С.Д. Ефремова, Е.Д. Охлопкова, А.А. Григорьева,
Л.Д. Олесова, А.Н. Романова

ПОКАЗАТЕЛИ АНТИТЕЛ IgM И IgG К SARS-COV-2 У ЖИТЕЛЕЙ Г. ЯКУТСКА ПОСЛЕ ВЫЗДОРОВЛЕНИЯ ОТ COVID-19

DOI 10.25789/YMJ.2021.76.21

УДК 578.834.1.57.083.3

Проведено исследование антител IgM и IgG к SARS-COV-2 у жителей г. Якутска в возрасте от 20 до 72 лет, перенесших новую коронавирусную инфекцию (COVID-19) до 3, 6, 9 и 12 месяцев назад. По результатам исследования, серопревалентность у переболевших COVID-19 составила 100%. Антитела Ig G и IgM к SARS-CoV-2 у переболевших COVID-19 сохранялись до 12 месяцев и зависели от постковидного срока, возраста и тяжести поражения легких по данным КТ.

Ключевые слова: IgG, IgM, SARS-CoV-2, антитела, COVID-19.

A study of IgM and IgG antibodies to SARS-COV-2 was carried out in 161 residents of Yakutsk at the age of 20 to 72 years old who had a new coronavirus infection COVID-19 from 3, 6, 9 and 12 months ago. The aim of the work was to evaluate serum immunoglobulins IgM and IgG to SARS-COV-2 in persons who have had COVID-19, depending on the duration and severity of the disease. The intensity of the immune response was assessed using the coefficient of positivity (CP) as the ratio of the optical density of the sample to the critical value of the optical density. According to the results of the study, the seroprevalence in all 4 groups of Covid-19 patients was 100%. Antibodies Ig G and IgM to SARS-CoV-2 in patients with COVID-19 persisted up to 12 months and depended on the postcoid period, age and severity of lung lesions on CT.

Keywords: IgG; IgM; SARS-CoV-2; antibodies; COVID-19

Введение. С 19 декабря 2019 г., после первой вспышки новой коронавирусной инфекции в г. Ухань (Китай), заболевание стремительно распространилось и в течение нескольких месяцев охватило весь мир. В апреле 2020 г. первые случаи заболевания были диагностированы в России, в Республике Саха Якутия – в марте.

В настоящее время для диагностики инфекции COVID-19 проводят лабораторный RT-PCR (ПЦР) тест на обнаружение РНК SARS-CoV-2 в образцах, взятых из носа и горла, но метод ПЦР не всегда позволяет определить наличие заражения, так как существует вероятность получения ложноотрицательных результатов [7, 10]. Одним из дополнительных методов своевременной диагностики на ранней стадии заболевания новой коронавирусной инфекции считается иммуноферментный анализ (ИФА) на антитела (АТ) к SARS-CoV-2 [1,4]. Совместное тестирование на обнаружение АТ класса М и G имеет большое значение для эпидемиологического прогноза и понимания лечения инфекции SARS-CoV-2 [13].

Механизмы развития иммунной реакции организма на коронавирус SARS-CoV-2 изучаются. В некоторых исследованиях приводятся данные о наличии АТ М и G у лиц не только с положительным, но и отрицательным результатом ПЦР через 1-3 недели с момента заражения вирусом, а также у беременных матерей и новорожденных, тяжелобольных и умерших пациентов [1,6,12,14]. С момента попадания коронавируса в организм последними, через 5-6 недель, синтезируются иммуноглобулины G (IgG), которые сохраняют информацию о коронавирусе, т.е. являются архивом памяти перенесенных инфекций, в большинстве случаев пожизненно либо на несколько лет. Остается неясным, формируется ли стойкий иммунитет, что требует углубленного изучения. Но в любом случае выявление IgG свидетельствует о факте попадания коронавируса в организм и иммунном ответе организма. В настоящее время в различных источниках приводятся данные о наличии АТ у переболевших COVID-19 от 3 месяцев до года назад [7,8]. Большой интерес вызывают сроки сохранения высокого уровня антител после перенесенной COVID-19, что требует дальнейшего изучения устойчивости, ослабления и продолжительности защиты антител к SARS-CoV-2.

Цель исследования: оценка содержания сывороточных иммуноглобулинов IgM и IgG к SARS-COV-2 у жителей г. Якутска, переболевших COVID-19, в зависимости от срока и тяжести заболевания.

Материалы и методы. На базе Клиники Якутского научного центра комплексных медицинских проблем проведено обследование 161 чел., перенесшего лабораторно подтвержденную с помощью ПЦР инфекцию COVID-19, с разной степенью поражения легких. Возраст варьировал от 20 до 72 лет, из них лица молодого возраста (20-44 лет) составили 56 чел. (34,8%), среднего (45–59лет) – 53(32,9%), пожилого (60-74 года) – 51(31,7%) и старческого возраста (75-90 лет) – 1(0,6%) соответственно. Женщины составили 101 (62,7%) и мужчины – 60 (37,1%).

Критерием исключения из группы являлись лица с признаками ОРВИ и активной инфекцией COVID-19 на момент исследования. Данные о степени поражения легких по типу «матового стекла» были оценены по результатам компьютерной томографии (КТ), взятым из выписных эпикризов: КТ0 (нулевая) – отсутствие проявлений; КТ1 (легкая) – распространенность поражения менее 25% объёма лёгких; КТ2 (среднетяжелая) –25-50%; КТ3 (тяжелая) 50-75%; КТ4 (критическая) – более 75%. Все обследуемые были разделены на 4 группы в зависимости от продолжительности выздоровления с момента перенесенного заболевания: до 3, 6, 9 и до 12 месяцев назад. Исследование было одобрено решением локального этического комитета при ФГБНУ «ЯНЦ КМП» №52 от 24 марта 2021 г. и выполнено с информирован-

Якутский научный центр комплексных медицинских проблем: **ЕФРЕМОВА Светлана Дмитриевна** – м.н.с., esd64@mail.ru, **ОХЛОПКОВА Елена Дмитриевна** – к.б.н., в.н.с.-руковод. лаб., elena_ohlopkova@mail.ru, **ГРИГОРЬЕВА Анастасия Анатольевна** – н.с., Nastiagrigoryeva@gmail.com, **ОЛЕСОВА Любовь Дыгыновна** – к.б.н., в.н.с.–руковод. лаб., oles@mail.ru, **РОМАНОВА Анна Николаевна** – д.м.н., директор, ranik@mail.ru.

ного согласия испытуемых в соответствии с этическими нормами Хельсинкской декларации (2000 г.).

Материалом исследования служила сыворотка венозной крови. Забор крови проводили из локтевой вены в 8-10 ч натощак. Проведено качественное определение антител M и G против SARS-CoV-2 иммуноферментным методом с использованием тест-систем фирмы «Вектор-Бест» (г. Новосибирск) на фотометре «Униплан» (фирма «Пикон», РФ) согласно инструкции фирмы производителя. Интенсивность иммунного ответа оценивали с помощью коэффициента позитивности (КП) как отношение оптической плотности образца к критическому значению оптической плотности, который отражает относительное количество соответствующих антител в образце. Этот показатель позволяет отслеживать динамику уровня антител в крови человека с помощью исследования образцов, взятых в разное время, и таким образом уточнять иммунный статус пациента. По значению коэффициента качественного теста образец считали с отрицательным или пограничным (КП менее 1,1), положительным (КП от 1,2 и выше) результатом. Оценивали серопревалентность (присутствие АТ G) и наличие серологических маркеров острой инфекции (IgM). Также определяли уровень ревматоидного фактора (РФ) и С-реактивного белка (СРБ) на биохимическом анализаторе «Сапфир» (Япония).

Обработку результатов проводили с помощью пакета статистических программ SPSS Statistics 26. Данные дескриптивного анализа представлены в таблицах в виде Me (медиана), Q1 и Q3 (квартили 25% и 75%). Значимость различий оценивали с помощью t-критерия Стьюдента и ANOVA для независимых выборок при нормальном распределении и критерия Манна-Уитни при ненормальном распределении. Критическое значение уровня статистической значимости различий (p) принималось равным 5%. Корреляционный анализ данных проводили по методу Пирсона.

Таблица 1

Показатели серопозитивности IgG в зависимости от КТ

Уровень КТ	КП Me (Q1 – Q3)	Уровень КП IgG, n/%			Всего «+» абс. число/%
		низкий	средний	высокий	
КТ 0	10,30 (4,04;11,53)	5/18,5	8/29,6	14/51,9	27/16,8
КТ 1	11,44 (6,00;11,60)	6/10,0	16/26,7	38/63,3	60/37,3
КТ 2	11,52 (11,13;11,69) [1]p=0,005; [2]p=0,038;	3/7,1	4/9,5	35/83,3	42/26,1
КТ 3	11,59 (11,38;11,77) [1]p=0,001; [2]p=0,007	-	3/11,5	23/88,5	26/16,1
КТ 4	11,59 (11,42;11,59) [1]p=0,021	-	-	6/100	6/3,7
Все		14/87	31/19	116/72	161/100

Примечание. n - количество переболевших; «+»-количество лиц с наличием (АТ); 1 - статистически значимые отличия с КТ0; 2 - значимость отличий с КТ1.

Результаты и обсуждение. Положительный результат на иммуноглобулины предполагает, что человек потенциально подвергался воздействию SARS-CoV-2. По результатам исследования серопревалентность во всех 4 группах переболевших COVID-19 составила 100 %, гендерных отличий не имела, что согласуется с литературными данными [9]. Однако АТ IgG не у всех находились на высоком уровне и существенно отличались.

По значению КП IgG всех переболевших разделили на три подгруппы. Низкий КП от 1 до 3,49 был выявлен у 8,7%, средний уровень антител от 3,5 до 9,99 зафиксирован у 19,3%, высокий – от 10 и более обнаружили у 72,0% переболевших (табл.1). Между уровнем КП IgG и группами, перенесшими COVID-19 с различной степенью тяжести (по КТ), и возрастными группами была выявлена прямая корреляционная взаимосвязь (r=0,309, p<0,000; r=0,312, p<0,000) соответственно. Среднее значение КП IgG увеличивалось в зависимости от степени поражения легких и статистически значимо отличалось между группами КТ0 с КТ2, КТ3, КТ4 (p=0,005; p=0,001; p=0,007) и КТ1 с КТ2, КТ3 (p=0,038; p=0,0210). По нашим данным, частота встречаемости высокого содержания IgG увеличивается от КТ1 к КТ4, у обследуемых с КТ3 и КТ4 лиц с низким содержанием IgG не выявлено. В возрастных группах статистически значимые отличия КП IgG были выявлены между лицами молодого и среднего возраста с пожилыми (p=0,001 и p=0,017) (табл. 2). В группе пожилого возраста отмечается наиболее значительная частота встречаемости IgG с высоким значением КП, что, возможно, связано с высокой тяжестью заболевания в данной возрастной группе. По литературным данным, тяжесть течения COVID-19, по данным протокола КТ, имела прямую связь с возрастом, в группах молодого возраста чаще встречалась легкая форма поражения легких с КТ1, в группах среднего и пожилого возраста с поражением легких с КТ2 и КТ3 [3].

В зависимости от срока перенесенного заболевания Covid-19 получена обратная корреляционная взаимосвязь (r=-0,238; p<0,002). Частота встречаемости лиц с высоким содержанием КП IgG оставалась максимально высокой в 3 группах: среди переболевших от 3 месяцев назад у 12(80%), от 6 – у 58 (77,3%), до 9 месяцев – 36(75%). У тех, кто переболел до года назад, ча-

Таблица 2

Показатели серопозитивности IgG в разных возрастных группах

Возрастная группа	КП Me (Q1 – Q3)	Уровень КП IgG, n/%			Всего «+» абс. число/%
		низкий	средний	высокий	
Молодые	11,42 (4,90-11,60)	9/16,1	14/25,0	33/58	56/34,8
Среднего возраста	11,42 (7,84;11,56)	5/9,4	11/20,8	37/69,8	53/32,9
Пожилые	11,59 (11,47;11,72) [1]p=0,000; [2]p=0,017;	-	6/11,8	45/88,2	51/31,7

Примечание. n - количество переболевших; «+» - количество лиц с наличием АТ; 1 - статистически значимые отличия с группой молодого возраста; 2 - значимость отличий с группой среднего возраста.

Таблица 3

Показатели серопозитивности IgG в зависимости от постковидного срока

Постковидный срок, мес.	КП Me (Q1 – Q3)	Уровень КП IgG n/%			Всего «+» абс. число/%
		низкий	средний	высокий	
До 3	11,28(11,52;11,62) [1]p=0,005	1/6,7	2/13,3	12/80,0	15/9,3
До 6	10,88 (11,50;11,66) [1]p=0,001	4/5,3	13/17,3	58/77,3	75/46,6
До 9	10,20 (11,47;11,59)[1]p=0,004;	5/10,4	7/14,6	36/75,0	48/29,8
До 12	4,34 (9,4;11,60)	4/17,4	9/39,1	10/43,5	23/14,3

Примечание. «+» – количество лиц с наличием АТ; 1- статистически значимые отличия с постковидным сроком до 12 месяцев.

стота АТ снижается – 10(43,5%), что не противоречит литературным данным, антитела могут сохраняться до 1 года [11]. Встречаемость низкого и среднего содержания КП IgG повышается с увеличением постковидного срока (табл. 3). IgG, как правило, являются основным фактором гуморального звена иммунной защиты, противодействующим развитию инфекционного процесса в организме. Наличие специфических иммуноглобулинов класса G, появившихся у человека в результате перенесенного заболевания или вакцинации, в большинстве случаев свидетельствует о формировании у него стерильного иммунитета к соответствующей бактериальной или вирусной инфекции [4].

Когда инфекционное заболевание проходит без осложнений, появившиеся АТ к IgM с первой недели острой инфекции должны постепенно уменьшаться и через месяц исчезнуть. Удельный вес серологического маркера острой инфекции IgM у переболевших COVID-19 составил 62,1%, отрицательный результат IgM был выявлен у 61(37,9%) чел., низкий КП – от 1,2 до 2 у 41 (25,5%), средний КП – от 2,1 до 4,9 у 36 (22,4%) и высокий уровень КП - выше 5 у 23(14,3%) обследованных (рис.1). Возможно, эти результаты связаны с ослабленной иммунной реакцией или сильной атакой вируса SARS-CoV-2 у тяжелобольных пациентов и с неспецифической реакцией антител класса М, приводящей к ложноположительному результату. К неспецифической реакции с тест-системой могут привести процессы, связанные с воспалением в организме: острые и хронические воспалительные процессы, аутоиммунные заболевания, проблемы с щитовидной железой, беременность и т.д. Наши данные согласуются с литературными данными, что при коронавирусе IgM могут сохраняться длительное время (до 1,5-3 месяцев от появления симптомов, когда вируса уже нет) [8].

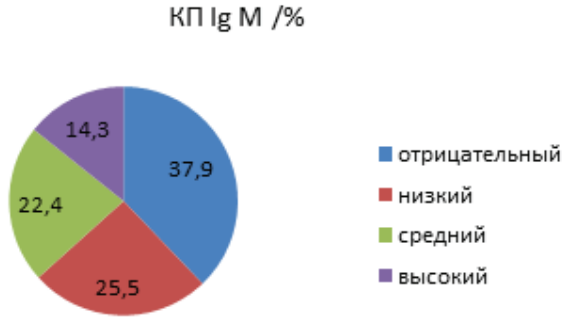


Рис. 1. Уровень КП IgM у переболевших COVID-19, %

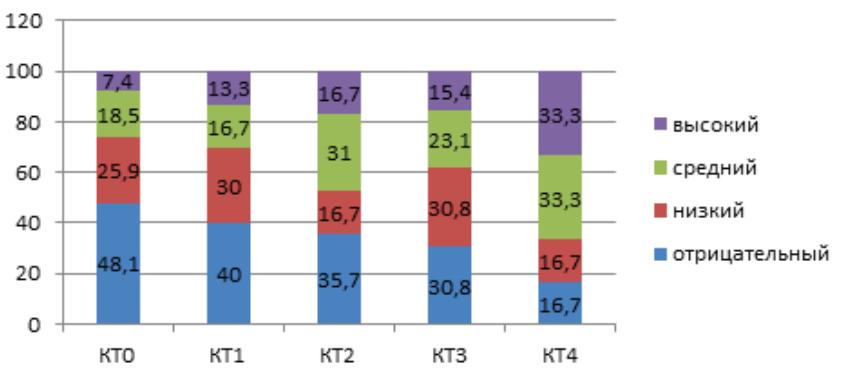


Рис. 2. Частота встречаемости лиц с разным уровнем КП IgM в зависимости от тяжести заболевания по КТ, %

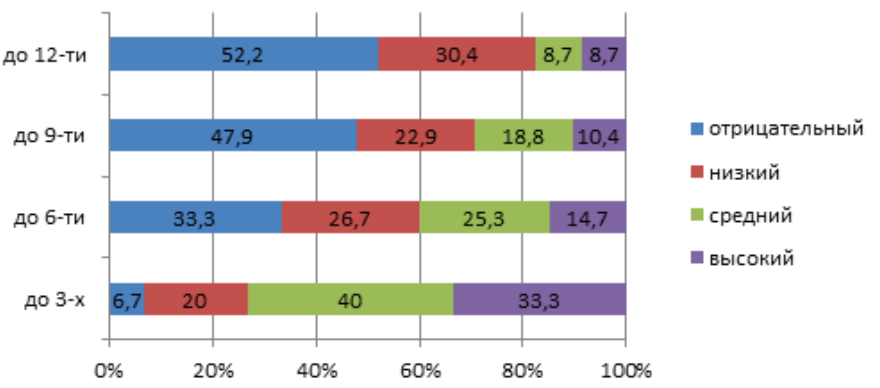


Рис. 3. Частота встречаемости лиц с разным уровнем КП IgM в зависимости от постковидного срока, %

Также уровень IgM имел прямую корреляционную связь с тяжестью заболевания (КТ) (r=0,192; p<0,014), ревматоидным фактором (РФ) (r=0,191; p<0,016) и обратную связь со сроком перенесенного заболевания (r= -0,240; p<0,002), что, возможно, связано с поражением COVID-19 суставов. Отличий в содержании СРБ в группах выявлено не было**.** Отрицательный результат КП IgM чаще наблюдался в группе обследованных с КТ0 (48,1%) и постепенно уменьшался: КТ1 – 40,0%, КТ2 – 35,7%, КТ3 – 30,8, КТ4 – 16,7% (рис. 2). С увеличением постковидного срока частота встречаемости лиц с отрицательным результатом IgM увеличивается, а со средним и высоким уровнем КП IgM уменьшается.

Наибольшая частота встречаемости высокого уровня IgM отмечается у переболевших до 3 месяцев (33,3%), далее с увеличением продолжительности сроков выздоровления наблюдается снижение (рис. 3).

Выводы:

1. Высокий уровень серопревалентности сохраняется у лиц, перенесших COVID-19 с более тяжелой формой поражения легких, так как максимальная серопозитивность отмечена у 100% переболевших с КТ4, у 88,5 – с КТ3, 83,3% - с КТ2.

2. Содержание антител иммуноглобулина G к SARS-CoV-2 у переболевших COVID-19 зависит от возраста: высокий уровень серопревалентности установлен в группе лиц пожилого возраста (60-74 года) – у 88,2% и среднего (45-59 лет) – у 69,8%.

3. Антитела Ig G к SARS-CoV-2 у переболевших COVID-19 сохраняются до 12 месяцев, и частота высокого уровня антител снижается с течением времени. Максимальный уровень серопревалентности у переболевших до 3 месяцев назад выявлен у 80%, до 6 месяцев - у 77,3, до 9 – у 75,0, до 12 – у 43,3%.

4. Наличие антител IgM к SARS-CoV-2 у переболевших COVID-19 зависит от постковидного срока, тяжести поражения легких по КТ и возможности получения ложноположительных результатов, связанных с повышением ревматоидного фактора.

Литература

1. Антитела IgM и IgG к вирусу SARS-CoV-2 у новорожденных от матерей с COVID-19 / А.А. Семешкин, В.И. Вечорко, Б.В. Силаев [и др.] // Вестник РГМУ. - 2020. - №3. - С. 31-34. doi:10.24075 / vrgmu. 2020.036

Antibodies IgM and IgG to the SARS-CoV-2 virus in newborns from mothers with COVID-19 / A. A. Semeshkin, V. I. Vechorko, B. V. Silaev [et al.] // VESTNIK RSMU. - 2020. - №3. -P. 31-34. doi: 10.24075 / vrgmu. 2020.036

2. Диагностическая характеристика серологических тестов для выявления случаев SARS-CoV-2 / О. В. Петрова, Д.К. Твердохлебова, О.И. Мирюгина [и др.] // Клиническая лаборатория диагностики. - 2021.-66 (4): 210-212. doi:10.51620 / 0869-2084-2021-66-4-210-212.

Diagnostic characteristics of serological tests for the detection of SARS-CoV-2 cases / O.V. Petrova, D.K. Tverdokhlebova, O.I. Murygina [et al].

3. Отдаленные симптомы COVID-19 у жителей г. Якутска / Л.Д. Олесова, В.А. Макарова, А.И. Яковлева [и др.] // Якутский медицинский журнал. -2021.- №3(75). - С.66-69/

Long-term symptoms of COVID-19 in residents of Yakutsk / L. D. Olesova, V. A. Makarova, A.I. Yakovleva [et al.] // Yakutsk Medical Journal. -2021.- No. 3 (75). - P.66-69

4. Офицеров В.И. Подклассы иммуноглобулина G: возможности использования в диагностической практике / В.И. Офицеров // Закрытое акционерное общество «Вектор-Бест» Кольцово, 2005.-35 с.

Ofitserov V.I. Immunoglobulin G Subclasses: Possibilities of Use in Diagnostic Practice / V.I. Ofitserov // Closed Joint Stock Company "Vector-Best" Koltsovo, 2005.-35p.

5. Татаева З.М. Количественная оценка содержания антител к SARS-CoV-2 в плазме доноров / З.М. Татаева, А.У. Атаева Е.Б. Жибурт // Справочник заведующего КДЛ, № 9.-2021 http://www.transfusion.ru/2021/09-15-3.pdf

Quantitative assessment of the content of antibodies to SARS-CoV-2 in the plasma of donors / Z. M. Tataeva, A. U. Ataeva E.B. Zhiburt // Handbook of the head of the CDL, No. 9.-2021 http://www.transfusion.ru/2021/09-15-3.pdf

6. Antibody seroconversion in asymptomatic and symptomatic patients infected with severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2) / Chuanhao Jg, Yali Wg, Min Hu [et al.] //Clin Transl Immunology. -2020. –v.9 (9): e1182. doi:10.1002 / cti 2.1182

7. Antibody tests for identification of current and past infection with SARS-CoV-2 / Deeks JJ, Dinnes J, Takwoingi Y, [et al.] //Cochrane Database Syst Rev. 2020 Jun 25;6(6):CD013652. doi: 10.1002/14651858.CD013652.

8. Immunologic memory to SARS-CoV-2 in convalescent COVID-19 patients at 1-year postinfection / Hongyan H, Yandi Z 2, Guoxing T, [et al.] // J Allergy Clin Immunol 2021 Sep 15; S0091-6749(21)01392-0. doi: 10.1016/j. jaci.2021.09.008.

9. Demographic risk factors for COVID-19 infection, severity, ICU admission and death: a meta-analysis of 59 studies / Bart G P, Shahab J, Anique A, [et al.] // BMJ Open 2021 Jan 11;11(1): e044640. doi: 10.1136/bmjopen-2020-044640.

10. Detection of antibodiesagainst SARS-CoV-2 in patients with COVID-19 / Zhe Du, Fengxue Zhu, Fuzheng Guo // J Med Virol.- 2020.- 92(10):1735-1738. doi: 10.1002/jmv.25820

11. Ai Tang Xiao Profile of specific antibodies to SARS-CoV-2: The first report / Ai Tang Xiao, Chun Gao, Sheng Zhang // J Infect. 2020 Jul; 81(1): 147–178. doi:10.1016/j. jinf.2020.03.012

12. Profiling early humoral response to diagnose novel coronavirus disease (COVID-19) / L. Guoo, L. Ren, S. Yang [et al.] // Clin Infect Dis. 2020. Jul 28;71(15): 778-785. doi: 10.1093/cid / ciaa310.

13. Seropositivity rate and diagnostic accuracy of serological tests in 2019-nCoV cases: a pooled analysis of individual studies / C-C Guo, J-Q Mi, H Nie // Eur Rev Med Pharmacol Sci. 2020;24(19):10208-10218. doi: 10.26355/eurrev_202010_23243. 14. Tantuoyir M.M. Serological tests for COVID-19: Potential opportunities /M. M. Tantuoyir, N. Rezaei // Cell Biol Int. 2021 Apr;45(4):740-748. doi: 10.1002/cbin.11516.