

МОНИТОРИНГ АНТИТЕЛ К SARS-COV-2 У РАБОТНИКОВ ПРОТИВОТУБЕРКУЛЕЗНОГО СТАЦИОНАРА

Ю.Ю. Гармаш^{1,2}, Д.А. Иванова^{1,2}, С.Е. Борисов^{1,2}, Е.М. Богородская^{1,2}, Н.В. Яковлева¹, А.А. Александров¹

MONITORING OF SARS-COV-2 ANTIBODIES IN TUBERCULOSIS IN-PATIENT CLINIC STUFF

Yu.Yu. Garmash, D.A. Ivanova, S.E. Borisov, E.M. Bogorodskaya, N.V. Yakovleva, A.A. Aleksandrov

Цель. Изучение особенностей гуморального иммунитета к SARS-CoV-2 среди работников противотуберкулезного стационара в условиях распространения новой коронавирусной инфекции.

Материалы и методы. Представлены промежуточные результаты одноцентрового проспективного наблюдательного исследования, включившего 350 сотрудников туберкулезного легочного стационара, не перепрофилированного для работы с COVID-19. Проанализированы результаты еженедельного мониторинга уровня IgM и IgG за период с 15 мая по 28 ноября 2020 г. в сопоставлении с результатами диагностики случаев заболевания COVID-19 (идентификация возбудителя в мазке из рото- и носоглотки, изменения в легочной ткани по данным компьютерной томографии).

Результаты. За время наблюдения COVID-19 констатирована у 106 чел. (30,3%). Антитела к SARS-CoV-2 (IgG и/или IgM) на старте мониторинга выявлены у 30 чел. (8,6%, 95%ДИ 5,8–12,2%), к концу периода наблюдения – у 95 чел. (27,1%, 95%ДИ 22,7–32,0%). Частота выявления антител у переболевших составила 70,8% (95%ДИ 55,6–88,7%); класса IgM – у 23 (21,7%), класса G – у 73 (68,9%). Медиана срока от выявления заболевания до обнаружения IgM составляла 1,5 нед. (интерквартильный размах 0–4 нед.), до обнаружения IgG – 4 нед. (интерквартильный размах 2–5 нед.). У сотрудников, перенесших COVID-19, на любом сроке наблюдения шансы выработки IgG в защитном титре были выше в случае среднетяжелого или тяжелого течения заболевания с развитием пневмонии по сравнению с легким течением (ОШ 2,6, 95%ДИ 1,1–6,3); выше был и титр IgG ($p < 0,01$). Выявлены «атипичные» варианты антительного ответа у лиц с подтвержденной COVID-19: отсутствие формирования антител (31 чел.), выработка антител только класса М (4 чел.); длительная персистенция IgG в титре менее 30 г/л, задолго опережающая манифестацию заболевания (6 чел.). Чувствительность серологического тестирования как метода выявления текущей и/или перенесенной коронавирусной инфекции составила 70,8% (95%ДИ 61,1–79,2%), специфичность – 91,8% (95%ДИ 87,6–94,9%).

Заключение. Частота выявления антител к SARS-CoV-2 среди работников противотуберкулезного стационара соответствует динамике заболеваемости COVID-19. Вирус-специфичные

Objective. To study the features of humoral immunity to SARS-CoV-2 among the medical staff of an antitubercular hospital in the context of the spread of a new coronavirus infection.

Materials and methods. The interim results of a single-center prospective observational study involving 350 employees of a pulmonary tuberculosis hospital that was not repurposed to work with COVID-19 are presented. The results of weekly monitoring of IgM and IgG levels for the period from May 15 to November 28, 2020, were analyzed in comparison with the results of diagnosis of COVID-19 cases (identification of the pathogen in a smear from the oropharynx and nasopharynx, changes in lung tissue according to computed tomography).

Results. During the observation period, COVID-19 was detected in 106 people (30.3%). Antibodies to SARS-CoV-2 (IgG and/or IgM) were detected at the start of monitoring in 30 people (8.6%, 95%CI 5.8-12.2%), by the end of the follow-up period – in 95 people (27.1%, 95%CI 22.7-32.0%). The frequency of detection of antibodies in the patients was 70.8% (95%CI 55.6-88.7%); IgM class in 23 (21.7%), G class in 73 (68.9%). The median time from disease detection to IgM detection was 1.5 weeks (interquartile range 0-4 weeks), before the discovery of IgG – 4 weeks (interquartile range 2-5 weeks). At any follow-up period, the chances of IgG production in the protective titer were higher in the case of moderate or severe disease with the development of pneumonia compared to the mild course (OR 2.6, 95%CI 1.1-6.3); the IgG titer was also higher ($p < 0.01$). «Atypical» variants of the antibody response were identified in individuals with confirmed COVID-19: no antibody formation (31 people), production of class M antibodies only (4 people); long-term persistence of IgG in a titer of less than 30 g/l, long ahead of the disease manifestation (6 people). The sensitivity of serological testing as a method for detecting current and/or transmitted coronavirus infection was 70.8% (95%CI 61.1-79.2%), and the specificity was 91.8% (95%CI 87.6-94.9%).

Conclusion. The frequency of detection of antibodies to SARS-CoV-2 among employees of the TB hospital corresponds to the dynamics of the incidence of COVID-19. Virus-specific antibodies were detected in 70.8% of COVID-19 survivors (IgG in 68.9%); in the absolute majority of patients, the antibodies remained in a significant titer (IgG > 10 g/l) for 6 months or more at the start of testing. When the disease occurs without the development of viral pneumonia, the chances of forming

¹ ФБУЗ «Московский городской научно-практический центр борьбы с туберкулезом Департамента здравоохранения города Москвы».
² ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Минздрава России.

антитела выявлены у 70,8% перенесших COVID-19 (IgG – у 68,9%); у абсолютного большинства переболевших к моменту начала тестирования антитела сохранялись в значимом титре ($\text{IgG} > 10 \text{ з/л}$) в течение 6 месяцев и более. При заболевании, протекающем без развития вирусной пневмонии, шансы формирования значимого и стойкого антительного ответа значительно ниже. Серологическое тестирование является чувствительным и высокоспецифичным методом выявления перенесенного заболевания COVID-19.

Ключевые слова: серопревалентность, иммуноглобулины M и G, антительный ответ, коронавирусная инфекция COVID-19, медицинские работники

Введение

Недавнее появление и быстрое глобальное распространение коронавируса, вызывающего тяжелый острый респираторный синдром (SARS-CoV-2), и связанного с ним коронавирусного заболевания 2019 года (COVID-19) стало причиной беспрецедентного кризиса в области здравоохранения [1]. Риск развития заболевания, его клинические особенности, течение и прогноз во многом зависят от особенностей функционирования иммунной системы [17, 19, 20, 22].

Одними из первых стали доступны для тестирования показатели гуморального иммунного ответа заболевших и перенесших COVID-19. Быстрое и почти универсальное обнаружение вирус-специфических иммуноглобулинов классов M и G (IgM и IgG) с помощью современных тест-систем свидетельствует о том, что SARS-CoV-2 вызывает устойчивый B-клеточный ответ. Он направлен на обеспечение нейтрализации вируса при первичном инфицировании и на защиту от повторного заражения. После разрешения инфекции в течение определенного времени синтез антител (IgG) продолжается; долгосрочная защита достигается за счет индукции долгоживущих B-клеток памяти, ее обеспечение имеет важное медицинское и социальное значение [22].

Основным показателем напряженности гуморального иммунного ответа является концентрация вирус-специфичных антител – классов M («первая линия защиты», ассоциируется с текущей инфекцией) и G (маркер текущей и перенесенной инфекции, свидетельствует о формировании долгосрочного иммунного ответа против коронавируса). Особенностью гуморального ответа на инфекцию SARS-CoV-2 является небольшой временной промежуток между появлением в крови разных классов иммуноглобулинов [13]. Согласно Временным методическим рекомендациям по диагностике, профилактике и лечению новой коронавирусной инфекции [1] серологическое тестирование на IgM и/или IgG к SARS-CoV-2 рекомендуется использовать: 1) в качестве дополнительного метода

a significant and persistent antibody response are significantly lower. Serological testing is a sensitive and highly specific method for detecting a previous COVID-19 disease.

Key words: seroprevalence, immunoglobulins M and G, antibody response, COVID-19, medical staff

диагностики острой инфекции (с учетом серонегативного периода); 2) для выявления лиц с бессимптомной формой инфекции; 3) для отбора потенциальных доноров иммунокомпетентной плазмы; 4) для установления факта перенесенной ранее инфекции при обследовании групп риска и проведении массового обследования населения для оценки уровня популяционного иммунитета.

В связи с тем, что COVID-19 признан инфекцией, связанной с оказанием медицинской помощи, и одной из приоритетных групп риска инфицирования являются медицинские работники, очень важны определение болеющих бессимптомно, доли переболевших, наличие и характер долговременной защиты от повторного заражения в этой группе. В настоящее время в России регламентировано регулярное (еженедельное) серологическое тестирование всем медицинским работникам, которым оно не проводилось ранее, или если был получен отрицательный результат [1]. Подобные масштабные тестирования проводятся среди сотрудников медицинских организаций различного профиля по всему миру, в рамках государственных программ и научных исследований [5–10, 12, 14, 15, 18]. Результаты их предварительного анализа позволяют выделить ряд важных вопросов, нуждающихся в дальнейшем изучении:

- частота обнаружения вирус-специфичных иммуноглобулинов в значимом титре (т.н. серопревалентность, отождествляемая с популяционным иммунитетом) – показатель не изучен у работников противотуберкулезных учреждений, представляющих особую группу риска ввиду профессионального контакта с туберкулезом и нередко имеющих латентную туберкулезную инфекцию;
- динамика уровней антител переболевших (длительность персистенции разных классов иммуноглобулинов в крови), варианты этой динамики и факторы, ее определяющие;
- взаимосвязь тяжести заболевания и титра антител;
- соотношение титра IgG и риска повторного инфицирования.

Цель исследования

Изучение особенностей гуморального иммунитета к SARS-CoV-2 среди работников противотуберкулезного стационара в условиях распространения новой коронавирусной инфекции, усиленных противоэпидемических мероприятий.

Материалы и методы исследования

Основанием для проведения лабораторного обследования на COVID-19 медицинских работников на рабочих местах один раз в неделю и немедленно при появлении симптомов, не исключающих COVID-2019, явилось постановление Главного государственного санитарного врача Российской Федерации от 30.03.2020 № 9 «О дополнительных мерах по недопущению распространения COVID-2019» [3] и приказ Департамента здравоохранения города Москвы от 7 мая 2020 года № 499 «О проведении лабораторных исследований на определение иммуноглобулинов к новой коронавирусной инфекции (COVID-19)».

Регулярное исследование крови на IgM и IgG к SARS-CoV-2 проводили с 27.04.2020 г. всем работникам ГБУЗ «Московский городской научно-практический центр борьбы с туберкулезом Департамента здравоохранения Москвы» (далее – Центр).

За 6,5 месяца в Центре проведено серологическое исследование 26 475 образцов у 2980 работников медицинских подразделений, не перепрофилированных для работы с COVID-19 (6–10 результатов на человека).

При нормальном содержании антител (IgM – менее 2 оптических световых единиц – ОСЕ, IgG – менее 10 Ед/мл) сотрудники расценивались как «не сталкивавшиеся с вирусом», нуждающиеся в соблюдении мер предосторожности для предотвращения возможного заболевания (22 810 образцов, 86,2%).

При выявлении повышенного титра IgG (10 Ед/мл и более) и нормального содержания IgM (менее 2 ОСЕ) сотрудники расценивались как ранее инфицированные, возможно, перенесшие инфекцию в скрытой (бессимптомной) форме, нуждающиеся только в соблюдении общих правил безопасности и в рабочее время – противоэпидемического режима туберкулезного учреждения (1961 образец, 7,4%). Одновременное выявление повышенного титра IgM и IgG (379 образцов, 1,4%) было основанием для тестирования мазка из носоглотки и ротоглотки на РНК SARS-CoV-2 и компьютерной томографии органов грудной клетки (КТ ОГК) с целью выявления бессимптомных носителей и лиц с легким течением болезни, у которых с момента предполагаемого заражения прошло по меньшей мере 10–14 дней и был риск развития вирусной пневмонии. При отсутствии РНК и патологии на КТ сотрудника допускали в работу.

При выявлении титра IgM в пределах 2 ОСЕ и IgG менее 10 Ед/мл результат расценивали как отрицательный (623 образца, 2,4%). При выявлении IgM в титре 2 ОСЕ и более (при отсутствии повышения IgG) результат расценивали как острое заболевание, независимо от наличия клинических проявлений

(701 образец, 2,6%); у сотрудника исследовали мазок из носо- и ротоглотки на РНК SARS-CoV-2, проводили КТ ОГК. При отсутствии РНК и патологии на КТ сотрудника допускали в работу.

Подробно проанализированы результаты длительного регулярного мониторинга IgM и IgG к SARS-CoV-2 350 сотрудников туберкулезного легочного стационара Клиники № 1 Центра, не перепрофилированного для работы с COVID-19, 300 женщин (85,7%) и 50 мужчин (14,3%). Средний возраст сотрудников составил $50,6 \pm 12,5$ лет (от 21 до 83 лет, медиана – 51 год, интерквартильный размах (ИКР) – 42,0–59,2 года); доля лиц в возрасте 65 лет и старше – 11,4% (40 чел.).

Серологический мониторинг проводили в течение 28 недель, с 15 мая по 28 ноября 2020 года; забор крови на анализ осуществляли с интервалом 7–10 дней. С такой же частотой тестировали мазки из рото- и носоглотки на РНК вируса; при появлении симптомов и/или положительном результате мазка, либо первом выявлении диагностического титра IgM проводили мультиспиральную КТ ОГК в перепрофилированном под коронавирусную инфекцию подразделении Центра.

Для определения иммуноглобулинов использовали иммунохимический анализатор Mindray CL 20001 и наборы реагентов для иммунофлюоресцентного анализа, зарегистрированные в Российской Федерации: 1) SARS Коронавирус антитела класса иммуноглобулин М (IgM), набор для иммунофлюоресцентного анализа (вид 142150); 2) SARS Коронавирус антитела класса иммуноглобулин G (IgG), набор для иммунофлюоресцентного анализа (вид 142300) [4].

Для лабораторного исследования мазков из носоглотки и ротоглотки применяли метод полимеразной цепной реакции (ПЦР), совмещенной со стадией обратной транскрипции РНК вируса SARS-CoV-2. Использовали термоциклер С1000 системы ПЦР в реальном времени Bio-Rad с флуоресцентной детекцией CFX96 Touch, комплект реагентов для выделения РНК/ДНК из клинического материала «РИБО-преп», набор реагентов АмплиСенс CoV-Bat-FL для выявления РНК коронавирусов, вызывающих тяжелую респираторную инфекцию (MERS-CoV (Middle East respiratory syndrome coronavirus) и SARS-CoV-родственных вирусов) методом ПЦР с гибридизационно-флуоресцентной детекцией продуктов амплификации; комплект реагентов для получения ДНК на матрице РНК «РЕБЕРТА-L» (обратной транскриптазы) и последующего анализа методом полимеразной цепной реакции (ФБУН ЦНИИЗ Роспотребнадзора).

Проводили сопоставление результатов серологической диагностики с частотой и сроками выявления заболевания. Диагноз COVID-19 устанавливали в соответствии с действующей редакцией Временных методических рекомендаций Минздрава России [1] с помощью идентификации возбудителя (обнаружения РНК SARS-CoV-2 в мазке из рото- и носоглотки) либо выявления характерных изменений в легочной ткани по данным КТ ОГК.

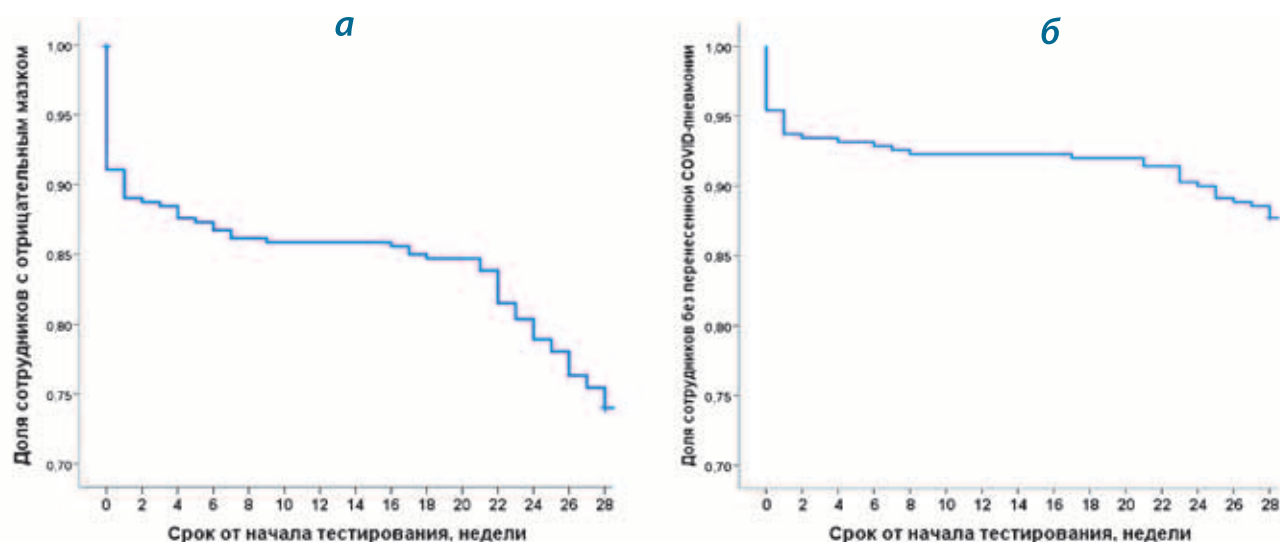


Рис. 1. Динамика доли сотрудников: а) с положительным мазком; б) с коронавирусной пневмонией, развившейся в течение периода наблюдения (кривые Каплана-Майера)

Статистическую обработку полученных данных проводили с использованием программного обеспечения IBM SPSS Statistics 26.0. Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

Результаты исследования

За все время наблюдения у 91 из 350 сотрудников (26,0%) выявлена РНК коронавируса в мазке из рото- и носоглотки; у 44 чел. (12,6%) выявлена двусторонняя COVID-ассо-

циированная пневмония при КТ ОГК. В целом заболевание новой коронавирусной инфекцией, подтвержденное результатами исследования мазка и/или выявлением характерных изменений при КТ, констатировано у 106 человек (30,3%). Значимых различий по частоте выявления инфекции в зависимости от пола и возраста выявлено не было.

Заболевание выявляли на разных сроках наблюдения; на рисунках 1а и 1б с помощью кривых Каплана-Майера продемонстрировано, что наибольшая заболеваемость отмечена на

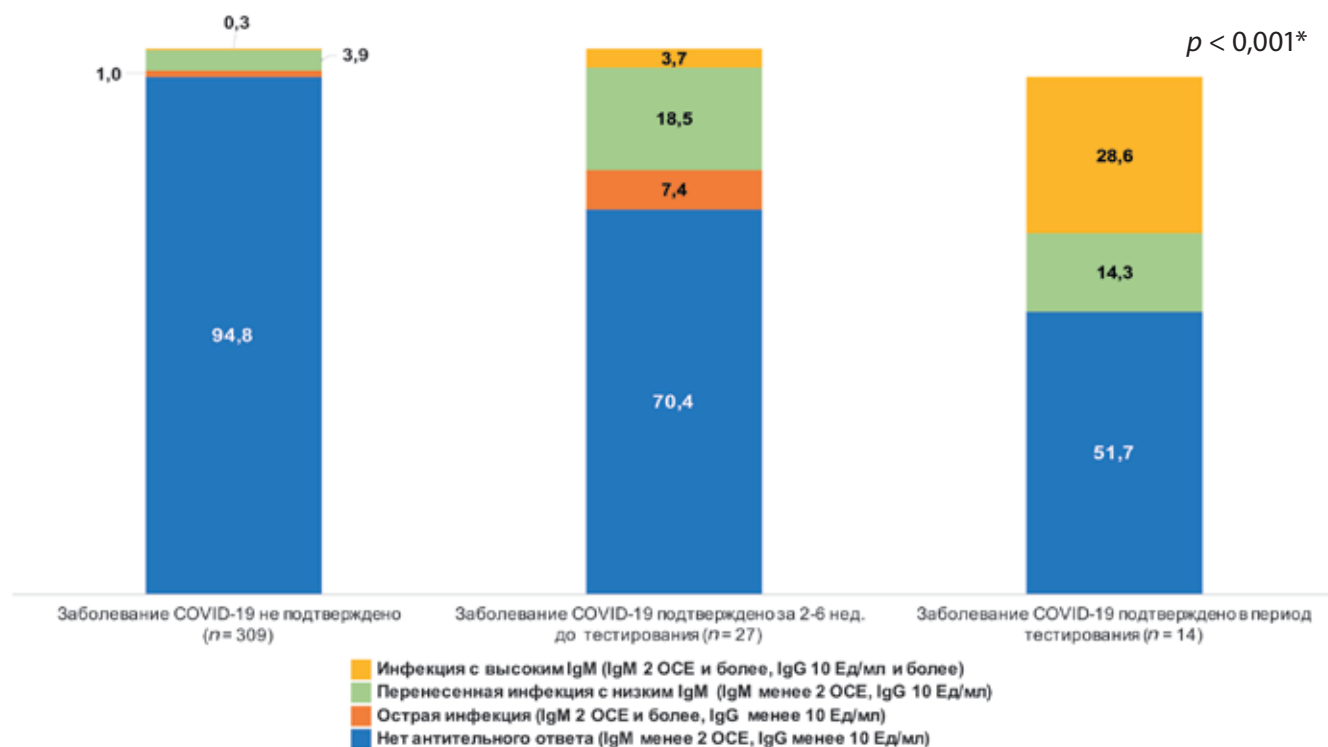


Рис. 2. Результаты первого тестирования 350 сотрудников на антитела классов IgM и IgG к SARS-CoV-2 в зависимости от факта заболевания COVID-19 (%)

* Значимость межгрупповых различий по критерию χ^2

этапе первых четырех и последних 8–12 недель тестирования (конец весны и осень 2020 года, с наличием «светлого промежутка» в летние месяцы, в соответствии с российскими «волнами» эпидемического процесса COVID-19).

Частота обнаружения антител (IgM и/или IgG) в диагностически значимом титре по результатам первого тестирования (начатого в конце апреля 2020 года) составила 8,6% (95%ДИ 5,8–12,2%), на момент окончания 28-недельного периода мониторинга (конец ноября 2020 года) – 27,1% (95%ДИ 22,7–32,0%).

По результатам первого тестирования все 350 человек неравномерно распределились следующим образом:

- большинство составили лица с нормальным титром антител («не сталкивавшиеся с вирусом», IgM менее 2 ОСЕ и IgG менее 10 Ед/мл – 320 чел. (91,4%);
- лица с повышением только IgM, подозрением на острую инфекцию (IgM 2 ОСЕ и более, IgG менее 10 Ед/мл) – 5 чел. (1,4%);
- лица с перенесенной инфекцией (IgM менее 2 ОСЕ, IgG 10 Ед/мл и более) – 19 чел. (5,4%);

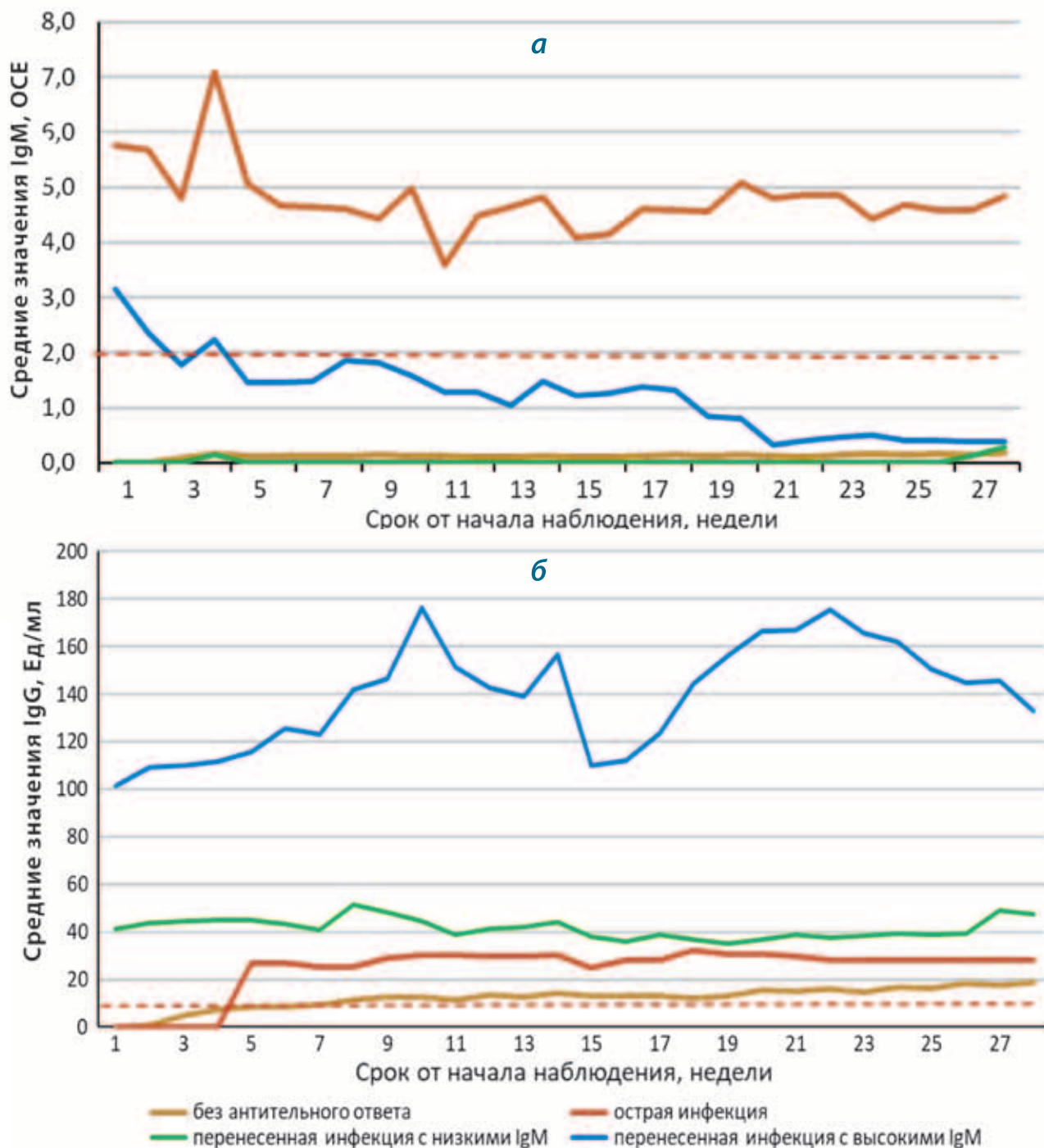


Рис. 3. Динамика титра антител к SARS-CoV-2 (средние значения) у 350 сотрудников туберкулезного стационара в зависимости от наличия и характера повышения антител на старте тестирования: а) IgM; б) IgG

– лица с текущей инфекцией, высоким титром как IgM (2 ОЕ и более), так и IgG (10 Ед/мл и более) – 6 чел. (1,7%).

При этом 27 чел. (7,7%), по данным анамнеза, перенесли COVID-19, подтвержденную идентификацией возбудителя в мазке (81,5%) и/или результатами КТ (66,6%), в сочетании с характерной симптоматикой, на сроках 2–6 недель (медиана 4 нед.) **до начала тестирования**, еще у 14 чел. заболевание COVID-19 было подтверждено **синхронно с началом тестирования** ($\pm 1-3$ дня). Таким образом, у 41 чел. (11,7%) на момент первого тестирования имелось подтверждение текущей или перенесенной инфекции лучевыми и молекулярно-генетическими методами.

Серологический «паттерн», в зависимости от факта подтвержденной перенесенной инфекции на момент начала тестирования, представлен на рисунке 2. Обращают на себя внимание два факта: выявление диагностического титра антител у лиц без подтвержденного COVID-19 в ближайшем анамнезе и отсутствие сформировавшегося антительного ответа у большинства перенесших COVID-19, что может быть частично объяснено небольшими сроками от момента выявления болезни до проведения теста. У 14 человек с заболеванием, выявленным синхронно с первым тестом на антитела, отмечены три варианта результатов: низкий титр антител (ниже диагностического порога, у 8 чел.), повышение только IgG (2 чел.), повышение антител обоих классов (IgG и IgM, у 4 чел.); изолированного повышения IgM не выявлено.

Среди переболевших COVID-19 обнаружение IgG в первом анализе коррелировало с возрастом: чем старше был переболевший, тем реже выявлялись IgG ($r = -0,475$, $p = 0,012$). Самая низкая доля серопозитивных по IgG при первом тестировании выявлена среди переболевших сотрудников в возрасте старше 35 лет (5,3% по сравнению с 62,5% среди лиц младше 35 лет, $p = 0,004$ по критерию Фишера).

В целом антитела выявлены у 34,2% лиц с подтвержденным COVID-19 и у 5,2% лиц без подтвержденного заболевания (текущего или в ближайшем анамнезе).

Анализ динамики антительного ответа в общей выборке

На рисунке 3 (а, б) представлена динамика уровня антител (IgM и IgG) в течение периода наблюдения в зависимости от результатов исходного серологического тестирования.

Видно, что у лиц с отсутствием/низким титром IgM на старте тестирования в дальнейшем эпизодов повышения данного показателя не отмечено. Для тех, у кого титр иммуноглобулина М был исходно повышен, дальнейшая динамика распределялась по двум сценариям. В случае формирования высокого титра IgG концентрация IgM в крови постепенно снижалась до субпороговых значений (менее 1 ОЕ); при изолированном выявлении высоких значений IgM отмечена тенденция к их длительному, относительно монотонному сохранению. Так, у одной сотрудницы, перенесшей COVID-19 тяжелого течения

с субтотальным поражением легких, как на старте тестирования антител (через месяц от дебюта заболевания), так и в течение всего срока мониторинга в крови определяли только повышенный титр IgM (с постепенным снижением от 6,99 до 2,05 ОЕ); IgG в значимом титре так и не появились, РНК вируса в мазках не выявлено. У двух других «монотонные» IgM сохранялись в течение всего срока наблюдения, без детекции вируса, признаков заболевания и повышения IgG.

Красной пунктирной линией показана граница значимого повышения соответственно IgM (2 ОЕ) и IgG (10 Ед/мл)

Постепенное формирование значимого **титра IgG** констатируется у части сотрудников с исходным отсутствием антительного ответа или проявлениями только острой инфекции (изолированное повышение IgM у двух человек), что обусловило рост средних показателей IgG в соответствующих группах. Появление IgG у серонегативных сотрудников было ассоциировано с заболеванием коронавирусной инфекцией в процессе наблюдения.

У лиц с признаками перенесенной инфекции (низкие IgM, высокие IgG) на старте тестирования сохранялся стабильный уровень IgG до конца периода наблюдения.

Наиболее изменчивой была динамика средних значений IgG среди сотрудников, у которых на старте тестирования уровень антител соответствовал текущей инфекции (с повышением как IgM, так и IgG). Обращает на себя внимание наличие двух пиков – на сроках 9–10 и 23–24 недели от начала тестирования. Пять из шести таких сотрудников перенесли COVID-пневмонию: у одного она выявлена до начала тестирования, у остальных – на первой неделе тестирования; у всех шести отмечена негативация IgM в процессе мониторинга. Возможно, повторное нарастание титра IgG в этой группе связано с особенностями ответа на повторную антигенную стимуляцию во вторую волну заболеваемости. Одновременное появление антител обоих классов ассоциировалось с наличием в момент тестирования вирусной пневмонии (70,6% по сравнению с 9,9% среди лиц с другими вариантами антительного ответа, $p < 0,001$).

В целом к концу периода наблюдения формирование защитного титра антител класса G к коронавирусу отмечено у 90 из 350 сотрудников (25,7%). У большинства лиц с исходно повышенным уровнем IgG (23 из 25 чел.) к концу наблюдения отмечено снижение титра в среднем на 41,2% (от 6,0% до 80,0%, медиана – 42,1%, интерквартильный размах – 15,8–67,9%).

Анализ динамики антительного ответа у сотрудников, перенесших коронавирусную инфекцию до начала тестирования

Как видно на рисунке 2, первые результаты серологического исследования этой группы показали низкие (нормальные) титры антител у 19 из 27 чел. (70,4%); у двух (7,4%) выявлены только IgM в высоком титре, у одного сотрудника (3,7%) были повышены и IgM, и IgG; еще у 5 чел. (18,5%) в крови определялся

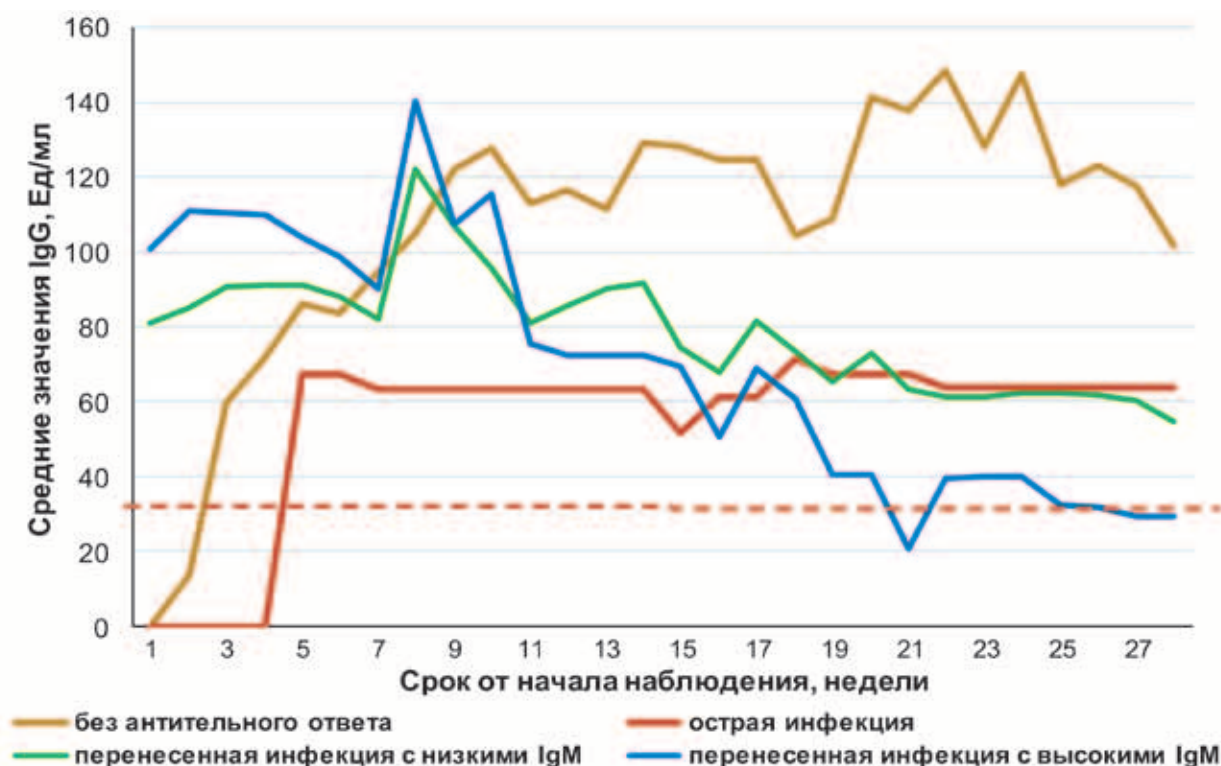


Рис. 4. Динамика титров IgG (средние значения) у 27 сотрудников с COVID-19, выявленным до начала тестирования, в зависимости от стартовых результатов серологического тестирования. Красной пунктирной линией показана граница диагностически значимого повышения IgG (10 Ед/мл)

высокий уровень IgG, при этом IgM были в пределах нормальных значений. В целом повышение IgM определяли у 3 пациентов (11,1%) этой группы, повышение IgG – у 6 чел. (22,2%).

К концу периода мониторинга значимые титры антител (IgM и/или IgG) определялись у 92,6% сотрудников этой группы (25 из 27 чел.). Учитывая, что индикатором длительного гуморального иммунитета считается персистенция значимого титра IgG, была проанализирована динамика сывороточных концентраций именно этого класса антител в зависимости от наличия и характера антительного ответа на старте тестирования (рис. 4).

Наибольший интерес представляла группа сотрудников с исходным отсутствием антительного ответа. Только у двух из 19 чел. он так и не сформировался (оба перенесли COVID-19 легкой степени тяжести без пневмонии, подтвержденный только результатами ПЦР). У 17 чел. (89,5%) отмечено появление и постепенное нарастание титра IgG; у четырех из них к концу периода наблюдения определялись высокие титры и IgG, и IgM (из них трое перенесли вирусную пневмонию с дебютом болезни за 2 нед. до первого тестирования, чем может быть объяснен его исходно отрицательный результат).

В одном случае после перенесенного COVID-19 тяжелого течения длительное время определялись только IgM, повышение IgG не отмечено (см. выше).

У остальных сотрудников с COVID-19, выявленным до начала тестирования, в процессе мониторинга отмечено постепенное нарастание титра IgG (рис. 4).

Таким образом, появление и сохранение IgG в концентрации более 10 Ед/мл отмечено у 24 из 27 (88,9%, 95%ДИ 71,1–97,0%) переболевших до начала тестирования. Максимальный титр IgG был выше у тех, кто перенес COVID-19 с пневмонией (медиана 145,6 Ед/мл, по сравнению с 78,2 Ед/мл у тех, кто перенес болезнь в легкой форме, $p = 0,006$ по критерию Манна-Уитни).

Повторных случаев заболевания в этой группе не отмечено.

С учетом полученных данных **взаимосвязь тяжести заболевания** (наличия или отсутствия пневмонии) и **обнаружения значимого уровня антител** проанализирована у 106 сотрудников, перенесших коронавирусную инфекцию на любом сроке наблюдения; из них у 44 чел. (41,5%) диагностирована пневмония, у 62 чел. (58,5%) изменений в легочной ткани выявлено не было.

Антитела выявлены у 75 перенесших COVID-19 – 70,8%, (95%ДИ 55,6–88,7%): класса IgM – у 23 (21,7%), IgG – у 73 (68,9%). Медиана срока от выявления заболевания до обнаружения IgM составляла 1,5 нед. (интерквартильный размах 0–4 нед.), до обнаружения IgG – 4 нед. (интерквартильный размах 2–5 нед.).

Перенесенная пневмония ассоциировалась с высокой вероятностью появления значимого титра IgG: у 80,0% перенесших пневмонию и 60,7% без пневмонии, $p < 0,05$ по точному критерию Фишера. Шансы выработки защитного титра IgG после пневмонии в 2,6 раза превышали таковые после COVID-19 легкого течения (ОШ 2,6, 95%ДИ 1,1–6,3). Влияния возраста и пола на вероятность, выраженность и сроки формирования антительного ответа не обнаружено.

У 31 чел. с подтвержденной обнаружением РНК SARS-CoV-2 коронавирусной инфекцией при неоднократном исследовании антител к возбудителю не было выявлено. В эту группу вошли преимущественно лица с COVID-19 легкого течения (без пневмонии, у 24 из 31 чел., 77,4%) или с пневмонией, но развившейся ближе к окончанию периода наблюдения (7 чел., 22,6%), вероятно, на этот момент антитела не успели выработаться.

Была проанализирована и обратная ситуация – выявление диагностического титра антител к SARS-CoV-2 при отсутствии симптомов заболевания, РНК вируса по результатам исследования мазка, поражения легких по данным КТ (у 21 чел., 6,0%). У 17 чел. (81,0%) определялись IgG, из них у 9 – уже на этапе первого тестирования. Титр антител класса G в этой группе был значимо ниже, а их нарастание – более медленным, чем у сотрудников с COVID-19, подтвержденным молекулярно-генетическим и лучевым методами исследования. Медианы максимальных значений IgG составили соответственно 51,7 и 124,4 Ед/мл, $p < 0,001$ по критерию Манна-Уитни (рис. 5 а, б), при этом значимые различия фиксировались начиная с 4 недели периода мониторинга. В отношении титра IgM таких различий не отмечено.

Не у всех обследованных отмечена классическая последовательность «выявление возбудителя/манифестация заболевания – обнаружение антител» [2].

Так, среди 106 сотрудников, перенесших COVID-19 в течение периода наблюдения, у 7 чел. (6,6%) повышение IgM выявлено одновременно с установлением диагноза по данным ПЦР и/или КТ; еще у трех сотрудников появление значимого титра IgM к коронавирусу опережало положительный мазок и развитие пневмонии соответственно на 2, 6 и 22 (!) недели (при этом IgG не формировались).

Повышение IgG у 11 (10,4%) переболевших выявлено одновременно с установлением диагноза новой коронавирусной инфекции; у 6 чел. (5,7%) формирование IgG предшествовало манифестации заболевания на 17–28 недель. У всех шести титры IgG варьировали в диапазоне 10–30 Ед/мл, а развитие заболевания могло быть расценено как реинфекция; к моменту манифестации симптомов/выявления возбудителя в мазке уровень IgG значимо повышался (в 5 раз и более).

Чувствительность серологического тестирования как метода выявления текущей или перенесенной коронавирусной инфекции составила 70,8% (95%ДИ 61,1–79,2%), специфичность – 91,8% (95%ДИ 87,6–94,9%).

Обсуждение

Данное исследование является пилотным; представлены результаты промежуточного анализа, серологический мониторинг в настоящее время продолжается. Предполагается, что в дальнейшем одним из основных факторов, определяющих динамику антительного ответа, станет массовая вакцинация сотрудников.

Исследование имеет ряд ограничений. Так, не учтен ряд важных переменных с потенциальным влиянием на выработку антител: профессиональный статус, сопутствующая патология, известный профессиональный и семейный контакт с заразившимися, детали течения COVID-19 (тяжесть согласно принятым критериям, наличие осложнений, применение иммуносупрессивной терапии) и т. д. Все эти факторы планируется изучить при заключительном анализе. В выборку вошли сотрудники медицинских и немедицинских подразделений клинического противотуберкулезного стационара, оказывающего преимущественно плановую специализированную помощь, работающие на одной территории; в условиях

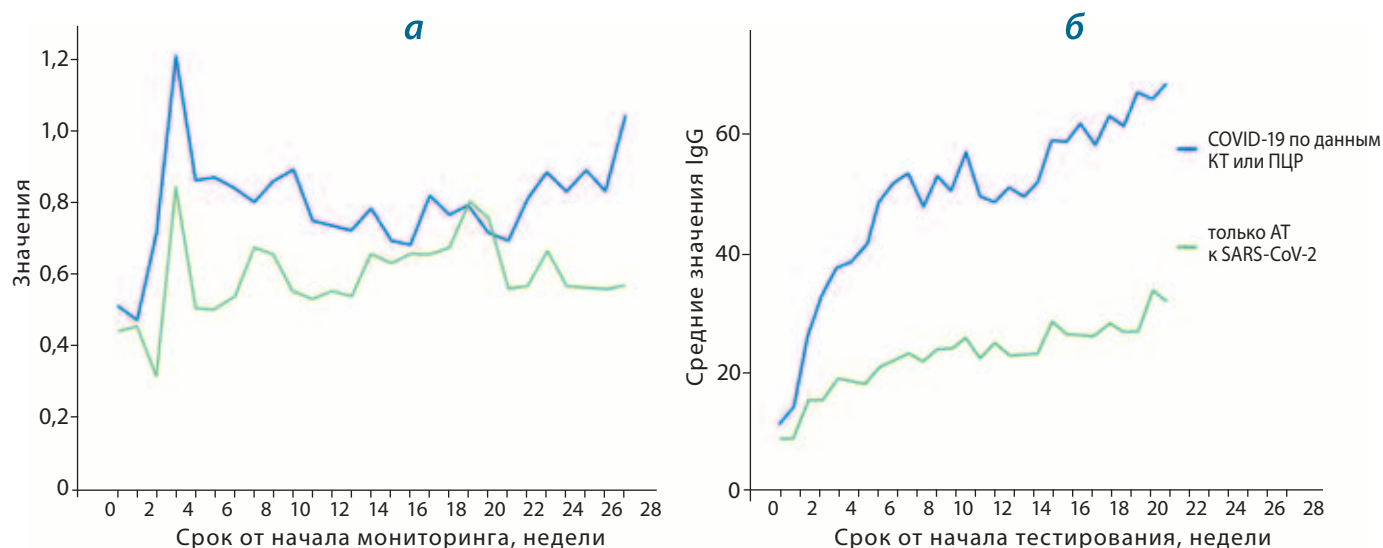


Рис. 5. Динамика средних значений титра антител в течение периода мониторинга у лиц с наличием (синяя линия) и отсутствием (зеленая линия) других проявлений COVID-19: а) уровень IgM, б) уровень IgG

однотипных противоэпидемических мероприятий, что следует учитывать при оценке репрезентативности выборки.

Серопревалентность на момент начала мониторинга (через 2 месяца от старта эпидемического роста новой коронавирусной инфекции в России) составила 8,6% (95%ДИ 5,8–12,2%). Эти данные согласуются с результатами многочисленных исследований по частоте выявления антител среди медицинских работников здравоохранения, проведенных в разных странах в марте-июне 2020 года [5, 6, 9, 10, 12, 14, 16]. В некоторых из них отмечено нарастание серопревалентности в динамике (обычно через 8 недель). В настоящем исследовании к концу периода мониторинга 6,5 месяца доля сотрудников с наличием антител к SARS-CoV-2 возросла до 27,1% (95%ДИ 22,7–32,0%), что явилось закономерным следствием заболевания COVID-19 у трети обследованных в условиях профессионального риска.

Важным и оптимистичным фактом является сохранение значимых титров IgG в течение 6 месяцев и более у абсолютного большинства сотрудников, переболевших к моменту начала тестирования. Следует отметить низкую серопревалентность в отношении IgM, вариабельность изменений титра антител этого класса в динамике, что может быть связано с особенностями иммунного ответа при коронавирусной инфекции. Значение длительной персистенции изолированного повышения антител класса М у переболевших нуждается в изучении [11].

В исследовании подтверждена закономерная взаимосвязь выраженности и стойкости антительного ответа с одним из маркеров тяжести течения COVID-19 – наличием вирусной пневмонии независимо от объема поражения легочной ткани. Наличие пневмонии ассоциируется с более высокой вирусной нагрузкой [13, 21], массивным выбросом провоспалительных цитокинов, в том числе активирующих гуморальный ответ, и, соответственно, гарантирует переболевшим выраженное и стойкое повышение титра антител. У людей с малосимптомным течением инфекции без пневмонии шансы выработки защитного титра антител оказались в 2,6 раза меньшими, что может предполагать более высокий риск повторного заболевания в этой группе.

С другой стороны, в процессе мониторинга выявлена группа серопозитивных сотрудников без каких-либо признаков перенесенного или текущего COVID-19. Более низкий титр антител может свидетельствовать о невысокой вирусной нагрузке либо о недостаточном иммунном ответе; вероятнее всего, в наших наблюдениях имело место бессимптомное течение инфекции.

В качестве «атипичного» варианта антительного ответа заслуживает внимания факт «опережающего» появления анти-

тел (и М, и G). Что лежит в его основе, пока не ясно. В качестве основной гипотезы можно предположить реинфекцию у человека, ранее переболевшего COVID-19 в легкой форме, либо персистирующую инфекцию. Возможно, минимальная вирусная нагрузка, несовпадение активного выделения вируса с графиком тестирования, недостаточная чувствительность метода привели к ложноотрицательным результатам ПЦР-диагностики, а сформировавшийся гуморальный иммунный ответ (IgG в титре до 30 Ед/мл) оказался недостаточным для защиты от повторной инфекции.

В исследовании подтверждены высокие показатели чувствительности и специфичности серологического тестирования в отношении детекции перенесенного и/или текущего заболевания COVID-19, что позволяет продолжить его успешное применение при обследовании медицинских работников.

Заключение

По результатам исследования отмечено нарастание частоты выявления антител к SARS-CoV-2 среди работников противотуберкулезного стационара в соответствии с уровнем заболеваемости COVID-19 – от 8,6% в мае 2020 г. до 27,1% (95% ДИ 22,7–32,0%) к концу ноября 2020 года.

Частота выявления антител у переболевших COVID-19 составила 70,8% (IgG – 68,9%); у абсолютного большинства переболевших к моменту начала тестирования антитела сохранялись в значимом титре (IgG более 10 Ед/мл) в течение 6 месяцев и более.

Выраженность и длительность повышения иммуноглобулинов ассоциируется с развитием вирусной пневмонии; при заболевании, протекающем без развития пневмонии, шансы формирования значимого и стойкого антительного ответа в 2,6 раза меньше (ОШ 2,6, 95%ДИ 1,1–6,3).

Возможно выявление «атипичных» вариантов антительного ответа (отсутствие формирования антител у лиц с подтвержденным COVID-19, выработка антител только класса М); длительная персистенция иммуноглобулинов G в титре менее 30 Ед/мл не исключает риска заболевания COVID-19 в дальнейшем.

Чувствительность серологического тестирования как метода выявления текущей или перенесенной коронавирусной инфекции составила 70,8% (95%ДИ 61,1–79,2%), специфичность – 91,8% (95%ДИ 87,6–94,9%).

Полученные результаты являются пилотными; они позволили обозначить ряд вопросов для дальнейшего изучения в рамках более масштабного исследования по данным продолжающегося серологического мониторинга.

Литература

1. Временные методические рекомендации от 26.10.2020 «Профилактика, диагностика и лечение новой коронавирусной инфекции (COVID-19)» (версия 9). – 236 с. [Электронный ресурс] URL: https://static-0.minzdrav.gov.ru/system/attachments/attaches/000/052/548/original/%D0%9C%D0%A0_COVID-19_%28v.9%29.pdf (Дата обращения 12.02.2021).

2. Клиническая иммунология и аллергология / [Д. Адельман, Х. Кесарвала, Т. Фишер и др.]; Под ред. Г. Лолора - младшего и др.; Пер. с англ. М.В. Пашенкова и Н.Б. Гамалеи. – М.: Практика, 2000. – 806 с.
3. О дополнительных мерах по недопущению распространения COVID-2019: постановление Главного государственного санитарного врача Российской Федерации от 30.03.2020 № 9.
4. Об особенностях обращения медицинских изделий, в том числе государственной регистрации серии (партии) медицинского изделия: постановление Правительства Российской Федерации от 03.04.2020 № 430 (в редакции постановления Правительства Российской Федерации от 02.06.2020 № 804).
5. Яскова О.А. Первые результаты лабораторного обследования на антитела к SARS-CoV-2 медицинского персонала ГБУЗ «Междуреченская городская больница» // МедиАль. – 2020. – № 2. – С. 14-17. doi.org/10.21145/2225-0026-2020-2-14-17.
6. Brant-Zawadzki M., Fridman D., Robinson P.A. et al. SARS-CoV-2 antibody prevalence in health care workers: Preliminary report of a single center study // PLoS ONE. – 2020. – Vol. 15. – N. 11. – e0240006. doi.org/10.1371/journal.pone.0240006.
7. Bruni M., Cecatiello V., Diaz-Basabe A. et al. Persistence of anti-SARS-CoV-2 antibodies in non-hospitalized COVID-19 convalescent health care workers // J. Clin. Med. – 2020. – Vol. 9. – 3188. doi: 10.3390/jcm9103188.
8. Cooper D.J., Lear S., Watson L. et al. A prospective study of risk factors associated with seroprevalence of SARS-CoV-2 antibodies in healthcare workers at a large UK teaching hospital // MedRxiv. – 2020. [Электронный ресурс] URL: <https://www.medrxiv.org/content/10.1101/2020.11.03.20220699>. (Дата обращения 12.02.2021).
9. De Carlo A., Lo Caputo S., Paolillo C. et al. SARS-COV-2 serological profile in healthcare professionals of a Southern Italy hospital // Int. J. Environ. Res. Public Health. – 2020. – Vol. 17. – 9324. doi: 10.3390/ijerph17249324.
10. Dimeglio C., Herin F., Miedougé M. et al. Screening for SARS-CoV-2 antibodies among healthcare workers in a university hospital in southern France // J. Infection. – 2020. – Vol. 81. – N. 3. – P. 420-426. doi.org/10.1016/j.jinf.2020.09.035.
11. Figueiredo-Campos P., Blankenhau B., Mota C. et al. Seroprevalence of anti-SARS-CoV-2 antibodies in COVID-19 patients and healthy volunteers up to 6 months post disease onset // Eur. J. Immunol. – 2020. – Vol. 50. – N. 12. – P. 2025-2040. doi: 10.1002/eji.202048970.
12. Herzberg J., Vollmer T., Fischer B. et al. Prospective sero-epidemiological evaluation of SARS-CoV-2 among health care workers in a German secondary care hospital // Int. J. Inf. Dis. – 2021. – Vol. 102. – P. 136-143. doi: 10.1016/j.ijid.2020.10.026.
13. Huang A.T., Garsia-Carreras B., Hitchings M.D.T. et al. A systematic review of antibody mediated immunity to coronaviruses: antibody kinetics, correlates of protection, and association of antibody responses with severity of disease // Nat. Commun. – 2020. – Vol. 11. – 4704. doi.org/10.1038/s41467-020-18450-4.
14. Kasztelewicz B., Janiszewska K., Burzyńska J. et al. Prevalence of IgG antibodies against SARS-CoV-2 among healthcare workers in a tertiary pediatric hospital in Poland // MedRxiv. – 2020. [Электронный ресурс] URL: <https://www.medrxiv.org/content/11.28.20239848>. (Дата обращения 12.02.2021). doi.org/10.1101/2020.11.28.20239848.
15. Kumar A., Sathyapalan D., Ramachandran A. et al. SARS-CoV-2 antibodies in healthcare workers in a large university hospital, Kerala, India // CMI. – 2020. –doi.org/10.1016/j.cmi.2020.09.013.
16. Lai C.-C., Wang J.-H., Hsueh P.-R. Population-based seroprevalence surveys of anti-SARS-CoV-2 antibody: An up-to-date review // Int. J. Infect. Dis. – 2020. – Vol. 101. – P. 314-322. doi.org/10.1016/j.ijid.2020.10.011.
17. Lebeau G., Vagner D., Frumence E. et al. Deciphering SARS-Cov-2 virologic and immunologic features // Int. J. Mol. Sci. – 2020. – Vol. 21. – N. 16. – 5932. doi: 10.3390/ijms21165932.
18. Psychogiou M., Karabinis A., Pavlopoulou I.D. et al. Antibodies against SARS-CoV-2 among health care workers in a country with low burden of COVID-19 // PLoS ONE. – 2020. – Vol. 15. – N. 12. – e0243025. doi.org/10.1371/journal.pone.0243025.
19. Rydzynski Moderbacher C.R., Ramirez S., Dan J. M. et al. Antigen-specific adaptive immunity to SARS -CoV-2 in acute COVID-19 and associations with age and disease severity // Cell. – 2020. – Vol. 183. – N. 4. – P. 996-1012. doi: 10.1016/j.cell.2020.09.038.
20. Talotta R., Robertson E. Autoimmunity as the comet tail of COVID-19 pandemic // World J. Clin. Cases. – 2020. – Vol. 8. – N. 17. – P. 3621-3644. doi: 10.12998/wjcc.v8.i17.3621.
21. Tan A.S., Nerukaz S.N., Tan W.C.C. et al. The virological, immunological, and imaging approaches for COVID-19 diagnosis and research // SLAS Technol. – 2020. – Vol. 25. – N. 6. – P. 522-544. doi: 10.1177/2472630320950248.
22. Vabret N., Britton G. J., Gruber C. et al. Immunology of COVID-19: current state of the science // Immunity. – 2020. – Vol. 52. – N. 6. – P. 910-941. doi: 10.1016/j.immuni.2020.05.002.

Сведения об авторах

Гармаш Юлия Юрьевна – заместитель главного врача по медицинской части Клиники № 1 ГБУЗ города Москвы «Московский городской научно-практический центр борьбы с туберкулезом Департамента здравоохранения города Москвы», доцент кафедры фтизиатрии ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Минздрава России, кандидат медицинских наук

Адрес: 107014, г. Москва, ул. Стромынка, д. 10

Тел. +7 (964) 521-85-58

e-mail: ygarmash@mail.ru

Иванова Диана Александровна – ученый секретарь ГБУЗ города Москвы «Московский городской научно-практический центр борьбы с туберкулезом Департамента здравоохранения города Москвы», профессор кафедры фтизиатрии ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Минздрава России, доктор медицинских наук

Адрес: 107014, г. Москва, ул. Стромынка, д. 10

Тел. +7 (926) 373-94-77

e-mail: d-ivanova@list.ru

Борисов Сергей Евгеньевич – заместитель директора по научно-клинической работе ГБУЗ города Москвы «Московский городской научно-практический центр борьбы с туберкулезом Департамента здравоохранения города Москвы», профессор кафедры фтизиатрии ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Минздрава России, доктор медицинских наук, профессор

Адрес: 107014, г. Москва, ул. Стромынка, д. 10

Тел. +7 (903) 777-06-56

e-mail: sebarsik@gmail.com

Богородская Елена Михайловна – директор ГБУЗ города Москвы «Московский городской научно-практический центр борьбы с туберкулезом Департамента здравоохранения города Москвы», профессор кафедры фтизиатрии ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Минздрава России, доктор медицинских наук

Адрес: 107014, г. Москва, ул. Стромынка, д. 10

Тел. 8 (499) 268-00-05

e-mail: cbt@zdrav.mos.ru

Яковлева Наталья Викторовна – старшая медицинская сестра Клиники № 1 ГБУЗ города Москвы «Московский городской научно-практический центр борьбы с туберкулезом Департамента здравоохранения города Москвы»

Адрес: 107014, г. Москва, ул. Стромынка, д. 10

Тел. +7 (909) 633-30-24

e-mail: lazorkina76@mail.ru

Александров Андрей Александрович – врач клинко-диагностической лаборатории Клиники № 2 ГБУЗ города Москвы «Московский городской научно-практический центр борьбы с туберкулезом Департамента здравоохранения города Москвы», кандидат медицинских наук

Адрес: 107014, г. Москва, ул. Барболина, д. 3

Тел. +7 (910) 483-50-46

e-mail: aaalex70@yandex.ru