УДК 616.988.7:578.834.1]-078.73

DOI: <https://doi.org/10.22141/2312-413X.9.1.2021.228825>Зінчук О.М.¹, Петрух А.В.², Гринчишин Н.І.², Шваєвська К.К.²¹ Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького, м. Львів, Україна² Діагностичний центр «MeD/C», м. Львів, Україна

Особливості гуморальної імунної відповіді при коронавірусній хворобі (COVID-19)

Резюме. Проаналізовані дані наукової літератури за останні 12 місяців щодо особливостей гуморального імунітету при коронавірусній хворобі (COVID-19). Досліджена концентрація імуноглобулінів класу G (IgG) до SARS-CoV-2 у 65 осіб, яким було проведене лабораторне дослідження в діагностичному центрі «MeD/C» у 2020 році і в яких був виявлений діагностичний рівень специфічних антитіл. Встановлено, що через 3 місяці після первинного дослідження сироватки крові в імуноферментному аналізі високий рівень IgG до SARS-CoV-2 (KC > 7) спостерігається у 60 % обстежених. Вищий рівень IgG до SARS-CoV-2 через 3 місяці після первинного дослідження виявляється в осіб із високим початковим рівнем антитіл до вірусу.

Ключові слова: коронавірус; COVID-19; імуноглобуліни; імуноферментний аналіз

Вступ

Характер гуморальної імунної відповіді при коронавірусній хворобі (COVID-19) становить неабиякий інтерес для дослідників з огляду на важливість індикації рівня антитіл до SARS-CoV-2 з метою проведення специфічної лабораторної діагностики. Триває вивчення інформативності різних методів дослідження та тест-систем і доцільності їх застосування. Важливим є вивчення протективного значення гуморального імунітету і тривалості його напруженості для запобігання повторним випадкам хвороби.

Після зараження SARS-CoV-2 у більшості пацієнтів протягом 1–3 тижнів виявляються сироваткові антитіла до рецепторзв'язуючого домену шипоподібного білка вірусу [1–4]. Синтезуються імуноглобуліни (Ig) різних класів — M, A та G. За даними метааналізу, у якому оцінювалась чутливість тест-систем при дослідженні сироваток крові пацієнтів після перенесеного COVID-19 за часом з моменту появи симптомів, IgM на першому тижні хвороби виявлений у 23 % осіб, на другому — у 58 % і на третьому — у 75 %. Відповідно IgG виявлений у 30, 66 та 88 % пацієнтів. Водночас чутливість тест-систем за визначенням комбінації IgM/IgG на першому тижні становила 30,1 %, на другому — 72,2 % і на третьому — 91,4 % [2].

Активність синтезу протикоронавірусних антитіл прямо пропорційна інтенсивності інфекційного процесу, а тому в тяжких випадках хвороби антитілоутворення знаходиться на вищому рівні і антитіла визначаються в сироватці крові довше, тоді як у легких випадках і при безсимптомному перебігу інфекційного процесу антитіла до SARS-CoV-2 частіше мають мінімальний рівень або взагалі не визначаються [1, 5, 6]. Рівень протикоронавірусних антитіл зазвичай знижується протягом декількох місяців після зараження, і нейтралізуюча активність антитіл після симптоматичних випадків COVID-19 у більшості пацієнтів зберігається протягом 6–8 місяців [7–15]. Окрім тяжкості хвороби, тривалість гуморального імунітету, ймовірно, залежить від початкового рівня антитіл [16].

За даними Центрів з контролю і профілактики захворювань США (Centers for Disease Control and Prevention — CDC), особливістю COVID-19 є те, що після початку захворювання IgM та IgG можуть виявлятися в сироватці крові майже одночасно, і виявлення IgM без IgG є рідкістю [1]. Описані випадки, коли сероконверсія антитіл IgG наставала раніше, ніж IgM [11, 17], а тому більшість дослідників рекомендують використовувати тест-системи для визначення протикоронавірусних антитіл тільки класу IgG або загальних

антитіл і не проводити детекцію окремо антитіл класу IgM та IgA, що підвищує чутливість, специфічність і загальну точність дослідження [1, 18].

Серологічне дослідження не можна застосовувати як єдиний діагностичний метод у разі гострої інфекції SARS-CoV-2. Тим паче що основним методом специфічного лабораторного підтвердження COVID-19 є метод полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР), чутливість і специфічність якого є порівняно високими, особливо в перший тиждень хвороби. Крім того, застосування ПЛР дозволяє не тільки верифікувати діагноз, але й оцінити пацієнта як потенційне джерело збудника [19].

Товариство інфекційних хвороб Америки рекомендує проводити серологічне дослідження у таких випадках [18]:

- оцінювання пацієнтів із високою клінічною підозрою на COVID-19, коли результати ПЛР негативні та пройшло щонайменше 2 тижні від початку хвороби;

- виявлення запального мультисистемного синдрому в дітей;

- сероепідеміологічні дослідження.

Оскільки у частки інфікованих SARS-CoV-2 осіб антитіла починають з'являтися в кінці першого тижня хвороби (23–63 % залежно від тест-системи), то у разі негативного результату ПЛР дослідження в імуноферментному аналізі (ІФА) в кінці першого тижня може бути інформативним, якщо буде виявлений діагностичний титр антитіл [18].

ВООЗ рекомендує досліджувати парні сироватки в пацієнтів із чіткою клінікою COVID-19, коли результат ПЛР негативний. У цих випадках доцільно перший забір крові проводити в активній фазі, а другий — через 2–4 тижні [19]. CDC рекомендує індикацію рівня антитіл у сироватці крові як допоміжний метод діагностики COVID-19 у пацієнтів, які пізно звертаються за медичною допомогою (через 9–14 днів від початку хвороби), або в осіб, які звертаються з пізніми ускладненнями, характерними для коронавірусної хвороби [1].

Дослідження рівня сироваткових антитіл до SARS-CoV-2 доцільно проводити також і для визначення кола реконвалесцентів із високим рівнем антитіл з метою виробництва гіперімунної плазми для лікування тяжких форм COVID-19 [1].

Деякі тести можуть виявляти перехресну реактивність з іншими коронавірусами, які давно відомі як збудники гострої респіраторної вірусної інфекції, що може бути причиною хибнопозитивних результатів, а тому для серологічних досліджень необхідно використовувати тільки тест-системи з високою специфічністю (не менше 99,5 %) [1, 18]. За умов високої поширеності інфікування населення SARS-CoV-2 прогнозована цінність позитивного результату дослідження антитіл зростає, тобто більш імовірно, що пацієнти, в яких виявлено діагностичний рівень антитіл, справді є серопозитивними до SARS-CoV-2. І навпаки, за підрахунками спеціалістів CDC, у популяціях із низьким рівнем інфікування населення COVID-19 прогнозована цінність позитивного результату різко знижується (при інфікуванні популяції 5 % тест-система з чутливістю 90 % та специфічністю 95 % продемонструє хибнопозитивні

результати в половині випадків) [1]. Тобто при проведенні серологічних досліджень необхідно враховувати, що чим вища інфікованість населення регіону SARS-CoV-2, тим вищий відсоток хибнонегативних результатів, і чим нижча інфікованість, тим вищий відсоток хибнопозитивних результатів [1, 18].

Сьогодні вчені всіх країн проводять наукові дослідження, щоб з'ясувати, чи має позитивний рівень антитіл до SARS-CoV-2 після перенесеної хвороби протективне значення для запобігання повторному інфікуванню. Загальнозживані ІФА тест-системи встановлюють лише наявність і титр зв'язуючих антитіл і не оцінюють нейтралізуючу здатність цих антитіл. Ефективна гуморальна відповідь залежить не тільки (або не стільки) від титру протикоронавірусних антитіл, але й від їх афінітету. У листопаді 2020 року Управління з санітарного нагляду за якістю харчових продуктів та медикаментів (США) затвердило першу тест-систему для визначення нейтралізуючої здатності антитіл проти SARS-CoV-2, що дозволить точніше визначати імунний статус перехворілих [20]. Крім того, стійкість і тривалість імунітету залежить не тільки від гуморальної, але й від клітинної ланки імунітету, методи оцінки якої є набагато складнішими і практично не застосовуються у клінічній практиці [1, 7].

Поки не будуть встановлені стійкість і тривалість імунітету до COVID-19, не можна вважати, що особи, які мають позитивний рівень антитіл до SARS-CoV-2, захищені від повторної хвороби [19]. Рівень антитіл не може бути критерієм для групування осіб за імунним статусом у приміщеннях або на робочих місцях, а тим більше бути підставою для припинення дотримання соціальної дистанції або невикористання засобів індивідуального захисту [1]. За даними МОЗ України, станом на першу декаду лютого 2021 року в Україні зареєстровано 600 випадків повторного захворювання на COVID-19, що виникли через 3–6 місяців після первинної хвороби [21].

Мета дослідження: з'ясувати динаміку імуноглобулінів класу IgG до SARS-CoV-2 після інфікування.

Матеріали та методи

Проаналізовані дані наукової літератури за останні 12 місяців щодо особливостей гуморального імунітету при коронавірусній хворобі. Досліджено концентрацію імуноглобулінів класу IgG до SARS-CoV-2 у 65 осіб, яким було проведено лабораторне дослідження в діагностичному центрі «MeDIC» у 2020 році і в яких був виявлений діагностичний рівень специфічних антитіл. Серед обстежених було 26 чоловіків (40 %) і 39 жінок (60 %). Середній вік становив $38,90 \pm 1,49$ року. Мінімальний вік становив 21 рік, а максимальний — 69 років. Тільки в 13 осіб із 65 (20 %) обстеженню передувала симптоматика гострої респіраторної хвороби. Обстеження таких пацієнтів проводилося після завершення періоду ізоляції. У решти 52 обстежених (80 %) обстеження проводилося з огляду на контакт із хворим на COVID-19, що відбувся за 10–21 день до обстеження.

Залежно від величини коефіцієнта серопозитивності (КС) при первинному дослідженні всі обстежені

Таблиця 1. Рівень імуноглобулінів класу G до SARS-CoV-2 у сироватці крові в ІФА (n = 65)

Коефіцієнт серопозитивності при первинному дослідженні			Значення коефіцієнта серопозитивності через 3 міс.									
			< 1		1,1–3		3,1–5		5,1–7		> 7	
n	%	Значення КС	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
5	7,7	1,1–3	2	40	2	40	1	20	0	0	0	0
2	3,1	3,1–5	1	50	0	0	0	0	0	0	1	50
2	3,1	5,1–7	0	0	1	50	0	0	0	9	1	50
56	86,1	> 7	5	8,9	6	10,7	8	14,3	0	0	37	66,1
Всього: 65			8	12,2	9	13,9	9	13,9	0	0	39	60

були розділені на групи: I група — КС 1,1–3, II група — КС 3,1–5, III група — КС 5,1–7 і IV група — КС > 7.

Специфічна лабораторна діагностика проводилась за допомогою тест-системи ІФА вітчизняного виробництва для якісного та напівкількісного визначення антитіл класу IgG до SARS-CoV-2 фірми Vitrotest® SARS-CoV-2 IgG. Дослідження проводились за допомогою імуноферментного аналізатора BioTek Elx800TS (Китай).

Статистичну обробку й аналіз отриманих даних проводили з використанням загальноприйнятих методів варіаційної статистики. Використовували пакет програм Statistica for Windows 8.0 (Statsoft, США). Дані наводились як середнє арифметичне $M \pm m$ (стандартна похибка). Відмінності відносних величин аналізували за допомогою двостороннього критерію Фішера.

Результати та обговорення

При первинному дослідженні 65 пацієнтів КС у межах 1,1–3 виявлено в 5 осіб (7,7 %), у межах 3,1–5 — у 2 (3,1 %), у межах 5,1–7 — у 2 (3,1 %) і більше 7 — у 56 осіб (86,1 %) (табл. 1). Тобто у переважної більшості обстежених (86,1 %) виявлено високий рівень протикоронавірусних антитіл, що виходив за межі кількісної індикації. Нами не виявлено статистично вагомої відмінності рівня IgG до SARS-CoV-2 серед хворих (n = 13) та осіб із безсимптомним перебігом інфекційного процесу (n = 52).

Повторне обстеження рівня протикоронавірусних антитіл проведене в середньому через 3 місяці ($2,98 \pm 0,11$ міс.). Встановлено, що серед 65 обстежених через 3 місяці в 8 осіб (12,2 %) не виявлено протикоронавірусних антитіл у сироватці крові (КС < 1). У решти обстежених КС у межах 1,1–3 виявлено в 9 осіб (13,9 %), у межах 3,1–5 — у 9 (13,9 %), у межах 5,1–7 — у жодного і більше 7 — у 39 осіб (60 %).

Таким чином, із 65 обстежених пацієнтів через 3 місяці в 39 осіб (60 %) виявлено високий захисний рівень антитіл (КС > 7). При цьому найчастіше високий КС через 3 місяці зустрічався саме в тих обстежених, у яких при первинному дослідженні виявлений високий рівень IgG до SARS-CoV-2 (КС > 7). Так, якщо у IV групі (n = 56) через 3 місяці КС > 7 відзначався у 66,1 % обстежених, то у I групі (n = 5) через 3 місяці КС > 7 був у 0 % (p < 0,001).

У подальших планах — дослідження рівня IgG до SARS-CoV-2 через 6 і 12 місяців після первинного ін-

фікування, що дозволить повніше оцінити тривалість гуморального імунітету при коронавірусній хворобі (COVID-19).

Висновки

- 1. Через 3 місяці після первинного дослідження сироватки крові в ІФА високий рівень IgG до SARS-CoV-2 (КС > 7) спостерігається у 60 % обстежених.
- 2. Вищий рівень IgG до SARS-CoV-2 через 3 місяці після первинного дослідження виявляється в осіб із високим початковим рівнем антитіл до вірусу.

Конфлікт інтересів. Автори заявляють про відсутність конфлікту інтересів і власної фінансової зацікавленості при підготовці даної статті.

Список літератури

1. Centers for Disease Control and Prevention. Interim Guidelines for COVID-19 Antibody Testing in Clinical and Public Health Settings. <https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/lab/resources/antibody-tests-guidelines.html>

2. Deeks J.J., Dinnes J., Takwoingi Y. et al. Antibody tests for identification of current and past infection with SARS-CoV-2. *Cochrane Database Syst. Rev.* 2020. 6. CD013652.

3. To K.K., Tsang O.T., Leung W.S. et al. Temporal profiles of viral load in posterior oropharyngeal saliva samples and serum antibody responses during infection by SARS-CoV-2: an observational cohort study. *Lancet Infect. Dis.* 2020. 20. 565.

4. Wölfel R., Corman V.M., Guggemos W. et al. Virological assessment of hospitalized patients with COVID-2019. *Nature.* 2020. 581. 465.

5. Lynch K.L., Whitman J.D., Lacanienta N.P. et al. Magnitude and kinetics of anti-SARS-CoV-2 antibody responses and their relationship to disease severity. *Clin. Infect. Dis.* 2020.

6. Rijkers G., Murk J.L., Wintermans B. et al. Differences in Antibody Kinetics and Functionality Between Severe and Mild Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 Infections. *J. Infect. Dis.* 2020. 222. 1265.

7. Dan J.M., Mateus J., Kato Y. et al. Immunological memory to SARS-CoV-2 assessed for up to 8 months after infection. *Science.* 2021.

8. Isho B., Abe K.T., Zuo M. et al. Persistence of serum and saliva antibody responses to SARS-CoV-2 spike antigens in COVID-19 patients. *Sci Immunol.* 2020. 5.

9. Iyer A.S., Jones F.K., Nodoushani A. et al. Persistence and decay of human antibody responses to the receptor binding domain of SARS-CoV-2 spike protein in COVID-19 patients. *Sci Immunol.* 2020. 5.

10. Gudbjartsson D.F., Norddahl G.L., Melsted P. et al. Humoral Immune Response to SARS-CoV-2 in Iceland. *N. Engl. J. Med.* 2020. 383. 1724.
11. Long Q.X., Tang X.J., Shi Q.L. et al. Clinical and immunological assessment of asymptomatic SARS-CoV-2 infections. *Nat. Med.* 2020. 26. 1200.
12. Lumley S.F., O'Donnell D., Stoesser N.E. et al. Antibody Status and Incidence of SARS-CoV-2 Infection in Health Care Workers. *N. Engl. J. Med.* 2020.
13. Robbani D.F., Gaebler C., Muecksch F. et al. Convergent antibody responses to SARS-CoV-2 in convalescent individuals. *Nature.* 2020. 584. 437.
14. Wajnberg A., Amanat F., Firpo A. et al. Robust neutralizing antibodies to SARS-CoV-2 infection persist for months. *Science.* 2020.
15. Wang K., Long Q.X., Deng H.J. et al. Longitudinal dynamics of the neutralizing antibody response to SARS-CoV-2 infection. *Clin. Infect. Dis.* 2020.
16. Self W.H., Tenforde M.W., Stubblefield W.B. et al. Decline in SARS-CoV-2 Antibodies After Mild Infection Among Frontline Health Care Personnel in a Multistate Hospital Network — 12 States, April — August 2020. *MMWR Morb. Mortal. Wkly Rep.* 2020. 69. 1762.
17. Qu J., Wu C., Li X. et al. Profile of IgG and IgM antibodies against severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2). *Clin. Infect. Dis.* 2020 Apr 27.
18. Hansen K.E., Caliendo A.M., Arias C.A. et al. Infectious Diseases Society of America Guidelines on the Diagnosis of COVID-19: Serologic Testing. August 18, 2020. <https://www.idsociety.org/practice-guideline/covid-19-guideline-serology>
19. World Health Organization. Diagnostic testing for SARS-CoV-2: interim guidance. 2020. <https://www.who.int/publications/item/diagnostic-testing-for-sarscov-2>
20. Coronavirus (COVID-19) Update: FDA Authorizes First Test that Detects Neutralizing Antibodies from Recent or Prior SARS-CoV-2 Infection. November 06, 2020. <https://www.fda.gov/news-events/press-announcements/coronavirus-covid-19-update-fda-authorizes-first-test-detects-neutralizing-antibodies-recent-or>
21. В Україні зареєстровано майже 600 випадків повторних заражень COVID-19. МОЗ України, лютий 2021 року. <https://ua.interfax.com.ua/news/general/721590.html>

Отримано/Received 27.01.2021

Рецензовано/Revised 10.02.2021

Прийнято до друку/Accepted 19.02.2021 ■

O.M. Zinchuk¹, A.V. Petruk², N.I. Hrynychshyn², K.K. Shvaievska²¹ Danylo Halytsky Lviv National Medical University, Lviv, Ukraine² Diagnostic Center "MeDIS", Lviv, Ukraine

Peculiarities of a humoral immune response in coronavirus infection (COVID-19)

Abstract. We reviewed scientific data published during the recent 12 months about peculiarities of a humoral immune response in coronavirus infection (COVID-19). We also examined the concentration of immunoglobulin G against SARS-CoV-2 in 65 people in the Diagnostic Center "MeDIS" in 2020 with the diagnostic titer of specific antibodies. We established that in 3 months after primary examination of serum 60 % of exam-

ined patients presented high titers of IgG against SARS-CoV-2 (seropositivity rate > 7) in ELISA test. The highest level of IgG against SARS-CoV-2 in 3 months after the primary examination was revealed in those with a high initial level of antibodies against this virus.

Keywords: coronavirus; COVID-19; immunoglobulin; enzyme-linked immunosorbent assay

Зинчук А.Н.¹, Петрух А.В.², Гринчишин Н.И.², Шваевская К.К.²¹ Львовский национальный медицинский университет имени Данила Галицкого, г. Львов, Украина² Диагностический центр «MeDIS», г. Львов, Украина

Особенности гуморального иммунного ответа при коронавирусной болезни (COVID-19)

Резюме. Проведен анализ данных научной литературы за последние 12 месяцев относительно особенностей гуморального иммунитета при коронавирусной болезни (COVID-19). Исследована концентрация иммуноглобулинов класса G (IgG) к SARS-CoV-2 у 65 обследованных в диагностическом центре «MeDIS» в 2020 году, у которых был выявлен диагностический титр специфических антител. Установлено, что через 3 месяца после первичного

исследования сыворотки крови в иммуноферментном анализе высокий уровень IgG к SARS-CoV-2 (КК > 7) наблюдается у 60 % обследованных. Более высокий уровень IgG к SARS-CoV-2 через 3 месяца после первичного исследования определяется у лиц с высоким начальным уровнем антител к вирусу.

Ключевые слова: коронавирус; COVID-19; иммуноглобулины; иммуноферментный анализ