, beleértve a különböző kohorszokat és metaanalízisekre hivatkozó epidemiológiai tanulmányokat, amelyek szoros összefüggést mutatnak az előrehaladott életkor és a súlyos manifesztációval járó társbetegségek és a COVID-19 okozta fokozott halálozás között (Kowsar et al., 2023). Bár a komorbiditások előfordulási gyakorisága az életkor előrehaladásával párhuzamosan nő, a SARS-CoV-2 fertőzés súlyos kimenetele, az életkor és a komorbiditások közötti kapcsolat összetett. Az öregedés egy multifaktoriális folyamat, amelyet olyan nem módosítható tényezők befolyásolnak, mint a genetika, a fokozatosan romló fiziológiai paraméterek és a környezeti expozíciókhoz való alkalmazkodási képesség csökkenése. Az előrehaladott életkor jelentős kockázati tényező a rossz kimenetel szempontjából; a Centers for Disease Control and Prevention (CDC, USA) jelentése szerint a 65 éves és idősebb egyének a COVID-19 fertőzések mintegy 30%-át, a kórházi kezelések 45%-át, az intenzív osztályra történő felvételek 53%-át és a halálozások több mint 80%-át teszik ki ([5. online hivatkozás](#)). Ezenkívül a halálozás kockázata a posztakut fázisban, és a kórházi

bennfekvés idején a domináns variánsoknak megfelelően változik ([6. online hivatkozás](#)). Az intenzív osztályon végzett retrospektív elemzésünk megerősítette a halálozási kockázat kiemelkedő korrelációját az életkor növekedésével. A logisztikus regresszió a 65 év feletti népességre vonatkozóan csaknem háromszor magasabb esélyhányadost mutatott ki. Az életkor és a halálozás közötti összefüggést nem befolyásolta a SARS-CoV-2 domináns variánsainak váltakozása. A vírus időbeli genetikai evolúciója azonban jelentősen megváltoztatta az intenzív osztályos populáció kormegoszlását, és a betegek életkora különösen az omikron hullám alatt változott. Annak ellenére, hogy mindhárom variáns esetén a férfiak voltak többségben mind az ITO-s ellátás, mind a halálozási arányok tekintetében, a nemnek nem volt szignifikáns hatása a halálra. Az új lineage-ok megjelenése nem változtatta meg a nem, betegség súlyosság, és a kedvezőtlen klinikai kimenetel közötti összefüggést. Az életkorral összefüggő társbetegségek, mint a HT, DM, COPD, fontos szerepet játszanak a SARS-CoV-2 által közvetített válaszreakcióban (Grasselli et al., 2020) (Biswas et al., 2021). Eredményeink alapján az előbb említett társbetegségek jelentős hatást gyakorolnak a SARS-CoV-2 variánsok által közvetített halálra. A HT és DM jelenléte az életkorral együtt szignifikánsan befolyásolta a letalitást az Omikron variánssal fertőzött betegek körében. Az intenzív osztályra való felvétel előtt ICS-t szedő COPD-s betegeknél magasabb volt a halálozási kockázat az Omikron hullám során, bár az ICS rendszeres használata nem volt szignifikáns hatással az intenzív osztályos halálra. Arra a következtetésre jutottunk, hogy a legerősebb komorbiditási tényezők a HT és a DM, az életkorból adódóan. Az intenzív osztályon kezelt betegeink elemzése során azt találtuk, hogy sem a cukorbetegség, sem a magas vérnyomás, sem a kettő együttes megléte nem növelte a halálozás kockázatát, ha az életkort nem vettük figyelembe. A komorbiditási tényezők csak az életkorral együtt hatnak. Az életkor bizonyult a legnagyobb kockázati tényezőnek, amely feltételezhetően az összes molekuláris mechanizmust befolyásolja az immunválaszoktól, mitokondriális funkcióktól, az endoplazmatikus retikulum transzportmechanizmusaitól a proteinek szerkezetváltozásán át egészen az oxidatív stresszig és különböző jelátviteli utakig (ACE2- és Toll-like receptor aktiváció, transzkripciós faktorok stb.) (Chatterjee et al., 2023). Bár számos tanulmány egyöntetűen hangsúlyozza a társbetegségek fontosságát, további átfogó klinikai vizsgálatokra van szükség az intenzív osztályos halálra gyakorolt független hatásuk értékeléséhez.

Az intenzív osztályos halálozás tág határok között mozgott: egy ír-spanyol-andorrai multicentrikus retrospektív tanulmányban, mely a pandémia második és harmadik hullámában készült, az összesített halálozás 28,8% volt (Carbonell et al., 2021). Közép-Kelet Európában a

halálozás 38,1-75,9% között volt (Benes et al., 2022). Egy holland multicentrikus tanulmány 35%-os 28-napos letalitásról számolt be, ami az utánkövetés 90. napjáig 43%-ra emelkedett (Botta et al., 2021). Eredményeink 63,0%-os kemény végpontú (az ITO-n tapasztalt) letalitást mutatnak, ami megegyezik az eddig egyetlen, Magyarországról publikált COVID-19 intenzív osztályos tanulmány összesített halálozási adataival (Nagy et al., 2023). További 7,4%-os letalitásnövekedést tapasztaltunk az ITO-ról való kiengedést követő 28 napos utánkövetéses időszakban, ami így összesítve 70,4%-os halálozási arányt eredményez. Ami a részleteket illeti, 67 alfa-fertőzött betegből 10, 78 delta-fertőzött betegből 17, és 41 omikron-fertőzött betegből 10 hunyt el a 28 napos követés során, ami alátámasztja, hogy az omikron hullámban lévő betegek járultak hozzá leginkább az utánkövetéses időszakban észlelt halálozás növekedéséhez. Az omikron sublineage-ok nagyjából ugyanannyi ideig cirkuláltak vizsgálatunk idejét tekintve (2022 január – 2022 november), mint az alfa és delta csoport együttvéve (2021 január – 2021 december). Ennek ellenére az omikron variáns miatt az intenzív osztályra felvett betegek az összes esetnek csak 15,7%-át teszik ki, ami azt jelenti, hogy az omikron variáns esetében az intenzív osztályra való felvétel jelentősen alacsonyabb volt. Ez feltételezhetően a vakcinációból fakadó védettség és az enyhébb lineage együttes hatásával magyarázható. Az omikron variáns kevésbé súlyos, azonban az intenzív osztályra való felvétel után még mindig potenciálisan halálos variánsnak tűnik, mert a túlélési arány tekintetében nem tapasztaltunk szignifikáns különbséget a lineage-ok között (21. ábra, a) rész).

A magyar lakosságot illetően a vakcinákat 2020 decemberének végén vezették be. Az elsődleges oltás a teljes lakosság 63,2%-ára terjedt ki, az első emlékeztető oltást 39,8%, a második emlékeztető oltást pedig 4,3% vette fel 2023 október 5-ig ([7. online hivatkozás](#)). A vizsgálati időszak alatt ITO-ra felvett betegek 35%-a volt beoltva, 65%-a pedig nem rendelkezett COVID-19 oltással. A védett csoportba sorolt betegek 49%-a hunyt el, a nem védett csoportban 64% volt a halálozás, tehát a megfelelő vakcinázás szignifikánsan csökkentette a halálozást. Eredményeink alapján a 65 év feletti, és társbetegségekkel rendelkező betegek esetén mindenképp javasolt az oltás felvétele.

Széles körben elterjedt nézet, hogy az omikron variáns általánosságban kevésbé súlyos a többi variánshoz képest (Bouزيد et al., 2022). Az omikron variáns a felső légutakat részesíti előnyben a TMPRSS2-független endoszomális útvonalon keresztül, míg a vírus replikációja az alsó légutakban gyengült (Willett et al., 2022). Ez az omikron betegek esetén csökkent tüdőérintettséghez vezet, ami vizsgálatunk alapján egy magasabb P/F aránnyal és alacsonyabb mellkas CTSS értékkel társult az alfa és delta csoporthoz tartozó betegekhez képest.

Kutatásunkban a ferritin szint szignifikánsan alacsonyabb volt az omikron csoporthoz tartozó betegeknél, amit más tanulmányok is megfigyeltek (J. Wang et al., 2023), (Suzuki et al., 2022), (Trofin et al., 2023), azonban mi a CRP, az IL-6 és a D-dimer, valamint a laboratóriumi paraméterek többsége esetében nem találtunk szignifikáns különbségeket. Amikor vírusvariánsra tekintet nélkül hasonlítottuk össze az elhunyt és túlélő betegeket, szignifikáns különbségeket tapasztaltunk az IL-6, ferritin, limfocitaszám és a D-dimer szintek tekintetében. Célunk volt egy kombinált, IL-6, PCT, neutrofil/limfocita arányból álló paraméter kifejlesztése is, azonban nem sikerült megfelelő diagnosztikus hatékonyságot elérnünk az ROC-görbét illetően. Számos komplex patobiokémiai mechanizmus áll a komorbiditások, az immunuszuprimált státusz hátterében, ami egy egyszeri laboratóriumi eredmény alapján nem értékelhető, valamint a betegek vérmintái gyakran jelentősen eltérnek egymástól az intenzív osztályos kezelésük során.

A random forest analízis alapján demonstrálni tudjuk a gépi tanulós módszer prediktív kapacitását az intenzív osztályos betegek COVID-19 letalítására vonatkozóan. Az elemzés, amely 649 beteg adatait tartalmazza, 86,24%-os pontosságot ért el a gyakorló (training)- és 81,4%-ot a még sosem látott, teszt adathalmazon, ami megbízható eredménynek minősül. A legfontosabb előrejelzőknek a Horovitz-index, limfocitaszám, mellkas CTSS bizonyultak, ami jelzi a légzési állapot, immunválasz és a tüdőérintettség jelentőségét a betegek kimenetelének meghatározásában. Modellünk másik kulcsfontosságú előrejelzője az intenzív osztályon kezelt betegek életkora volt - egy olasz tanulmányban szintén az életkor bizonyult a legjobb prediktornak (Lorenzoni et al., 2021). A jelenleg rendelkezésre álló gépi tanulási eszközök előrejelzési pontossága 81% és 96% mozog olyan paraméterek alapján, mint az életkor, oxigénszaturáció, laktát-dehidrogenáz (LDH), karbamid, CRP, vesekárosodás, CKD, kórtörténetben szereplő koszorúér-betegség és krónikus szívelégtelenség. Ezeket a tényezőket a publikált szakirodalomban a COVID-19-hez kapcsolódó halálozás tekintetében a legbefolyásosabb előrejelző tényezőként azonosították. E tényezőknek a halálozásra gyakorolt hatása azonban országonként és kórházanként jelentősen eltér, ami valószínűleg a vizsgálati központok és a különböző kezelési protokollok adatállományának heterogenitásából adódó eltéréseknek tudható be (Ovcharenko et al., 2023). A RF analízis nagy pontossága és specificitása megerősíti hasznosságát, mert a beteg kimenetelének korai és pontos előrejelzésével a kritikus ellátásban létfontosságú igényt elégíti ki. A modell előrejelző teljesítménye, különösen a nagy kockázatú betegek azonosítása során, jelentősen befolyásolhatja az intenzív osztályos betegirányítási stratégiákat, hangsúlyozva a gépi tanulási

alkalmazások növekvő szerepét az egészségügyben. A jellemzők fontossága rendkívüli a legbefolyásosabb prediktorok, például a P/F arány, a limfocitaszám és a mellkasi CTSS azonosításához, ami kiemeli a beteg prognózisának megítélésében kulcsfontosságú specifikus klinikai tényezőket. Ezek az eredmények összhangban vannak a meglévő irodalommal, amely hangsúlyozza az immunválasz, a légzésfunkció és a tüdő patológiájának szerepét a COVID-19 fertőzések súlyosságának és kimenetelének meghatározásában (Jiao et al., 2021), (Kukar et al., 2021), (AlJame et al., 2021), (Chimbunde et al., 2023).

Az elmúlt években különböző gépi tanulási módszereket alkalmaztak a COVID-19 halálozás előrejelzésére, az intenzív osztályt is ideértve. Egy kínai tanulmány szerint a RF rendelkezik a legjobb teljesítménnyel a COVID-19 betegek halálozási kockázatának előrejelzésében (Shen, 2023). Technikai szempontból a leggyakrabban használt gépi tanulási módszerek a RF, a logisztikus regresszió és a döntési fa (általában gradiens-booster, pl. XGBoost) (Viderman et al., 2024). Egyes tanulmányok a gépi tanulási módszerek teljesítményének összehasonlítására fókuszáltak, míg mások inkább a klinikai szempontokra, különböző demográfiai- és/vagy klinikai és laboratóriumi paramétereket, valamint társbetegségeket vizsgálva modelljeikben (Elhazmi et al., 2022) (D. Li et al., 2020). Egy kínai kutatás kimutatta, hogy három gépi tanulási modell közül az RF mutatta a legjobb teljesítményt a COVID-19 halálozás előrejelzésére, a három legfontosabb változó az átlagos artériás nyomás, az életkor és a PCT volt (Shi et al., 2023). Egy görög tanulmány szintén a RF-et találta a legjobb kimenetel-előrejelzőnek a COVID-19 intenzív osztályos betegeknél, ahol a karbamid, az életkor, a hemoglobin, a CRP, a vérlemezkeszám és a limfocitaszám volt a hat legfontosabb változó (Sakagianni et al., 2023). Egy szaúdi vizsgálat (Jamshidi et al., 2022) több gépi tanulási algoritmust hasonlított össze a halálozás előrejelzésére a 0. napi intenzív osztályos betegek esetében, 15 tényezővel, főként laboratóriumi paraméterekkel. A RF felülmúlta a többi modellt, és jobb hatékonysággal működött; az egyes betegek halálozási valószínűségéről a legtöbb információt adó paraméterek az albumin, a karbamid, a vörösvértest-eloszlás szélessége és az életkor voltak. Egy másik iráni tanulmány az RF-elemzésében az életkort találta a legfontosabb változónak a halálozás előrejelzésében (Najafi-Vosough et al., 2023).

Az adatok előfeldolgozása, a módszertan és a mintaszám nagysága / populációméret mind a felsorolt publikációkban, mind a további szakirodalomban eltér, mivel egyesek az első és második napi adatokat vagy akár az intenzív osztályon való tartózkodás teljes hosszát is figyelembe veszik, mások csak a laboratóriumi paramétereket veszik figyelembe, esetleg olyan összetett pontozási rendszereket is vizsgálnak, mint a SOFA vagy a SAPS. Tanulmányunk

egyetlen RF-elemzés eredményét mutatja be a fontos klinikai és laboratóriumi paraméterek figyelembevételével, valamint az alfa, delta, omikron VOC-k összehasonlítását is.

Ellentétben számos hagyományos modellel, amelyek kevesebb változót vizsgálnak, a RF megközelítés lehetővé teszi a klinikai paraméterek széles körének integrálását, ami fokozza predikciós képességét (Ovcharenko et al., 2023), (C. Zhan et al., 2021), (Zhao et al., 2022). Tanulmányunk gyakorlati jelentősége abban rejlik, hogy a klinikai döntéshozatalt támogathatja, mivel olyan modellt kínál, amely a nagy előrejelzési pontosságot gyakorlati alkalmazhatósággal ötvözi, amelyben a védőoltás és az újabb VOC-k hatásait egy jól meghatározott, egyértelmű kizárási kritériumokkal rendelkező intenzív osztályos populációban veszik figyelembe. A betegek kimenetelének pontos előrejelzésével az intenzív osztály szakemberei hatékonyabban megválaszthatják a beavatkozásokat, és javíthatják a betegellátást, az erőforrás-elosztást. Egy példát említve, a magas kockázatúként azonosított betegeket agresszívebb kezelés vagy megfigyelés céljából prioritásként lehet kezelni. Az RF további előnye, hogy a modell képes kezelni a változók közötti nem lineáris kapcsolatokat és kölcsönhatásokat, ami fokozza predikciós képességét különböző klinikai helyzetekben. Az RF továbbá ismert arról, hogy ellenáll a túlillesztésnek (overfitting) a számos különböző „fa” használatával, ami biztosítja a gyakorlati alkalmazások megbízhatóságát.

Mivel csak magyar betegek adatai álltak rendelkezésünkre a modell létrehozásakor, és nem validáltuk eredményünket más, „külső” eredetű adathalmazon, nem tudjuk, hogy az eredmény általánosítható-e más országokra, vagy csak a magyar betegpopulációra alkalmazható. Ugyanakkor széles körben használt klinikai paramétereket választottunk (pl. életkor, P/F arány, limfocitaszám), ezért úgy gondoljuk, hogy előrejelzéseink hasznosak lehetnek más kutatók és klinikusok számára is. Egy másik limitáló tényező a modell értelmezhetősége: bár az RF nagy pontosságot kínál, természeténél fogva összetettebb és nehezebben értelmezhető, mint az egyszerűbb modellek, ami kihívást jelenthet a klinikai kommunikáció számára, annak ellenére, hogy a paraméterek fontosságának alkalmazásával igyekeztünk növelni az átláthatóságot. A modell teljesítménye nagymértékben függ a bemeneti adatok minőségétől és teljességétől, így érzékenyebbé válik a jelenlévő torzításokra vagy pontatlanságokra, amelyeket a vizsgálat retrospektív jellege befolyásolhat. Ezek az erősségek és korlátok hangsúlyozzák a RF analízisben rejlő lehetőségeket klinikai körülmények között, miközben rávilágítanak a jövőbeli kutatások során javításra és gondos mérlegelésre szoruló területekre. Összefoglalva, a gépi tanulási algoritmus alkalmazását figyelembe véve tanulmányunk elősegítette a mechanizmusok megértését, és hierarchikusan megbecsülte a demográfiai tényezőket, valamint a patofiziológiai

és patobiokémiai paraméterek kockázatmódosító hatását a SARS-CoV-2 fertőzés súlyos lefolyásával küzdő betegek körében. A klinikai adatokra vonatkozó fejlett bioinformatikai elemzés potenciálisan lehetővé teheti a klinikusok számára az iránymutatások testesztelését, valamint az intenzív ellátásban részesülő legveszélyeztetettebb populációknak megfelelő gondozási stratégiák és kezelési alternatívák kidolgozását, és potenciálisan személyre szabottabb, időben történő beavatkozásokat irányíthat. A jövőbeli tanulmányok további változók, például genetikai markerek vagy részletes klinikai kórtörténet integrálását vizsgálhatják nagyobb, külsőleg validált, multicentrikus vizsgálatokban, különböző nemzetiségű és származású betegek bevonásával, a modell előrejelzési pontosságának finomítása érdekében. Ezen túlmenően a modell alkalmazása prospektív klinikai vizsgálatokban értékes betekintést nyújt majd a modell valós hatékonyságába és a betegek kimenetelére gyakorolt hatásába.

6. Összefoglalás

Az epidemiológiai térképelemzés és a Panbio rapid antigén teszt tanulmányozása során szerzett eredmények átfogó képet adnak a COVID-19 járvány alatti epidemiológiai és diagnosztikai kihívásokról, valamint az alkalmazott módszerek hatékonyságáról és korlátairól. A dinamikus idővonalon felvett térképelemzés adatai rámutattak arra, hogy a különböző vírusvariánsok eltérő demográfiai csoportokat érinthetnek, ami fontos szempont a járványkezelési stratégiák kialakításában. A járványügyi góccok időben történő azonosítása, a magas fertőzési arányt mutató települések, az ezek háttérében álló intézményi infrastruktúra hangsúlyozza mind a regionális mind pedig az intézményi szintű, rugalmasan irányított járványügyi kontroll fontosságát. A Pécs központú Baranya megyében a Pécsi Tudományegyetem Klinikai Központ molekuláris diagnosztikai feladatok ellátására specializált egységei magasabb szűrési kapacitást tettek lehetővé, emiatt összességében alacsonyabb volt a pozitív esetek és a tünetekkel rendelkezők aránya. Ez rámutat arra, hogy a szűrési kapacitás növelése hatékonyan csökkentheti a járvány terjedését és javíthatja a járványkezelés hatékonyságát. Az adataink alapján a dél-dunántúli régió pozitív esetszámainak hullámzása megfelelt az országos trendeknek, ami megerősíti, hogy a helyi járványügyi helyzet szorosan összefügg az országos tendenciákkal.

A tömegszűrésre alkalmas rapid antigén teszt diagnosztikai teljesítménye, a teszt alacsony szenzitivitásából fakadóan alacsonynak bizonyult. Ez rámutat arra, hogy a teszt használata korlátozott lehet a fertőzés alacsony populációs prevalenciája esetén, valamint a fertőzés korai stádiumainak megfelelően és az alacsony víruskópiaszámot ürítő esetek kimutatásában. Ugyanakkor megfelelő és gyors alternatíva magas víruskoncentrációjú minták és a járvány közösségi szakaszában magas fertőzési prevalencia esetén. A SARS-CoV-2 örökítőanyaga legfeljebb 35 napig kimutatható volt, ami nem korrelált erősen a beteg fertőzöttségével. Ez arra utal, hogy a PCR-pozitivitás nem mindig jelenti a fertőzőképességet, és a diagnosztikai stratégiáknak figyelembe kell venniük ezt a tényezőt.

Az idősebb életkor, férfi nem, klinikai tünetek és a magas kópiaszámú vírusürítés szignifikánsan korreláltak a halálozással. Ez kiemeli az idősebb és krónikus betegségekkel küzdő populációk különös figyelemmel kísérésének fontosságát a járvány során. Az eredményeink szintén megerősítik, hogy a vakcináció szignifikánsan csökkentette a halálozást, különösen az idősebb és társbetegségekkel küzdő betegek körében. Ez alátámasztja a vakcináció fontosságát a súlyos betegségkimenetel megelőzésében. A random forest analízis

eredményei azt mutatták, hogy a gépi tanulási módszerek hatékony eszközei a COVID-19 súlyos eseteinek előrejelzésében. Ez a megközelítés lehetőséget kínál a klinikai döntéshozatal támogatására, különösen a magas kockázatú betegek azonosítása és kezelése terén.

A fentiek alapján számos irányvonalat és javaslatot lehet megfogalmazni a jövőbeni járványügyi és diagnosztikai stratégiák fejlesztésére: Az epidemiológiai adatok alapján világos, hogy a szűrési kapacitás növelése kulcsfontosságú a járvány hatékony kezelésében. A magas szűrési kapacitás segíthet az aszimptomatikus esetek azonosításában és a járvány terjedésének megfékezésében. A járványügyi intézkedéseket a regionális különbségek figyelembevételével ésszerű kialakítani. Az olyan megyékben, ahol alacsonyabb a szűrési kapacitás, érdemes fokozott figyelmet fordítani a szűrés bővítésére és a prevenciós intézkedések erősítésére. A tesztelési protokollok finomítása és a kombinált diagnosztikai megközelítések alkalmazása segíthet a pontosabb eredmények elérésében. A gépi tanulási módszerek integrált alkalmazása a járványügyi adatok elemzésében és a súlyos esetek előrejelzésében ígéretes irányvonal. A jövőbeni kutatások és fejlesztések irányát érdemes arra is összpontosítani, hogy tovább finomítsuk ezeket a modelleket és beépítsük őket a klinikai gyakorlatba.

Összességében a COVID-19 járvány kezelésében szerzett tapasztalatok és kutatási eredmények kiemelik az adaptív és dinamikus megközelítés fontosságát a járványügyi stratégiák, diagnosztikai módszerek és predikciós döntéstámogató eszközök fejlesztésében. A jelen tapasztalataink figyelembevételével a jövőben még hatékonyabb eszközök és stratégiák fejlesztésére nyílik lehetőség a járványfolyamatok megfékezésére.

7. Új eredmények

1) A dinamikus, interaktív epidemiológiai térkép

- a) A diagnosztikus és demográfiai alapon dél-dunántúli régióra létrehozott specifikus térkép ábrázolása, mely megfelelően részletes, naprakész adatok birtokában a jövőben akár más, járványügyi / egyéb közegészségügyi tematikájú aktualitások megjelenítésére is alkalmas.
- b) Idővonalon a napi járványügyi adatok (pozitív esetszámok, cycle threshold értékek, összesített tesztszám, átlagéletkor) bemutatása populációra vonatkoztatva.
- c) A regionális vírusvariánsok bemutatása a vizsgálati időintervallumban, településekre lebontva a térképen megjelenítve.

2) A Panbio RAT diagnosztikus érzékenysége

- a) Klinikai alkalmazásban végzett Panbio RAT diagnosztikai teljesítményének meghatározása 5,136 bevont esetre vonatkoztatva, amely a publikáció idején a legnagyobb klinikai körülmények között végzett COVID-19 Panbio RAT vizsgálat volt nemzetközileg is.
- b) A Panbio teszt teljesítményének értékelése alapján a kombinált (RAT + PCR) tesztelésre vonatkozó ajánlások megfogalmazása.

3) A súlyos kimenetelű SARS-CoV-2 infekcióhoz társuló klinikai, laboratóriumi és molekuláris genetikai paraméterek vizsgálata

- a) Az ITO-s felvételt követő 24 órán belüli első laboratóriumi paraméterek szerinti összehasonlítás a 3 COVID-19 vírusvariáns (alfa, delta, omikron) mentén, mely nemzetközi viszonylatban is újdonság.
- b) A COVID-19 vakcináltsági státusz és a halálozás közti vizsgálat magyar intenzív osztályos populációs körülmények között.
- c) Az ITO-n letalitással összefüggő legfontosabb faktorok meghatározása.
- d) Random Forest algoritmus kialakítása és létrehozása a letalitással legszorosabb összefüggést mutató laboratóriumi- és klinikai paraméterek mentén a klinikai döntéstámogatás érdekében.

8. Irodalomjegyzék

Online hivatkozások:

1. https://ictv.global/taxonomy/taxondetails?taxnode_id=202201847&taxon_name=Orthocoronavirinae. (megnyitva: 2024.04.10).
2. <https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/variants/variant-classifications.html> (megnyitva: 2024.04.15).
3. <https://www.ecdc.europa.eu/en/covid-19/variants-concern>. (megnyitva: 2024.04.15).
4. <https://www.ecdc.europa.eu/en/infectious-disease-topics/z-disease-list/covid-19/facts/clinical-features-and-sequelae>. (megnyitva: 2024.04.17).
5. <https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/science/data-review/populations.html> (megnyitva: 2023.09.11).
6. <https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/science/data-review/risk.html>. (megnyitva: 2023.09.22).
7. <https://vaccinetracker.ecdc.europa.eu/public/extensions/COVID-19/vaccine-tracker.html#uptake-tab> (megnyitva: 2023.12.01)

Aboubakr, H. A., Sharafeldin, T. A., & Goyal, S. M. (2021). Stability of SARS-CoV-2 and other coronaviruses in the environment and on common touch surfaces and the influence of climatic conditions: A review. *Transboundary and Emerging Diseases*, 68(2), 296–312. <https://doi.org/10.1111/tbed.13707>

Abraham, S., Kienzle, T. E., Lapps, W., & Brian, D. A. (1990). Deduced sequence of the bovine coronavirus spike protein and identification of the internal proteolytic cleavage site. *Virology*, 176(1), 296–301. [https://doi.org/10.1016/0042-6822\(90\)90257-r](https://doi.org/10.1016/0042-6822(90)90257-r)

AlJame, M., Imtiaz, A., Ahmad, I., & Mohammed, A. (2021). Deep forest model for diagnosing COVID-19 from routine blood tests. *Scientific Reports*, 11(1), 16682. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-95957-w>

Ari, E., Vásárhelyi, B. M., Kemenesi, G., Tóth, G. E., Zana, B., Somogyi, B., Lanszki, Z., Röst, G., Jakab, F., Papp, B., & Kintses, B. (2022). A single early introduction governed viral diversity in the second wave of SARS-CoV-2 epidemic in Hungary. *Virus Evolution*, 8(2), veac069. <https://doi.org/10.1093/ve/veac069>

Armstrong, J., Niemann, H., Smeekens, S., Rottier, P., & Warren, G. (1984). Sequence and topology of a model intracellular membrane protein, E1 glycoprotein, from a coronavirus. *Nature*, 308(5961), 751–752. <https://doi.org/10.1038/308751a0>

Bao, C., Liu, X., Zhang, H., Li, Y., & Liu, J. (2020). Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) CT Findings: A Systematic Review and Meta-analysis. *Journal of the American College of Radiology*, 17(6), 701–709. <https://doi.org/10.1016/j.jacr.2020.03.006>

- Barton, M. I., MacGowan, S. A., Kutuzov, M. A., Dushek, O., Barton, G. J., & van der Merwe, P. A. (2021). Effects of common mutations in the SARS-CoV-2 Spike RBD and its ligand, the human ACE2 receptor on binding affinity and kinetics. *ELife*, *10*. <https://doi.org/10.7554/eLife.70658>
- Bassetti, M., Vena, A., & Giacobbe, D. R. (2020). The novel Chinese coronavirus (2019-nCoV) infections: Challenges for fighting the storm. *European Journal of Clinical Investigation*, *50*(3). <https://doi.org/10.1111/eci.13209>
- Benes, J., Jankowski, M., Szuldrzynski, K., Zahorec, R., Lainscak, M., Ruzskai, Z., Podbregar, M., Zatloukal, J., Kletecka, J., Kusza, K., Szrama, J., Ramic, E., Galkova, K., Krbila, S., Valky, J., Ivanic, J., Kurnik, M., Mikó, A., Kiss, T., ... Molnar, Z. (2022). SepsEast Registry indicates high mortality associated with COVID-19 caused acute respiratory failure in Central-Eastern European intensive care units. *Scientific Reports*, *12*(1), 14906. <https://doi.org/10.1038/s41598-022-18991-2>
- Beniac, D. R., Andonov, A., Grudeski, E., & Booth, T. F. (2006). Architecture of the SARS coronavirus prefusion spike. *Nature Structural & Molecular Biology*, *13*(8), 751–752. <https://doi.org/10.1038/nsmb1123>
- Beumer, J., Geurts, M. H., Lamers, M. M., Puschhof, J., Zhang, J., van der Vaart, J., Mykytyn, A. Z., Breugem, T. I., Riesebosch, S., Schipper, D., van den Doel, P. B., de Lau, W., Pleguezuelos-Manzano, C., Busslinger, G., Haagmans, B. L., & Clevers, H. (2021). A CRISPR/Cas9 genetically engineered organoid biobank reveals essential host factors for coronaviruses. *Nature Communications*, *12*(1), 5498. <https://doi.org/10.1038/s41467-021-25729-7>
- Biswas, M., Rahaman, S., Biswas, T. K., Haque, Z., & Ibrahim, B. (2021). Association of Sex, Age, and Comorbidities with Mortality in COVID-19 Patients: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Intervirology*, *64*(1), 36–47. <https://doi.org/10.1159/000512592>
- Bogoch, I. I., Watts, A., Thomas-Bachli, A., Huber, C., Kraemer, M. U. G., & Khan, K. (2020). Pneumonia of unknown aetiology in Wuhan, China: potential for international spread via commercial air travel. *Journal of Travel Medicine*, *27*(2). <https://doi.org/10.1093/jtm/taaa008>
- Botta, M., Tsonas, A. M., Pillay, J., Boers, L. S., Algera, A. G., Bos, L. D. J., Dongelmans, D. A., Hollmann, M. W., Horn, J., Vlaar, A. P. J., Schultz, M. J., Neto, A. S., Paulus, F., & PRoVENT-COVID Collaborative Group. (2021). Ventilation management and clinical outcomes in invasively ventilated patients with COVID-19 (PRoVENT-COVID): a national, multicentre, observational cohort study. *The Lancet. Respiratory Medicine*, *9*(2), 139–148. [https://doi.org/10.1016/S2213-2600\(20\)30459-8](https://doi.org/10.1016/S2213-2600(20)30459-8)
- Bouzig, D., Visseaux, B., Kassasseya, C., Daoud, A., Fémy, F., Hermand, C., Truchot, J., Beaune, S., Javaud, N., Peyrony, O., Chauvin, A., Vaïtinada Ayar, P., Bourg, A., Riou, B., Marot, S., Bloom, B., Cachanado, M., Simon, T., Freund, Y., & IMProving Emergency Care (IMPEC) FHU Collaborators Group. (2022). Comparison of Patients Infected With Delta Versus Omicron COVID-19 Variants Presenting to Paris Emergency Departments : A Retrospective Cohort Study. *Annals of Internal Medicine*, *175*(6), 831–837. <https://doi.org/10.7326/M22-0308>

- Breiman, L. (2001). Random Forests. *Machine Learning*, 45(1), 5–32.
<https://doi.org/10.1023/A:1010933404324>
- Brümmer, L. E., Katzenschlager, S., McGrath, S., Schmitz, S., Gaeddert, M., Erdmann, C., Bota, M., Grilli, M., Larmann, J., Weigand, M. A., Pollock, N. R., Macé, A., Erkosar, B., Carmona, S., Sacks, J. A., Ongarello, S., & Denkinger, C. M. (2022). Accuracy of rapid point-of-care antigen-based diagnostics for SARS-CoV-2: An updated systematic review and meta-analysis with meta-regression analyzing influencing factors. *PLOS Medicine*, 19(5), e1004011. <https://doi.org/10.1371/journal.pmed.1004011>
- Bullard, J., Dust, K., Funk, D., Strong, J. E., Alexander, D., Garnett, L., Boodman, C., Bello, A., Hedley, A., Schiffman, Z., Doan, K., Bastien, N., Li, Y., Van Caesele, P. G., & Poliquin, G. (2020). Predicting Infectious Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 From Diagnostic Samples. *Clinical Infectious Diseases*, 71(10), 2663–2666. <https://doi.org/10.1093/cid/ciaa638>
- Carbonell, R., Urgelés, S., Rodríguez, A., Bodí, M., Martín-Loeches, I., Solé-Violán, J., Díaz, E., Gómez, J., Trefler, S., Vallverdú, M., Murcia, J., Albaya, A., Loza, A., Socias, L., Ballesteros, J. C., Papiol, E., Viña, L., Sancho, S., Nieto, M., ... COVID-19 SEMICYUC Working Group. (2021). Mortality comparison between the first and second/third waves among 3,795 critical COVID-19 patients with pneumonia admitted to the ICU: A multicentre retrospective cohort study. *The Lancet Regional Health. Europe*, 11, 100243. <https://doi.org/10.1016/j.lanepe.2021.100243>
- Caruana, G., Croxatto, A., Coste, A. T., Opota, O., Lamoth, F., Jatón, K., & Greub, G. (2020). Diagnostic strategies for SARS-CoV-2 infection and interpretation of microbiological results. *Clinical Microbiology and Infection*, 26(9), 1178–1182. <https://doi.org/10.1016/j.cmi.2020.06.019>
- Chatterjee, S., Nalla, L. V., Sharma, M., Sharma, N., Singh, A. A., Malim, F. M., Ghatage, M., Mukarram, M., Pawar, A., Parihar, N., Arya, N., & Khairnar, A. (2023). Association of COVID-19 with Comorbidities: An Update. *ACS Pharmacology & Translational Science*, 6(3), 334–354. <https://doi.org/10.1021/acscptsci.2c00181>
- Chávez, V. (2019). Sources of pre-analytical, analytical and post-analytical errors in the microbiology laboratory. In *Accurate Results in the Clinical Laboratory* (pp. 377–384). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-813776-5.00024-8>
- Chen, S., Prettner, K., Kuhn, M., Geldsetzer, P., Wang, C., Bärnighausen, T., & Bloom, D. E. (2021). Climate and the spread of COVID-19. *Scientific Reports*, 11(1), 9042. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-87692-z>
- Chimbunde, E., Sigwadhi, L. N., Tamuzi, J. L., Okango, E. L., Daramola, O., Ngah, V. D., & Nyasulu, P. S. (2023). Machine learning algorithms for predicting determinants of COVID-19 mortality in South Africa. *Frontiers in Artificial Intelligence*, 6. <https://doi.org/10.3389/frai.2023.1171256>
- Clark, A., Jit, M., Warren-Gash, C., Guthrie, B., Wang, H. H. X., Mercer, S. W., Sanderson, C., McKee, M., Troeger, C., Ong, K. L., Checchi, F., Perel, P., Joseph, S., Gibbs, H. P., Banerjee, A., Eggo, R. M., Nightingale, E. S., O'Reilly, K., Jombart, T., ... Jarvis, C. I. (2020). Global, regional, and national estimates of the population at increased risk of

- severe COVID-19 due to underlying health conditions in 2020: a modelling study. *The Lancet Global Health*, 8(8), e1003–e1017. [https://doi.org/10.1016/S2214-109X\(20\)30264-3](https://doi.org/10.1016/S2214-109X(20)30264-3)
- Collins, A. R., Knobler, R. L., Powell, H., & Buchmeier, M. J. (1982). Monoclonal antibodies to murine hepatitis virus-4 (strain JHM) define the viral glycoprotein responsible for attachment and cell-cell fusion. *Virology*, 119(2), 358–371. [https://doi.org/10.1016/0042-6822\(82\)90095-2](https://doi.org/10.1016/0042-6822(82)90095-2)
- Corman, V. M., Landt, O., Kaiser, M., Molenkamp, R., Meijer, A., Chu, D. K., Bleicker, T., Brünink, S., Schneider, J., Schmidt, M. L., Mulders, D. G., Haagmans, B. L., van der Veer, B., van den Brink, S., Wijsman, L., Goderski, G., Romette, J.-L., Ellis, J., Zambon, M., ... Drosten, C. (2020). Detection of 2019 novel coronavirus (2019-nCoV) by real-time RT-PCR. *Eurosurveillance*, 25(3). <https://doi.org/10.2807/1560-7917.ES.2020.25.3.2000045>
- Cornelissen, L. A., Wierda, C. M., van der Meer, F. J., Herrewegh, A. A., Horzinek, M. C., Egberink, H. F., & de Groot, R. J. (1997). Hemagglutinin-esterase, a novel structural protein of torovirus. *Journal of Virology*, 71(7), 5277–5286. <https://doi.org/10.1128/JVI.71.7.5277-5286.1997>
- Cox, M. A. A., & Cox, T. F. (2008). Multidimensional Scaling. In *Handbook of Data Visualization* (pp. 315–347). Springer Berlin Heidelberg. https://doi.org/10.1007/978-3-540-33037-0_14
- da Silva, M. F., dos Santos, U. R., Ferreira, F. B., Albuquerque, G. R., Mariano, A. P. M., Fehlberg, H. F., Santos de Santana, Í. T., dos Santos, P. R., Santos, L. C., Silva de Jesus, L. L., Piton, K. A., Costa, B. S., Gomes, B. S. M., Porto, V. M., Oliveira, E. da S., Oliveira, C. L., Fontana, R., Maciel, B. M., Silva, M. de M., ... Gadelha, S. R. (2023). SARS-CoV-2 Infection in Cities from the Southern Region of Bahia State, Brazil: Analysis of Variables Associated in Both Individual and Community Level. *Viruses*, 15(7), 1583. <https://doi.org/10.3390/v15071583>
- de Groot, R. J., Luytjes, W., Horzinek, M. C., van der Zeijst, B. A., Spaan, W. J., & Lenstra, J. A. (1987). Evidence for a coiled-coil structure in the spike proteins of coronaviruses. *Journal of Molecular Biology*, 196(4), 963–966. [https://doi.org/10.1016/0022-2836\(87\)90422-0](https://doi.org/10.1016/0022-2836(87)90422-0)
- de Sousa, L. A. F., Ferreira, L. S. de S., Lobato, L. F. L., Ferreira, H. L. dos S., Sousa, L. H. dos S., Santos, V. F. dos, Nunes, P. R. S., Maramaldo, C. E. C., Neto, S. S., Sampaio, H. L., Silva, F. V. da, Brito, M. da C., Lima, W. K. R., Lima, C. Z. G. P. A., & Neto, L. G. L. (2023). Molecular epidemiology of SARS-CoV-2 variants in circulation in the state of Maranhão, Brazil. *Journal of Medical Virology*, 95(9). <https://doi.org/10.1002/jmv.29092>
- Delmas, B., & Laude, H. (1990). Assembly of coronavirus spike protein into trimers and its role in epitope expression. *Journal of Virology*, 64(11), 5367–5375. <https://doi.org/10.1128/JVI.64.11.5367-5375.1990>
- Deng, F., Zhang, L., Lyu, L., Lu, Z., Gao, D., Ma, X., Guo, Y., Wang, R., Gong, S., & Jiang, W. (2021). Increased levels of ferritin on admission predicts intensive care unit mortality

- in patients with COVID-19. *Medicina Clínica*, 156(7), 324–331.
<https://doi.org/10.1016/j.medcli.2020.11.030>
- Deng, G., Yin, M., Chen, X., & Zeng, F. (2020). Clinical determinants for fatality of 44,672 patients with COVID-19. *Critical Care*, 24(1), 179. <https://doi.org/10.1186/s13054-020-02902-w>
- Deng, X., Garcia-Knight, M. A., Khalid, M. M., Servellita, V., Wang, C., Morris, M. K., Sotomayor-González, A., Glasner, D. R., Reyes, K. R., Gliwa, A. S., Reddy, N. P., Sanchez San Martin, C., Federman, S., Cheng, J., Balcerek, J., Taylor, J., Streithorst, J. A., Miller, S., Sreekumar, B., ... Chiu, C. Y. (2021). Transmission, infectivity, and neutralization of a spike L452R SARS-CoV-2 variant. *Cell*, 184(13), 3426-3437.e8. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2021.04.025>
- Dhawan, M., Sharma, A., Priyanka, Thakur, N., Rajkhowa, T. K., & Choudhary, O. P. (2022). Delta variant (B.1.617.2) of SARS-CoV-2: Mutations, impact, challenges and possible solutions. *Human Vaccines & Immunotherapeutics*, 18(5), 2068883. <https://doi.org/10.1080/21645515.2022.2068883>
- Dinnes, J., Deeks, J. J., Adriano, A., Berhane, S., Davenport, C., Dittrich, S., Emperador, D., Takwoingi, Y., Cunningham, J., Beese, S., Dretzke, J., Ferrante di Ruffano, L., Harris, I. M., Price, M. J., Taylor-Phillips, S., Hooft, L., Leeflang, M. M., Spijker, R., & Van den Bruel, A. (2020). Rapid, point-of-care antigen and molecular-based tests for diagnosis of SARS-CoV-2 infection. *Cochrane Database of Systematic Reviews*. <https://doi.org/10.1002/14651858.CD013705>
- Drake, J. W. (1993). Rates of spontaneous mutation among RNA viruses. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 90(9), 4171–4175. <https://doi.org/10.1073/pnas.90.9.4171>
- Du, R.-H., Liang, L.-R., Yang, C.-Q., Wang, W., Cao, T.-Z., Li, M., Guo, G.-Y., Du, J., Zheng, C.-L., Zhu, Q., Hu, M., Li, X.-Y., Peng, P., & Shi, H.-Z. (2020). Predictors of mortality for patients with COVID-19 pneumonia caused by SARS-CoV-2: a prospective cohort study. *European Respiratory Journal*, 55(5), 2000524. <https://doi.org/10.1183/13993003.00524-2020>
- Eigner, U., Reucher, S., Hefner, N., Staffa-Peichl, S., Kolb, M., Betz, U., Holfelder, M., Spier, G., Pfefferle, S., & Lütgehetmann, M. (2019). Clinical evaluation of multiplex RT-PCR assays for the detection of influenza A/B and respiratory syncytial virus using a high throughput system. *Journal of Virological Methods*, 269, 49–54. <https://doi.org/10.1016/j.jviromet.2019.03.015>
- Eleftheriou, I., Dasoula, F., Dimopoulou, D., Lebessi, E., Serafi, E., Spyridis, N., & Tsolia, M. (2021). Real-life evaluation of a COVID-19 rapid antigen detection test in hospitalized children. *Journal of Medical Virology*, 93(10), 6040–6044. <https://doi.org/10.1002/jmv.27149>
- Elhazmi, A., Al-Omari, A., Sallam, H., Mufti, H. N., Rabie, A. A., Alshahrani, M., Mady, A., Alghamdi, A., Altalaq, A., Azzam, M. H., Sindi, A., Kharaba, A., Al-Aseri, Z. A., Almekhlafi, G. A., Tashkandi, W., Alajmi, S. A., Faqihi, F., Alharthy, A., Al-Tawfiq, J. A., ... Arabi, Y. M. (2022). Machine learning decision tree algorithm role for predicting

- mortality in critically ill adult COVID-19 patients admitted to the ICU. *Journal of Infection and Public Health*, 15(7), 826–834. <https://doi.org/10.1016/j.jiph.2022.06.008>
- Fenollar, F., Bouam, A., Ballouche, M., Fuster, L., Prudent, E., Colson, P., Tissot-Dupont, H., Million, M., Drancourt, M., Raoult, D., & Fournier, P.-E. (2021). Evaluation of the Panbio COVID-19 Rapid Antigen Detection Test Device for the Screening of Patients with COVID-19. *Journal of Clinical Microbiology*, 59(2). <https://doi.org/10.1128/JCM.02589-20>
- Ferreira, J. C., Ho, Y.-L., Besen, B. A. M. P., Malbouisson, L. M. S., Taniguchi, L. U., Mendes, P. V., Costa, E. L. V., Park, M., Daltro-Oliveira, R., Roepke, R. M. L., Silva-Jr, J. M., Carmona, M. J. C., Carvalho, C. R. R., & EPICCoV Study Group. (2021). Protective ventilation and outcomes of critically ill patients with COVID-19: a cohort study. *Annals of Intensive Care*, 11(1), 92. <https://doi.org/10.1186/s13613-021-00882-w>
- Francone, M., Iafrate, F., Masci, G. M., Coco, S., Cilia, F., Manganaro, L., Panebianco, V., Andreoli, C., Colaiacomo, M. C., Zingaropoli, M. A., Ciardi, M. R., Mastroianni, C. M., Pugliese, F., Alessandri, F., Turriziani, O., Ricci, P., & Catalano, C. (2020). Chest CT score in COVID-19 patients: correlation with disease severity and short-term prognosis. *European Radiology*, 30(12), 6808–6817. <https://doi.org/10.1007/s00330-020-07033-y>
- Fraser, C., Riley, S., Anderson, R. M., & Ferguson, N. M. (2004). Factors that make an infectious disease outbreak controllable. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 101(16), 6146–6151. <https://doi.org/10.1073/pnas.0307506101>
- Ganyani, T., Kremer, C., Chen, D., Torneri, A., Faes, C., Wallinga, J., & Hens, N. (2020). Estimating the generation interval for coronavirus disease (COVID-19) based on symptom onset data, March 2020. *Euro Surveillances : Bulletin Europeen Sur Les Maladies Transmissibles = European Communicable Disease Bulletin*, 25(17). <https://doi.org/10.2807/1560-7917.ES.2020.25.17.2000257>
- Gervain, J., Szabóné Bartha, K., Bakiné Hodovánszky, E., Kadlecsik, L., Herczeg, R., Gyenesei, A., & Simon, J. (2022). Az anti-SARS-CoV-2-IgG-antitest-immunválaszok monitorozása magyarországi egészségügyi dolgozók két kohorszában fertőzést, illetve immunizálást követően. *Orvosi Hetilap*, 163(12), 455–462. <https://doi.org/10.1556/650.2022.32467>
- GOWER, J. C. (1966). Some distance properties of latent root and vector methods used in multivariate analysis. *Biometrika*, 53(3–4), 325–338. <https://doi.org/10.1093/biomet/53.3-4.325>
- Graham, M. S., Sudre, C. H., May, A., Antonelli, M., Murray, B., Varsavsky, T., Kläser, K., Canas, L. S., Molteni, E., Modat, M., Drew, D. A., Nguyen, L. H., Polidori, L., Selvachandran, S., Hu, C., Capdevila, J., COVID-19 Genomics UK (COG-UK) Consortium, Hammers, A., Chan, A. T., ... Ourselin, S. (2021). Changes in symptomatology, reinfection, and transmissibility associated with the SARS-CoV-2 variant B.1.1.7: an ecological study. *The Lancet. Public Health*, 6(5), e335–e345. [https://doi.org/10.1016/S2468-2667\(21\)00055-4](https://doi.org/10.1016/S2468-2667(21)00055-4)

- Grasselli, G., Greco, M., Zanella, A., Albano, G., Antonelli, M., Bellani, G., Bonanomi, E., Cabrini, L., Carlesso, E., Castelli, G., Cattaneo, S., Cereda, D., Colombo, S., Coluccello, A., Crescini, G., Forastieri Molinari, A., Foti, G., Fumagalli, R., Iotti, G. A., ... COVID-19 Lombardy ICU Network. (2020). Risk Factors Associated With Mortality Among Patients With COVID-19 in Intensive Care Units in Lombardy, Italy. *JAMA Internal Medicine*, *180*(10), 1345–1355. <https://doi.org/10.1001/jamainternmed.2020.3539>
- Gremmels, H., Winkel, B. M. F., Schuurman, R., Rosingh, A., Rigter, N. A. M., Rodriguez, O., Ubijaaan, J., Wensing, A. M. J., Bonten, M. J. M., & Hofstra, L. M. (2021). Real-life validation of the Panbio™ COVID-19 antigen rapid test (Abbott) in community-dwelling subjects with symptoms of potential SARS-CoV-2 infection. *EClinicalMedicine*, *31*, 100677. <https://doi.org/10.1016/j.eclinm.2020.100677>
- Gu, Y., Wang, D., Chen, C., Lu, W., Liu, H., Lv, T., Song, Y., & Zhang, F. (2021). PaO₂/FiO₂ and IL-6 are risk factors of mortality for intensive care COVID-19 patients. *Scientific Reports*, *11*(1), 7334. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-86676-3>
- He, X., Lau, E. H. Y., Wu, P., Deng, X., Wang, J., Hao, X., Lau, Y. C., Wong, J. Y., Guan, Y., Tan, X., Mo, X., Chen, Y., Liao, B., Chen, W., Hu, F., Zhang, Q., Zhong, M., Wu, Y., Zhao, L., ... Leung, G. M. (2020). Temporal dynamics in viral shedding and transmissibility of COVID-19. *Nature Medicine*, *26*(5), 672–675. <https://doi.org/10.1038/s41591-020-0869-5>
- Hodcroft, E. B., Zuber, M., Nadeau, S., Vaughan, T. G., Crawford, K. H. D., Althaus, C. L., Reichmuth, M. L., Bowen, J. E., Walls, A. C., Corti, D., Bloom, J. D., Veessler, D., Mateo, D., Hernando, A., Comas, I., González-Candelas, F., González-Candelas, F., Goig, G. A., Chiner-Oms, Á., ... Neher, R. A. (2021). Spread of a SARS-CoV-2 variant through Europe in the summer of 2020. *Nature*, *595*(7869), 707–712. <https://doi.org/10.1038/s41586-021-03677-y>
- Hoffmann, M., Kleine-Weber, H., Schroeder, S., Krüger, N., Herrler, T., Erichsen, S., Schiergens, T. S., Herrler, G., Wu, N.-H., Nitsche, A., Müller, M. A., Drosten, C., & Pöhlmann, S. (2020). SARS-CoV-2 Cell Entry Depends on ACE2 and TMPRSS2 and Is Blocked by a Clinically Proven Protease Inhibitor. *Cell*, *181*(2), 271-280.e8. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2020.02.052>
- Hoodbhoy, Z., Jafri, L., & Ahmed, S. (2021). Prognostic Value of Serum Procalcitonin in COVID-19 Patients: A Systematic Review. *Indian Journal of Critical Care Medicine*, *25*(1), 77–84. <https://doi.org/10.5005/jp-journals-10071-23706>
- Hu, R., Han, C., Pei, S., Yin, M., & Chen, X. (2020). Procalcitonin levels in COVID-19 patients. *International Journal of Antimicrobial Agents*, *56*(2), 106051. <https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2020.106051>
- Jamshidi, E., Asgary, A., Tavakoli, N., Zali, A., Setareh, S., Esmaily, H., Jamaldini, S. H., Daaee, A., Babajani, A., Sendani Kashi, M. A., Jamshidi, M., Jamal Rahi, S., & Mansouri, N. (2022). Using Machine Learning to Predict Mortality for COVID-19 Patients on Day 0 in the ICU. *Frontiers in Digital Health*, *3*. <https://doi.org/10.3389/fdgh.2021.681608>

- Janezic, S., Mahnic, A., Kuhar, U., Kovač, J., Jenko Bizjan, B., Koritnik, T., Tesovnik, T., Šket, R., Krapež, U., Slavec, B., Malovrh, T., Battelino, T., Rupnik, M., & Zohar Cretnik, T. (2023). SARS-CoV-2 molecular epidemiology in Slovenia, January to September 2021. *Eurosurveillance*, 28(8). <https://doi.org/10.2807/1560-7917.ES.2023.28.8.2200451>
- Javanian, M., Bayani, M., Shokri, M., Sadeghi-Haddad-Zavareh, M., Babazadeh, A., Yeganeh, B., Mohseni, S., Mehraeen, R., Sepidarkish, M., Bijani, A., Rostami, A., Shahbazi, M., Tabari, A. M., Shabani, A., Masrou-Roudsari, J., Hasanpour, A. H., Gholinejad, H. E., Ghorbani, H., & Ebrahimpour, S. (2020). Clinical and laboratory findings from patients with COVID-19 pneumonia in Babol North of Iran: a retrospective cohort study. *Romanian Journal of Internal Medicine*, 58(3), 161–167. <https://doi.org/10.2478/rjim-2020-0013>
- Jiao, Z., Choi, J. W., Halsey, K., Tran, T. M. L., Hsieh, B., Wang, D., Eweje, F., Wang, R., Chang, K., Wu, J., Collins, S. A., Yi, T. Y., Delworth, A. T., Liu, T., Healey, T. T., Lu, S., Wang, J., Feng, X., Atalay, M. K., ... Bai, H. X. (2021). Prognostication of patients with COVID-19 using artificial intelligence based on chest x-rays and clinical data: a retrospective study. *The Lancet Digital Health*, 3(5), e286–e294. [https://doi.org/10.1016/S2589-7500\(21\)00039-X](https://doi.org/10.1016/S2589-7500(21)00039-X)
- Johansson, M. A., Quandelacy, T. M., Kada, S., Prasad, P. V., Steele, M., Brooks, J. T., Slayton, R. B., Biggerstaff, M., & Butler, J. C. (2021). SARS-CoV-2 Transmission From People Without COVID-19 Symptoms. *JAMA Network Open*, 4(1), e2035057. <https://doi.org/10.1001/jamanetworkopen.2020.35057>
- KEIDAR, S., KAPLAN, M., & GAMLIELLAZAROVICH, A. (2007). ACE2 of the heart: From angiotensin I to angiotensin (1–7). *Cardiovascular Research*, 73(3), 463–469. <https://doi.org/10.1016/j.cardiores.2006.09.006>
- Kevadiya, B. D., Machhi, J., Herskovitz, J., Oleynikov, M. D., Blomberg, W. R., Bajwa, N., Soni, D., Das, S., Hasan, M., Patel, M., Senan, A. M., Gorantla, S., McMillan, J., Edagwa, B., Eisenberg, R., Gurumurthy, C. B., Reid, S. P. M., Punyadeera, C., Chang, L., & Gendelman, H. E. (2021). Diagnostics for SARS-CoV-2 infections. *Nature Materials*, 20(5), 593–605. <https://doi.org/10.1038/s41563-020-00906-z>
- Kiss, S., Gede, N., Hegyi, P., Németh, D., Földi, M., Dembrovszky, F., Nagy, B., Juhász, M. F., Ocskay, K., Zádori, N., Molnár, Z., Párniczky, A., Hegyi, P. J., Szakács, Z., Pár, G., Erőss, B., & Alizadeh, H. (2021). Early changes in laboratory parameters are predictors of mortality and ICU admission in patients with COVID-19: a systematic review and meta-analysis. *Medical Microbiology and Immunology*, 210(1), 33–47. <https://doi.org/10.1007/s00430-020-00696-w>
- Klauegger, A., Strobl, B., Regl, G., Kaser, A., Luytjes, W., & Vlasak, R. (1999). Identification of a coronavirus hemagglutinin-esterase with a substrate specificity different from those of influenza C virus and bovine coronavirus. *Journal of Virology*, 73(5), 3737–3743. <https://doi.org/10.1128/JVI.73.5.3737-3743.1999>
- Korber, B., Fischer, W. M., Gnanakaran, S., Yoon, H., Theiler, J., Abfalterer, W., Hengartner, N., Giorgi, E. E., Bhattacharya, T., Foley, B., Hastie, K. M., Parker, M. D., Partridge, D. G., Evans, C. M., Freeman, T. M., de Silva, T. I., Sheffield COVID-19 Genomics Group,

- McDanal, C., Perez, L. G., ... Montefiori, D. C. (2020). Tracking Changes in SARS-CoV-2 Spike: Evidence that D614G Increases Infectivity of the COVID-19 Virus. *Cell*, 182(4), 812-827.e19. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2020.06.043>
- Kowsar, R., Rahimi, A. M., Sroka, M., Mansouri, A., Sadeghi, K., Bonakdar, E., Kateb, S. F., & Mahdavi, A. H. (2023). Risk of mortality in COVID-19 patients: a meta- and network analysis. *Scientific Reports*, 13(1), 2138. <https://doi.org/10.1038/s41598-023-29364-8>
- Krüger, L. J., Gaeddert, M., Tobian, F., Lainati, F., Gottschalk, C., Klein, J. A. F., Schnitzler, P., Kräusslich, H.-G., Nikolai, O., Lindner, A. K., Mockenhaupt, F. P., Seybold, J., Corman, V. M., Drosten, C., Pollock, N. R., Knorr, B., Welker, A., de Vos, M., Sacks, J. A., & Denkinger, C. M. (2021). The Abbott PanBio WHO emergency use listed, rapid, antigen-detecting point-of-care diagnostic test for SARS-CoV-2—Evaluation of the accuracy and ease-of-use. *PLOS ONE*, 16(5), e0247918. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0247918>
- Kucirka, L. M., Lauer, S. A., Laeyendecker, O., Boon, D., & Lessler, J. (2020). Variation in False-Negative Rate of Reverse Transcriptase Polymerase Chain Reaction–Based SARS-CoV-2 Tests by Time Since Exposure. *Annals of Internal Medicine*, 173(4), 262–267. <https://doi.org/10.7326/M20-1495>
- Kukar, M., Gunčar, G., Vovko, T., Podnar, S., Černelč, P., Brvar, M., Zalaznik, M., Notar, M., Moškon, S., & Notar, M. (2021). COVID-19 diagnosis by routine blood tests using machine learning. *Scientific Reports*, 11(1), 10738. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-90265-9>
- Kumar, S., Karuppanan, K., & Subramaniam, G. (2022). Omicron (BA.1) and sub-variants (BA.1.1, BA.2, and BA.3) of SARS-CoV-2 spike infectivity and pathogenicity: A comparative sequence and structural-based computational assessment. *Journal of Medical Virology*, 94(10), 4780–4791. <https://doi.org/10.1002/jmv.27927>
- Kundu, D., Gautam, P., Dayanand, D., Gunasekaran, K., Manesh, A., Sebastian, M., Abhilash, K. P. P., Zachariah, A., George, T., Sathyendra, S., Hansdak, S. G., Abraham, O. C., Iyadurai, R., Thangakunam, B., Gupta, R., Karthik, R., Moorthy, M., & Varghese, G. M. (2022). The role and diagnostic accuracy of serology for COVID-19. *BMC Infectious Diseases*, 22(1), 390. <https://doi.org/10.1186/s12879-022-07361-y>
- Lamers, M. M., & Haagmans, B. L. (2022). SARS-CoV-2 pathogenesis. *Nature Reviews Microbiology*, 20(5), 270–284. <https://doi.org/10.1038/s41579-022-00713-0>
- Landaas, E. T., Storm, M. L., Tollånes, M. C., Barlind, R., Kran, A.-M. B., Bragstad, K., Christensen, A., & Andreassen, T. (2021). Diagnostic performance of a SARS-CoV-2 rapid antigen test in a large, Norwegian cohort. *Journal of Clinical Virology*, 137, 104789. <https://doi.org/10.1016/j.jcv.2021.104789>
- Lau, S. K. P., Woo, P. C. Y., Li, K. S. M., Huang, Y., Tsoi, H.-W., Wong, B. H. L., Wong, S. S. Y., Leung, S.-Y., Chan, K.-H., & Yuen, K.-Y. (2005). Severe acute respiratory syndrome coronavirus-like virus in Chinese horseshoe bats. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 102(39), 14040–14045. <https://doi.org/10.1073/pnas.0506735102>

- Lauring, A. S., & Hodcroft, E. B. (2021). Genetic Variants of SARS-CoV-2—What Do They Mean? *JAMA*, *325*(6), 529. <https://doi.org/10.1001/jama.2020.27124>
- Li, D., Zhang, Q., Tan, Y., Feng, X., Yue, Y., Bai, Y., Li, J., Li, J., Xu, Y., Chen, S., Xiao, S.-Y., Sun, M., Li, X., & Zhu, F. (2020). Prediction of COVID-19 Severity Using Chest Computed Tomography and Laboratory Measurements: Evaluation Using a Machine Learning Approach. *JMIR Medical Informatics*, *8*(11), e21604. <https://doi.org/10.2196/21604>
- Li, J., Li, M., Zheng, S., Li, M., Zhang, M., Sun, M., Li, X., Deng, A., Cai, Y., & Zhang, H. (2020). Plasma Albumin Levels Predict Risk for Nonsurvivors in Critically Ill Patients with Covid-19. *Biomarkers in Medicine*, *14*(10), 827–837. <https://doi.org/10.2217/bmm-2020-0254>
- Li, Q., Guan, X., Wu, P., Wang, X., Zhou, L., Tong, Y., Ren, R., Leung, K. S. M., Lau, E. H. Y., Wong, J. Y., Xing, X., Xiang, N., Wu, Y., Li, C., Chen, Q., Li, D., Liu, T., Zhao, J., Liu, M., ... Feng, Z. (2020). Early Transmission Dynamics in Wuhan, China, of Novel Coronavirus-Infected Pneumonia. *New England Journal of Medicine*, *382*(13), 1199–1207. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa2001316>
- Li, W., Moore, M. J., Vasilieva, N., Sui, J., Wong, S. K., Berne, M. A., Somasundaran, M., Sullivan, J. L., Luzuriaga, K., Greenough, T. C., Choe, H., & Farzan, M. (2003). Angiotensin-converting enzyme 2 is a functional receptor for the SARS coronavirus. *Nature*, *426*(6965), 450–454. <https://doi.org/10.1038/nature02145>
- Li, W., Shi, Z., Yu, M., Ren, W., Smith, C., Epstein, J. H., Wang, H., Crameri, G., Hu, Z., Zhang, H., Zhang, J., McEachern, J., Field, H., Daszak, P., Eaton, B. T., Zhang, S., & Wang, L.-F. (2005). Bats are natural reservoirs of SARS-like coronaviruses. *Science* (New York, N.Y.), *310*(5748), 676–679. <https://doi.org/10.1126/science.1118391>
- Liaw, A., & Wiener, M. (2002). Classification and regression by randomForest. *R News*, *2*(3), 18–22.
- Lista, M. J., Winstone, H., Wilson, H. D., Dyer, A., Pickering, S., Galao, R. P., De Lorenzo, G., Cowton, V. M., Furnon, W., Suarez, N., Orton, R., Palmarini, M., Patel, A. H., Snell, L., Nebbia, G., Swanson, C., & Neil, S. J. D. (2022). The P681H Mutation in the Spike Glycoprotein of the Alpha Variant of SARS-CoV-2 Escapes IFITM Restriction and Is Necessary for Type I Interferon Resistance. *Journal of Virology*, *96*(23), e0125022. <https://doi.org/10.1128/jvi.01250-22>
- Liu, Y., Yang, Y., Zhang, C., Huang, F., Wang, F., Yuan, J., Wang, Z., Li, J., Li, J., Feng, C., Zhang, Z., Wang, L., Peng, L., Chen, L., Qin, Y., Zhao, D., Tan, S., Yin, L., Xu, J., ... Liu, L. (2020). Clinical and biochemical indexes from 2019-nCoV infected patients linked to viral loads and lung injury. *Science China Life Sciences*, *63*(3), 364–374. <https://doi.org/10.1007/s11427-020-1643-8>
- Lorenzoni, G., Sella, N., Boscolo, A., Azzolina, D., Bartolotta, P., Pasin, L., Pettenuzzo, T., De Cassai, A., Baratto, F., Toffoletto, F., De Rosa, S., Fullin, G., Peta, M., Rosi, P., Polati, E., Zanella, A., Grasselli, G., Pesenti, A., Navalesi, P., ... VENETO ICU Network. (2021). COVID-19 ICU mortality prediction: a machine learning approach

- using SuperLearner algorithm. *Journal of Anesthesia, Analgesia and Critical Care*, 1(1), 3. <https://doi.org/10.1186/s44158-021-00002-x>
- Lu, H., Stratton, C. W., & Tang, Y. (2020). Outbreak of pneumonia of unknown etiology in Wuhan, China: The mystery and the miracle. *Journal of Medical Virology*, 92(4), 401–402. <https://doi.org/10.1002/jmv.25678>
- Lu, R., Zhao, X., Li, J., Niu, P., Yang, B., Wu, H., Wang, W., Song, H., Huang, B., Zhu, N., Bi, Y., Ma, X., Zhan, F., Wang, L., Hu, T., Zhou, H., Hu, Z., Zhou, W., Zhao, L., ... Tan, W. (2020). Genomic characterisation and epidemiology of 2019 novel coronavirus: implications for virus origins and receptor binding. *Lancet (London, England)*, 395(10224), 565–574. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(20\)30251-8](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(20)30251-8)
- Lunardon, N., Menardi, G., & Torelli, N. (2014). ROSE: A package for binary imbalanced learning. *R Journal*, 6(1), 79–89. <https://doi.org/10.32614/rj-2014-008>
- Luytjes, W., Sturman, L. S., Bredenbeek, P. J., Charite, J., van der Zeijst, B. A., Horzinek, M. C., & Spaan, W. J. (1987). Primary structure of the glycoprotein E2 of coronavirus MHV-A59 and identification of the trypsin cleavage site. *Virology*, 161(2), 479–487. [https://doi.org/10.1016/0042-6822\(87\)90142-5](https://doi.org/10.1016/0042-6822(87)90142-5)
- Ma, Q., Liu, J., Liu, Q., Kang, L., Liu, R., Jing, W., Wu, Y., & Liu, M. (2021). Global Percentage of Asymptomatic SARS-CoV-2 Infections Among the Tested Population and Individuals With Confirmed COVID-19 Diagnosis. *JAMA Network Open*, 4(12), e2137257. <https://doi.org/10.1001/jamanetworkopen.2021.37257>
- Manathunga, S. S., Abeyagunawardena, I. A., & Dharmaratne, S. D. (2023). A comparison of transmissibility of SARS-CoV-2 variants of concern. *Virology Journal*, 20(1), 59. <https://doi.org/10.1186/s12985-023-02018-x>
- Masiá, M., Fernández-González, M., Sánchez, M., Carvajal, M., García, J. A., Gonzalo-Jiménez, N., Ortiz de la Tabla, V., Agulló, V., Candela, I., Guijarro, J., Gutiérrez, J. A., de Gregorio, C., & Gutiérrez, F. (2021). Nasopharyngeal Panbio COVID-19 Antigen Performed at Point-of-Care Has a High Sensitivity in Symptomatic and Asymptomatic Patients With Higher Risk for Transmission and Older Age. *Open Forum Infectious Diseases*, 8(3). <https://doi.org/10.1093/ofid/ofab059>
- Masters, P., & Perlman, S. (2013). Coronaviridae. In D. Knipe & P. Howley (Eds.), *Virology* (6th ed., Vol. 2, pp. 825–858). Lippincott Williams and Wilkins.
- McIntosh, K., Dees, J. H., Becker, W. B., Kapikian, A. Z., & Chanock, R. M. (1967). Recovery in tracheal organ cultures of novel viruses from patients with respiratory disease. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 57(4), 933–940. <https://doi.org/10.1073/pnas.57.4.933>
- McMillen, T., Jani, K., Robilotti, E. V., Kamboj, M., & Babady, N. E. (2022). The spike gene target failure (SGTF) genomic signature is highly accurate for the identification of Alpha and Omicron SARS-CoV-2 variants. *Scientific Reports*, 12(1), 18968. <https://doi.org/10.1038/s41598-022-21564-y>

- Mehta, P., McAuley, D. F., Brown, M., Sanchez, E., Tattersall, R. S., & Manson, J. J. (2020). COVID-19: consider cytokine storm syndromes and immunosuppression. *The Lancet*, 395(10229), 1033–1034. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(20\)30628-0](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(20)30628-0)
- Menardi, G., & Torelli, N. (2014). Training and assessing classification rules with imbalanced data. *Data Mining and Knowledge Discovery*, 28(1), 92–122. <https://doi.org/10.1007/s10618-012-0295-5>
- Meng, B., Kemp, S. A., Papa, G., Datir, R., Ferreira, I. A. T. M., Marelli, S., Harvey, W. T., Lytras, S., Mohamed, A., Gallo, G., Thakur, N., Collier, D. A., Mlcochova, P., Duncan, L. M., Carabelli, A. M., Kenyon, J. C., Lever, A. M., De Marco, A., Saliba, C., ... Wright, S. (2021). Recurrent emergence of SARS-CoV-2 spike deletion H69/V70 and its role in the Alpha variant B.1.1.7. *Cell Reports*, 35(13), 109292. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2021.109292>
- Merino, P., Guinea, J., Muñoz-Gallego, I., González-Donapetry, P., Galán, J. C., Antona, N., Cilla, G., Hernández-Crespo, S., Díaz-de Tuesta, J. L., Gual-de Torrella, A., González-Romo, F., Escribano, P., Sánchez-Castellano, M. Á., Sota-Busselo, M., Delgado-Iribarren, A., García, J., Cantón, R., Muñoz, P., Folgueira, M. D., ... Montes, M. (2021). Multicenter evaluation of the Panbio™ COVID-19 rapid antigen-detection test for the diagnosis of SARS-CoV-2 infection. *Clinical Microbiology and Infection*, 27(5), 758–761. <https://doi.org/10.1016/j.cmi.2021.02.001>
- Mizumoto, K., Kagaya, K., Zarebski, A., & Chowell, G. (2020). Estimating the asymptomatic proportion of coronavirus disease 2019 (COVID-19) cases on board the Diamond Princess cruise ship, Yokohama, Japan, 2020. *Euro Surveillance : Bulletin Europeen Sur Les Maladies Transmissibles = European Communicable Disease Bulletin*, 25(10). <https://doi.org/10.2807/1560-7917.ES.2020.25.10.2000180>
- Mohsin, M., & Mahmud, S. (2022). Omicron SARS-CoV-2 variant of concern: A review on its transmissibility, immune evasion, reinfection, and severity. *Medicine*, 101(19), e29165. <https://doi.org/10.1097/MD.00000000000029165>
- Motozono, C., Toyoda, M., Zahradnik, J., Saito, A., Nasser, H., Tan, T. S., Ngare, I., Kimura, I., Uriu, K., Kosugi, Y., Yue, Y., Shimizu, R., Ito, J., Torii, S., Yonekawa, A., Shimono, N., Nagasaki, Y., Minami, R., Toya, T., ... Sato, K. (2021). SARS-CoV-2 spike L452R variant evades cellular immunity and increases infectivity. *Cell Host & Microbe*, 29(7), 1124-1136.e11. <https://doi.org/10.1016/j.chom.2021.06.006>
- Moulahoum, H., Ghorbanizamani, F., Zihnioglu, F., Turhan, K., & Timur, S. (2021). How should diagnostic kits development adapt quickly in COVID 19-like pandemic models? Pros and cons of sensory platforms used in COVID-19 sensing. *Talanta*, 222, 121534. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2020.121534>
- Nagy, É., Golopencza, P., Barcs, I., & Ludwig, E. (2023). Comparison of COVID-19 Severity and Mortality Rates in the First Four Epidemic Waves in Hungary in a Single-Center Study with Special Regard to Critically Ill Patients in an Intensive Care Unit. *Tropical Medicine and Infectious Disease*, 8(3), 153. <https://doi.org/10.3390/tropicalmed8030153>

- Najafi-Vosough, R., Bakhshaei, M. H., & Farzian, M. (2023). Predicting Mortality and ICUs Transfer in Hospitalized COVID-19 Patients Using Random Forest Model. *Archives of Anesthesia and Critical Care*. <https://doi.org/10.18502/aacc.v9i6.14444>
- Nakagawa, S., & Miyazawa, T. (2020). Genome evolution of SARS-CoV-2 and its virological characteristics. *Inflammation and Regeneration*, 40(1), 17. <https://doi.org/10.1186/s41232-020-00126-7>
- Nemec, H. M., Ferenczy, A., Christie, B. D., Ashley, D. W., & Montgomery, A. (2022). Correlation of D-dimer and Outcomes in COVID-19 Patients. *The American Surgeon*, 88(9), 2115–2118. <https://doi.org/10.1177/00031348221091940>
- Neuman, B. W., Kiss, G., Kunding, A. H., Bhella, D., Baksh, M. F., Connelly, S., Droese, B., Klaus, J. P., Makino, S., Sawicki, S. G., Siddell, S. G., Stamou, D. G., Wilson, I. A., Kuhn, P., & Buchmeier, M. J. (2011). A structural analysis of M protein in coronavirus assembly and morphology. *Journal of Structural Biology*, 174(1), 11–22. <https://doi.org/10.1016/j.jsb.2010.11.021>
- Nishiura, H., Kobayashi, T., Miyama, T., Suzuki, A., Jung, S.-M., Hayashi, K., Kinoshita, R., Yang, Y., Yuan, B., Akhmetzhanov, A. R., & Linton, N. M. (2020). Estimation of the asymptomatic ratio of novel coronavirus infections (COVID-19). *International Journal of Infectious Diseases : IJID : Official Publication of the International Society for Infectious Diseases*, 94, 154–155. <https://doi.org/10.1016/j.ijid.2020.03.020>
- Ovcharenko, E., Kutikhin, A., Gruzdeva, O., Kuzmina, A., Slesareva, T., Brusina, E., Kudashva, S., Bondarenko, T., Kuzmenko, S., Osyayev, N., Ivannikova, N., Vavin, G., Moses, V., Danilov, V., Komosky, E., & Klyshnikov, K. (2023). Cardiovascular and Renal Comorbidities Included into Neural Networks Predict the Outcome in COVID-19 Patients Admitted to an Intensive Care Unit: Three-Center, Cross-Validation, Age- and Sex-Matched Study. *Journal of Cardiovascular Development and Disease*, 10(2). <https://doi.org/10.3390/jcdd10020039>
- Pan, F., Ye, T., Sun, P., Gui, S., Liang, B., Li, L., Zheng, D., Wang, J., Hesketh, R. L., Yang, L., & Zheng, C. (2020). Time Course of Lung Changes at Chest CT during Recovery from Coronavirus Disease 2019 (COVID-19). *Radiology*, 295(3), 715–721. <https://doi.org/10.1148/radiol.2020200370>
- Park, M., Cook, A. R., Lim, J. T., Sun, Y., & Dickens, B. L. (2020). A Systematic Review of COVID-19 Epidemiology Based on Current Evidence. *Journal of Clinical Medicine*, 9(4). <https://doi.org/10.3390/jcm9040967>
- Platten, M., Hoffmann, D., Grosser, R., Wisplinghoff, F., Wisplinghoff, H., Wiesmüller, G., Schildgen, O., & Schildgen, V. (2021). SARS-CoV-2, CT-Values, and Infectivity—Conclusions to Be Drawn from Side Observations. *Viruses*, 13(8), 1459. <https://doi.org/10.3390/v13081459>
- Poudel, A., Poudel, Y., Adhikari, A., Aryal, B. B., Dangol, D., Bajracharya, T., Maharjan, A., & Gautam, R. (2021). D-dimer as a biomarker for assessment of COVID-19 prognosis: D-dimer levels on admission and its role in predicting disease outcome in hospitalized patients with COVID-19. *PLOS ONE*, 16(8), e0256744. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0256744>

- Qiu, X., Nergiz, A. I., Maraolo, A. E., Bogoch, I. I., Low, N., & Cevik, M. (2021). The role of asymptomatic and pre-symptomatic infection in SARS-CoV-2 transmission-a living systematic review. *Clinical Microbiology and Infection : The Official Publication of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*, 27(4), 511–519. <https://doi.org/10.1016/j.cmi.2021.01.011>
- Ritchie, H., Mathieu, E., Rodés-Guirao, L., Appel, C., Charlie, G., & Ortiz-Ospina, E. (2021). *Our World in Data*.
- Sakagianni, A., Koufopoulou, C., Verykios, V., Loupelis, E., Kalles, D., & Feretzakis, G. (2023). Prediction of COVID-19 Mortality in the Intensive Care Unit Using Machine Learning. <https://doi.org/10.3233/SHTI230200>
- Sanjuán, R., Nebot, M. R., Chirico, N., Mansky, L. M., & Belshaw, R. (2010). Viral Mutation Rates. *Journal of Virology*, 84(19), 9733–9748. <https://doi.org/10.1128/JVI.00694-10>
- Sartini, S., Massobrio, L., Cutuli, O., Campodonico, P., Bernini, C., Sartini, M., Cristina, M. L., Castellani, L., Ceschi, L., Spadaro, M., Gratarola, A., & Barbera, P. (2021). Role of SatO₂, PaO₂/FiO₂ Ratio and PaO₂ to Predict Adverse Outcome in COVID-19: A Retrospective, Cohort Study. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 18(21), 11534. <https://doi.org/10.3390/ijerph182111534>
- Schrader, C., Schielke, A., Ellerbroek, L., & Johne, R. (2012). PCR inhibitors - occurrence, properties and removal. *Journal of Applied Microbiology*, 113(5), 1014–1026. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2012.05384.x>
- Shakaroun, D. A., Lazar, M. H., Horowitz, J. C., & Jennings, J. H. (2023). Serum Ferritin as a Predictor of Outcomes in Hospitalized Patients with Covid-19 Pneumonia. *Journal of Intensive Care Medicine*, 38(1), 21–26. <https://doi.org/10.1177/08850666221113252>
- Shaw, A. C., Goldstein, D. R., & Montgomery, R. R. (2013). Age-dependent dysregulation of innate immunity. *Nature Reviews Immunology*, 13(12), 875–887. <https://doi.org/10.1038/nri3547>
- Shen, Q. (2023). Research of mortality risk prediction based on hospital admission data for COVID-19 patients. *Mathematical Biosciences and Engineering : MBE*, 20(3), 5333–5351. <https://doi.org/10.3934/mbe.2023247>
- Shi, Y., Qin, Y., Zheng, Z., Wang, P., & Liu, J. (2023). Risk Factor Analysis and Multiple Predictive Machine Learning Models for Mortality in COVID-19: A Multicenter and Multi-Ethnic Cohort Study. *The Journal of Emergency Medicine*, 65(6), e584–e593. <https://doi.org/10.1016/j.jemermed.2023.06.012>
- Simon-Loriere, E., & Holmes, E. C. (2011). Why do RNA viruses recombine? *Nature Reviews Microbiology*, 9(8), 617–626. <https://doi.org/10.1038/nrmicro2614>
- Su, S., Wong, G., Shi, W., Liu, J., Lai, A. C. K., Zhou, J., Liu, W., Bi, Y., & Gao, G. F. (2016). Epidemiology, Genetic Recombination, and Pathogenesis of Coronaviruses. *Trends in Microbiology*, 24(6), 490–502. <https://doi.org/10.1016/j.tim.2016.03.003>
- Suzuki, K., Ichikawa, T., Suzuki, S., Tanino, Y., & Kakinoki, Y. (2022). Clinical characteristics of the severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 omicron variant

compared with the delta variant: a retrospective case-control study of 318 outpatients from a single sight institute in Japan. *PeerJ*, *10*, e13762.
<https://doi.org/10.7717/peerj.13762>

- Treggiari, D., Piubelli, C., Caldrea, S., Mistretta, M., Ragusa, A., Orza, P., Pajola, B., Piccoli, D., Conti, A., Lorenzi, C., Serafini, V., Boni, M., & Perandin, F. (2022). SARS-CoV-2 rapid antigen test in comparison to RT-PCR targeting different genes: A real-life evaluation among unselected patients in a regional hospital of Italy. *Journal of Medical Virology*, *94*(3), 1190–1195. <https://doi.org/10.1002/jmv.27378>
- Trofin, F., Nastase, E. V., Roșu, M. F., Bădescu, A. C., Buzilă, E. R., Miftode, E. G., Manciu, D. C., & Dorneanu, O. S. (2023). Inflammatory Response in COVID-19 Depending on the Severity of the Disease and the Vaccination Status. *International Journal of Molecular Sciences*, *24*(10). <https://doi.org/10.3390/ijms24108550>
- van Ogtrop, M. L., van de Laar, T. J. W., Eggink, D., Vanhommerig, J. W., & van der Reijden, W. A. (2021). Comparison of the Performance of the PanBio COVID-19 Antigen Test in SARS-CoV-2 B.1.1.7 (Alpha) Variants versus non-B.1.1.7 Variants. *Microbiology Spectrum*, *9*(3), e0088421. <https://doi.org/10.1128/Spectrum.00884-21>
- van Oostrom, S. H., Gijzen, R., Stirbu, I., Korevaar, J. C., Schellevis, F. G., Picavet, H. S. J., & Hoeymans, N. (2016). Time Trends in Prevalence of Chronic Diseases and Multimorbidity Not Only due to Aging: Data from General Practices and Health Surveys. *PLOS ONE*, *11*(8), e0160264. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0160264>
- Vardavas, C. I., Mathioudakis, A. G., Nikitara, K., Stamatielopoulos, K., Georgiopoulos, G., Phalkey, R., Leonardi-Bee, J., Fernandez, E., Carnicer-Pont, D., Vestbo, J., Semenza, J. C., Deogan, C., Suk, J. E., Kramarz, P., Lamb, F., & Penttinen, P. (2022). Prognostic factors for mortality, intensive care unit and hospital admission due to SARS-CoV-2: a systematic review and meta-analysis of cohort studies in Europe. *European Respiratory Review : An Official Journal of the European Respiratory Society*, *31*(166). <https://doi.org/10.1183/16000617.0098-2022>
- Venekamp, R. P., Veldhuijzen, I. K., Moons, K. G. M., van den Bijllaardt, W., Pas, S. D., Lodder, E. B., Molenkamp, R., Igloi, Z., Wijers, C., dos Santos, C. O., Debast, S. B., Bruins, M. J., Polad, K., Nagel-Imming, C. R. S., Han, W. G. H., van de Wijgert, J. H. H. M., van den Hof, S., & Schuit, E. (2022). Detection of SARS-CoV-2 infection in the general population by three prevailing rapid antigen tests: cross-sectional diagnostic accuracy study. *BMC Medicine*, *20*(1), 97. <https://doi.org/10.1186/s12916-022-02300-9>
- Vengesai, A., Midzi, H., Kasambala, M., Mutandadzi, H., Mduluza-Jokonya, T. L., Rusakaniko, S., Mutapi, F., Naicker, T., & Mduluza, T. (2021). A systematic and meta-analysis review on the diagnostic accuracy of antibodies in the serological diagnosis of COVID-19. *Systematic Reviews*, *10*(1), 155. <https://doi.org/10.1186/s13643-021-01689-3>
- Videman, D., Kotov, A., Popov, M., & Abdildin, Y. (2024). Machine and deep learning methods for clinical outcome prediction based on physiological data of COVID-19 patients: a scoping review. *International Journal of Medical Informatics*, *182*, 105308. <https://doi.org/10.1016/j.ijmedinf.2023.105308>

- Viver, T., López-Causapé, C., Ribot-Fraile, P., Pérez-Mazón, C., López-Solé, D., Jiménez-Guerra, G., Taltavull, B., & López-López, A. (2023). The molecular epidemiology of SARS-CoV-2 in the Pityusic Islands shows multiple introductions and fast replacements of variants in a touristic worldwide hot spot. *Scientific Reports*, *13*(1), 18053. <https://doi.org/10.1038/s41598-023-44668-5>
- Wagenhäuser, I., Knies, K., Rauschenberger, V., Eisenmann, M., McDonogh, M., Petri, N., Andres, O., Flemming, S., Gawlik, M., Papsdorf, M., Taurines, R., Böhm, H., Forster, J., Weismann, D., Weißbrich, B., Dölken, L., Liese, J., Kurzai, O., Vogel, U., & Krone, M. (2021). Clinical performance evaluation of SARS-CoV-2 rapid antigen testing in point of care usage in comparison to RT-qPCR. *EBioMedicine*, *69*, 103455. <https://doi.org/10.1016/j.ebiom.2021.103455>
- Waller, J. V., Kaur, P., Tucker, A., Lin, K. K., Diaz, M. J., Henry, T. S., & Hope, M. (2020). Diagnostic Tools for Coronavirus Disease (COVID-19): Comparing CT and RT-PCR Viral Nucleic Acid Testing. *American Journal of Roentgenology*, *215*(4), 834–838. <https://doi.org/10.2214/AJR.20.23418>
- Walls, A. C., Park, Y.-J., Tortorici, M. A., Wall, A., McGuire, A. T., & Veerler, D. (2020). Structure, Function, and Antigenicity of the SARS-CoV-2 Spike Glycoprotein. *Cell*, *181*(2), 281–292.e6. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2020.02.058>
- Wang, J., Choy, K. W., Lim, H. Y., & Ho, P. (2023). Laboratory markers of severity across three COVID-19 outbreaks in Australia: has Omicron and vaccinations changed disease presentation? *Internal and Emergency Medicine*, *18*(1), 43–52. <https://doi.org/10.1007/s11739-022-03081-y>
- Wang, R., Zhang, Q., Ge, J., Ren, W., Zhang, R., Lan, J., Ju, B., Su, B., Yu, F., Chen, P., Liao, H., Feng, Y., Li, X., Shi, X., Zhang, Z., Zhang, F., Ding, Q., Zhang, T., Wang, X., & Zhang, L. (2021). Analysis of SARS-CoV-2 variant mutations reveals neutralization escape mechanisms and the ability to use ACE2 receptors from additional species. *Immunity*, *54*(7), 1611–1621.e5. <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2021.06.003>
- Wertenauer, C., Brenner Michael, G., Dressel, A., Pfeifer, C., Hauser, U., Wieland, E., Mayer, C., Mutschmann, C., Roskos, M., Wertenauer, H.-J., Moissl, A. P., Lorkowski, S., & März, W. (2022). Diagnostic Performance of Rapid Antigen Testing for SARS-CoV-2: The COVid-19 AntiGen (COVAG) study. *Frontiers in Medicine*, *9*. <https://doi.org/10.3389/fmed.2022.774550>
- Willett, B. J., Grove, J., MacLean, O. A., Wilkie, C., De Lorenzo, G., Furnon, W., Cantoni, D., Scott, S., Logan, N., Ashraf, S., Manali, M., Szemiel, A., Cowton, V., Vink, E., Harvey, W. T., Davis, C., Asamaphan, P., Smollett, K., Tong, L., ... Thomson, E. C. (2022). SARS-CoV-2 Omicron is an immune escape variant with an altered cell entry pathway. *Nature Microbiology*, *7*(8), 1161–1179. <https://doi.org/10.1038/s41564-022-01143-7>
- Williamson, E. J., Walker, A. J., Bhaskaran, K., Bacon, S., Bates, C., Morton, C. E., Curtis, H. J., Mehrkar, A., Evans, D., Inglesby, P., Cockburn, J., McDonald, H. I., MacKenna, B., Tomlinson, L., Douglas, I. J., Rentsch, C. T., Mathur, R., Wong, A. Y. S., Grieve, R., ... Goldacre, B. (2020). Factors associated with COVID-19-related death using OpenSAFELY. *Nature*, *584*(7821), 430–436. <https://doi.org/10.1038/s41586-020-2521-4>

- Wu, C., Chen, X., Cai, Y., Xia, J., Zhou, X., Xu, S., Huang, H., Zhang, L., Zhou, X., Du, C., Zhang, Y., Song, J., Wang, S., Chao, Y., Yang, Z., Xu, J., Zhou, X., Chen, D., Xiong, W., ... Song, Y. (2020). Risk Factors Associated With Acute Respiratory Distress Syndrome and Death in Patients With Coronavirus Disease 2019 Pneumonia in Wuhan, China. *JAMA Internal Medicine*, *180*(7), 934. <https://doi.org/10.1001/jamainternmed.2020.0994>
- Yan, R., Zhang, Y., Li, Y., Ye, F., Guo, Y., Xia, L., Zhong, X., Chi, X., & Zhou, Q. (2021). Structural basis for the different states of the spike protein of SARS-CoV-2 in complex with ACE2. *Cell Research*, *31*(6), 717–719. <https://doi.org/10.1038/s41422-021-00490-0>
- Zhan, C., Zheng, Y., Zhang, H., & Wen, Q. (2021). Random-Forest-Bagging Broad Learning System With Applications for COVID-19 Pandemic. *IEEE Internet of Things Journal*, *8*(21), 15906–15918. <https://doi.org/10.1109/JIOT.2021.3066575>
- Zhan, H., Chen, H., Liu, C., Cheng, L., Yan, S., Li, H., & Li, Y. (2021). Diagnostic Value of D-Dimer in COVID-19: A Meta-Analysis and Meta-Regression. *Clinical and Applied Thrombosis/Hemostasis*, *27*, 107602962110109. <https://doi.org/10.1177/10760296211010976>
- Zhang, Q., Xiang, R., Huo, S., Zhou, Y., Jiang, S., Wang, Q., & Yu, F. (2021). Molecular mechanism of interaction between SARS-CoV-2 and host cells and interventional therapy. *Signal Transduction and Targeted Therapy*, *6*(1), 233. <https://doi.org/10.1038/s41392-021-00653-w>
- Zhao, Y., Zhang, R., Zhong, Y., Wang, J., Weng, Z., Luo, H., & Chen, C. (2022). Statistical Analysis and Machine Learning Prediction of Disease Outcomes for COVID-19 and Pneumonia Patients. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, *12*. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2022.838749>
- Zhou, F., Yu, T., Du, R., Fan, G., Liu, Y., Liu, Z., Xiang, J., Wang, Y., Song, B., Gu, X., Guan, L., Wei, Y., Li, H., Wu, X., Xu, J., Tu, S., Zhang, Y., Chen, H., & Cao, B. (2020). Clinical course and risk factors for mortality of adult inpatients with COVID-19 in Wuhan, China: a retrospective cohort study. *The Lancet*, *395*(10229), 1054–1062. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(20\)30566-3](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(20)30566-3)
- Zhou, P., Yang, X.-L., Wang, X.-G., Hu, B., Zhang, L., Zhang, W., Si, H.-R., Zhu, Y., Li, B., Huang, C.-L., Chen, H.-D., Chen, J., Luo, Y., Guo, H., Jiang, R.-D., Liu, M.-Q., Chen, Y., Shen, X.-R., Wang, X., ... Shi, Z.-L. (2020). A pneumonia outbreak associated with a new coronavirus of probable bat origin. *Nature*, *579*(7798), 270–273. <https://doi.org/10.1038/s41586-020-2012-7>

9. Köszönetnyilvánítás

Szeretném megragadni az alkalmat, hogy köszönetemet kifejezzem mindazoknak, akik hozzájárultak az értekezés létrejöttéhez, illetve az elmúlt évek során támogattak. Mindenekelőtt hálás köszönet **dr. Gombos Katalin** témavezetőmnek a belém vetett bizalomért, folyamatos támogatásáért. Kiemelkedő szakmai iránymutatása és emberi segítsége, hozzáállása pályafutásom végéig példát fog mutatni, sok lehetőségem volt tanulni tőle és mellette. Nagy köszönettel tartozom **Váradi Alex**nek, az ő biostatistikusi, informatikus háttér munkája nélkül nem jöhetett volna létre egy tudományos közleményünk, illetve ez a disszertáció sem. Hálával tartozom **dr. Filipánits Kristóf** barátomnak és PhD-hallgatótársamnak, akivel hatodéves orvostanhallgató korunk óta rendkívül sokat dolgoztunk együtt közösen, és a PhD tanulmányaim alatt is számos jó ötlettel, tanáccsal látott el. Szeretném megköszönni **Wágner Róbert** (PCSUNIQ Kft.) gyermekkori barátomnak a közös munkát, nélküle nem jöhetett volna létre a dél-dunántúli interaktív térkép. Köszönettel tartozom a Laboratóriumi Medicina Intézet analitikusainak és PhD hallgatótársaimnak a segítségükért, támogatásukért. Köszönet illeti a PTE KK Orvosi Mikrobiológiai és Immunitástani Intézet SARS-CoV-2 diagnosztikában részt vevő munkatársait is. A Szentágothai Kutatóközpont Molekuláris Medicina Munkacsoportjából szeretném megköszönni **Daryan Jamal Mohammed** kollégámnak a sok munkát, segítséget, eszmecserét, amit nyújtott az intenzív osztályos kutatásunk kapcsán. Köszönet illeti **dr. Jáksó Krisztiánt** az intenzív osztályos szakmai segítségért, valamint az SZKK Genomika és Bioinformatika Core Facilityből és a Debreceni Egyetemről bekapcsolódó munkatársakat is a kollaborációért. Végezetül pedig szeretném megköszönni a családomnak és a közeli barátaimnak, akik mindvégig mellettem álltak, nélkülük nem jutottam volna idáig.

10. Függelék

Az értekezés alapjául szolgáló saját tudományos közlemények

1. Hamar Á, Filipánits K, Váradi A, Váradi-Rácz R, Gellén HO, Futács K, Urbán P, Kovacs GL and Gombos K (2022) Diagnostic accuracy of SARS-CoV-2 Panbio™ rapid antigen diagnostic tests in a 4,440-case clinical follow-up. *Front. Med.* 9:908127. doi: 10.3389/fmed.2022.908127
<https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fmed.2022.908127/full>

Frontiers in Medicine – Q1, IF: 3.9, független idézések száma: 6

2. Hamar, Á., Mohammed, D., Váradi, A., Herczeg, R., Balázsfalvi, N., Fülesdi, B., László, I., Gömöri, L., Gergely, P. A., Kovacs, G. L., Jáksó, K., & Gombos, K. (2024). COVID-19 mortality prediction in Hungarian ICU settings implementing random forest algorithm. *Scientific Reports*, 14(1). <https://doi.org/10.1038/s41598-024-62791-9>

Nature Scientific Reports – D1, Q1, IF: 3.8, független idézések száma: 2

Összesített Impakt Faktor érték: 7.7

Összesített Q érték: Q1: 100%, D1: 50%

Összesített független idézések száma: 8

Az értekezés alapjául szolgáló kongresszusi összefoglalók

1. Hamar Á., Filipánits K., Glavaticy A., Wágner R., Gombos K. Covid-19 pandemic in the Southern Transdanubia region depicted using a dynamic interactive map. X. Jubileumi Interdiszciplináris Doktorandusz Konferencia; Pécs, 2021.11.12-13. (előadás)
2. Hamar Á., Herczeg R., Wágner R., Filipánits K., Gombos K. SARS-CoV-2 PCR diagnostics and subsequent epidemiologic analysis implementing a dynamic interactive map depicting the southern Transdanubia region in Hungary. 32nd European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases, Lisszabon, Portugália, 2022.04.23-26. (poszter)
3. Hamar Á., Váradi A., Wágner R., Filipánits K., Gombos K. SARS-CoV-2 PCR diagnosztika és epidemiológiai analízis a dél-dunántúli régióban egy dinamikus, interaktív térkép segítségével. MOLSZE XVII. Nagygyűlése, Budapest, 2022.08.26-27. (előadás)
4. Hamar Á., Váradi A., Wágner R., Filipánits K., Gombos K. SARS-CoV-2 PCR diagnosztika és epidemiológiai analízis a dél-dunántúli régióban egy dinamikus, interaktív térkép segítségével. I. Romhányi György Szakkollégium Konferencia, Pécs, 2022.11.04-06. (előadás)
5. Hamar Á., Váradi A., Wágner R., Gombos K. SARS-CoV-2 PCR diagnostics and epidemiologic study depicted on a regional dynamic map. 19th International Medical Ph.D. Conference, Hradec Kralove, Csehország, 2022.11.23-25. (előadás)
6. Hamar Á., Mohammed D., Váradi A., Herczeg R., Jáksó K., Balázsfalvi N., Gombos K. COVID-19 letalitás predikció az intenzív osztályon: Random Forest algoritmus alkalmazása klinikai és laboratóriumi paraméterekkel. II. Romhányi György Szakkollégium Konferencia, Pécs, 2024.03.01-03. (előadás)



OPEN ACCESS

EDITED BY

Rebecca De Lorenzo,
Vita-Salute San Raffaele
University, Italy

REVIEWED BY

Mohammad Alghounaim,
Amiri Hospital, Kuwait
Kenji Sadamasu,
Tokyo Metropolitan Institute of Public
Health, Japan
Mark Poritz,
Idaho Molecular Inc., United States

*CORRESPONDENCE

Katalin Gombos
gombos.katalin@pte.hu

SPECIALTY SECTION

This article was submitted to
Infectious Diseases-Surveillance,
Prevention and Treatment,
a section of the journal
Frontiers in Medicine

RECEIVED 30 March 2022

ACCEPTED 18 July 2022

PUBLISHED 02 August 2022

CITATION

Hamar Á, Filipánits K, Váradi A,
Váradi-Rácz R, Gellén HO, Futács K,
Urbán P, Kovacs GL and Gombos K
(2022) Diagnostic accuracy of
SARS-CoV-2 Panbio™ rapid antigen
diagnostic tests in a 4,440-case clinical
follow-up. *Front. Med.* 9:908127.
doi: 10.3389/fmed.2022.908127

COPYRIGHT

© 2022 Hamar, Filipánits, Váradi,
Váradi-Rácz, Gellén, Futács, Urbán,
Kovacs and Gombos. This is an
open-access article distributed under
the terms of the [Creative Commons
Attribution License \(CC BY\)](https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/). The use,
distribution or reproduction in other
forums is permitted, provided the
original author(s) and the copyright
owner(s) are credited and that the
original publication in this journal is
cited, in accordance with accepted
academic practice. No use, distribution
or reproduction is permitted which
does not comply with these terms.

Diagnostic accuracy of SARS-CoV-2 Panbio™ rapid antigen diagnostic tests in a 4,440-case clinical follow-up

Ágoston Hamar¹, Kristóf Filipánits¹, Alex Váradi²,
Rita Váradi-Rácz¹, Henrietta Orsolya Gellén¹,
Krisztina Futács¹, Péter Urbán³, Gabor L. Kovacs^{1,4} and
Katalin Gombos^{1*}

¹Department of Laboratory Medicine, Medical School, University of Pécs, Pécs, Hungary, ²Institute for Translational Medicine, Medical School, University of Pécs, Pécs, Hungary, ³Genomics and Bioinformatics Core Facility, János Szentágothai Research Centre, University of Pécs, Pécs, Hungary, ⁴Molecular Biology Cluster, János Szentágothai Research Centre, University of Pécs, Pécs, Hungary

Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus-2 (SARS-CoV-2) Rapid Antigen Detection Testing (RADT) has been subjected to several evaluations in reference to diagnostic accuracy, ranging from small scale up to large population studies including nation-wide community-based studies. All confirmed the diagnostic accuracy of the tests which were strongly dependent upon the infection's population prevalence. In our retrospective study, parallel SARS-CoV-2 Panbio™ RADT assay, including real-time reverse transcription quantitative polymerase chain reaction (RT-qPCR) tests, were aimed to evaluate diagnostic performance regarding the rapid antigen diagnostic testing. Out of 4,440 paired tests, 609 samples tested positive using RT-qPCR, resulting in a prevalence of 13.7%. Panbio detected 251 (5.7%) positive tested samples. Overall sensitivity was 41.2% (95% CI 37.4–45.2%) and overall specificity was 99.7% (95% CI 99.4–99.8%). Positive predictive value (PPV) was 95.1% (95% CI 91.8–97.1%) and the negative predictive value (NPV) was 91.4% (95% CI 90.5–92.2%). RADT sensitivity increased with stratification in reference to the results according to PCR Cycle threshold (Ct) and presence of the symptoms considerably influenced PPV and NPV. Sensitivity in the group of Ct values ≤ 20 was 91.2%, 68.6% within the Ct range of 20–25, 47.9% in the group of Ct values between 25 and 30, and 12.6% in the group of Ct values between 30 and 35. A follow-up of the positive cases aligned with RT-qPCR testing and comparison of the general population enrolled in the testing in which the fatal cases occurred enabled us to estimate real clinical diagnostic performance regarding the SARS-CoV-2 Panbio RADT. Based upon our results, we recommend the SARS-CoV-2 Panbio RADT tests be carried out as the primary test, without parallel PCR testing, only among high population prevalence rates of the infection and to be used for symptomatic individuals with average or low severe disease developmental risk. In the case of high risk regarding the development of severe infection complications, a parallel SARS-CoV-2 RT-qPCR is needed to be carried out to attain proper diagnostic accuracy and avoid delaying appropriate medical care.

KEYWORDS

COVID-19, SARS-CoV-2, rapid antigen testing, Panbio, RT-qPCR, diagnostic accuracy

Introduction

440.8 million cases of confirmed severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2) infections and 5.6 million deaths from the coronavirus disease 2019 (COVID-19) have been, thus far, reported worldwide to the World Health Organization (WHO) (1). Public health and clinical measures used to control the pandemic and reduce disease burden require rapid tools for identification of the pathogen. Today, there are more than 400 different antigen-based immunoassay tests commercially available to detect SARS-CoV-2 on the market (2). The test is also widely available for clinical and community use throughout European countries, including Hungary. As the virus acquires increasing transmissibility in the various epidemic waves caused by the evolutionary selection of higher receptor specific and immune system escaping SARS-CoV-2 viral lineages, higher proportions of infected population enter the health care system (3, 4). Although RT-qPCR is the gold-standard technique considered to be the ultimate reference laboratory method to diagnose the presence of SARS-CoV-2, rapid antigen detection testing (RADT) is gaining traction since its rapid turnaround, cost effectiveness, utility at point-of care and reduced reliance on laboratory infrastructure (5). Several studies have shown a wide range of sensitivities associated with SARS-CoV-2 RADTs which is very dependent upon the viral load. Sensitivity can range from 95%, when a high concentration of viral capsid antigens are present in the sample, to 10–30% when the viral load is low (6, 7). In most clinical cases, SARS-CoV-2 RADT results needed to be confirmed by qPCR. Additionally, confirmatory PCR testing is recommended in the guidelines of several public health organizations (8–10). In health care systems, the goal of the test strategy is maximization of case detection while minimization of the unnecessary repetitive testing causing low productivity is of primary importance. In our retrospective study, we aimed to compare the SARS-CoV-2 Panbio RAD test performance with SARS-CoV-2 RT-qPCR to define the diagnostic accuracy of rapid testing in a clinical follow-up.

Materials and methods

Study details

Our retrospective study analyzed data gathered in the time spanning from 21 January 2021 through 30 April 2021. A total number of 5,136 parallel Panbio RADT and RT-qPCR samples were included from all departments of the Clinical Center, University of Pécs, Hungary. During the study protocol, all patients tested with Panbio RADT were tested in parallel by for SARS-CoV-2 RT-qPCR. Inclusion criteria were the presence of a SARS-CoV-2 RAD Panbio test result combined with an RT-qPCR test result, both performed within 24 h. Presence of

symptoms were documented at the time of the parallel testing. Patients who were identified as positive cases with SARS-CoV-2 RT-qPCR were followed up by repeated PCR testing until their first negative PCR test.

Panbio RAD tests were performed and evaluated by trained health care professionals. The diagnostic PCR tests were carried out in the Department of Laboratory Medicine in full accordance to a protocol accredited by the National Accreditation Authority (NAH-9/0008/2021, L7/6 MLMB 06 2020.4-1).

Sample collection

Two nasopharyngeal swabs were taken from patients by trained nurses and/or medical doctors in the specialized units of the Pécs University Clinical Center. The Panbio RAD test was performed immediately after obtaining the first nasopharyngeal swab in full compliance to the manufacturer's instructions. The second nasopharyngeal swab was washed into the sample collection tube containing virus transport medium (CE certified, Biolabs Ltd., Hungary). Swabs were broken at the groove and the remaining portion of the swabs were removed and safely discarded. Sample collection tubes were individually wrapped in sterile double-walled plastic bags and transferred to the laboratory at 4° C for nucleic acid extraction. Patients and Guardians accompanying underage patients were also tested. Healthcare employees were tested after having been in close contact to a confirmed SARS-CoV-2 positive individual, or if they exhibited respiratory symptoms. Individuals were considered symptomatic according to COVID-19 case definition of the ECDC (e.g., loss of smell or taste, sore throat, fever, dry cough, myalgia, etc.) (11, 12).

Nucleic acid extraction and reverse-transcription quantitative real time PCR (RT-qPCR)

Nucleic acid was extracted from 200 µl specimen, whether manually or with the MagNaPure 96 automated nucleic acid extraction system (Roche, Mannheim, Germany). Automated extraction was optimized using the MagNA Pure 96 DNA and Viral NA SV Kit (Cat No. 654358800, Roche) in full accordance to the manufacturer's protocol. Additionally, during manual nucleic acid extraction, the HighPure RNA isolation kit (Cat No. 11858882001, Roche) was used in full compliance to the manufacturer's recommended protocol. Both automated and manual nucleic acid extraction procedures included LightMix Modular EAV RNA extraction control (Cat No. 61090996, TIB Molbiol) to verify extraction and reverse transcription. Five microliter of the extracted RNA was used for the rRT-qPCR analysis to detect the presence of SARS-CoV-2 RNA targeting

three regions of the positive-sense single stranded viral genome: conserved fragments of the sequences encoding the envelope protein (E-gene), nucleocapsid protein (N-gene) and RNA dependent RNA polymerase (RdRP- gene). LightMix Modular SARS-CoV (COVID19) E-gene (Cat No. 53077696), LightMix Modular SARS-CoV (COVID19) N-gene (Cat No. 53077596) and LightMix Modular SARS-CoV (COVID19) RdRP (Cat No. 53077796) were used combined with the LightMix Modular EAV RNA extraction control 610 for simultaneous PCR target and extraction control detection. PCR Master mixes were prepared containing 0.5 μ l of target specific primer and probe mix, 0.5 μ l extraction control target specific primer and probe mix, 4 μ l of Real Time ready Virus Master reaction buffer and 0.4 μ l Real Time ready Virus Master RT enzyme (Cat No. 05992877001, Roche), 10.4 μ l PCR grade water and 5 μ l of the RNA sample. In consideration regarding the negative controls, we prepared a master mix in which template RNA was substituted with PCR grade water. PCR amplification was carried out using Cobas Z 480 PCR systems with the following cycling conditions (reverse transcription 1 cycle: 55° C for 5 min; enzyme activation 1 cycle: 95° C for 5 min; amplification 45 cycles {95° C for 5 s, 60° C for 15 s, and 72° C for 15 s}), Results were analyzed, and fluorescence data were evaluated using Exor 4.0 software. Cycle threshold (Ct) values were calculated with Exor 4.0. The kit manufacturer's instruction and the FIND evaluation guideline advised to define the cut-off 1–2 cycles higher than observed Cp value for 10 copies. During the kit verification run, it measured 33.14 on average lowest 10/10 dilution, which resulted in our cut-off to be fixed at Ct 35.0. To control PCR efficiency and potential pipetting errors, standard curves were generated on quantitative real-time PCR based on the dilution series of the positive controls provided with the LightMix Modular E, N and RdRP kits, which we previously quantitatively analyzed using the droplet digital PCR system (BioRad QX200 ddPCR platform and BioRad ddPCR Expert Design Assay: 2019-nCoV CDC ddPCR Triplex Probe Assay). PCR efficiency was calculated based on the present standard dilutions in the run. PCR results were accepted on the plate in the case of standard dilutions performed $\leq 0.2 \log_{10}$ difference from the corresponding dilutions of the standard curves in case of each target gene (E, N, and RdRP). Plates containing low or high Ct outliers according to the in-run standard dilutions were repeated. In the following statistical analysis, we included the Ct results of the tested samples according to the SARS-CoV-2 E-gene.

Statistics and data management

The test results and demographic data were originally documented in the local hospital information system (e-MedSolution, T-Systems, Hungary). Our extracted data was registered using Excel 2015 (Microsoft, Redmond, WA, USA). The final database includes an anonymized ID from

TABLE 1 Sample percentages per department.

Emergency medicine	48.1%
Pediatrics	22.5%
Internal medicine (multiple wards)	10.1%
Obstetrics and gynecology	7.4%
Neurology and neurosurgery	3.7%
Other	8.3%

both name and insurance number. It also contains information referencing gender, age, time and place (department) of test, RAD and PCR test result, Ct value, presence of symptoms and number of days until a negative PCR test in the event of a previous positive PCR test and mortality.

All statistical calculations were performed in R Statistics version 4.0.3 (R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria). In regards to descriptive statistics, we reported frequencies and percentages for categorical variables, or mean with standard deviation (SD), median with interquartile range (IQR) and minimum and maximum values for continuous variables. In tables of descriptive statistic for each variable, an overall summary statistic of our sampled population is represented, and the statistics of the compared groups are shown in two separate columns and corresponding *p*-value for the applied statistical test is given. The *p*-values depicted in a row consistently refer to a comparison between the two columns highlighted in bold face. Negative PCR test results are shown as “not available” (NA) in the Ct value related tables. Chi-square test or Fisher's exact test have been used to investigate independence between two categorical variables. In the case of continuous variables, we used Wilcoxon rank sum test to assess the difference between medians of the two groups. Confidence interval calculations were executed using the Wilson/Brown method (13). A *p*-value < 0.05 was defined as a two-tailed level of significance.

Ethical issues

In this study, data were collected retrospectively and analyzed compliant to all ethical requirements. Ethical approval was granted by the Regional Committee for the Research Ethics at the University of Pécs Clinical Center and assigned reference number 8668-PTE 2021.

Results

A total number of 5,136 samples tested parallel for SARS-CoV-2 Panbio RADT and SARS-CoV-2 RT-qPCR were collected from 4,440 individuals who were admitted in the clinical departments of the University of Pécs, Clinical Center (Table 1).

TABLE 2 Presence of symptoms.

Characteristic	N	Overall, N = 5,136	Symptomatic		p-value
			No, N = 3,887	Yes, N = 1,249	
Panbio result	5,136 (100.0%)				<0.001 ^a
Negative		4,857 (94.6%)	3,864 (99.4%)	993 (79.5%)	
Positive		279 (5.4%)	23 (0.6%)	256 (19.5%)	
PCR result	5,136 (100%)				<0.001 ^a
Negative		4,401 (85.7%)	3,661 (94.2%)	740 (59.3%)	
Positive		735 (14.3%)	226 (5.8%)	509 (40.7%)	
Cycle threshold	735 (14.3%)				
Mean (SD)		29.2 (5.7)	32.6 (3.6)	27.7 (5.9)	
Median (IQR)		30.6 (25.1, 35.0)	35.0 (31.1, 35.0)	28.2 (23.2, 32.9)	<0.001 ^b
Minimum; Maximum		11.0; 35.0	20.8; 35.0	11.0; 35.0	
NA		4,401	3,661	740	

^aPearson's Chi-squared test.

^bWilcoxon rank sum test.

Demographics and clinical symptoms correlated with test results

The tested individuals were between 0 and 101 years old (median age: 53 years, IQR 30–72 years). The female/male ratio was 57.2%/42.8%. The median Ct values were significantly lower in the symptomatic group when compared with the asymptomatic group (28.2 vs. 35.0, respectively $p < 0.001$). Table 2 represents the Panbio RADT and RT-qPCR test results and Ct values in asymptomatic and symptomatic individuals. There were 1,249 cases (24.3%) in the symptomatic group. Two hundred and fifty-six out of 279 (91.8%) positive Panbio tests were taken from symptomatic patients.

Analytic performance of the antigen testing

We calculated the analytic performance in reference to the overall number of paired SARS-CoV-2 Panbio RADT/RT-qPCR tests, which tallied some 5,136 tests (Table 3). Seven hundred and thirty-five samples tested positive by RT-qPCR. Panbio detected 279 (5.4%) positive tested samples. Two hundred and sixty-five samples (5.2%) were assessed as true positive, 14 were false positive (0.3%), 4,387 samples were true negative (85.4%), and 470 were false negative (9.2%). Overall sensitivity (Sn) was 36.1% (95% CI 32.7–39.6%), overall specificity (Sp) was 99.7% (95% CI 99.5–99.8%). PPV was 95.0% (95% CI 91.8–97.0%), and NPV was 90.3% (95% CI 89.5–91.1%).

To perform a stratified statistical analysis, 696 parallel samples were excluded to avoid distortion, which were repetitive

TABLE 3 Analytic performance of Panbio, all tests included.

	Panbio positive	Panbio negative	
PCR positive	265 (5.2%)	470 (9.2%)	Sn: 36.1% (95% CI 32.7–39.6%)
PCR negative	14 (0.3%)	4,387 (85.4%)	Sp: 99.7% (95% CI 99.5–99.8%)
	PPV: 95.0% (95% CI 91.8–97.0%)	NPV: 90.3% (95% CI 89.5–91.1%)	

tests of patients who were aligned to the follow-up of the SARS-CoV-2 RT-qPCR positive cases.

The results are displayed in Table 4. Out of 4,440 paired tests, 609 samples tested positive using RT-qPCR, resulting in a prevalence of 13.7%. Panbio™ detected 251 (5.7%) positive tested samples. In this calculation method, overall sensitivity was 41.2% (95% CI 37.4–45.2%), overall specificity was 99.7% (95% CI 99.4–99.8%). Positive predictive value (PPV) was 95.1% (95% CI 91.8–97.1%), negative predictive value (NPV) was 91.4% (95% CI 90.5–92.2%).

Table 5 depicts the sensitivity of Panbio RADT among the different Ct ranges. Sensitivity was 91.2%, in the group of Ct values ≤ 20 , 68.6% within the Ct range of 20–25, 47.9% in the group of Ct values between 25 and 30, and 12.6% in the group of Ct values between 30 and 35. The overall mean cycle threshold was 29.2. The median Ct value in Panbio positive individuals (24.5) was significantly lower ($p < 0.001$) compared to the Panbio negative individuals (33.2) (Figure 1 and Table 6). Testing accuracy in the case of symptomatic patients reached the

sensitivity of 48.7% (95% CI: 44.4–53.1%) with the specificity of 98.9% (95% CI: 97.9–99.5%). PPV was 96.9% (95% CI: 94–98.4%), NPV was 73.7% (95% CI: 70.9–76.4%).

Follow-up of SARS-CoV-2 infections

In the case of those individuals who tested positive on the SARS-CoV-2 RT-qPCR test and were followed up with continuous repeated PCR testing, we observed how many days passed until the first negative RT-qPCR result. We compared the time in days until the first negative RT-qPCR test in the follow-up of SARS-CoV-2 confirmed positive cases. The lowest number of tests per individual was two, and the highest was eleven. There was a significant difference in the median days until a negative PCR test between Panbio negative and positive groups (Table 7).

Comparison of the general tested population with fatal cases

We compiled demographic and clinical data from 80 individuals who succumbed due to complications related to SARS-CoV-2 and compared it with the generally tested population (Table 8). There was a remarkable difference in gender distribution of the tested cases among the general population who were SARS-CoV-2 suspected, in favor of females: 42.5 vs. 57.5% (male:female ratio). Despite the sex imbalance in the tested population, when comparing

the difference of the gender distribution in the general tested population and the population suffering from fatal disease outcome with Pearson’s Chi-squared statistics, the gender dominance significantly reflected males, 58.8 vs. 41.2% ($p = 0.004$). The median age difference was also significant ($p < 0.001$): 52 (IQR 30–71) in the general population vs. 78 (IQR 70–87) among the fatal cases.

Discussion

SARS-CoV-2 RADT performance

Since their first deployment, SARS-CoV-2 rapid antigen tests have undergone several diagnostic accuracy evaluations in a series of large population studies including a nation-wide community-based study (14). The Cochrane library reported an overall RADT sensitivity of 94.5% when reported Ct values were ≤ 25 (95% CI 91.0–96.7%; 36 evaluations; 2,613 cases), meanwhile, Ct values > 25 had a sensitivity of 40.7% (95% CI 31.8–50.3%; 36 evaluations including 2,632 cases) (6). Panbio RADT was reported to maintain a high specificity (between 94.9 and 100%) in preliminary clinical studies (15, 16). Krüger et al. (17) demonstrated a sensitivity of 95.8% in Ct values < 25 and within seven days from symptom onset. In larger study populations, Panbio sensitivity was between 33.3% (18) and 55.3% (19) in asymptomatic patients. Wagenhäuser et al.

TABLE 4 Analytic performance of Panbio, repetitive tests (696) excluded.

	Panbio positive	Panbio negative	
PCR positive	251 (5.7%)	358 (8.1%)	Sn: 41.2% (95% CI 37.4–45.2%)
PCR negative	13 (0.3%)	3,818 (86.0%)	Sp: 99.7% (95% CI 99.4–99.8%)
	PPV: 95.1% (95% CI 91.8–97.1%)	NPV: 91.4% (95% CI 90.5–92.2%)	

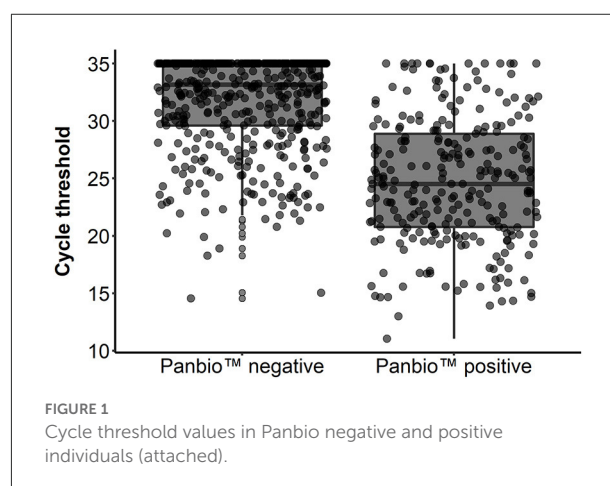


FIGURE 1 Cycle threshold values in Panbio negative and positive individuals (attached).

TABLE 5 Panbio sensitivity among cycle threshold ranges.

Characteristic	Overall, N = 735	≤ 20 , N = 57	20–25, N = 124	25–30, N = 165	30–35, N = 389	p-value
Panbio results						$< 0.001^a$
Negative	470 (63.9%)	5 (8.8%)	39 (31.4%)	86 (52.1%)	340 (87.4%)	
Positive	265 (36.1%)	52 (91.2%)	85 (68.6%)	79 (47.9%)	49 (12.6%)	

^aPearson’s Chi-squared test.

TABLE 6 Panbio RAD test results.

Characteristic	Overall, N = 5,136	Negative, N = 4,857	Positive, N = 279	p-value
Cycle threshold	735 (14.3%)			
Mean (SD)	29.2 (5.7)	31.7 (4.1)	24.8 (5.5)	
Median (IQR)	30.6 (25.1, 35.0)	33.2 (29.6, 35.0)	24.5 (20.8, 28.9)	<0.001 ^a
Minimum; maximum	11.0; 35.0	14.6; 35.0	11.0; 35.0	

^aWilcoxon rank sum test.

TABLE 7 Days until negative PCR in comparison with Panbio RAD test results.

Characteristic	Overall, N = 291	Negative, N = 166	Positive, N = 125	p-value
Days until negative PCR				
Mean (SD)	12 (7)	9 (6)	15 (7)	
Median (IQR)	10 (7, 15)	8 (5, 12)	15 (10, 19)	<0.001 ^a
Minimum; Maximum	1; 35	1; 34	2; 35	

^aWilcoxon rank sum test.

described an overall sensitivity of 46.7% (20), meanwhile, Treggiari et al. found the overall sensitivity at 66.8% (21).

Our study began with a review of 5,136 cases in which we found SARS-CoV-2 Panbio RADT overall sensitivity to be low, at 36.1%. Test sensitivity improved to 41.2%, when repetitive follow-up tests were excluded from the analysis, which is primarily due to the exclusion of samples with low viral load close to the maintained cut-off level and the lowest detection limit of the qPCR. The hospitalized population entered our health care system with COVID-19 related, COVID-19 associated and COVID-19 independent problems. The population of which was asymptomatic at the time of the SARS-CoV-2 Panbio RADT and later confirmed to be negative, was relatively high. Using PCR Ct score specific stratification on the data, sensitivity reached 91.2% when the SARS-CoV-2 RT-PCR Ct value was equal or under 20, which corresponds with an extremely high viral load. Sensitivity decreased with the increase of the Ct values: 68.6% in the case of Ct ranges between 20 and 25, 47.9% between 25 and 30, and most of the cases occurred between Ct values of 30 and 35, in which the sensitivity dropped to 12.6%. This sequential sensitivity performance was observed in the aforementioned studies scattered over a wide scale and dependent upon sampling quality and differences of the applied SARS-CoV-2 PCR method. The key factors regarding high sensitivity is seemingly dependent upon the high viral load and presence of symptoms.

According to Platten et al. (22), 52.6% of positive cases with Ct values > 28 were undetected by RAD tests. Our findings are consistent with the above-mentioned study: the 80 patients who succumbed due to complications of SARS-CoV-2 had a median Ct value of 27.0, with a Panbio sensitivity of 47.5%. PPV and NPV are highly dependent upon prevalence. In

published literature, PPV with a prevalence <10% was observed between 89.3% (23) and 100% (24). NPV was between 72.2 and 98.3% when prevalence was 6.3% (20). During the study period, the prevalence was reported to be 9.2–14.7% among the Hungarian population (25), in which the epidemic was at the community transmission phase. Overall, PPV was 95.0% (95% CI 91.8–97.0%), overall NPV was 90.3% (95% CI 89.5–91.1%). The PPV and NPV results were influenced when the tested population was stratified according to the presence of symptoms, showing an increase in the case of the symptomatic study group. Results of our clinical study highlight the universal observation associated with SARS-CoV-2 RT-qPCR: it is the most reliable tool in the detection of active SARS-CoV-2 infection. Although SARS-CoV-2 RADT offers several advantages over SARS-CoV-2 RT-qPCR (26), even in clinical settings due to its point-of-care testing (POCT) administration and rapid turnaround time, these tests are less sensitive or at critically low prevalence rate of the infection and can be considered unsatisfactory regarding accurate testing and consequential diagnosis. Our results demonstrate stratification according to symptoms can enhance test accuracy. However, to gain enhanced diagnostic performance, test application recommendations will be needed and adapted to the different phases of the epidemic curve. SARS-CoV-2 RADT is ideally suitable during the exponential and peak plateau phases of an outbreak.

Follow-up period of positive cases

According to our diagnostic strategy, we can detect SARS-CoV-2 genetic material in positive individuals up to a maximum of 35 days, which did not depend on parallel Panbio positivity. This result confirms PCR positivity alone or a qualitative

TABLE 8 Comparison of the general tested population with fatal cases.

Characteristic	<i>N</i>	Overall, <i>N</i> = 4,440	General tested population, <i>N</i> = 4,360	Death due to complications of SARS-CoV-2, <i>N</i> = 80	<i>p</i> -value ^a
Gender	4,440 (100.0%)				0.004 ^a
Male		1,901 (42.8%)	1,854 (42.5%)	47 (58.8%)	
Female		2,539 (57.2%)	2,506 (57.5%)	33 (41.2%)	
Panbio results	4,440 (100.0%)				<0.001 ^b
Negative		4,176 (94.1%)	4,138 (94.9%)	38 (47.5%)	
Positive		264 (5.9%)	222 (5.1%)	42 (52.5%)	
Ct value	609 (13.7%)				
Mean (SD)		28.8 (5.8)	29.1 (5.8)	27.0 (6.0)	
Median (IQR)		29.9 (24.5, 35.0)	30.4 (24.8, 35.0)	26.9 (22.8, 32.6)	0.002 ^c
Minimum; Maximum		11.0; 35.0	11.0; 35.0	14.6; 35.0	
NA		3,831	3,831	0	
Symptomatic	4,440 (100.0%)	1,083 (24.4%)	1,009 (23.1%)	74 (92.5%)	<0.001 ^a
Age	4,440 (100.0%)				
Mean (SD)		50 (25)	50 (25)	78 (11)	
Median (IQR)		53 (30, 72)	52 (30, 71)	78 (70, 87)	<0.001 ^c
Minimum; Maximum		0; 101	0; 101	55; 98	
Ct range	609 (14%)		529	80	0.019 ^b
≤20		53 (8.7%)	44 (8.3%)	9 (11.3%)	
20–25		111 (18.2%)	92 (17.4%)	19 (23.8%)	
25–30		143 (23.5%)	118 (22.3%)	25 (31.3%)	
30–35		302 (49.6%)	275 (52.0%)	27 (33.8%)	
NA		3,831	3,831	0	

^aPearson's Chi-squared test.

^bFisher's exact test.

^cWilcoxon rank sum test.

The *p*-value is referring to the statistical comparison of the highlighted columns in bold face. In categorical variables, *p*-values are indicated in the row of the characteristic above the group variables they refer to. In continuous variables, the *p*-values are listed in line of the median (IQR), which is used for the comparison.

result from RT-qPCR is not strongly correlated with infectivity regarding the patient. Viral culture studies confirmed SARS-CoV-2 may remain infection competent for 10–14 days following the onset of symptoms (27). Thereby, SARS-CoV-2 RT-qPCR detects remnant viral RNA beyond the time period of recovering replication-competent virus. This aforementioned capability regarding the RT-qPCR is reflected in the current study, which is needed to be taken into consideration when the question of patient admission or discharge arises within a clinical ward. SARS-CoV-2 RADT with corresponding SARS-CoV-2 PCR was found to be a very efficient tool for accurate SARS-CoV-2 diagnostics and estimation of the phase of infectivity.

recovering general population according to gender, age and presence of the symptoms during the first testing and PCR Ct stratification distribution. Older age, male sex, clinically symptomatic status and lower Ct range are all significantly correlated to disease fatality. However, we emphasize, six of the patients (7.5%) had no clinical symptoms during the first test and SARS-CoV-2 Panbio RADT was negative in 38 individuals, 47.5% of the fatal cases. These numbers suggest rapid antigen testing should not be the sole test administered to populations at high risk of developing severe disease.

Conclusions

Our study involved the highest population size related to SARS-CoV-2 Panbio RADT and we could follow-up the SARS-CoV-2 Panbio RADT and RT-qPCR positive population with PCR testing until recovery or the mortality outcome. Our study draws attention to strengths and weaknesses regarding the RAD testing in clinical applications. We

Test correlation with disease severity

In the combined SARS-CoV-2 Panbio RADT and RT-qPCR tested population, 80 fatal cases were observed during our study period. Statistical evaluation of the deceased population group identified significant differences compared to the later

recommend the SARS-CoV-2 Panbio RAD tests be used as the sole testing modality only among high population prevalence rates of the infection and to be used for symptomatic individuals with average or low severe disease development risk. In the case of high risk regarding the development of severe infection complications, parallel SARS-CoV-2 RT-qPCR consistently needs to be carried out to assure proper diagnostic accuracy and avoid delaying appropriate medical care.

Limitation

No information was known regarding the onset of symptoms, which should be taken into consideration when comparing it with diagnostic performance. There was no possibility to repeat the RAD or RT-qPCR tests from the same samples due to continuous high daily activity, which leaves open the possibility of human error (e.g., RAD test evaluation beyond the recommended timeframe), despite being performed and evaluated strictly by healthcare professionals. In Hungary, the dominant genetic variant of SARS-CoV-2 was the B.1.1.7 (Alpha) variant during the study period (between 21 January and 30 April, 2021). Although in laboratory-based investigations referencing the performance of the Abbott-Panbio RAD was not affected by the variants, the COVID-19 Antigen study (COVAG) in a real-world setting including 2,215 participants and 338 rRT-PCR confirmed SARS-CoV-2 positive cases Abbott-Panbio RAD test performed 72.3% sensitivity in carriers of the Alpha variant, compared to 84.0% in cases infected with wild-type SARS-CoV-2. The test-sensitivity diminishing effect of the Alpha variant was also observed in the Roche-RAD test (28). Although it is the only study indicating the lower sensitivity regarding the Abbott-Panbio RAD test for the Alpha variant, its authors cannot explain this finding and it must be taken into consideration regarding the relatively low sensitivity and positive predictive value in our results.

Data availability statement

The raw data supporting the conclusions of this article will be made available by the authors, without undue reservation.

References

1. World Health Organization. *WHO COVID-19 Dashboard*. World Health Organisation (2021). Available online at: <https://covid19.who.int> (accessed March 03, 2022).
2. Foundation of Innovative New Diagnostics. *Covid-19 Test Directory*. (2022). Available online at: <https://www.finddx.org/covid-19/test-directory/> (accessed March 03, 2022).

Ethics statement

The studies involving human participants were reviewed and approved by Regional Committee for the Research Ethics at University of Pécs Clinical Center, reference number 8668-PTE 2021. Written informed consent to participate in this study was provided by the participants' legal guardian/next of kin.

Author contributions

ÁH drafted the original manuscript. ÁH and KFi participated in data collection. AV was responsible for the statistical analysis. RV-R, HG, KFu, and PU performed the RT-qPCR tests. ÁH and KG conceptualized and edited the manuscript. GK made the final corrections. All authors agree to be accountable for the content of the work and contributed to the article and approved the submitted version.

Funding

Project No. TKP2021-EGA-13 has been implemented with the support provided from the National Research, Development and Innovation Fund of Hungary, financed under the TKP2021-EGA funding scheme.

Conflict of interest

The authors declare that the research was conducted in the absence of any commercial or financial relationships that could be construed as a potential conflict of interest.

Publisher's note

All claims expressed in this article are solely those of the authors and do not necessarily represent those of their affiliated organizations, or those of the publisher, the editors and the reviewers. Any product that may be evaluated in this article, or claim that may be made by its manufacturer, is not guaranteed or endorsed by the publisher.

3. World Health Organization. *Antigen-detection in the diagnosis of SARS-CoV-2 infection using rapid immunoassays*. (2021). Available online at: <https://www.who.int/publications/i/item/antigen-detection-in-the-diagnosis-of-SARS-CoV-2-infection-using-rapid-immunoassays> (accessed March 03, 2022).
4. World Health Organization. *Technical specifications for selection of essential in vitro diagnostics for SARS-CoV-2*. (2021). Available online at: <https://www.who.int/>

publications/m/item/technical-specifications-for-selection-of-essential-in-vitro-diagnostics-for-SARS-CoV-2 (accessed March 03, 2022).

5. Drain PK, Hyle EP, Noubary F, Freedberg KA, Wilson D, Bishai WR, et al. Diagnostic point-of-care tests in resource-limited settings. *Lancet Infect Dis.* (2014) 14:239–49. doi: 10.1016/S1473-3099(13)70250-0
6. Dinnes J, Deeks JJ, Berhane S, Taylor M, Adriano A, Davenport C, et al. Rapid, point-of-care antigen and molecular-based tests for diagnosis of SARS-CoV-2 infection. *Cochrane Database Syst Rev.* (2021) 8:CD013705. doi: 10.1002/14651858.CD013705
7. García-Salguero C, Culebras E, Merino P, Baos E, Delgado-Iribarren A. Usefulness of SARS-CoV-2 antigen test sample as input for SARS-CoV-2 RT-PCR analysis. *J Med Virol.* (2021) 94:1693–5. doi: 10.1002/jmv.27459
8. European Center for Disease Control and Prevention. *Options for the use of rapid antigen detection tests for COVID-19 in the EU/EEA -first update.* (2021). Available online at: <https://www.ecdc.europa.eu/sites/default/files/documents/Options-for-the-use-of-rapid-antigen-tests-for-COVID-19-first-update.pdf> (accessed March 03, 2022).
9. Salvatore PP, Shah MM, Ford L, Delaney A, Hsu CH, Tate JE, Kirking HL. Quantitative comparison of SARS-CoV-2 nucleic acid amplification test and antigen testing algorithms: a decision analysis simulation model. *BMC Public Health.* (2022) 22:82. doi: 10.1186/s12889-021-12489-8
10. Johns Hopkins Coronavirus Resource Center. *Track Testing Trends.* (2022). Available online at: <https://coronavirus.jhu.edu/testing/tracker/overview> (accessed January 05, 2022).
11. European Centre for Disease Prevention and Control. *Diagnostic testing and screening for SARS-CoV-2.* (2021). Available online at: <https://www.ecdc.europa.eu/en/covid-19/latest-evidence/diagnostic-testing> (accessed January 05, 2022).
12. European Centre for Disease Prevention and Control. *Clinical characteristics of COVID-19.* (2022). Available online at: <https://www.ecdc.europa.eu/en/covid-19/latest-evidence/clinical> (accessed January 05, 2022).
13. Brown LD, Cai TT, DasGupta A. Interval estimation for a binomial proportion. *Stat Sci.* (2001) 16:101–17. doi: 10.1214/ss/1009213286
14. Venekamp RP, Veldhuijzen IK, Moons KGM, van den Bijllaardt W, Pas SD, Lodder EB, et al. Detection of SARS-CoV-2 infection in the general population by three prevailing rapid antigen tests: cross-sectional diagnostic accuracy study. *BMC Med.* (2022) 20:97. doi: 10.1186/s12916-022-02300-9
15. Fenollar F, Bouam A, Ballouche M, Fuster L, Prudent E, Colson P, et al. Evaluation of the Panbio Covid-19 rapid antigen detection test device for the screening of patients with Covid-19. *J Clin Microbiol.* (2020) 59: e02589-20. doi: 10.1128/JCM.02589-20
16. Gremmels H, Winkel BMF, Schuurman R, Rosingh A, Rieger NAM, Rodriguez O, et al. Real-life validation of the PanbioTM COVID-19 antigen rapid test (Abbott) in community-dwelling subjects with symptoms of potential SARS-CoV-2 infection. *EClinicalMedicine.* (2020) 31:100677. doi: 10.1101/2020.10.16.20214189

17. Krüger LJ, Gaedert M, Tobian F, Lainati F, Gottschalk C, Klein JAF, et al. The Abbott PanBio WHO emergency use listed, rapid, antigen-detecting point-of-care diagnostic test for SARS-CoV-2—Evaluation of the accuracy and ease-of-use. *PLoS ONE.* (2021) 16:e0247918. doi: 10.1371/journal.pone.0247918
18. Masiá M, Fernández-González M, Sánchez M, Carvajal M, García JA, Gonzalo-Jiménez N, et al. Nasopharyngeal Panbio COVID-19 antigen performed at point-of-care has a high sensitivity in symptomatic and asymptomatic patients with higher risk for transmission and older age. *Open Forum Infect Dis.* (2021) 8:ofab059. doi: 10.1093/ofid/ofab059
19. Landaas ET, Storm ML, Tollånes MC, Barlind R, Kran A-MB, Bragstad K, et al. Diagnostic performance of a SARS-CoV-2 rapid antigen test in a large, Norwegian cohort. *J Clin Virol.* (2021) 137:104789. doi: 10.1016/j.jcv.2021.104789
20. Wagenhäuser I, Knies K, Rauschenberger V, Eisenmann M, McDonogh M, Petri N, et al. Clinical performance evaluation of SARS-CoV-2 rapid antigen testing in point of care usage in comparison to RT-qPCR. *EBioMedicine.* (2021) 69:103455. doi: 10.1016/j.ebiom.2021.103455
21. Treggiari D, Piubelli C, Caldrea S, Mistretta M, Ragusa A, Orza P, et al. SARS-CoV-2 rapid antigen test in comparison to RT-PCR targeting different genes: a real-life evaluation among unselected patients in a regional hospital of Italy. *J Med Virol.* (2021) 94:1190–5. doi: 10.1002/jmv.27378
22. Platten M, Hoffmann D, Gresser R, Wisplinghoff F, Wisplinghoff H, Wiesmüller G, et al. SARS-CoV-2, CT-values, and infectivity—conclusions to be drawn from side observations. *Viruses.* (2021) 13:1459. doi: 10.3390/v13081459
23. Merino P, Guinea J, Muñoz-Gallego I, González-Donapetry P, Galán JC, Antona N, et al. Multicenter evaluation of the PanbioTM COVID-19 rapid antigen-detection test for the diagnosis of SARS-CoV-2 infection. *Clin Microbiol Infect.* (2021) 27:758–61. doi: 10.1016/j.cmi.2021.02.001
24. Eleftheriou I, Dasoula F, Dimopoulou D, Lebesse E, Serafi E, Spyridis N, et al. Real-life evaluation of a COVID-19 rapid antigen detection test in hospitalized children. *J Med Virol.* (2021) 93:6040–4. doi: 10.1002/jmv.27149
25. Ritchie H, Mathieu E, Rodés-Guirao L, Appel C, Giattino C, Ortiz-Ospina E, et al. *Coronavirus Pandemic (COVID-19).* Our World in Data(2020). Available online at: <https://www.ourworldindata.org/coronavirus/country/hungary> (accessed March 05, 2022).
26. CDC. *Coronavirus Disease 2019 (COVID-19).* Centers for Disease Control and Prevention (2020). Available online at: <https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/testing/diagnostic-testing.html> (accessed March 16, 2022).
27. Bullard J, Dust K, Funk D, Strong JE, Alexander D, Garnett L, et al. *Predicting infectious SARS-CoV-2 from diagnostic samples.* *Clinical Infectious Diseases*(n.d.). Available online at: <http://doi.org/dw8z> (accessed March 16, 2022).
28. Wertenaue C, Brenner Michael G, Dressel A, Pfeifer C, Hauser U, Wieland E, et al. Diagnostic performance of rapid antigen testing for SARS-CoV-2: the COVID-19 AntiGen (COVAG) study. *Front Med.* (2022) 9:74550. doi: 10.3389/fmed.2022.774550



OPEN COVID-19 mortality prediction in Hungarian ICU settings implementing random forest algorithm

Ágoston Hamar^{1,2}, Daryan Mohammed², Alex Váradi^{2,3}, Róbert Herczeg², Norbert Balázsfalvi⁴, Béla Fülesdi⁴, István László⁴, Lídia Gömöri⁵, Péter Attila Gergely⁶, Gabor Laszlo Kovacs^{1,2}, Krisztián Jáksó^{7,8} & Katalin Gombos^{1,2,8}✉

The emergence of newer SARS-CoV-2 variants of concern (VOCs) profoundly changed the ICU demography; this shift in the virus's genotype and its correlation to lethality in the ICUs is still not fully investigated. We aimed to survey ICU patients' clinical and laboratory parameters in correlation with SARS-CoV-2 variant genotypes to lethality. 503 COVID-19 ICU patients were included in our study beginning in January 2021 through November 2022 in Hungary. Furthermore, we implemented random forest (RF) as a potential predictor regarding SARS-CoV-2 lethality among 649 ICU patients in two ICU centers. Survival analysis and comparison of hypertension (HT), diabetes mellitus (DM), and vaccination effects were conducted. Logistic regression identified DM as a significant mortality risk factor (OR: 1.55, 95% CI 1.06–2.29, $p = 0.025$), while HT showed marginal significance. Additionally, vaccination demonstrated protection against mortality ($p = 0.028$). RF detected lethality with 81.42% accuracy (95% CI 73.01–88.11%, [AUC]: 91.6%), key predictors being PaO₂/FiO₂ ratio, lymphocyte count, and chest Computed Tomography Severity Score (CTSS). Although a smaller number of patients require ICU treatment among Omicron cases, the likelihood of survival has not proportionately increased for those who are admitted to the ICU. In conclusion, our RF model supports more effective clinical decision-making among ICU COVID-19 patients.

Keywords SARS-CoV-2, COVID-19, Intensive care unit, Machine learning, Random forest, Mortality prediction

Over the past four years, SARS-CoV-2 has undergone significant evolutionary shifts in adapting to the human host, resulting in highly mutated strains with increased transmission rates. This led to the emergence of various VOCs, including Alpha, Beta, Gamma, Delta, and Omicron, which quickly became dominant regionally or globally, outcompeting previous variants. The success of each VOC over its predecessors may be due to changes in the virus's functionality and antigenicity, which allow it to evade immune responses. The enhanced resilience of VOCs results from the interaction between virus biology and the changing landscape of human immunity, contoured by vaccination and previous infections¹. Changes in SARS-CoV-2 strains and vaccination rates may alter various factors' diagnostic and predictive values over time², resulting in negative effects on the ICU's clinical decision-making.

During the pandemic, highly mutated SARS-CoV-2 VOCs caused myriad complications in a great number of patients that resulted in overwhelming ICUs with cases of acute respiratory failure, sepsis, cytokine storm, multiple organ failure, thrombosis, and other complications^{3–6}. This placed a massive burden and unprecedented strain on intensive care units and healthcare resources. To mitigate the huge ICU burden and reduce COVID-19 ICU mortality rates, it is crucial to not only implement a proper vaccination strategy but also ensure timely

¹Department of Laboratory Medicine, Medical School, University of Pécs, Pécs, Hungary. ²Molecular Medicine Research Group, Szentágothai Research Centre, University of Pécs, Pécs, Hungary. ³Institute of Metagenomics, University of Debrecen, Debrecen, Hungary. ⁴Department of Anaesthesiology and Intensive Care, University of Debrecen, Debrecen, Hungary. ⁵Doctoral School of Neuroscience, University of Debrecen, Debrecen, Hungary. ⁶Institute of Forensic Medicine, University of Debrecen, Debrecen, Hungary. ⁷Department of Anaesthesiology and Intensive Care, Clinical Centre, University of Pécs, Pécs, Hungary. ⁸These authors jointly supervised this work: Krisztián Jáksó and Katalin Gombos. ✉email: Gombos.katalin@pte.hu

hospitalization, the right choice of therapeutic regimen, and accurate determination of disease severity^{7–10}. Reportedly, the newer Omicron variant typically causes less severe illness and mortality than when compared with the Delta variant, necessitating less intensive care^{11–13}. Nonetheless, a significant number of Omicron-infected patients who were administered two or three vaccine doses require intensive care, in which several patients face extremely unfavorable outcomes, ultimately expiring in or following ICU discharge.

Various wards and Intensive care units continuously generate a plethora of COVID-19 data that clinicians can not fully analyze. Hence, machine and deep learning (MDL) algorithms have been implemented for diagnosis, prognosis, therapy, public health management, and mortality prediction of COVID-19 patients prior to or following ICU admission^{14–19}. However, our knowledge regarding various VOCs and their impact on ICU COVID-19 patients is incomplete, and the evolution of SARS-CoV-2 can make the application of the existing MDL models in routine clinical practice more challenging^{6,20–22}. Meanwhile, recent literature lacks reflective studies with a sharp focus on well-defined COVID-19 ICU patients solely in a time span; different and newer COVID-19 lineages were confirmed circulating VOCs^{2,6,20,23–27}. Therefore, utilizing a highly specific and sensitive machine learning algorithm such as RF for ICU mortality prediction using clinical and laboratory parameters along with whole genome sequencing (WGS) results of VOCs on admission day is crucial in order to improve data analysis, result interpretation, and clinical decision-making.

To the best of our knowledge, no studies explored the association of laboratory parameters in ICUs within the first 24 h of admission across different VOCs based on the results of WGS. To close the identified gap, we monitored three VOC waves in the COVID-19 ICU patients in the Southern Transdanubian region, Hungary, over a 22 month period, using WGS. We recorded the distribution of variant density among the dominant VOCs, (Alpha, Delta, and Omicron), and correlated these viral lineages with clinically documented parameters regarding the most severe cases who were admitted to the ICU to examine the relationship between viral genotypes, clinical and lab parameters, comorbidities, vaccination status, and patient lethality. Our objective was to include viral genomic data as potential biomarkers in a combined analysis to enhance prognosis and advance sensitive healthcare sectors toward improved disease progression prediction and patient risk stratification. Additionally, we have implemented RF with the requisite sensitivity and specificity to predict fatality in Hungarian ICU settings, implementing routine clinical and laboratory parameters of 649 ICU patients in two ICU centers retrospectively. The study focuses on providing interpretable insights for clinical use as this method significantly streamlines the triage process in identifying critical patients needing immediate treatment, optimizes healthcare facility workflows, and paves the way for accurate resource allocation.

Results

Age and gender

Notably, five hundred and three ICU patients from the Southern Transdanubian region, Hungary, were included in this study. The ICU patients were between 18 and 96 years old (median age: 66 years, IQR 57–73 years). Male patients comprised 58% of ICU admissions, while female patients accounted for the remaining 42%. The detailed age groups with gender distribution of ICU patients are depicted in Figure S1 in the Supplementary Material.

We used 2,975 SARS-CoV-2 samples of non-ICU patients from the Southern Transdanubian region, Hungary, in comparison to our 503 ICU patients. The means of age in all lineages in the ICU patients were significantly higher than when compared with those in the non-ICU patients. Male gender unveils a highly significant correlation with ICU admission in the Alpha ($p < 0.001$) and Delta ($p = 0.005$) groups, however, not the Omicron ($p = 0.139$) group. We categorized age into three classes: < 50 years old, 50–65 years old, and > 65 years old. In all three age groups across all lineages, a highly significant difference ($p < 0.001$) between ICU and non-ICU patients was observed, see Table S1 in the Supplementary Material.

Mortality and comorbidities

Distinctively, five hundred and three patients who were afflicted with critical conditions were admitted to the ICU; subsequently, 317 out of 503 patients succumbed while in the ICU. 127 out of 194 Alpha-infected patients, amounting to 65.5%, expired in the ICU. While 152 out of 230 Delta-infected patients, amounting to 66.1%, expired in the ICU. While 38 out of the remaining 79 Omicron-infected patients, amounting to 48.1%, expired in the ICU. After following up with the ICU survivors for 28 days from the day of ICU discharge, 10 Alpha-infected patients, 17 Delta-infected patients, and 10 Omicron-infected patients succumbed following the ICU discharge in the 28 days of follow-up. See Table S2 in the Supplementary Material to explore hard mortality among all the variants.

Age was a highly significant factor in both soft and hard mortality rates in the Alpha and Delta variants, and it was significant in the case of the Omicron variant when we explored both hard and soft mortality. The most senior groups in all lineages were increasingly subjected to fatal outcome, see Figure S2 in the Supplementary Material. We performed logistic regression to check and establish a correlation between these three groups and mortality. Comorbidities such as HT, DM, and chronic obstructive pulmonary disease (COPD), had a major effect upon mortality with different magnitudes in the examined variants. HT had a highly significant effect upon mortality in the Omicron group, while DM had a significant effect upon mortality in the Delta group. Together, HT and DM had a highly significant effect upon the mortality of the Omicron-infected patients. Additionally, COPD had a significant effect upon the mortality of the Omicron-infected patients without considering inhaled corticosteroids (ICS) usage prior to ICU admission. When we explored the effect of ICS upon COVID-19 mortality, we did not notice any significant difference in the ICS group in reducing COVID-19 mortality, see Supplementary Material Table S3.

When we performed logistic regression regarding mortality, we noticed the age > 65 was highly significant in increasing the odds of mortality with an odds ratio (OR): 2.92, 95% CI: 1.68–5.12, p -value < 0.001. DM solely had

a significant effect in increasing the odds of mortality (OR: 1.55, 95% CI: 1.06–2.29, $p=0.025$). HT increased the odds of mortality, however, the difference was not significant (OR: 1.44, 95% CI: 0.98–2.13, $p=0.065$). DM and HT did not have a significant modifier effect upon mortality odds in multivariable analysis, see Supplementary Material Table S4. Although males were dominant in all three variants in terms of mortality rates and need for intensive care, gender had no significant effect upon mortality.

Vaccination data

In regards to vaccination, 339 out of 503 patients had no vaccination history, and among these unvaccinated patients, 222 patients (65.5%) succumbed. 35 patients received only one vaccination dose, in which 24 (68.6%) patients in this group soon after they expired. Patients with two vaccination doses following 14 days from the second vaccination dose were considered fully vaccinated; 82 patients were fully vaccinated, and 53 (64.6%) patients in this group expired. In reference to those patients who received a booster dose, 47 patients received 3 doses of vaccination, in which only 18 (38.3%) patients expired in this group. Patients were considered fully vaccinated 14 days following the second dose of vaccination, whereas fully vaccinated patients who received at least two doses of vaccination and/or at least one booster dose within a six-month window post-vaccination from the first booster dose were considered protected patients. Out of 503 patients, only 55 were deemed protected, in which 27 (49.1%) patients expired in this group.

In consideration of the 437 non-protected patients, 281 (64.3%) patients succumbed. It is noteworthy in highlighting, the remaining 11 Delta-infected patients were fully vaccinated, however, sufficient data in terms of vaccination dates were missing; 9 of these 11 patients were deceased. When we performed Pearson's Chi-squared test, it revealed the protective effect of vaccination significantly reduces mortality among protected patients with a p -value of 0.028, see Supplementary Material Table S5.

Follow-up of patients

We tracked the ICU survivors for a span of 28 days. Although Delta-infected ICU survivors had the lowest median age (61), out of 78 Delta-infected ICU survivors, 17 (21.8%) of these patients expired, in which the majority of the deceased were males, 6 of whom were fully vaccinated, and another 2 received boosters, however, only 3 were protected. Omicron-infected ICU survivors had the highest median age (69), 10 (24.4%) Omicron-infected ICU survivors expired even though 8 of these patients received boosters, yet only 5 of the 8 fell into our category of protected patients, in which one of these patients was fully vaccinated.

When considering the Alpha-infected ICU survivors, this group had the lowest median age (61), in which, 10 of these patients expired in the follow-up span of 28 days, only one patient was protected, and 3 others were administered partial vaccination. Some of the ICU survivors who had COPD and used ICS prior to being admitted into the ICU in all groups succumbed during this 28-day follow-up period, see Supplementary Material Table S6.

The Kaplan–Meier survival curve is one of the best options to measure the fraction of subjects living for a certain amount of time following treatment, which in our case, begins with ICU admission. Figure 1, panel (a) shows the survival curves by lineage. A 50% survival probability was reached on Day 15 in the case of Alpha-, Day 14 by Delta-, and Day 13 by Omicron patients. There was no significant difference among the lineages ($p=0.95$). We also used Kaplan–Meier to compare survival probability among the three age groups (< 50, 50–65, > 65, see Fig. 1, panel (b)). The youngest group of ICU patients aged < 50 years old reached a 50% survival probability on Day 22, while the middle group of patients aged between 50 and 65 years old reached a 50% survival probability on Day 16. The oldest group with age > 65 reached a 50% survival probability on Day 12. There was a very highly significant difference ($p < 0.0001$) among the age groups.

Clinical and laboratory parameters among the variants

There was a significant difference between the interleukin-6 (IL-6) levels regarding the survivors and deceased patients in the group of Alpha ($p=0.006$) and Delta ($p=0.008$) variants, however, not in the Omicron group ($p=0.391$). There was a significant difference between the ferritin levels of the survivors and deceased patients in the Delta ($p=0.009$) and Omicron ($p=0.026$) groups, however, not in the Alpha ($p=0.649$) group. Panel (a), panel (b), panel (c), and panel (d) in Fig. 2 show (lymphocyte count, leukocyte count, chest CTSS, and P/F ratio [$\text{PaO}_2/\text{FiO}_2$ ratio, also known as Horowitz index]) in the Alpha-, Delta-, and Omicron-infected survivors and deceased patients, respectively. To examine IL-6, ferritin, and D-dimer in the Alpha-, Delta-, and Omicron-infected survivors and deceased patients, see Supplementary Material Figures S3– Figures S5. To explore the exact values of the laboratory and clinical parameters (IL-6, ferritin, D-dimer, lymphocyte count, chest CTSS, and P/F ratio), please see Supplementary Material Table S7.

We also amassed information in reference to the maximum level of invasiveness required for oxygenation. The number of patients who required Endotracheal Intubation (ETI) in the Alpha, Delta, and Omicron variants were 150, 183, and 50, respectively. The number of patients who required non-invasive ventilation (NIV) masks in the Alpha, Delta, and Omicron variants were 18, 24, and 13, respectively. The number of patients who required High-flow nasal cannula (HFNO₂) in the Alpha, Delta, and Omicron variants were 16, 19, and 9, respectively. To see oxygen supplementation types in ICU patients of all lineages, see Supplementary Material Figure S6.

Random forest

The random forest analysis contains 649 ICU patients' data: 503 from the original database, 22 patients infected with the lineage B.1.160, and 124 patients from the University of Debrecen. Following imputation and balancing, the model tallies 760 patients. The RF features 1000 trees, with 3 variables tried at each split. The out-of-bag estimate of error rate is 13.76%. The accuracy of the training model performance is 0.8624 (95% CI 0.8335–0.8881),

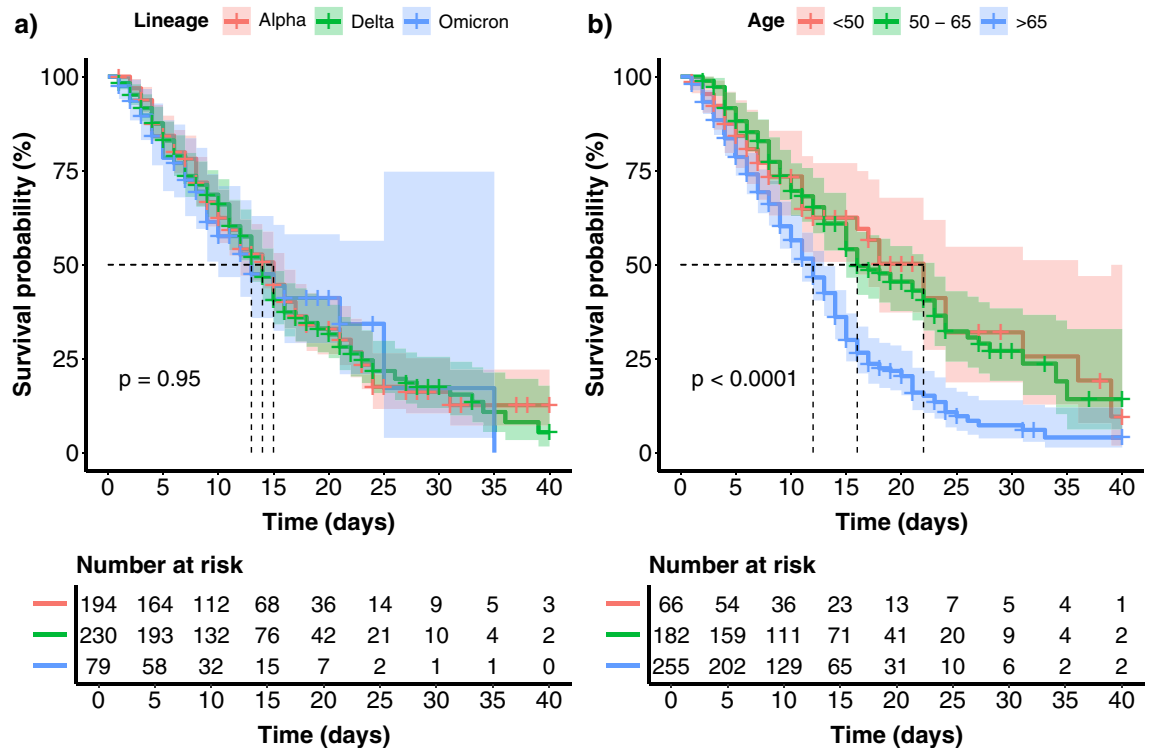


Figure 1. Kaplan–Meier survival probability curve. (a) The Kaplan–Meier survival curve shows survival probability among Alpha, Delta and Omicron VOCs. (b) The Kaplan–Meier survival curve shows survival probability among the age groups <50, 50–65 and >65 years old.

with a no information rate of 0.5023 and Kappa is 0.7249, $p < 2e-16$. Sensitivity is 0.8523, specificity is 0.8727. More performance data are visible in Supplementary Material Figure S7. The multidimensional scaling (MDS) plot for the deceased and survivors is visible in Fig. 3, panel (a), while the top 9 important variables with the MeanDecreaseAccuracy (MDA) and MeanDecreaseGini (MDG) values are presented in Fig. 3, panel (b). The exact values of MDA and MDG can be seen in Supplementary Material Table S8. The test model performance had an accuracy of 0.814 (95% CI 0.73–0.881), with a p-value of <0.0001. Additional performance data and the Receiver Operation Characteristics (ROC) curve are illustrated in Fig. 4.

Partial dependency plots (PDP) demonstrate the relationship between a single predictor variable and the probability of an event occurring ('Deceased'). The most important variables of the RF (age, leukocyte count, P/F ratio, chest CTSS, and lymphocyte count) PDPs are depicted in Supplementary Material Figures S8–Figures S12.

Discussion

SARS-CoV-2 was a viral agent that profoundly altered the global landscape; this virus, like most respiratory viruses, disproportionately affects seniors, causing severe annual outbreaks²⁸. There is a growing body of evidence including epidemiological studies referencing different cohorts and meta-analyses, which demonstrates a strong association between the advanced age and comorbid burden with severe manifestation and higher mortality due to COVID-19^{29,30}. While the prevalence of comorbid conditions increases with age, the relationship between age, comorbidity statements and severe or unfavorable outcomes of SARS-CoV-2 infection is complex. Ageing is a multifactorial process influenced by non-modifiable factors such as genetics, declining physiological parameters and a reduced capacity to adapt to environmental exposures. Advanced age is a significant risk factor for poor outcomes; the Centers for Disease Control and Prevention (CDC, USA) reports individuals aged 65 and above represent approximately 30% of COVID-19 infections, 45% of hospitalizations, 53% of ICU admissions and over 80% of deaths³¹. Moreover, the risk of mortality in the post-acute phase and in-hospital deaths varies by the predominant variant periods³².

Our retrospective analysis of the ICU confirmed the exponentially progressing correlation of mortality risk coupled together with the increase of age. Logistic regression analysis showed almost 3 times higher OR regarding the population over 65 years of age. The correlation between age and mortality was not influenced by the shifting of the predominant variant of SARS-CoV-2. However, the genetic evolution of the virus over time significantly altered the age distribution of the ICU population, with patient age changing notably during the Omicron wave. Despite males being predominant in both intensive care needs and mortality rates across all three variants, gender had no significant impact upon mortality. Additionally, the emergence of new viral lineages did not alter the correlation between gender, disease severity and adverse clinical outcome over time. Age-related comorbidities, such as HT, DM and COPD, are critical in the response mediated by SARS-CoV-2^{33,34}. Our findings indicate a major effect of these comorbidities upon mortality mediated by SARS-CoV-2 variants. The presence of HT and DM in combination with age significantly affected mortality among patients infected with the Omicron variant.

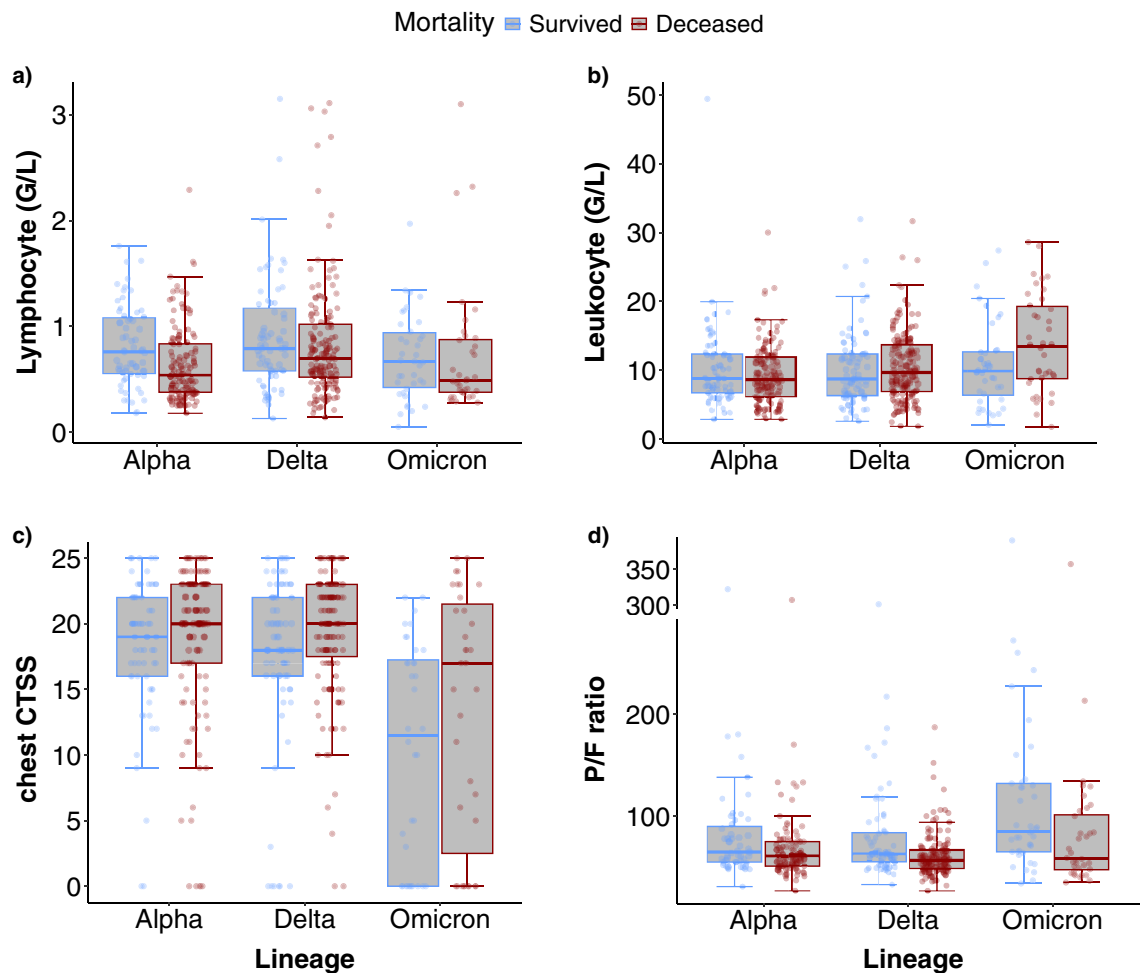


Figure 2. Laboratory and clinical parameters in VOCs in survivors (blue) and deceased (red) patients. (a) Lymphocyte count in survivors and deceased ICU patients of all lineages. (b) Leukocyte count in survivors and deceased ICU patients of all lineages. (c) Chest CTSS in survivors and deceased ICU patients of all lineages. (d) P/F ratio in survivors and deceased ICU patients of all lineages.

COPD patients on ICS prior to ICU admission were at higher mortality risk during the Omicron wave, although regular use of ICS had no significant effect upon ICU mortality.

Distinctively, we concluded while clarifying the strongest comorbidity factors, respectively, HT and DM, from age. In calculating our overall ICU population during the complete study timeline, neither DM by itself nor HT alone, or the two factors combined, yet without age, neither of these aspects lead to an increase regarding the risk of mortality. Comorbidity factors only have an effect when combined with age. Age is found to be the highest risk factor in COVID-19 infection, likely influencing all molecular mechanisms from immune responses, mitochondrial functions, endoplasmic reticulum transport mechanisms and protein folding, oxidative stress disruption, receptor activation of the ACE II and Toll-like receptors, transcription factors and cell signalling pathways³⁵. Although several studies equivocally emphasize the importance of comorbidity conditions, comprehensive clinical studies are essentially needed towards evaluating their independent effect upon ICU mortality.

ICU mortality spanned a vast frontier; Carbonell et al.³⁶ found it to be 28.8% during the second/third wave of the pandemic in a multicenter retrospective study (Ireland, Spain, Andorra). In Central-Eastern Europe, Benes et al.³⁷ found the ICU mortality between 38.1–75.9% in the timeframe of March 2020 and February 2021. A Dutch national multicentre study³⁸ reported a 28-day mortality of 35%, which increased to 43% during the follow-up at Day 90. Our findings reveal an ICU hard mortality of 63.0%, which aligns with the only Hungarian COVID-19 ICU study published to this point³⁹, with an additional 7.4% increase in the 28 day follow-up period after ICU release, which leads to a soft mortality rate of 70.4%. Additionally, 10 out of 67 Alpha-infected patients, 17 out of 78 Delta-infected patients, and 10 out of 41 Omicron-infected patients expired in the 28-day follow-up, which substantiates Omicron patients contributed most to the soft mortality increase. Based on our timeline and lineage distribution, Omicron sublineages had approximately as much time (January 2022 to November 2022) when compared to Alpha and Delta combined (January 2021 to December 2021). Nevertheless, patients admitted to the ICU as a result of Omicron only represent 15.7% of total cases, which implies ICU admission was significantly lower in the case of Omicron. This can potentially be explained by the effects of protection due to vaccination and milder lineage combined. The Omicron variant is less severe; however, once admitted to the

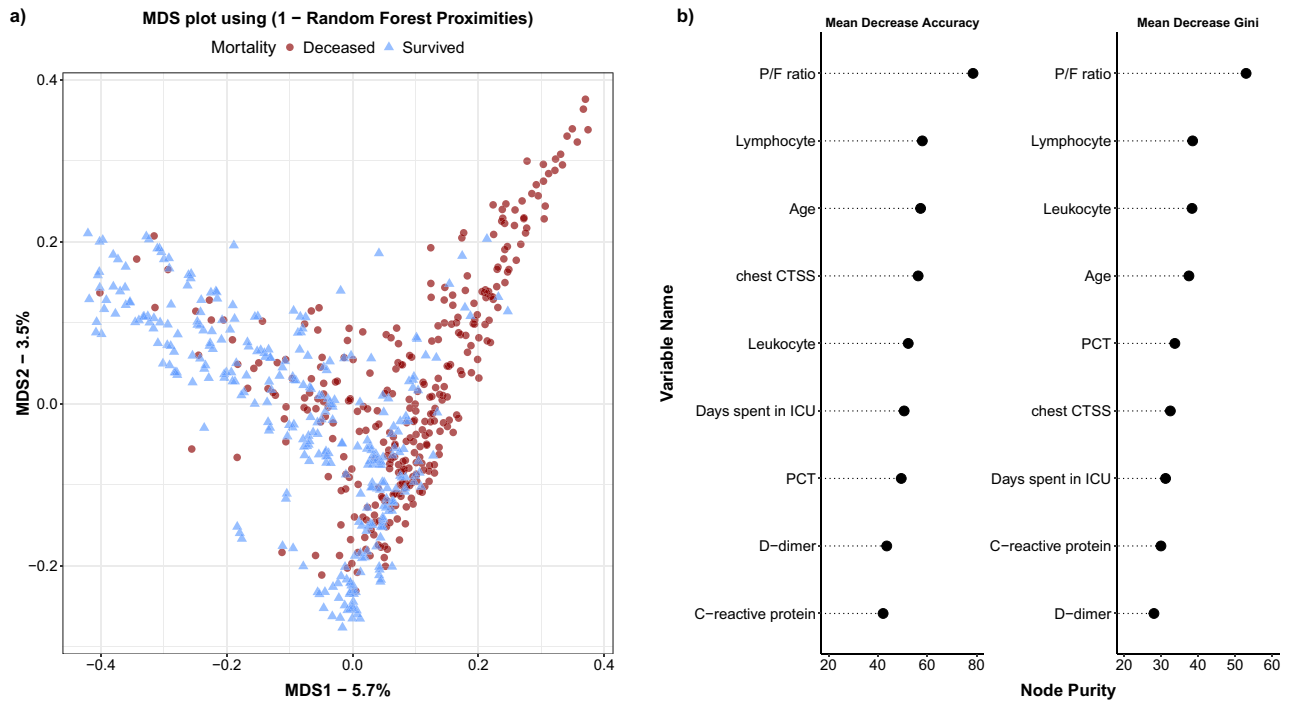


Figure 3. The multidimensional scaling plot along with MDA and MDG values. (a) MDS plot for the survivors and deceased patients. (b) MDA and MDG values with related levels of importance.

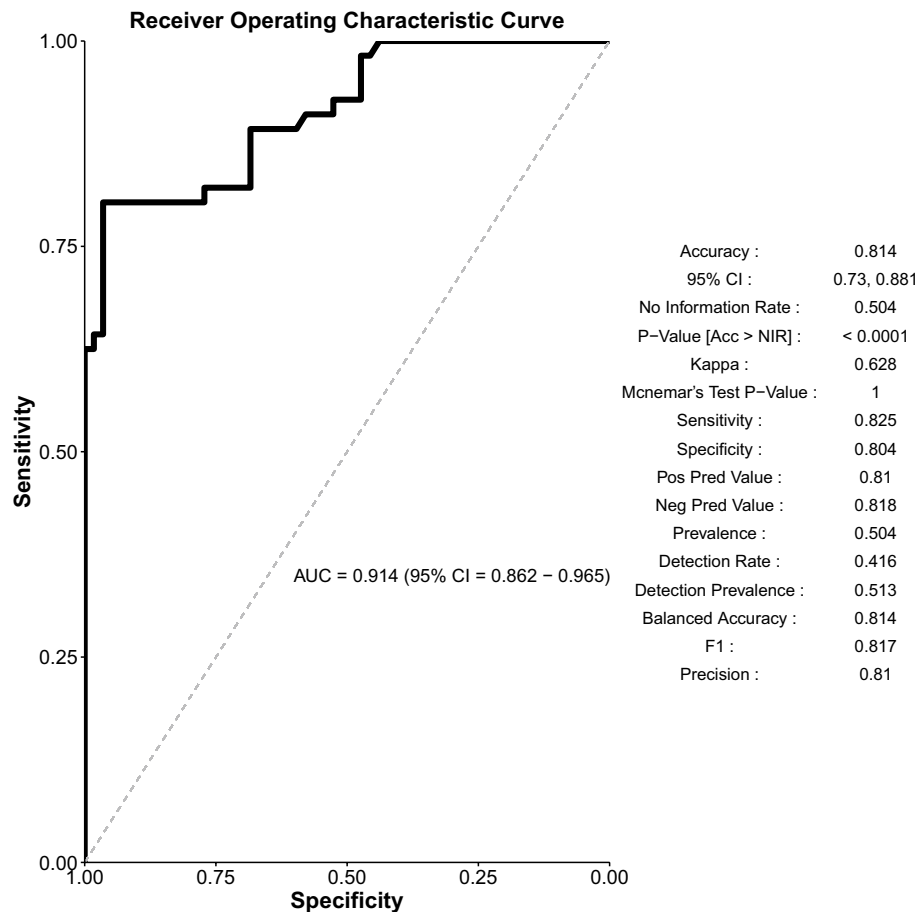


Figure 4. Test model performance metrics with the ROC curve.

ICU, Omicron still seemingly proves to be a potentially deadly variant since there is no significant difference among the lineages in terms of survival rate, see Kaplan–Meier survival curves by lineage in Fig. 1, panel a).

In regards to the Hungarian population, vaccination strategies were initially introduced in December 2020. Vaccine uptake of the primary course counts up to 63.2% of the total population, with 39.8% taking up the first booster, and 4.3% in the second booster up through 4 April, 2023, in the general population⁴⁰. Among the population admitted to the ICU in the time period of our study, 35% were unvaccinated and of those who later survived when compared to the 65% of unvaccinated patients who succumbed in COVID-19. In calculating only the full primary course, meaning the vaccinated and boosted individuals within the protective time period, vaccines are considered to have effective protection (minimum 14 days—maximum 6 months), in which we observed a significant mortality-reducing effect of the vaccination. Based on our results, we recommend those individuals over age 65 and comorbid populations will benefit from vaccination on a priority basis when compared to individuals without these conditions.

There is a widely held view Omicron is less severe in general when compared with other VOCs^{12,13}. Seemingly, Omicron prefers the upper respiratory tract through the TMPRSS2-independent endosomal entry pathway, while the replication of the virus is attenuated in lower respiratory tissues⁴¹. This leads to a decreased rate of pulmonary invasion among Omicron patients and corresponds to a higher P/F ratio at the time of ICU admission and a lower chest CTSS when compared with Alpha and Delta VOCs, according to our study. Our study revealed ferritin levels were significantly lower among Omicron patients, which was also observed by other studies^{42–44}, however, we did not find significant differences in the case of C-reactive protein (CRP), IL-6 and D-dimer, and the majority of the laboratory parameters. When we compared the survivors and deceased patients with no regard for VOCs, there were significant differences in IL-6, ferritin, lymphocyte count and D-dimer levels.

We aimed to develop a combined parameter composed of IL-6, Procalcitonin (PCT) and neutrophil/lymphocyte ratio, yet we fell short to acquire an eligible diagnostic accuracy regarding the receiver operating characteristic curve model. There are multiple and complex underlying pathobiochemical mechanisms in comorbidity and immunocompromised statements that cannot be evaluated based on a single summary laboratory result; moreover, blood samples from the patients oftentimes differ considerably during their ICU treatment.

Based on the random forest analysis, we were able to demonstrate the predictive capacity regarding the machine-learning approach in assessing ICU patient lethality due to COVID-19. The analysis—incorporating data from 649 ICU patients and employing 1000 trees with three variables used at each split to mitigate overfitting—, achieved an accuracy of 86.24% in training and 81.4% in testing phases, underscoring its robustness. Key predictors included the P/F ratio, lymphocyte count, and chest CTSS, among others, indicating the relevance of respiratory status, immune response and lung involvement in determining patient outcomes. Another key predictor of our model was the age of ICU patients, Lorenzoni et al.⁴⁵ also reported age as the leading predictor in their models. The predictive accuracy of currently available machine learning tools ranges from 81 to 96%, based on parameters such as age, oxygen saturation, lactate dehydrogenase, urinary carbamide nitrogen, CRP, impaired kidney function, chronic kidney disease, medical history of coronary heart disease and chronic heart failure. These factors have been identified as the most influential predictors regarding COVID-19-related mortality in published literature. However, the impact of these factors upon mortality varies significantly between countries and hospitals, likely due to variations in dataset heterogeneity across study centers and distinct treatment protocols⁴⁶.

The high accuracy and specificity of the random forest analysis^{47,48} affirm its utility in addressing a vital need in critical care medicine with early and accurate prediction of patient outcomes. The model's predictive performance, in particular when identifying high-risk patients, can significantly impact ICU patient management strategies, emphasizing the growing role of machine learning applications in healthcare. Feature importance is vital for the identification of the most influential predictors, such as the P/F ratio, lymphocyte count, and chest CTSS, which highlights specific clinical factors that are crucial in assessing patient prognosis. These findings align with existing literature emphasizing the role of immune response, respiratory function and lung pathology in determining the severity and outcome of COVID-19 infections^{49–52}.

In recent years, various MDL methods have been implemented to predict COVID-19 mortality, even in ICU settings. According to Shen⁵³, the random forest model has the best performance in predicting the risk of death in hospitalized patients with COVID-19. From a technical point-of-view, the most commonly used MDL methods were random forest, logistic regression, and decision tree (commonly gradient boosted, such as XGBoost)¹⁸. Several studies focused on comparing the performance of multiple MDL methods^{54–56}, while others focused more on the clinical point-of-view, exploring different demographic- and/or clinical- and laboratory parameters, and comorbidities in their models^{57,58}. Shi et al.⁵⁹ revealed that RF showed the best performance out of three machine learning models to predict COVID-19 mortality, with the top three important variables being mean arterial pressure, age and PCT. Sakagianni et al.⁶⁰ also found the RF as the best outcome predictor in COVID-19 ICU patients, with urea, age, hemoglobin, CRP, platelet count and lymphocyte count as the top six important variables. Jamshidi et al.⁵⁶ compared several machine learning algorithms to predict mortality in day 0 ICU patients, with 15 factors, mostly laboratory parameters. Random forest outperformed other models and had a superior efficiency, parameters giving the most information on the probability of each patient's death were albumin, urea, red blood cell distribution width and age. Another Iranian study⁶¹ found age as the most important variable for predicting mortality in their RF analysis.

The data preprocessing, methodology, and sample sizes differ both in the listed publications and in the literature, as some include first- and second-day data or even the full length of ICU stay, some only take the laboratory parameters into consideration while others look at complex scoring systems such as SOFA or SAPS as well. Our study shows the outcome of a single RF analysis with both important clinical and laboratory parameters, and a comparison among the Alpha, Delta, and Omicron VOCs as well.

Unlike many conventional models, which may rely on a narrower set of variables, the RF approach allows for the integration of a wide range of clinical parameters, enhancing its predictive capability^{46,62,63}. The practical significance of the recent study lies in its potential to support clinical decision-making by offering a model that combines high predictive accuracy with practical applicability, in which the effects of vaccination and newer VOCs are taken into consideration in a well-defined ICU population with clear exclusion criteria. In providing an accurate prediction of patient outcomes, ICU specialists can customize interventions more effectively and improve patient care and resource allocation. To cite an example, patients identified as high-risk can be prioritized for more aggressive treatment or monitoring. A further advantage regarding the RF is the model can manage non-linear relationships and interactions between variables, enhancing its predictive capability across diverse clinical scenarios. Moreover, RF is known for its resistance to overfitting, specifically with the use of multiple trees, assuring its reliability for practical applications.

Since we only had Hungarian patients' data for model training and did not validate our result on a dataset from a different origin, it is unknown whether it is generalizable to other countries or could be only applied to the Hungarian patient population. However, we chose widely used clinical parameters (such as age, P/F ratio, and lymphocyte count). Therefore, we believe that our predictions could be useful for other researchers and clinicians as well. Another limiting factor is the model's interpretability. While RF offers high accuracy, it is inherently more complex and less interpretable than simpler models, which may pose challenges for clinical communication, even though we tried to enhance its transparency by utilizing feature importance. The model's performance heavily relies on the quality and completeness of input data, making it sensitive to any biases or inaccuracies present, which could be affected by the retrospective nature of the study. These strengths and limitations may underscore the potential of the random forest analysis in clinical applications while highlighting areas for improvement and careful consideration in future research and implementation.

In conclusion, when considering the application of a machine learning algorithm, our study promoted a comprehension of the mechanisms and hierarchically estimated the risk-modifying effects of demographical factors and pathophysiological and pathobiochemical parameters among patients coping with the severe course of SARS-CoV-2 infection. Advanced bioinformatical analysis regarding clinical data can potentially enable clinicians to customize guidelines and to develop care strategies and treatment alternatives, suited for the most vulnerable populations in intensive care and potentially guiding more personalized, timely interventions. Future studies can explore the integration of additional variables, such as genetic markers or detailed clinical history, in larger, externally-validated, multi-center studies with patients from diverse nations and races to refine the model's predictive accuracy. Moreover, the application of the model in prospective clinical trials will provide valuable insights into its real-world effectiveness and impact upon patient outcomes.

Materials and methods

Lineage based analysis

Our retrospective study consists of a collection of 503 clinical isolates of SARS-CoV-2 with clinical parameters and laboratory biomarkers plus diagnostic values collected from 503 ICU patients in a timeframe between January 2021 through November 2022 when Alpha (B.1.1.7), Delta (B.1.617.2), and Omicron (B.1.1.529) and their sub-lineages such as (AY.4, AY.43, AY.46.6, AY.122, AY.126, AY.127, AY.129) in the case of Delta VOC, and (BA.1, BA.1.1, BA.1.17, BA.1.20, BA.2, BA.5, BA.5.2, BA.5.2.1, BE.1.1, BF.14) in the case of Omicron VOC were circulating SARS-CoV-2 lineages in the Southern Transdanubian region, Hungary. ICU patients were included who had positive SARS-CoV-2 RT-qPCR test results and were admitted due to COVID-19. Exclusion criteria were SARS-CoV-2 positive patients who were admitted to the ICU mainly due to other reasons than complications associated with COVID-19 (polytrauma, traumatic brain injury, diabetic ketoacidosis, etc.), patients with hematologic malignancies and other SARS-CoV-2 isolates such as B.1.160 (20A.EU2).

201 clinical isolates produced results of viral WGS, and the remaining 302 clinical isolates were included by generating a 95% range estimation based on a regional sequencing database combined with ours, totalling 2974 individuals, which was performed between 15 October 2020 up through 14 February 2022. Originally, we began with 510 ICU patients, however, seven patients were excluded in the transition phase of Delta to Omicron, since the range estimation was not possible due to the overlap between the two variants in early January 2022, see Fig. 5. The patients were confirmed by having a SARS-CoV-2 RT-qPCR positive test, in which several were tested more than once due to follow-up purposes.

This study aimed to correlate the result of partial WGS and 95% range estimation of the virus to the assessed clinical outcomes using several surrogate endpoints and biomarkers of both internal medicine such as [CRP, PCT, ferritin, IL-6, lymphocyte count, neutrophil count, granulocyte count, leukocyte count, and D-dimer] and ICU databases, chest CTSS, clinical documentation of the cases, and records of the ICU database including primary O₂ saturation, type of O₂ supplementation, Horowitz index (P/F ratio, first and lowest within the first 24 h of ICU admission), length of stay in ICU, final clinical endpoint, and follow-up mortality or soft mortality. Hard mortality can be translated as pure ICU mortality, and soft mortality can be interpreted as ICU mortality plus mortality outside of the ICU within 28 days of follow-up.

Random forest analysis

The final chapter of our results section includes a machine learning algorithm-based analysis referred to as RF, which covers an additional 22 patients from the ICU of the University of Pécs Clinical Centre with early European lineage (B.1.160) in addition to our previous database with 503 individuals, including 124 more patients with unidentified lineages from ICUs of Debrecen University, adding up to 649 total patients. The database from the University of Debrecen was assembled according to the same structure as described in the lineage-based analysis. RF classifier was applied to predict the ICU mortality of SARS-COV-2 infected patients. The workflow is depicted

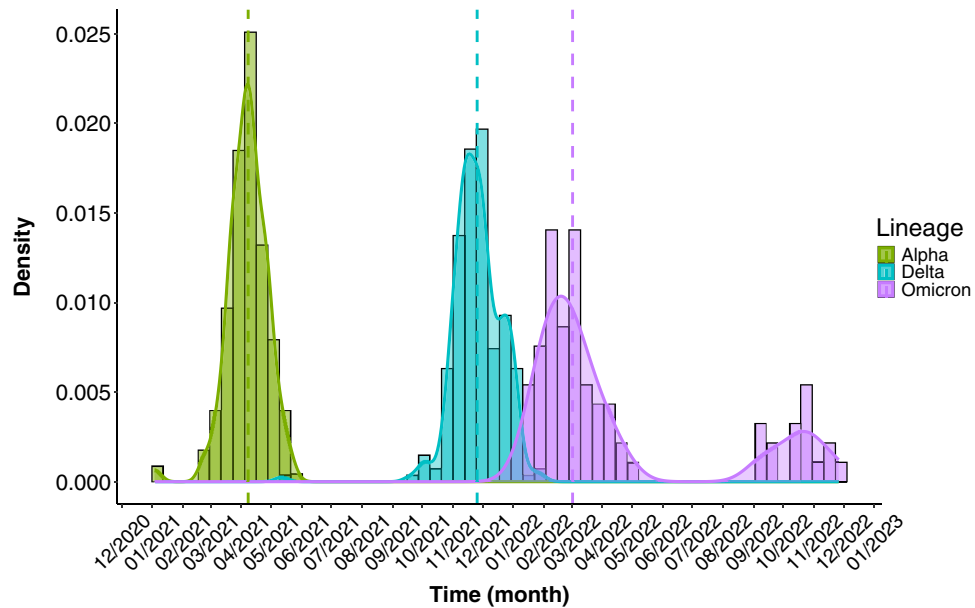


Figure 5. Density distribution of the different lineages. Population density distribution according to Alpha, Delta and Omicron SARS-CoV-2 VOCs recorded during the study timeline.

below in Fig. 6. In our RF model, we used nine parameters: Age, P/F ratio, chest CTSS, Days at ICU, D-dimer, PCT, CRP, Leukocyte count, Lymphocyte count as predictive features and ICU mortality as a binary outcome (Deceased, Survivor). We selected predictors based on their potential importance and to account for multicollinearity, excluding those which are highly correlated with one another. Since several parameters experienced large numbers of missing data points, for example, up to 16% in the case of the Horowitz index, we used data imputation prior to model fitting. To do so, we used the `rflmpute` function from `randomForest` (v4.7–1.1)^{64,65} R package in 649 ICU patients' data. However, all data imputation methods should be used with scrutiny, since it can introduce potential bias into the analyses. Therefore, we applied a sensitivity test following each data curation step. We compared the original data with the after imputation and after over-sampling datasets for each of the used laboratory parameters, to investigate if there was any significant change in distribution and mean or median values. We applied the Kruskal–Wallis rank sum test for continuous or Pearson's Chi-squared test in the case of categorical variables. We did not observe any significant bias due to data imputation (Supplementary Material Table S9).

The `rflmpute` function uses a proximity matrix from the RF model to impute missing values in predictive variables. The algorithm initiates by imputing either the medians or modes, then proceeds to fit the RF model to the now complete data. Subsequently, it utilizes the proximity matrix to enhance the imputation of missing values. This iterative process continues for a preset number of iterations. For continuous variables, the weighted average of the non-missing observations and for categorical predictors, the largest average proximities are imputed. We iterated 10 times the data imputations, each time using 500 trees. Since the mortality outcome was moderately imbalanced (deceased = 0.59/survivor = 0.41), we oversampled the minority class (survivors) to achieve a 0.5 ratio between classes with the use of "ovun.sample" function from the ROSE (v0.0.4) R package⁶⁶. The function generates new samples of synthetic data by enlarging the feature space of minority and majority class examples, which are drawn from a conditional kernel density estimate of the two classes. The methods are described in detail by Menardi and Torelli⁶⁷. After oversampling, we acquired 760 data points. Furthermore, with the increase of sample size, we could improve our estimation of mortality. Then the data were partitioned randomly to a training and testing set in 0.85/0.15 ratio (training data, N = 647, testing data, N = 113). Through the use of this dataset, we made a bagging classifier random forest (RF) model using `randomForest` from `randomForest` (v4.7–1.1) R package, which is based on Breiman's algorithm⁶⁴. During tree building, three features are randomly selected for data splitting at each split, for model construction, 1000 trees have been built. In the case of each new tree, a bootstrap approach has been used, and a new training set is drawn with a replacement from the original balanced and NA replaced training set. Through the use of this method, approximately 36% of the built trees do not use all training data points⁶⁸.

After model fitting, we investigated the RF model performance on the test dataset, defining the most widely used metrics: accuracy with 95% confidence intervals (CI), sensitivity, specificity, and area under the curve (AUC). To calculate these values we used the model predictions to predict new data of the training and testing datasets. Next, in a 2 × 2 confusion matrix, we compared the predictions with the actual data. Through the use of this approach we investigated how well the model performed on supplied training data and also how it performed regarding previously unseen data. To monitor generalization error of the model, the out-of-bag error has been used. Furthermore, we calculated 95% confidence intervals with an exact method for the AUC and accuracy metrics, therefore, we have far more than merely a point estimate. Using the 1-proximity matrix of the RF model,

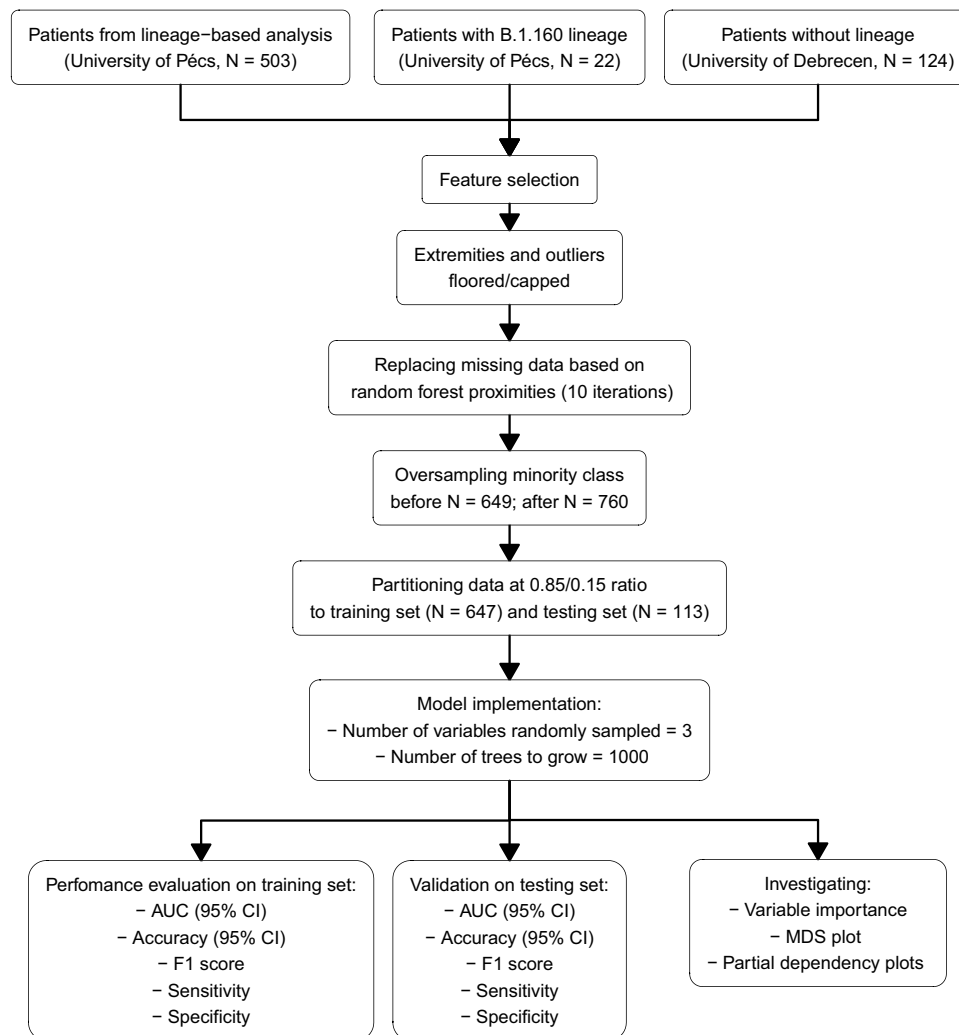


Figure 6. Workflow chart of the random forest analysis.

we have completed classic multidimensional scaling (MDS)^{69,70}. Based on the mean decrease in the Gini score and upon model accuracy, we determined the order of variable importance as well.

Statistics and data management

Patient clinical and demographic data were originally documented in the local hospital information systems (e-MedSolution {T-Systems, Hungary}, IntelliSpace Critical Care and Anesthesia [ICCA] {Philips Medical Systems, USA}). The viral genomic results were originally stored in the Genomics and Bioinformatics Core Facility, Szentágotthai Research Centre. Our extracted data was registered using Excel 2015 (Microsoft, Redmond WA, USA). The final manual database includes an anonymized ID from name and insurance number. The database also contained information regarding the following: gender, age, date and place of testing, RT-qPCR test results with the cycle threshold values, viral WGS results, days spent in ICU, chest CTSS which is calculated based on the percentage of lung lobe involvement [1–5 severity score added up per lung lobe, maximum score is 25], mortality, vaccination history, P/F ratio with two columns, one with the first value following ICU admission, and one with the lowest value during the first 24 h of ICU stay, follow-up of the ICU survivors for 28 days following ICU discharge, laboratory parameters in the first 24 h of ICU stay such as CRP, PCT, ferritin, IL-6, lymphocyte-, leukocyte-, neutrophil-, and granulocyte count, D-dimer, history of the comorbidities like HT, DM, COPD [with differentiating those who used inhalational corticosteroids prior to ICU admission], chronic kidney disease (CKD), immunosuppression, malignancy). An upper limit was applied for CRP, PCT, ferritin, IL-6 and D-dimer based on the first limit of laboratory measurements. These interventions did not cause any differences in any of the statistical significances, however, created an opportunity to design clearer figures and tables with less distortion by outlier values. All statistical calculations were performed in R Statistics version 4.3.2 (R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria).

In regards to descriptive statistics, we reported frequencies and percentages for categorical variables, or mean with standard deviation (SD), median with interquartile range (IQR) and minimum and maximum values for continuous variables. In tables of descriptive statistics for each variable, we offer the above-mentioned statistics

separately for every comparison group and also an overall summary statistic which represents our sampled population. Additionally, the corresponding p-value for the applied statistical test is given. The chi-square test or Fisher's exact test has been used to investigate independence between two categorical variables. In the case of continuous variables, we used the Wilcoxon rank sum test to assess the difference between the medians of the two groups. One-way ANOVA and Pearson's Chi-squared tests were applied to compare the parameters of ICU and non-ICU patients in the case of each lineage separately. We also used univariate and multivariate logistic regression models to investigate the effects of different parameters on mortality. We provided the resulting odds ratios (OR) and their 95% confidence intervals, calculated with the Wilson/Brown method⁷¹. Furthermore, Kaplan–Meier curves have been used to investigate how the different age groups or lineages are affecting patients' survival probability. To statistically compare differences in survival curves, log-rank tests have been used. A p-value < 0.05 was defined as a two-tailed level of significance.

Ethical approval

No informed consent was required due to the retrospective nature of the study and anonymized data curation. Data was collected retrospectively after ethical approval had been given by both the University of Pécs Clinical Centre Regional Committee for Research Ethics (under reference numbers KK/978-1/2022 and 9429-PTE 2022), and the University of Debrecen Clinical Centre Regional Committee for Research Ethics (under reference number DE RKEB/IKEB 6594-2023).

Informed consent statement

Patients' data were used retrospectively and anonymously, so after the Hungarian legal regulation informed consent was not required, according to the decision of the Local and Regional Research Ethics Committee under reference number 9429–PTE 2024.

Institutional review board statement

Data was collected retrospectively after ethical approval had been given by both the University of Pécs Clinical Centre Regional Committee for Research Ethics (under reference numbers KK/978-1/2022 and 9429-PTE 2022), and the University of Debrecen Clinical Centre Regional Committee for Research Ethics (under reference number DE RKEB/IKEB 6594-2023).

Data availability

Source data are provided with this article. Due to the sensitive nature of the data, all the clinical datasets generated during and/or analyzed during the current study are available from the corresponding author upon request (K.G.).

Received: 13 March 2024; Accepted: 19 May 2024

Published online: 24 May 2024

References

- Carabelli, A. M. *et al.* SARS-CoV-2 variant biology: Immune escape, transmission and fitness. *Nat. Rev. Microbiol.* <https://doi.org/10.1038/s41579-022-00841-7> (2023).
- Bottino, F. *et al.* COVID mortality prediction with machine learning methods: A systematic review and critical appraisal. *J. Pers. Med.* **11**, 893 (2021).
- Grasselli, G. *et al.* Baseline characteristics and outcomes of 1591 patients infected with SARS-CoV-2 admitted to ICUs of the Lombardy Region Italy. *JAMA* **323**, 1574 (2020).
- Hosoda, T. *et al.* Intensive care burden of COVID-19 in tertiary care hospitals during the first year of outbreak in Kawasaki City, Japan: A retrospective cohort study. *J. Infect. Chemother.* **28**, 678–683 (2022).
- Taylor, L. Covid-19: Brazil's hospitals close to collapse as cases reach record high. *BMJ* <https://doi.org/10.1136/bmj.n800> (2021).
- Dipaola, F. *et al.* Multimodal deep learning for COVID-19 prognosis prediction in the emergency department: A bi-centric study. *Sci. Rep.* **13**, 10868 (2023).
- Banoei, M. M., Dinparastisaleh, R., Zadeh, A. V. & Mirsaedi, M. Machine-learning-based COVID-19 mortality prediction model and identification of patients at low and high risk of dying. *Crit. Care* **25**, 328 (2021).
- Lu, R. *et al.* Genomic characterisation and epidemiology of 2019 novel coronavirus: Implications for virus origins and receptor binding. *Lancet* **395**, 565–574 (2020).
- Huang, C. *et al.* Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan China. *Lancet* **395**, 497–506 (2020).
- Gorbalenya, A. E. *et al.* The species severe acute respiratory syndrome-related coronavirus: Classifying 2019-nCoV and naming it SARS-CoV-2. *Nat. Microbiol.* **5**, 536–544 (2020).
- de Prost, N. *et al.* Clinical phenotypes and outcomes associated with SARS-CoV-2 variant omicron in critically ill French patients with COVID-19. *Nat. Commun.* **13**, 6025 (2022).
- Bouzig, D. *et al.* Comparison of patients infected with delta versus omicron COVID-19 variants presenting to Paris emergency departments. *Ann. Intern. Med.* **175**, 831–837 (2022).
- Menni, C. *et al.* Symptom prevalence, duration, and risk of hospital admission in individuals infected with SARS-CoV-2 during periods of omicron and delta variant dominance: A prospective observational study from the ZOE COVID Study. *Lancet* **399**, 1618–1624 (2022).
- Paul, S. G. *et al.* Combating Covid-19 using machine learning and deep learning: Applications, challenges, and future perspectives. *Array* **17**, 100271 (2023).
- Xu, Z., Su, C., Xiao, Y. & Wang, F. Artificial intelligence for COVID-19: Battling the pandemic with computational intelligence. *Intell. Med.* **2**, 13–29 (2022).
- Heidari, A., Jafari Navimipour, N., Unal, M. & Toumaj, S. The COVID-19 epidemic analysis and diagnosis using deep learning: A systematic literature review and future directions. *Comput. Biol. Med.* **141**, 105141 (2022).
- Lan, L. *et al.* Artificial intelligence-based approaches for COVID-19 patient management. *Intell. Med.* **1**, 10–15 (2021).
- Viderman, D., Kotov, A., Popov, M. & Abdildin, Y. Machine and deep learning methods for clinical outcome prediction based on physiological data of COVID-19 patients: A scoping review. *Int. J. Med. Inform.* **182**, 105308 (2024).

19. Habibi, M., Taheri, G. & Aghdam, R. A SARS-CoV-2 (COVID-19) biological network to find targets for drug repurposing. *Sci. Rep.* **11**, 9378 (2021).
20. Chen, R. *et al.* Prediction of prognosis in COVID-19 patients using machine learning: A systematic review and meta-analysis. *Int. J. Med. Inform.* **177**, 105151 (2023).
21. Bottrighi, A. *et al.* A machine learning approach for predicting high risk hospitalized patients with COVID-19 SARS-Cov-2. *BMC Med. Inform. Decis. Mak.* **22**, 340 (2022).
22. Wu, Y. *et al.* A deep learning method for predicting the COVID-19 ICU patient outcome fusing X-rays, respiratory sounds, and ICU parameters. *Expert Syst. Appl.* **235**, 121089 (2024).
23. Cheng, J. *et al.* COVID-19 mortality prediction in the intensive care unit with deep learning based on longitudinal chest X-rays and clinical data. *Eur. Radiol.* **32**, 4446–4456 (2022).
24. Smit, J. M. *et al.* Dynamic prediction of mortality in COVID-19 patients in the intensive care unit: A retrospective multi-center cohort study. *Intell. Based Med.* **6**, 100071 (2022).
25. Siepel, S. *et al.* Evolution of clinical phenotypes of COVID-19 patients during intensive care treatment: An unsupervised machine learning analysis. *J. Intensive Care Med.* **38**, 612–629 (2023).
26. de Jong, V. M. T. *et al.* Clinical prediction models for mortality in patients with covid-19: External validation and individual participant data meta-analysis. *BMJ* <https://doi.org/10.1136/bmj-2021-069881> (2022).
27. Raman, G. *et al.* Machine learning prediction for COVID-19 disease severity at hospital admission. *BMC Med. Inform. Decis. Mak.* **23**, 46 (2023).
28. Piroth, L. *et al.* Comparison of the characteristics, morbidity, and mortality of COVID-19 and seasonal influenza: A nationwide, population-based retrospective cohort study. *Lancet Respir. Med.* **9**, 251–259 (2021).
29. Kowsar, R. *et al.* Risk of mortality in COVID-19 patients: A meta- and network analysis. *Sci. Rep.* **13**, 2138 (2023).
30. Williamson, E. J. *et al.* Factors associated with COVID-19-related death using OpenSAFELY. *Nature* **584**, 430–436 (2020).
31. Centers for Disease Control and Prevention. Risk of COVID-19-Related Mortality. <https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/science/data-review/risk.html> (2022).
32. Centers for Disease Control and Prevention. COVID-19–Related In-Hospital Deaths. <https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/science/data-review/populations.html> (2022).
33. Grasselli, G. *et al.* Risk factors associated with mortality among patients with COVID-19 in intensive care units in Lombardy Italy. *JAMA Intern. Med.* **180**, 1345 (2020).
34. Biswas, M., Rahaman, S., Biswas, T. K., Haque, Z. & Ibrahim, B. Association of sex, age, and comorbidities with mortality in COVID-19 patients: A systematic review and meta-analysis. *Intervirology* <https://doi.org/10.1159/000512592> (2020).
35. Chatterjee, S. *et al.* Association of COVID-19 with comorbidities: An update. *ACS Pharmacol. Transl. Sci.* **6**, 334–354 (2023).
36. Carbonell, R. *et al.* Mortality comparison between the first and second/third waves among 3795 critical COVID-19 patients with pneumonia admitted to the ICU: A multicentre retrospective cohort study. *Lancet Reg. Health Eur.* **11**, 100243 (2021).
37. Benes, J. *et al.* SepsEast registry indicates high mortality associated with COVID-19 caused acute respiratory failure in Central-Eastern European intensive care units. *Sci. Rep.* **12**, 14906 (2022).
38. Botta, M. *et al.* Ventilation management and clinical outcomes in invasively ventilated patients with COVID-19 (PRoVENT-COVID): A national, multicentre, observational cohort study. *Lancet Respir. Med.* **9**, 139–148 (2021).
39. Nagy, É., Golopenca, P., Barcs, I. & Ludwig, E. Comparison of COVID-19 severity and mortality rates in the first four epidemic waves in Hungary in a single-center study with special regard to critically ill patients in an intensive care unit. *Trop. Med. Infect. Dis.* **8**, 153 (2023).
40. European Centre for Disease Prevention and Control. COVID-19 Vaccine Tracker. <https://vaccinetracker.ecdc.europa.eu/public/extensions/COVID-19/vaccine-tracker-mobile.html?fbclid=IwAR2mS6kZ1LzYPAAci7u31kkVNLLi0QNV6YCD3V4fpiF9IM9cjkwyPLN280#uptake-tab>.
41. Willett, B. J. *et al.* SARS-CoV-2 Omicron is an immune escape variant with an altered cell entry pathway. *Nat. Microbiol.* **7**, 1161–1179 (2022).
42. Wang, J., Choy, K. W., Lim, H. Y. & Ho, P. Laboratory markers of severity across three COVID-19 outbreaks in Australia: Has Omicron and vaccinations changed disease presentation?. *Intern. Emerg. Med.* **18**, 43–52 (2023).
43. Suzuki, K., Ichikawa, T., Suzuki, S., Tanino, Y. & Kakinoki, Y. Clinical characteristics of the severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 omicron variant compared with the delta variant: a retrospective case-control study of 318 outpatients from a single sight institute in Japan. *PeerJ* **10**, e13762 (2022).
44. Trofin, F. *et al.* Inflammatory response in COVID-19 depending on the severity of the disease and the vaccination status. *Int. J. Mol. Sci.* **24**, 8550 (2023).
45. Lorenzoni, G. *et al.* COVID-19 ICU mortality prediction: A machine learning approach using SuperLearner algorithm. *J. Anesth. Analg. Crit. Care* **1**, 3 (2021).
46. Ovcharenko, E. *et al.* Cardiovascular and renal comorbidities included into neural networks predict the outcome in COVID-19 patients admitted to an intensive care unit: Three-center, cross-validation, age- and sex-matched study. *J. Cardiovasc. Dev. Dis.* <https://doi.org/10.1186/s44158-021-00002-x> (2023).
47. Ko, H. *et al.* An artificial intelligence model to predict the mortality of COVID-19 patients at hospital admission time using routine blood samples: Development and validation of an ensemble model. *J. Med. Internet. Res.* **22**, e25442 (2020).
48. Chen, Z. *et al.* A risk score based on baseline risk factors for predicting mortality in COVID-19 patients. *Curr. Med. Res. Opin.* **37**, 917–927 (2021).
49. Jiao, Z. *et al.* Prognostication of patients with COVID-19 using artificial intelligence based on chest x-rays and clinical data: A retrospective study. *Lancet Digit. Health* **3**, e286–e294 (2021).
50. Kukar, M. *et al.* COVID-19 diagnosis by routine blood tests using machine learning. *Sci. Rep.* **11**, 10738 (2021).
51. Aljame, M., Imtiaz, A., Ahmad, I. & Mohammed, A. Deep forest model for diagnosing COVID-19 from routine blood tests. *Sci. Rep.* **11**, 16682 (2021).
52. Chimbunde, E. *et al.* Machine learning algorithms for predicting determinants of COVID-19 mortality in South Africa. *Front. Artif. Intell.* **6**, 1171256 (2023).
53. Shen, Q. Research of mortality risk prediction based on hospital admission data for COVID-19 patients. *Math. Biosci. Eng.* **20**, 5333–5351 (2023).
54. Priya, N. H. & Rajeswari, S. Covid-19 prediction using enhanced KNN imputation for data pre-processing. *Int. Res. J. Multidiscip. Scope* **05**, 714–728 (2024).
55. Raused, M. *et al.* Machine learning and predictive models: 2 Years of Sars-CoV-2 pandemic in a single-center retrospective analysis. *J. Anesth. Analg. Crit. Care* **2**, 42 (2022).
56. Jamshidi, E. *et al.* Using machine learning to predict mortality for COVID-19 patients on day 0 in the ICU. *Front. Digit. Health* <https://doi.org/10.3389/fgth.2021.681608> (2022).
57. Elhazmi, A. *et al.* Machine learning decision tree algorithm role for predicting mortality in critically ill adult COVID-19 patients admitted to the ICU. *J. Infect. Public Health* **15**, 826–834 (2022).
58. Li, D. *et al.* Prediction of COVID-19 severity using chest computed tomography and laboratory measurements: Evaluation using a machine learning approach. *JMIR Med. Inform.* **8**, e21604 (2020).

59. Shi, Y., Qin, Y., Zheng, Z., Wang, P. & Liu, J. Risk factor analysis and multiple predictive machine learning models for mortality in COVID-19: A multicenter and multi-ethnic cohort study. *J. Emerg. Med.* **65**, e584–e593 (2023).
60. Sakagianni, A. *et al.* Prediction of COVID-19 mortality in the intensive care unit using machine learning. *Stud. Health Technol. Inform.* **302**, 536–540 (2023).
61. Najafi-Vosough, R., Bakhshaei, M. H. & Farzian, M. Predicting mortality and ICUs transfer in hospitalized COVID-19 patients using random forest model. *Arch. Anesth. Crit. Care* <https://doi.org/10.18502/aacc.v9i6.14444> (2023).
62. Zhan, C., Zheng, Y., Zhang, H. & Wen, Q. Random-forest-bagging broad learning system with applications for COVID-19 pandemic. *IEEE Internet Things J.* **8**, 15906–15918 (2021).
63. Zhao, Y. *et al.* Statistical analysis and machine learning prediction of disease outcomes for COVID-19 and pneumonia patients. *Front. Cell Infect. Microbiol.* **12**, 838749 (2022).
64. Breiman, L. Random forests. *Mach. Learn.* **45**, 5–32 (2001).
65. Liaw, A. & Wiener, M. Classification and regression by randomForest. *R News* **2**, 18–22 (2002).
66. Lunardon, N., Menardi, G. & Torelli, N. ROSE: A package for binary imbalanced learning. *R J.* **6**, 79 (2014).
67. Menardi, G. & Torelli, N. Training and assessing classification rules with imbalanced data. *Data Min. Knowl. Disc.* **28**, 92–122 (2014).
68. Breiman, L. Bagging predictors. *Mach. Learn.* **24**, 123–140 (1996).
69. Cox, M. A. A. & Cox, T. F. Multidimensional Scaling. In *Handbook of Data Visualization* (eds Chen, C.-H. *et al.*) (Springer, 2008). https://doi.org/10.1007/978-3-540-33037-0_14.
70. Gower, J. C. Some distance properties of latent root and vector methods used in multivariate analysis. *Biometrika* **53**, 325 (1966).
71. Brown, L. D., Cai, T. T. & DasGupta, A. Interval estimation for a binomial proportion. *Stat. Sci.* <https://doi.org/10.1214/ss/1009213286> (2001).

Author contributions

Á.H., D.M., A.V., and K.G. contributed to the conceptualization. Á.H., D.M., K.J., A.V., and R.H. conceived and designed the experiments. Á.H., D.M., A.V., N.B., I.L., and L.G. curated the data. A.V. and R.H. analyzed the data. Á.H., D.M., A.V., and K.G. wrote the first and the revised drafts of the manuscript. Á.H., D.M., A.V., R.H., K.J., N.B., I.L., B.F., L.G., P.A.G., G.L.K., and K.G. contributed to the writing of the manuscript. Á.H., D.M., A.V., R.H., K.J., N.B., I.L., B.F., L.G., P.A.G., G.L.K., and K.G. interpreted the results. A.V. made the figures. G.L.K. and K.G. secured funding acquisition. K.J. and K.G. supervised the work. All the authors agreed with the results and conclusions of the manuscript. All authors have read, and confirm that they meet, ICMJE criteria for authorship.

Funding

Open access funding provided by University of Pécs. This research was funded by the ÚNKP-23–2–III New National Excellence Program of the Ministry for Innovation and Technology, from the source of the National Research, Development, and Innovation Fund. It was also financed by the Thematic Excellence Program 2021 Health Sub-programme of the Ministry for Innovation and Technology in Hungary, within the framework of the EGA-13 project of the University of Pécs. Additionally, the University of Pécs Institutional Research Fund provided funding under reference number 009_2023_PTE_RK/25.

Competing interests

The authors declare no competing interests.

Additional information

Supplementary Information The online version contains supplementary material available at <https://doi.org/10.1038/s41598-024-62791-9>.

Correspondence and requests for materials should be addressed to K.G.

Reprints and permissions information is available at www.nature.com/reprints.

Publisher's note Springer Nature remains neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.



Open Access This article is licensed under a Creative Commons Attribution 4.0 International License, which permits use, sharing, adaptation, distribution and reproduction in any medium or format, as long as you give appropriate credit to the original author(s) and the source, provide a link to the Creative Commons licence, and indicate if changes were made. The images or other third party material in this article are included in the article's Creative Commons licence, unless indicated otherwise in a credit line to the material. If material is not included in the article's Creative Commons licence and your intended use is not permitted by statutory regulation or exceeds the permitted use, you will need to obtain permission directly from the copyright holder. To view a copy of this licence, visit <http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>.

© The Author(s) 2024