

В декабре 2019 г. Уханьский муниципальный комитет (КНР) по здравоохранению распространил сообщение особой важности, содержащее информацию о случаях заболевания пневмонией неизвестной этиологии, которые регистрировались в течение месяца в стационарах г. Уханя. В начале января 2020 года в Китае наблюдался экспоненциальный рост количества больных новой инфекционной болезнью, распространившийся во все провинции Китая и за его пределы. Начался отсчет пандемии, вызванной новым коронавирусом SARS-CoV-2 [7]. С первых дней начала эпидемии в Китае появились сообщения о внутрибольничных случаях инфицирования COVID-19, в том числе и среди медицинских работников (МР) [19, 20]. Сходная картина высокой заболеваемости среди МР наблюдалась в Италии во время эпидемии COVID-19 в апреле-мае 2020 года) [5].

Исследования напряженности гуморального иммунитета к вирусу SARS-CoV-2 среди медицинских работников (МР), имеющих гораздо большую вероятность встречи с вирусом, чем население в среднем, приобретают особую важность. По данным китайских коллег случаи COVID-19 у МР внесли существенный вклад в заболеваемость. В 422 медицинских учреждениях с начала эпидемии по состоянию на 11 февраля 2020г. выявлено 1716 лабораторно подтвержденных случаев среди медиков, из них 5-летальных в Ухане -64,0%, в провинции Хубей - 23,3% в остальных провинциях КНР – 12,7% [18]. У МР можно ожидать значительный уровень иммунитета к SARS-CoV-2, поскольку многие из них могут иметь профессиональный контакт с больными COVID-19. Однако исследования, посвященные изучению особенностей гуморального иммунного ответа к SARS-CoV-2 в этой категории повышенного риска заражения немногочисленны и противоречивы. Так, по оценке исследователей из КНР при обследовании 19555 медицинских работников специфические IgG к SARS-Cov-2 сохранялись только у 4,0% [11]. Данные изучения напряженности иммунитета к вирусу SARS-CoV-2 среди медицинских работников одного из госпиталей в Милане (Италия) в первой половине

апреля 2020 г. показали, что IgG антитела были выявлены у 7,4% обследованных, а IgM- у 14,4% [16]. Анализ 50 исследований (оценок) из 32 различных регионов мира, проводившихся в основном в локальных эпицентрах пандемии, с выборкой не менее 500 человек, по состоянию на 11 июля 2020 г. показал наличие специфических антител к SARS-CoV-2 у населения в широком диапазоне от 0,2% до 47% [8].

Об уровне серопревалентности среди работников здравоохранения в Российской Федерации можно судить по первым результатам проведения масштабного проекта Роспотребнадзора по изучению популяционного иммунитета к вирусу SARS-CoV-2, так в Санкт-Петербурге данный показатель составил 27,1% [4], а в Ленинградской области он оказался - 18,1% [3]. Настораживают данные о 489 летальных исходах МР в результате перенесенной коронавирусной инфекции в РФ, озвученные главой Росздравнадзора А. Самойловой от 18.06.2020 на онлайн - конференции «Безопасность медицинских работников. Проблемы, анализ и решения» (bbc.com/Russian/features-53094577)

Таким образом, актуальным является вопрос о сроках возникновения, напряженности и продолжительности сохранения специфических антител к вирусу SARS-CoV-2 среди МР. Решение этого вопроса необходимо в целях выявления частоты распространения инфекции среди контингентов с высоким риском заражения в учреждениях здравоохранения, бессимптомных форм болезни, ретроспективного анализа популяционного иммунитета. В связи с активно идущими разработками вакцинных препаратов актуальной задачей, требующей решения, являются исследования, показывающие будет ли будущая вакцина эффективно индуцировать выработку антител и насколько долго антитела будут противостоять повторным заражениям.

Цель исследования: изучить серопревалентность и особенности гуморального иммунного ответа на вирус SARS-CoV-2 среди медицинских работников.

Материалы и методы

Методом случайной выборки в исследование включили 61 МР из многопрофильного стационара г. Казани, который был перепрофилирован для оказания медицинской помощи больным коронавирусной инфекцией. После подписания информированного согласия были собраны клинические, анамнестические данные и эпидемиологический анамнез в отношении COVID-19 с помощью специально разработанной анкеты. Антитела IgG и IgM- класса были исследованы в динамике дважды с интервалом в 30 дней (30.06.2020 и 27.07.2020) у МР с отсутствием и наличием признаков ОРВИ (трахеит, бронхит, фарингит) в анамнезе в течение предшествующих трех месяцев. Для сравнительной оценки гуморального иммунного ответа определяли антитела к вакциноуправляемым вирусным инфекциям (корь и краснуха). Исследование было одобрено Локальным этическим комитетом ФБУН КНИИЭМ Роспотребнадзора.

Определение IgG-антител к SARS-CoV-2 проводилось методом ИФА с использованием отечественных диагностических тест-систем с сорбированными в лунках планшета рекомбинантным полноразмерным тримеризованным гликопротеином (Spike- белок) вируса SARS-CoV-2 («SARS-CoV-2-IgG-ИФА-БЕСТ», АО «Вектор-Бест», Новосибирск).

Для детекции IgM-антител к SARS-CoV-2 использовали отечественные тест- системы, основанные на непрямом варианте твердофазного ИФА с иммобилизованными в лунках антителами к IgM человека и выявлением специфических антител с помощью конъюгатов, содержащих антигены вируса – N-белок нуклеокапсида («SARS-CoV-2-IgM-ИФА-БЕСТ», АО «Вектор-Бест» Новосибирск) [1].

Результаты исследований выражались в виде коэффициента позитивности (КП), представляющего собой отношение оптической плотности образца к критической оптической плотности, высчитываемой в каждом анализе. Интерпретация результатов была следующей: в зависимости от использованной тест-системы положительными считались образцы с КП, превышающем 1,1-1,2; отрицательными – с КП менее 0,8-0,9.

Промежуточные значения КП свидетельствовали о сомнительном или неопределенном результате («серая зона»). Для определения концентрации IgG к вирусу кори и краснухи использовали набор реагентов для количественного определения «ВекторРубелла-IgG» и «ВекторКорь-IgG», АО «Вектор-Бест». Концентрация антител выражалась в МЕ/мл.

У всех МР было проведено определение РНК вируса SARS-CoV-2 в мазках из носоглотки методом ПЦР с помощью зарегистрированного набора реагентов «РеалБест РНК SARS-CoV-2» АО «Вектор-Бест» Новосибирск.

Статистическая обработка результатов проводилась с применением программного обеспечения MS Excel.

Результаты и обсуждение

Средний возраст обследуемых МР составил $40,1 \pm 0,2$ лет, из них врачей – 37 (60,7%), среднего медицинского персонала – 21 (34,4%), вспомогательного персонала – 3 (4,9%).

При изучении гуморального иммунного ответа к вирусу SARS-CoV-2 количество серопозитивных составило 28 человек (45,9%), а серонегативных 33 (54,1%) человека. В группе серонегативных у 2 МР (3,3%) специфические антитела к вирусу SARS-CoV-2 не определялись, но в анамнезе были выявлены перенесенные ранее специфические симптомы легкой формы вирусной инфекции, у одного из них был получен положительный результат ПЦР SARS-CoV-2.

В группе из 28 (45,9%) серопозитивных МР не выявлено в анамнезе признаков острой респираторной вирусной инфекции у 6 (8,5%) человек. У 22 (36,0%) МР в анамнезе в течение последних 3 месяцев отмечались различные симптомы острого респираторного заболевания, включающие проявления поражения верхних дыхательных путей, пищеварительного тракта, явления интоксикации и повышение температуры тела (табл.1). У более половины из них регистрировались субфебрилитет, кашель. В 39,0% случаев выявлено чувство заложенности в грудной клетке. У каждого

третьего потеря обоняния и вкуса, одышка. У каждого десятого регистрировалась симптоматика поражения ЖКТ (диарея, тошнота). У каждого третьего МР длительно сохранялся астено-невротический синдром. Клинические проявления легкой степени тяжести вирусной инфекции выявлены у 15 (53,6%), средней степени тяжести у 7 (25,0%). У 9 (32,1%) обследованных, течение вирусной инфекции осложнилось развитием пневмонии с картиной поражения легких КТ- 1 у 5 человек ; КТ- 2 – в 2 случаях, по 1 случаю КТ3 - КТ4.

Хронические сопутствующие заболевания в анамнезе выявлены у 8 обследуемых (28,6%), из них по 2 случая гипотиреоз, хронический тонзиллит, по одному случаю хронический фарингит и бронхиальная астма. Среди данного контингента обследуемых не было курящих. Каждый третий МР в течение предыдущего года был вакцинирован от гриппа. Все МР были привиты от кори. В группе серопозитивных МР у 18 (64,3%) из них был получен положительный результат на наличие РНК вируса SARS-CoV-2.

В целях изучения особенности гуморального иммунного ответа на вирус SARS- CoV -2 у 28 серопозитивных МР были выделены две группы. Первая группа (n=10) это лица, у которых выявлено снижение уровня специфических IgG к SARS- CoV -2, зарегистрированное через 30 дней от первого исследования крови («группа элиминирующих антитела»), вторая группа (n=18) – это лица, у которых наблюдалось увеличение уровня специфических IgG антител к SARS- CoV -2 («группа повышающих антитела») (рис.1). Средний возраст обследованных серопозитивных МР составил в первой группе 40,2 (95%CI 32,0-48,4) лет, а во второй группе 40,1 (95%CI 33,7-46,6) лет, без достоверных различий.

Показатели гуморального иммунного ответа к вирусу SARS- CoV -2 у 28 серопозитивных МР в группе элиминирующих и повышающих антитела представлены в таблице 1.

При анализе полученных данных установлено, что в «группе элиминирующих антитела» (группа 1) МР в первой точке серологического исследования показатель КП IgG к вирусу SARS- CoV -2 был в 3,5 раза выше, чем в «группе повышающих антитела» МР (группа 2) (таблица 2). Для КП IgM была выявлена обратная закономерность: в «группе элиминирующих антитела» этот показатель был ниже, чем в «группе повышающих антитела» практически в два раза.

Во второй точке серологического исследования происходило снижение КП IgG к вирусу SARS- CoV -2 в «группе элиминирующих антитела» на 5,1 единицы, а в «группе повышающих антитела» отмечен рост показателя КП IgG к вирусу SARS-Cov-2 на 13,3 единицы. Учитывая разнонаправленный характер изменения уровня специфических антител IgG к вирусу SARS- CoV -2 в двух группах МР, представляло интерес проанализировать на каких сроках до первой точки серологического исследования наблюдались клинические проявления ОРВИ, если таковые имелись.

Установлено, что в группе «элиминирующих антитела» от начала первых симптомов до первой точки серологического исследования (30.06.2020 г) прошло в среднем $58,8 \pm 6,4$ (Me=63) дня, а в «группе повышающих антитела» - $44,7 \pm 5,2$ (Me=40) дней, различия в сроках достоверны ($p < 0,05$). Соответственно, в первой группе МР от начала первых симптомов до второго серологического исследования (27.07.2020 г) прошло в среднем $88,8 \pm 7,4$ (Me=93) дня, а во второй группе – $74,8 \pm 5,0$, (Me=70), различия достоверны.

Таким образом, можно выделить два варианта иммунного ответа: первый характеризуется постепенной элиминацией специфических IgG антител к SARS- CoV -2 после 8 недели от появления первых симптомов ОРВИ, второй вариант - нарастанием специфических IgG к SARS- CoV -2 и

более высоким значением уровня КП IgM SARS- CoV -2 после 8-10 недели от появления первых симптомов.

Учитывая выявленные особенности иммунного ответа к вирусному белку SARS-CoV-2 у серопозитивных МР, проведен сравнительный анализ напряжённости иммунитета к другим вирусным инфекциям, в частности, к вакциноуправляемым, таким как корь и краснуха. При этом учитывали факт предшествующей вакцинации МР от кори и краснухи. Результаты исследования представлены в таблице 3.

Как в первой группе, «элиминирующих антитела», так и во второй группе, «повышающих антитела» к SARS-CoV-2, были выявлены защитные титры антител к вирусу кори и краснухи (таблица 3). Однако, во второй группе по сравнению с первой защитный титр к вирусу кори был выше в 7 раз, а к вирусу краснухи в 2 раза. Таким образом, большинство МР, «повышающих антитела» к SARS- CoV -2, имели более высокие титры к вирусу кори и краснухи. Данный иммунный ответ на вирусную инфекцию можно считать адекватным, он характеризуется более длительным сохранением и нарастанием защитных титров антител.

Выделение второй группы, «элиминирующих антитела», не менее важно, так как позволяет предположить наличие у данной категории лиц снижение иммунологического реагирования на вирусные инфекции, что требует более углубленного изучения показателей, как клеточного, так и гуморального иммунитета.

По данным нашего исследования из 61 МР одного из перепрофилированных госпиталей для оказания медицинской помощи больным COVID-19 г. Казани выявлена выраженная серопревалентность к SARS-CoV-2, составившая 45,9%, что согласуется с данными 50 исследований из 32 различных регионов мира [8].

Среди серопозитивных к вирусу SARS-CoV-2 медицинских работников доля бессимптомных форм составила 6 (18,5%), легких форм 15 (53,6%), среднетяжелых форм и тяжелых форм 7 (25%). Исследования, проведенные в нашей стране и за рубежом показывают, что вирус SARS-CoV-2 может вызвать различные варианты гуморального ответа: у части лиц, имеющих высокую восприимчивость, как правило, развивается манифестная инфекция, у части - заболевание протекает бессимптомно и завершается только формированием адаптивного иммунитета (инаппарантная сероконверсия), и, наконец, у наиболее резистентных лиц заболевание заканчивается носительством, не оставляющим гуморального иммунного ответа [4,10]. SARS-CoV-2 относится к большой группе коронавирусов, среди которых встречаются низкопатогенные представители, вызывающие сезонные ОРВИ, способные формировать перекрестный иммунитет [15]. В этой связи представляло интерес оценить наличие серопревалентности у МР, перенесших ОРВИ неуточненной этиологии.

В нашем исследовании из 61 обследованного МР у 25 (40,9%) отмечались в анамнезе клинические проявления ОРВИ в течение предшествующих 3 месяцев до первого серологического обследования. У 22 из них выявлены антитела к SARS-CoV-2 (36,1%). Поскольку детальной расшифровки возбудителей ОРВИ не проводилось, нельзя исключить, что у части из них серопревалентность могла быть обусловлена перекрестным иммунитетом к другим представителям β -коронавирусов человека (β НCoV) [10].

Распространенность бессимптомных форм среди серопозитивных лиц в популяционном исследовании, начатом в РФ по инициативе Роспотребнадзора, изучали по выявлению доли лиц, у которых отсутствует хотя бы один признак: диагноз COVID-19, либо положительная ПЦР, либо признаки ОРВИ [3,4]. В нашем исследовании у 6 МР, выявленные антитела SARS-CoV-2 явились случайной находкой при отсутствии в анамнезе явлений ОРВИ в предшествующие 3 месяца (9,8%) . Значительная доля

бессимптомных форм инфекции COVID-19 характеризует высокую интенсивность эпидемического процесса. Полученные результаты необходимо учитывать при организации профилактических мероприятий, а также прогнозирования эффективности ответа на вакцинацию к SARS-CoV-2.

Одной из важных задач было изучение связи между серопревалентностью и результатами определения РНК вируса SARS-CoV-2 в полимеразной цепной реакции (ПЦР). В нашем исследовании было выявлено 18 ПЦР позитивных результатов (29,5%) среди всех обследованных 61 МР, что сопровождалось развитием гуморального адаптивного иммунного ответа SARS-CoV-2 в 16 случаях (88,9%), 2 ПЦР-позитивных МР были серонегативными (11,1%). Согласно результатам, полученным Ноу Н. и соавт. (2020,) выработка IgG к вирусу SARS-CoV-2 наблюдалась как у лиц с выраженными симптомами заболевания, так и у лиц без симптомов [8]. На ранней стадии выздоровления антитела переставали обнаруживаться у 12,0% пациентов с выраженными симптомами заболевания, а у лиц, перенёвших инфекцию бессимптомно, антитела переставали обнаруживаться в 40,0% случаев [14]. Согласно сообщению Kellam P. и соавт. (2020) специфические IgG к SARS-CoV-2 начинают вырабатываться примерно через 3-4 недели после заражения и через 1-2 недели после появления симптомов заболевания [10]. Результаты другого исследования показывают, что после перенесенного заболевания COVID-19, подтвержденного с помощью ПЦР анализа, у 18% лиц антитела к вирусу SARS-CoV-2 не выявляются [3]. Особенностью COVID-19 является значительная гетерогенность гуморального ответа, как в процессе заболевания, так и в период реконвалесценции, причем не всегда можно установить связь между серопозитивностью переболевшего, тяжестью перенесенного заболевания и продолжительностью постинфекционного анамнеза [3, 4, 13]. Длительность сохранения антител против SARS-CoV-2 изучена недостаточно, при этом известно, что продолжительность

иммунитета к родственным коронавирусам MERS-CoV и SARS-CoV, может сохраняться до 3 лет [1].

В нашем исследовании выявлено две формы формирования гуморального иммунного ответа: синхронная с параллельной элиминацией IgG и IgM антител и параллельным увеличением IgG и IgM. Китайские исследователи, анализируя гуморальный ответ 27 больных COVID-19 в течение 20 дней, выделяют несколько вариантов формирования серопозитивности у таких пациентов: синхронная серопозитивность – одновременное выявление IgG и IgM (10 случаев); IgM раньше, чем у IgG (7 случаев); IgM позже, чем у IgG (10 случаев) [20]. Сохранение IgG антител более 7-8 недель, с параллельно идущим процессом элиминации IgM у 76 реконвалесцентов с COVID-19 описывает группа ученых из ФБУН МНИИЭМ им. Габричевского. Отмечено также, что у двух из 76 обследованных больных COVID-19 антитела не вырабатывались. [1]. По данным нашего исследования выявлена синхронная серопозитивность, с одновременным выявлением IgG и IgM. Четко прослеживается формирование двух групп – увеличивающих антитела и элиминирующих антитела в сроки от 6-7 недель от начала симптомов ОРВИ в анамнезе с сохранением данных разнонаправленных тенденций в динамике вплоть до 11-12 недели наблюдения. По данным разных авторов специфические IgG к SARS-CoV-2 начинают вырабатываться примерно через 3-4 недели после заражения и через 1-2 недели после появления симптомов заболевания [12]

Длительность сохранения антител против SARS-CoV-2 изучена недостаточно, что требует длительного динамического наблюдения за когортой серопозитивных лиц.

По результатам нашего исследования две трети МР имели адекватный гуморальный иммунологический ответ к S-белку (Spike-белок, рецепторный белок (гликопротеин), находящийся в суперкапсидной оболочке и образующий так называемые «шипы») вируса SARS-CoV-2. Данная группа серопозитивных МР, «повышающих антитела», характеризовалась более

высокой выработкой протективных антител как к SARS-CoV-2, так и к другим возбудителям вакциноуправляемых инфекций (кори и краснухи).

Возможность обнаружения IgG-антител к S-белку имеет большое значение в свете данных литературы о том, что именно эти антитела обеспечивают защиту при инфицировании SARS-CoV-2 путем нейтрализации вируса [2, 19], а сам S-белок рассматривается как кандидат при конструировании вакцин против COVID-19 [20]. Проведенные нами исследования позволяют наметить новые диагностические подходы и определить группы МР с различным типом гуморального иммунного ответа, у которых можно прогнозировать иммунный ответ на предстоящую вакцинацию от SARS-CoV-2.

Выводы

1. При обследовании 61 МР многопрофильного стационара г. Казани, который был перепрофилирован для оказания медицинской помощи больным коронавирусной инфекцией, выявлена выраженная серопревалентность к SARS-CoV-2, составившая 45,9%.
2. Среди серопозитивных МР к вирусу SARS-CoV-2 доля бессимптомных форм составила 18,5%, легких форм - 53,6% , среднетяжелых форм и тяжелых форм 25%.
3. Среди серопозитивных МР выявлено две формы формирования гуморального иммунного ответа: синхронная с параллельной элиминацией IgG и IgM антител и параллельным увеличением IgG и IgM.
4. Группа серопозитивных МР, «повышающих антитела», превалировала над группой лиц, «элиминирующих антитела».
5. Группа серопозитивных МР, «повышающих антитела», характеризовалась более высокой выработкой протективных антител к возбудителям вакциноуправляемых инфекций кори и краснухи по сравнению с группой лиц, «элиминирующих антитела».

6. Изучение уровня гуморального иммунитета к COVID-19 у МР имеет важное значение с точки зрения планирования как противоэпидемических мероприятий, так и прогнозирования эффективности ответа на вакцинацию к SARS-CoV-2.