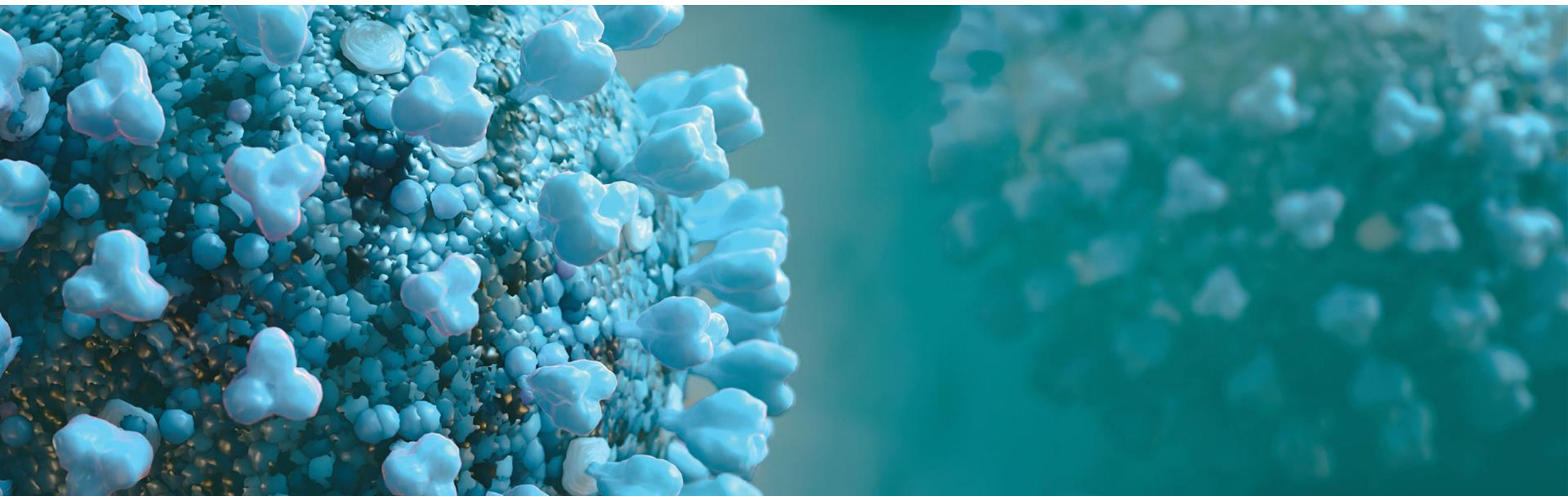


# Особенности иммунного ответа при новой коронавирусной инфекции

Берестовская Виктория Станиславовна  
доцент кафедры клинической лабораторной диагностики и генетики  
ФГБУ НМИЦ им. В.А.Алмазова



# Дисклеймер

*До начала обсуждения*

- Большинство источников, которые сейчас доступны, предоставляют нескорректированные оценки.
- Публикации в медицинских журналах составлены на основании клинических данных и опыта специалистов, участвующих в лечении и профилактике инфекции SARS-CoV-2 в условиях текущей пандемии.
- «Временные методические рекомендации по профилактике, диагностике и лечению новой коронавирусной инфекции (COVID-19)» динамически обновляются, приведены данные 7 версии от 03.06.2020.

# Инфекция SARS-CoV-2

*Молекулярные и серологические тесты решают разные задачи*

РНК вируса SARS-CoV-2

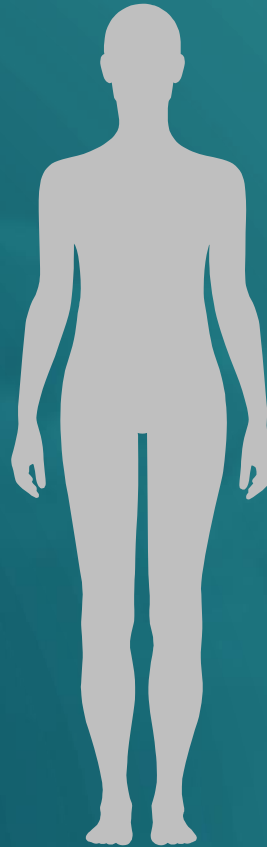
*Находится ли обследуемый в активной стадии заболевания*

ПЦР и тест на антиген:

**Очень высокая чувствительность**

**Ложноотрицательный результат =  
“Пропущенный случай”**

Риск для здоровья пациента и распространения заболевания



Иммунный ответ  
IgG, IgM, IgA

*Выработал ли обследуемый антитела после контакта с вирусом*

Тест на антитела:

**Очень высокая специфичность**

**Ложноположительный результат =  
Прогностическая ошибка**

Ошибочное представление о предполагаемом иммунном ответе – риск ошибочных управленческих решений

# Цели серологического обследования

- **Цель 1:** установление этиологической природы заболевания и учета пациентов с COVID-19 в условиях эпидемии. По результатам поводится подтверждение/исключение диагноза COVID-19 у пациентов с клинической картиной и отрицательным результатом на РНК SARS-CoV-2.
- **Цель 2:** предотвращение передачи SARS-CoV-2 в коллективах с высоким риском распространения COVID-19. Надежный суррогатный маркер инфицирования для выявления из групп риска лиц для дальнейшего обследования на наличие РНК вируса.
- **Цель 3:** популяционное тестирование для установления уровня иммунной прослойки лиц с антителами к SARS-CoV-2 (поводится в определённом временном интервале с отбором категорий тестируемых и сбором дополнительной информации, *Рекомендации ВОЗ*). Серологические данные позволяют установить долю инфекции, перенесённой в бессимптомной форме; оценить уровень коллективного иммунитета населения в стране/регионах/отдельных группах; определить факторы риска заражения, сравнивая группы зараженных и неинфицированных лиц; надежно определить заболеваемость и смертность.
- **Цель 4:** предотвращение заноса SARS-CoV-2 в закрытый коллектив в условиях эпидемии. Дополнительный тест для тестирования лиц при допуске в изолированные коллективы.

# Неоднородность тест-систем антител к SARS-CoV-2

**Область анализа:** содержание в плазме, сыворотке крови

- Отдельные антитела IgM, IgA, IgG и их комбинаций IgA/IgG, IgM/IgG
- Общие (суммарные) антитела

**Выражение результата:** качественное или полуколичественное

**Используемый антиген:**

- Рекомбинантные белки S, N или их композиция
- Цельновирионный инактивированный антиген SARS-CoV-2

# Коронавирусы

## Морфология вириона и структурные белки

### Крупная молекула РНК вируса в вирусном капсиде (80-120 нм)

#### Липидный бислой

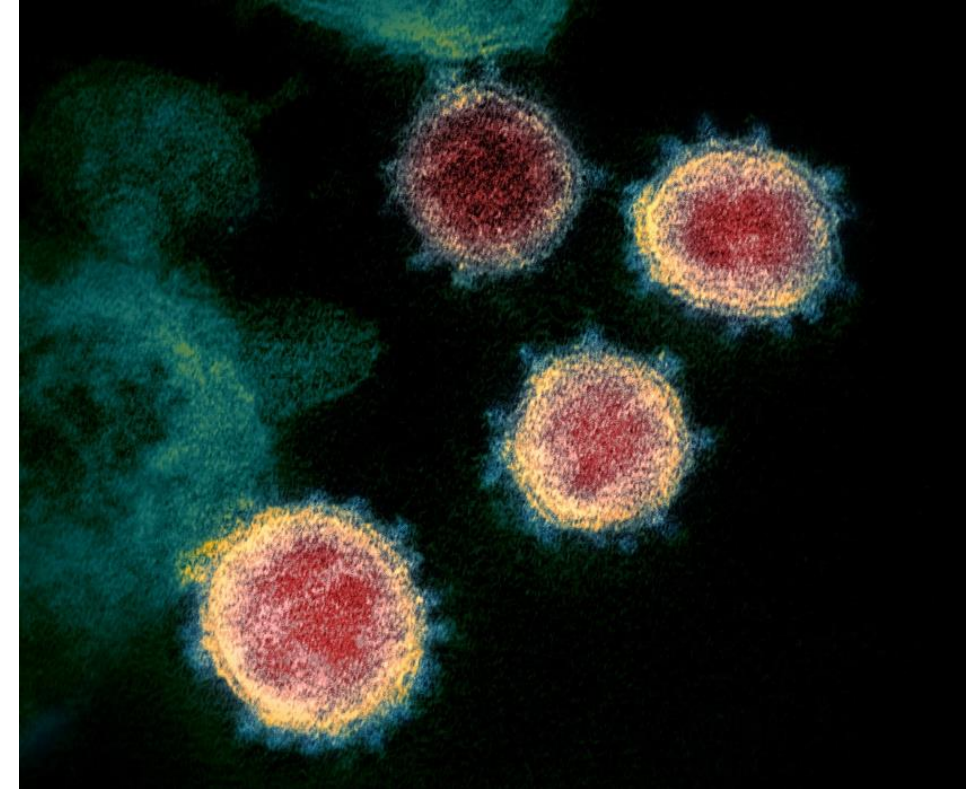
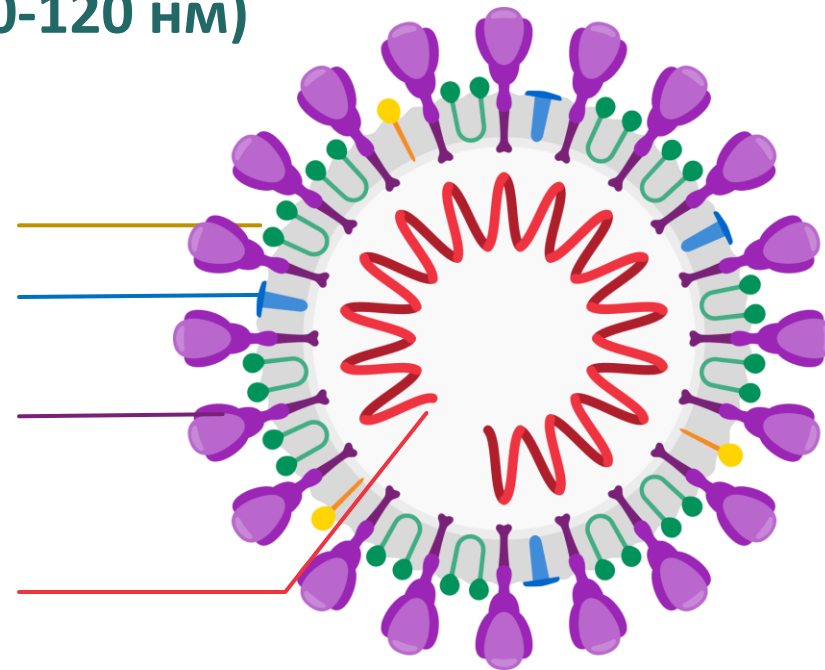
Матриксный белок (М)

Небольшой белок оболочки (конверта- envelope) (Е)

Белок-шип (spike) (S)

#### Нуклеокапсид

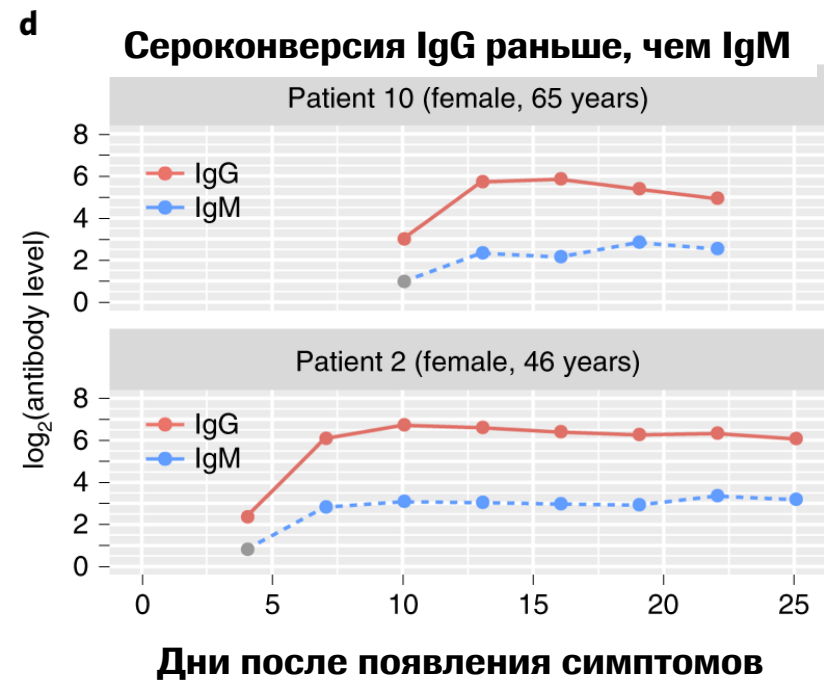
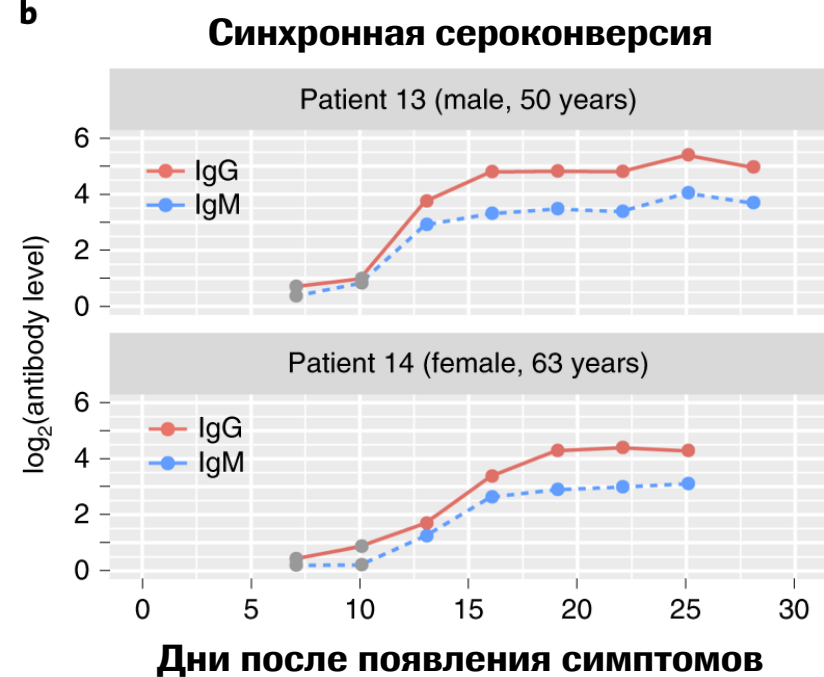
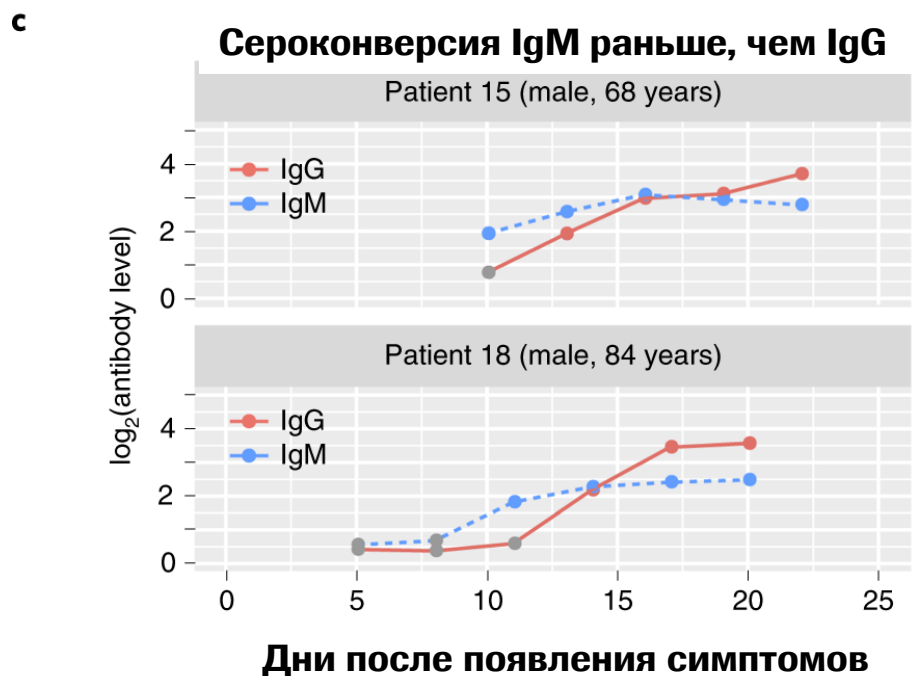
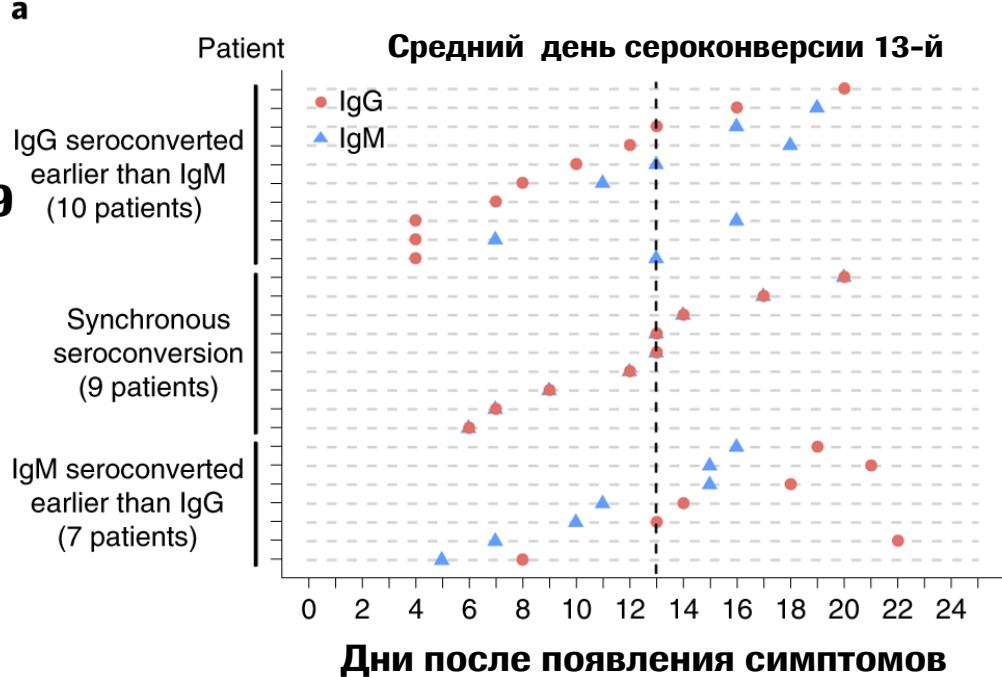
Нуклеокапсидный белок (N),  
связанный с РНК



# Варианты ответа антител к SARS-CoV-2 у 26 пациентов с COVID-19

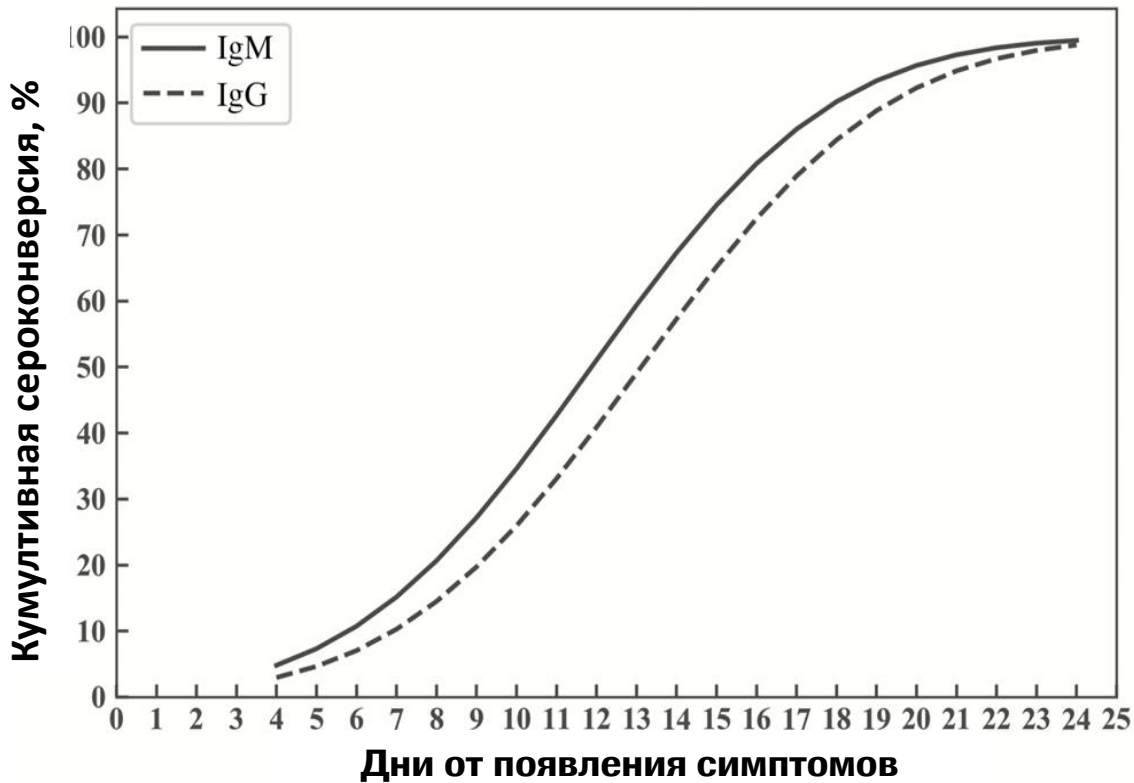
IgM начинают формироваться примерно с 7 суток от начала заражения, достигают пика через неделю, а впоследствии концентрация их постепенно падает в течение 2-х недель. Одновременно примерно с 3-й недели или немного раньше определяются IgG, которые предположительно будут иметь значение в оценке устойчивости, напряженности и эффективности приобретенного иммунитета.

Временные рекомендации...  
7 версия, 03.06.2020



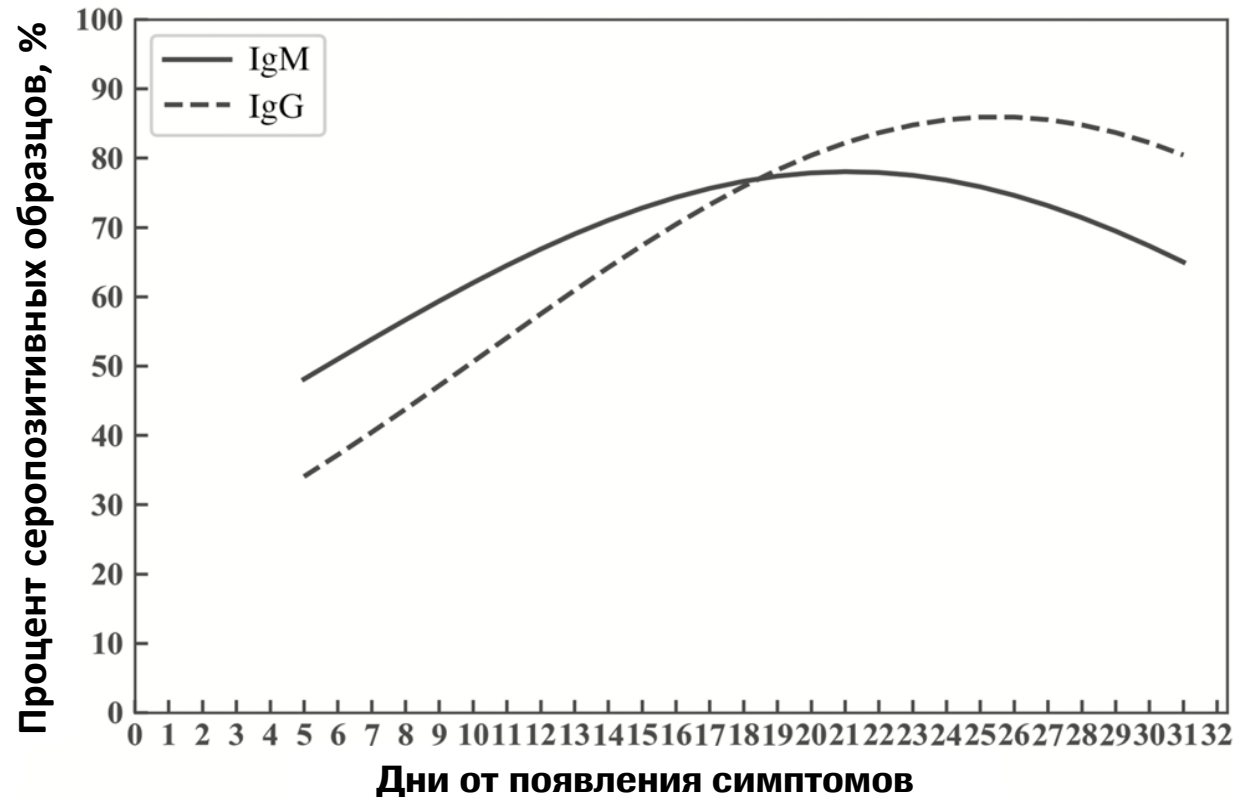
# Динамика антител к SARS-CoV-2 у пациентов с COVID-19

Начало сероконверсии антител IgM и IgG



Кумулятивная сероконверсия IgM быстро возрастает с восьмого дня, а IgG увеличиваются с 10-го дня после появления симптомов.

Обнаружение антител IgM и IgG в разные сроки



Антитела IgM и IgG обнаруживаются с четвертого дня. Уровень IgM постепенно увеличивается, но IgG резко возрастает с 12-го дня от начала заболевания.

Использовались образцы от 66 пациентов с положительными результатами РНК при COVID-19

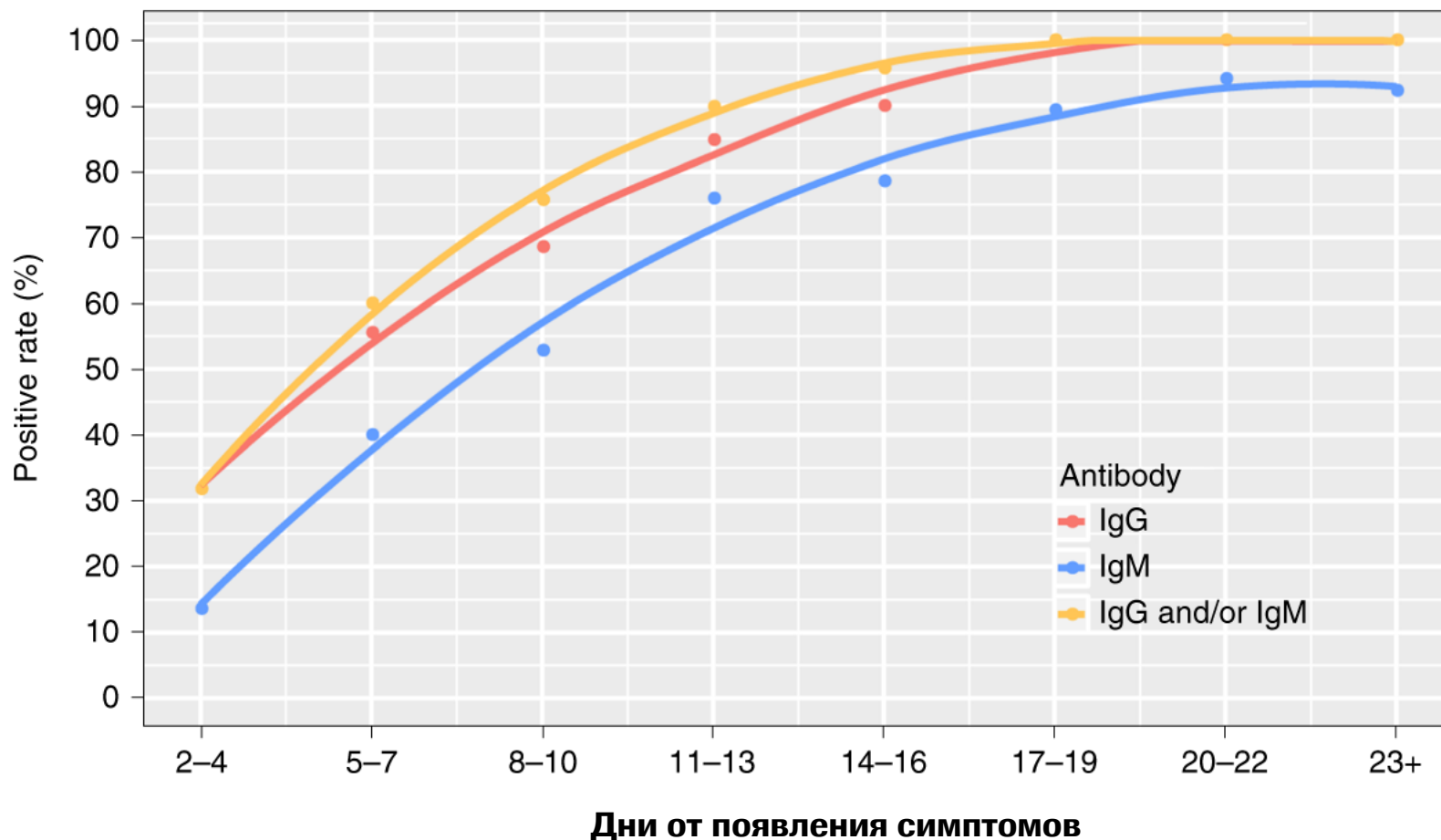


## Варианты ответа антител к SARS-CoV-2 у пациентов с COVID-19

В течение первых 3 недель после появления симптомов IgG и IgM возрастали.

Доля пациентов с положительным IgG достигла 100% приблизительно через 17–19 дней; с положительным IgM пик достигался через 20–22 дня после появления симптомов с чувствительностью 94,1%.

а



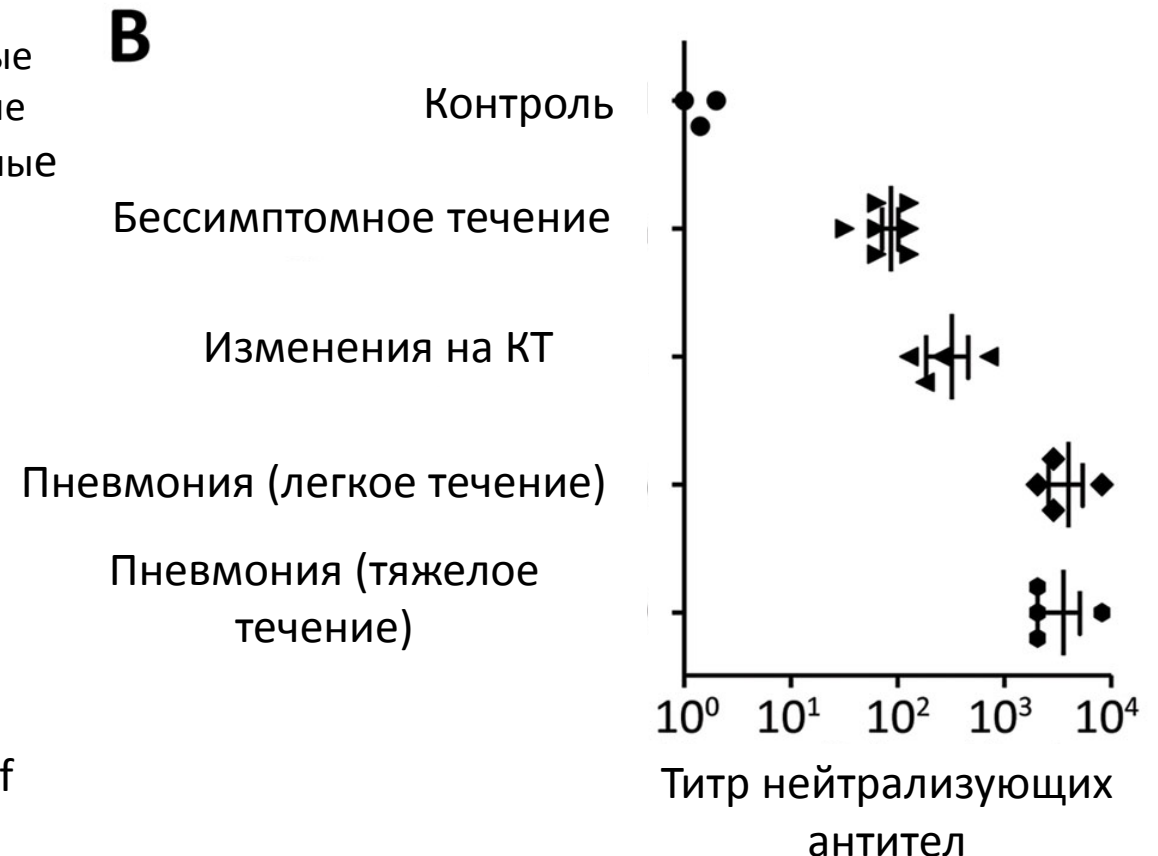
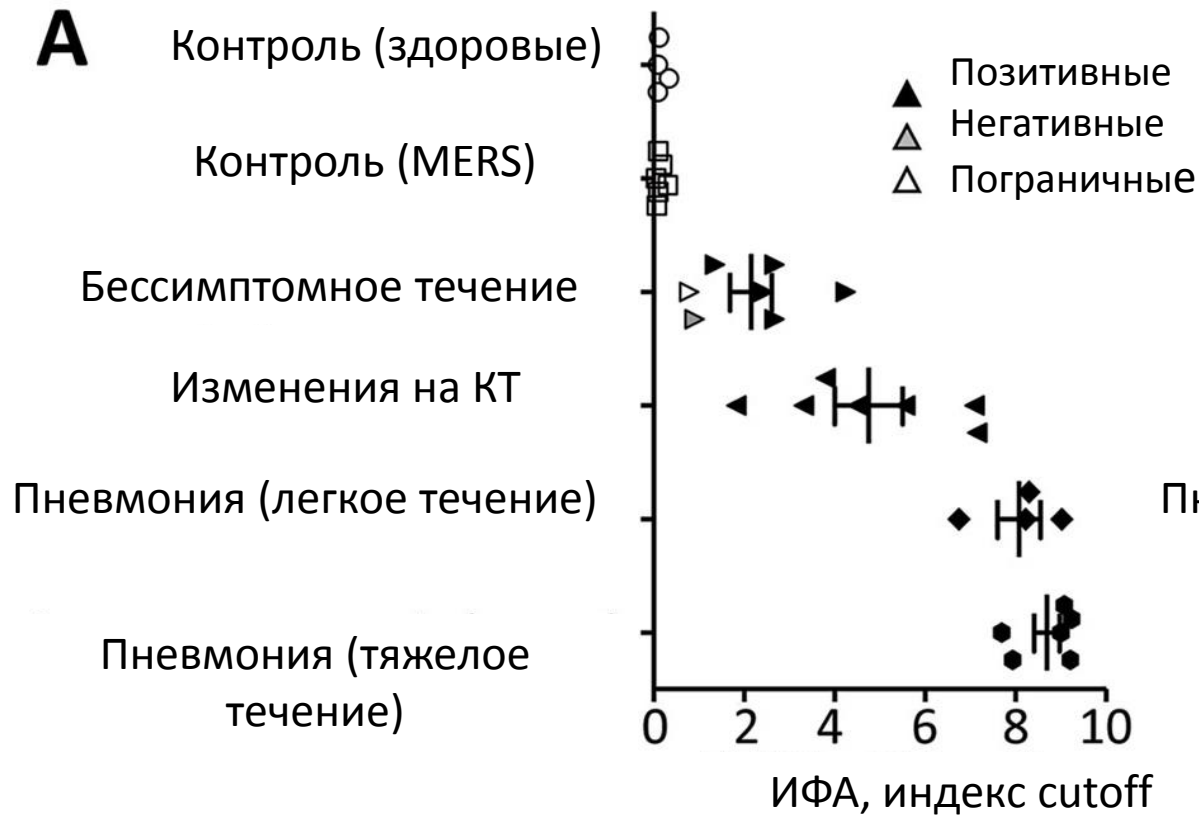
Days	Дни от появления симптомов							
	2-4 (N = 22)	5-7 (N = 45)	8-10 (N = 70)	11-13 (N = 79)	14-16 (N = 70)	17-19 (N = 47)	20-22 (N = 17)	23+ (N = 13)
IgG	7	25	48	67	63	47	17	13
IgM	3	18	37	60	55	42	16	12
IgG and/or IgM	7	27	53	71	67	47	17	13

\* Number of serum samples with positive results

363 образца сыворотки от 262 пациентов в динамике

# Ответ антител к SARS-CoV-2 через 8 недель постинфекции у бессимптомных пациентов

Сероконверсия у бессимптомных пациентов может занять больше времени



Жители Деагу, Южная Корея РНК-положительные, изолированные в центре лечения COVID-19. У бессимптомных пациентов антитела были положительными результаты у 5 (71%) пациентов, «серая зона» у 1 (14%) пациента и отрицательный результат у 1 (14%) пациента. Ранее считалось, что  $\approx 30\%$  выздоровевших пациентов с легкой формой COVID-19 недостаточный уровень нейтрализующих антител; у небольшой части их нет.

[https://wwwnc.cdc.gov/eid/article/26/10/20-2211\\_article](https://wwwnc.cdc.gov/eid/article/26/10/20-2211_article)

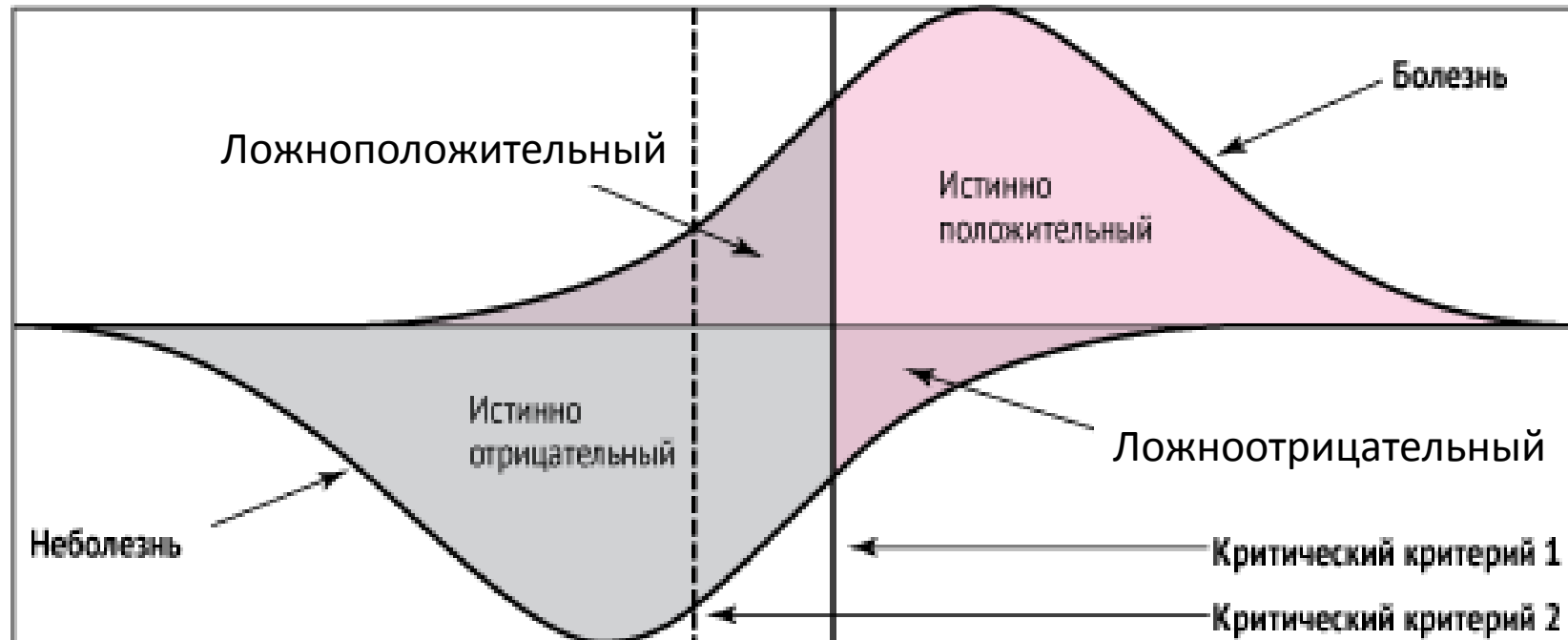
# Руководство по интерпретации результатов на COVID-19



Исследование	Результат	Интерпретация
Прямое определение вируса (тестирование в условиях текущей инфекции)	Положительный	Наиболее вероятно наличие активной инфекции при COVID-19. Возможна передача вируса другим людям.
	Отрицательный	Наиболее вероятно отсутствие активной инфекции при COVID-19.
Определение антител (тестирование для установления заражения вирусом в прошлом)	Положительный	Вероятно наличие инфекции при COVID-19 в прошлом.
	Отрицательный	Вероятно отсутствие инфекции/контакта с возбудителем COVID-19 в прошлом или период ранней сероконверсии, когда антитела еще не выработались.
Совместное определение вируса и антител	Вирус положительный; Антитела положительные	Наиболее вероятно наличие активной инфекции при COVID-19. Возможна передача вируса другим людям.
	Вирус положительный; Антитела отрицательные	Наиболее вероятно наличие активной инфекции при COVID-19. Возможна передача вируса другим людям.
	Вирус отрицательный; Антитела положительные	Вероятно наличие инфекции при COVID-19 в прошлом.
	Вирус отрицательный; Антитела отрицательные	Вероятно отсутствие инфекции/контакта с возбудителем COVID-19 в прошлом и настоящем или период ранней сероконверсии, когда антитела еще не выработались.

# Основные характеристики тестов

- **Чувствительность** - способность диагностического теста давать положительный результат при наличии заболевания. Высокочувствительный тест должен фиксировать все истинно положительные результаты
- **Специфичность** - способность диагностического теста указывать отрицательный результат, если предполагается отсутствие болезни. Тест с высокой специфичностью должен исключить все истинно отрицательные результаты.



# Михаил Иванович Михайлов

Заведующий лабораторией вирусных гепатитов ФГБНУ «НИИ вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова», Научный руководитель НИИ молекулярной и персонализированной медицины ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Министерства здравоохранения Российской Федерации, д.м.н., профессор, член-корреспондент РАН

**Чувствительность и специфичность всегда взаимосвязаны.** Можно “заглубить” тест и сделать его менее чувствительным, но более специфичным. Разрабатываемые тесты стремятся иметь специфичность не менее 98%.

Но даже с **самым лучшим тестом можно получить и ложнонегативный результат.** Во-первых, кровь у пациента может быть взята в тот период, когда антител еще нет, потом они могут появиться в детектируемой концентрации. Во-вторых, есть такое понятие в диагностике, как “серая зона” сомнительных результатов, она чрезвычайно важна, но ее можно установить только при больших массовых исследованиях, которых еще пока нет.

Однако при использовании любого серологического теста могут быть случаи ложнопозитивной реакции, которые связаны с целым рядом проблем, с самими сыворотками, в которых проводятся. В образце могут быть белки, которые вступают в неспецифическую реакцию.

# Результаты одного скрининга ...

Результат лабораторного исследования

Дата исследования  
29.05.2020г

ДЦЛИ  
КЛИНИКО-ДИАГНОСТИЧЕСКАЯ ЛАБОРАТОРИЯ  
РЕЗУЛЬТАТЫ ЛАБОРАТОРНЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

Определение антител IgM и IgG к Coronavirus (SARS-CoV-2)

Биоматериал: кровь цельная. Локус: вена.

Тест	Результат	Норма	Отклонение	Критичность отклонения
Определение антител IgM к Coronavirus (SARS-CoV-2)	1.11	<1	отклонение от нормы	Выше нормы (числовой результат)
Определение антител IgG к Coronavirus (SARS-CoV-2)	4.06	<10		

Комментарий: вы находитесь в стадии заболевания. Даже если Вы не чувствуете недомогания, Вы являетесь носителем вируса. Это опасно для Вас и окружающих Вас людей. Пожалуйста, находитесь в режиме самоизоляции в течение 14 дней, не контактируйте со своими близкими во избежание их заражения. В ближайшие дни к Вам придет медицинский работник поликлиники для наблюдения за Вашим здоровьем в течение периода карантина. Если Вы почувствуете себя плохо, незамедлительно вызовите врача на дом.  
Исполнитель: -

05.06.2020

Результат IgM 1,15 (норма <2)

Комментарий: у Вас нет антител к вирусу.

29.05.2020

Результат IgM 1,11 (норма <1)

Комментарий: Вы находитесь в стадии заболевания и являетесь носителем вируса.

Результат лабораторного исследования

Дата исследования  
05.06.2020г

ДЦЛИ  
КЛИНИКО-ДИАГНОСТИЧЕСКАЯ ЛАБОРАТОРИЯ  
РЕЗУЛЬТАТЫ ЛАБОРАТОРНЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

Определение антител IgM и IgG к Coronavirus (SARS-CoV-2)

Биоматериал: кровь цельная. Локус: вена.

Тест	Результат	Норма	Отклонение	Критичность отклонения
Определение антител IgM к Coronavirus (SARS-CoV-2)	1.15	<2		
Определение антител IgG к Coronavirus (SARS-CoV-2)	3.5	<10		

Комментарий: у Вас нет антител к вирусу, что говорит о том, что Вам надо соблюдать меры предосторожности для предотвращения возможного заболевания. В случае, если на Вас наложен карантин постановлением Роспотребнадзора или информированным согласием, Вы обязаны соблюдать режим самоизоляции в течение срока, указанного в данных документах.  
Исполнитель: -

# Значение высокой специфичности теста

Москва – распространенность COVID-19 низкая (1,5%)<sup>1</sup>

Распространенность SARS-CoV-2	0,2%		0,5%		1,5% Москва		2%		5%	
Специфичность теста	ППЗ	ЛПР на 100 000	ППЗ	ЛПР на 100 000	ППЗ	ЛПР на 100 000	ППЗ	ЛПР на 100 000	ППЗ	ЛПР на 100 000
<b>94,9%</b> <sup>2,3</sup>	3.78%	5090	8.97%	5075	<b>23%</b>	<b>5 024</b>	28.58%	4998	50.79%	4845
<b>99,8%</b> <sup>3,4</sup>	50%	200	71.53%	199	88%	197	91.07%	196	96.34%	190

**ППЗ** – положительное прогностическое значение

**ЛПР** – ложноположительный результат

1. <https://xn--80aesfpebagmfblc0a.xn--p1ai>

2. Данные специфичности по РЕШЕНИЮ КЛИНИЧЕСКОГО КОМИТЕТА ПО COVID-19 ОТ 12.05.2020., Москва

3. Чувствительность теста принята за 100%

4. <https://www.fda.gov/media/137605/download>

# Рекомендации по популяционному скринингу на SARS-CoV-2

## *Оптимизация результатов тестов<sup>1</sup>*

Официальные источники показывают, что, включая наиболее пострадавшие области, распространённость SARS-CoV-2 в Российской Федерации низкая и не достигает уровня 2-3%<sup>2</sup>.

В популяции с низкой распространённостью возбудителя положительная прогностическая значимость (вероятность того, что у лиц с положительным результатом теста действительно имеются антитела) является ключевым индикатором, обеспечивающим достоверность популяционного тестирования.

Для повышения положительной прогностической значимости можно использовать два алгоритма:

- Первый вариант - тестирование на одной аналитической системе с очень высокой специфичностью (не меньше 99,5%), что позволит минимизировать число ложноположительных результатов в популяции с низкой распространённостью SARS-CoV-2<sup>1</sup>
- Второй подход основан на применении ортогонального тестирования, при котором у лиц с первично положительным результатом теста на системе с недостаточной специфичностью проводится второй тест. Эффективный ортогональный алгоритм на SARS-CoV-2 включает исследование антител к SARS-CoV-2 в одном биоматериале, но с использованием двух тестов, каждый из которых не имеет достаточной специфичности.

**Специфичность теста на антитела к SARS-CoV-2 определяет выбор алгоритма тестирования**

1. <https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/lab/resources/antibody-tests-guidelines.html>

2. <https://xn--80aefpebagmfb1c0a.xn--p1ai/>



# Рекомендации

- Сероконверсия антител к SARS-CoV-2 наиболее часто начинается с конца первой и от начала второй недели с момента появления клинических симптомов и формируется к 14-15 дню. На 3-4 неделе появления клинических симптомов IgM начинает снижаться и достигает более низких уровней к 5 неделе, тогда как IgG сохраняется более длительное время.
- Динамика иммунного ответа на SARS-CoV-2 определяет вероятность получения отрицательного результата у 50-60% в когорте пациентов с подтвержденным диагнозом COVID-19 при выполнении исследования в серонегативный период, т.е. на первой неделе появления клинических симптомов. Оценка иммунного ответа после 14 дня от появления клинических симптомов обеспечивает клиническую чувствительность более 93% и достигает 100% для суммарных антител. Тесты на общие антитела потенциально более чувствительны, чем тесты для определения IgG и/или IgM.
- Диагностический интерес отдельного выявления IgA и IgM против CoV-2-SARS представляется ограниченным, а обнаружение IgG не является синонимом стойкого иммунитета. При этом у некоторых пациентов могут вырабатываться не все классы иммуноглобулинов или гуморальный иммунный ответ отсутствует. Причины этого феномена ещё не установлены.
- При проведении популяционного скрининга, а также для тестов, на основании которых принимаются медицинские (лечение) или управленческие (изоляция) решения, могут быть использованы тесты со специфичностью не менее 99,5% или последовательное тестирование на двух системах с более низкой специфичностью.
- Параллельное тестирование с независимым учетом результатов отдельного выявления антител IgM и IgG, возможно, увеличивает чувствительность, но снижает специфичность тестирования.
- При MERS и SARS-CoV нейтрализующие антитела сохранялись до 2 лет после инфекции и большинстве случаев на низком уровне.

**Благодарю за внимание!**