ФЕДЕРАЛЬНОЕ БЮДЖЕТНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ НАУКИ
«КАЗАНСКИЙ НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ИНСТИТУТ
ЭПИДЕМИОЛОГИИ И МИКРОБИОЛОГИИ»
ФЕДЕРАЛЬНОЙ СЛУЖБЫ ПО НАДЗОРУ В СФЕРЕ ЗАЩИТЫ ПРАВ
ПОТРЕБИТЕЛЕЙ И БЛАГОПОЛУЧИЯ ЧЕЛОВЕКА

*На правах рукописи*

Решетникова Ирина Дмитриевна

# Особенности формирования постинфекционного и вакцинального иммунитета к SARS-COV-2 у работников медицинских организаций

3.2.7. Иммунология

Диссертация
на соискание ученой степени
доктора медицинских наук

**Научный консультант:**
доктор медицинских наук, профессор
Фассахов Рустэм Салахович

Казань - 2025

# ОГЛАВЛЕНИЕ

**ВВЕДЕНИЕ……..** 8

**ГЛАВА 1. ФОРМИРОВАНИЕ ПОСТИНФЕКЦИОННОГО И ВАКЦИНАЛЬНОГО ИММУНИТЕТА К SARS-COV-2 В ГРУППЕ РИСКА - МЕДИЦИНСКИЕ РАБОТНИКИ (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ)…..** 27

1.1. Эпидемиологические аспекты и закономерности развития пандемии новой коронавирусной инфекции COVID-19…..……..... 27

1.2. Медицинские работники как группа высокого риска инфицирования коронавирусом SARS-CoV-2……..... 31

1.3. Особенности морфологии вируса SARS-CoV-2 и характеристика основных иммуногенных вирусных белков…….. 33

1.4. Врожденные механизмы иммунного ответа на вирус SARS-CoV-2……..... 35

1.5. Гуморальный иммунный ответ на новую коронавирусную инфекцию COVID-19……. 40

1.6. Мукозальный иммунный ответ и микробиота верхних дыхательных путей у реконвалесцентов COVID-19…… 48

1.7. Т-клеточный иммунный ответ на вирус SARS-CoV-2…… 53

1.8. Заключение по главе 1…….. 57

**ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ…….** 59

2.1. Структура и характеристика основной группы участников исследования, группы сравнения и контроля…..……..... 59

2.2. Иммунологические методы…….. 63

2.2.1. Определение уровня специфических антител к антигенам SARS-CoV-2……..…… 63

2.2.2. Определение авидности специфических IgG антител к антигенам SARS-CoV-2……..... 64

2.2.3. Определение сывороточной концентрации sCD40L.. ……..... 65

2.2.4. Методы забора материала……..... 65
2.2.5. Исследование содержания в назальном секрете мембранного маркера апоптоза - sCD95 (sAPO-1/FAS)……. ……... 66
2.2.6. Исследование содержания цитокинов ФНО-α, ИЛ-10, ИФН-γ в назальном секрете ……..... 66
2.2.7. Определение цитокинов ИЛ-1β, ИЛ-10, ИФН-γ, ИЛ-6 в сыворотке крови…….. 67
2.2.8. Изучение экспрессии TLR-2 на мононуклеарах периферической крови методом проточной цитофлуориметрии……..... 67
2.2.9. Исследования по технологии IGRA-ELISPOT для оценки Т-клеточного иммунитета к пептидным антигенам SARS-CoV-2…….. 68
2.3. Молекулярно-генетические методы…… 69
2.3.1. Изучение полиморфизмов генов TLR-2 и TLR-4……..,…… 69
2.3.2. NGS секвенирование генома штаммов S. aureus ……..... 69
2.4. Цитологические методы……..... 69
2.5. Микробиологические методы исследования слизистых оболочек верхних дыхательных путей……..... 71
2.6. Биоинформатический анализ …… 72
2.7. Статистические методы анализа……..... 72
2.8. Этическая экспертиза……..... 74
**ГЛАВА 3. ПОПУЛЯЦИОННЫЙ ИММУНИТЕТ К ВИРУСУ SARS-COV-2 У ЖИТЕЛЕЙ И МЕДИЦИНСКИХ РАБОТНИКОВ РЕСПУБЛИКИ ТАТАРСТАН В ПЕРИОД РАСПРОСТРАНЕНИЯ COVID-19……..... 75**
3.1. Изучение серопревалентности к вирусу SARS-CoV-2 у жителей Республики Татарстан до начала вакцинации против COVID-19……..... 75
3.2. Изучение коллективного иммунитета к вирусу SARS-CoV-2 среди медицинских работников Республики Татарстан в период распространения новой коронавирусной инфекции до начала вакцинации против COVID-19… 86

**ГЛАВА 4. ФОРМИРОВАНИЕ ГУМОРАЛЬНОГО ИММУННОГО ОТВЕТА К ВИРУСУ SARS-COV-2 У МЕДИЦИНСКИХ РАБОТНИКОВ ВРЕМЕННОГО ИНФЕКЦИОННОГО ГОСПИТАЛЯ…….** 95

4.1. Тренды формирования гуморального иммунного ответа на SARS-CoV-2 у медицинских работников временного инфекционного госпиталя…….. 95

4.2. Изучение индекса авидности IgG антител к S-белку вируса SARS-CoV-2 в группе медицинских работников временного инфекционного госпиталя на ранних сроках реконвалесценции COVID-19……... 102

4.3. Изучение индекса авидности IgG антител к вирусу SARS-CoV-2 в группе медицинских работников временного инфекционного госпиталя через 2,5-3 года после впервые перенесённой новой коронавирусной инфекции COVID-19…… 108

**ГЛАВА 5. АДАПТИВНЫЙ КЛЕТОЧНЫЙ ИММУННЫЙ ОТВЕТ НА ВИРУС SARS-COV-2 В ГРУППЕ МЕДИЦИНСКИХ РАБОТНИКОВ ВРЕМЕННОГО ИНФЕКЦИОННОГО ГОСПИТАЛЯ …….** 116

5.1. Изучение Т-клеточного иммунитета к различным иммуногенным пептидам и структурным белкам вируса SARS-CoV-2 у переболевших и вакцинированных лиц в группе риска медицинские работники……..... 116

5.2. Анализ потенциальных факторов, влияющих на показатели адаптивного Т-клеточного иммунитета к вирусу SARS-CoV-2 через 2,5-3 года после перенесённой COVID-19 у медицинских работников…….. 134

**ГЛАВА 6. ИЗУЧЕНИЕ ОСОБЕННОСТЕЙ ГУМОРАЛЬНОГО ИММУННОГО ОТВЕТА К ВИРУСУ SARS-COV-2 У ПЕРЕБОЛЕВШИХ И ВАКЦИНИРОВАННЫХ ПРОТИВ COVID-19 ЖИТЕЛЕЙ И МЕДИЦИНСКИХ РАБОТНИКОВ РЕСПУБЛИКИ ТАТАРСТАН……...** 144

6.1. Гуморальный иммунный ответ к SARS-CoV-2 у вакцинированных против COVID-19 жителей Республики Татарстан: возрастная, гендерная, социальная, территориальная характеристика поствакцинального иммунного ответа, влияние кратности и сроков вакцинации на иммунный ответ……... 144

6.2. Изучение возрастно-гендерных, территориальных характеристик поствакцинального иммунного ответа к вирусу SARS-CoV-2, влияния вакцин, кратности и сроков вакцинации на гуморальный иммунный ответ у медицинских работников Республики Татарстан……. 163

**ГЛАВА 7. ВРОЖДЕННЫЙ ИММУНИТЕТ У МЕДИЦИНСКИХ РАБОТНИКОВ В ПЕРИОД РЕКОНВАЛЕСЦЕНЦИИ ПОСЛЕ COVID-19 НА РАННИХ СРОКАХ И СПУСТЯ 2,5-3 ГОДА ПОСЛЕ ВПЕРВЫЕ ПЕРЕНЕСЕННОЙ ИНФЕКЦИИ……...** 180

7.1. Изучение распространенности однонуклеотидных полиморфизмов TLR-4 (rs4986790) и TLR-2 (rs5743708) в группе медицинских работников……. 181

7.2. Изучение экспрессии TLR-2 на моноцитах периферической крови у медицинских работников с полиморфизмами SNP TLR-2 и TLR-4 и профиля цитокинов в период ранней и поздней реконвалесценции COVID-19……... 183

7.3. Взаимосвязь клинически значимых показателей врожденного иммунного ответа, цитокинового профиля периферической крови и адаптивного иммунного ответа на вирус SARS-CoV-2 у медицинских работников в период реконвалесценции COVID-19…….……..... 185

**ГЛАВА 8. ПОКАЗАТЕЛИ МУКОЗАЛЬНОГО ИММУНИТЕТА И МИКРОБИОТЫ ВЕРХНИХ ДЫХАТЕЛЬНЫХ ПУТЕЙ У МЕДИЦИНСКИХ РАБОТНИКОВ В РАННИЕ СРОКИ РЕКОНВАЛЕСЦЕНЦИИ И СПУСТЯ 2,5-3 ГОДА ПОСЛЕ COVID-19...** 191

8.1. Изменения микробиоты верхних дыхательных путей и мукозального иммунитета в период ранней реконвалесценции после перенесенной новой коронавирусной инфекции COVID-19 в группе риска - медицинские работники…….. 191

8.2. Взаимосвязь микробиоты слизистой верхних дыхательных путей с маркерами деструкции и апоптоза нейтрофилов системы MALT спустя 2,5-3 года после перенесенной новой коронавирусной инфекции COVID-19 в группе риска – медицинские работники…… 202

**ЗАКЛЮЧЕНИЕ…….....** 210
**ВЫВОДЫ……** 242
**ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ……** 245
**СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ……...** 247
**СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ…….....** 249
**ПРИЛОЖЕНИЯ……** 284
**ПРИЛОЖЕНИЕ А. ФОРМА АНКЕТЫ (ОПРОСНИК ДЛЯ ВОЛОНТЕРА)ПОПУЛЯЦИОННОЕ СЕРОЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ НА ИНФЕКЦИЮ COVID-19 ……** 284
**ПРИЛОЖЕНИЕ Б. ФОРМА АНКЕТЫ (ОПРОСНИК ДЛЯ ВОЛОНТЕРА) ДЛЯ УЧАСТНИКА СЕРОЛОГИЧЕСКОГО МОНИТОРИНГА ПОСТВАКЦИНАЛЬНОГО ИММУНИТЕТА К ВИРУСУ SARS-COV-2……..** 289
**ПРИЛОЖЕИЕ В. ФОРМА ИНФОРМИРОВАННОГО СОГЛАСИЯ ДЛЯ УЧАСТНИКА СЕРОЛОГИЧЕСКОГО МОНИТОРИНГА ИММУНИТЕТА К ВИРУСУ COVID-19……...** 293
**ПРИЛОЖЕНИЕ Г. СЕРОПРЕВАЛЕНТНОСТЬ И СРЕДНЕГЕОМЕТРИЧЕСКИЙ ТИТР АНТИТЕЛ К SARS-COV-2 СРЕДИ ЖИТЕЛЕЙ РАЗНЫХ РАЙОНОВ РЕСПУБЛИКИ ТАТАРСТАН В ПЕРИОД АВГУСТ – ДЕКАБРЬ 2020 Г……..** 296
**ПРИЛОЖЕНИЕ Д. СЕРОПРЕВАЛЕНТНОСТЬ И СРЕДНЕГЕОМЕТРИЧЕСКИЙ ТИТР АНТИТЕЛ К SARS-COV-2 СРЕДИ ЖИТЕЛЕЙ РАЗНЫХ РАЙОНОВ РЕСПУБЛИКИ ТАТАРСТАН В ПЕРИОД АВГУСТ – ДЕКАБРЬ 2020 Г……..** 298
**ПРИЛОЖЕНИЕ Е. СЕРОПРЕВАЛЕНТНОСТЬ К SARS-COV-2 СРЕДИ МЕДИЦИНСКИХ РАБОТНИКОВ РАЗНЫХ РАЙОНОВ РЕСПУБЛИКИ ТАТАРСТАН, РАНЖИРОВАННАЯ ПО УРОВНЯМ, В ПЕРИОД АВГУСТ–ДЕКАБРЬ 2020 Г. ……** 300

**ПРИЛОЖЕНИЕ Ж. ШТАММ S. AUREUS 11 ИЗОЛЯТ ОТ НОСИТЕЛЯ – МЕДИЦИНСКОГО РАБОТНИКА ВРЕМЕННОГО ИНФЕКЦИОННОГО ГОСПИТАЛЯ В ПЕРИОД РАННЕЙ РЕКОНВАЛЕСЦЕНЦИИ COVID-19……** 302

**ПРИЛОЖЕНИЕ И. ШТАММ S. AUREUS 12 ИЗОЛЯТ ОТ НОСИТЕЛЯ МЕДИЦИНСКОГО РАБОТНИКА ВРЕМЕННОГО ИНФЕКЦИОННОГО ГОСПИТАЛЯ В ПЕРИОД ПОЗДНЕЙ РЕКОНВАЛЕСЦЕНЦИИ COVID-19……** 303

**ПРИЛОЖЕНИЕ К. ШТАММ S. AUREUS 12 МОЛЕКУЛЯРНО - ГЕНЕТИЧЕСКИЙ ПРОФИЛЬ АНТИБИОТИКОРЕЗИСТЕНТНОСТИ ШТАММА……...** 304

**ПРИЛОЖЕНИЕ Л. ШТАММ S. AUREUS 11 МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЙ ПРОФИЛЬ АНТИБИОТИКОРЕЗИСТЕНТНОСТИ ШТАММА……...** 305

.

# ВВЕДЕНИЕ

## Актуальность темы исследования

По данным Всемирной Организации Здравоохранения (ВОЗ) по состоянию на 24 марта 2024 года зарегистрировано свыше 775 миллионов случаев заболевания новой коронавирусной инфекцией COVID-19 (НКВИ) (coronavirus disease 2019) по всему миру; подтверждено более 7 млн. летальных исходов заболевания, что делает пандемию COVID-19 одной из самых смертоносных в истории (World Health Organization, 2024) (Крюкова Н.О., 2023) [25]. Несмотря на объявление главой ВОЗ 05.05.2023 об окончании пандемии COVID-19 и отмене статуса мировой чрезвычайной угрозы в области здравоохранения, опасность продолжает оставаться серьёзной (Isiutina-Fedotkova T.S. et al., 2021) [265]. Циркуляция SARS-CoV-2 продолжается, вирус мутирует, появляются более контагиозные штаммы, остаются малоизученными отдаленные последствия COVID-19 (Акимкин В.Г. и др., 2022) [135,136].

Одной из наиболее уязвимых категорий, подверженных высокому риску инфицирования, продолжают оставаться медицинские работники (Семенов А.В. и др., 2020; Xiang F. et al., 2020; Zhao J. et al., 2020, 2021; Spilchuk V. et al., 2022) [117, 152, 153, 273, 289], что обусловлено контактами с пациентами как с подтвержденной формой заболевания, так и субклиническим течением (Крюкова Н.О. др., 2023) [25]. Эпидемиологические исследования особенностей формирования популяционного иммунитета среди различных контингентов работников медицинских организаций, подверженных повышенному риску инфицирования, является важной составляющей эпидемиологического надзора за COVID-19.

В настоящее время все большее внимание уделяется вопросу о продолжительности специфического иммунитета после перенесенной инфекции и

вакцинации, степени защиты от повторного заражения вирусом SARS-CoV-2, особенно в группах профессионального риска (Попова А.Ю. и др., 2021, 2022, 2023; Андреев И.В. и др., 2022; Топтыгина А.П. и др., 2022, 2023) [19, 29, 96, 100, 121, 125, 143, 188, 190, 250, 252, 261, 269], Остается открытым вопрос об эффективности приобретенного постинфекционного или поствакцинального иммунитета против новых мутантных штаммов SARS-CoV-2, несмотря на продолжающийся непрерывный мониторинг распространения новых геновариантов SARS-CoV-2 и проведение оценки клинических проявлений (Иванова И.А. и др., 2023) [93]. Нет окончательной ясности, почему у одних COVID-19 протекает бессимптомно, а у других вызывает тяжелое поражение легких и приводит к летальному исходу. Важную роль играет антигенная нагрузка, влияющая на формирование и продолжительность иммунных реакций, а также особенности иммунного статуса и сопутствующие заболевания, определяющие степень иммунной защиты от SARS-CoV-2 и во многом объясняющие неблагоприятный прогноз в ряде случаев (Иванова И.А. и др., 2023) [93].

Иммунитет к SARS-CoV-2 формируется за счет совместной работы врожденной и адаптивной иммунных систем. Ключевую роль в адаптивном иммунитете играет выработка Ат, которые блокируют вирусные антигены (Кудряшова А.М. и др., 2023) [27]. Однако, защита от повторного заражения SARS-CoV-2 не является пожизненной. Исследования показывают, что эффективность адаптивного иммунитета к этому вирусу снижается со временем, в среднем от 6 до 30 месяцев (Попова А.Ю. и др., 2020) [88, 99, 104, 130, 131]. Важным фактором, влияющим на эффективность иммунитета, является не только количество антител, но и их качество, в частности, их способность крепко связываться с вирусом (авидность). В настоящее время ученые изучают продолжительность и эффективность иммунитета после перенесенного COVID-19, сравнивая его с поствакцинальным иммунитетом.

Для полной оценки приобретенного иммунитета к SARS-CoV-2 необходимо, наряду с определением уровня Ат, выявлять и выраженность Т-клеточного

иммунного ответа, так как он может активироваться раньше гуморального звена (Потеряев Д.А. и др., 2021; Иванова И.А. и др., 2023) [91, 93]). Кроме того, описано формирование антигенспецифических лимфоцитов без сероконверсии. Наличие антигенспецифических Т-клеток может иметь решающее значение в случае, когда одних антител недостаточно для эффективной защиты (Топтыгина А.П. и др., 2022) [96, 121, 125]. Доказано, что как гуморальный, так и клеточный адаптивный иммунитет способствует элиминации SARS-CoV-2 и обеспечивает защиту от повторной инфекции (Иванова И.А. и др., 2023) [93]. Недостаточно исследовано и состояние мукозального иммунитета дыхательной системы у МР, перенесших COVID-19, а именно он играет важную роль в предотвращении инфицирования и развитии респираторного заболевания (Чучалин А.Г. и др., 2022; Крюкова Н.О. и др., 2023) [25, 69].

В настоящее время недостаточно изучен вопрос эффективности приобретенного постинфекционного и поствакцинального иммунитета против новых мутантных штаммов SARS-CoV-2 (Иванова И.А. и др., 2023) [93]. Неясно, насколько данные о COVID-19, полученные при изучении общей популяции, могут быть экстраполированы на медицинских работников. В связи с этими обстоятельствами исследования особенностей врожденного и приобретенного естественным путем или после вакцинации иммунного ответа у МР, подверженных высокому риску инфицирования, представляет значимую актуальность в иммунологии и инфектологии НКВИ.

## Степень разработанности темы исследования

Пандемия новой коронавирусной инфекции в мире в 2019 году привела к резкому развитию исследований направленных на раскрытие особенностей формирования противовирусного иммунитета у человека, к группе респираторных вирусов, поражающих нижние и верхние дыхательные пути, а

также факторов способствующих тяжелому течению COVID-19 (Семенов А.В. и др., 2020; Щелканов М.Ю. и др., 2020; Новиков В.В. и др., 2022; Зорина В.Н., 2023; Сайтгалина М.А. и др., 2023) [30, 47, 74, 92, 117, 137].

Ряд этих исследований тесно связаны с изучением биологии самого возбудителя НКВИ - РНК-содержащего вируса SARS-CoV-2 и факторов макроорганизма, способствующих эволюции вируса в человеческой популяции, его изменчивости, позволяющей ускользать от давления иммунного ответа и преодолевать межвидовой иммунный барьер (Попова А.Ю. и др., 2020; Акимкин В.Г. и др., 2022; Киселева И.В. и др., 2023; Топтыгина А.П. и др., 2023; Triggle C.R. et al., 2021; Danza P. et al., 2022; Ataullakhanov R.I. et al., 2024) [50, 88, 96,99, 104, 121, 125, 130, 131, 135, 136, 138, 177, 275].

Параллельно с исследованиями в области иммунного ответа на НКВИ в России, и ряде регионов нашей страны были завершены серо-эпидемиологические исследования, в которых были выделены группы риска по характеру течения инфекции, приобретения иммунитета, его завершенности и эффективности, в различных социально-экономических группах населения нашей страны (Попова А.Ю. и др., 2021, 2022, 2023; Смирнов В.С. и др., 2023) [29, 119, 143, 188, 190, 250, 252, 261, 269].

В Российских, так и в зарубежных исследованиях, было установлено, что МР являются – социально-значимой группой, которая активно вовлекается в эпидемиологический и инфекционный процесс при COVID-19, при этом показана высокая серопревалентность в этой группе населения (Попова А.Ю. и др., 2020; Семенов А.В. и др., 2020; Sotgiu G. et al., 2020; Wu S. et al., 2020; Zhao J. et al., 2020) [88, 99, 104, 117, 130, 131, 153, 228, 260]. В других исследованиях подтверждены данные развития различных клинических форм НКВИ, в группе МР и определены социальные и профессиональные факторы риска развития различных клинических форм НКВИ и ее исходов.

В период разработки вакцин против НКВИ и их масштабного применения, в нашей стране и за рубежом, стали проводиться исследования, касающиеся оценки эффективности вакцинации различных групп населения против НКВИ, также эти

исследования затронули и группы риска, в том числе МР (Андреев И.В. и др., 2022; Костинов М.П., 2022; Медведева Е.А. и др., 2024) [16, 17, 100].

Интерес и разработка этих направлений исследований по мнению ряда исследователей может способствовать рациональному применению средств вакцинопрофилактики НКВИ в период эпидемического подъёма заболеваемости, так и в группах риска (Костинов М.П., 2022) [17]. Однако, полномасштабные исследования в этом направлении в нашей стране и в регионах не многочисленны.

Существенный интерес при развитии НКВИ представляют работы, в которых раскрываются особенности сохранения иммунного ответа после перенесённой НКВИ и вакцинации, в том числе в различных группах риска инфицирования населения (Андреев И.В., 2022; Закурская В.Я., 2022; Топтыгина А.П., 2022) [28, 100, 121]. Часть работ посвящена особенностям формирования и сохранение гуморального иммунитета, авидности Ат к различным белкам вируса и их матурации, другая часть работ затрагивает формирование и сохранение клеточного иммунитета и его эффективных механизмов защиты, обеспечивающих паритет с новыми «мутирующими» геновариантами SARS-CoV-2 в различные периоды пандемии (Потеряев Д.А. и др., 2021; Герасимова В.В. и др., 2022; Топтыгина А.П. и др., 2023; Шокина В.А. и др., 2023; Астахова Е.А., 2024; Коротаева А.А. и др., 2024; Sekine T. et al., 2020; Yao L. et al., 2021; Rank A. et al., 2023) [12, 24, 66, 89, 91, 96, 231, 235, 246].

Необходимо отметить, что многие исследования, посвященные клиническому течению COVID-19 на ранних и поздних стадиях восстановления, уделяют особое внимание защитным свойствам слизистых оболочек ВДП и мукозальному иммунитету, который играет ключевую роль в формировании устойчивости к инфицированию SARS-CoV-2 (Костинов М.П., 2022; Максимова Е.А. и др., 2022; Греченко В.В. и др., 2023; Крюкова Н.О., 2024; Zhou X. et al., 2017; Qin C. et al., 2020; de Mel J. et al., 2021) [17, 32, 60, 64, 184, 201, 288]. Изучение этого компонента иммунитета, также как и системного иммунного ответа позволит оптимизировать профилактические и противоэпидемические мероприятия, в том числе, достигаемые с помощью средств

вакцинопрофилактики, направленные на защиту барьерных функций ВДП, особенно в группах повышенного профессионального риска инфицирования НКВИ (Рассказова Н.Д. и др., 2024) [133]. В поствакцинальный период развития эпидемии НКВИ, были проведены ряд исследований, как зарубежных, так и отечественных авторов, касающихся функциональной активности иммунокомпетентных клеток системного (Т-клеточный иммунитет к SARS-COV-2) и мукозального иммунитета, а также системного и локального иммунитета у различных групп населения (Костинов М.П., 2020; Костинов М.П. и др., 2020; Попов О.С. и др., 2023; Бляхер М.С. и др., 2024) [10, 19, 55, 56, 57, 58, 102], однако работ, затрагивающих профессиональную группу риска МР, в данной части не достаточно.

Таким образом, широкомасштабные региональные исследования сероиммунологических показателей иммунного ответа к НКВИ среди жителей регионов РФ, в частности РТ, в том числе получивших вакцинацию против НКВИ, а также комплексное изучение формирования врождённого и адаптивного иммунного ответа к SARS-CoM-2 у МР-реконвалесцентов COVID-19 с учетом временных интервалов, половых, возрастных и профессиональных факторов с оценкой иммунного реагирования на эту инфекцию представляются актуальными и востребованными профилактической медицинской наукой и иммунологией.

## Цель и задачи исследования

Изучить особенности формирования индивидуального и коллективного иммунитета к вирусу SARS- CoV-2 в профессиональной группе медицинских работников в разные периоды реконвалесценции после перенесенной НКВИ и после вакцинации против COVID-19.

Для реализации поставленной цели сформулированы следующие задачи:

1. Провести анализ формирования иммунитета к вирусу SARS-CoV-2 у населения Республики Татарстан в период с августа по декабрь 2020г. до начала периода вакцинации против НКВИ.

2. Провести анализ формирования коллективного иммунитета к вирусу SARS-CoV-2 в профессиональной группе медицинских работников Республики Татарстан в период с августа по декабрь 2020 г. до начала периода вакцинации против НКВИ.

3. Провести мониторинг гуморального иммунного ответа у медицинских работников временного инфекционного госпиталя в динамике годичного наблюдения после перенесенной НКВИ, определить индивидуальные и коллективные тренды уровня и авидности антител к S-белку SARS-CoV-2.

4. Изучить сохранность адаптивного гуморального иммунного ответа к S и N белку SARS-CoV-2 у переболевших НКВИ и вакцинированных медицинских работников через 2,5-3 года после впервые перенесенной НКВИ.

5. Изучить сохранность адаптивного Т-клеточного иммунного ответа к пептидам S-белка и структурным антигенам N, M, ORF3a и ORF7a у переболевших НКВИ и вакцинированных медицинских работников через 2,5-3 года после впервые перенесенной НКВИ.

6. Провести анализ потенциальных факторов, влияющих на уровень индекса авидности IgG антител к N белку вируса SARS-CoV-2 и показатели Т-клеточного иммунитета к пептидам S- белка и антигенам N, M, ORF3a и ORF7a у медицинских работников временного инфекционного госпиталя через 2,5-3 года после перенесенной НКВИ.

7. Изучить особенности иммунного ответа на вакцинацию против COVID-19 среди жителей и медицинских работников Республики Татарстан в период проведения массовой вакцинации.

8. Изучить влияние некоторых параметров врожденного иммунного ответа (полиморфизмы SNP rs5743708 и rs4986790 в генах TLR-2, TLR-4 на мононуклеарах периферической крови) и цитокиновый профиль ИФН-γ, ИЛ- 1β,

ИЛ-6, sCD40L, ИЛ-10, в сыворотке крови в группе медицинских работников временного инфекционного госпиталя в период реконвалесценции после COVID-19.

9. Изучить вызванные НКВИ изменения мукозального иммунитета на уровне слизистой оболочки верхних дыхательных путей, их взаимосвязь с характером микрообиоты верхних дыхательных путей у медицинских работников временного инфекционного госпиталя в начальный период реконвалесценции после COVID-19 и через 2,5-3 года после перенесенной инфекции.

## Научная новизна

Получены новые данные о формировании популяционного иммунитета к новой коронавирусной инфекции COVID-19 на начальных этапах пандемического роста заболеваемости и в период завершения пандемии и проведения массовой вакцинации.

Выявлены общие закономерности эпидемиологического процесса и региональные особенности иммунной реактивности к SARS-CoV-2 среди населения Республики Татарстан в начальный период пандемии НКВИ и на фоне проведения массовой вакцинации против COVID-19.

Впервые в Республике Татарстан проведен широкомасштабный серо-эпидемиологический мониторинг в довакцинальный период развития НКВИ среди населения и медицинских работников. Впервые показано неравномерное формирование серопревалентности в разных муниципальных округах, среди различных контингентов населения и медицинских работников.

Впервые в Республике Татарстан проведено широкомасштабное сероиммунологическое исследование среди жителей и медицинских работников, получивших вакцинацию против COVID-19, которые нашли отражение в Государственном докладе «О состоянии санитарно-эпидемиологического благополучия населения Российской Федерации в 2022 г.».

Впервые проведено комплексное изучение врожденного и адаптивного иммунного ответа к SARS-CoV-2 у медицинских работников временного инфекционного госпиталя - реконвалесцентов COVID-19 с учетом временных интервалов, половых, возрастных и профессиональных факторов и оценены типы иммунного реагирования на эту инфекцию.

Впервые проведена оценка количественного содержания и функциональной активности иммунокомпетентных клеток системного (Т-клеточный иммунитет к вирусу SARS-CoV-2) и мукозального иммунитета, а также системного и локального цитокинового профиля у медицинских работников в разные периоды реконвалесценции COVID-19, после вакцинации и на отдаленных сроках после перенесенной НКВИ.

Впервые изучены особенности мукозального врожденного иммунного ответа (профиль SNP TLR-2, TLR-4 на мононуклеарах периферической крови, цитокины в сыворотке крови и секретах, Т- и В-клеточный иммунный ответ) и влияние эпидемиологически значимых факторов на адаптивный гибридный иммунитет в профессиональной группе медицинских работников временного инфекционного госпиталя в период реконвалесценции от COVID-19.

Впервые проведена оценка значимости генетических полиморфизмов генов иммунного ответа, кодирующих TLR-2 и TLR-4 и изучена распространённость полиморфизмов этих генов среди выбранной популяции респондентов города Казани. Впервые проведена оценка значимости изменений экспрессии TLR-2 на мононуклерах периферической крови у медицинских работников в период ранней реконвалесценции COVID-19 для прогноза формирования дисбаланса иммунного реагирования. Результаты были отражены в Государственном докладе «О состоянии санитарно-эпидемиологического благополучия населения Российской Федерации в 2023 г.».

Впервые проведен анализ микрофлоры верхних дыхательных путей у медицинсикх работников временного инфекционного госпиталя в период ранней, поздней реконвалесценции и на отдаленных сроках после перенесенной НКВИ. Впервые установлено угнетение мукозального иммунитета, в частности

антимикробных функций нейтрофилов, а также изменения микробиома ВДП, проявившиеся нарастанием колонизации условнопатогенными бактериями, грибами, а так же их ассоциациями.

## Теоретическая и практическая значимость работы

Результаты комплексного исследования иммунного ответа у медицинских работников - реконвалесцентов COVID-19 через 2,5-3 года после перенесенной НКВИ COVID-19 позволяют научно обосновать программы иммунореабилитации, направленные на коррекцию антимикробных клеточных стратегий, нормализацию микробиома и мукозального иммунитета для предотвращения рисков повторного инфицирования в группе медицинских работников.

В работе предложена комплексная характеристика специфического адаптивного иммунитета при долговременном мониторинге, которая может быть использована для выявления категорий повышенного риска инфицирования SARS-CoV-2 среди медицинских работников и принятия решения об иммунореабилитации и ревакцинации.

Получены новые данные о сроках возникновения, напряженности и продолжительности сохранения иммунитета к вирусу SARS-CoV-2 среди медицинских работников, которые характеризуют иммунный ответ и особенности распространения НКВИ среди контингентов с высоким риском заражения в медицинских организациях, бессимптомных форм болезни, анализа популяционного иммунитета и эффективности вакцинации.

Получены новые данные о параметрах системного (формирование гуморального, специфического Т-клеточного иммунного ответа) и иммунного ответа на уровне слизистых оболочек верхних дыхательных путей с показателями клеточного звена (нейтрофильные гранулоциты), секреторного компонента, и

изменений микробиоты ДП, а также о влияния на эти показатели клинически значимых полиморфизмов генов иммунного ответа.

Получены данные по изменениям микробиоты у медицинских работников - реконвалесцентов COVID-19 и новые сведения о нарушении антимикробных стратегий нейтрофильных лейкоцитов и эпителиальных клеток - представителей мукозального иммунитета (рецепции, киллинга, внутриклеточной биоцидности) и их роли в формировании нарушений микробиома на ранних и поздних сроках реконвалесценции.

Полученные данные расширяют знания о формировании врожденного и адаптивного иммунного ответа к вирусу SARS-CoV-2 и длительности его сохранения в группе риска - МР.

## Методология и методы исследования

Дизайн диссертационного исследования спланирован в соответствии с поставленной целью и задачами, основываясь на анализе литературных данных российских и зарубежных авторов по проблемам формирования постинфекционного и вакцинального иммунитета к SARS-CoV-2 у работников медицинских организаций. Были проведены поперечные выборочные исследования по изучению коллективного иммунитета к SARS-CoV-2 среди жителей и медицинского персонала Республики Татарстан на начальном этапе распространения пандемии COVID-19 и в период массовой вакцинации против COVID-19 по рекомендованным ВОЗ протоколам; продольные исследования в когорте медицинских работников временного инфекционного госпиталя и амбулаторного звена, а также в группе контроля - условно-здоровые лица, с использованием широкого арсенала методов: иммунологических, молекулярно-генетических, микробиологических, биоинформационных и статистических методов анализа данных

## Личный вклад автора

Автором лично проведен поиск литературных источников по теме диссертацинного исследования, выбор цели и формирование задач исследования, разработка критериев включения и исключения, формирование баз данных, планирование и контролирование проведения экспериментальных исследований и процедур, обобщение полученного материала, формулирование выводов и положений диссертации, выносимых на защиту, подготовка публикаций по теме диссертационного исследования, написание рукописи и автореферата диссертации.

## Положения, выносимые на защиту

1. В период второго пика пандемического распространения вируса SARS-CoV-2 популяционный иммунитет к COVID-19 в Республике Татарстан формировался естественным путем, при этом наибольший уровень серопревалентности был выявлен среди работников здравоохранения, оказывающих специализированную медицинскую помощь во временных инфекционных госпиталях для больных COVID-19, станций скорой и неотложной помощи.

2. У медицинских работников временного инфекционного госпиталя выявлено различие в трендах динамики IgG и IgM к возбудителю SARS- CoV-2 и индексов их авидности в период годичного наблюдения после перенесенной НКВИ, зависящее от тяжести перенесенной инфекции.

3. Через 2,5-3 года после перенесенной НКВИ у большинства медицинских работников сохраняется Т-клеточный иммунный ответ к S-белку и пулу антигенов N, M, ORF3a и ORF7a вируса SARS-CoV-2, выраженность которого зависит от степени тяжести перенесенной НКВИ, при этом гибридный иммунитет

по сравнению с постинфекционным более выражен, как у МР с клинической манифестацией инфекции в анамнезе, так и для лиц с бессимптомными формами.

4. У медицинских работников, как и населения Республики Татарстан в период проведения вакцинации против COVID-19 (третий год пандемии) отмечен выраженный гуморальный иммунный ответ на вирус SARS-CoV-2, при этом уровень гибридного иммунитета был достоверно выше поствакцинального и постинфекционного.

5. У медицинских работников временного инфекционного госпиталя после перенесенной НКВИ выявлены значительные изменения показателей врожденного и адаптивного иммунитета, связанные с генетическим полиморфизмом TLR-2 и TLR-4, уровнем экспрессии TLR-2, дисбалансом цитокинов и показателями тромбоцитарной активности, что может являться предиктором снижения устойчивости к респираторным инфекциям.

6. У медицинских работников временного инфекционного госпиталя на ранних и отдаленных сроках после перенесенной НКВИ выявлено угнетение мукозального иммунитета, в частности антимикробных функций нейтрофилов, а также изменения микробиома верхних дыхательных путей, проявившиеся нарастанием колонизации условнопатогенными бактериями, грибами, а так же их ассоциациями.

## Соответствие диссертации паспорту научной специальности

Научные положения диссертационного исследования соответствуют паспорту научной специальности 3.2.7. Иммунология. Результаты исследования соответствуют пунктам 2,3,5,6,9 паспорта научной специальности иммунология (медицинские науки).

Работа выполнена в рамках тематики НИР «Изучение напряжённости поствакцинального иммунитета к кори и краснухе в индикаторных группах

(студенты медицинских учебных заведений) и группе риска (медицинские работники); коллективного и персонального иммунитета к вирусу SARS-CoV-2 у медицинских работников» Отраслевой научно-исследовательской программы Роспотребнадзора «Проблемно-ориентированные научные исследования в области эпидемиологического надзора за инфекционными и паразитарными болезнями» (АААА-А16-116041110147-1 в период до 2020 г.; и тематики НИР «Изучение особенностей формирования коллективного и индивидуального специфического иммунитета и эпидемиологический мониторинг в группах риска по вакциноуправляемым инфекциям, имеющим приоритетное эпидемиологическое значение (новая коронавирусная инфекция COVID-19, вирусный гепатит В, корь, краснуха)» №121042000089-5 отраслевой научно-исследовательской программы «Научное обеспечение эпидемиологического надзора и санитарной охраны территории Российской Федерации. Создание новых технологий, средств и методов контроля и профилактики инфекционных и паразитарных болезней» в период 2021-2024 гг.; а также в рамках Стратегического проекта «Геномные и постгеномные технологии здоровьесбережения и повышение биологической грамотности для устойчивого развития общества» Подпроект «Изучение системного и мукозального иммунитета у реконвалесцентов COVID-19 из группы риска «медицинские работники» для научного обоснования разработки программы иммунореабилитации» в рамках реализации Программы развития КФУ («ПРИОРИТЕТ-2030»).

## Степень достоверности и апробация результатов

Диссертационное исследование проведено на основании масштабных клинико-иммунологических и эпидемиологических данных и современных средств статистического анализа.

Апробация работы проведена на заседании Ученого совета ФБУН КНИИЭМ Роспотребнадзора (протокол от 20.11.2024 г., №9).

Сбор данных для эпидемиологического исследования серопревалентности к SARS-CoV-2 в начальный довакцинальный период пандемии и в период завершения пандемии среди МР и жителей РТ, вакцинированных против COVID-19, проведены совместно с главным эпидемиологом МЗ РТ к.м.н., доцентом Лопушовым Д.В., формирование основной и группы сравнения среди МР ВИГ проведены автором совместно с врачом-эпидемиологом ГАУЗ «Городской клинической больницы №7 имени М.Н. Садыкова» г. Казани. к.м.н., доцентом Шайхразиевой Н.Д. Определение общих Ат (включая IgG, IgA и IgM) к вирусу SARS-CoV-2 для изучения популяционного иммунитета в период второго пика заболеваемости до начала вакцинации методом усиленной хемилюминесценции на анализаторе VITROS 3600 проведено совместно с заведующим централизованной клинико-диагностической лаборатории ГАУЗ «Городской клинической больницы №7 имени М.Н. Садыкова» г. Казани Закировой И.И. и заведующим клинико-диагностической лаборатории ГАУЗ «РКИБ МЗ РТ» Юмагуловой Е.Ф. и Валиахметовой Л.Х. Определение специфичных IgG Ат к RBD-домену S-белка к коронавирусу SARS-CoV-2 иммунохемилюминесцентным методом на анализаторе VITROS 3600 проведено совместно с заведующим централизованной клинико-диагностической лаборатории ГАУЗ «Городской клинической больницы №7 имени М.Н. Садыкова» г. Казани Закировой И.И. Статистическая обработка данных эпидемиологических популяционных исследований проведена совместнос с к.м.н. Хакимовым Н.М. (кафедра эпидемиологии и доказательной медицины ГБОУ ВПО КГМУ МЗ РФ). Исследования специфического Т-клеточного иммунитета к пептидным антигенам SARS-CoV-2 («ТиграТест SARS-CoV-2»); исследование клеточного и секреторного компонентов мукозальной иммунной системы; е - мембранного маркера апоптоза - sCD95 (sAPO-1/FAS) и цитокинов ФНО-α, ИЛ-10, ИФН- γ в назальном секрете; исследование цитокинов ИЛ-1β, ИЛ-10, ИФН-γ, ИЛ-6 в сыворотке крови; специфических IgG Ат к S антигену SARS-CoV-2 и

специфических IgM Ат к антигенам SARS-CoV-2 проведено совместно с к.м.н. Агафоновой Е.В. (клинико-диагностическая лаборатория ФБУН КНИИЭМ Роспотребнадзора) (Агафонова Е.В. и др., 2022) [75]. Изучение экспрессии TLR2 на мононуклеарах ПК методом проточной цитофлуориметрии; скрининг полиморфизмов генов TLR-2 и TLR-4 методом АС-ПЦР проведено совместно с заведующим кафедрой биохимии и клинической лабораторной диагностики ФГБОУ ВО КГМУ Минздрава России д.м.н., профессором Мустафиным И.Г. (Решетникова И.Д. и др., 2024) [35] NGS секвенирование генома (whole-genome shotgun sequencing) штаммов S. aureus, выделенных со слизистых ВДП на платформе Oxford Nanopore MinIon с предварительной подготовкой библиотек, согласно протоколу Rapid Barcoding Kit 24 V14 (Тюрин Ю.А., 2022) [129]; определение авидности специфических IgG Ат к антигенам SARS-CoV-2 проведено совместно д.м.н. Тюриным Ю.А. (лаборатория иммунологии и разработки аллергенов ФБУН КНИИЭМ Роспотребнадзора). Идентификация микроорганизмов методом масс-спектрометрии (MALDI-TOF MS) проведена на масс-спектрометре MALDI Biotyper Systems, серии FLEXTM (Bruker Daltonics, Германия) совместно с к.б.н. Григорьевой Т.В. (ИФМиБ ФГАОУ ВО «Казанский (Приволжский) федеральный университет» Минобрнауки России) (Тюрин Ю.А., 2023) [129].

Основные результаты диссертационного исследования были доложены и обсуждены на шестнадцати российских и международных конференциях и конгрессах: III международной научно-практической конференции «Школа эпидемиологов: теоретические и прикладные аспекты эпидемиологии» (Казань, 12-13.03.2021); Международной научно-практической онлайн-конференции «Комплексная стратегия управления возникающими и повторно возникающими эпидемическими заболеваниями» (Алматы, 28.10.2021); Международном конгрессе по молекулярной аллергологии и иммунологии (Москва, 02-03.12.2021); Межрегиональной научно-практической конференции «Актуальные вопросы эпидемиологии и гигиены: наука и практика. Ответы на глобальные вызовы» посвященной 100-летию со дня образования государственной санитарно-

эпидемиологической службы России (Нижний Новгород, 07–08.06.2022); Всероссийском конгрессе по медицинской микробиологии, клинической микологии и иммунологии (XXV Кашкинские чтения) (Санкт-Петербург, 08-10.06.2022); Международном Симпозиуме «Единое здоровье – взгляд в будущее» (Алматы, Национальный научный центр особо опасных инфекций имени Масгута Айкимбаева, Министерства здравоохранения Республики Казахстан (ННЦООИ), Германское общество по международному сотрудничеству (GIZ), Институт микробиологии Бундесвера (ИМБ)© ННЦООИ им. М. Айкимбаева, 27.10.2022); III международной научно-практической конференции по борьбе с новой коронавирусной инфекций и другими инфекционными заболеваниями (Санкт-Петербург, 16.12.2022); VII Всероссийском Конгрессе по медицинской микробиологии, клинической микологии и иммунологии; X Российско-китайской конференции по медицинской микробиологии, иммунологии и фармакологии; XXVI Кашкинские чтения (Санкт-Петербург, 07-09.06.2023); Первом межрегиональном конгрессе по аллергологии и иммунологии (Москва, 09.10.2023); Российской научно-практической конференции «Управляемые инфекции: диагностика, лечение и профилактика» (Санкт-Петербург, 06-07.02.2024); XXIX Межрегиональной научно-практической конференции «Вакцинопрофилактика в Республике Татарстан» (Казань, 19.04.2024); X Конгрессе Евро-Азиатского общества по инфекционным болезням (Санкт-Петербург, 19-21.05.2024); XX международном конгрессе по аллергологии и иммунологии (Москва, 10-11.06.2024); Всероссийской научно-практической конференции «Научное обеспечение противоэпидемической защиты населения: актуальные проблемы и решения», посвященной 105-летию создания ФБУН ННИИЭМ им. академика И.Н. Блохиной Роспотребнадзора (Нижний Новгород, 24.09.2024); V Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Современная иммунопрофилактика: вызовы, возможности, перспективы» (Москва, 10-11.10.2024); XVII Ежегодном Всероссийском конгрессе с международным участием по инфекционным болезням имени академика В.И.Покровского «Инфекционные болезни в

современном мире: эволюция, текущие и будущие угрозы» (Москва, 24-26.03.2025).

## Внедрение результатов исследования в практику

Результаты диссертационного исследования внедрены в лечебный процесс консультативно-диагностической поликлиники инфекционно-аллергических заболеваний ФБУН КНИИЭМ Роспотребнадзора (акт внедрения от 10.10.2024); Медико-санитарной части ФГАОУ ВО КФУ (акт внедрения от 08.10.2024); ГАУЗ «Городская клиническая больница № 7 имени М.Н. Садыкова (акт внедрения от 07.10.2024). Результаты исследований внедрены в образовательный процесс кафедры аллергологии и иммунологии КГМА – филиала ФГБОУ ДПО РМАНПО Минздрава России (акт внедрения №2-АВ от 09.10.2024); кафедр общей патологии, биохимии и клинической лабораторной диагностики ФГБОУ ВО КГМУ Минздрава России (акт внедрения от 15.10.2024); кафедр внутренних болезней и профилактической медицины Высшей школы медицины Центра медицины и фармации Института фундаментальной медицины и биологии КФУ (акт внедрения от 14.10.2024).

По результатам диссертационного исследования подготовлены три информационно-методических письма для Министерства здравоохранения Республики Татарстан и Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека (Роспотребнадзор) Республики Татарстан – «Серологический мониторинг к коронавирусу SARS-CoV-2 у жителей Республики Татарстан» (2022), «Серологический мониторинг к коронавирусу SARS-CoV2 у медицинских работников Республики Татарстан» (2022) и «Серологический мониторинг вакцинации против коронавируса SARS-CoV2 у населения Республики Татарстан» (2023) для использования в профессиональной деятельности врачей аллергологов-иммунологов, врачей-инфекционистов, врачей-

эпидемиологов, специалистов клинической лабораторной диагностики и других (утверждены Министерством здравоохранения РТ и Управлением Роспотребнадзора по РТ, 2022, 2023).

Материалы исследований вошли в Государственные доклады «О состоянии санитарно-эпидемиологического благополучия населения в Российской Федерации» в 2022 и 2023 гг. Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека (раздел: Основные результаты научных исследований в области эпидемиологии и профилактической медицины).

## Публикации по теме диссертации

По результатам диссертации опубликовано 47 работ: 10 научных статей, индексируемых в международных базах данных Web of Science, Scopus, PubMed, 4 свидетельства о государственной регистрации базы данных; 1 – иная публикация, 32 публикации в материалах международных и всероссийских научных конференций.

## Структура и объем диссертации

Диссертация изложена на 305 страницах компьютерного текста и состоит из введения, 6 глав, включающих обзор литературы, методы исследования, и основную часть работы, которая состоит из 6 глав описания результатов собственных исследований, заключения, выводов, практических рекомендаций, списка сокращений и условных обозначений, списка литературы, 3 приложений. Работа иллюстрирована 55 рисунком, 65 таблицами. Список литературы содержит 289 источников, в том числе 138 отечественных и 151 – зарубежных авторов..

# ГЛАВА 1. ФОРМИРОВАНИЕ ПОСТИНФЕКЦИОННОГО И ВАКЦИНАЛЬНОГО ИММУНИТЕТА К ВИРУСУ SARS-COV-2 В ГРУППЕ РИСКА – МЕДИЦИНСКИЕ РАБОТНИКИ (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ)

## 1.1. Эпидемиологические аспекты и закономерности развития пандемии новой коронавирусной инфекции COVID-19

Согласно данным Всемирной организации здравоохранения по состоянию на 24 марта 2024 года было зарегистрировано более 775 миллионов случаев заболевания НКВИ COVID-19 на глобальном уровне; подтверждено более 7 млн. летальных исходов заболевания, что делает пандемию COVID-19, начавшуюся в декабре 2019 в г. Ухань китайской провинции Хубей и распространившуюся по разным континентам одной из самых смертоносных в истории (World Health Organization, 2024) [40, 60, 109, 110]. Несмотря на объявление главой ВОЗ 05.05.2023 об окончании пандемии COVID-19 и отмене статуса мировой чрезвычайной угрозы в области здравоохранения, опасность продолжает оставаться серьёзной. Циркуляция вируса SARS-CoV-2, этиологически связанного с COVID-19, продолжается, вирус мутирует, появляются более контагиозные штаммы, остаются малоизученными отдаленные последствия НКВИ и эффективность и продолжительность постинфекционного иммунитета и поствакцинального ответа, особенно в группах риска высокого инфицирования [135, 136, 253].

Коронавирусы представляют собой группу вирусов, принадлежащих к семейству Coronaviridae и отряду Nidovirales. Эти вирусы обладают положительной одноцепочечной РНК и крупной оболочкой, их размер варьируется от 60 до 140 нанометров [186]. На поверхности коронавирусов находятся характерные шиповидные выступы, которые придают им узнаваемый внешний вид. Впервые коронавирусы были описаны в 1966 году учеными

Тирреллом и Бино, и с тех пор они известны как возбудители острых респираторных заболеваний [284]. На сегодняшний день коронавирусы классифицируются на четыре субсемейства: альфа, бета, гамма и дельта.

До вспышки атипичной пневмонии коронавирусы рассматривались как патогены, представляющие серьезную угрозу для ветеринарии. У человека на протяжении всего года циркулировали четыре штамма коронавирусов (HCoV-229E, HCoV-OC43, HCoV-NL63, HKU1B), вызывающих преимущественно легкие и среднетяжелые заболевания дыхательных путей и занимавших второе место (15,0-30,0%) в этиологической структуре ОРВИ после риновирусов. Существовало мнение, что эпидемические коронавирусы не представляют собой опасности для людей [168], эти представления изменились после того, как в 2002 году в Юго-Восточной Азии вирус тяжелого острого респираторного синдрома (SARS-CoV) преодолел межвидовой барьер, проникнув в человеческую популяцию от летучих мышей. В 2012 году в Саудовской Аравии были обнаружены природные очаги вируса ближневосточного респираторного синдрома (MERS-CoV), который представлял собой серьезную угрозу для здоровья человека, приводя к развитию атипичной пневмонии в 2003 году и ближневосточного респираторного синдрома в 2012 году. Вследствие возросшего интереса к коронавирусам в первые два десятилетия XXI века было выявлено множество новых представителей семейства Coronaviridae, произошло несколько ревизий таксономической структуры этого семейства. Особо опасные для человека коронавирусы входят в состав двух бетакоронавирусных подродов: Sarbecovirus (SARS-CoV и SARS-CoV-2) и Merbecovirus (MERS-CoV) [47]. Вирус SARS-CoV-2 сформировался посредством естественных природных механизмов в октябре–ноябре 2019 г. на территории КНР и приобрёл возможность проникать в клетки лёгких человека, используя рецепторы ангиотензинпревращающего фермента II типа (ACE2), который служит котранспортёром для вируса [135, 136].

Подобно другим РНК-вирусам, вирус SARS-CoV-2 эволюционирует и мутирует от Уханьского штамма через B.1.1.7 (Alpha), B.1.351 (Beta), P.1 (Gamma), B.1.617.2 (Delta) до Omicron B.1.1.529, у которого насчитывается 5

вариантов (BA.1, BA.2, BA.3, BA.4 и BA.5), а также появился BA.2,75, несущий мутации штаммов Omicron и Delta. Изменения структуры S- белков в результате мутаций играют важную роль в изменении патогенного потенциала вируса и клинической картины инфекции, способности уклоняться от иммунного ответа, а так же средств диагностики и терапии [96, 136, 138, 254].

Полногеномное секвенирование геновариантов вируса SARS-CoV-2 на территории Российской Федерации позволило установить, что с мая по декабрь 2021 года доминирующим генетическим вариантом был Delta (B.1.617.2 + AY.*), с преобладанием субварианта AY.122, составлявшего 83,3% [36]. С декабря 2021 года начало стремительное распространение варианта Omicron, при этом субварианты BA.1, BA.1.1 и BA.2 стали преобладающими, в то время как доля BA.3 составила менее 0,1%. Субварианты BA.4 и BA.5 не получили значительного эпидемического распространения, а клинические проявления инфекции чаще всего протекают бессимптомно или с легким течением, проявляясь в виде острой респираторной вирусной инфекции. Установлено, что с появлением новых геновариантов вирус SARS-CoV-2 стал менее патогенным для человека, но более контагиозным [135, 136].

Для оценки распространенности НКВИ многие исследователи используют термин «серопревалентность», обозначающий долю серопозитивных лиц в популяции. Уровень серопревалентности среди населения Российской Федерации можно оценить по результатам масштабного проекта Роспотребнадзора, посвященного изучению популяционного иммунитета к вирусу SARS-CoV-2 в 2020-2021 годах [40, 188, 190, 216]. С 2021 по 2023 гг. в программе приняли участие Армения, Беларусь, Кыргызстан и Таджикистан [143, 188, 190, 250, 252, 261, 269].

Получены репрезентативные данные о популяциях исследуемого региона (стран) по возрасту, профессиональным группам, уровням антител IgG (анти-Nc, анти-RBD) у волонтеров методом ИФА. По результатам данного проекта выявлены закономерности формирования популяционного иммунитета в ходе пандемии.

Эпидемический процесс COVID-19 носил волнообразный характер вследствие мутации вируса и появления новых геновариантов SARS-CoV-2 во всех странах мира, а также развернувшейся программой масштабной массовой вакцинации, начиная с декабря 2020 г. В начальный период пандемии в 2020 году в целом серопревалентность находилась на уровне 20,0%, наиболее высокие показатели отмечались среди детей, были продемонстрированы выраженные территориальные различия показателей и основной вклад в развитие серопревалентности вносили МР, как группа высокого риска инфицирования. Основным инструментом, позволяющим противостоять пандемии в отсутствие мер специфической профилактики и лечения было формирование популяционного иммунитета вследствие перенесенной инфекции. В декабре 2020 г. в России первой в мире была зарегистрирована вакцина Спутник V, с этого момента в России и в других странах мира была начата масштабная массовая вакцинация населения против COVID-19. Формирование серопревалентности происходило как вследствие перенесенной НКВИ, так и приобретения Ат после вакцинации и ревакцинации, и характер ее формирования зависел от особенностей применяемых в разных странах вакцин. В 2021 году наблюдался пик пандемии, сопровождающийся увеличением числа переболевших, что привело к практически полному нивелированию характерных различий в серопревалентности населения по территориальному, возрастному и профессиональному признакам [143, 158, 250, 261]. В этот период формировался гибридный иммунитет [175], в результате вакцинации векторными вакцинами возросла доля лиц, выработавших Ат исключительно к RBD. Массовая вакцинация и вовлечение значительной части населения в эпидемический процесс из-за распространения высококонтагиозного штамма Omicron способствовали увеличению уровня популяционного иммунитета до 80,0-90,0%. На поздних сроках пандемии в 2022-2023 гг. практически у 90,0% серопревалентных лиц гуморальный иммунитет оказался гибридным и был представлен Ат к антигенам нуклеокапсида (Nc) и S-белка (RBD). Характерной особенностью пандемии COVID-19 стало значительное количество бессимптомных форм инфекции,

наблюдаемых как в ранний период, так и в период её разгара. Этот феномен можно охарактеризовать как «носительство», когда с помощью ПЦР в крови выявляют только вирусную РНК при отсутствии клинических симптомов, в связи с этим можно ожидать развитие иммунного ответа в той или иной форме на вирусную РНК. Доля бессимптомных форм составила: в России (2020) – 93,5%; в Беларуси (2021) – до 50,0%; в Кыргызстане (2021) – до 70,0%; в Армении (2022) – 75,0%; а в Таджикистане (2022) – выше 90,0% [30]. В настоящее время в связи с глобальным доминированием геновариантa Omicron и его способностью «прорывать» иммунитет к коронавирусу SARS-CoV-2 актуальным направлением является изучение особенностей формирования поствакцинального и постинфекционного иммунитета, особенно в группах высокого риска инфицирования, к которым относятся медицинские работники и эффективности противоэпидемических мер [177].

## 1.2. Медицинские работники как группа высокого риска инфицирования коронавирусом SARS-CoV-2

Одной из наиболее уязвимых категорий, подверженных высокому риску инфицирования, остаются медицинские работники (МР) [41, 273]. В силу своей профессиональной деятельности МР подвергались значительному риску инфицирования патогеном и развития сопутствующих заболеваний. Значительная часть МР перенесла НКВИ различной степени тяжести. С первых дней эпидемии COVID-19 в научных публикациях стали регистрироваться сообщения о внутрибольничном заражении НКВИ среди медицинского персонала [152, 289].

Высокая заболеваемость среди МР была зафиксирована в Италии в период эпидемии COVID-19 в апреле-мае 2020 года [119]. Исследования, посвященные уровню гуморального иммунитета к вирусу SARS-CoV-2 среди МР, которые имеют значительно большую вероятность контакта с вирусом по сравнению с

общей популяцией, в период первой волны пандемии были немногочисленными, противоречивыми и приобретали особую значимость. По данным китайских исследователей, случаи COVID-19 среди МР существенно способствовали общему уровню заболеваемости. В 422 медицинских организациях с начала эпидемии по состоянию на 11.02.2020 года было выявлено 1716 лабораторно подтвержденных случаев среди МР, из которых 5 оказались летальными; в Ухане летальность составила 64,0%, в провинции Хубей – 23,3%, в остальных провинциях КНР – 12,7% [280].

По оценкам исследователей из Китая, при обследовании 19555 МР специфические IgG Ат к SARS-CoV-2 сохранялись лишь у 4,0% обследованных [228]. Данные исследования уровня иммунитета к вирусу SARS-CoV-2 среди МР одного из госпиталей в Милане (Италия) в первой половине апреля 2020 года показали, что IgG Ат были обнаружены у 7,4% обследованных, а IgM – у 14,4% [85, 260].

По результатам проекта Роспотребнадзора, изучающего популяционный иммунитет к вирусу SARS-CoV-2 в Российской Федерации в первую волну эпидемии, серопревалентность среди МР составила: в Санкт-Петербурге – 27,1% [99], в Ленинградской области – 18,1% [88], в Саратовской области – 11,6% [130], в Тюменской области – 16,1% [104], а в Хабаровском крае – 18,9% [127].

Пандемия COVID-19 актуализировала необходимость получения новой сероэпидемиологической информации. Также важным является мониторинг динамики уровня серопревалентности для оценки коллективного иммунитета к НКВИ среди МР, как группы с высоким риском заражения, а также тестирование на антитела SARS-CoV-2 среди различных категорий МР. Проведение подобных исследований необходимо для выявления частоты распространения НКВИ в МО, бессимптомных форм заболевания и установления факта перенесенной ранее НКВИ [20, 21, 85]. В Российских, так и в зарубежных исследованиях, было установлено, что МР являются социально-значимой группой, которая активно вовлекается в эпидемиологический и инфекционный процесс при COVID-19.

## 1.3. Особенности морфологии вируса SARS-CoV-2 и характеристика основных иммуногенных вирусных белков

Возбудитель НКВИ вирус SARS-CoV-2 инфицирует человека через слизистые оболочки носа, гортани и бронхиального дерева, и вызывает вирусемию. В дальнейшем он инфицирует тропные паренхиматозные органы, такие как легкие, пищеварительный тракт, сердце и почки, клетки которых экспрессируют ангиотензинпревращающий фермент 2 типа (ACE2). Особенный тропизм вирус SARS-CoV-2 имеет к эпителиальным клеткам легких. На первом этапе взаимодействия SARS-CoV-2 связывается с клеточной мембраной хозяина посредством S-белка, который формирует шиповидные структуры, взаимодействующие с ACE2. После связывания происходит интернализация вируса, его репликация и высвобождение новых вирионов из инфицированной клетки. Эти вирионы затем поражают целевые органы и инициируют развитие как местного, так и системного воспалительного ответа [194, 281].

Вирион коронавируса состоит из нескольких структурных белков: нуклеокапсидного белка (N), мембранного белка (M), оболочечного белка (E) и шипового белка (S) (Рисунок 1) [221].

Нуклеокапсидный (N) и спайковый (S) белки SARS-CoV-2 вызывают наиболее выраженный гуморальный иммунный ответ в процессе инфекции. Нейтрализующая активность Ат, вырабатываемых против данного вируса, в значительной степени связана с антителами к S-белку [193, 272].

Перед слиянием с клеточной мембраной S-белок обычно находится в метастабильной конформации. При взаимодействии вируса с клеткой-хозяином происходит значительная структурная перестройка S-белка, что позволяет вирусу сливаться с мембраной клетки. Структура S-белка включает сигнальный пептид на N-конце, субъединицы S1 и S2, каждая из которых отвечает за связывание с рецепторами и слияние мембран. На субъединице S1 расположен рецептор-связывающий домен (RBD), который способен прочно связываться с рецепторами

ангиотензин-превращающего фермента (ACE2), находящимися на клетках различных тканей, включая эпителий легочных альвеол. Взаимодействие RBD с рецепторами ACE2 представляет собой начальный этап внедрения вируса в клетку. Ат, специфически связывающиеся с RBD области S1 субъединицы спайкового белка, способны ингибировать его связывание с клеточными рецепторами, обеспечивая выраженный нейтрализующий эффект [147, 272].

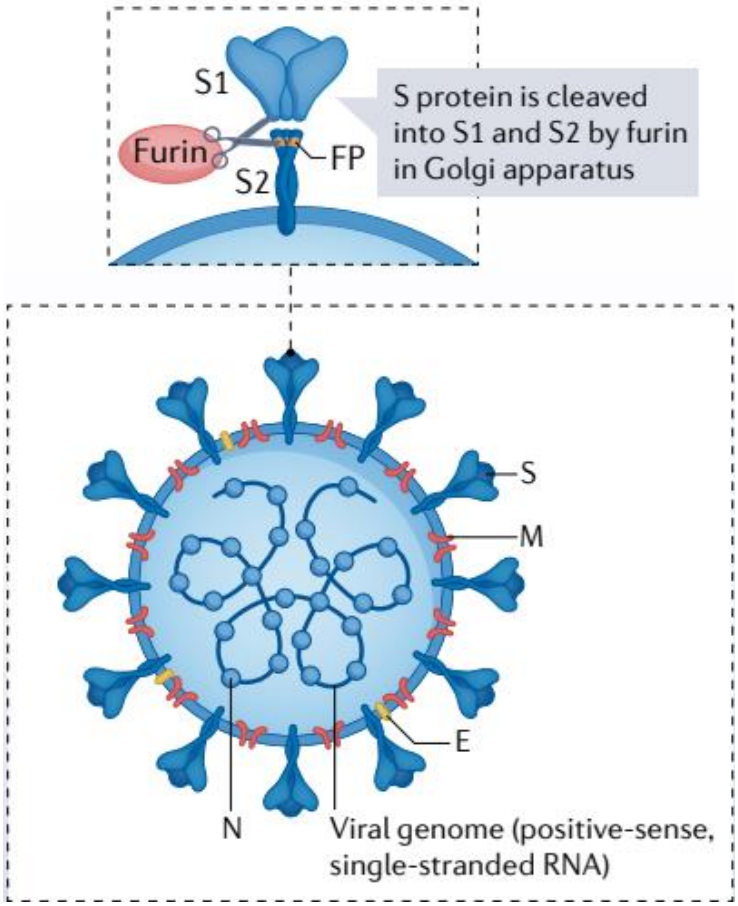



Рисунок 1 – Морфология вируса SARS-CoV-2 со структурными белками в его составе [Jackson C.B. et al., 2022 [221]

Нуклеокапсидный белок (N-белок) находится во внутренней части вируса, выполняя защитную функцию для РНК вируса и участвуя в сборке новых вирионов. Ат к N-белку не обладают нейтрализующими свойствами и не препятствуют заражению коронавирусом, однако их наличие свидетельствует о готовности всех звеньев иммунной системы, включая Т-клеточный иммунный ответ, противостоять вирусу [147,193].

М-белок, представляющий собой трансмембранный гликопротеин, является важным структурным компонентом коронавирусов и наиболее распространенным белком на поверхности вируса, придающим ему характерную форму [156]. М-белок SARS-CoV-2 демонстрирует 39,2% идентичности с М-белком MERS-CoV и 90,1% идентичности с М-белком SARS-CoV [278]. Исследования показывают, что, даже находясь в значительной степени внутри вирусной мембраны, М-белок способен вызывать иммунный ответ. Хотя антигенные сайты на М-белке не были точно определены, предполагается, что N-концевой гидрофильный эктодомен М-белка содержит ключевые антигенные детерминанты, индуцирующие иммунный ответ [282].

Процесс проникновения вируса в клетку-хозяина начинается с прикрепления вирусных частиц к клеточной мембране и их последующего слияния. За это отвечает гликопротеин S, который формируется в виде тримера и располагается на поверхности вируса, придавая ему характерный коронаподобный вид [221]. В инфицированной клетке белок S проходит биосинтез и созревание, в ходе которых он расщепляется ферментами, такими как фурин, на две части: субъединицы S1 и S2 (Рисунок 1) [221]. Эти субъединицы остаются связанными и выполняют разные функции. Субъединица S1 отвечает за связывание с рецептором ACE2 на поверхности клетки-хозяина, а S2 помогает закрепить белок S на мембране клетки. Рецептор-связывающий домен (RBD) на поверхности S1 специфически взаимодействует с клеточным рецептором, что определяет, какие клетки могут быть инфицированы вирусом и насколько он патогенен [171, 221].

## 1.4. Врожденные механизмы иммунного ответа на вирус SARS-CoV-2

Исследования показывают, что иммунная системы играет ключевую роль в ответе на вирус SARS-CoV-2 (Рисунок 2) и развитии COVID-19 [140]. Врожденный иммунный ответ активируется, когда SARS-CoV-2 проникает в

организм человека и в этом процессе участвуют Toll-подобные рецепторы (TLR), которые идентифицируют вирус. Такая активация приводит к синтезу цитокинов с провоспалительной активностью ИФН I и III типов, ФНО-α и ИЛ-1, ИЛ-6, что способствует развитию адаптивного иммунного ответа, который включает продукцию антител и активацию других субпопуляций Т-клеток [70, 138].

В организме человека выделяют специальные рецепторы, называемые Toll-подобными рецепторами (TLR), которые играют важную роль в распознавании вирусной РНК. У млекопитающих, включая человека, обнаружено 15 таких рецепторов. Они располагаются на клеточных мембранах, в эндосомах или внутри клеток, таких как нейтрофилы, макрофаги и дендритные клетки, которые являются первой линией защиты организма [225].

На уровне клетки врожденный иммунный ответ проявляется в трех основных направлениях. Во-первых, активируются клетки, несущие специфические рецепторы, что усиливает их защитные функции, такие как фагоцитоз и выработка антимикробных пептидов. Во-вторых, усиливаются эффекторные функции клеток адаптивного иммунитета (Т- и В-лимфоцитов) [277].

При COVID-19 одним из ключевых признаков активации врожденного иммунитета является увеличение числа нейтрофилов и повышение уровня ИЛ-6 и С-реактивного белка в крови [48, 49, 214]. В тяжелых случаях COVID-19 часто наблюдается снижение числа лимфоцитов [173].

Наличие генетически обусловленных иммунологических аномалий, затрагивающих субпопуляции эффекторных Т- и В-клеток, а также мутации в ключевых рецепторах, контролирующих механизмы врожденного и адаптивного ИО, могут оказывать влияние на патогенез и клинические проявления [34] COVID-19 как в острый период, так и на разных сроках реконвалесценции. Исследования направлены на поиск прямых доказательств влияния этих аномалий на формирование постковидного синдрома, однако такие данные пока отсутствуют [160, 239].

Макрофагальная система способна выявлять вирусы как непосредственно через TLR, так и через образование комплексов с Fc-рецепторами. В результате

распознавания иммунных комплексов с Fc-рецепторами и TLR происходит активация макрофагов и высвобождение цитокинов широкого спектра действия, способствующих элиминации вируса, быстрый клиренс иммунных комплексов необходим для разрешения воспаления и поддержания иммунного гомеостаза. У некоторых пациентов наблюдается выраженная функциональная гетерогенность Fc-рецептора, а также значительная генетическая гетерогенность TLR из-за наличия однонуклеотидных замен (SNP) в генах этих рецепторов. TLR экспрессируются на разных типах иммунокомпетентных клеток: НГ, ДК, МА, Л и ЭК.

Недавние исследования продемонстрировали влияние специфической модификации доменов Fc-рецепторов, характеризующиеся отсутствием основного остатка фукозы (афукозилирование), на развитие тяжелых форм COVID-19 и прогрессирование симптомов у пациентов с изначально легкими проявлениями заболевания [34, 144].

В ряде исследований установлено, что у лиц с клинически значимыми полиморфизмами генов, кодирующих TLR, наблюдается прямая связь между течением бактериальных и вирусных инфекций и развитием сепсиса. Дисрегуляторный ИО может привести к формированию аутоиммунного ответа против собственных тканевых антигенов, который сохраняется после элиминации вируса и сопровождается тканевым повреждением в период реконвалесценции COVID-19, что обуславливает проявления постковидного синдрома. TLR являются наиболее исследуемыми PRR, играющими важную роль в активации врожденной иммунной системы при распознавании вирусных частиц [34, 223, 247].

Активация TLR приводит к высвобождению провоспалительных цитокинов: ИЛ-1, ИЛ-6, ФНО-α, ИФН-γ. При связывании лиганда с TLR через взаимодействие PAMP-TLR происходит олигомеризация, гомодимеризация или гетеродимеризация рецепторов, что инициирует передачу сигнала внутри клетки. TLR-2, среди других TLR млекопитающих, проявляет наибольшую способность распознавания PAMP широкого спектра возбудителей, включая

грамположительные и грамотрицательные бактерии, микобактерии, грибки и вирусы. Этот феномен в значительной степени обусловлен способностью TLR-2 к гетеродимеризации с TLR-1 или TLR-6 [210].

Важно отметить, что TLR-2 играет решающую роль в распознавании грамположительных бактерий и микобактерий, что имеет особое клиническое значение, поскольку грамположительные бактерии являются наиболее распространенной причиной ИСМП, могут приводить к тяжелым мультиорганным проявлениям и септическому шоку в отделениях интенсивной терапии. Этот факт приобретает особую актуальность при оказании специализированной медицинской помощи пациентам с НКВИ в отделениях реанимации и интенсивной терапии [34].

Мутации в генах, кодирующих TLR в форме SNP, представляют собой различные вариации последовательности ДНК, возникающие при изменении одного нуклеотида в генном коде. Выделяют несколько групп SNP: синонимичные полиморфизмы не приводят к изменению аминокислот в белке рецептора, в отличии от несинонимичных SNP, которые изменяют аминокислоту, что существенно влияет на структуру или функцию белка рецептора. Особый интерес представляет полиморфный вариант SNP TLR-2 (rs5743708), связанный с заменой G>A в нуклеотиде 2251, что приводит к замене аспарагиновой кислоты на глицин (Arg753Gln) и ассоциируется с развитием септических осложнений [156, 245].

Другим важным TLR, имеющим значение для патогенеза COVID-19, является TLR-4, который активирует функциональный каскад иммунных реакций [289].

Недавние исследования показали, что специфическая модификация доменов [34] этих рецепторов может существенно влиять на патогенез COVID-19. В исследовании A.M. Alhabibi, A.S. Hassan, N.M. Abd Elbaky и др. (2023) [201] было установлено, что наличие SNP (rs5743708) TLR-2 с мутантным генотипом (G/A) и аллелем A коррелировало с повышенным риском заражения SARS-CoV-2 и являлось одним из факторов риска тяжести течения НКВИ [34, 199].

В исследовании E. Bakaros, I. Voulgaridi, V. Paliatsa и др. (2023) [204] продемонстрировано, что носители полиморфизма SNP rs5743708 гена TLR-2 имеют высокий риск развития выраженного воспаления в нижних дыхательных путях и более тяжелое течение респираторных заболеваний [34, 204]. Этот полиморфизм ассоциирован с гипореактивностью рецепторов и восприимчивостью к нескольким инфекционным заболеваниям.

Следует также отметить, что вирусный S-белок SARS-CoV-2 может связываться и активировать TLR-4, в то время как TLR-2 взаимодействует с белком оболочки вируса [34, 204].

Взаимодействие белков E и S с TLR-2 и TLR-4 соответственно активирует внутриклеточные сигнальные пути, что приводит к транскрипционной активации и экспессии воспалительных генов, генов ИФН и ИФН-стимулированных генов. При наличии полиморфизмов TLR-2-rs5743708 снижение аффинности связывания с белками E и S может способствовать дисрегуляции нормального ИО на SARS-CoV-2, что увеличивает риск неблагоприятного прогноза течения COVID-19. Также важно отметить роль TLR-4 при НКВИ. Было показано, что экспрессия TLR-4 и сенсибилизация к липополисахаридам резко возрастают при воспалительных процессах и инфильтрации легких МА, хотя в норме экспрессия TLR-4 в легочной ткани наблюдается в альвеолярных клетках, включая легочные МА I и II типов и в ЭК слизистой бронхов на низком базальном уровне. SNP (rs4986790) TLR-4, характеризующийся заменой 1063A > G и заменой аспарагиновой кислоты на глицин в первичной структуре белкового рецептора (Asp299Gly), ассоциирован с высокой восприимчивостью к респираторно-синцитиальному вирусу (RSV), обладающему тропизмом к легочной ткани [148].

Недавно проведенные исследования по моделированию шиповидного гликопротеина на белковой оболочке SARS-CoV-2 in silico подтвердили его сильное белок-белковое взаимодействие с TLR-4, что подчеркивает его роль в инфекционном процессе [34] при НКВИ у человека [142, 217].

## 1.5. Гуморальный иммунный ответ на новую коронавирусную инфекцию COVID-19

Адаптивный иммунитет и его роль в патоген-специфическом иммунном ответе - это сложная система защиты организма, которая специализируется на распознавании и уничтожении конкретных патогенов. Он не только борется с текущими инфекциями, но и создает долговременную иммунную память. Благодаря этому, при повторном контакте с тем же патогеном, организм может быстро и эффективно отреагировать, минимизируя риск развития заболевания. В-лимфоциты выступают в роли ключевых иммунных клеток, обеспечивающих противовирусную активность, синтезируя антитела - гуморальные факторы, которые нейтрализуют и элиминируют вирусы, - связываясь с ними и предотвращая их распространение по организму, тем самым играя решающую роль в противовирусном иммунном ответе [194, 203] (Рисунок 2).

На Рисунке 2 проиллюстрирована схема основных механизмов иммунного ответа, включая клеточные реакции врожденного иммунитета и адаптивного иммунитета, где показана роль нейтрофилов, макрофагов, ДК, а также Т-хелперов, и цитотоксических Т-лимфоцитов, которые уничтожают клетки, инфицированные вирусом SARS-CoV-2.

В исследовании, проведенном Y. Nakano, K. Makoto, M. Yoshifumi и его коллегами в 2021 году, изучалась динамика изменений уровней антител IgM и IgG к вирусу SARS-CoV-2. Исследователи обнаружили, что через три недели после начала заболевания уровни антител IgM значительно колебались. В то же время, уровень антител IgG оставался стабильным через 24 дня [283]. Известно, что гуморальный ИО на белки SARS-CoV-2 вносит основной вклад в защиту от инфекции и выздоровление [82].

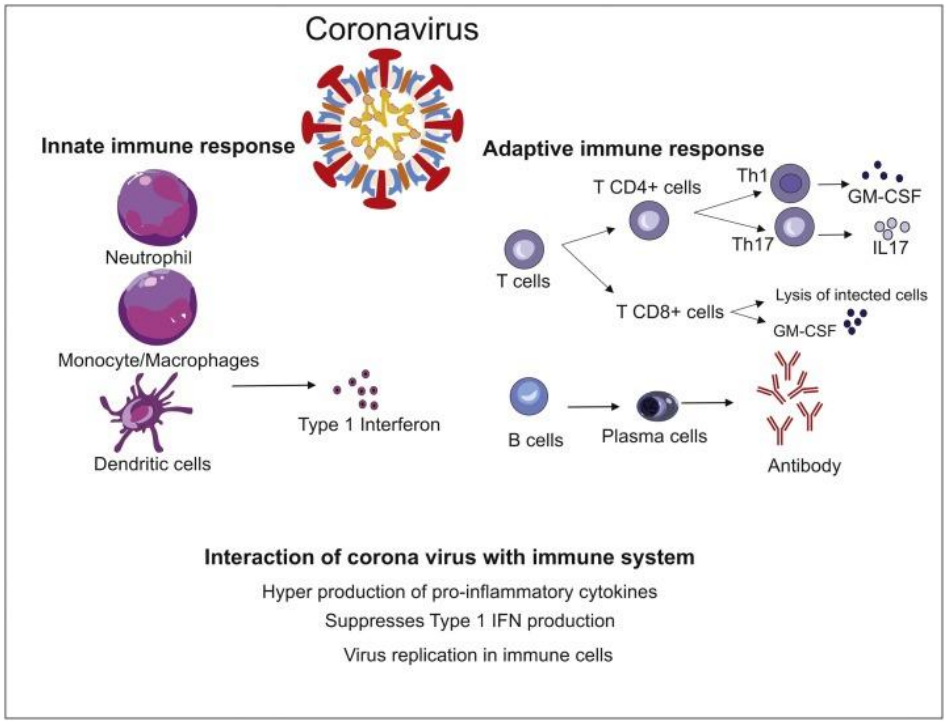



Рисунок 2 – Механизмы врожденного и адаптивного иммунного ответа при НКВИ

У большинства пациентов уже через две недели после встречи с вирусом SARS-CoV-2 начинают образовываться специфические Ат к структурным белкам: S-протеин и его субъединицы S1 и S2, рецепторсвязывающий домен (RBD), N-протеин, а также белки Nsp8 и ORF6-10 [26, 198].

Поверхностный S-белок играет важную роль в формировании защиты против COVID-19. Ат к RBD и S1 обладают нейтрализующими свойствами, так как блокируют связывание вируса с ACE2 и его проникновение в клетки. Однако для белка нуклеокапсида такие свойства не были показаны [81, 140]. Важно отметить, что S-белок подвержен мутациям, что позволяет вирусу избегать нейтрализующих антител, увеличивая скорость его распространения и утяжеляя течение COVID-19.

Гуморальный ИО на вирус SARS-CoV-2 включает выработку IgM, IgA и IgG Ат. Ат IgA начинают формироваться примерно на второй день после начала заболевания, достигают пика через две недели и сохраняются длительное время, IgM Ат выявляются на седьмой день после инфицирования, достигают пика через неделю и могут сохраняться более двух месяцев, IgG Ат начинают детектироваться с третьей недели или ранее [20, 40, 153, 154] (Таблица 1).

Таблица 1 – Антитела, играющие ключевую роль в иммунном ответе на SARS-CoV-2 и возможность их обнаружения во времени (Tantuoyir M.M. et al., 2021) [278]

| Антитела к SARS-CoV-2 | Дни с момента проявления симптомов | Клиническое наблюдение |
|---|---|---|
| IgG | Обнаружение не менее 14 дней | Связаны с наличием защитных нейтрализующих антител, остаются выявляемыми не менее 4 месяцев, но имеют тяжелый клинический исход заболевания |
| IgA | Обнаружение не менее 5 дней | Относительно недолговечны, снижаются до низких уровней в течение двух с половиной месяцев или менее, в среднем клинически связаны с исходом заболевания от легкой до умеренной степени тяжести. |
| IgM | Обнаружение не менее 5 дней | Снижение происходит с более высокой скоростью, в среднем занимая менее двух с половиной месяцев, и демонстрирует корреляцию с легким или умеренным клиническим течением заболевания. |

В большинстве исследований IgM Ат начинают детектировать через 5-10 дней после появления симптомов, которые быстро увеличиваются [268]. Особенностью гуморального ИО на SARS-CoV-2 является небольшой временной промежуток между появлением IgM и IgG Ат, а иногда и их одновременное формирование (временные рекомендации 9 от 26.10.2020). По данным китайских исследователей Q.X. Long, B. Liu, H. Deng и соавторов (2020), к 5-7 дню Ат выявлялись у каждого второго госпитализированного пациента с COVID-19, а спустя 17-19 дней в 100,0% случаев [154]. Сероконверсия сопровождалась двух-четырёхкратным увеличением титра Ат к 27 дню от начала симптомов.

Исследование, проведенное P. Kellam, W. Barclay и его коллегами (2020) [208], продемонстрировало, что у большинства (до 94,0%) пациентов, инфицированных вирусом SARS-CoV-2, антительный ответ формируется в среднем через 2 недели, как при среднетяжелом, так и при легком течении НКВИ [208, 228].

Несмотря на то, что временные аспекты появления различных классов Ат к вирусу SARS-CoV-2 уже достаточно хорошо изучены, исследования, посвященные длительности гуморального ИО охватывают пока лишь ограниченные периоды наблюдения, а полученные результаты зачастую противоречивы [81, 220]. Анализ ранее проведенных исследований для подобных SARS-CoV-2 известных особо-опасных бета-коронавирусов SARS-CoV и MERS-CoV, показал, что адаптивный иммунитет не сохраняется пожизненно. Защитные свойства Ат постепенно уменьшаются, и их уровни могут сохраняться до 1-2 лет и снижаться до полного исчезновения у 44,0-100,0% пациентов к концу третьего года после инфицирования [96, 218, 274]. В результате недостаточной иммунной защиты возрастает риск повторного заражения SARS-CoV-2 [100, 154, 230, 255]. Также установлено, что Ат к нуклеокапсиду исчезают быстрее [96, 123].

Отечественные исследования выявили различия в уровне IgM Ат к N-белку и RBD. Показано, что динамика IgG Ат к цельновирионному и рекомбинантным антигенам шипа достигала пиковых значений только на 4-5-й неделе заболевания, а титр IgG Ат к N-белку оставался низким в среднем в течение года после инфицирования [96]. Противоречивые данные о динамике гуморального ИО к вирусу SARS-CoV-2 после перенесенной инфекции, вероятно, зависят как от чувствительности используемых тест-систем, так и от тяжести заболевания. Согласно данным американских исследователей F.J. Ibarrondo, J.A. Fulcher, D. Goodman-Meza и др. (2020) [243], снижение титров RBD-специфических Ат начинается через три месяца после появления первых симптомов после лёгких форм COVID-19. Китайские исследователи L. Yao, G.L. Wang, Y. Shen и др. (2021) [235] показали, что при среднетяжелых и тяжелых формах COVID-19 IgG Ат к S-белку и N-белку появляются с девятого дня заболевания и сохраняются в течение месяца, а в некоторых случаях до трех месяцев [81, 235].

Исследования немецких авторов E. Bölke, Ch. Matuschek, J.C. Fischer (2020) [163], продемонстрировали, что высокий титр IgG Ат к итрусу SARS-CoV-2 с небольшим постепенным снижением сохранялся до четырех месяцев после появления симптомов заболевания. Греческие исследователи под руководством

Terpos зафиксировали значительное снижение титров IgG и IgA Ат к 74-м суткам после перенесенного заболевания. Японские исследователи Kutsuna и коллеги обнаружили, что титр IgG Ат, специфичных к S-белку, коррелирует с тяжестью заболевания, однако при всех формах тяжести наблюдалось снижение титров Ат ко второму месяцу от начала заболевания [81, 140, 154, 163, 243, 256].

В настоящее время ведутся исследования, направленные на длительный мониторинг ИО на вирус SARS-CoV-2. Цель этих исследований - лучше понять роль иммуноглобулинов в развитии ИО на инфекцию и продолжительность его сохранения. Также важным аспектом является сравнение постинфекционного и вакцинального ИО, а также персонализация времени вакцинации и ревакцинации, особенно среди наиболее уязвимых групп населения, находящихся в зоне высокого риска инфицирования.

Качественная характеристика гуморального ИО на внедрение вируса определяется авидностью специфических Ат, что отражает их суммарную силу связывания с антигеном. Авидность является важным параметром, обеспечивающим эффективность ИО наряду с количественными характеристиками, такими как титры специфических Ат. В отличие от афинности, которая описывает силу взаимодействия одного антигенсвязывающего участка Ат с одним эпитопом антигена, авидность представляет собой суммарную силу связывания и значительно превышает силу единичной связи между антигеном и Ат. Известно, что чем выше авидность вируснейтрализующих Ат к рецептор-связывающему домену (RBD), тем эффективнее они конкурируют с антигеном за связывание с ACE2, препятствуя инфицированию клеток [31, 162].

Для определения авидности Ат разработаны методы, использующие хаотропные агенты, такие как мочевина, гидрохлорид гуанидина и тиоцианид аммония [285]. Авидность обычно оценивается с помощью индекса авидности (ИА), который определяется путем проведения двух параллельных иммунологических анализов: один в стандартных условиях, а второй с дополнительной обработкой хаотропными агентами после связывания Ат с антигенами. Исследования показывают, что динамика ИА отражает естественное

течение инфекционного процесса: низкие значения ИА (<30,0%) соответствуют острой инфекции, за которой следует промежуточная фаза (ИА от 30,0 до 60,0%), и через несколько месяцев ИА достигает высоких значений (>60,0%) [31, 179].

В широкой клинической практике авидность IgG Ат к антигенам различных возбудителей используют для дифференциальной диагностики первичных и повторных инфекций [182]. При повторных контактах с возбудителями острых инфекций преобладают высокоавидные Ат.

Индекс авидности пропорционален доле IgG Ат, сохраняющих способность in vitro связываться с антигеном даже при воздействии денатурирующего агента, благодаря высокой аффинности к мишени. Исследования показывают, что авидность, как мера доли высокоаффинных Ат к вирусу SARS-CoV-2, коррелирует с временем, прошедшим с момента заболевания, и ростом титров вируснейтрализующих Ат [31, 198, 249].

Некоторые авторы отмечают, что благоприятные клинические исходы у пациентов с COVID-19 не зависели от титров Ат, но были связаны с высокой авидностью [31, 198]. Показатели ИА IgG Ат к вирусу SARS-CoV-2 зависят от тяжести перенесенной НКВИ. Согласно данным L. Piccoli, Y. Park, M. Tortorici и др. (2020) [220] количество IgG Ат к S-белку и RBD было выше у госпитализированных пациентов по сравнению с теми, кто перенес COVID-19 в легкой или бессимптомной форме [220].

Аналогичные результаты были получены в исследовании А.П. Топтыгиной, З.Э. Афридоновой, Р.Ш. Закирова, Е.Л. Семикиной (2023) [96], где показано, что авидность увеличивалась с 29,7% в течение трех месяцев до 50,0% через двенадцать месяцев и оставалась на этом уровне следующие полгода, не коррелируя с уровнем Ат против вируса SARS-CoV-2 [31, 96].

В исследовании, проведенном K.L. Lynch, J.D. Whitman, N.P. Lacanienta и др в 2020 году [218], было установлено, что уровень специфического гуморального ИО на вирус SARS-CoV-2 варьируется в зависимости от тяжести перенесенного COVID-19 [98]. В период реконвалесценции наблюдается постепенное снижение уровня специфического иммунитета [218, 274]. Эти данные подтверждают, что у

выздоравливающих после инфекции снижается индекс авидности (ИА), что сопровождается увеличением титра антител. Это, вероятно, связано с элиминацией высокоавидных Ат, которые нейтрализуют вирус при высокой вирусной нагрузке, когда вовлечены в воспалительный процесс многие жизненно-важные органы, в том числе нижние дыхательные пути [31, 140, 154].

Другие авторы также показывают, что у выздоравливающих после COVID-19 уровень IgG Ат к S-белку SARS-CoV-2 снижается, особенно в группе с высоким уровнем гуморального ИО. Это снижение достигает плато через 9 месяцев после сероконверсии, и в дальнейшем наблюдается замедление снижения титров Ат и отсутствие их полной элиминации [100, 230, 255].

Сравнение динамики ИА при COVID-19 с известными вирусными инфекциями, такими как корь и краснуха, показывает, что авидность Ат через 6-12 месяцев после заболевания достигает 90,0% и выше. Однако, у выздоравливающих после COVID-19, авидность на аналогичных сроках составляет от 49,9% до 68,1% [31, 126].

В группе перенесших НКВИ повторно наблюдается рост ИА и титра Ат, который сохраняется высоким даже через семь месяцев. Авторы объясняют эту закономерность при повторном инфицировании развитием «прорывного» иммунитета, приводящего к резкому повышению уровня Ат, дополнительному включению механизма образования Ат на мутировавший S-белок и высокоавидных Ат, которых тем не менее не хватило для элиминации мутировавшего вируса. Повышение авидности Ат также свидетельствует о дополнительных перестройках в антигенраспознающих участках Ат и образовании дополнительных плазмоцитов на ряду с сформировавшимися при первичном инфицировании. Исследователи объясняют этот феномен в том числе определенным молекулярно-генетическим паттерном, который регулируется генами ИО в силу индивидуальных особенностей организма [96].

Исследования реконвалесцентов и реинфицированных SARS-CoV-2, проведенные V. Manuylov, O. Burgasova, O. Borisova и и др. в 2022 году [160], показали, что ИА коррелирует с тяжестью повторного COVID-19. У пациентов с

легкими формами и реинфицированных медиана ИА была значительно выше, чем у первично инфицированных (82,3% против 37,1%, p<0,0001). Однако у пациентов с тяжелыми формами COVID-19 и реинфицированных сохранялись низкоавидные Ат (медиана ИА 28,4% против 25,0%, разница недостоверна, P>0,05) [160]. Эти результаты позволяют предположить, что низкоавидные IgG Ат к RBD при реинфекции COVID-19 могут служить прогностическим фактором риска развития тяжелой формы заболевания. Ранее проведенные исследования показывают, что низкая авидность Ат может быть негативным прогностическим фактором риска для таких инфекций, как ЦМВ, лихорадка денге, РС-вирус и корь [27, 312].

Некоторые исследователи отмечают, что, несмотря на высокие уровни специфических IgG Ат к SARS-CoV-2, гуморальный ответ на антигены вируса характеризуется неполной матурацией авидности, что отражает незавершенное созревание и активность Ат [164, 202].

В исследовании, проведенном А.П. Топтыгиной, З.Э. Афридоновой, Р.Ш. Закирова, Е.Л. Семикиной в 2023 году, было выявлено, что у переболевших и вакцинированных лиц снижение уровня IgG Ат к вирусу SARS-CoV-2 более заметно у тех, кто изначально имел высокий гуморальный ответ. Это снижение замедляется и достигает плато через 9 месяцев, сопровождаясь увеличением авидности до 50,0%, которая сохраняется до 18 месяцев [96].

Кроме того, авторы отметили, что «прорывной» иммунитет оказался значительно более выраженным и сопровождался формированием высокоавидных IgG Ат, чем после первого заболевания [96].

Таким образом, остается нерешенным вопрос о сохранении и продолжительности антительного ответа после перенесенной НКВИ и после формирования гибридного иммунитета и степень защиты от риска быть реифицированным.

## 1.6. Мукозальный иммунный ответ и микробиота верхних дыхательных путей у реконвалесцентов COVID-19

Состояние слизистой иммунной системы дыхательных путей (МИ СОДП) играет критическую роль в защите от инфицирования вирусом SARS-CoV-2 [176] и последующего развития заболевания. Это связано с тем, что слизистая ассоциированная лимфоидная ткань (МАЛТ) служит основным местом проникновения и репликации вируса и подвергается значительному цитопатогенному воздействию.

Мукозально-ассоциированная лимфоидная ткань представляет значимую в ИО часть иммунной системы человека, охватывающей площадь примерно 400 квадратных метров. Она содержит около половины всех иммунных клеток организма, включая как врожденные, так и приобретенные. В МАЛТ заключены многоуровневые защитные механизмы, которые помогают бороться с патогенами и чужеродными веществами. Эти механизмы варьируются от «пассивной» гуморальной защиты до «активного» врожденного иммунитета, который не зависит от специфических антигенов, и до высокоспецифического адаптивного иммунитета, способного действовать как локально, так и на уровне всего организма [52, 75].

Нейтрофилы играют важную роль, как во врожденном, так и в адаптивном иммунном ответе, обеспечивая реакции фагоцитоза вирусных и бактериальных патогенов, вырабатывают нитроксидные и кислородные радикалы, которые могут также повреждать собственные тканевые мембраны, в том числе в легочной ткани. Эти клетки критически важны для иммунного ответа, так как они выполняют ключевые эффекторные и регуляторные функции в иммунопатогенезе многих инфекционных заболеваний [184].

Состояние слизистой иммунной системы и изменения микробиома дыхательных путей приобретают особую значимость в период реконвалесценции после COVID-19 в связи тем, что основная нагрузка антигенов и большинство

иммунных реакций сосредоточены в системе МАЛТ. Антимикробные механизмы нейтрофилов на уровне МАЛТ могут оказывать прямое влияние на нарушения микробиома дыхательных путей, что особенно актуально среди МР – реконвалесцентов COVID-19, как группы повышенного риска инфицирования [72, 176]. Так, в исследовании Н.О. Крюковой у МР спустя 3 месяца после перенесенного тяжелого и среднетяжелого COVID-19 выявлены дефекты противоинфекционной защиты после перенесенной НКВИ: статистически значимое снижение ФИ НГ и МА слюны, повышение продукции активных форм кислорода НГ и уменьшение показателей резерва бактерицидной активности крови, повышение sIgA в соскобах со слизистой ротоглотки и IgG Ат в индуцируемой мокроте по сравнению с группой не болевших [60, 72].

В исследованиях показано, что репликация вируса SARS-CoV-2 может приводить к значительной деструкции и вирус-индуцированному апоптозу, что характерно для цитопатических вирусных инфекций [70, 201, 288]. Исследования показывают, что помимо прямого повреждения клеток врожденного иммунитета, цитокиновые дисбалансы и воспалительная инфильтрация могут усиливать цитопатическое воздействие через избыточную секрецию протеаз и активных форм кислорода [70, 191, 196, 214]. Нарушения в микробиоме верхних дыхательных путей, связанные с иммунными дисфункциями при COVID-19, характеризуются изменением видового состава патогенов, снижением разнообразия микроорганизмов и изменением экспрессии генов врожденного иммунитета, а также истощением бактерий с иммуномодулирующим потенциалом [150, 170]. Показано, что у пациентов в отделениях интенсивной терапии бактериальная коинфекция возникала в 3,5 раза чаще, чем у пациентов в общих отделениях [70, 72, 184]. В то же время, получены доказательства, что патогенная микробиота может поддерживать процессы деструкции и апоптоза НГ на СОДП у реконвалесцентов COVID-19, и вносить вклад в нарушения функционально-метаболической активности НГ и ЭК [73, 132, 176]. НГ вместе с ЭК и микрофлорой, играют ключевую роль в формировании колонизационной резистентности слизистых, регулируя микробиоценоз дыхательных путей [11, 76].

Ряд исследований продемонстрировали, что представители микробиоты ВДП могут усугублять симптомы и способствовать усилению тяжести вирусного заболевания, в том числе и COVID-19, возможно, из-за прямых и/или перекрестных взаимодействий с иммунной системой [181, 192]. При этом существенное значение имеет патогенный профиль доминирующих патобиотов в составе микробиоты слизистых оболочек ВДП.

Увеличение колонизации слизистой ВДП у реконвалесцентов COVID-19 ассоциациями из 2-х или 3-х патобиотов является многофакторным процессом и инициирует этот процесс повреждение вирусом SARS-CoV-2 клеток респираторного тракта, что приводит к нарушению целостности эпителия, снижению частоты сокращения ресничек, изменению секреции слизи и мукоцилиарного клиренса. Процессы, приводящие к нарушению целостности эпителиального барьера и межклеточных соединений, способствуют миграции условно-патогенных представителей микробиоты (бактерий, грибов) в межклеточные щели и повышенной адгезии комменсальных микроорганизмов, которые в свою очередь способствуют прикреплению других патогенов и тем самым поддерживают персистенцию потенциально патогенных представителей микробиоты ВДП. Также в исследованиях показано иммуносупрессивное действие SARS-CoV-2 за счет повреждения Т- и В-лимфоцитов, натуральных киллеров, МА, изменения ряда иммунных функций, таких как слияние фагосом с лизосомами у альвеолярных макрофагов, что также является причиной присоединения бактериальных суперинфекций, вызванных, в том числе и с представителями патобиоты микробиоты слизистых оболочек [184].

Деструктивные изменения эвакуируемых НГ слизистых ВДП, определяющие нарушения функциональной активности фагоцита взаимосвязаны с доминирующими патобиотами микробиоты ВДП.

Исследования показывают, что воспаление связано с апоптозом НГ, что может быть обусловлено повышенным уровнем s-формы CD95, влияющей на иммунный ответ, выступая в качестве одной из причин неэффективного ИО на вирусную инфекцию, приводя к персистенции вируса [227, 263]. Апоптоз в

период восстановления после инфекций может быть усилен патогенами, способными синтезировать соединения, индуцирующие этот процесс, особенно при формировании микробных ассоциаций. Эффективность фагоцитоза мукозальными НГ бактериальных и грибковых патогенов зависит от опсонизации и взаимодействия с рецепторами, такими как FcR и CR [11, 76]. Внутриклеточное уничтожение микробов и вирусов фагоцитами осуществляется через кислород-зависимые механизмы, включая образование активных форм кислорода и их метаболитов. НГ играют ключевую роль в ИО, регулируя воспалительные процессы и выделяя разнообразные цитокины и факторы, влияющие на иммунную систему [229].

НГ характеризуются индивидуальными фенотипическими и функциональными характеристиками, свидетельствующими о наличии разнообразных субпопуляций [213]: регуляторные, супрессорные и провоспалительные, воспалительные с положительным потенциалом, «агрессивные» воспалительные с негативным цитотоксическим потенциалом, противовоспалительные нейтрофилы, противоопухолевые (TAN1) и проопухолевые (TAN2), гибридные (сочетают функции НГ и ДК) НГ очень пластичные клетки, спообные изменять фенотип, а также модулировать ИО, как врожденный, так и адаптивный [107]. При активации и дегрануляции нейтрофилов выделяются сериновые лейкоцитарные протеазы, которые играют важную роль в модуляции взаимодействий в иммунной системе, влияя на экспрессию и активность рецепторов и цитокинов [59]. НГ играют ключевую роль в борьбе с возбудителями многих инфекционно-воспалительных процессов, главным образом благодаря способности поглощать и уничтожать патогены через процесс фагоцитоза, а также производить токсичные соединения, такие как нитроксидные и кислородные радикалы [73]. Однако их эффективность может снижаться из-за нарушений в работе, связанных с неконтролируемым апоптозом. Этот процесс может запускаться внешними факторами факторами (ФНО-α, FAS-лиганд) и активными формами кислорода. Апоптоз НГ сопровождается изменением клеточной морфологии ядра и цитоплазматических органелл.

В зоне воспаления НГ могут поглощать апоптотические клетки, что приводит к активации рецепторов, таких как TLRs, и выработке определённых цитокинов, включая ФНОα и ГМ-КСФ, но не таких, как ИЛ-1β, ИЛ-6, ИЛ-8, ИЛ-12 и ИЛ-17. Поглощают апоптотические клетки МФ, при этом не вырабатываются провоспалительные цитокины, но стимулируется образование молекул, подавляющих иммунный ответ, таких как ИЛ-10 и ТРФβ, что способствует развитию иммунной толерантности [264].

Оба механизма апоптоза приводят к экспрессии фосфатидилсерина на клеточной поверхности, фрагментации ядерной ДНК, формированию апоптотических телец и их быстрому поглощению фагоцитами. Это предотвращает развитие ИО на погибающую клетку, подавляет продукцию воспалительных цитокинов МА и препятствует презентации ДК антигенов отмирающей клетки. При инфицировании клетки демонстрируют признаки раннего апоптоза, включая экспрессию фосфатидилсерина на мембранах и начало фрагментации ДНК, а также активацию NF-κB-зависимого пути. Одновременно они ограничивают репликацию патогенов без образования молекул опасности (DAMPs), характерных для некротических клеток [101].

Значительное количество исследований, посвященных клинике COVID-19 как в острый период, так в различные периоды реконвалесценции, уделяют внимание барьерным функциям слизистых оболочек дыхательных путей и местного иммунитета, которые формируют устойчивость к инфицированию вирусом SARS-CoV-2 [25, 32, 55, 56, 57, 58, 60, 64, 184, 201, 288]. Таким образом, изучение этих аспектов иммунного ответа, а также системного иммунитета, позволит оптимизировать профилактические и противоэпидемические меры, включая вакцинопрофилактику, направленную на защиту барьерных функций верхних дыхательных путей, особенно в группах повышенного профессионального риска инфицирования НКВИ [133].

## 1.7. Т-клеточный иммунный ответ на вирус SARS-CoV-2

Адаптивный иммунитет к вирусу SARS-CoV-2 включает как клеточные, так и гуморальные компоненты (Рисунок 3). Антитела к нуклеопротеину и S-белку вируса вырабатываются у приблизительно 70,0% лиц после перенесенной инфекции COVID-19. Однако уровень антител не всегда точно отражает иммунологический статус в отношении этого вируса, поскольку у 10,0-30,0% переболевших COVID-19 антитела могут не обнаруживаться, и их концентрация может снижаться со временем. Т-клетки играют решающую роль адаптивного иммунитета, являясь крайне важным фактором в сдерживании SARS-CoV-2 [46, 151, 178]. Особенно это подчеркивается связью между умеренным и тяжелым течением COVID-19 и выраженной лимфопенией [178].

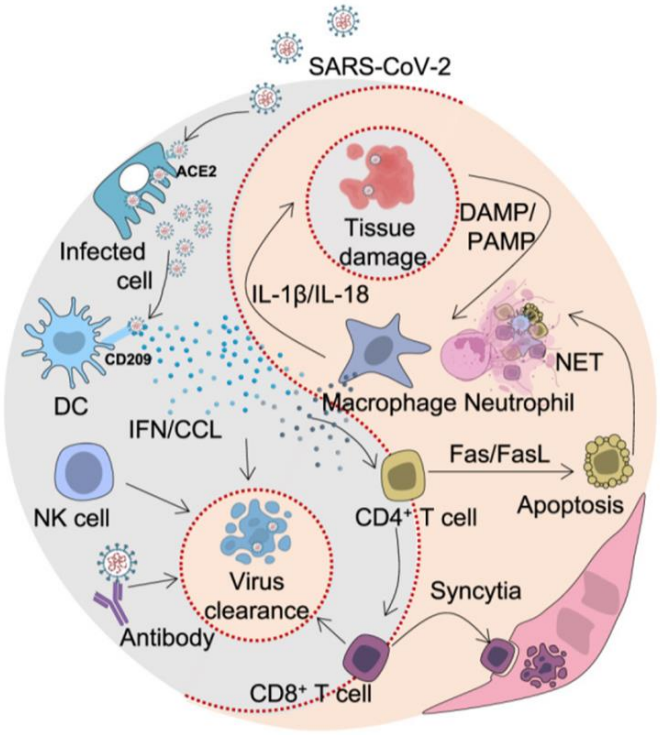



Рисунок 3 - Иммунный ответ на SARS-CoV-2
[приводится по Li Q. et al., 2022 [194]

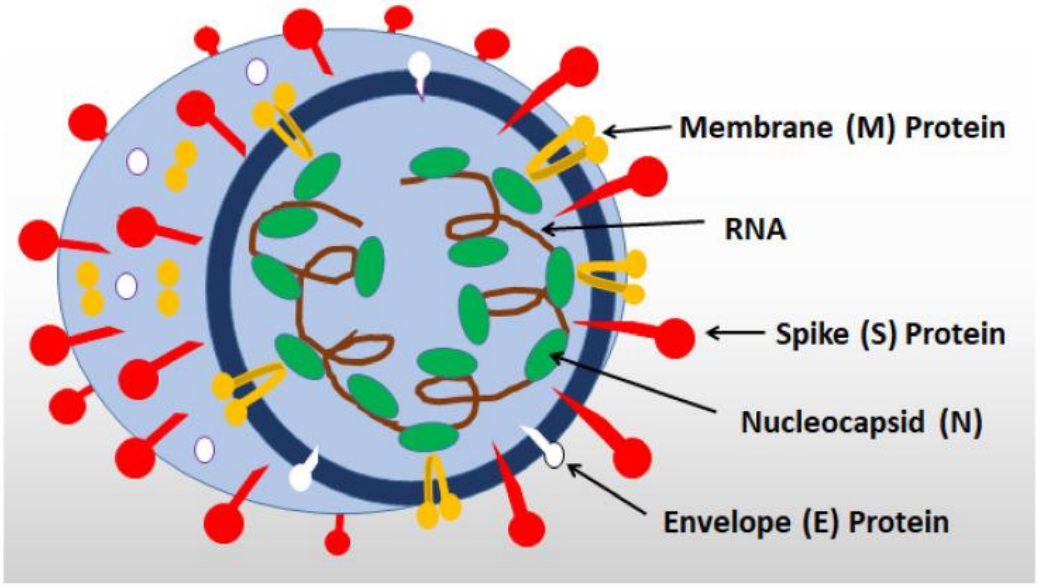
У лиц, которые перенесли COVID-19 в легкой или бессимптомной форме, наблюдается выраженный Т-клеточный иммунный ответ. Показано, что при

развитии НКВИ регистрируется снижение количества лимфоцитов в периферической крови, уровень которого коррелирует с тяжестью инфекции и риском развития осложнений [203].

На современном этапе развития лабораторной диагностики вирусных и некоторых бактериальных инфекций широко используется метод IGRA-ELISPOT для изучения Т-клеточного ИО. Эта технология позволяет визуализировать секрецию ИФН-Ɣ эффекторными клетками в ответ на стимуляцию синтетическими пептидами SARS-CoV-2. Каждая активная клетка образует пятно на дне планшета, и по количеству таких пятен оценивается интенсивность Т-клеточного ответа. Таким образом, количество Т-клеток, специфичных к SARS-CoV-2, позволяет оценить уровень приобретенного иммунитета у выздоравливающих, особенно у тех, кто перенес заболевание в легкой или бессимптомной форме [46].

Лабораторная методика ELISPOT, применяемая для анализа Т-клеточного ИО на вирус SARS-CoV-2, активно изучается в научных исследованиях с использованием таких методов, как проточная цитометрия и оценка клеточной пролиферации [91, 159]. В этой технологии задействованы наиболее иммуногенные белки вируса: шиповидный (S), нуклеокапсидный (N) [193, 272], мембранный (M), а также структурные белки ORF-3a и ORF-7a [93]. Эти белки являются основными мишенями для CD4+ и CD8+ Т-клеток у переболевших COVID-19 [46, 91, 159] (Рисунок 4).

Исследования показывают, что белки ORF7a и ORF3a SARS-CoV-2 могут подавлять экспрессию молекул MHC I класса на инфицированных клетках, что позволяет вирусу избегать уничтожения цитотоксическими Т-клетками через различные механизмы [248]. В технологии IGRA-ELISPOT для SARS-CoV-2 применяются два пула пептидов: пептиды S-белка (ПАГ1) и смешанные пептиды белков N, M, ORF3a и ORF7a (ПАГ2). Это позволяет различать естественный Т-клеточный иммунитет после перенесенной инфекции от иммунитета, полученного в результате вакцинации, основанной на S-белке [91].




,

Рисунок 4 – Морфология вириона SARS-CoV-2 и его структурных белков [приводится по E. Gusev et al., 2022 [262]; И.Д. Решетникова и др., 2023 [54, 81]

После окончания пандемии исследователи сосредоточили внимание на вопросах сохранности и длительности иммунитета после перенесенной инфекции или вакцинации против COVID-19 [198, 211, 237, 271]. Т-клеточный иммунитет играет ключевую роль в противодействии вирусу SARS-CoV-2. Метод IGRA-ELISPOT, наряду с тестами на нейтрализующие антитела, помогает оценивать иммунный ответ и прогнозировать защиту от повторных инфекций или после вакцинации [91].

Важной проблемой остаются длительные нарушения функционального состояния органов и систем, характерные для постковидного синдрома, особенно в медицинских учреждениях. Отсутствие специфической защиты у медицинского персонала создает риски для пациентов, так как персонал может стать источником инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи [63].

С учетом эволюции вируса SARS-CoV-2 и появления субвариантов с мутациями в S-белке, становится важным оценивать долгосрочную устойчивость иммунной защиты у медицинского персонала. Также актуальной задачей является изучение продолжительности и сохранности защитного потенциала вакцинации [46, 151, 178, 196, 197].

Способность Т-клеток распознавать антигены вируса SARS-CoV-2 может быть связана с тем, что у некоторых лиц уже имеются Т-клетки, которые реагируют на этот вирус благодаря перенесённым ранее коронавирусным инфекциям. Это объясняет, почему у многих пациентов с COVID-19 обнаруживаются иммунокомпетентные Т-клетки, способные реагировать на новый вирус.

Исследования показывают, что у инфицированных SARS-CoV-1 специфичные к белкам вируса Т-клетки памяти и CD8+ Т-клетки сохранялись более 6 и даже 11 лет после перенесенной инфекции, что свидетельствует о длительной сохранности Т-клеточного иммунитета [121, 212, 222]. В ходе пандемии COVID-19 было установлено, что иммунологическая память к SARS-CoV-2 сохраняется в течение 6, 9 и более месяцев [55, 56, 57, 58, 151, 230, 242]. Внимание исследователей также сосредоточено на дальнейших исследованиях для уточнения сроков снижения Т-клеточного иммунного ответа, что требует вакцинации и/или ревакцинации.

Исследование, проведенное А.П. Топтыгиной, З.Э. Афридоновой, Р.Ш. Закировым, Е.Л. Семикиной (2023) [96], выявило значительные различия в уровнях клеточного иммунитета к S-пептиду вируса SARS-CoV-2 среди участников: у половины обследованных был высокий уровень клеточного иммунитета, в то время как у другой половины - низкий. Научные данные свидетельствуют о наличии высокого уровня Т-клеток памяти, специфичных к S-белку, особенно при тяжелом течении инфекции, если такие клетки обнаруживались непосредственно после выздоровления [231,235]. Эти клетки сохранялись на протяжении 9 и более месяцев. Также отмечается формирование и поддержание определенного уровня Т-клеточного ответа даже при легких формах COVID-19 [89, 96, 246].

Особое внимание уделяется вопросам формирования и сохранения специфического Т-клеточного иммунного ответа при бессимптомном течении инфекции в анамнезе. Исследование T. Sekine, A.-P. Perez-Potti, O.R. Ballesteros и

др. (2020) [246] продемонстрировало наличие Т-клеточного иммунитета у серонегативных лиц, перенесших COVID-19 бессимптомно. У таких лиц специфические к SARS-CoV-2 CD4+- и CD8+-Т-клетки выявлялись с частотой 41,0% [246].

Также было показано, что вирус SARS-CoV-2 влияет на активацию внутриклеточных врожденных механизмов, связанных с интерферонами 1-го и 3-го типов. Недостаточный ответ врожденного иммунитета ограничивает активацию специфических адаптивных иммунных реакций, что может привести к низкой активности клеточного иммунитета при бессимптомных и легких формах инфекции [91, 196].

## 1.8. Заключение по главе 1

Эпидемический процесс COVID-19 характеризовался волнообразным пандемическим развитием и значительными территориальными различиями, что обусловлено мутациями вируса, появлением новых генетических вариантов SARS-CoV-2 по всему миру, а также масштабной вакцинацией. Эти процессы тесно связаны с особенностями формирования как коллективного, так и индивидуального иммунного ответа.

Однако в парадигме коллективного иммунитета, необходимо отметить, что один из ключевых показателей коллективного иммунитета к SARS-CoV-2 - это уровень серопревалентности к антигенам вируса. Значительный вклад в развитие серопревалентности внесли медицинские работники, которые, находясь в группе высокого риска инфицирования, представляли потенциальную угрозу для пациентов. Формирование серопревалентности происходило на ранних этапах пандемии вследствие перенесенных инфекций, а затем благодаря получению антител после вакцинации и ревакцинации. Характер формирования серопревалентности зависел от специфики вакцин, применяемых в разных

странах. В этот период также возникал гибридный иммунитет. Отличительной чертой пандемии COVID-19 стало значительное количество бессимптомных случаев инфекции.

В настоящее время, с глобальным доминированием варианта Omicron, который способен «прорывать» иммунитет к SARS-CoV-2, требуется исследовать его влияние на тяжесть заболевания, эффективность противоэпидемических мер, иммунный ответ и нейтрализующую активность антител.

Формирование различных дисфункций системного иммунитета является доказанным последствием перенесенной инфекции. Исследования показывают нарушения как врожденных, так и адаптивных иммунных механизмов, а также изменения в местном иммунитете респираторного тракта у выздоровевших от COVID-19.

Вопросы о времени появления различных классов антител хорошо изучены, однако исследования по оценке длительности гуморального и Т-клеточного иммунного ответа охватывают пока ограниченный период, и многие аспекты остаются нерешенными.

Исследования, направленные на длительный мониторинг иммунного ответа на вирус SARS-CoV-2, необходимы для понимания роли иммунной системы в патофизиологии COVID-19, сопоставления постинфекционного иммунитета с вакцинальным статусом, персонализации времени вакцинации и ревакцинации. Также важно оптимизировать лечебно-профилактические мероприятия, направленные на повышение неспецифической резистентности, защиту слизистых барьеров респираторного тракта и выявление генетических предикторов дефектов врожденного и адаптивного иммунного ответа, особенно среди наиболее уязвимых групп высокого риска инфицирования в условиях высокой инфекционной нагрузки, к которым относятся медицинские работники [34]. Эти задачи представляют актуальную научную проблему в области инфекционных заболеваний и иммунологии.

# ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

## 2.1. Структура и характеристика основной группы участников исследования, группы сравнения и контроля

Структура основных групп участников исследования, группы сравнения и контроля, включённые в диссертационное исследование представлены в таблице 2.

Таблица 2 - Структура основных групп участников исследования и групп сравнения и контроля, включённых в диссертационное исследование

| Название группы | Период исследо-вания | Количе-ство человек, (абс.) | Характер исследования |
|---|---|---|---|
| 1 | 2 | 3 | 4 |
| Население Республики Татарстан:<br>из них<br>медицинских работников | Август-декабрь 2020 г. | 41444<br><br><br>15163 | Выборочное, мониторин-говое по протоколам, рекомендованным ВОЗ исследование по изучению коллективного иммунитета к SARS-CoV-2 |
| Вакцинированное население Республики Татарстан:<br>из них<br>медицинских работников | Апрель-октябрь 2022 г. | 9930<br><br><br>1583 | Выборочное, мониторин-говое по протоколам, рекомендованным ВОЗ, исследование по изучению коллективного иммунитета к SARS-CoV-2 у вакцини-рованного населения |
| Группа сравнения | Апрель-октябрь 2022 г. | 897 | Выборочное, мониторин-говое, исследование по изучению коллективного иммунитета к SARS-CoV-2, не вакцинированные |

Продолжение таблицы 2

| 1 | 2 | 3 | 4 |
|---|---|---|---|
| Медицинские работники временного инфекционного госпиталя г. Казани [81] | Июнь 2020 - декабрь 2023 гг. | 105 | Выборочное исследование по изучение формирования иммунного ответа к SARS-CoV-2 |
| Группа сравнения, включала больных с COVID-19 госпитализированных в ВИГ с тяжелым и среднетяжелым течением COVID-19 [34] | | 31 | Выборочное исследование по изучению формирования иммунного ответа к SARS-CoV-2 |
| Контрольная группа состояла из индивидов, которые не перенесли инфекцию COVID-19 и не содержали полиморфных аллелей однонуклеотидных полиморфизмов (SNP) TLR2 (rs5743708) и TLR4 (rs4986790) в генотипе [34] | | 115 | Выборочное исследование по изучению формирования иммунного ответа к SARS-CoV-2 |
| Всего: | | | |

Всего исследование охватило 51374 человек, из них целевая группа МР составила 16851 человек.

**Характеристика основных групп участников исследования, включенных в диссертационное исследование.**

В исследование по изучению коллективного иммунитета к SARS-CoV-2 до начала вакцинации среди населения РТ с августа по декабрь 2020 г. были включены 41444 жителей РТ (Таблица 2), среди которых 15163 МР из 91 МО РТ. Критерии включения в исследование: МР, не переболевшие, переболевшие НКВИ по данным регистра больных, подтвержденные лабораторно U07.1 или по данным компьютерной томографии U07.2 и не имеющие документального подтверждения факта заболевания, в том числе перенесшие ОРВИ в сезон осень - весна 2019-2020 гг. [40].

Мониторинг проводился с учетом протоколов, рекомендованного ВОЗ и использованного в рамках проекта Роспотребнадзора по оценке популяционного иммунитет к вирусу SARS-CoV2 у населения Российской Федерации [103].

Волонтеров отбирали для участия в исследовании методом случайной выборки и включали в исследование после ознакомления с целью, протоколом исследования и подписания информированного согласия, после чего все участники исследования заполняли анкеты (Приложение А).

Критерием исключения была активная инфекция COVID-19 в момент анкетирования [34]. В эпидемиологическое исследование и серологический мониторинг по изучению иммунитета к вирусу SARS-CoV-2 среди вакцинированного населения РТ, который проводился с апреля по октябрь 2022 г., было включено 9930 жителей РТ (Таблица 2), из них 9033 - вакцинированных и обследованных после вакцинации и 897 – участников исследования, не имеющих данных о вакцинации и/или обследованных на антитела до проведения вакцинации (они составили группу сравнения). Волонтеров отбирали методом случайной выборки, после ознакомления с целью и методикой исследования и подписанием информированного согласия, включали в исследование, критерием включения в которое была предшествующая вакцинация и/или ревакцинация против НКВИ. Все участники исследования заполнили анкеты, включающие возрастно-гендерные характеристики, принадлежность к профессиональной категории МР, эпидемиологический анамнез в отношении COVID-19, данные о вакцинации, реакции и осложнения на вакцину против НКВИ, наличие хронической соматической патологии, прием в течение месяца до вакцинации лекарственных препаратов (глюкокортикостероиды, цитостатики, иммуносупрессоры, моноклональные антитела), вопросы в поствакцинальный период (наличие симптомов ОРВИ, контакта с подтвержденным больным COVID-19, перенесенный COVID-19) (Приложение Б) [34]. Было заполнено анкет 10601. Из анализа были исключены: дубликаты (идентичные записи) – 243; анкеты, не содержащие данные о титре антител против COVID-19 – 429.

В группу сравнения включили 897 человек (Таблица 2), в том числе 506 человек, кому исследование на Ат к SARS-CoV-2 было проведено до вакцинации против COVID-19 и 391 человек - у кого отсутствовала информация в анкете о проведенной вакцинации против COVID-19.

В исследование по изучению формирования иммунного ответа к SARS-CoV-2 у МР ВИГ г. Казани с июня 2020 г. по июнь 2023 г. было включено 105 МР и 30 МР амбулаторного звена (Таблица 2), переболевших НКВИ и не имеющие документального подтверждения факта перенесённого заболевания, в том числе ОРВИ в осень–весну 2020 г. [81]. В зависимости от тяжести перенесенной НКВИ МР, включённые в исследование, были рандомизированы на группы: 1-я группа - получившие Ат к SARS-CoV-2 бессимптомно – 34 человека; 2-я группа - перенесшие COVID-19 в лёгкой форме (n-42); 3-я группа - в средне-тяжелой форме (n-29); 4-я группа – была выделена отдельно, как МР включённые в исследование и перенёсшие повторно COVID-19 в течение 7 месяцев от первичного инфицирования – 23 человека [31]. Исследование продолжалось с июня 2020 г. по июнь 2023 г.

В контрольную группу (115 человек) включали лиц, не болевших COVID-19 и с отсутствием полиморфных аллелей SNP TLR-2 (rs5743708) и TLR-4 (rs4986790) в генотипе (Таблица 2).

В группу сравнения включены пациенты, госпитализированные в ВИГ с тяжелым и среднетяжелым течением COVID-19 (Таблица 2), которым проведено комплексное изучение показателей иммунного ответа (сывороточных концентраций sCD40L, ИЛ-1β, ИЛ-10, ИФН-γ, экспрессии TLR-2 на моноцитах периферической крови и детекции SNP TLR-2 и TLR-4 в геномной ДНК) [34].

Изучение мукозального иммунного ответа и состава микробиоты верхних дыхательных путей проводили у 74 МР ВИГ. В группу сравнения включены 33 не МР, серонегативных к SARS-CoV-2, сходных по гендерно-возрастным характеристикам с когортой МР-ранних реконвалесцентов COVID-19.

Изучение специфического Т-клеточного иммунитета проведено у 91 МР ВИГ (у 41 реконвалесцента легких форм, из них 23 получили вакцинацию против НКВИ), 37 МР с среднетяжелыми/тяжелыми формами COVID-19 (из них 22 вакцинированных), 13 человек, получивших Ат бессимптомно были все вакцинированы. Исследование проведено в феврале-июне 2023 г. [46, 124].

## 2.2. Иммунологические методы

### 2.2.1. Определение уровня специфических антител к антигенам SARS-CoV-2

Определение общих Ат (включая IgG, IgA и IgM) к вирусу SARS-CoV-2 для изучения популяционного иммунитета в начальный период пандемии проводилось методом усиленной ИХЛА на анализаторе VITROS 3600 с использованием тест – систем VITROS Anti-SARS-CoV-2 Total Reagent Pack [88]. Исследования проводились согласно инструкции фирмы-производителя с использованием иммунометрической технологии. Результаты теста рассчитывались автоматически с помощью интегрированных систем Vitros-результат=сигнал образца/сигнал Cutoff. Значения Cutoff устанавливались для каждой серии путем выполнения множества тестов, с помощью которых определялся специфический параметр, связывающий величину Cutoff с сигналом калибратора (Значение Cutoff=$a^x$Сигнал калибратора) [40].

Определение специфичных IgG Ат к RBD-домену S-белка SARS-CoV-2 проводили методом ИХЛА с применением тест системы для количественного определения IgG Ат к RBD-домену S-белка коронавируса тяжелого острого респираторного синдрома-2 (Shenzhen Mindray Bio-Medical Electronics Co., Ltd. «Шэньчжэнь Майндрэй Био-Медикал Электроникс Ко., Лтд.», (КНР, Китай) на анализаторе VITROS 3600 [40, 110].

Исследования проводились согласно инструкции фирмы-производителя. Диапазон измерений теста на IgG Ат к RBD-домену S-белка SARS-CoV-2 (ИХЛА) составляет 3,0-1000,0 УЕ/мл (AU/mL). Значениями, превышающими верхний предел диапазона измерений, считаются значения >1000,0 УЕ/мл (AU/mL). Образцы со значением концентрации <10,0 УЕ/мл (AU/mL) считаются отрицательными на наличие антител IgG к RBD-домену S-белка SARS-CoV-2. Образцы со значением концентрации ≥10,0 УЕ/мл (AU/mL) считаются положительными на наличие антител IgG к RBD-домену S-белка SARS-CoV-2,

что свидетельствует о недавнем инфицировании или ранее перенесенном заболевании.

Определение специфических IgG Ат к S-антигену SARS-CoV-2 и специфических IgM Ат к антигенам вируса SARS-CoV-2 определяли методом двухстадийного прямого твердофазного ИФА с применением тест-систем «SARS-CoV-2-IgG количественный-ИФА-БЕСТ» (АО «Вектор-Бест», Россия), «SARSCoV-2-IgG-ИФА-БЕСТ», (АО «Вектор-Бест», Россия), «SARS-CoV-2-IgM-ИФА-БЕСТ», (АО «Вектор-Бест», Россия). Значения оценивали в международных единицах - BAU/мл. Исследования проводились согласно инструкции фирмы-производителя [105, 112, 121].

### 2.2.2. Определение авидности специфических IgG антител к антигенам SARS-CoV-2

Определение IgG Ат к S-антигену SARS-CoV-2 осуществляли методом твердофазного ИФА с использованием тест-систем «SARS-CoV-2-IgG количественный-ИФА-БЕСТ» (АО «Вектор-Бест», Россия); и к N-антигену SARS-CoV-2 «N-CoV-2-IgG PS» (Санкт-Петербургский НИИ Пастера, Россия). Результат выражали в BAU/ml [1, 34, 35, 39,40].

Определение авидности Ат проводили трижды: через 30 дней, 4 месяца и 7 месяцев после сероконверсии. Материалом для исследования служила сыворотка крови. Кровь забирали из локтевой вены утром натощак с соблюдением правил асептики и антисептики. После получения сыворотки ее центрифугировали при 3000 об/мин., разливали на аликвоты по 200 мкл и замораживали при – $70^0$С. В качестве хаотропного агента была выбрана мочевина и установлены следующие условия проведения анализа на авидность Ат: концентрация мочевины 4,0 М и время инкубации 35 минут. Технология определения: каждую исследуемую сыворотку вносили в 4 лунки иммуноферментного планшета (тест-системы

«SARS-CoV-2-IgG количественный-ИФА-БЕСТ» (АО «Вектор-Бест», Россия)) и инкубировали в течение 30 минут при +37,0±2,0$^0$С на встряхивателе в режиме 700 оборотов/мин. Затем после пятикратной промывки 2 лунки исследуемого образца заполняли 4,0 М раствором (200,0 мкл на лунку), а две другие - фосфатно-буферным физиологическим раствором и инкубировали 35 минут. После этого проводили ИФА согласно протоколу исследования [31].

ИА рассчитывали по формуле: ИА = (BAU/ml в лунке с мочевиной / BAU/ml в лунке без мочевины) × 100%. За «высокую» авидность, принято считать ИА более 50,0% [31, 34].

### 2.2.3. Определение сывороточной концентрации sCD40L

Проводили методом ИФА с применением набора реагентов ZyQuikTM sCD40L ELISA Kit (Invitrogen Corporation, США) включающего мышинные моноклональные антитела к sCD40L человека. Коэффициент вариации в контрольных материалах не превышал 5,5% [34].

### 2.2.4. Методы забора материала

Для приготовления мазков отпечатков со слизистой ВДП материал забирали ватным тупфером со стенок носовой полости вращательными движениями без надавливания. Для получения назального секрета использовали ватные тупферы с четко определенным весом (1 мг), смоченные стерильным физиологическим раствором. Тупферы помещали под среднюю носовую раковину каждой половины носа и выдерживали 30 секунд, затем помещали в эппендорферовскую пробирку с физиологическим раствором в объеме 0,75 мл. Центрифугировали

1000 g 10 мин, отбирали надосадочную жидкость, разливали на аликвоты по 0,2 мл, хранили до исследования при Т – $70^0$С не более 1 месяца.

Для оценки фагоцитарной активности клеток назального секрета промывную жидкость, содержащую рекрутируемые клеточные элементы, получали путем промывания через трансназальный катетер стерильным физиологическим раствором объемом 5 мл. Промывную жидкость помещали в пробирку, центрифугировали при 1000 g в течении 10 мин. Надосадочную жидкость удаляли, клеточный осадок ресуспензировали в 1 мл физиологического раствора (pH 7,2-7,4) и доводили до концентрации нейтрофилов в суспензии 2,0х$10^6$/мл. Образцы промывной жидкости разливали на аликвоты по 0,2 мл, хранили до исследования при Т - $70^0$С.

### 2.2.5. Исследование содержания в назальном секрете мембранного маркера апоптоза - sCD95 (sAPO-1/FAS)

Проводили в назальном секрете методом ИФА (ELISA) с использованием коммерческих наборов «Human sAPO-1/FAS ELISA» (Bender MedSystems GmbH, Austria) [72].

### 2.2.6. Исследование содержания цитокинов ФНО-α, ИЛ-10, ИФН-γ в назальном секрете

Проводили в назальном секрете методом ИФА с использованием наборов «Гамма-Интерферон-ИФА-БЕСТ», «Интерлейкин-10-ИФА-БЕСТ», «Фактор некроза опухоли α-ИФА-БЕСТ», «Вектор-Бест» (Новосибирск, Россия) [35, 39, 51, 70, 146].

### 2.2.7. Определение цитокинов ИЛ-1β, ИЛ-10, ИФН-γ, ИЛ-6 в сыворотке крови

Определение цитокинов в сыворотке крови исследуемых групп проводили методом ИФА с помощью набора реагентов: (АО «Вектор-Бест», Россия) дважды через месяц после появления первых симптомов и через 6 месяцев [34].

### 2.2.8. Изучение экспрессии TLR-2 на мононуклеарах периферической крови методом проточной цитофлуориметрии

Подготовка образцов крови, проводили путем инкубации 100,0 мкл цельной крови с 5,0 мкл МАТ в течение 10 минут при $37^0$С, затем вносили лизирующий эритроциты раствор (Erythrocyte-Lysing Reagent), после чего клетки отмывали раствором Хенкса центрифугированием при 1000 об/мин. Экспрессию рецепторов на МПК определяли методом проточной цитофлоуриметрии. В каждом образце анализировали не менее 150000 событий. Для цитофлоуриметрического разделения МПК на Л, МО и НГ, экспрессирующих TLR-2, использовали следующие моноклональные антитела: анти-CD14, меченные APC (e-BioScience), анти-CD 282 (TLR2) меченные Alexa Fluor 488 (e-BioScience).

Определяли процентное содержание МО, экспрессирующих TLR-2, а также СИФ этих рецепторов на моноцитах. Показатель СИФ – пропорционален экспрессии рецепторов на клеточной мембране [34].

### 2.2.9. Исследования по технологии IGRA-ELISPOT для оценки Т-клеточного иммунитета к пептидным антигенам SARS-CoV-2

Исследование было выполнено с помощью разработанного АО «ГЕНЕРИУМ», Россия «ТиграТест® SARS-CoV-2». Анализ IGRA-ELISPOT выполняли в соответствии с инструкцией производителя. Проведение «ТиграТест® SARS-CoV-2» состояло из нескольких этапов: 1-й - получение суспензии МКПК на градиенте плотности (1,077) и доведение клеточной суспензии до оптимальной концентрации (3,5 х 105 на 100 мкл); 2-й - инкубация МКПК с 4 составляющими: ПАГ 1 - пептиды S-белка (spike); ПАГ 2 - пептиды белков N, M, ORF3a и ORF7a, положительный контроль (К+)-МКАТ ОКТ-3, негативный контроль (К-) для выявление неспецифической активации клеток; 3-й - инкубация 16-20 часов (37,0±1,0$^0$C; 5,0±0,5% $CO_2$; влажность 95%), при этом ИФН-γ связывается и удерживается рядом с секретирующей его Т-клеткой специфическими анти-ИФН-γ Ат, находящимися на поверхности мембраны, выстилающей лунку, 4-й - детекция цитокина с использованием анти-ИФН-γ Ат, конъюгированных с щелочной фосфатазой и узнающие другой эпитоп молекулы ИФН-γ, 5-й - инкубация с хромогенным субстратом и образование пятна (спота), который является отпечатком одной Т-клетки, секретирующей ИФН-γ. Количество полученных спотов характеризует содержание специфичных для антигенов патогена CD4+ и CD8+ Т-клеток в периферической крови. Положительный результат (> 12 спотов) потенциально свидетельствовал о сформировавшемся Т-клеточном иммунитете к вирусу SARS-CoV-2 в результате перенесённого заболевания (в том числе в бессимптомной форме) и/или вакцинации [46].

Для оценки индивидуального Т-клеточного иммунитета к пептидам SARS-CoV-2 использовано ранжирование количества спотов на 5 классов: 0 класс - отрицательный результат; I (положительный низкий уровень) - 12-20 спотов; II (положительный средний уровень) - 21-40 спотов; III (положительный высокий

уровень) - 41-100 спотов; IV (положительный очень высокий уровень) - более 100 спотов в лунке [46, 109, 110, 124].

## 2.3. Молекулярно-генетические методы

### 2.3.1. Изучение полиморфизмов генов TLR-2 и TLR-4

Проводили методом аллель-специфической полимеразной цепной реакции (АС-ПЦР) с использованием реагентов «SNP-экспресс» производства НПФ «Литех» (Москва, Россия). Извлечение геномной ДНК проводилось из образцов буккального эпителия с применением набора реагентов для экспресс-выделения ДНК из буккального соскоба, предоставленного НПФ «Литех» (Россия) [34, 126].

### 2.3.2. NGS секвенирование генома штаммов S. aureus

Выполнено NGS секвенирование генома штаммов S. aureus, выделенных со СОВДП у МР-реконвалесцентов НКВИ (whole-genome shotgun sequencing) на платформе Oxford Nanopore MinIon с предварительной подготовкой библиотек согласно протоколу Rapid Barcoding Kit 24 V14.

## 2.4. Цитологические методы

Проводили комплексное исследование мукозального иммунитета в собственной модификации в двух направлениях: первое – оценка клеточной

составляющей с использованием мазков-отпечатков со слизистой оболочки полости носа, второе - исследование функционально-метаболической активности НГ, эвакуируемых в полость носа и секреторного компонента МИ [70].

В мазках-отпечатках определяли процентное соотношение клеточных элементов – НГ, Э, Л и ЭК. В популяции НГ выделяли клетки с различными классами деструкции по методу Л.А. Матвеевой (n 0, n 1, n 2, n 3, n 4), при этом клетки без признаков деструкции оценивали, как n 0; n 1, n 2 – клетки с минимальными и выраженными признаками деструкции цитоплазмы; n 3, n 4 - с выраженными признаками деструкции, минимальными и выраженными признаками деструкции ядра [71]. Рассчитывали ИДК = n 1+n 2+n 3+n 4/100, СПД= n 1x1+n 2x2+n 3x 3+n 4x4 и ИЦК = 4/n 1 +n 2+n 3+n 4, где n 0, n 1, n 2, n 3, n 4 – номера классов деструкции [9, 61, 62, 70].

Фагоцитарную активность резидентных НГ клеточной стенки в отношении аутофлоры оценивали с помощью показателей - ФАН 1 - процент фагоцитирующих НГ и ФАН 2 – процент деструктурированных НГ, в цитоплазме которых сохранялись целые микроорганизмы, являющиеся показателем незавершенности фагоцитоза [9,95].

Для определения аНГ нами применялось исследование методом световой микроскопии мазков-отпечаткочениев, окрашенных по Романовскому-Гимзе. Данный метод преимущественно позволяет выявлять реализацию апоптоза по уменьшению размеров, конденсированной цитоплазме, уплотненному бесструктурному хроматину, часто разделенному на несколько округлых телец [72, 227].

Показатели, характеризующие фагоцитарную активность эвакуированных в назальный секрет НГ, изучали на классической модели с использованием микробной взвеси S. aureus (лабораторный штамм в изотоническом растворе с концентрацией $2x10^6$/мл). Рассчитывали % «активных» лейкоцитов, захвативших микробы (ФИ), среднее количество микробов, поглощённых одним НГ (ФЧ). Способность к киллингу патогенов определяли по отношению убитых бактерий к общему числу фагоцитированных бактерий (ПП) и среднему числу убитых

бактерий на 1 посчитанный НГ (ИП). Исследование внутриклеточного кислородзависимого метаболизма, эвакуируемых в назальный секрет НГ проводили с использованием НСТ-теста. В исследовании определяли способность НГ отвечать повышением метаболической активности на стимуляцию зимозаном (Sigma, США опухоли α-ИФА-БЕСТ», «Вектор-Бест», Новосибирск, Россия) [23, 72, 128]. Для определения концентрации ФНО-α, ИЛ-10, ИФН-γ использовали наборы «Гамма-Интерферон-ИФА-БЕСТ», «Интерлейкин-10-ИФА-БЕСТ», «Фактор некроза» [35, 39, 70]. Исследование содержания в назальном секрете мембранного маркера апоптоза - sCD95 (sAPO-1/FAS) осуществляли методом ИФА (ELISA) с использованием коммерческих наборов «Human sAPO-1/FAS ELISA» (Bender MedSystems GmbH, Austria) [50, 71].

## 2.5. Микробиологические методы исследования слизистых оболочек верхних дыхательных путей

Извлечение биологического материала из верхних дыхательных путей для выделения и идентификации условно-патогенных бактерий осуществлялось посредством метода смывов.

Для выделения и идентификации бактерий родов *Staphylococcus spp., Pseudomonas spp., Moraxella sp., Haemophilus spp*. полученные смывы засевали на комплекс плотных элективных сред. Процесс идентификации включал анализ морфологических признаков (окраска по Граму и микроскопия), а также культуральных и биохимических характеристик, таких как способность к расщеплению глюкозы, лактозы, мальтозы, сахарозы, и активности каталазы и цистиназы. Дополнительно применялся метод MALDI-TOF MS в качестве скринингового метода для родовой и видовой идентификации [126].

Для выделения и идентификации дрожжеподобных грибов родов Candida spp., биологический материал собирался методом смыва с использованием тампонов из верхних дыхательных путей и носоглотки. Выделение нелипофильных и липофильных дрожжеподобных грибов, осуществлялось на селективных средах Сабуро, содержащих хлорамфеникол и декстрозу, а также на модифицированной среде Диксона [126].

## 2.6. Биоинформатический анализ

Поиск генов вирулентности S. aureus проведен с помощью биоинформационного ресурса VirulenceFinder 2.0, Центра геномной эпидемиологии (CGE) (https://www.genomicepidemiology.org/).

Поиск генов резистентности к АМП S. aureus проведен с помощью биоинформационного ресурса ResFinder 4.6.0, Центра геномной эпидемиологии (CGE) (https://www.genomicepidemiology.org/).

## 2.7. Статистические методы анализа

Статистическую обработку проводили методами вариационной статистики, используя статистический пакет Excel и программный продукт «WinPepi» (версия 11.65) [40, 98, 109, 110]. Рассчитывали относительную частоту признака (P), ошибку относительной величины частоты (m). Сравнение результатов исследования проводили с использованием $\chi 2$-критерия при количестве наблюдений более 5 и точного метода Фишера при числе наблюдений 5 и менее. Различия считались значимыми при $P<0,05$. Использовали методы описательной и сравнительной статистики, описание признаков, имеющих небольшую

выборку, представляли в виде Me [Q1; Q3], где Me – медиана, Q1 и Q3 – соответственно первый и третий квартили. Проводили многофакторный анализ с применением пакета статистических программ ANOVA TIBCO Statistica, версия 13.5.0.17 и программы визуализации данных Prism v.8.3.0. [31]. При сравнении подгрупп использовали тест Уилкоксона для сопряжённых данных, различия считались значимыми при $P<0,05$. Размер выборки предварительно не рассчитывали. Тестирование закона распределения полученных показателей проводили при помощи критерия Колмогорова-Смирнова. Рассчитывали среднее арифметическое (M) и среднюю ошибку средней арифметической (m). Сравнение двух независимых выборок осуществляли с помощью t-критерия Стьюдента, статистически значимыми считали значения, соответствующие $p<0,05$. При проведении корреляционного анализа рассчитывали коэффициент корреляции Пирсона при $p<0,05$ [72]. Достоверность различий сравниваемых показателей оценивали по уровню вероятности $p\leq0,05$ [98, 109, 110]. Применяли также методы параметрической и непараметрической статистики. Рассчитывали относительную частоту признака (частость), ошибку относительной величины частоты (mp), медиану (Me), 25- и 75- перцентили (Q1;Q3) признака, среднюю арифметическую (M), стандартное отклонение (SD), а также использовали статистические методы сравнения, такие как U-критерий Манна-Уитни, критерий Колмогорова-Смирнова, t-критерий Стьюдента и вспомогательный критерий Фишера [133]. Выполняли распределение генотипов по $\chi2$-критерию на соответствие закону Харди - Вайнберга - Кастла, статистическую значимость различий по частоте аллелей и генотипов между группами проводили по критерию Пирсона, для выявления ассоциации генотипов и аллелей с факторами рассчитывали отношения шансов (ОШ) с 95% ДИ [126].

## 2.8. Этическая экспертиза

Исследование было одобрено Локальным этическим комитетом ФБУН КНИИЭМ Роспотребнадзора (заключение ЛЭК ФБУН КНИИЭМ Роспотребнадзора от 28.04.2022) все МР, включённые в данное исследование, подписывали информированное добровольное согласие [31] (Приложение В).

# ГЛАВА 3. ПОПУЛЯЦИОННЫЙ ИММУНИТЕТ К ВИРУСУ SARS-COV-2 У ЖИТЕЛЕЙ И МЕДИЦИНСКИХ РАБОТНИКОВ РЕСПУБЛИКИ ТАТАРСТАН В ПЕРИОД РАСПРОСТРАНЕНИЯ COVID-19

В данной главе представлены результаты масштабного сероэпидемиологического исследования по изучению популяционного иммунитета среди населения и МР РТ на сроках от 5 до 9 месяцев после регистрации первого случая заболевания в регионе в период роста заболеваемости до начала проведения массовой вакцинации против COVID-19. В этот период в РТ наиболее низкая заболеваемость наблюдалась в августе (899 случаев, или 23,1 на 100000 населения) и сентябре (721 случай, или 18,5 на 100000 населения), самая высокая заболеваемость по итогам 2020 г. зарегистрирована в декабре – 2945 заболевших, 75,6 на 100000 населения. Наиболее высокий уровень заболеваемости наблюдался с 48-й по 52-ю неделю, с 23 ноября по 31 декабря, переболело 3659 человек, 94,27 на 100000, 27,5% от всех случаев. Темп прироста составил 0,7%, при этом наибольший темп прироста наблюдался 25 ноября (9,2%), убыли – 28 декабря (-6%) [123].

## 3.1. Изучение серопревалентности к вирусу SARS-CoV-2 у жителей Республики Татарстан до начала вакцинации против COVID-19

Совместно с Министерством здравоохранения РТ был проведен мониторинг в отношении определения уровня и структуры популяционного иммунитета к SARS-CoV-2 у населения РТ в период распространения COVID-19 с августа по декабрь 2020г. спустя 5 месяцев после начала циркуляции вируса SARS-CoV-2 на территории РТ [40, 44, 85, 98, 110, 114].

Забор образцов крови проводили с 24 августа по 25 декабря 2020 г., тестировали на наличие общих Ат (IgG, IgA и IgM) к коронавирусу SARS-CoV-2 методом ИХЛА [85].

В исследовании приняли участие 41444 волонтера из 45 муниципальных районов РТ, в том числе 15163 МР из 91 МО РТ [85]. Наиболее активное участие в исследованиях приняли женщины, доля женского населения составила - 78,37±0,228% (32481 женщин), мужского – 21,63±0,435% (8963 мужчин), соотношение мужчин и женщин составило один к четырем, средний возраст участников исследования составил - 43,65 лет, на возраст 30-59 лет приходилось 61,4% обследованных (Таблица 3).

Таблица 3 - Распределение жителей Республики Татарстан в зависимости от принадлежности к возрастной группе [40, 98, 110]

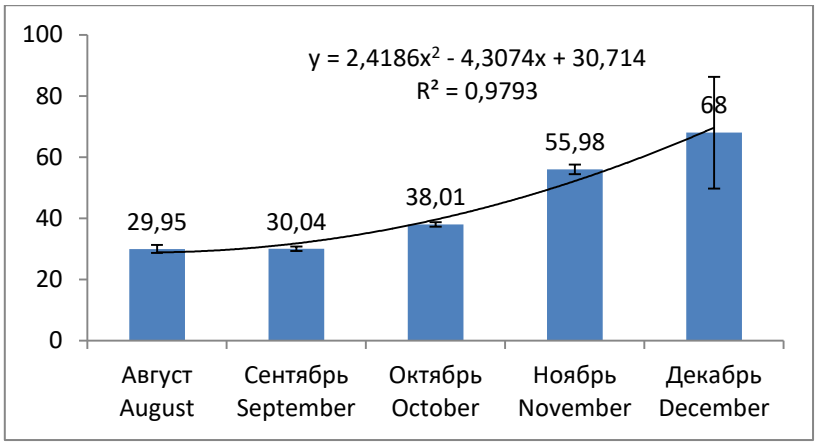
| Возрастная группа (лет) | Количество (абс.) | P±m, в % |
|---|---|---|
| 0-17 | 3256 | 7,86±0,472 |
| 18-29 | 5347 | 12,9±0,458 |
| 30-39 | 7256 | 17,51±0,446 |
| 40-49 | 8851 | 21,36±0,436 |
| 50-59 | 9357 | 22,58±0,432 |
| 60-69 | 5053 | 12,19±0,46 |
| 70+ | 2324 | 5,61±0,477 |
| Общий итог | 41444 | 100,0±0,0 |

Возрастной состав и гендерные характеристики имели одинаковую структуру по районам РТ (Приложение Г).

Серопревалентными к вирусу SARS-CoV-2 оказались 35,8±0,235% сывороток. При изучении динамики серопревалентности отмечено нарастание уровня серопозитивных лиц от 29,95±0,674% в августе до 30,04±0,363% в сентябре; 38,01±0,374% – октябре; 55,98±0,785% – ноябре и 68±9,33% – декабре 2020 г. (Рисунок 5). Уровень серопревалентности за декабрь 2020 г. имел значительную статистическую погрешность в связи с небольшой выборкой обследованных лиц (n=25). Увеличение доли серопозитивных лиц и среднегеометрического титра Ат происходило на фоне увеличения

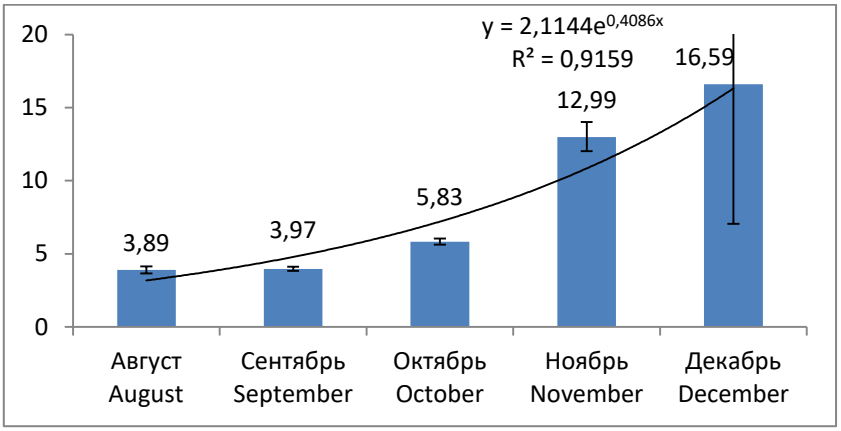
заболеваемости COVID-19 в РТ (899 случаев – в августе, 721 - сентябре, 1222 - октябре, 2008 - ноябрь, 2945 - декабрь) [40, 85, 123].

С августа по декабрь 2020 года среди жителей РТ наблюдался рост титров общих Ат к SARS-CoV-2, который в августе составил 3,89 (3,66-4,14), сентябре - 3,97 (3,84-4,11), октябре - 5,83 (5,62-6,04), ноябре - 12,99 (12,03-14,01), декабре – 16,59 (7,05-39,04) (Рисунок 6) [41].




Примечание: По оси ординат: серопозитивность, в %; по оси абсцисс: месяцы 2020 г.

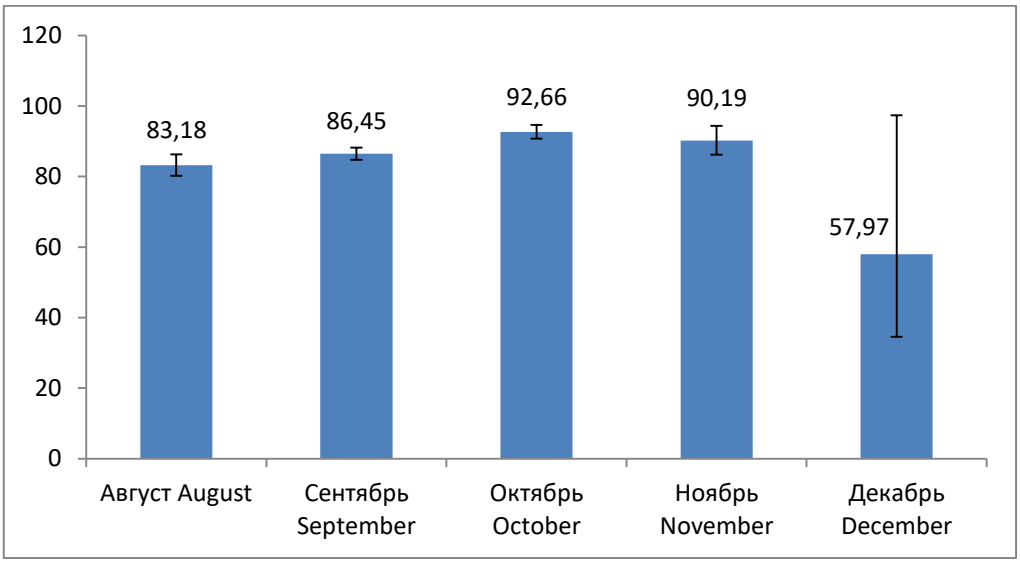
Рисунок 5 - Динамика серопозитивности к вирусу SARS-CoV-2 у жителей Республики Татарстан с 08.2020 г. по 12.2020 г. [40]




Примечание: По оси ординат: среднегеометрическое титра Ат к SARS-CoV-2; по оси абсцисс: месяцы 2020

Рисунок 6 - Динамика титра общих антител к вирусу SARS-CoV-2 среди жителей Республики Татарстан с 08.2020 по 12.2020 г.

Среди серопозитивных лиц так же отмечено нарастание коэффициента позитивности (КП) с 83,18 в августе до 92,66 (P<0,05) в октябре с последующим незначительным снижением в ноябре до 90,19 (P>0,05) и более выраженным – в декабре до 57,97 (P>0,05) (объясняется статистической погрешностью в связи с небольшой выборкой) (Рисунок 7) [40, 85].



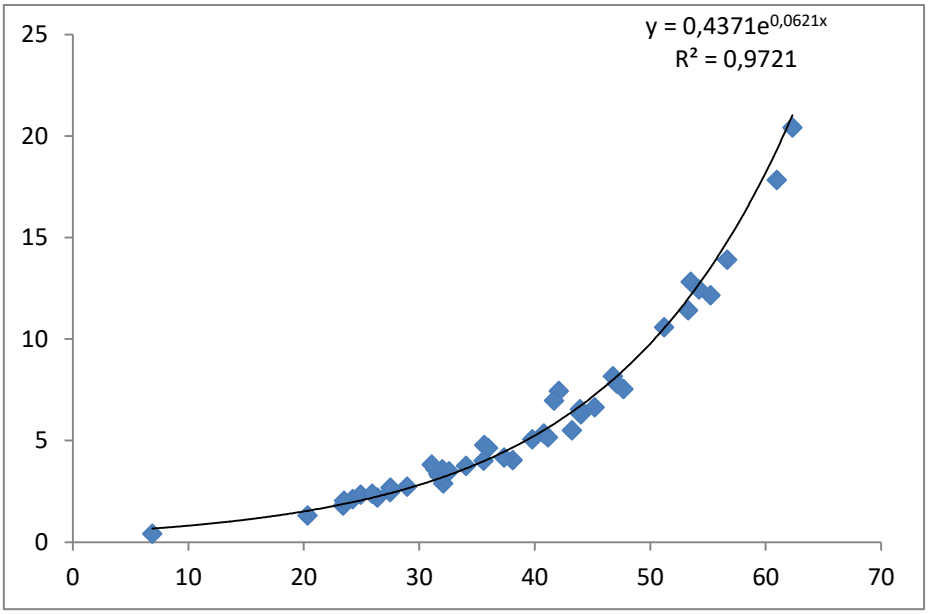

Примечание: По оси ординат: среднегеометрическое титра Ат к SARS-CoV-2;
по оси абсцисс: месяцы 2020 г.

Рисунок 7 - Динамика титра антител к вирусу SARS-CoV-2 среди серопозитивных жителей Республики Татарстан

Взаимовлияние серопревалентности и напряженности иммунитета к вирусу SARS-CoV-2 (корреляционный анализ по методу Пирсона) показало наличие сильной корреляционной связи между серопревалентностью (в %) и напряженностью популяционного иммунитета, коэффициент корреляции 0,9721, p<0,001 (Рисунок 8) [85].

Взаимовлияние серопревалентности и заболеваемости также выявило сильную корреляционную связь, коэффициент корреляции 0,991 (0,959-0,998), P<0,05, сходный результат получен между уровнями общих Ат и заболеваемостью по РТ, коэффициент корреляции составил 0,984 (0,934-0,996), P<0,05 (Рисунок 8).

Увеличение титров общих Ат и доли серопозитивных лиц свидетельствует о формировании индивидуального и популяционного иммунитета к вирусу SARS-CoV-2.



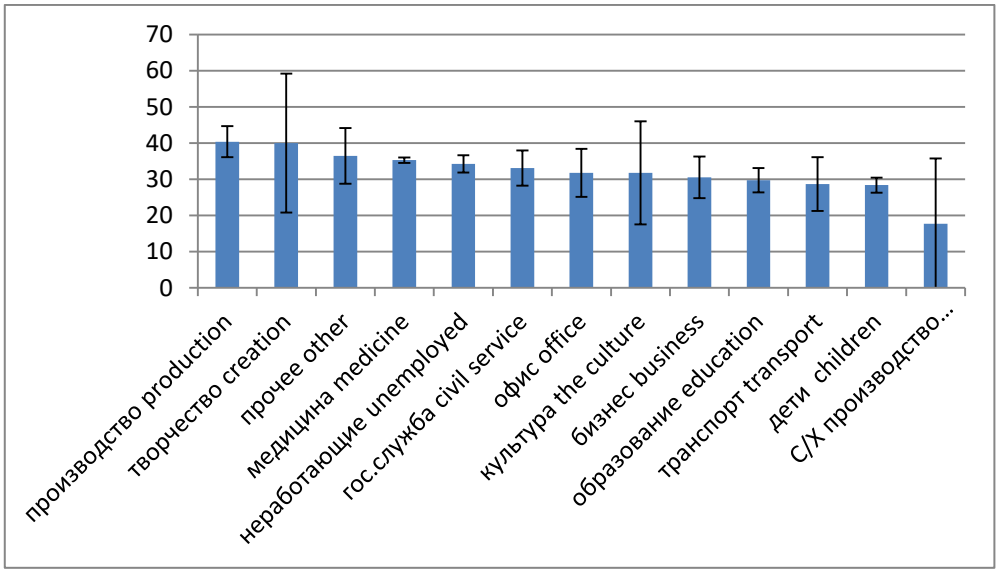

Примечание: По оси ординат - среднегеометрическое титра общих Ат к SARS-CoV-2; по оси абсцисс - серопревалентность, % [85]; Коэффициент корреляции (rc) = 0,9721; P<0,05

Рисунок 8 - Взаимовлияние серопревалентности и напряженности иммунитета к вирусу SARS-CoV-2 (корреляционный анализ по методу Пирсона)

Более высокий уровень серопревалентности установлен у лиц, работающих на производстве, творческих профессий, в медицине, государственной службе, среди не работающих граждан. Наиболее высокая серопревалентность выявлена среди работников производства была (P<0,05), наиболее низкие уровни серопревалентности отмечены среди работников транспорта, сельского хозяйства, детского контингента и работников образования (Рисунок 9) (P<0,05) [85].

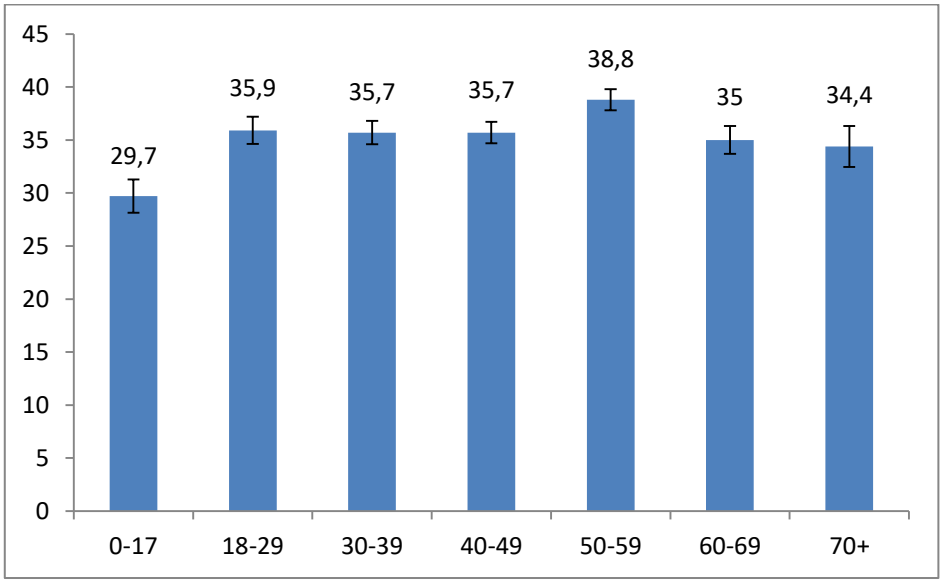
Наименьший показатель серопозитивности (29,7±0,801, p<0,05) был зафиксирован в группе детей до 17 лет (Рисунок 10). Наиболее высокие показатели серопозитивности наблюдались в возрастной группе 50-59 лет (38,77±0,504, p<0,05), значительно превышающие показатели других групп.

Серопревалентность в возрастных группах 18-29, 30-39, 40-49, 60-69 и 70 лет и старше оказалась статистически однородной, не выявляя существенных различий между собой [40, 85].




Примечание: По оси ординат: серопревалентность, в %; по оси абсцисс: профессиональные и социальные группы населения

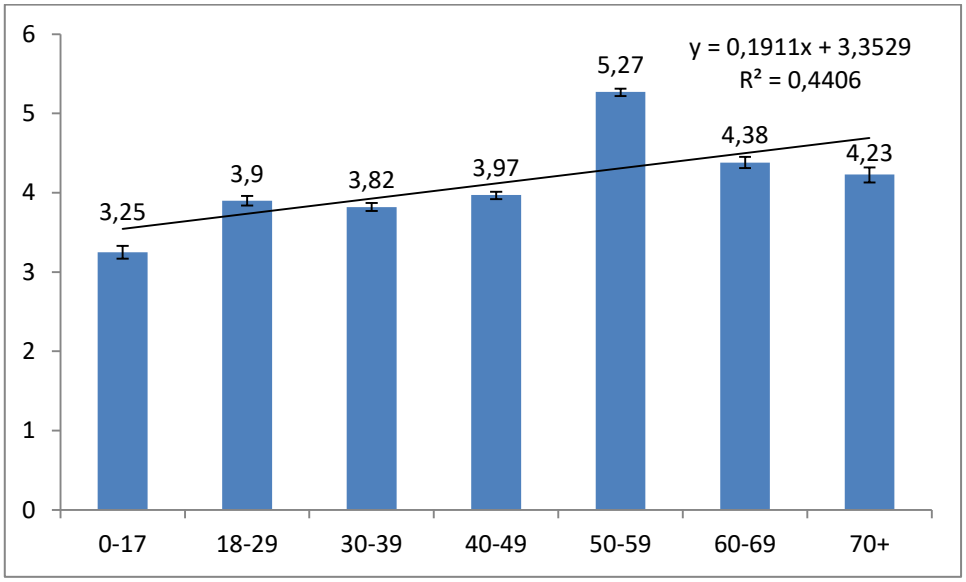
Рисунок 9 - Серопревалентность среди населения в разрезе профессиональной и социальной принадлежности [40]




Примечание: По оси ординат: серопозитиность, в %; по оси абсцисс: возрастные группы

Рисунок 10 - Серопревалентность к вирусу SARS-CoV-2 населения Республики Татарстан по возрастным группам

Значение среднегеометрического титра Ат к SARS-CoV-2 составило - 4,2 (4,18-4,22), с увеличением возраста наблюдалась тенденция роста показателя (Рисунок 11). Наименьшие титры отмечены в возрастной группе 0-17 лет - 3,25 (3,17-3,33), P<0, 05, наибольшие - в группе 50-59 лет - 5,27 (5,22-5,31), P<0,001. В возрастных группах 18-29, 30-39, 40-49 лет значения среднегеометрического титра антител были на одном уровне, в возрастных группах 60-69 и 70 лет и старше показатели также не различались между собой [40].




Примечание: По оси ординат: среднегеометрическое значение титра общих антител; по оси абсцисс: возрастные группы

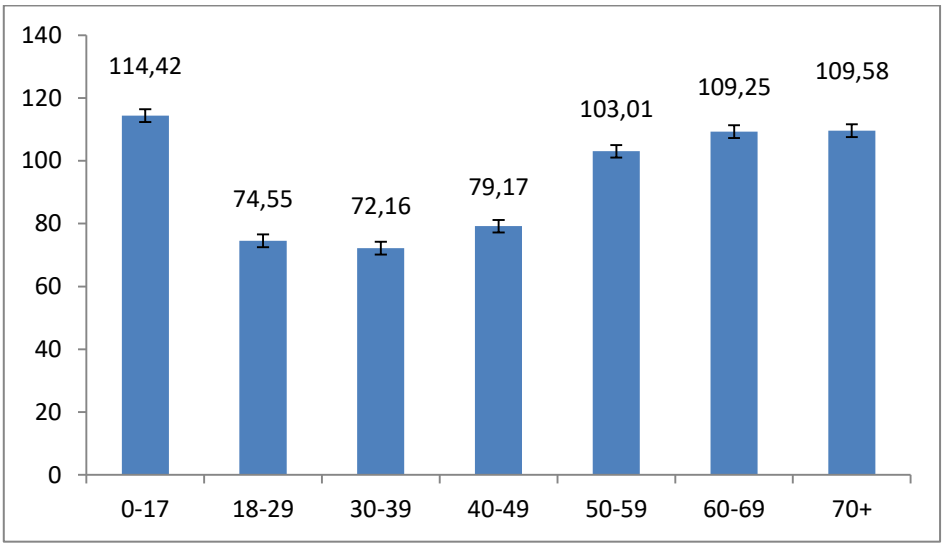
Рисунок 11 – Титры антител к SARS-CoV-2 у населения Республики Татарстан в зависимости от возраста

Среднегеометрическое значение титров общих антител (IgA, IgM, IgG) к вирусу SARS-CoV-2 среди серопозитивных составило 89,29 (87,36-91,26) (Рисунок 12). Наиболее высокие значения показателей наблюдались в возрастных группах 0-17 лет (114,42 (112,38-116,46)), 60-69 лет (109,25 (107,23-111,27) и 70 лет и старше (109,58 (107,53-111,64)). Более низкие титры антител отмечены в возрастной группе 18-49 лет (p<0,05) [40].

Среди серопревалентных лиц установлены незначительные гендерные различия: доля серопозитивных женщин была больше, чем мужчин (P<0,05)

(Таблица 4), что можно связать с преобладанием женщин среди участников исследования.

Все районы РТ были распределены по четырем квартилям уровней серопревалентности в соответствии с достоверностью различий (Рисунок 13). Одиннадцать районов республики демонстрировали низкий уровень серопревалентности (6,8-28,9%), четырнадцать районов - умеренный уровень серопревалентности (31,0-38,0%), двенадцать районов – средний уровень серопревалентности (39,8-47,6%) и восемь районов – высокий уровень серопревалентности (51,2-62,3%) (Приложение Д).




Примечание: По оси ординат: среднегеометрическое значение титра общих Ат;
по оси абсцисс: возрастные группы [31]

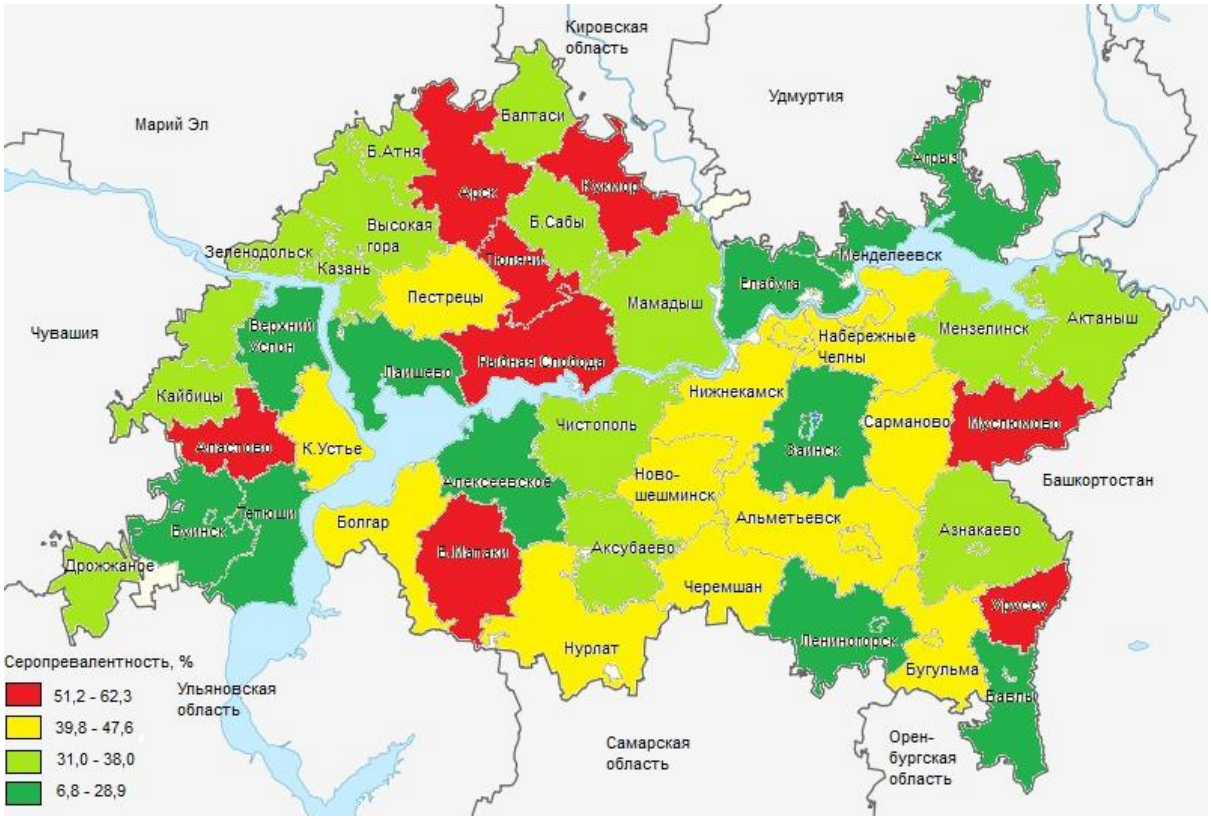
Рисунок 12 - Титры антител к SARS-CoV-2 среди серопозитивных лиц в зависимости от возраста [40]

Таблица 4 - Серопревалентность в зависимости от гендерной принадлежности [41]

| Пол | Количество | | Всего | Доля серопозитивных, P±m, в % |
|---|---|---|---|---|
| | серопозитивных на IgA, M, G к SARS-CoV-2 | серонегативных на IgA, M, G к SARS-CoV-2 | | |
| Мужской | 2927 | 6036 | 8963 | 32,66±0,495 |
| Женский | 11909 | 20572 | 32481 | 36,66±0,267 |
| Всего | 14836 | 26608 | 41444 | 35,8±0,235 |

Различия между уровнем серопревалентности в различных муниципальных образованиях РТ могли быть обусловлены разной интенсивностью протекания эпидемиологического процесса, различной репрезентативностью выборки и контингента участников исследования [40].

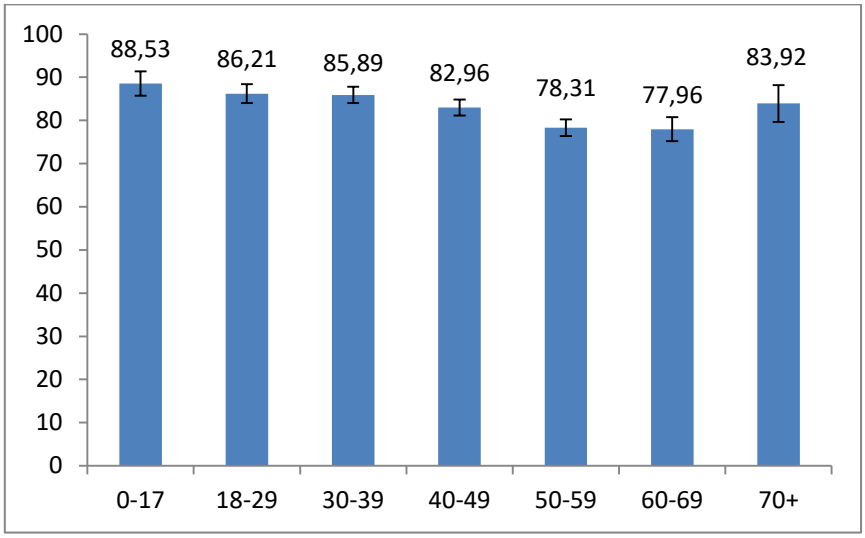
Бессимптомные формы среди серопозитивных к SARS-CoV-2 определяли с использованием методики, которая применялась в проекте Роспотребнадзора по изучению особенностей формирования серопревалентности к нуклеокапсиду SARS-CoV-2 у населения Российской Федерации [19, 29, 145, 188, 190]. Среди участников исследования устанавливали лиц с отсутствием хотя бы одного признака: диагноз COVID-19, либо положительный результат ПЦР, либо симптомы ОРВИ [85].




Примечания: Градация серопревалентности показана цветом: красным цветом отмечен уровень серопревалентности 51,2-62,3%, желтым - уровень серопревалентности 39,8-47,6; светло- зеленым – уровень серопревалентности 31,0-38,0%, темно-зеленым - уровень серопревалентности 6,8-28,9%

Рисунок 13 - Карта Республики Татарстан с градацией серопревалентности к SARS-CoV-2 среди жителей разных муниципальных районов

Доля бессимптомных форм среди серопозитивных к вирусу SARS-CoV-2 составила 82,6±0,446%. [40, 85] (Рисунок 14) Достоверно чаще НКВИ протекала в бессимптомной форме у лиц моложе 40 лет, по сравнению с пациентами старших возрастных групп (P<0,05).




Примечание: По оси ординат: серопревалентность, в %; по оси абсцисс: возрастные группы

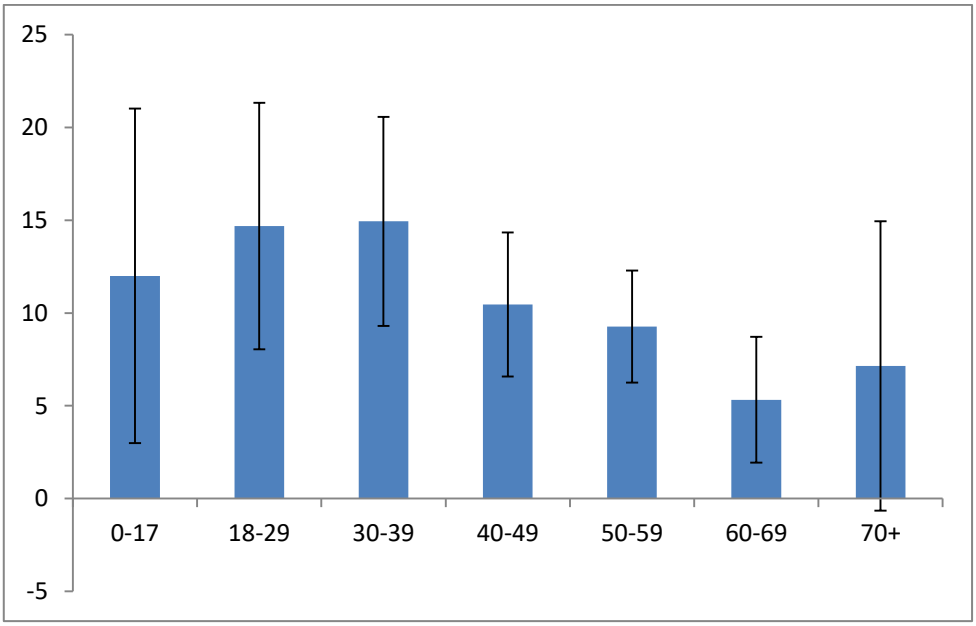
Рисунок 14 - Доля серопревалентных лиц с бессимптомными формами COVID-19 среди разных возрастных групп

Каждый десятый среди участников исследования оказался серонегативным к вирусу SARS-CoV-2 - 10,28±0,908% (115 человек из 1119). Наиболее часто серонегативные лица были установлены в возрастных категориях 18-29 лет (14,68±3,39%) и 30-39 лет (14,94±2,872%), и достоверно реже - в группе 60-69 лет (5,33±1,727) (p<0,05) (Рисунок 15) [40].

В результате мониторинга выявлена позитивная динамика серопревалентности среди жителей РТ от 29,95±0,674% в августе до 68±9,33% – в декабре 2020 г. В среднем серопревалентность за изучаемый отрезок времени составила 35,8±0,235%. Наибольший уровень серопозитивных лиц установлен среди трудоспособного населения в возрасте от 18-59 лет.

Среднегеометрическое титра общих Ат в целом в изучаемой популяции составило 4,2 (4,09-4,31), а среди серопозитивных – 89,29 (88,13-90,46) с наибольшими значениями в возрастных группах от 50-59 лет – 5,27 (5,22-5,31) и

60-69 лет – 4,38 (4,31-4,45). В социальной и профессиональной структуре населения наибольший уровень серопревалентности выявлен среди лиц, занятых на производстве 40,35±2,177, творческих работников – 40,0±9,798; сотрудников здравоохранения 35,24±0,389; неработающих граждан 34,26±1,218 и государственных служащих 33,06±2,479 [41]. Среди лиц, перенесших COVID-19, Ат в плазме крови обнаруживались в 89,72±0,908% случаев. У лиц с позитивными результатами ПЦР-анализа Ат выявляются в 91,12±0,422% случаев. Среди серопревалентных к вирусу SARS-CoV-2 жителей РТ доля бессимптомных форм НКВИ составила 82,59±0,446%, причем достоверно и наиболее часто бессимптомная форма COVID-19 регистрировалась у лиц моложе 40 лет (P<0,05).




Примечание: По оси ординат: доля серонегативных лиц, в %;
по оси абсцисс: возрастные группы

Рисунок 15 - Количество серонегативных лиц от общего числа участников исследования, перенесших COVID-19 в зависимости от возраста

***

Поскольку уровень серопревалентности среди МР был одним из самых высоких среди прочих социальных групп важной задачей исследований было проведение анализа уровня и структуры популяционного иммунитета в этой группе высокого риска инфицирования.

## 3.2. Изучение коллективного иммунитета к вирусу SARS-CoV-2 среди медицинских работников Республики Татарстан в период распространения новой коронавирусной инфекции до начала вакцинации против COVID-19

Популяционное исследование проведено на выборке из 15163 медицинских работников из 91 муниципальной медицинской организации РТ. Исследование включало анкетирование участников с целью сбора клинических, анамнестических и эпидемиологических данных, а также лабораторное исследование крови на наличие общих Ат к вирусу SARS-CoV-2 методом ИФА [34, 45, 80, 85, 106, 118, 114].

Средний возраст МР составил 45,0±0,1 лет и варьировал от 17 до 74 лет, с преобладанием возрастных категорий 30-59 лет (73,2±0,4%) (Таблица 5).

Таблица 5 - Серопревалентность к вирусу SARS-CoV-2 среди медицинских работников Республики Татарстан с 08.2020 по 12.2020 г. в зависимости от возраста [85]

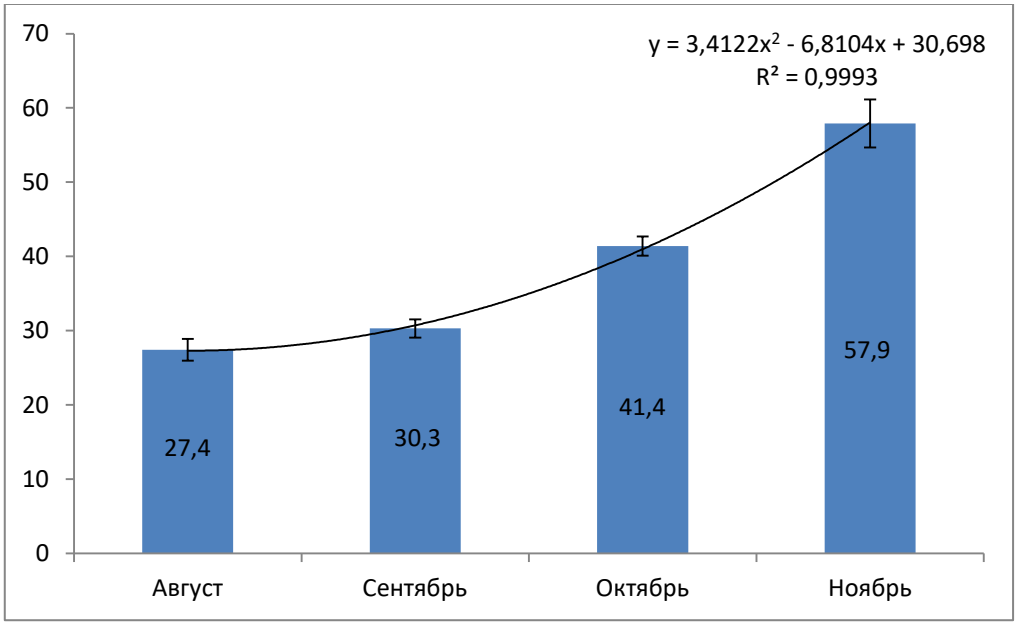
| Возрастная группа | Количество | Доля, в % | Количество | | Серопревалентность, % (P±m) |
|---|---|---|---|---|---|
| | | | серопозитивных на IgA, M, G к SARS-CoV-2 | серонегативных на IgA, M, G к SARS-CoV-2 | |
| 14-17 | 5 | 0,03±0,812 | 2 | 3 | 25,0±21,651 |
| 18-19 | 29 | 0,19±0,811 | 10 | 19 | 34,48±8,826 |
| 20-29 | 1928 | 12,72±0,759 | 670 | 1258 | 34,75±1,084 |
| 30-39 | 2999 | 19,78±0,727 | 1048 | 1951 | 34,94±0,871 |
| 40-49 | 3991 | 26,32±0,697 | 1381 | 2610 | 34,6±0,753 |
| 50-59 | 4113 | 27,13±0,693 | 1553 | 2560 | 37,76±0,756 |
| 60-69 | 1867 | 12,31±0,76 | 603 | 1264 | 32,3±1,082 |
| 70+ | 231 | 1,52±0,806 | 75 | 156 | 32,47±3,081 |
| Итого | 15163 | 100±0 | 5342 | 9821 | 35,23±0,388 |

Наиболее часто участниками исследования становились женщины (13627, 89,87±0,258%).Соотношение мужчин и женщин составило 1:10.

Наблюдалась тенденция к увеличению серопревалентности с возрастом от 18 до 59 лет, с последующим снижением к 70 годам. Наибольший уровень

серопревалентности наблюдался в возрастной группе 50-59 лет (Таблица 5) [87]. Между женщинами (35,59±0,41%) и мужчинами (32,03±1,191%) обнаружены статистически значимые различия в серопревалентности (p=0,0047).

Среди МР серопревалентность к SARS-CoV-2 за анализируемый отрезок времени с августа по ноябрь 2020 года составила в среднем 35,23±0,388%. Установлено увеличение доли серопозитивных лиц от 27,44±0,265% - в августе, 30,3% в сентябре, 41,4% в октябре до 57,91±0,499% - ноябре (Рисунок 16) и нарастание титра общих Ат (IgA, M, G) с 84,43 - в августе, 97,57 – в сентябре, 94,57 - октябре, 101.09 - в ноябре 2020 г. (Рисунок 17, Таблица 6) [85].

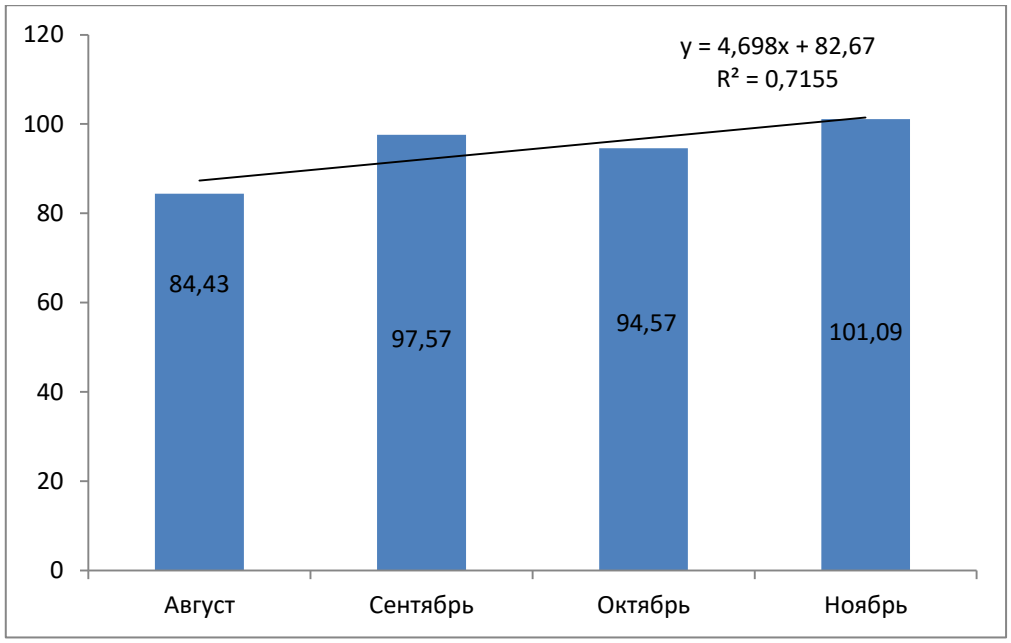



Примечание: По оси ординат: серопозитивность, в %; по оси абсцисс: месяцы 2020 г.

Рисунок 16 - Динамика серопозитивности к вирусу SARS-CoV-2 среди медицинских работников Республики Татарстан с 08.2020 по 12.2020 г. [85]

Увеличение доли серопревалентных лиц и нарастание титов общих Ат к вирусу SARS-CoV-2 свидетельствуют о формировании иидивидуального и коллективного иммунитета в изучаемой популяции МР различных МО РТ [84]. По достоверности различий в серопревалентности медицинских работников районы РТ были разделены на три группы (Таблица 4): уровень серопревалентности умеренный (8,9-39,0) зарегистрирован в 20 муниципальных

районах, средний уровень серопревалентности (42,9-49,6) показали 6 районов и высокий уровень (53,1-64,4) - 4 муниципальных района (Приложение Е) (Рисунок 19) Различия в серопревалентности могли быть связаны с неравномерностью протекания эпидемиологического процесса НКВИ, а так же разной репрезентативностью выборки и контингента участников исследования в муниципальных районах РТ [85].



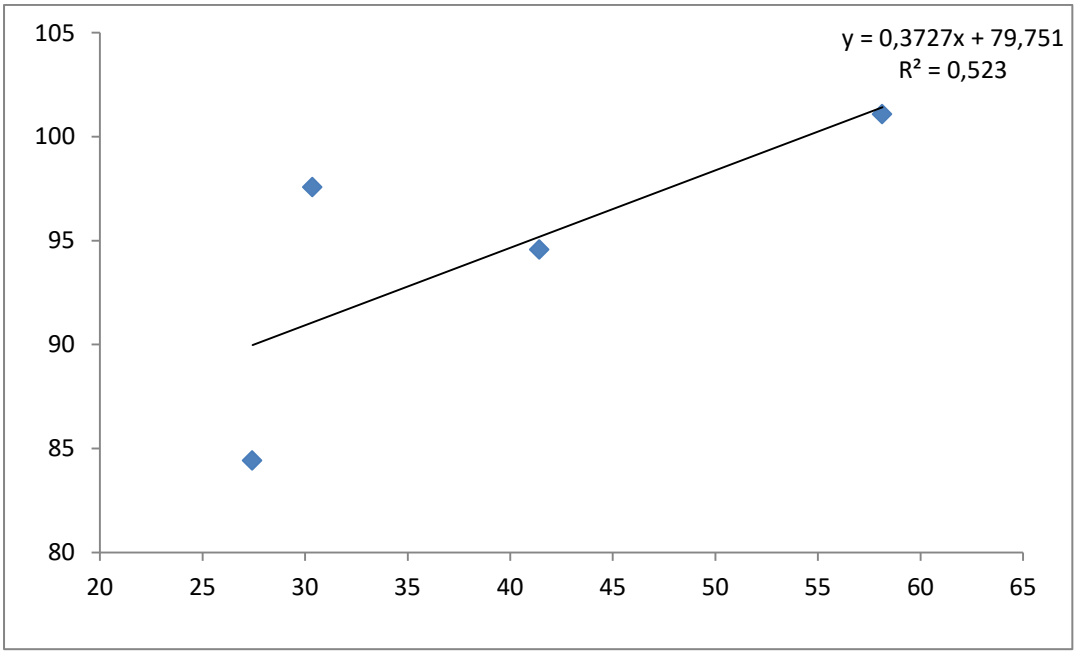

Примечание: По оси ординат – среднегеометрическое титра Ат к SARS-CoV-2, по оси абсцис - месяцы 2020 г.

Рисунок 17 - Динамика гуморального иммунного ответа в когорте медицинских работников Республики Татарстан с 08.2020 г. по 12.2020 г.

Таблица 6 - Динамика серопревалентности и титров общих антител (IgA,IgM и IgG) с 08.2020 г. по 12.2020 г. среди медицинских работников Республики Татарстан [85]

| Месяц 2020г | Количество | | Доля серопози-тивных, P±m, -в % | Среднегеометриче-ское значение титра общих антител к SARS-CoV-2 |
|---|---|---|---|---|
| | серопозитивных на IgA,M,G к SARS-CoV-2 | серонегативных на IgA,M,G к SARS-CoV-2 | | |
| август | 970 | 2565 | 27,44±0,75 | 84,43 |
| сентябрь | 1609 | 3700 | 30,31±0,631 | 97,57 |
| октябрь | 2247 | 3181 | 41,4±0,669 | 94,57 |
| ноябрь | 516 | 375 | 57,91±1,654 | 101,09 |

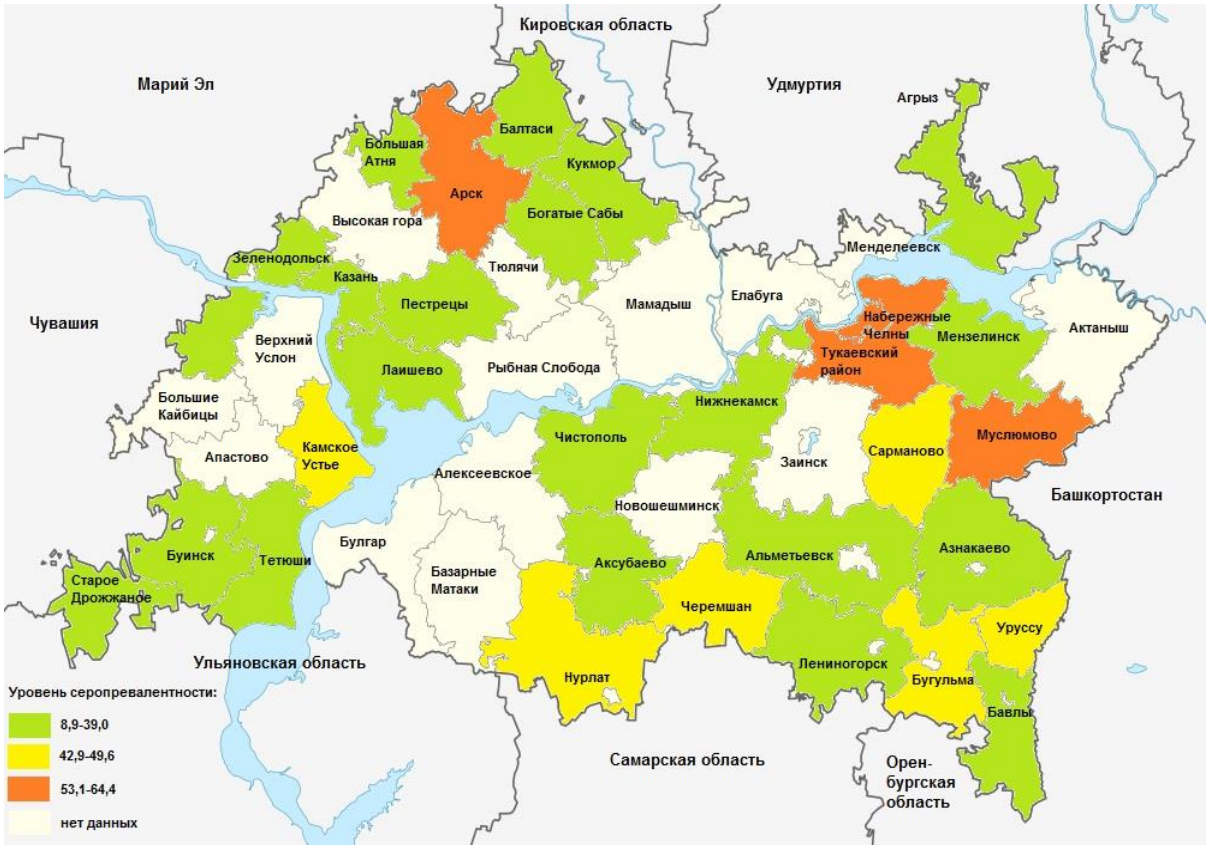
Корреляционный анализ по Пирсону связи серопревалентности и напряженности иммунитета выявил наличие средней (умеренной) прямой корреляционной связи (0,523, P<0,01) (Рисунок 18) [85].




Примечание: По оси ординат - среднегеометрическое значение титра общих Ат к SARS-CoV-2; по оси абсцисс - серопревалентность, %. Коэффициент корреляции (rc) = 0,523, P<0,01

Рисунок 18 - Корреляционный анализ по Пирсону связи серопревалентности и напряженности иммунитета к вирусу SARS-CoV-2 у медицинских работников Республики Татарстан [85]

Серопревалентность к вирусу SARS-CoV-2 была достоверно выше среди младшего (42,01±1,384) и среднего (37,5±0,527) медицинского персонала, чем у врачей и прочих категорий МР P(<0,01) (Таблица 7) [85]. Наиболее высокий уровень серопревалентности к SARS-CoV-2 выявлен среди МР ВИГ для пациентов НКВИ COVID-19, на втором месте – медицинский персонал станций скорой и неотложной помощи, на третьем – МР стационаров неинфекционного профиля и амбулаторно-поликлинических учреждений. В когороте МР стационаров инфекционного профиля установлена наименьшая доля серопревалентных лиц. Возможно, это связано с небольшой выборкой в данной группе МР по сравнению с другими типами МО (Таблица 8) [85].




Примечания: Градация серопревалентности показана цветом: красным цветом отмечен Уровень серопревалентности 53,1-64,4%, желтым - Уровень серопревалентности 42,9-49,6%, зеленым - Уровень серопревалентности 8,9-39,0%, белый цвет- данные отсутствовали

Рисунок 19 - Карта Республики Татарстан с градацией серопревалентности к SARS-CoV-2 среди медицинских работников разных муниципальных районов [85]

Таблица 7 - Распределение серопозитивных лиц среди различных категорий медицинских работников Республики Татарстан с 08.2020 по 11.2020 гг.

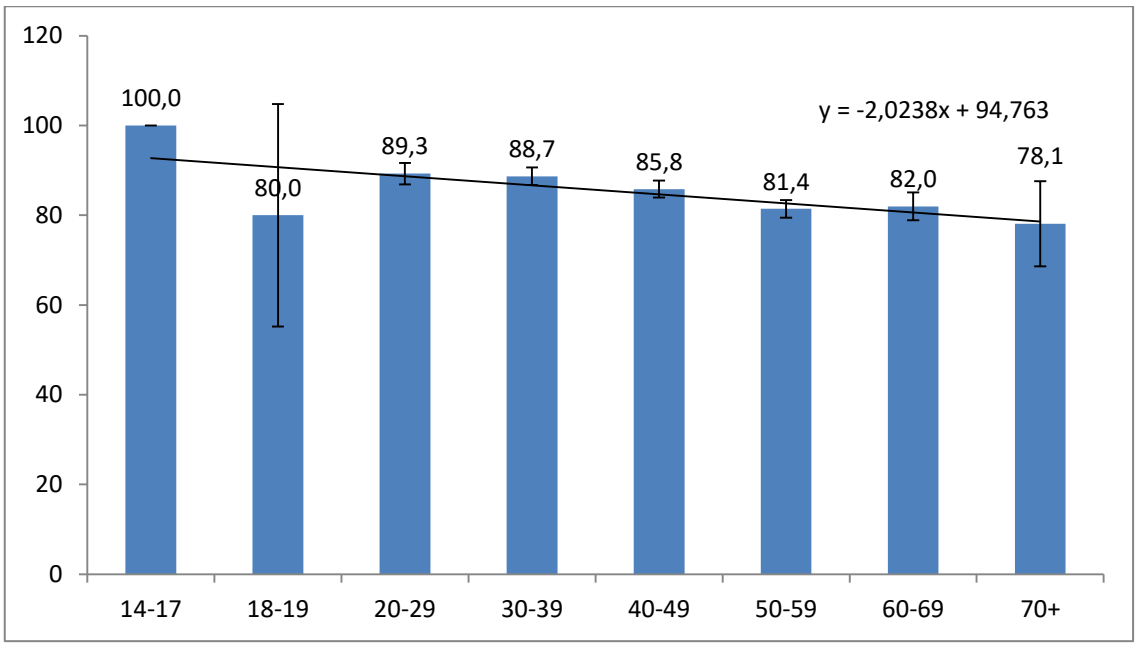
| Профессиональная группа медицинских работников | Количество | | Доля серо-поизитивных, P±m, в % |
|---|---|---|---|
| | серопозитивных на IgA,M,G к SARS-CoV-2 | серонегативных на IgA,M,G к SARS-CoV-2 | |
| Врачи | 949 | 2165 | 30,48±0,825 |
| Средний медицинский персонал | 3166 | 5276 | 37,5±0,527 |
| Младший медицинский персонал | 534 | 737 | 42,01±1,384 |
| Руководители | 14 | 29 | 32,56±7,146 |
| Прочие | 679 | 1614 | 29,61±0,953 |
| Итого | 5342 | 9821 | 35,23±0,388 |

Таблица 8 - Доля серопозитивных лиц среди медицинских работников в различных типах медицинских организаций Республики Татарстан с 08.2020 по 11.2020 гг. [85]

| Тип медицинской организации | Количество | | Доля серо-позитивных, P±m, в % |
|---|---|---|---|
| | серопозитив-ных на IgA, M, G к SARS-CoV-2 | серонегативны х на IgA, M, G к SARS-CoV-2 | |
| Стационары неинфекционного профиля | 4200 | 8255 | 33,72±0,424 |
| Стационары инфекционного профиля | 20 | 81 | 19,8±3,965 |
| Временные инфекционные госпитали для больных COVID-19 | 522 | 490 | 51,58±1,571 |
| Станции скорой и неотложной помощи | 329 | 396 | 45,38±1,849 |
| Амбулаторно-поликлинические учреждения | 271 | 599 | 31,15±1,57 |
| Итого | 5342 | 9821 | 35,23±0,388 |

Доля бессимптомных форм инфекции среди серопозитивных к вирусу SARS-CoV-2 МР РТ составила 84,97±0,498%. Достоверно чаще бессимптомные формы среди МР в возрастных группах 20-49 лет по сравнению с лицами 50-69 лет. Между увеличением возраста МР и уменьшением доли лиц с бессимптомными формами COVID-19 наблюдалась практически линейная зависимость (P<0,05) (Рисунок 20) [84].

Клинически манифестные формы перенесенного COVID-19 зарегистрированы у 868 МР (16,25±0,344%), среди этой группы МР серопозитиынвми оказались 775 человек (89,29±1,05%). Количество серонегативных составило 93 из 868, 10,71±3,207%. Доля серонегативных лиц была достоверно выше в возрастных категориях 18-29 лет (14,46±3,86%) и 30-39 лет (14,93±3,078%) по сравнению с группами 60-69 лет (7,02±2,392%) и 50-59 лет (9,71±1,684%) (Таблица 9).




Примечание: По оси ординат - доля лиц с бессимптомными формами среди всех серопозитивных лиц, в %; по оси абсцисс - возрастные группы (лет) [88]

Рисунок 20 - Распределение лиц с бессимптомным течением из общего числа медицинских работников, серопозитивных к SARS-CoV-2, в зависимости от возраста

Таблица 9 - Доля серонегативных от общего числа медицинских работников, перенесших COVID-19 в зависимости от возраста [85]

| Возрастная группа | Количество медицинских работников, перенесших COVID-19 | | Доля серонегативных, P±m, в % |
|---|---|---|---|
| | серопозитивных | серонегативных | |
| 18-29 | 71 | 12 | 14,46±3,86 |
| 30-39 | 114 | 20 | 14,93±3,078 |
| 40-49 | 189 | 21 | 10±2,07 |
| 50-59 | 279 | 30 | 9,71±1,684 |
| 60-69 | 106 | 8 | 7,02±2,392 |
| 70 лет и более | 16 | 2 | 11,11±7,407 |
| ИТОГО: | 775 | 93 | 10,71±3,207 |

Результаты исследования популяционного иммунитета к SARS-CoV-2 среди МР РТ показали увеличение серопревалентности с 27,44±0,265% - в августе до 57,91±0,499% - ноябре, которая составила в среднем 35,23±0,388%, установлено параллельное возрастание титра общих Ат (IgA, M, G) к вирусу SARS-CoV-2 с 84,43 - в августе до 101,09 - в ноябре 2020 г. Описанные

закономерности происходили на фоне увеличения заболеваемости COVID-19 в РТ. Количество серопозитивных МР нарастало от 18 до 59 лет с увеличением возраста, с наибольшим значением в когорте 50-59 лет (37,76±0,756%), с последующим трендом к снижению к 70 годам. Установлены достоверные различия среди различных профессиональных категорий МР, максимальная доля серопозитивных лиц к вирусу SARS-CoV-2 установлена у младшего (42,01±1,384%) и среднего (37,5±0,527%) медицинского персонала, по сравнению с врачами и прочими категориями МР, Р (<0,01). Наибольшая доля серопозитивных к SARS-CoV-2 установлена среди МР временных госпиталей для больных COVID-19 (51,58±1,571%). Следующими по уровню серопревалентности были МР станций скорой и неотложной помощи (45,38±1,849%), МР стационаров неинфекционного профиля (33,72±0,424%) и амбулаторно-поликлинических учреждений (31,15±1,57%). Наименьшие показатели серопревалентности обнаружены среди МР стационаров инфекционного профиля (19,8±3,965%) [85]. Различия в серопревалентности между группами МР статистически значимы (P<0,01). Доля бессимптомных форм COVID-19 составила 84,97±0,498%. Наблюдалась обратная зависимость между возрастом и частотой бессимптомных форм: достоверно чаще бессимптомное течение НКВИ встречалось в возрастных когортах 20-49 лет по сравнению с лицами 50-69 лет.

У МР, перенесших клинически манифестные формы НКВИ, Ат в плазме крови обнаруживались в 89,29±1,05% случаев [40]. Данные свидетельствуют о сформированном гуморальном ИО ответе у большинства МР, перенесших COVID-19.

***

Поскольку наибольшая доля серопревалентных МР выявлена среди сотрудников ВИГ, наши дальнейшие исследования были сосредоточены на проведении длительного комплексного мониторинга иммунного ответа в группе повышенного риска инфицирования среди когорты МР ВИГ г. Казани.

Мониторинг включал изучение параметров врожденного, мукозального, специфического адаптивного гуморального и Т-клеточного иммунного ответа. Исследования были направлены также на установление взаимовлияния параметров иммунного ответа и клинически значимых полиморфизмов в генах, контролирующих иммунный ответ [34, 81].

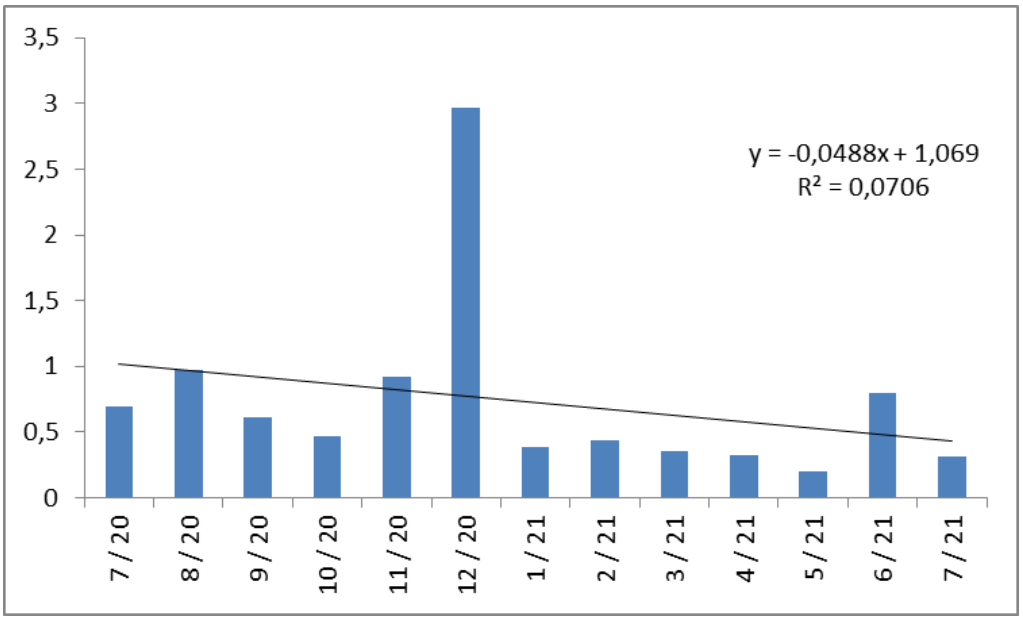
# ГЛАВА 4. ФОРМИРОВАНИЕ ГУМОРАЛЬНОГО ИММУННОГО ОТВЕТА К ВИРУСУ SARS-COV 2 У МЕДИЦИНСКИХ РАБОТНИКОВ ВРЕМЕННОГО ИНФЕКЦИОННОГО ГОСПИТАЛЯ

## 4.1. Тренды формирования гуморального иммунного ответа на SARS-CoV-2 у медицинских работников временного инфекционного госпиталя

Проводился выборочный серомониторинг с ежемесячным определением IgM и IgG Ат к вирусу SARS-CoV-2 методом двухстадийного прямого твердофазного ИФА у МР ВИГ г. Казани с июля 2020 г. по июль 2021 г. [18, 31, 34, 35, 36, 37, 39, 67, 79, 81, 97, 113]. Результаты исследований выражались в виде коэффициента позитивности (КП), представляющего собой отношение оптической плотности образца к критической оптической плотности, высчитываемой в каждом анализе. Положительными считались образцы с КП, превышающим 1,1–1,2; отрицательными - с КП менее 0,8-0,9 [34, 81].

Значения среднегеометрического титра Ат рассчитывали от дня сероконверсии (выявления первой положительная пробы к вирусу SARS-CoV-2). Дню сероконверсии присваивалась цифра один, а все последующие – два, три, и т.д. Динамику титра IgM и IgG Ат персонально у каждого МР оценивали при помощи рассчитанной линии тренда среднегеометрического титра Ат. Линию тренда строили с использованием математической функции, наиболее близко аппроксимирующей тренд к среднегеометрической. Оценку степени аппроксимации проводили по критерию $R^{2,}$ из нескольких функций с одинаковыми критериями $R^2$ выбирали функцию с наиболее простой формулой и рассчитывали «теоретические» показатели титров Ат. Динамику титров Ат характеризовали определением темпов роста/убыли и прироста. Динамику титров Ат персонально каждого МР оценивали по индивидуальному тренду и его ДИ [34, 81, 94].

Результаты продольного исследования коллективного иммунитета у невакцинированных МР ВИГ г. Казани на отрезке 12 месячного наблюдения после сероконверсии установили среднемесячное снижение среднегеометрического титра IgM Ат к SARS-CoV-2 на - 6,4% (Рисунок 21) [34, 81].

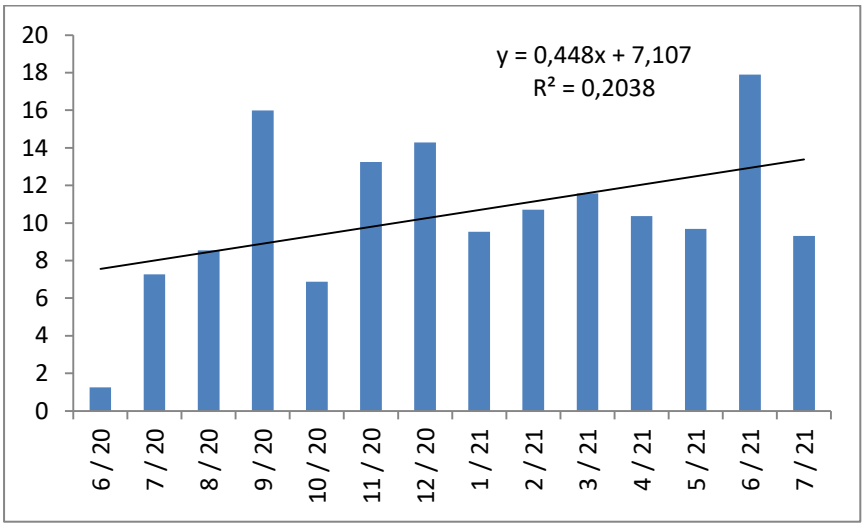



Примечание: По оси ординат - среднегеометрическое значение титра IgM Ат к SARS-CoV-2; по оси абсцисс - порядковый номер месяцев 2020 г. и 2021 г. [35]

Рисунок 21 -Динамика гуморального иммунного ответа по уровню IgM антител к вирусу SARS-CoV-2 у МР ВИГ г. Казани с 06.2020г по 07.2021 г.

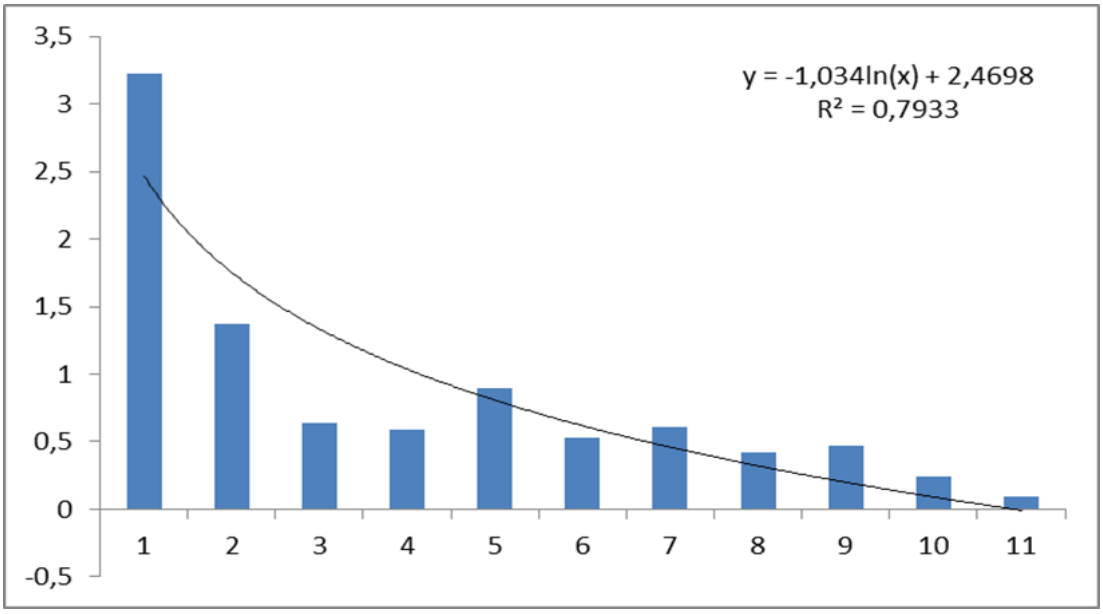
Параллельно происходило увеличение титра IgG Ат к SARS-CoV-2 на 4,26% (Рисунок 22). Изучение напряженности коллективного иммунитета к вирусу SARS-CoV-2 в изучаемой популчции МР ВИГ показывает возрастание среднегеометрического титра IgG Ат, что можно объяснить периодической стимуляцией в результате профессиональных контактов с антигенами вируса SARS-CoV-2. Данный факт можно рассматривать, как результат формирования коллективного иммунитета в ходе развития эпидемического процесса у населения г. Казани в целом [25, 39, 81]. Персональная оценка динамики Ат у каждого МР от дня сероконверсии показала снижение среднегеометрического титра IgM и IgG Ат к вирусу SARS-CoV-2 (Рисунки 23 и 24) [35, 39]. Средний

уровень IgG Ат составил 11,258 (95% ДИ 4,2979-4,7312), что в 12,9 раз выше титра IgM Ат - 0,870 (95% ДИ 0,6426-0,7365).



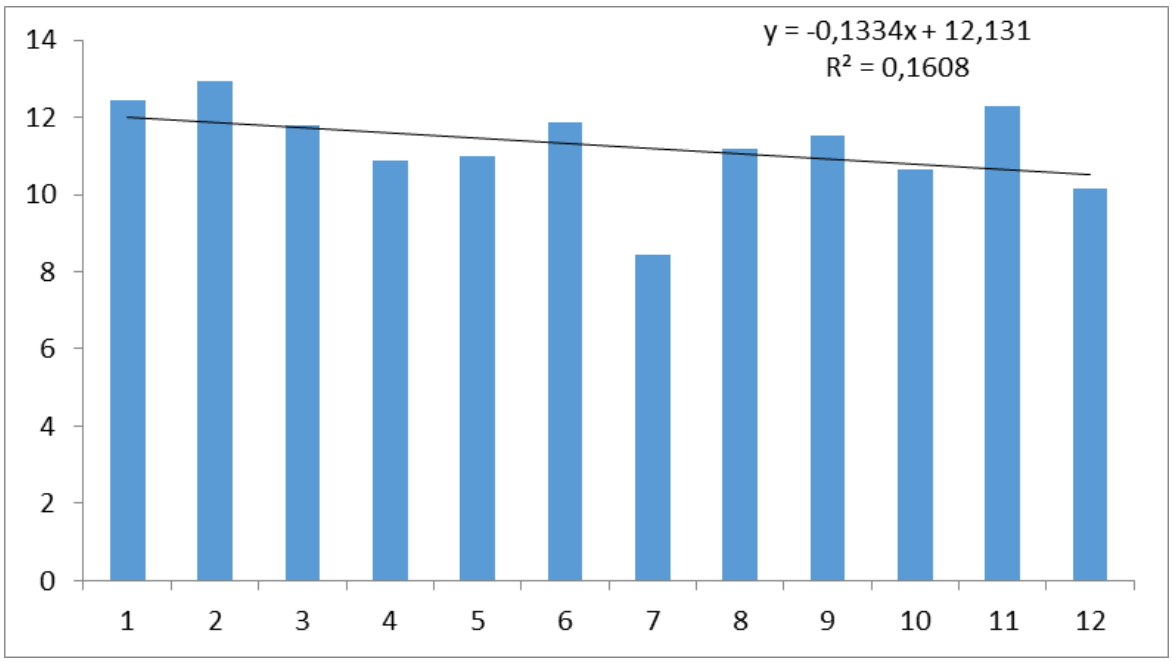

Примечание: По оси ординат - среднегеометрическое значение титра IgG Ат к SARS-CoV-2; по оси абсцисс - порядковый номер месяцев 2020 г. и 2021 г.

Рисунок 22 - Динамика гуморального иммунного ответа по уровню IgG антител к вирусу SARS-CoV-2 у МР ВИГ г. Казани с 06.2020 г. по 07.2021 г.




Примечание: По оси ординат - среднегеометрическое значение титра IgM Ат к SARS-CoV-2; по оси абсцисс - точки исследования от впервые полученного положительного результата (1 - сероконверсия) [34]

Рисунок 23 - Динамика титров IgM антител к вирусу SARS-CoV-2 у МР ВИГ г. Казани от сероконверсии в 11 точках исследования




Примечание: По оси ординат - среднегеометрическое значение титра IgG Ат к SARS-CoV-2; по оси абсцисс - точки исследования от впервые полученного положительного результата (1 - сероконверсия) [34]

Рисунок 24 - Динамика титров IgG антител к вирусу SARS-CoV-2 у МР ВИГ г. Казани от впервые полученного положительного результата (сероконверсии) в 12 точках исследования

При сравнении динамики среднегеометрического титров IgM и IgG Ат установлено, что значение титра IgM Ат в первый месяц после сероконверсии составвило 3,226 (95% ДИ 1,3291-1,8189), на втором месяце наблюдения происходила наиболее быстрая убыль, в дальнейшем на протяжении 11 месяцев снижение IgM Ат было более равномерным. В первый месяц после регистрации первого положительного результата значение титра IgG Ат составило 12,430 (95% ДИ 4,4231-5,5266). При последующем наблюдении на протяжении 12 месяцев снижение титра IgG Ат оказалось линейным и равномерным. В целом за весь период наблюдения снижение IgM Ат происходило более интенсивно со среднемесячной убылью на 23,6% по сравнению с более медленным темпом снижения IgG Ат на 1,2% в месяц [81].

Таким образом, снижение уровней титров IgM и IgG Ат явилось отражением естественного течения инфекционного процесса и основанием для проведения

вакцинации против НКВИ с целью поддержания достаточного уровня специфических АТ для прекращения эпидемического распространения SARS-CoV-2.

При изучении гуморального ИО у МР в течение двух месяцев наблюдения после перенесенной НКВИ, отмечалось, что ИО был неоднородным, были выделены две формы его формирования: синхронная с параллельной элиминацией IgG и IgM Ат группа «повышающих» АТ; и синхронная с параллельным увеличением IgG и IgM Ат в сроки от 6-7 недель с момента появления первых симптомов с сохранением разнонаправленных тенденций вплоть до 11-12 недели наблюдения – группа «элиминирующих» АТ.

Причем группа «повышающих» АТ преобладала над группой «элиминирующих» [36, 81]. По динамике изменений IgM Ат в течение годового мониторинга нами были выделены три группы МР [84]: М0 – IgM в крови отсутствовали; М1 – IgM сохранялись в течение 1-2 месяцев с последующим быстрым снижением; М2 – IgM сохранялись на протяжении трех и более месяцев. Группа М0 (34 человека, 50,0±5,7%) была достоверно более многочисленной в сравнении с группой М1 (11 человек, 16,2±3,8%) (p=0,04), а также с группой М2 (23 человека, 33,8±5,1%) (p=0,00001), а группа М2 была более многочисленной в сравнении с группой М1 (P=0,008905724). Значения среднегеометрического титра IgM Ат были достоверно выше в группе М2 по сравнению с группами с М0 и М1 (p=1,05146E-53 и p=5,04668E-12, соответственно) [81].

По характеру динамики IgG антител МР были выделены четыре тренда [83]: G0-медленный тренд (отсутствие превышения 95% верхней доверительной границы индивидуального тренда), G1 - быстрый тренд снижения титра IgG (отсутствие превышения 95% верхней доверительной границы индивидуального тренда с 3-го месяца после сероконверсии), G2 – неравномерный тренд снижения IgG (превышение 95% верхней доверительной границы индивидуального тренда с 3-го месяца после сероконверсии); G3 –тренд увеличения титра IgG Ат [81].

В большинстве случаев встречался неравномерный тренд ИО (G2) (47 человек, 69,1±5,6%). Это явление могло быть обусловлено повторной экспозицией вируса SARS-CoV-2, что приводило к стимуляции выработки IgG Ат. В этой группе МР зарегистрированы более высокие титры IgG Ат по сравнению с группой МР, демонстрирующих медленный тренд снижения титра IgG (G0) (13 человек, 19,2±4,7%) (P=1,61836E-07), а так же с группой МР, ИО которых характеризовался увеличением титра IgG (G3) (5 человек, 7,353±3,1651%) (P=0,01361267) и группой МР, показывающих быстрый тренд снижения IgG (G1) (3 человека, 4,4±2,5%) (P=0,049995729) (Таблица 10) [80]. В результате проведенного серологического мониторинга установлены различные варианты формирования гуморального ИО у МР по динамике IgM и IgG Ат. Не детектировались IgM Ат у каждого второго МР. У каждого третьего - выявлена персистенция IgM Ат на протяжении трех и более месяцев. У 16,0% обследуемых МР ВИГ IgM Ат сохранялись в крови на протяжении более чем 1-2 месяца [81].

Таблица 10 - Различные тренды иммунного ответа по динамике IgM и IgG антител в группах медицинских работников ВИГ в течение годового мониторинга. [31, 46, 81]

| Иммунный ответ по динамике IgM антител | | Иммунный ответ по динамике IgG антител | |
|---|---|---|---|
| Группы | Среднегеометрическое титра IgM Ат (нижний ДИ – верхний ДИ) | Группы | Среднегеометрическое титра IgG Ат (нижний ДИ – верхний ДИ) |
| M0 | 0,0673 (0,04371-0,09147) | G0 | 6,4495 (5,34156-7,75092) |
| M1 | 0,3727 (0,20846-0,55934) | G1 | 5,1307 (2,0981-11,13191) |
| M2 | 1,4394 (1,22631-1,67295) | G2 | 11,1923 (10,40903-12,02928) |
| | | G3 | 7,5166 (5,46192-10,22455) |

Ат класса IgM вырабатываются в основном, на первичное антигенное раздражение, а темп и интенсивность IgM-ответа при первичной и вторичной реакции на АГ одинаковы при повторном антигенном раздражении [122]. Поэтому вызывает интерес группа МР, у которых ИО характеризовался сохранением IgM в крови на протяжении трех и более месяцев (M2). Доля

состаивила одну треть среди всех участников исследования. Возможно, что данная группа МР последовательно инфицировалась разными вариантами вируса SARS-CoV-2, различавшихся антигенно в локусах отличных от Spike-белка или N-белка нуклеокапсида [81]. В формировании защиты против COVID-19 важную роль играют поверхностный S-белок, содержащий RBD- домен, и нуклеокапсидный N-белок. К S-белку формируется Т-клеточный и гуморальный иммунитет, обусловленный вируснейтрализующими Ат к RBD-домену [71], однако S- белок подвержен мутациям, что позволяет ускользать от вируснейтрализующих Ат, что увеличивает скорость распространения и приводит к утяжелению COVID-19 [17,42, 55, 56, 57, 58, 81].

В нашем исследовании показано, что гуморальный ИО на вирус SARS-CoV-2 у МР ВИГ характеризуется индивидуальной вариабельностью. По динамике IgG Ат, от впервые полученного положительного результата (сероконверсии), выделено четыре тренда гуморального ИО, три из которых с тенденцией снижения титра иммуноглобулинов, один – с увеличением титра. [36]. В 69,0% выявлен тренд неравномерного снижения IgG Ат, у каждого пятого установлен низкий тренд снижения IgG Ат, в 4,0% случаев отмечен быстрый тренд снижения IgG Ат и у 7,0% обследуемых МР отмечен тренд увеличения IgG Ат. По динамике IgM Ат установлено три тренда гуморального ИО: у каждого второго МР IgM Ат отсутствовали; у каждого третьего - выявлена персистенция IgM Ат на протяжении трех и более месяцев, у 16,0% обследуемых МР ВИГ IgM Ат сохранялись в крови на протяжении более чем 1-2 месяца [81]. Помесячную динамику среднегеометрического титра IgM Ат можно использовать для характеристики популяционного распространения вируса среди восприимчивых МР. Закономерности помесячной динамики среднегеометричского титра IgG Ат следует рассматривать в качестве оценки популяционного иммунитета в изучаемой когорте МР.

***

Наряду с количеством вырабатываемых в ответ на ангигенное воздействие специфических Ат, важной качественной характеристикой гуморального ИО является авидность антител, которая представляет собой суммарную силу связывания с антигеном и определяет продолжительность и эффективность постинфекционного иммунитета к SARS-COV-2. Представляло интерес изучить изменение авидности к SARS-CoV-2 у реконвалесцентов COVID-19 на ранних и поздних сроках после впервые перенесенной инфекции.

## 4.2. Изучение индекса авидности IgG антител к S-белку вируса SARS-CoV-2 в группе медицинских работников временного инфекционного госпиталя на ранних сроках реконвалесценции COVID-19

Нами проведено изучение авидности IgG Ат к SARS-CoV-2 в динамике у МР ВИГ г. Казани – реконвалесцентов COVID-19, в период с июля 2020 г. по июль 2021 г. через 1 месяц, 4 месяца и 7 месяцев после впервые перенесенной НКВИ [31, 81, 113].

Установлено, что показатели ИА IgG Ат к SARS-CoV-2 зависят от степени тяжести перенесенной НКВИ. ИА IgG Ат в когорте МР ВИГ при среднетяжелой форме COVID-19 был на 20,0-45,0% выше, чем при бессимптомном и легком течениии (Таблица 11, Рисунок 25). У МР при бессимптомных формах COVID-19 через 4 месяца после сероконверсии ИА увеличивался с 23,0 до 33,0%. В последующие 3 месяца установлено параллельное снижение ИА (до 19,0%) и титра IgG Ат к SARS-CoV-2 от 800,0 [250-1500] до 380,0 [150-550] BAU/ml (Таблица 11). Между первой и третьей точкой исследования различия были не значимыми (тест Уилкоксона для сопряжённых данных - $Z=0,42$, $p=0,68$). Достоверные различия установлены между второй и третьей точкой исследования (тест Уилкоксона для сопряжённых данных - $Z=4,7$, $p=0,0006$) [30].

При легкой форме НКВИ у МР через 4 месяца после впервые перенесённй НКВИ ИА составил от 42,0% [37,0-58,0] до 44,0% [39,0-47,0], при этом регистрировалось параллельное нарастание ИА и титра IgG Ат к вирусу SARS-CoV-2. Через 7 месяцев после сероконверсии происходило параллельное снижение ИА до 28,0% [21,0-29,0] (Таблица 11) и титра IgG Ат к вирусу SARS-CoV-2 до 500 [150-680] BAU/ml [31].

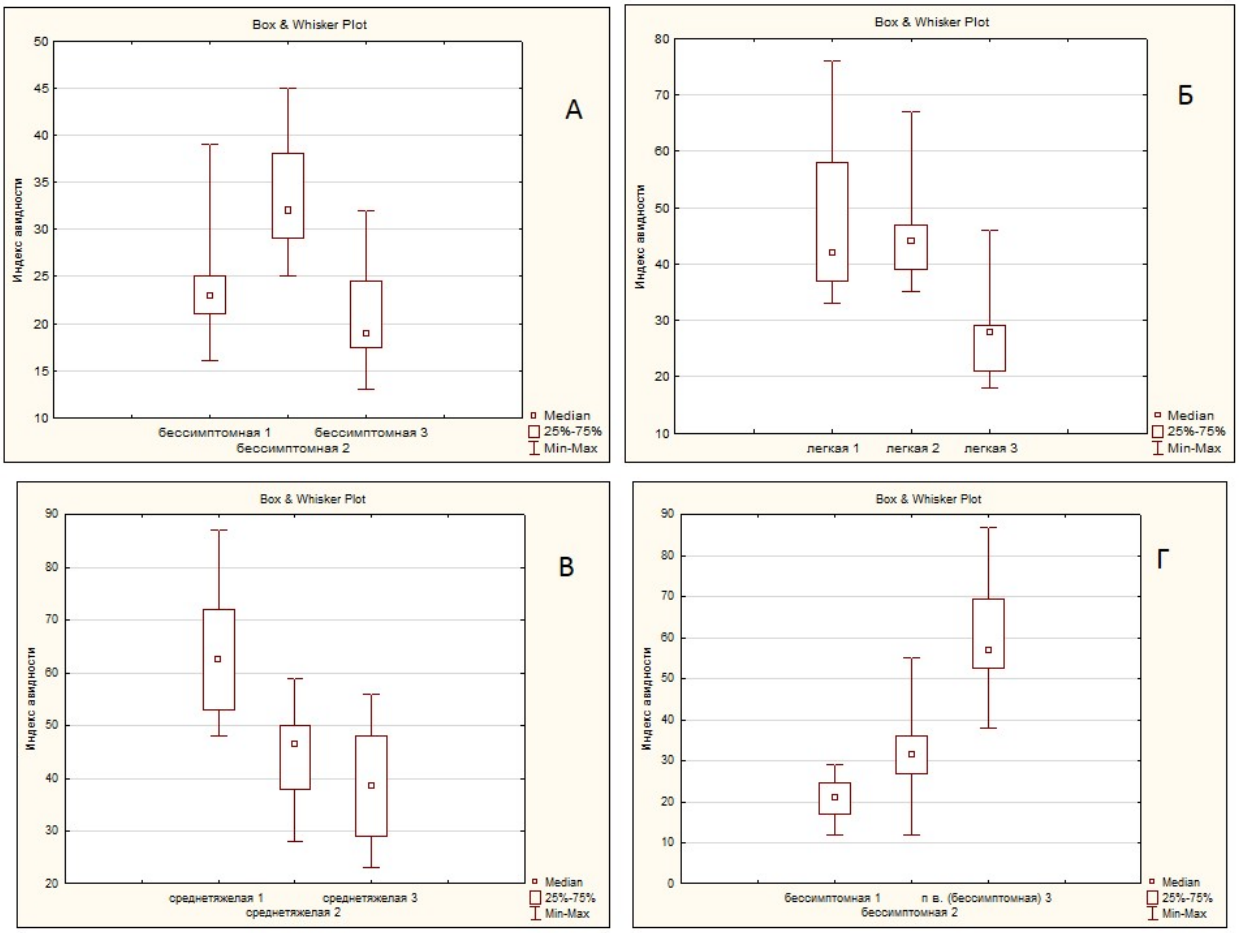
Таблица 11 - Изменение индекса авидности и уровня IgG Ат к вирусу SARS-CoV-2 у МР ВИГ с разными формами тяжести НКВИ и реинфицированных, изученные в трех точках исследования

| Группы МР | Количество, (абс. (%) | Индекс авидности IgG к SARS-CoV-2 Me (Q1-Q3) | | | Уровень IgG к SARS-CoV-2, BAU/ml Me (Q1-Q3) | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | забор крови | | | забор крови | | |
| | | 1-й | 2-й | 3-й | 1-й | 2-й | 3-й |
| 1-я группа перенесшие COVID-19 бессимптомно | 34 (32,4%) | 23,0 [21,0-26,0] | 32,0 [29,0-38,0] | 19,0 [17,5-24,5] | 800 [250-1500] | 650 [450-850] | 380 [150-550] |
| 2-я группа перенесшие COVID-19 в легкой форме | 42 (40,0%) | 42,0 [37,0-58,0] | 44,0 [39,0-47,0] | 28,0 [21,0-29,0] | 850 [250-1950] | 650 [350-750] | 500 [350-680] |
| 3-я группа перенесшие COVID-19 в среднетяжёлой форме | 29 (27,6%) | 62,5 [53,0-72,0] | 46,5 [38,0-50,0] | 38,5 [29,0-48,0] | 750 [250,0-1200] | 1567 [450-1850] | 250 [150-400] |
| 4-я группа перенесшие повторно COVID-19 в течение 7 месяцев от первичного инфицирования | 23 (21,9%) | 21,0 [12,0-28,0] | 33,0 [15,0-57,0] | 58,0 [38,0-87,0] | 550 [80-450] | 750 [250-850] | 650 [350-1200] |

При среднетяжёлых формах НКВИ в первой точке исследования - через месяц после впервые перенесённой инфекции зарегистрированы высокие

показатели ИА - 62,5% [53,0-72,0], в последующем, через 4 месяца установлено снижение ИА до 46,5%, а ещё через 3 месяца - до 38,5% [29,0-48,0] [31] (Таблица 11). При этом выявлено нарастание титра IgG Ат через 4 месяца после сероконверсии, и снижение через 7 месяцев до 250 [150-400] BAU/ml.

В группе МР, повторно перенесших НКВИ, установлено нарастание ИА в динамике наблюдения (Таблица 11).




Примечание: П оси абсцисс - точки исследования;
по оси ординат – индекс авидности в % [31]

Рисунок 25 - Динамика индекса авидности IgG Ат к SARS-CoV-2 в трех точках исследования (1, 2, 3) у МР ВИГ в зависимости от степени тяжести НКВИ: А**)** I группа МР с бессимптомными формами НКВИ; Б**)** II группа МР с лёгкой стпенью тяжести НКВИ; В**)** III группа МР со средне тяжёлой формой НКВИ; Г**)** IV группа МР, реинфицированных SARS-CoV-2 в течение 7 месяцев от впервые перенесенной НКВИ

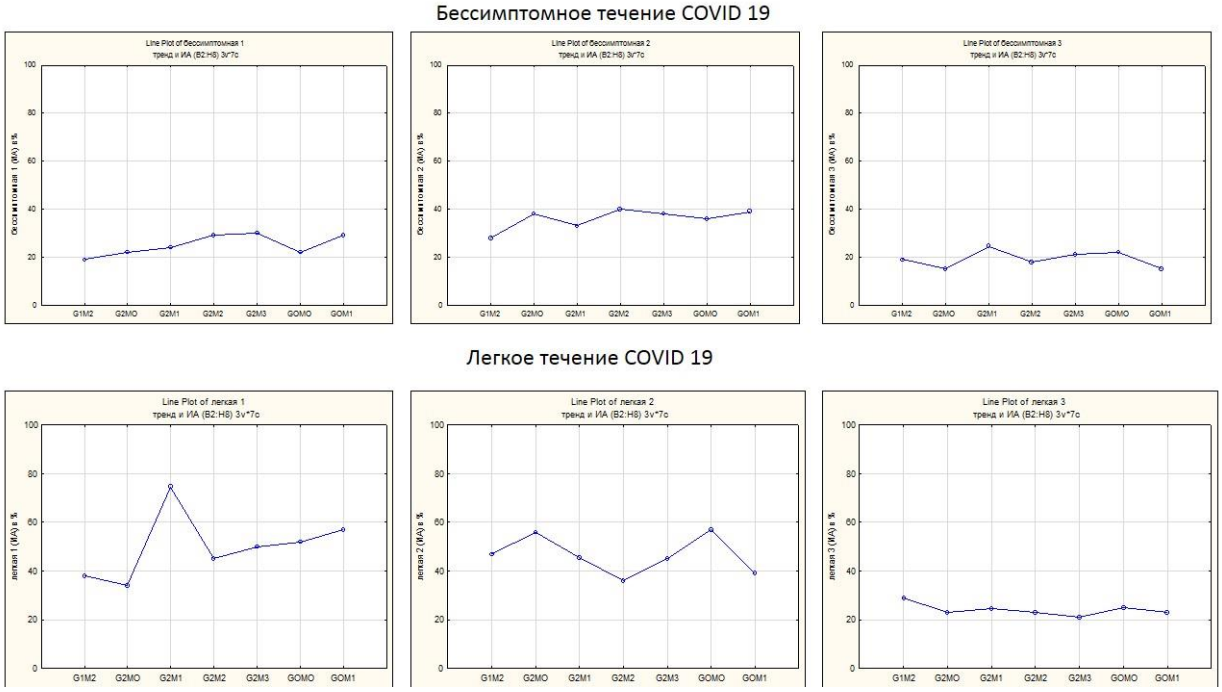
Представляло интерес изучение динамики авидности IgG Ат к вирусу SARS-CoV-2 в зависимости от трендов гуморального ИО, характеризующихся динамикой титров специфических IgG и IgM Ат к SARS-CoV-2, представленных в главе 3 [81].

В группе МР, перенесших НКВИ бессимптомно, динамика ИА IgG Ат к SARS-CoV-2 имела следующие особенности: в первой точке исследовани - через месяц после сероконверсии ИА составил (от 20,0% до 30,0%) и зависел от тренда гуморального ИО. Через 4 месяца отмечено увеличение ИА до 45,0%, а в третьей точке исследования - через 7 месяцев ИА снижался – от 25,0% до 15,0% (Рисунок 26). Вероятно, такая динамика связана с быстрым уходом из циркуляции пула эффективных высокоавидных Ат, нейтрализующих вирус, его последующей элиминацией, что обусловило отсутствие клинической манифестации заболевания. Наибольшие ИА до 40,0-45,0% через 4 месяца после сероконверсии зарегистрированы при следующих трендах гуморального ИО: G2MO – неравномерный тренд снижения IgG и отсутствие IgM; G2M2 – неравномерный тренд снижения IgG с персистенцией IgM 3 и более месяца.

Таким образом, в когороте МР с бессимптомными формами НКВИ описанная динамика ИА способствовала формированию неравномерного тренда снижения IgG Ат в ходе годичного наблюдения. Вероятно, в ходе естественного течения инфекционного процесса в условиях пандемии повторная встреча с вирусом SARS-CoV-2 обуславливала формирование неравномерного тренда IgG Ат, приводила к нарастанию титров АТ и быстрой элиминации высокоавидных Ат, а в последующем через 7 месяцев после сероконверсии - снижению ИА, что способствовало реинфицированию SARS-CoV-2 [31].

В когорте МР, перенесших НКВИ в легкой форме динамика ИА IgG Ат к SARS-CoV-2 характеризовалась следующими закономерностями: в первой точке исследования ИА был значительно выше, чем при бессимтомных формах - от 35,0% до 80,0% и зависел от тренда гуморального ИО. Во второй и третьей точках исследования ИА снижался - от 38,0 до 59,0% и от 20,0 до 30,0%, соответственно (Рисунок 26). Такая динамика ИА обуславливала формирование

неравномерного и /или медленного тренда снижения IgG Ат с сохранением IgM Ат 1-2 месяца после перенесенной НКВИ (Рисунок 26) [31].

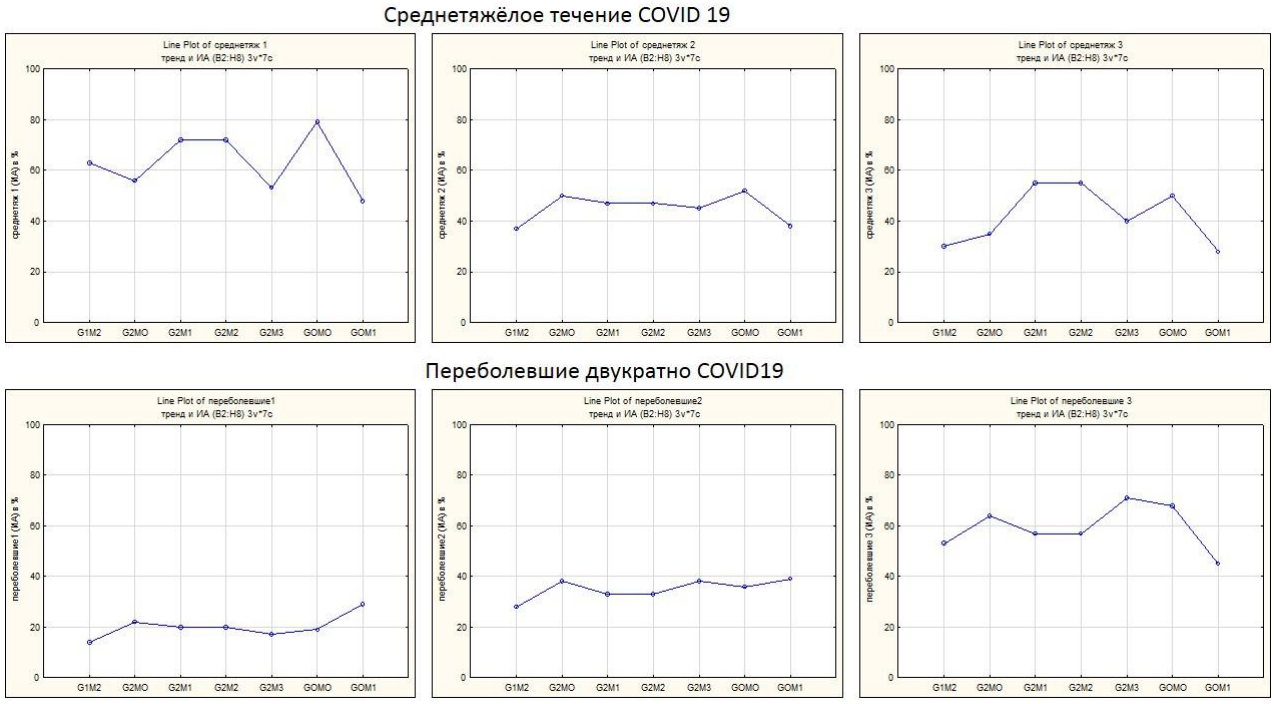



Примечание: По оси абсцисс: тренд гуморального иммунного ответа: G1M1 – быстрый тренд снижение IgG, сохранение IgM 1-2 мес и последующим быстрым снижением; G2MO – неравномерный тренд снижения IgG, отсутствие IgM; G2M1 - неравномерный тренд снижения IgG, сохранение IgM 1-2 мес.; G2M2 - неравномерный тренд снижения IgG, сохранение IgM 3 и более мес; G2M3- неравномерный тренд снижения IgG, сохранением IgM до 1 мес; GOMO – медленный тренд снижения IgG, отсутствие IgM; GOM1 – медленный тренд снижения IgG, сохранение IgM 1-2 мес.; По оси ординат: индекс авидности, в % [31]

Рисунок 26 - Взаимосвязь динамики индекса авидности IgG Ат к вирусу SARS-CoV-2 и трендов гуморального иммунного ответа у МР с бессимптомными и легкими формами НКВИ [30]

В когороте МР, перенесших НКВИ в среднетяжелой форме, ИА в первой точке исследования был высоким - от 48,0% до 85,0% и зависел от тренда гуморального ИО. Через 4 месяца после сероконверсии ИА снижался - от 38,0 до 56,0%. Через 7 месяцев после перенесенной НКВИ у части обследуемых МР ИА снижался и оставался невысоким (от 20,0 до 40,0%), а у второй части МР регистрировались высокие значения ИА от 55,0 до 59,0% [30] (Рисунок 27). Выявленные особенности динамики ИА приводили к формированию

неравномерного тренда снижения IgG Ат с персистенцией IgM Ат более одного месяца; а у части лиц с отсутствием IgM Ат (тренд G2M1, G2M2, GOMO). В третьей точке исследования - через 7 месяцев после перенесенной НКВИ у части МР регистрировались высокие показатели ИА IgG Ат от 50,0 до 58,0%, в отличие от когорты МР, перенесших легкие и бессимптомные формы НКВИ. А в ряде случаев через 7 месяцев после сероконверсии было выявлено значительное снижение ИА IgG Ат от 20,0 до 34,0%, что обуславливало у части лиц формирование быстрого тренда снижения IgG Ат (G1M2), а у другой части - медленного тренда снижения IgG (GOM1) с персистенцией IgM Ат более одного месяца [31] (Рисунок 27).




,,

Примечание: По оси абсцисс: тренд гуморального иммунного ответа: G1M1 – быстрый тренд снижение IgG, сохранение IgM 1-2 мес. и последующим быстрым снижением; G2MO – неравномерный тренд снижения IgG, отсутствие IgM; G2M1 - неравномерный тренд снижения IgG, сохранение IgM 1-2 мес.; G2M2 - неравномерный тренд снижения IgG, сохранение IgM 3 и более мес/; G2M3- неравномерный тренд снижения IgG, сохранением IgM до 1 мес; GOMO – медленный тренд снижения IgG, отсутствие IgM; GOM1 – медленный тренд снижения IgG, сохранение IgM 1-2 мес.; По оси ординат: индекс авидности, в % [31]

Рисунок 27 - Взаимосвязь динамики индекса авидности IgG Ат к вирусу SARS-CoV-2 и трендов гуморального иммунного ответа у МР со среднетяжелыми формами и перенесшими НКВИ повторно

В когорте МР, реинфицированных между первой и второй точкой исследования, выявлено формирование пула Ат с низким ИА через месяц после впервые перенесённой НКВИ, что, вероятно и обусловило восприимчивость к повторному инфицированию. В данной когорте МР через 4 месяца ИА увеличивался и сохранялся через 7 месяцев на высоких значениях - от 43,0 до 65,0 [30].

Результаты исследования установили зависимость авидности IgG Ат к вирусу SARS-CoV-2 от тяжести перенесенной НКВИ в изучаемой когорте МР. Более высокие значения ИА зафиксированы в группе МР со среднетяжелыми формами НКВИ, в отличие лиц, перенесших COVID-19 в бессимптомной или легкой форме, у которых выявлены более низкие показатели ИА [31]. Показано, что низкие значения ИА являются прогностичеким фактором риска реинфицирования вирусом SARS-CoV-2.

***

Представляло интерес продолжение изучения динамики гуморального ИО на вирус SARS-CoV-2 (титры антител и индексы авидности) на более поздних сроках реконвалесценции COVID-19 в изучаемой когороте МР, представляющих группу высокого риска инфицирования SARS-CoV-2.

## 4.3. Изучение индекса авидности IgG антител к вирусу SARS-CoV-2 в группе медицинских работников временного инфекционного госпиталя через 2,5-3 года после впервые перенесённой новой коронавирусной инфекции COVID-19

В фокусе нашего внимания оставалось изучение продолжительности и сохраннения ИО на поздних сроках реконвалесценции НКВИ, сопоставление иммунитета после перенесенной инфекции и вакцинации, а так же длительность

сохранение титров Ат после перенесенной инфекции [30, 45, 80, 107]. В рамках длительного мониторинга за группой МР ВИГ г. Казани проводились исследование специфического гуморального иммунитета (n=90). Большинство МР впервые перенесли COVID-19 в первую или вторую волну пандемии в РФ. Исследования проведены через 2,5-3 года после впервые перенесенной НКВИ [31, 46, 81, 116].

Оценка вируснейтрализующей активности (BAU/ml) проведена на основании градации ВОЗ (2021): 0-10 BAU/ml- антител нет; 11-79 BAU/мл - низкий вируснейтрализующий эффект; 80-149,9 BAU/ml - вируснейтрализующий эффект действует (в 50,0% случаев); 150-500 BAU/ml вируснейтрализующий эффект ярко выражен (в 100,0% случаев); 500 и ≤ максимальный уровень АТ [46].

Результаты исследования уровня специфических IgG Ат к SARS-CoV-2 у МР реконвалесцентов НКВИ в зависимости от тяжести перенесенной инфекции представлены в Таблице 12.

Таблица 12 – Распределение медицинских работников в зависимости от уровня IgG Ат к вирусу SARS-CoV-2 и степени тяжести перенесенной НКВИ

| Градация ВОЗ уровня вирусней-трализующих антител | Степень тяжести течения НКВИ | | | |
|---|---|---|---|---|
| | Группа 1 | Группа 2 | Группа 3 | Всего МР Абс. N/Абс. M, P±m % % |
| | Реконвалесценты НКВИ | | | |
| | легкие формы Абс.ч N/Абс.ч. M, P±m % | среднетяжелые /тяжелые формы Абс.ч N/Абс.ч. M, P±m % | бессимптомные формы Абс.ч N/Абс.ч. M, P±m % | |
| До 10 BAU/ml | 1/41<br>2,4 | 1/37<br>2,7 | 1/13<br>7,6 */** | 3/91<br>3,3 |
| 11-79 BAU/ml | 2/41<br>4,9 | 2/37<br>5,4 | 2/13<br>15,4*/** | 6/91<br>6,6 |
| 80-149,9 BAU/ml | 2/41<br>4,9 | 2/37<br>5,4 | 2/13<br>15,4 */** | 6/91<br>6,6 |
| 150-500 BAU/ml | 8/41<br>19,5 | 6/37<br>16,2 | 2/13<br>15,4*/** | 16/91<br>17,6 |
| >500 BAU/ml | 28/41<br>68,3 | 26/37<br>67,6 | 6/13<br>46,2*/** | 60/91<br>65,9 |

Примечания: * - достоверные различия между группами 1,2 P<0,05; ** - достоверные различия между группами 1,3 P<0,05; *** - достоверные различия между группами 2,3 P<0,05; N - количество лиц с соответствующим уровнем вирус-нейтрализующих антител по градации ВОЗ, M - всего лиц из соответствующей группы

Максимальный защитный уровень Ат (>500 BAU/ml) регистрировался у 65,9% обследованных. В группах МР с клинической манифестацией НКВИ в легкой и среднетяжелой/тяжелой формах в анамнезе количество лиц с максимальным уровнем Ат было сопоставимым - 68,3%; 67,6% (P>0,05). Меньшее количество лиц с уровнем > 500 BAU/ml регистрировалось в группе 3 (46,2%; P<0,05; P<0,05 по сравнению с группами 1, 2). Доля МР с ярко выраженной вируснейтрализующей активностью в 100,0% случаев в целом составила 17,6%. Статистически значимых различий между группами 1 и 2 по количеству лиц с данным уровнем Ат не обнаружено (19,5%; 16,2%; P>0,05). В группе 3 было статистически меньше лиц с уровнем Ат 150-500 BAU/мл по сравнению с группами 1 и 2 (P<0,05; P<0,05 по сравнению с группами 1, 2). Серонегативные результаты регистрировались в 3,3%, чаще регистрировались у лиц с бессимптомной инфекцией (7,6%; P<0,05; P<0,05 по сравнению с группами 1 и 2). Количество МР, имеющих уровень Ат с низким вируснейтрализующим эффектом в целом составило 5,5%, с уровнем 50,0% вируснейтрализующей активности также 6,6%. Максимальное количество МР с отрицательным результатами и низкими уровнями Ат регистрировались в группе 3 - 7,6% (P<0,05; P<0,05 по сравнению с группами 1 и 2); 15,4% (P<0,05; P<0,05 по сравнению с группами 1 и 2) [46].

В группе МР-реконвалесцентов НКВИ на отдаленных сроках после перенесенной инфекции через 2,5-3 года регистрируется достаточно высокая доля лиц с высоким уровнем специфических Ат - 83,5%. Достоверных статистических различий между группами пациентов с легкими и среднетяжелыми формами НКВИ не выявлено. Меньшее количество МР с высоким уровнем Ат и наибольшее с отрицательным результатом, низким и средним уровнями ассоциировано с бессимптомным течением НКВИ.

На основании динамики антител IgG у медицинских работников нами были выделены различные тренды изменения титров специфических IgG антител [30, 45, 80] (см. в разделе 4.1): G0 - медленный тренд, характеризующийся отсутствием превышения 95% верхней доверительной границы индивидуального

тренда; G1 - быстрый тренд снижения титра IgG, при котором также отсутствует превышение 95% верхней доверительной границы индивидуального тренда, начиная с третьего месяца после начала наблюдений; G2 - неравномерный тренд снижения IgG, при котором наблюдается превышение 95% верхней доверительной границы индивидуального тренда, начиная с третьего месяца наблюдений; G3 - тренд увеличения титра IgG [31, 81].

Данные по ассоциации трендов с уровнями Ат на этапе длительного наблюдения представлены в таблице 13. Уровень > 500 BAU/ml ассоциирован преимущественно с трендами G 2 (неравномерный) - 47,5% и G 0 (медленный) - 19,6%. Отрицательный уровень с трендом G 1 (низкий) – 80,0% и G 2 – 20,0%.

Таблица 13 - Частота распределения МР-реконвалесцентов НКВИ в зависимости от трендов гуморального иммунного ответа и уровней Ig G Ат

| Тренды гуморального иммунного ответа | Уровни IgG Ат | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | Отрица-тельный Абс.ч N/Абс.ч. M, P±m % | 11-79 BAU/ml Абс.ч N/Абс.ч. M, P±m % | 80-149,9 BAU/ml Абс.ч N/Абс.ч. M, P±m %% | 150-500 BAU/ml Абс.ч N/Абс.ч. M, P±m % | >500 BAU/ml Абс.ч N/Абс.ч. M, P±m % |
| G0 Медленный тренд снижения | - | - | 1/5<br>20,0 | 10/17<br>58,8 | 12/61<br>19,6 |
| G1 Быстрый тренд снижения | 3/3<br>100,0 | 4/5<br>80,0 | 2/5<br>60,0 | 1/17<br>5,9 | 10/61<br>16,4 |
| G2 Неравномерный тренд снижения | - | 1/5<br>20,0 | 1/5<br>20,0 | 5/17<br>29,4 | 29/61<br>47,5 |
| G3 Тренд увеличения | - | - | - | 1/17<br>5,9 | 10/61<br>16,4 |

Примечания: * - достоверные различия между группами P<0,05; N - количество лиц с соответствующим трендом иммунного ответа, M - всего лиц с соответствующим уровнем IgG Ат (Решетникова И.Д., 2024) [31]

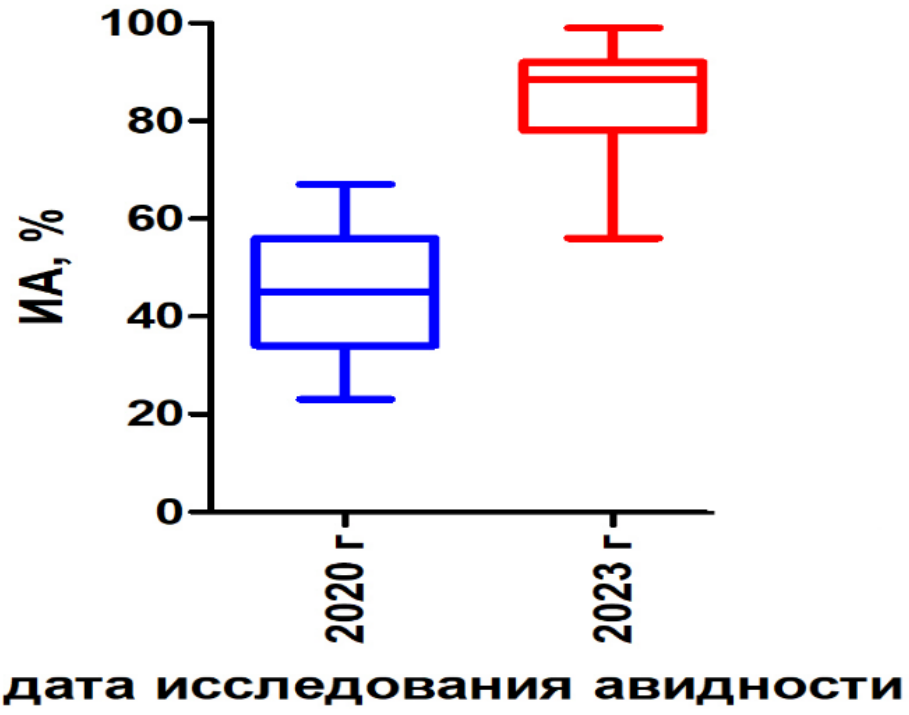
У большей части МР (91,1%) через 3 года после перенесённой НКВИ сформировались высокоавидные IgG Ат к N-белку SARS-CoV-2, у 73,3% МР высокоавидные IgG Ат к N-белку SARS-CoV-2 характеризовали показатедь ИА более 75,0%, при этом медиана титра антител в сыворотке крови составила 87,7

BAU/ml [46]. Только 8,9% МР через 3 года после перенесённой НКВИ сохраняли антитела низкой авидности и небольшой титр IgG Ат к N-белку SARS-CoV-2 (не более 37,2 BAU/ml) (Таблица 14).

Таблица 14 - Показатели авидности IgG Ат к N-белку SARS-CoV-2 у медицинских работников через 2,5-3 года после первичного инфицирования

| Показатели индекса авидности (ИА) | Медиана IgG Ат BAU/ml (95%ДИ) | Количество, МР (%) |
|---|---|---|
| Низкая авидность, ИА <50 (19-47) | 37,2 (25-95,6) | 8 (8,9%) |
| Высокая авидность, ИА (50-75) | 102,2 (4,09-195,0) | 16 (17,8%) |
| Очень высокаяавидность >75 (75-99) | 87,7 (1,6-77,8) | 66 (73,3%) |
| всего | 90 (100%) | |

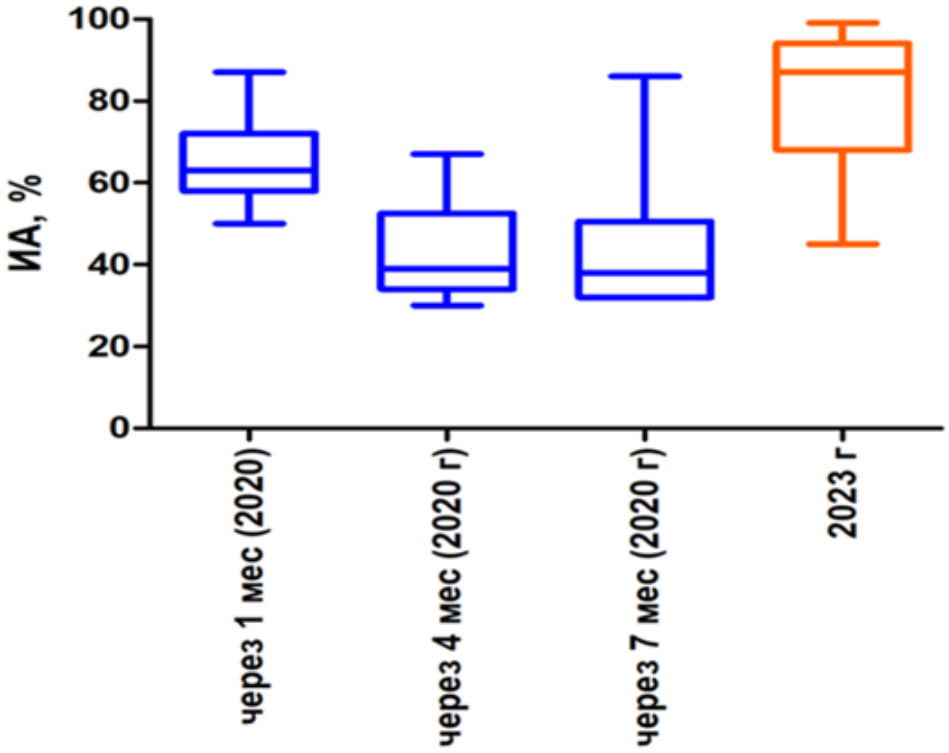
Динамика индекса авидности IgG Ат к N-белку SARS-CoV-2 в 2020 г. и 2023 г. представлена на рисунке 28.




Примечание: По оси ординат – индекс авидности, %, по оси абсцисс - точки проведенных исследований в 2020 г. и 2023 г.

Рисунок 28 - Динамика индекса авидности IgG Ат к N- белку SARS-CoV-2 в 2020 г. и 2023 г. [31]

Динамика индекса авидности IgG Ат к S-белку SARS-CoV-2 в 2020 г. и 2023 г. представлена на рисунке 29.




Примечание: По оси ординат – индекс авидности, %, по оси абсцисс - точки проведенных исследований 2020 г. (через 1,4 и 7 месяцев после сероконверсии) и 2023 г.

Рисунок 29 - Динамика индекса авидности IgG Ат к S-белку SARS-CoV-2 в течение 2,5-3 лет наблюдения

Такая же закономерность сохранялась у МР при формировании высокоавидных IgG Ат к поверхностному гликопротеину S-белку SARS-CoV-2 (Таблица 15). У большинства МР (78,9%) установлено формирование высокоавидных IgG Ат, титр этих Ат составлял от 216 до 328 BAU/ml. У 21,0% МР выявлены низкоавидные IgG Ат к S-белку SARS-CoV-2, титр составил не более 218 BAU/ml.

Нами выявлена значимая зависимость между эпизодами перенесённой НКВИ и формированием высокоавидных IgG Ат к N-белку SARS-CoV-2 ($r=0,36$, $p<0,05$) (Рисунок 30).

Таблица 15 - Показатели авидности IgG Ат к поверхностному гликопротеину S SARS-CoV-2 у медицинских работников через 2,5-3 года после первичного инфицирования

| Показатели индекса авидности (ИА) | Титр IgG Ат (BAU/ml) (95% ДИ) | Количество, МР (Абс./%) |
|---|---|---|
| Низкая авидность, ИА <50% (19,0-47,0%) | 218 (13,7-902) | 19 (21,0%) |
| Высокая авидность, ИА от 50,0-75,0% | 216 (4,7-805,5) | 28 (31,5%) |
| Очень высокая, ИА >75% (76,0-99,0%) | 328 (3,9-456,8) | 43 (47,4%) |
| Всего | 90 (100%) | |

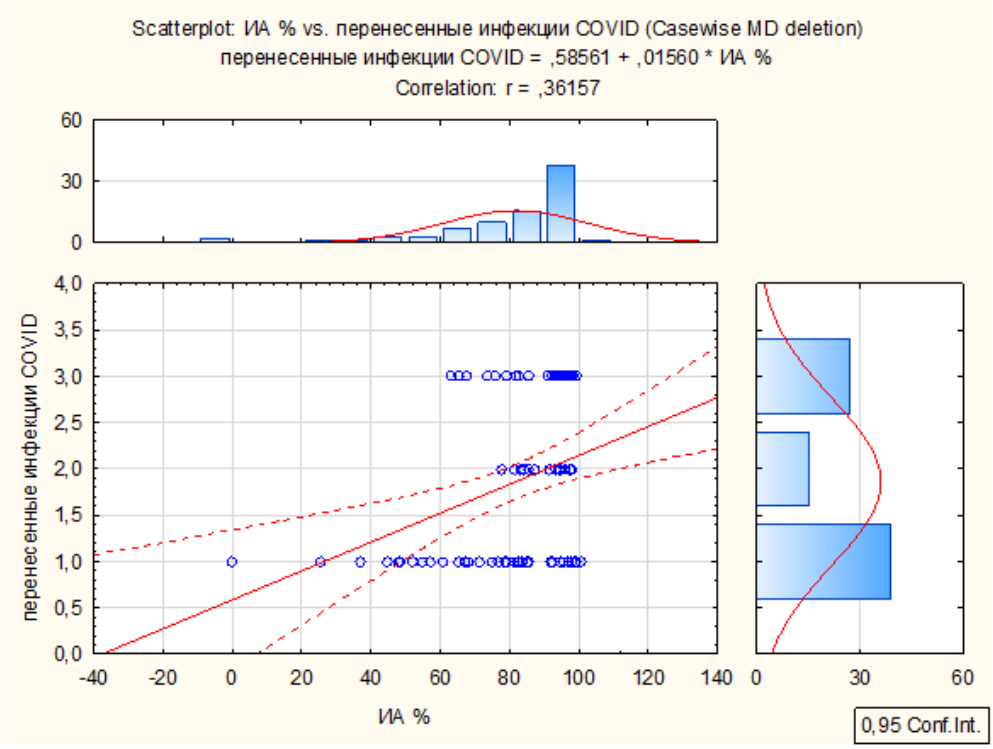



Рисунок 30 - Корреляционная связь между количеством эпизодов перенесенной новой коронавирусной инфекции COVID-19 и индексом авидности IgG антител к вирусу SARS-CoV-2

Таким образом, показатели ИА IgG Ат к SARS-CoV-2 зависят от степени тяжести перенесенной НКВИ [31]. Различия в индексах авидности обусловливали формирование в последующем разных трендов гуморального иммунного ответа, три из них характеризовались разными вариантами снижения титра IgG Ат, один – увеличением титра. В период поздней реконвалесценции у большей части МР выявлено формирование высокоавидных IgG Ат к S-белку и нуклеокапсиду SARS-CoV-2.

***

Для более полной оценки иммунного статуса, помимо гуморального ответа, необходимы исследования Т-клеточного иммунитета в отношении специфических антигенов вируса SARS-CoV-2.

# ГЛАВА 5. АДАПТИВНЫЙ КЛЕТОЧНЫЙ ИММУННЫЙ ОТВЕТ НА ВИРУС SARS-COV-2 В ГРУППЕ МЕДИЦИНСКИХ РАБОТНИКОВ ВРЕМЕННОГО ИНФЕКЦИОННОГО ГОСПИТАЛЯ

## 5.1. Изучение Т-клеточного иммунитета к различным иммуногенным пептидам и структурным белкам вируса SARS-CoV-2 у переболевших и вакцинированных лиц в группе риска медицинские работники

В рамках длительного мониторинга проводилось исследование Т-клеточного иммунного ответа на пептиды S-белка и структурные пептиды N, M, ORF3a, ORF7a (n=91). Исследования проведены в феврале-июне 2023 г., то есть через 2,5-3 года после перенесенной НКВИ [2, 4, 46, 54, 98, 108, 109, 110, 116, 124].

Интерес к изучению показателей клеточного иммунитета обусловлен распространением новых штаммов вируса SARS-CoV-2 и возможной неэффективностью только гуморального ИО к ним, так как Ат способны нейтрализовать вирус, тогда как Т-лимфоциты уничтожают инфицированные клетки (цитотоксические Т-клетки, цитотоксические лимфоциты CD8+), а также инициируют иммунный ответ, стимулируя выработку Ат и активность цитотоксических лимфоцитов путем создания оптимального цитокинового окружения. Была проведена оценка показателей Т-клеточного иммунитета активированных антигенами SARS-CoV-2 эффекторных CD4+ и CD8+Т-лимфоцитов по выработке ИФНγ, что на наш взгляд позволяет провести как количественный учет Т-клеток, отвечающих на стимуляцию антигенами вируса SARS-CoV-2 так и оценить индивидуальный Т-клеточный ИО (Рисунок 31) [35]. Как известно, Т-клетки способны распознавать короткие антигенные пептиды, поэтому клеточный иммунитет в меньшей степени ограничен мутациями вируса, чем гуморальный. Т-клеточный ИО направлен в том числе против антигенов вируса SARS-CoV-2, не подверженных мутациям.

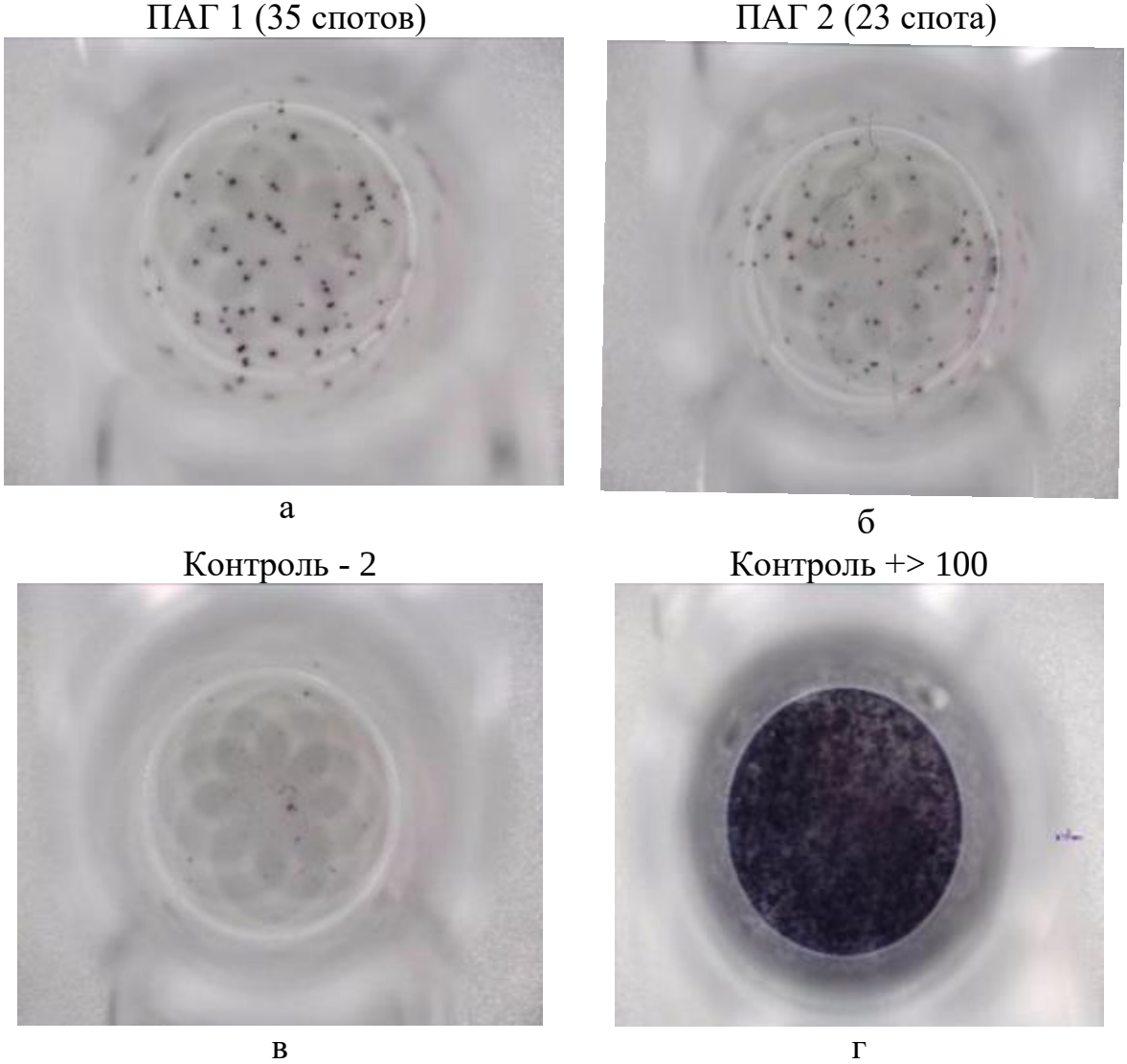
На рисунке 31 представлена микрофотография лунок планшета «ТиграТест® SARS-CoV-2» у МР-реконвалесцента COVID-19, где показана продукция ИФН-γ как в ответ на пептиды S-белка (а), так и на структурные белки (N, M, ORF3a, ORF7a). Спонтанная продукция ИФН-γ Т-лимфоцитами не превышает допустимого уровня. Положительный результат «ТиграТест® SARS-CoV-2» может потенциально свидетельствовать о сформировавшемся Т-клеточном иммунитете к вирусу SARS-CoV-2 в результате перенесённой НКВИ (в том числе и в бессимптомной форме) и/или вакцинации [46, 91, 124].

**Изучение Т-клеточного ответа на пептиды S-белка и пептиды N, M, ORF3a, ORF7a у МР-реконвалесцентов COVID 19 после 2,5-3 лет после перенесенной инфекции.**

Вопрос о сохранности и продолжительности иммунитета к короновирусам находится в центре внимания многих исследователей [215, 241, 275]. Так, по данным F. Tang, Y. Quan, Zh.-T. Xin и др. (2011), после перенесенного тяжелого острого респираторного синдрома (ТОРС) спустя 6 лет выявлялись специфичные Т-клетки памяти [212, 121]. В исследованиях O.-W. Ng, A. Chia, A.T. Tan и др. (2016) [222], показано, что специфичные CD8+ Т-лимфоциты к вирусу SARS-CoV-1 детектировались спустя 11 лет после перенесенного тяжелого острого респираторного синдрома (ТОРС), что свидетельствует о длительном поддержании Т-клеточного иммунитета [22, 121, 222]. Сообщается о поддержании иммунитета к вирусу SARS-CoV-2 в течение 6, 9 и более месяцев наблюдений [151, 159, 231, 243]. Таким образом, лица, перенесшие НКВИ сохраняют иммунную память в течение не менее 6-9 месяцев, при этом необходимы дальнейшие динамические исследования для уточнения сроков снижения Т-клеточного иммунного ответа, требующее профилактической вакцинации и/или ревакцинации.

С этой целью мы провели оценку Т-клеточного ИО к пептидам SARS-CoV-2 через 2,5-3 года после перенесенной COVID-19. Уровень индивидуального ИО к S-пептиду SARS-CoV-2 (ПАГ 1) и структурным белкам N, M, ORF3a и ORF 7 (ПАГ 2) был вариабельным - от 13 до 100 и более спотов. Вариабельность

показателей может определяться не только сформированным и сохранным Т-клеточным ответом, но и эпизодической инфекционной нагрузкой, о чем свидетельствует более выраженный ответ на пул пептидов N,M,ORF3a и ORF7a. Наши данные согласуются с данными литературы указывающими на вариабельность Т-клеточного иммунитета [96].




Примечание: Микрофотография лунок планшета (увеличение в 8 раз): а - после инкубации с добавлением пула пептидов S-белка; б – после инкубации с добавлением пула пептидов структурных белков (N, M, a ORF3a, ORF7a); в - после инкубации без добавления специфического АГ (оценка спонтанной продукции ИФН-γ); г – после инкубации с добавлением моноклонального АТ ОКТ-3, для неспецифической индукции ИФН-γ в целях оценки функциональной активности Т-лимфоцитов

Рисунок 31 - Визуализация Т-клеточного ответа
с помощью «ТиграТест® SARS-CoV-2»

Нами предложено ранжирование результатов «ТиграТест® SARS-CoV-2» на 5 классов по количеству спотов в лунке для оценки индивидуального Т-клеточного иммунитета, основываясь на анализе литературы [89] и собственных данных. Отрицательный результат – 0 класс; положительные результаты Т-клеточного ИО: I класс – от 12 до 20 спотов (низкий уровень); II класс - от 21 до 40 спотов (средний уровень); III класс – от 41 до 100 спотов; (высокий уровень); IV класс - более 100 спотов (очень высокий уровень) [46, 98, 109, 110, 124].

Частота отрицательных результатов в ПАГ 1 составила 27,47±8,928%, в ПАГ 2 была значительно ниже - 13,19±9,767% ($\chi$2-критерий 5,733, p=0,017). Специфичность и чувствительность «ТиграТест® SARS-CoV-2» на S-пептиды в ПАГ 1 составила 72,53±5,495%, а на структурные белки N,M,ORF3a и ORF7a в ПАГ 2 была значительно выше - 86,81±3,807 % (Рисунок 32) [46, 124].

Специфически активированные антигенами шиповидного (S) протеина CD4+ и CD 8+ Т-лимфоциты формируют основную ось адаптивного ИО к вирусу SARS-CoV-2. Отрицательный результат Т-клеточного ИО на S-протеин при долговременном мониторинге может быть основанием для решения вопроса о ревакцинации [46, 124].

По данным нашего исследования в ПАГ 1 частота встречаемости результатов I класса составила 27,47±4,679, II-го - 26,37±4,619, III-го - 14,29±3,668, и IV класса - 4,4±2,149. Наиболее часто (в 81,32±4,531%) регистрировались результаты Т-клеточного ИО отрицательного, низкого и среднего уровней (0, I и II классы). Значения III класса встречались достоверно реже, чем 0 и I классов ($\chi$2-критерий 4,789, p=0,029), II класса ($\chi$2-критерий 4,105, p=0,043). Результаты IV класса регистрировались реже, чем 0 и I классов (точный метод Фишера, p=0,00012), II класса (точный метод Фишера, p = 0,00026) и III класса (точный метод Фишера, p=0,019).

В ПАГ 2 частота встречаемости результатов I класса составила 16,48±3,889, II-го - 38,46±5,1, III-го – 25,27±4,556 и IV классов – 6,59±2,601. В 54,95±7,036% случаев преобладали [100, 112, 113, 127] результаты среднего и высокого уровней

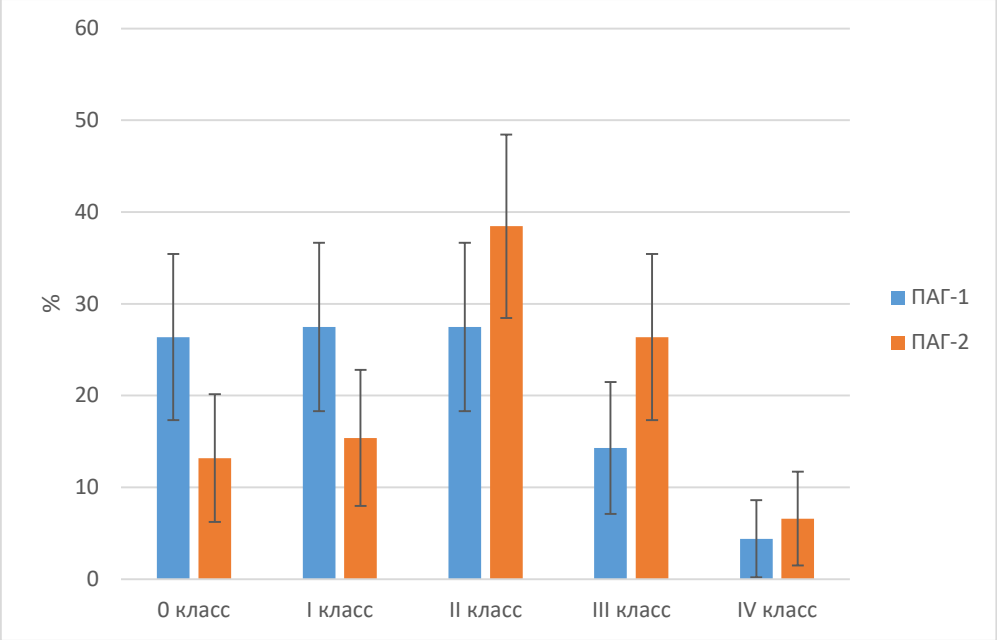
(II и III классы). ИО II класса встречался достоверно чаще, чем 0 класса (χ2-критерий 4,28, p=0,039) и I класса (χ2-критерий 11,03, p=0,001). Значения III класса регистрировались достоверно чаще, чем 0 класса (χ2-критерий 4,28, p=0,039). Результаты IV класса встречались реже, чем I класса (критерий Хи-квадрат 4,36, p=0,037), II класса (χ2-критерий 26,477, p=0,001) и III класса (χ2-критерий 11,854, p=0,001). Согласно литературным данным Т-клеточный ИО на пептиды S-белка вируса SARS-CoV-2 в ПАГ 1 является отражением поствакцинального иммунитета, характерного для иммунизации векторными и мРНК-вакцинами, кодирующими только S-антиген (если не было перенесенного COVID-19). Структурные белки N, M, ORF3a и ORF7a в ПАГ 2 отражают формирование естественного иммунитета после перенесенной НКВИ [90]. Высокий уровень Т-лимфоцитов, способных реагировать на пептидные антигены N, M, ORF3a и ORF7a свидетельствует о более эффективной сохранности ИО, приобретенного естественным путем. Выявленный нами высокий уровень Т-лимфоцитов, способных реагировать на антигены структурных белков N, M, ORF3a и ORF 7a по данным некоторых авторов может быть обусловлен также инфицированием другими бета-коронавирусами, которые индуцируют длительный Т-клеточный ИО против общего для них N-белка [158] (Рисунок 32).

Выявленная нами наиболее частая встречаемость результатов высокого и среднего уровня Т-клеточного ИО на пептиды белков N, M, ORF3a и ORF7a, как и превалирование Т лимфоцитов, способных реагировать на антигены N, M, ORF3a и ORF 7a свидетельствует о более эффективной сохранности естественного иммунитета по сравнению с поствакцинальным при долговременном мониторинге (Рисунок 32).

Отрицательный результат «ТиграТест SARS-CoV-2» на пул пептидов S-белка SARS-CoV-2 может служить основанием для решения вопроса о ревакцинации.

Показатели Т-клеточного ИО на пептиды S-белка (ПАГ 1) и пептиды N,M,ORF3a и ORF7a (ПАГ 2) вируса SARS-CoV-2 в зависимости от тяжести перенесенной COVID-19 у МР представлены в Таблице 16 и на Рисунке 33 [46,

124]. В таблице 16 и на рисунке 33 представлена частота распределения МР в зависимости от тяжести перенесенного COVID-19 и показателей Т-клеточного ИО на пептиды S-белка (ПАГ 1), ранжированные по классам. Максимальная частота отрицательных результатов на пептиды S-протеина регистрировалась при легкой и бессимптомной форме НКВИ, минимальная - при тяжелой/среднетяжелой форме. Показана достоверно более частая встречаемость отрицательного результата в группе МР с легкими формами, чем со среднетяжёлыми/ тяжелыми (χ2-критерий 5,43, p=0,02, ТМФ p=0.018).




Примечание: По оси ординат – доля медицинских работников, %; По оси абсцисс - ранжирование Т-клеточного ИО на классы по количеству спотов: Отрицательный результат – 0 класс; Положительный результат: I класс (низкий уровень) - от 12 до 20 спотов; II класс (средний уровень) - от 21 до 40 спотов; III класс (высокий уровень) – от 41 до 100 спотов; IV класс (очень высокий уровень) - более 100 спотов [46, 98,109, 110]

Рисунок 32 – Частота распределения медицинских работников в зависимости от показателей Т-клеточного иммунного ответа, ранжированного по классам, к S-белку вируса SARS-CoV-2 (ПАГ 1) и к пептидам N, M, ORF3a и ORF7a (ПАГ 2) [111]

Получены достоверные различия в частоте встречаемости положительных результатов по классам между группами МР, перенесшими легкую форму COVID-19 и среднетяжелую/ тяжелую форму COVID-19 (χ2-критерий 0,00005,

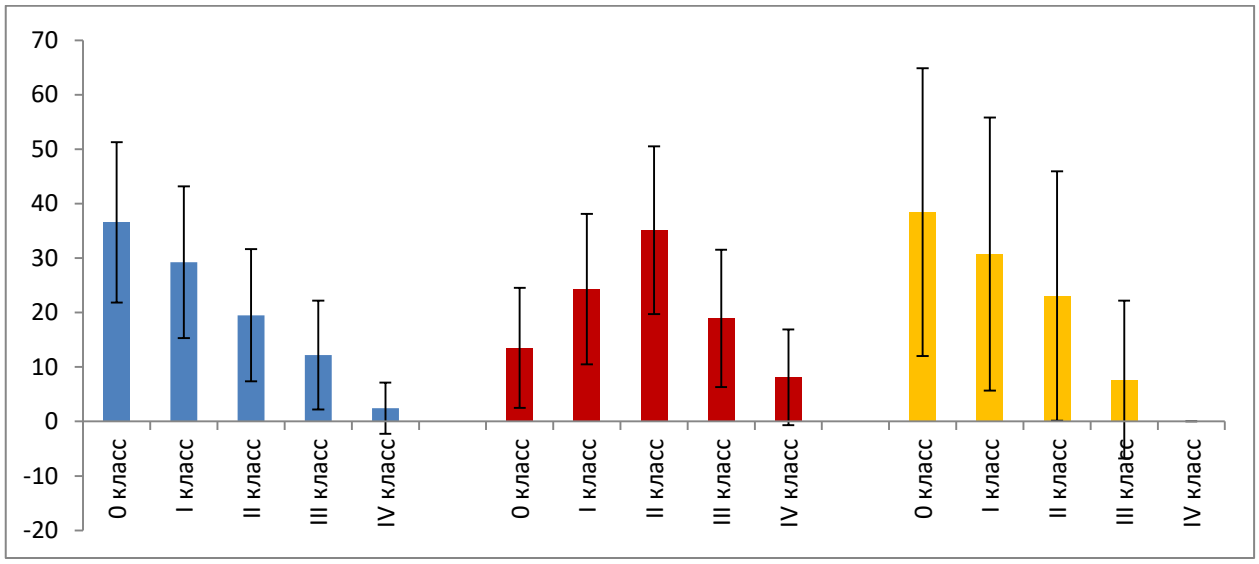
p=0,021). Разницу с группой МР с бессимптомными формами НКВИ подсчитать не удалось в связи с отсутствием иммунного ответа IV класса в группе МР с бессимптомными формами.

Таблица 16 – Частота распределения медицинских работников в зависимости от тяжести перенесенной COVID-19 и показателей Т-клеточного иммунного ответа, ранжированного по классам, на S-белок (ПАГ 1) и пептиды N, M, ORF3a и ORF7a (ПАГ 2)

| Т-клеточный ответ на пептидные антигены белков SARS-CoV-2, ранжированный по классам | Форма тяжести перенесенного COVID-19 | | |
|---|---|---|---|
| | Группа 1 | Группа 2 | Группа 3 |
| | Реконвалесценты COVID-19 | | |
| | легкие формы, %±m | среднетяжелые/тяжелые формы, %±m | бессимптомные формы, %±m |
| 0 класс отрицательный результат (0-11 спотов в лунке) | пептиды S-белка (ПАГ 1) | | |
| | 36,59±7,522 | 13,51±5,62 | 38,46±13,493 |
| | белки N,M,ORF3a и ORF7a (ПАГ 2) | | |
| | 14,63±5,52 | 8,11±4,487 | 23,08±11,685 |
| I класс положительный низкий уровень (12-20 спотов в лунке) | пептиды S-белка (ПАГ 1) | | |
| | 29,27±7,106 | 24,32±7,053 | 30,77±12,801 |
| | белки N,M,ORF3a и ORF7a (ПАГ 2) | | |
| | 21,95±6,464 | 8,11±4,487 | 23,08±11,685 |
| II класс положительный средний уровень (21-40 спотов в лунке) | пептиды S-белка (ПАГ 1) | | |
| | 19,51±6,189 | 35,14±7,848 | 23,08±11,685 |
| | белки N,M,ORF3a и ORF7a (ПАГ 2) | | |
| | 34,15±7,406 | 45,95±8,193 | 30,77±12,801 |
| III класс Положительный высокий уровень (41-100 спотов в лунке) | пептиды S-белка (ПАГ 1) | | |
| | 12,2±5,11 | 18,92±6,439 | 7,69±7,391 |
| | белки N,M,ORF3a и ORF7a (ПАГ 2) | | |
| | 21,95±6,464 | 29,73±7,514 | 23,08±11,685 |
| IV класс положительный очень высокий уровень (более 100 спотов в лунке) | пептиды S-белка (ПАГ 1) | | |
| | 2,44±2,409 | 8,11±4,487 | 0±0 |
| | белки N,M,ORF3a и ORF7a(ПАГ 2) | | |
| | 7,32±4,067 | 8,11±4,487 | 0±0 |

Наши результаты согласуются с данными исследований, сообщающих о наличии высокого уровня Т-клеток памяти, специфичных к S-белку при тяжелой форме инфекции, если такие клетки обнаруживались сразу после перенесённого заболевания [231, 235] на протяжении 9 и более месяцев, а также о формировании и сохранности определенных уровней Т-клеточного ответа, в том числе, и при

лёгких формах COVID-19 [89, 96, 246]. Низкие значения Т-клеточного ИО встречались реже при среднетяжелой форме по сравнению с легкой формой НКВИ (Таблица 16, Рисунок 33). Максимальная частота положительных результатов среднего, высокого и очень высокого классов отмечалась при среднетяжелом/тяжелом течении, по сравнению с легким.




Примечание: легкие формы (группа 1)
среднетяжелые и тяжелые формы (группа 2)
бессимптомные формы (группа 3)

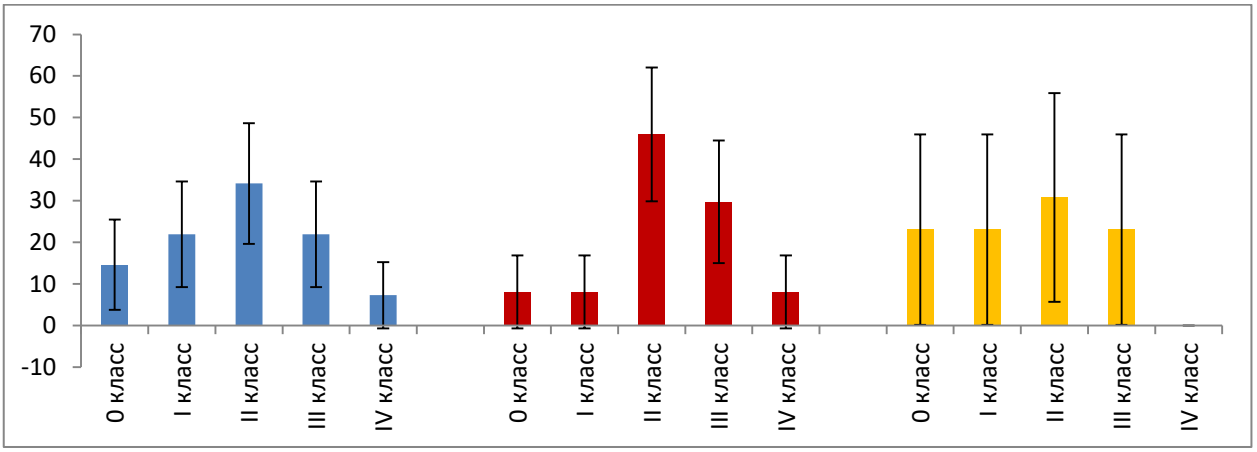
Примечание: По оси ординат – доля медицинских работников, %;
По оси абсцисс – группы медицинских работников: Группа 1 Реконвалесценты легких форм COVID-19, n=41; Группа 2 Реконвалесценты среднетяжелых/тяжелых форм COVID- 19, n=37; Группа 3 Перенесшие бессимптомные формы COVID- 19, n=13

Рисунок 33 – Частота распределения медицинских работников в зависимости от тяжести перенесенной COVID-19 и уровней Т-клеточного иммунного ответа, ранжированного по классам, на пептиды S-белка (ПАГ 1)

Таким образом, сохранность Т-клеточного ИО при среднетяжелых/тяжелых формах COVID-19 в анамнезе, по сравнению с легкими выше, что определяется более низкой частотой отрицательных результатов и положительных низкого уровня и более высокой частотой положительных результатов среднего, высокого и очень высокого уровня Т-клеточного ИО.

Принципиально важными, на наш взгляд, являются вопросы формирования и сохранности Т-клеточного ИО при бессимптомных формах НКВИ в анамнезе. В исследовании T. Sekine, A.-P. Perez-Potti, O.R. Ballesteros и др. (2020), у серонегативных лиц с бессимптомными формами НКВИ в 41,0% случаев выявлены специфические CD4+- и CD8+-Т-лимфоциты, что свидетельствует о формировании в этой когорте Т-клеточного иммунитета к SARS-CoV-2 [246]. В нашем исследовании в группе МР с бессимптомными формами частота положительных результатов в ПАГ I составила 61,54±9,431%, что сопоставимо с результатами, полученными у МР, перенесших легкие формы НКВИ (63,41±6,493%). Частота положительных результатов низкого и среднего уровня была сопоставимой между группами МР с легкими и бессимптомными формами НКВИ. У МР с бессимптомными формами по сравнению с перенесшими легкие формы НКВИ в ПАГ 1 значительно реже регистрировались положительные результаты высокого и очень высокого уровня Т-клеточного ИО. Сохранность реакций Т-клеточного ИО на пептиды S-белка вируса SARS-CoV-2 зависела от степени тяжести перенесенной НКВИ. При бессимптомной форме сохранность Т-клеточного ответа была сопоставима с легкой формой инфекции. У МР с бессимптомными формами НКВИ при сравнении с перенесшими заболевание в легкой форме чаще регистрировались отрицательные значения, и не регистрировались результаты очень высокого класса.

На Рисунке 34 представлена частота распределения МР в зависимости от тяжести перенесенной COVID-19 и показателей Т-клеточного ИО на пептиды N, M, ORF3a и ORF7a (ПАГ 2), ранжированные по классам. У МР которые перенесли среднетяжелую/тяжелую форму COVID-19 через 2,5-3 года после инфицирования по сравнению с перенесшими заболевание в легкой форме, регистрировалась меньшая частота отрицательных результатов и положительные результаты всех классов на пептиды N, M, ORF3a и ORF7a вируса SARS-CoV-2 встречались наиболее часто, но данные различия были не достоверными ($\chi 2$-критерий $p>0,05$, ТМФ $P>0,05$).




Примечание: легкие формы (группа 1)
среднетяжелые и тяжелые формы (группа 2)
бессимптомные формы (группа 3)

Примечание: По оси ординат – доля медицинских работников, %; по оси абсцисс – группы медицинских работников: Группа 1 - Реконвалесценты легких форм COVID-19, n=41; Группа 2 - Реконвалесценты среднетяжелых/тяжелых форм COVID-19, n=37; Группа 3 - Перенесшие бессимптомные формы COVID-19, n=13

Рисунок 34 – Частота распределения медицинских работников в зависимости от тяжести перенесенной COVID-19 и показателей Т-клеточного иммунного ответа, ранжированного по классам, на пептиды N, M, ORF3a и ORF7a (ПАГ 2) [46]

Сохранность Т-клеточного ИО на пептиды S-белка вируса SARS-CoV-2 ассоциирована, таким образом, со степенью тяжести перенесенной НКВИ. При бессимптомной форме сохранность Т-клеточного ИО сопоставима с легкой формой инфекции. Вариабельность индивидуального Т-клеточного ИО по нашему мнению может иметь несколько объяснений.

При развитии тяжелого/среднетяжелого течения при высокой вирусной нагрузке индуцируется большее количество специфически активированных Т-клеток (как CD4+, так и CD8+) и соответственно большая их часть будет сохраняться как клетки памяти. После элиминации вируса эффекторные Т-клетки подвергаются апоптозу, часть из них образует пул Т-клеток памяти, соответственно, усиление процессов апоптоза под влиянием других патогенов приведет к более низкому количеству специфических Т-клеток при долговременном мониторинге. У некоторых лиц в силу индивидуальных

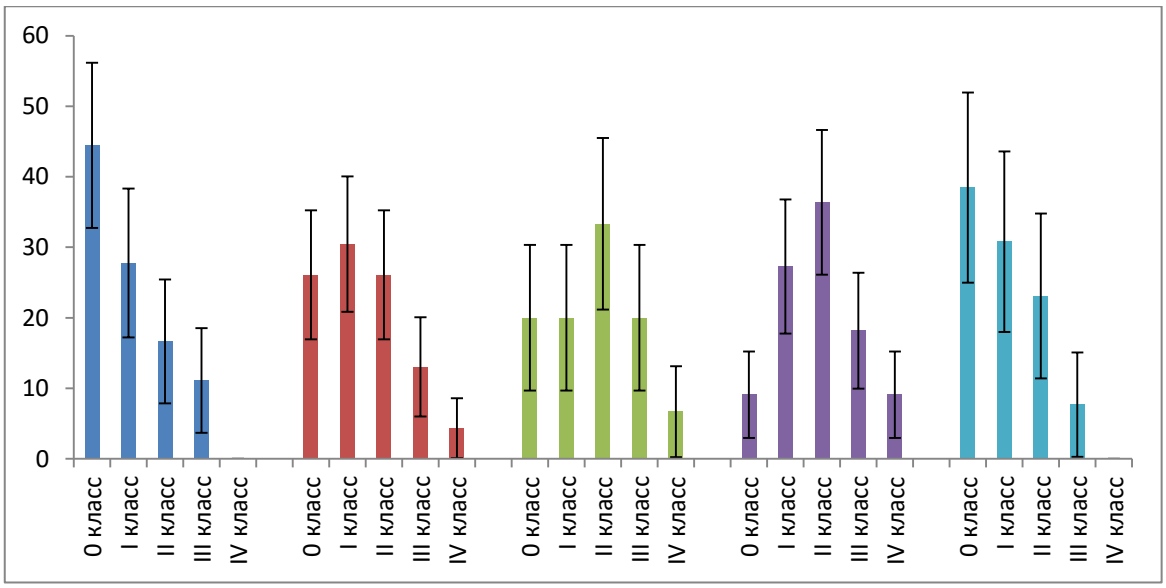
особенностей ИО (высокие уровни супрессорных натуральных и индуцированных на периферии Т-клеток с супрессорной/регуляторной функцией) специфические эффекторные Т-лимфоциты и Т-клетки памяти будут быстрее элиминироваться из кровотока. Показано также, что вирус SARS-CoV-2 оказывает влияние на запуск внутриклеточных врожденных механизмов, связанных с ИФН 1-го и 3-го типов. Отсутствие полноценного ответа врожденного иммунитета ограничивает и активацию специфических адаптивных иммунных реакций, что приведет к низкой активности клеточного иммунитета при бессимптомных и легких формах инфекции [91, 196].

**Оценка сохранности Т-клеточного иммунного ответа при долговременном мониторинге (2,5-3 года) у МР-реконвалесцентов COVID-19 в зависимости от проведенной вакцинации** [46, 124]. В настоящее время, все больше внимания уделяется вопросу о продолжительности и сохранности иммунитета после вакцинации, степени его защиты от повторного заражения COVID-19 особенности в группах профессионального риска. Для учета вакцинации на параметры Т-клеточного ИО у МР были выделены подгруппы: в группе 1 МР с легкими формами НКВИ выделено две подгруппы - 1a (МР с легкими формами COVID-19, не вакцинированные; n=18) и 1b (МР с легкими формами COVID-19, вакцинированные; n=23); в группе 2 МР с среднетяжелыми/тяжелыми формами НКВИ выделены две подгруппы - 2a (МР со среднетяжелыми/тяжелыми формами COVID-19, не вакцинированные; n=15) и 2b (МР со среднетяжелыми/тяжелыми формами COVID-19 вакцинированные; n=22); в группе 3 – МР [46, 124] с бессимптомными формами, в этой группе все МР были вакцинированы; n=13. В группах 1b, 2b, 3 оценивали сохранность Т-клеточного специфического иммунитета который принято обозначать как гибридный, в группах 1a и 2a – постинфекционный [96, 200].

Результаты исследования Т-клеточного иммунитета к S-белку в ПАГ 1 в группах МР-реконвалесцентов COVID-19 разной степени тяжести, не получивших вакцинацию и вакцинированных представлены в Таблице 17 и на Рисунке 35.

Таблица 17 - Частота распределения медицинских работников в зависимости от проведенной вакцинации, степени тяжести COVID-19 и показателей Т-клеточного иммунного ответа на пептиды S-белка (ПАГ 1), ранжированного по классам [98,109, 110]

| Т-клеточный ИО на S- белок в ПАГ 1, ранжированный по классам | Степень тяжести COVID-19 и вакцинальный статус | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | Легкие формы | | Среднетяжелые/ тяжелые формы | | Бессимптомные формы, вакцинированные, Группа 3 Абс.ч N/Абс.ч. M, P±m % |
| | невакцинированные, Группа 1 a, Абс. N/Абс. M, P±m % | вакцинированные, Группа 1 b, Абс.ч N/Абс.ч. M, P±m % | невакцинированные, Группа 2 a, Абс.ч N/Абс.ч. M, P±m % | вакцинированные, Группа 2 b, Абс.ч N/Абс.ч. M, P±m % | |
| 0 класс<br>отрицательный результат<br>(0-11 спотов в лунке) | 8/18<br>44,44±11,712 | 6/23<br>26,09±9,156 | 3/13<br>20±10,328 | 2/22<br>9,09±6,129 | 5/13<br>38,46±13,493 |
| I класс<br>положительный низкий уровень<br>(12-20 спотов в лунке) | 5 /18<br>27,78±10,557 | 7 / 23<br>30,43±9,594 | 3 / 13<br>20±10,328 | 6 / 22<br>27,27±9,495 | 4 / 13<br>30,77±12,801 |
| II класс<br>положительный средний уровень<br>(21-40 спотов в лунке) | 3 / 18<br>16,67±8,784 | 6 / 23<br>26,09±9,156 | 5 / 13<br>33,33±12,172 | 8 / 22<br>36,36±10,256 | 3 / 13<br>23,08±10,256 |
| III класс<br>положительный высокий уровень<br>(40-100 спотов в лунке) | 2 / 18<br>11,11±7,407 | 3 / 23<br>13,04±7,022 | 3 / 13<br>20±10,328 | 4 / 22<br>18,18±8,223 | 1 /13<br>7,69±7,391 |
| IV класс<br>положительный очень высокий уровень<br>(более 100 спотов в лунке) | 0±0 | 1 /23<br>4,35±4,252 | 1 / 13<br>6,67±6,441 | 2 / 22<br>9,09±6,129 | 0±0 |
| Примечания: N - количество лиц с соответствующим классом Т клеточного иммунного ответа на пептидные антигены S-белка SARS-CoV-2 (ПАГ 1), M - всего лиц с соответствующей степенью тяжести COVID-19 и соответствующим вакцинальным статусом [46] | | | | | |




Примечание:

легкие формы не вакцинированные (группа 1a)
легкие формы вакцинированные (группа 1b)
среднетяжелые и тяжелые формы не вакцинированные (группа 2a)
среднетяжелые и тяжелые формы вакцинированные (группа 2b)
бессимптомные формы вакцинированные (группа 3)

Примечание: По оси ординат : доля медицинских работников, %; по оси абсцисс - группа медицинских работников (Группа 1 – реконвалесценты легких форм COVID-19, невакцинированные; группа 1 b – реконвалесценты легких форм COVID-19, вакцинированные; группа 2 a – реконвалесценты среднетяжелых/ тяжелых форм COVID-19, не вакцинированные; группа 2 b – реконвалесценты среднетяжелых форм COVID-19, вакцинированные; группа 3 – получившие антитела бессимптомно, вакцинированные. Вакцинированные – группа 1b, 2b,3

Рисунок 35 – Частота распределения медицинских работников в зависимости от проведенной вакцинации, степени тяжести COVID-19 и показателей Т-клеточного иммунного ответа, ранжированного по классам на пептиды S-белка (ПАГ 1) [46]

При клинически манифестных формах реже регистрируются отрицательные результаты на пептиды S-белка при гибридном иммунитете по сравнению с постинфекционным - в группах МР, перенесших легкие формы у вакцинированных (в 26,09±9,156%) по сравнению с невакцинированными (в 44,44±11,712%), в группах МР, перенесших среднетяжелый/тяжелый COVID-19, у вакцинированных (в 9,09±6,129%) по сравнению с невакцинированными (в 20,0±10,328%).

Распределение по классам ИО на пептиды S-белка в ПАГ 1 среди не вакцинированных МР между легкой формой НКВИ и среднетяжелой/тяжелой

формой НКВИ имело достоверные различия (χ2-критерий 0,018, p=0,00004).

Также достоверные различия наблюдались в группе вакцинированных МР между легкой формой НКВИ и среднетяжелой/тяжелой формами НКВИ (χ2-критерий 0,051, p=0,0003). У вакцинированных МР с легкими формами НКВИ по сравнению с невакцинированными чаще регистрировались положительные результаты всех уровней Т-клеточного ответа [46, 124]: I класса - в 1,3 раза, II класса – в 1,6, III класса – в 1,2 и IV класса - в 4,2 раза чаще. Распределение по классам ИО в ПАГ 1 между вакцинированными и не вакцинированными МР с легкой формой НКВИ имело достоверные различия (χ2-критерий 0,396, p=0,017). В группе МР, перенесших среднетяжелые и тяжелые формы НКВИ среди получивших вакцинацию по сравнению с невакцинированными результаты так же чаще регистрировались положительные результаты всех уровней Т-клеточного ИО: I класса - в 1,8 раз, II класса – в 1,2 раза и IV класса – чаще в 1,2 раза. Также достоверные различия были выявлены между группами вакцинированных и не вакцинированных пациентов со среднетяжелой/тяжелой формами НКВИ (χ2-критерий 0,423, p=0,019).

Таким образом, результаты нашего исследования свидетельствуют, что сохранность гибридного Т-клеточного иммунитета на пептиды S-белка через 2,5-3 года после перенесенной НКВИ значительно выше, по сравнению с постинфекционным у реконвалесцентов легких, так и среднетяжелых/тяжелых форм COVID-19 [46, 124]. Сохранность гибридного иммунитета на пептиды S-белка при долговременном мониторинге при бессимптомном течении, в отличие от легкого, характеризовалась достоверно более высокой частотой отрицательных и низкой частотой результатов высокого и очень высокого уровня (χ2-критерий 0,431, p=0,009).

Сопоставление результатов гибридного Т-клеточного ИО на пептиды S-белка между бессимптомными и клинически манифестными формами НКВИ показало, что частота отрицательных результатов в группе МР с бессимптомными формами, которые все были вакцинированными составила 38,46±13,493% и статистически значимо отличалась от групп вакцинированных с

легкими формами (26,09±9,156%) и среднетяжелыми/ тяжелыми формами (9,09±6,129%). В группе МР с бессимптомными формами частота результатов низкого и среднего уровня Т-клеточного ответа была сопоставима с группой МР с легкими формами, получившими вакцинацию. Частота регистрации высоких (7,69±7,391%) и очень высоких классов (0,0%) Т-клеточного ИО у МР с бессимптомными формами была статистически значимо ниже, чем у перенесших легкие формы НКВИ и вакцинированных (в 11,11±7,407% и 13,04±7,022%). По сравнению с группой МР, перенесших среднетяжелые/тяжелые формы НКВИ и получивших вакцинацию, в группе МР с бессимптомными формами, частота положительных результатов была ниже: II класса - в 1,5 раза, III класса - в 2,3 раза и IV класса – 9,1 раза. Анализ гибридного иммунитета при сравнении групп вакцинированных МР с бессимптомными и легкими формами НКВИ нами показано, что у перенесших бессимптомные формы чаще регистрировались отрицательные результаты и реже классы Т-клеточного ответа высокого и очень высокого уровня. Схожие результаты были показаны при оценке гибридного иммунитета на основе мРНК-вакцин [172], хотя способ оценки клеточного иммунитета был несколько иной.

Результаты исследования Т-клеточного ИО на пептиды N,M,ORF3a и ORF7a (ПАГ 2), ранжированныого по классам в группах МР-реконвалесцентов COVID-19 разной степени тяжести, не получивших вакцинацию и вакцинированных представлены в Таблице 18 и на Рисунке 36 [80, 124].

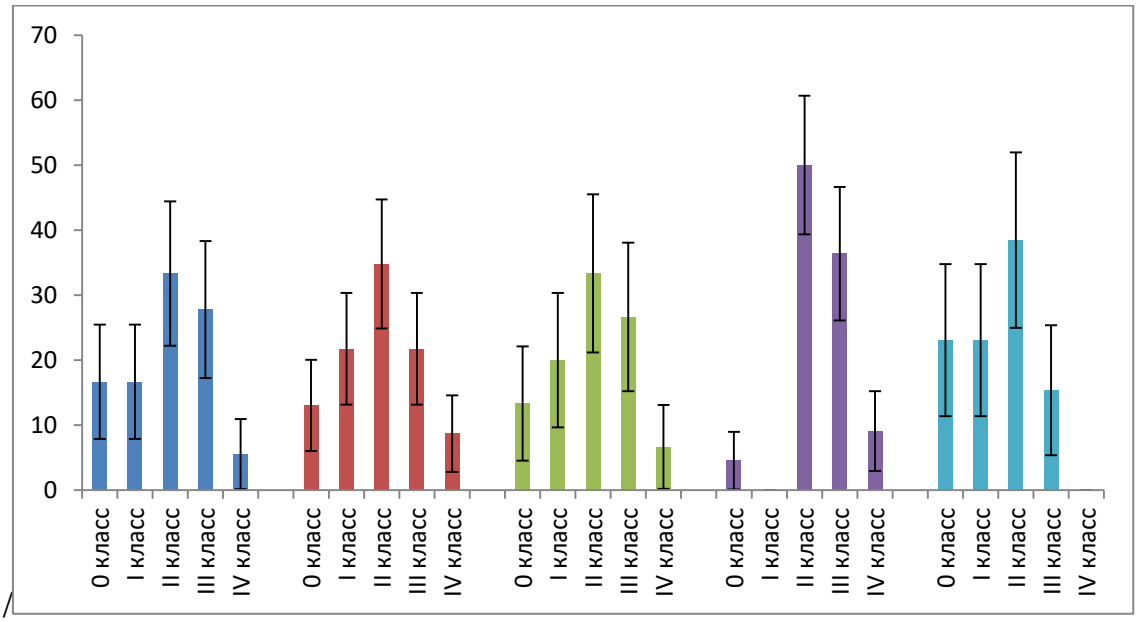
При клинически манифестных формах НКВИ отрицательные результаты на антигены N, M, ORF3a и ORF7a реже регистрировались у вакцинированных МР с легкими формами (13,04±7,022%) по сравнению с невакцинированными (16,67±8,784%), у вакцинированных со среднетяжелыми формами (4,55±4,441%) среднего классов в группе МР с легкими формами НКВИ, как у вакцинированных, так и не получивших вакцину была сопоставимой. В группе МР с легкими формами, среди получивших вакцинацию по сравнению с не вакцинированными отмечается более высокая частота результатов очень высокого класса (8,7±5,875% и 5,56±5,399%). Распределение по классам ИО в

ПАГ 2 между вакцинированными и не вакцинированными МР с легкой формой НКВИ не имело достоверных различий (χ2-критерий 0,772, p=0,057). Не было выявлено достоверных различий в группе не вакцинированных МР между перенесшими легкие и среднетяжелые/тяжелые формы НКВИ (χ2-критерий 0,917, p=0,077). В группе МР со среднетяжелыми/тяжелыми формами НКВИ среди получивших вакцинацию по сравнению с не вакцинированными реже встречались результаты I класса (0% и 20±10,328%), чаще регистрировались результаты II класса (50±10,66% и 33,33±12,172%), III (36,36±10,256% и 26,67±11,418%), IV классов (9,09±6,129% и 6,67±6,441%).

Получены достоверные различия в группе вакцинированных МР между перенесшими легкие и среднетяжелые/тяжелые формы НКВИ (χ2-критерий 0,473, p=0,013). Среди вакцинированных МР максимальная частота отрицательных результатов регистрировалось в группе с бессимптомными формами (23,08±11,685%), что достоверно отличалось от групп МР с клинически манифестными формами: перенесшие легкие формы и вакцинированные (13,04±7,022%) и среднетяжелые/тяжелые формы и вакцинированные (4,55±4,441%) (χ2-критерий 0,531, p=0,023). Частота положительных результатов I, II, III классов в группе МР с бессимптомными формами была сопоставима с группой вакцинированных МР с легкими формами НКВИ. Среди МР с бессимптомными формами, получившими вакцину результаты очень высокого уровня Т-клеточного ИО не регистрировались, в а группе МР с легкими формами, получившими вакцинацию такие результаты IV класса встречались в 8,7±5,875% случаев. В группе МР с бессимптомными формами по сравнению с группой МР, перенесших НКВИ в среднетяжелой и тяжелой форме и получившими вакцинацию чаще регистрировались результаты низкого уровня Т-клеточного ответа и реже встречались средние, высокие и очень высокие уровни Т-клеточного ответа.

Таким образом, у МР-реконвалесцентов COVID-19 спустя 2,5-3 года после перенесенной НКВИ сохранность Т-клеточного гибридного иммунитета на структурные пептиды N,M,ORF3a и ORF7a ассоциирована преимущественно с

тяжелым/среднетяжелым течением CPVID-19 и наличием вакцинации (Рисунок 36 и Таблица 18).




Примечание:
легкие формы не вакцинированные (группа 1a)
легкие формы вакцинированные (группа 1b)
среднетяжелые и тяжелые формы не вакцинированные (группа 2a)
среднетяжелые и тяжелые формы вакцинированные (группа 2b)
бессимптомные формы вакцинированные (группа 3)

Примечание: По оси ординат : доля медицинских работников, %; по оси абсцисс - группа медицинских работников (Группа 1 – реконвалесценты легких форм COVID-19, не вакцинированные; группа 1 b – реконвалесценты легких форм COVID-19, вакцинированные; группа 2 a – реконвалесценты среднетяжелых/тяжелых форм COVID-19, не вакцинированные; группа 2 b – реконвалесценты среднетяжелых форм COVID-19, вакцинированные; группа 3 – получившие антитела бессимптомно, вакцинированные. Вакцинированные – группа 1b, 2b,3

Рисунок 36 - Частота распределения медицинских работников в зависимости от проведенной вакцинации, степени тяжести COVID-19 и показателей Т- клеточного иммунного ответа, ранжированного по классам, на пептиды N, M, ORF3a и ORF7a (ПАГ 2) [46]

***

Представляло интерес провести анализ влияния на показатели Т-клеточного и гуморального иммунного ответа следующих факторов: возрастных и гендерных характеристик, профессиональной группы МР, работы в «красной» зоне, уровня экспрессии TLR-2 на моноцитах/гранулоцитах ПК, наличия генетических факторов (наличие SNP) в генах TLR-2, 4, ИЛ17, ФНО-а, контролирующих иммунный ответ.

Таблица 18 - Частота распределения медицинских работников-реконвалесцентов COVID-19 в зависимости от проведенной вакцинации, степени тяжести COVID-19 и показателей Т-клеточного иммунного ответа, ранжированного по классам, на пептиды N,M,ORF3a и ORF7a (ПАГ 2) [46, 98, 109, 110, 124]

| Т-клеточный ИО на пептидные антигены N,M,ORF3a ORF7a (ПАГ 2), ранжированный по классам | Степень тяжести COVID-19 и вакцинальный статус | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | Легкие формы, | | Среднетяжелые/тяжелые формы | | Бессимптомные формы, вакцинированные, Группа 3 Абс.ч N/Абс.ч. M, P±m % |
| | невакцинированные, Группа 1a, Абс.ч N/Абс.ч. M, P±m % | вакцинированные, Группа 1b, Абс.ч N/Абс.ч. M, P±m % | невакцинированные, Группа 2a, Абс.ч N/Абс.ч. M, P±m % | вакцинированные, Группа 2b, Абс.ч N/Абс.ч. M, P±m % | |
| 0 класс отрицательный результат (0-11 спотов в лунке) | 3 / 18 16,67±8,784 | 3 / 23 13,04±7,022 | 2 / 15 13,33±8,777 | 1 / 22 4,55±4,441 | 3 / 13 23,08±11,685 |
| I класс положительный низкий уровень (12-20 спотов в лунке) | 3 / 18 16,67±8,784 | 5 / 23 21,74±8,601 | 3 / 15 20±10,328 | 0/22 0±0 | 3 / 13 23,08±11,685 |
| II класс положительный средний уровень (21-40 спотов в лунке) | 6 / 18 33,33±11,111 | 8 / 23 34,78±9,931 | 5 / 15 33,33±12,172 | 11 / 22 50±10,66 | 5 / 13 38,46±13,493 |
| III класс положительный высокий уровень (40-100 спотов в лунке) | 5 / 18 27,78±10,557 | 5 / 23 21,74±8,601 | 4 / 15 26,67±11,418 | 8 / 22 36,36±10,256 | 2 / 13 15,38±10,007 |
| IV класс положительный очень высокий уровень (более 100 спотов в лунке) | 1 / 18 5,56±5,399 | 2 / 23 8,7±5,875 | 1 / 15 6,67±6,441 | 2 / 22 9,09±6,129 | 0/13 0±0 |
| Примечания: N- количество лиц с соответствующим классом Т клеточного иммунного ответа на пептидные антигены N, M, ORF3a SARS-CoV-2 (ПАГ 2), M- всего лиц с соответствующей степенью тяжести COVID-19 и соответствующим вакцинальным статусом | | | | | |

## 5.2. Анализ потенциальных факторов, влияющих на показатели адаптивного Т-клеточного иммунитета к вирусу SARS-CoV-2 через 2,5-3 года после перенесённой COVID-19 у медицинских работников

В данной части исследования нами проведена оценка влияния факторов, влияющих и статистически значимо отражающихся на показателях Т-клеточного иммунитета к вирусу SARS-CoV-2 у МР через 2,5-3 года после перенесённого COVID-19 [31, 34, 35, 46, 81, 112]. Количественные показатели Т-клеточного ИО к S-белку и пулу структурных антигенов (нуклеокапсидный N, мембранный M белки, структурные белки ORF-3a, ORF-7a) SARS-CoV-2 оценивали по количеству спотов в принятой системе регистрации «ТиграТест® SARS-CoV-2» [46]. В многофакторном анализе оценивали долю влияния факторов или сочетания факторов, которые представлены в Таблице 19.

По данным многофакторного анализа, результирующие значения которого представлены в Таблице 20, нами из девяти факторов были выделены три, которые статистически значимо оказывали влияние на формирование Т-клеточного иммунитета к S-белку вируса SARS-CoV-2 у МР в период поздней реконвалесценции. Эти факторы, прежде всего, включают форму тяжести перенесенного COVID-19, наличие или отсутствие вакцинации против COVID-19 и тренды гуморального ИО к вирусу SARS-CoV-2 в первый год после перенесённой НКВИ.

По данным многофакторного анализа доля влияния сочетания трех факторов (тяжесть течения, вакцинальный анамнез и особенности формирования гуморального иммунитета) на показатели Т-клеточного иммунитета к S-белку вируса SARS-CoV-2 у МР в период поздней реконвалесценции составляет 20,6% (SS/итого*100%). При этом, необходимо отметить, что доля влияния на показатели Т-клеточного иммунитета к S-белку вируса SARS-CoV-2 у МР не учтенных многообразных факторов может составлять 79,4%.

Таблица 19 - Факторы и их градация, которые воздействовали на медицинских работников и показатели адаптивного Т-клеточного иммунитета к вирусу SARS-CoV-2 через 2,5-3 года после перенесённого COVID-19 [34, 46, 98, 109, 110]

| **Фактор** | **Градация фактора** |
|---|---|
| F1 – форма тяжести COVID-19 | Легкая, среднетяжелая, тяжелая, бессимптомная /не болел |
| F2 - Вакцинальный анамнез | Вакцинирован/не вакцинирован |
| F3 - Особенности формирования гуморального иммунитета к SARS-CoV-2 в первый год после перенесённого COVID-19 | Тренд гуморального иммунитета G0, G1, G2, G3 |
| F4 – возраст | До 45 лет, старше 45 лет, старше 60 лет |
| F 5 – профессиональная группа МР | Врач, средний и младший медицинские персоналы |
| F6 – пол | Мужской, женский |
| F7 – уровень экспрессии TLR2-рецепторов на моноцитах/гранулоцитах ПК | Низкий, высокий, соответствует контрольной выборке |
| F8 – генетические факторы (наличие SNP) в генах TLR-2,4, ИЛ17, ФНО-а | Наличие гетерозиготного генотипа/и мутантного аллеля; отсутствие мутантного аллеля в генотипе |
| F9 – работа в «красной зоне» ВИГ | Работал; не работал |

Таблица 20 - Результаты влияния потенциальных факторов на показатели Т-клеточного иммунитета к пептидам S белка вируса SARS-CoV-2 [35]

| Фактор | Degr. of (Freedom) | (SS) | (MS) | (F) | (p) |
|---|---|---|---|---|---|
| F1+F2+F3 | 2 | 666,37 | 333,18 | 0,55 | 0,037 |
| Итого | | 3236,0 | 595,7 | | |

По данным многофакторного анализа, результирующие значения которого представлены в Таблице 21, нами из 9 факторов были выделено сочетание трех факторов, которые также статистически значимо оказывают влияние на формирование Т-клеточного иммунитета к пептидам N, M, ORF 3a, ORF 7a SARS-CoV-2 у МР в период поздней реконвалесценции.

Доля влияния сочетания трех факторов (тяжесть течения, вакцинальный анамнез и возраст) на показатели Т-клеточного иммунитета к пептидам N, M, ORF 3a, ORF 7a вируса SARS-CoV-2 у МР в период поздней реконвалесценции

составляет 26,2% (SS/итого*100%). Один из факторов влияния (F4) – это возраст МР. Так нами установлено, что для возрастной группы МР до 45 лет характерна прямая достоверная корреляционная зависимость между возрастом и показателями Т-клеточного иммунитета к пептидам N, M, ORF 3a, ORF 7a вируса SARS-CoV-2 (rc=0,543, p=0,023), а для МР в возрасте от 60 лет и старше обратная (rc= -0,486, p=0,018). Для МР в возрасте старше 45 лет и младше 60 лет достоверно установлена слабая корреляционная зависимость влияния возраста на показатели корреляционной Т-клеточного иммунитета к пептидам N, M, ORF 3a, ORF 7a вируса SARS-CoV-2 (rc=0,253, p=0,031). При этом необходимо отметить, что доля влияния на показатели Т-клеточного иммунитета к пептидам N, M, ORF 3a, ORF 7a вируса SARS-CoV-2 у МР не учтенных многообразных факторов может составлять до 73,8%.

Таблица 21 - Результаты влияния потенциальных факторов на показатели Т-клеточного иммунитета к пептидам N, M, ORF 3a, ORF 7a вируса SARS-CoV-2

| Фактор | Degr. of (Freedom) | (SS) | (MS) | (F) | (p) |
|---|---|---|---|---|---|
| F1+F2+F4 | 2 | 290,37 | 145,18 | 0,19 | 0,029 |
| Итого | | 1106,0 | 755,8 | | |

Таким образом, проведённый многофакторный анализ позволил нам констатировать, что из всех учтённых факторов, которые нами были зарегистрированы в группе МР, статистически значимое влияние на показатели Т-клеточного иммунитета к пептидам SARS-CoV-2 оказывают сочетание таких факторов, как тяжесть впервые перенесённой НКВИ, вакцинальный статус МР, особенности формирования гуморального иммунитета к SARS-CoV-2 в первый год после перенесённого COVID-19 и/ или возраст [112]. Доля влияния сочетания этих факторов на показатели Т-клеточного иммунитета к пептидам SARS-CoV-2 у МР в поздний период реконвалесценции составила от 20,6 до 26,2%.

В рамках установленного статистически значимого влияния трех факторов (F1+F2+F3) на показатели Т-клеточного иммунитета к пептидам S-белка вируса

SARS-CoV-2 у МР через 2,5-3 года после перенесенной НКВИ нами было установлено, что в 20,9% случаев Т-клеточный иммунитет может не сформироваться (количество спотов от 0 до 11 или 0 класс по градации «ТиграТест® SARS-CoV-2» при следующем сочетании факторов (Таблица 22) [34]:

- перенесённая НКВИ в легкой форме + наличие или отсутствие вакцинации против COVID-19 + тренд быстрого снижения IgG Ат в течение первого года после перенесенной НКВИ (G1) [80];

- бессимптомно перенесённая НКВИ + вакцинация против COVID-19 + G0 тренд гуморального иммунного ответа (медленный тренд снижения титра IgG Ат) [80].

При этом среднее количество спотов к пептидам S белка SARS-CoV-2 у данных МР может составлять от 4,8 до 9,0 (Таблица 22).

При сочетании трех факторов у 20,9% МР по данным многофакторного анализа мы можем прогнозировать формирование высокого уровня показателей Т-клеточного иммунитета к пептидам S белка SARS-CoV-2 при следующем сочетании градаций значимых факторов (Таблица 22):

- среднетяжелая или тяжелая форма перенесённого COVID19 + отсутствие или наличие вакцинации + G3 или G2 тренд гуморального иммунного ответа (тренд увеличения IgG Ат или тренд неравномерного снижения IgG Ат) [31].

- легкая форма перенесённого COVID19 + вакцинации против COVID-19 + G3 тренд гуморального иммунного ответа (тренд увеличения титра IgG Ат).

При этом среднее количество спотов к пептидам S белка SARS-CoV-2 у данных МР может составлять от 42,6 до 98,0 (Таблица 22). Нами также в рамках установленного статистически значимого влияния трех факторов (F1+F2+F4), один из которых включал возраст МР, на показатели Т-клеточного иммунитета к пептидам N,M ORF 3a, ORF 7a вируса SARS-CoV-2 в поздний период реконвалесценции показал, что в 26,2% случаев Т-клеточный иммунитет может не сформироваться (количество спотов от 0 до 11 или 0 класс по градации «ТиграТест® SARS-CoV-2») при следующем сочетании факторов (Таблица 23):

Таблица 22 - Градации влияющих факторов и показатели Т-клеточного иммунитета к пептидам S-белка SARS-CoV-2 у МР в период поздней реконвалесценции

| Факторы и их сочетание | Градация фактора F1 | Градации фактора F2 | Градация фактора F3 | Выборка MP, n | Среднее число спотов к пептидам S (spike) (Mean) | Std.Err |
|---|---|---|---|---|---|---|
| тяжесть*вакцинация*тренд IgG | Легкая степень тяжести | Не вакцинирован | G1 | 10 | 4,80 | 2,55734 |
| тяжесть*вакцинация*тренд G | Легкая степень тяжести | Не вакцинирован | G3 | 8 | 55,00 | 22,04238 |
| тяжесть*вакцинация*тренд G | Легкая степень тяжести | Не вакцинирован | G2 | 17 | 19,3333 | 12,33333 |
| тяжесть*вакцинация*тренд G | Легкая степень тяжести | Не вакцинирован | G0 | 12 | 11,7143 | 2,98978 |
| тяжесть*вакцинация*тренд G | Легкая степень тяжести | Вакцинирован | G1 | 12 | 8,0000 | 4,00000 |
| тяжесть*вакцинация*тренд G | Легкая степень тяжести | Вакцинирован | G3 | 16 | 17,6667 | 5,63126 |
| тяжесть*вакцинация*тренд G | Легкая степень тяжести | Вакцинирован | G2 | 18 | 19,1250 | 5,48517 |
| тяжесть*вакцинация*тренд G | Легкая степень тяжести | Вакцинирован | G0 | 19 | 21,3333 | 5,06349 |
| тяжесть*вакцинация*тренд G | Средней степени тяжести, тяжелой степепени | Не вакцинирован | G1 | 12 | 12,5000 | 1,50000 |
| тяжесть*вакцинация*тренд G | Средней степени тяжести, тяжелой степепени | Вакцинирован | G3 | 11 | 98,0000 | 12,06 |

Продолжение таблицы 22

| | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| тяжесть*вакцинация*тренд G | Средней степени тяжести, тяжелой степепени | Не вакцинирован | G2 | 9 | 44,7500 | 23,05564 |
| тяжесть*вакцинация*тренд G | Средней степени тяжести, тяжелой степепени | Не вакцинирован | G0 | 9 | 37,4000 | 11,77115 |
| тяжесть*вакцинация*тренд G | Средней степени тяжести, тяжелой степепени | Вакцинирован | G3 | 7 | 20,4000 | 4,92544 |
| тяжесть*вакцинация*тренд G | Средней степени тяжести, тяжелой степепени | Вакцинирован | G2 | 5 | 42,6000 | 15,23352 |
| тяжесть*вакцинация*тренд G | Средней степени тяжести, тяжелой степепени | Вакцинирован | G0 | 12 | 29,4167 | 6,93526 |
| тяжесть*вакцинация*тренд G | Бессимптомно | Вакцинирован | G3 | 7 | 18,3333 | 12,83658 |
| тяжесть*вакцинация*тренд G | Бессимптомно | Вакцинирован | G0 | 8 | 9,0000 | 4,16333 |
| тяжесть*вакцинация*тренд G | Бессимптомно | Не вакцинирован | G1 | 11 | 13,0000 | 6,8 |

*Примечание*: G0-медленный тренд, нет превышения 95% верхней доверительной границы индивидуального тренда, G1- быстрый тренд снижения титра IgG, нет превышения 95% верхней доверительной границы индивидуального тренда с 3-го месяца после сероконверсии, G2 – неравномерный тренд снижения IgG, превышение 95% верхней доверительной границы индивидуального тренда с 3-го месяца после сероконверсии; G3 –тренд увеличения титра IgG антител [31, 81]

Таблица 23 - Градации влияющих факторов и показатели Т-клеточного иммунитета к пептидам N, M, ORF 3a, ORF 7a SARS-CoV-2 у МР в период поздней реконвалесценции

| Факторы и их сочетание | Градация фактора F1 | Градации фактора F2 | Градация фактора F3 | Выборка МР, n | Среднее число спотов к пептидам S (spike) (Mean) | Std.Err |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Тяжесть (F1)*вакцинация (F2)*тренд IgG (F3) | Легкая степень тяжести | Не вакцинирован | G1 | 10 | 28,60000 | 15,18420 |
| тяжесть*вакцинация*тренд G | Легкая степень тяжести | Не вакцинирован | G3 | 12 | 42,16667 | 15,39138 |
| тяжесть*вакцинация*тренд G | Легкая степень тяжести | Не вакцинирован | G2 | 5 | 69,66667 | 21,72812 |
| тяжесть*вакцинация*тренд G | Легкая степень тяжести | Не вакцинирован | G0 | 7 | 33,00000 | 7,08452 |
| тяжесть*вакцинация*тренд G | Легкая степень тяжести | Вакцинирован | G1 | 9 | 23,00000 | 19,00000 |
| тяжесть*вакцинация*тренд G | Легкая степень тяжести | Вакцинирован | G3 | 9 | 29,50000 | 6,41223 |
| тяжесть*вакцинация*тренд G | Легкая степень тяжести | Вакцинирован | G2 | 12 | 46,00000 | 14,06109 |
| тяжесть*вакцинация*тренд G | Легкая степень тяжести | Вакцинирован | G0 | 8 | 27,55556 | 5,06379 |
| тяжесть*вакцинация*тренд G | Средняя степень тяжести, тяжелая степень | Не вакцинирован | G1 | 8 | 27,00000 | 5,00000 |
| тяжесть*вакцинация*тренд G | Средняя степень тяжести, тяжелая степень | Не вакцинирован | G3 | 11 | 27,00000 | 6,08452 |

Продолжение таблицы 23

| | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| тяжесть*вакцинация*тренд G | Средняя степень тяжести, тяжелая степень | Не вакцинирован | G2 | 10 | 67,75000 | 17,37995 |
| тяжесть*вакцинация*тренд G | Средняя степень тяжести, тяжелая степень | Не вакцинирован | G0 | 9 | 38,60000 | 8,89719 |
| тяжесть*вакцинация*тренд G | Средняя степень тяжести, тяжелая степень | Вакцинирован | G3 | 7 | 37,60000 | 16,15735 |
| тяжесть*вакцинация*тренд G | Легкая степень тяжести | Вакцинирован | G2 | 8 | 20,0 | 8,678 |
| тяжесть*вакцинация*тренд G | Легкая степень тяжести | Вакцинирован | G0 | 11 | 10,0 | 5,7345 |

*Примечание*: G0-медленный тренд, нет превышения 95% верхней доверительной границы индивидуального тренда, G1- быстрый тренд снижения титра IgG, нет превышения 95% верхней доверительной границы индивидуального тренда с 3-го месяца после сероконверсии, G2 – неравномерный тренд снижения IgG, превышение 95% верхней доверительной границы индивидуального тренда с 3-го месяца после сероконверсии; G3 –тренд увеличения титра IgG антител [31, 81]

- легкая степень перенесённого COVID-19 + вакцинация + G0 тренд гуморального иммунного ответа (медленный тренд снижения IgG).

При этом количество спотов при регистрации показателей Т-клеточного иммунитета к пептидам N, M, ORF 3a, ORF 7a вируса SARS-CoV-2 может составлять в среднем 10,0±5,7 спотов (Таблица 23) [98, 109, 110].

Высокие показатели Т-клеточного иммунитета к пептидам N, M, ORF3a, ORF7a вируса SARS-CoV-2 в поздний период реконвалесценции у МР можно прогнозировать при следующем сочетании факторов (Таблица 23):

- легкое или среднетяжелое течение первично-перенесённого COVID19 + отсутствие вакцинации или вакцинация + G2 тренд иммунного ответа (неравномерный тренд снижения IgG).

Нами также показана очень слабая связь ($r=0,2$; $P<0,05$) между показателями количества эпизодов перенесённой НКВИ и показателями Т-клеточного иммунитета к N, M, ORF3a, ORF7a у МР ВИГ.

Методом факторного анализа (мультивариантного теста ANOVA) нами установлен суммарный эффект влияния трех факторов эпидемиологического анамнеза МР (работа в красной зоне (F9), вакцинальный анамнез (F2) и тяжесть перенесённой инфекции (F1) на уровень ИА IgG Ат к N-белку SARS-CoV-2 (Таблица 24).

Таблица 24 - Результаты влияния потенциальных факторов на уровень ИА IgG антител к N-белку SARS-CoV-2

| Фактор | Degr. of (Freedom) | (SS) | (MS) | (F) | (p) |
|---|---|---|---|---|---|
| F1+F2+F9 | 2 | 888,48 | 878,18 | 1,07 | 0,009 |
| Итого | | 2106,0 | 755,8 | | |

По данным многофакторного анализа доля влияния сочетания трех факторов (тяжесть течения, вакцинальный анамнез и работа в «красной зоне») на уровень ИА IgG Ат к N-белку SARS-CoV-2 у МР в период поздней реконвалесценции составляет 42,2% (SS/итого*100%). При этом, необходимо отметить, что доля

влияния на уровень ИА IgG Ат к N-белку SARS-CoV-2 у МР не учтенных многообразных факторов может составлять 57,8%.

Таким образом, в 42,2% случаев у МР по данным многофакторного анализа при сочетанном влиянии вышеуказанных трех факторов (работа в «красной зоне» (F9), вакцинальный анамнез (F2) и тяжесть перенесённой НКВИ (F1) статистически значимо формируются высокоавидные Ат к N-белку SARS-CoV-2, при условии сочетания следующих градаций факторов:

- легкое или среднетяжелое течение первично-перенесённого COVID19+вакцинация+работа в «красной зоне» ВИГ. При этом индекс ИА IgG Ат в среднем составляет от 78,5% до 98,2%.

Однако, нами отмечено, что по данным многофакторного анализа у 42,2% случаев при следующем сочетании градации вышеуказанных факторов ИА IgG Ат может быть менее 50,0%:

- бессимптомное течение первично-перенесённого COVID19 + отсутствие вакцинации + МР не работаюший в «красной зоне».

Таким образом, проведенный многофакторный анализ показал, что наибольшее влияние выделенных нами факторов (тяжесть перенесенной НКВИ, вакцинальный статус, работа в «красной зоне» приходится на формирование гуморального иммунного ответа (доля влияния 42,0%) в меньшей степени – на показатели Т-клеточного иммунитета (доля влияния от 20,0% до 26,0%).

***

Наиболее эффективным способом борьбы с эпидемиями является вакцинация [17, 42]. НКВИ не явилась исключением. В декабре 2020 г. в России впервые в мире была зарегистрирована вакцина против НКВИ, а с января 2021года в стране начата массовая вакцинация против COVID-19. Следующим разделом наших популяционных иммунологических исследований было изучение формирующегося иммунитета среди населения РТ и МР в условиях масштабной вакцинации против COVID-19 на третьем году пандемии.

# ГЛАВА 6. ИЗУЧЕНИЕ ОСОБЕННОСТЕЙ ГУМОРАЛЬНОГО ИММУННОГО ОТВЕТА К ВИРУСУ SARS-COV-2 У ПЕРЕБОЛЕВШИХ И ВАКЦИНИРОВАННЫХ ПРОТИВ COVID-19 ЖИТЕЛЕЙ И МЕДИЦИНСКИХ РАБОТНИКОВ РЕСПУБЛИКИ ТАТАРСТАН

## 6.1. Гуморальный иммунный ответ к SARS-CoV-2 у вакцинированных против COVID-19 жителей Республики Татарстан: возрастная, гендерная, социальная, территориальная характеристика поствакцинального иммунного ответа, влияние кратности и сроков вацинацинации на иммунный ответ

В данной главе приведены результаты популяционного исследования среди вакцинированного населения и медицинских работников Республики Татарстан с апреля по октябрь 2022 года (третий год пандемии) [31, 43, 78, 81, 109, 110, 111, 115].

По данным Управления Роспотребнадзора по РТ в 2022 г. (третий год пандемии) эпидемический подъем заболеваемости в РТ наблюдался в два периода: 1-й период – с 3-й по 15-ю неделю, с 20 января по 13 апреля, переболело 96 264 человека (2403,7 на 100 000 населения, 63,9% от всех случаев); 2-й период – с 33-й по 44-ю неделю, с 16 августа по 5 ноября, переболело 33193 человека (828,83 на 100000 населения, 22,0% от всех случаев). Геновариант омикрон выявлен в 95,5% случаев, штамм зарегистрирован на всех 45 территориях. В том числе в структуре подштаммов омикрона выявлено 24 штамма линии BA2 («стелс»-омикрон), или 1,6%; линии BA4/BA5 – 188, или 12,6%; «кентавр» – 2, или 0,1%; «цербер» – 1 (0,07%) [123].

Совместно с министерством здравоохранения РТ проводился мониторинг в целях оценки популяционного иммунитета к НКВИ у вакцинированных жителей РТ. Тестирование на наличие IgG Ат к RBD-домену S-белка к SARS-CoV-2

проводили с апреля по октябрь 2022 г. Отбор участников популяционного исследования проводили путем случайной выборки. В исследовании приняли участие 9930 жителей РТ (из них 9033 - вакцинированных и 897 - невакцинированных (группа сравнения) в возрасте от 18 до 94 лет, преобладали возрастные группы 40-49 и 50-59 лет (24,89±0,455% и 27,94±0,472%, соответственно), средний возраст составил 48,5 лет, в группе сравнения возрастное распределение было идентичное основной группе (Таблица 25). Среди обследованных контингентов как основной, так и группы сравнения преобладали женщины, 83,69±0,389% и 80,6±1,32%, соответственно; соотношение мужчин и женщин составило один к пяти.

Таблица 25 - Распределение участников исследования популяционного иммунитета к НКВИ у вакцинированного населения Республики Татарстан в зависимости от возраста

| Возрастная группа | Вакцинированные, абс. | P±m, в % | Контрольная группа, абс. | P±m, в % | Всего, абс. | P±m, в % |
|---|---|---|---|---|---|---|
| 18-19 | 31 | 0,34±0,062 | 3 | 0,33±0,193 | 34 | 0,34±0,059 |
| 20-29 | 773 | 8,56±0,294 | 107 | 11,93±1,082 | 880 | 8,86±0,285 |
| 30-39 | 1492 | 16,52±0,391 | 203 | 22,63±1,397 | 1695 | 17,07±0,378 |
| 40-49 | 2248 | 24,89±0,455 | 203 | 22,63±1,397 | 2451 | 24,68±0,433 |
| 50-59 | 2524 | 27,94±0,472 | 211 | 23,52±1,416 | 2735 | 27,54±0,448 |
| 60-69 | 1506 | 16,67±0,392 | 118 | 13,15±1,129 | 1624 | 16,35±0,371 |
| 70+ | 459 | 5,08±0,231 | 52 | 5,8±0,78 | 511 | 5,15±0,222 |
| Итого | 9033 | 100±0 | 897 | 100±0 | 9930 | 100±0 |

В целом не выявлено статистически значимых гендерных различий среди серопозитивных вакцинированных жителей РТ, кроме возрастной категории 60-69 лет. Возрастно-половой состав вакцинированных и контрольной групп имел идентичную структуру. Среди обследованных контингентов преобладали женщины, соотношение мужчин и женщин составило один к пяти (Таблица 26). Структура участников исследования в зависимости от возраста и гендерной принадлежности представлена в Таблице 27.

Таблица 26 - Распределение участников исследования популяционного иммунитета к НКВИ у вакцинированного населения Республики Татарстан по гендерному признаку

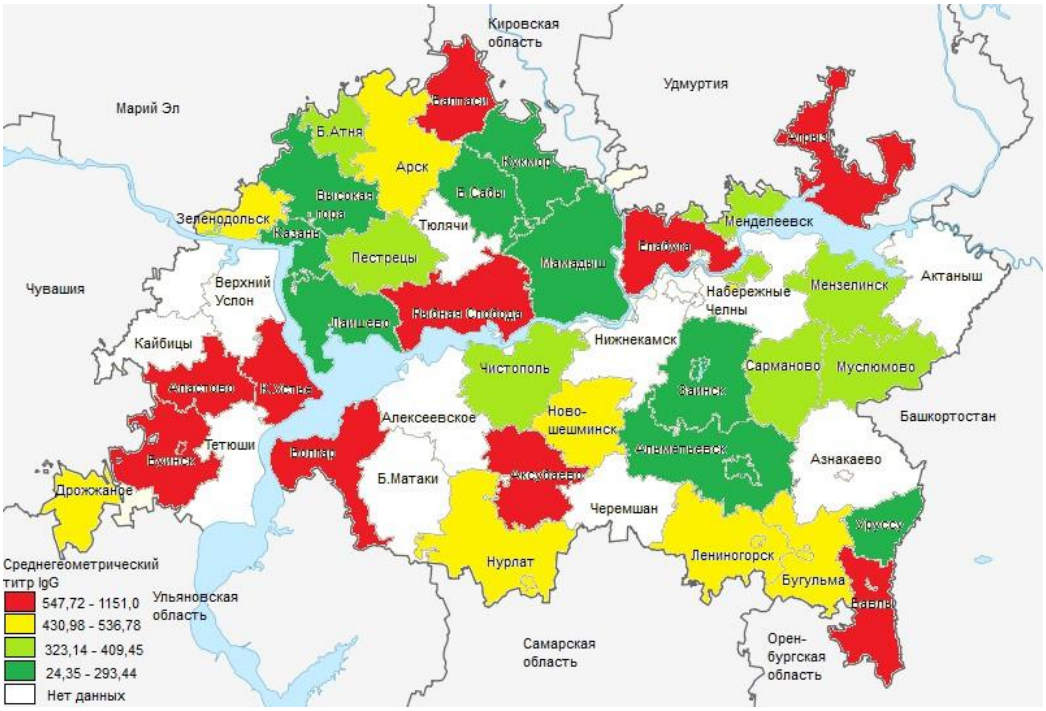
| Пол | Вакцинированные, абс. | P±m, в % | Контрольная группа, абс. | P±m, в % | Всего, абс. | P±m, в % |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Мужской | 1473 | 16,31±0,389 | 174 | 19,4±1,32 | 1647 | 16,59±0,373 |
| Женский | 7560 | 83,69±0,389 | 723 | 80,6±1,32 | 8283 | 83,41±0,373 |
| Всего | 9033 | 100±0,0 | 897 | 100,0±0,0 | 9930 | 100,0±0,0 |

Таблица 27 - Гендерная структура участников исследования популяционного иммунитета к НКВИ у вакцинированного населения Республики Татарстан в зависимости от возраста

| Возрастная группа | Мужчины | | | Женщины | | | Итого |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | вакцинированные | контрольная группа | всего | вакцинированные | контрольная группа | всего | |
| 18-19 | 9 | 1 | 10 | 22 | 2 | 24 | 34 |
| 20-29 | 129 | 23 | 152 | 644 | 84 | 728 | 880 |
| 30-39 | 267 | 59 | 326 | 1225 | 144 | 1369 | 1695 |
| 40-49 | 269 | 28 | 297 | 1979 | 175 | 2154 | 2451 |
| 50-59 | 338 | 29 | 367 | 2186 | 182 | 2368 | 2735 |
| 60-69 | 310 | 21 | 331 | 1196 | 97 | 1293 | 1624 |
| 70+ | 151 | 13 | 164 | 308 | 39 | 347 | 511 |
| Итого | 1473 | 174 | 1647 | 7560 | 723 | 8283 | 9930 |

В исследовании приняли участие жители большинства районов РТ. Соотношение жителей г. Казани (3200) и жителей других городов и районов РТ (6730) составляло 1:2,1. Районы РТ были распределены на четыре группы в соответствии с достоверностью различий значения среднегеометрического титра IgG Ат к вирусу SARS-CoV-2: 9 районов с наиболее низким уровнем среднегеометрического тира Ат от 24,35 до 293,44; 9 районов с уровнем тира Ат от 323,14 до 409,45; 8 районов с уровнем тира Ат от 430,98 до 536,78 и 10 районов с наиболее высоким уровнем среднегеометрического титра IgG Ат от 547,72 до 1151,0 (Рисунок 37). Одна пятая всех районов (20,0%) РТ со

значениями среднегеометрического титра Ат от 304,35 до 584,35 определили более 80,0% от среднереспубликанского показателя (Рисунок 38) [110].




Примечание: Градация уровней среднегеометрического титра IgG АТ показана цветом: красным цветом отмечен титр от 547,72 до1131,0; желтым – от 430,98 до 536,78; светло- зеленым – от 323,14 до 409,45; темно-зеленым – от 24,35 до 293,44; белым - нет данных

Рисунок 37 - Распределение районов Республики Татарстан в соответствии с достоверностью различий значения среднегеометрического титра IgG Ат к вирусу SARS-CoV-2

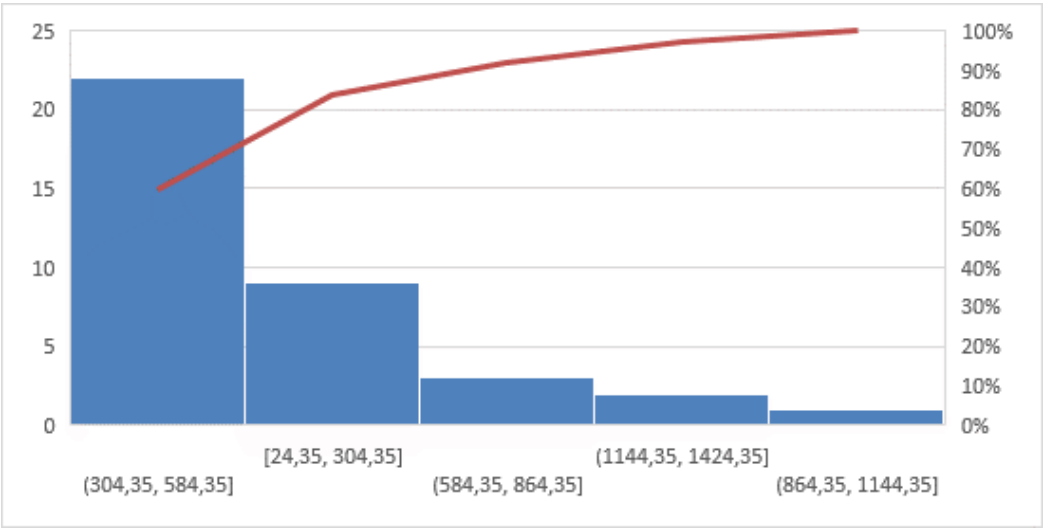



Рисунок 38 - Распределение районов Республики Татарстан в зависимости от значения среднегеометрического титра антител по Парето

Среди участников исследования преобладали лица, получившие двукратную вакцинацию (60,0%); каждый пятый (18,61%) получил полный курс вакцинации и однократную ревакцинацию; 11,38% получили всего одну дозу вакцины; так же в единичных случаях были участники, получившие полный курс вакцинации и три ревакцинации, полный курс вакцинации и четыре ревакцинации (Таблица 28) [110].

Таблица 28 - Структура участников исследования по количеству полученных доз вакцины против COVID-19

| Вакцинальная группа | Количество | P±m, в % |
|---|---|---|
| В1 | 1130 | 11,38±0,319 |
| В2 | 5982 | 60,24±0,491 |
| В3 | 1848 | 18,61±0,391 |
| В4 | 71 | 0,72±0,085 |
| В5 | 1 | 0,01±0,01 |
| В6 | 1 | 0,01±0,01 |
| ГС | 897 | 9,03±0,288 |
| Итого | 9930 | 100,0±0,0 |
| Примечание: В1 – однократная вакцинация, В2 – двукратная вакцинация, В3 – полный курс вакцинации и ревакцинация, В4 – полный курс вакцинации и две ревакцинации, В5 - полный курс вакцинации и три ревакцинации, В6 - полный курс вакцинации и четыре ревакцинации, ГС – группа сравнения | | |

Титр IgG Ат у лиц, получивших одну, две, три и четыре дозы вакцины составил 94,83±0,286 - 98,59±1,398 и оставался достоверно выше по сравнению с группой сравнения 84,5±1,208 (Таблица 29). В группе лиц, получивших одну дозу вакцины против COVID-19, динамика титра Ат после вакцинации описывалась уравнением линейной регрессии $y=573,73+0,6438 \times x$, ($P<0,01$), то есть чем больше проходило времени после вакцинации, тем более высокими были титры Ат (Таблица 29). Аналогичная тенденция прослежена в группе лиц, получивших две дозы вакцины против COVID-19, динамика титра Ат после второй вакцинации описывалась уравнением линейной регрессии $y=587,0+0,6018 \times x$ ($P<0,01$), то есть чем больше проходило времени после введения второй дозы вакцины, тем более высокими были титры Ат.

Таблица 29 - Влияние количества полученных доз вакцины на серопревалентность и титр IgG антител к вирусу SARS-CoV-2 у участников исследования

| Вакцинальная группа | Серо-позитив-ных лиц | Чис-лен-ность группы | Доля серопозитив-ных лиц, P±m, в % | Среднегео-метриче-ское титра антител к SARS-CoV-2 в AU/ml | 95% ДИ |
|---|---|---|---|---|---|
| Вакцинирован-ные 1-кратно | 1083 | 1130 | 95,84±0,594 | 465,95 | 427,75-507,55 |
| Вакцинирован-ные 2-кратно | 5673 | 5982 | 94,83±0,286 | 359,36 | 344,96-374,37 |
| Вакцинирован-ные 3-кратно | 1790 | 1848 | 96,86±0,406 | 478,48 | 449,76-509,04 |
| Вакцинирован-ные 4-кратно | 70 | 71 | 98,59±1,398 | 545,16 | 400,59-741,79 |
| Вакцинирован-ные 5-кратно | 1 | 1 | 100±0 | 904 | - |
| Вакцинирован-ные 6-кратно | 1 | 1 | 100±0 | 1150 | - |
| Группа сравнения | 758 | 897 | 84,5±1,208 | 210,34 | 181,21-244,13 |
| Итого | 9376 | 9930 | 94,42±0,23 | 373,18 | 361,34 - 385,4 |

В группе лиц, получивших три дозы вакцины против COVID-19, динамика титра Ат после третьей вакцинации описывалась уравнением линейной регрессии y =797,09 -0,1664 × x, что свидетельствовало о постепенном снижении титра Ат у вакцинированных лиц после третьей дозы вакцины (P<0,01).

Динамика титра Ат после второй вакцинации зависела от интервала между первой и второй вакцинациями и описывалась уравнением линейной регрессии y=755,45+0,9104 × x. Увеличение интервала между первой и второй дозами вакцины приводило к росту титра Ат (P<0,01). Аналогичная динамика титра Ат наблюдалась после третьей вакцинации и зависела от интервала времени между второй и третьей вакцинациями и описывалась уравнением линейной регрессии y=773,13+0,5449 × x. Увеличение интервала между второй и третьей вакцинациями с 21 дня до более года приводило к росту титра Ат против SARS-

CoV-2 (P<0,01). Полученные результаты можно объяснить естественной бустеризацией в результате контакта с возбудителем COVID-19 в условиях продолжавшейся пандемии.

Серопревалентность к SARS-CoV-2 у участников исследования и контрольной группы составила 94,65±9,729%. Серопревалентность в группе вакцинированных равнялась 100%, кроме возрастной группы 18-19 лет, и не зависела от возраста. В контрольной группе наиболее низкие значения доли серопревалентных лиц были в возрастных категориях 30-39 лет (P<0,01), 20-29 и 70 лет и старше (P<0,01) (Таблица 30).

Таблица 30 - Серопревалентность к вирусу SARS-CoV-2 ужителей Республик Татарстан разных возрастных групп в зависимости от вакцинального статуса

| Возрастная группа (лет) | Вакцинированные | | Серопревалентность, P±m, в % | Невакцинированные | | Серопревалентность, P±m, в % | Различие в серопревалентности между вакцинированными невакцинированными, P |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | позитивные по IgG к SARS-CoV-2 | всего | | позитивные по IgG к SARS-CoV-2 | всего | | |
| 18-19 | 29 | 31 | 93,55±4,412 | 3 | 3 | 100,0±0,0 | 0,153 |
| 20-29 | 773 | 773 | 100,0±0 | 85 | 107 | 79,44±1,362 | <0,01 |
| 30-39 | 1492 | 1492 | 100,0±0 | 136 | 203 | 67,0±1,142 | <0,01 |
| 40-49 | 2248 | 2248 | 100,0±0 | 183 | 203 | 90,15±0,602 | <0,01 |
| 50-59 | 2524 | 2524 | 100±0 | 199 | 211 | 94,31±0,443 | <0,01 |
| 60-69 | 1506 | 1506 | 100±0 | 109 | 118 | 92,37±0,659 | <0,01 |
| 70+ | 459 | 459 | 100±0 | 43 | 52 | 82,69±1,674 | <0,01 |
| Итого | 9033 | 9033 | 100±0 | 758 | 897 | 84,5±0,363 | <0,01 |

Среднегеометрическое значение титра Ат было выше в основной группе участников исследования; достоверные различия между группой вакцинированных и контрольной группой были получены по средним показателям в возрастных категориях 20-29, 30-39 и 40-49 лет (P<0,01); средние значения составили 374,18 (374,08 - 374,28), наибольшие значения отмечены в возрастных группах от 18-19, 40-49, 50-59 и 60-69 лет. Наименьшие - в категории 30-39 лет (Таблица 31).

В группе вакцинированных мужчин и женщин доля серопозитивных к вирусу SARS-CoV-2 была больше, чем в контрольной группе. В группах вакцинированных и контрольной доля серопозитивных к SARS-CoV-2 среди женщин была больше, чем среди мужчин (P<0,01) (Таблица 32).

Таблица 31 - Значения титров IgG антител к вирусу SARS-CoV-2 у участников исследования в зависимости от возраста

| Возраст-ная группа | Среднегео-метрическое титра IgG Ат к SARS-CoV-2 в группе вакциниро-ванных в AU/ml | 95% ДИ | Среднегео-метрическое титра IgG Ат к SARS-CoV-2 в контроль-ной группе в AU/ml | 95%ДИ | Различие в титре IgG Ат между группами вакциниро-ванных и невакцини-рованных, P |
|---|---|---|---|---|---|
| 18-19 | 356,9 | 200,77 - 633,96 | 1020,2 | 805,97 - 1291,24 | <0,01 |
| 20-29 | 354,3 | 318,99 - 393,43 | 162,9 | 101,59 - 260,93 | <0,01 |
| 30-39 | 319,3 | 294,55 - 346,16 | 63,8 | 43,29 - 93,85 | <0,01 |
| 40-49 | 427 | 401,77 - 453,88 | 306,2 | 233,6 - 401,36 | <0,01 |
| 50-59 | 429,4 | 404,97 - 455,39 | 378,3 | 302,11 - 473,72 | 0,285 |
| 60-69 | 427,2 | 394,6 - 462,39 | 381,2 | 277,95 - 522,79 | 0,494 |
| 70+ | 318,1 | 266,75 - 379,35 | 184 | 100,19 - 337,3 | 0,09 |
| Итого | 395 | 382,59 - 407,85 | 210,3 | 181,21 - 244,13 | <0,01 |

Таблица 32 - Серопревалентность к SARS-CoV-2 у участников исследования в зависимости от гендерной принадлежности

| Пол | Вакцинированные | | Доля серопозитивных, P±m, в % | Контрольная группа | | Доля серопозитивных, P±m, в % |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | серопозитивные к SARS-CoV-2 | Всего | | позитивные к SARS-CoV-2 | Всего | |
| Мужчины | 1372 | 1473 | 90,58±0,734 | 123 | 174 | 90,58±0,734 |
| Женщины | 7246 | 7560 | 95,04±0,245 | 635 | 723 | 95,04±0,245 |
| Всего | 8618 | 9033 | 94,29±0,239 | 758 | 897 | 94,29±0,239 |

В профессиональной структуре среди участников исследования МР составили 15,9% общего числа обследованных (1583 человека), также в исследовании приняли участие работники офисов, производств, сферы образования, транспорта, безработные, пенсионеры, государственные служащие, представители бизнеса, творческих профессий, студенты, все они были объединены в группу «немедициские работники» (НМР).

Среди жителей РТ доля серопозитивных к вирусу SARS-CoV-2 составила 94,42±0,23% со значением среднегеометрического титра IgG Ат 373,18. Среди МР доля серопозитивных составила 96,5%, а среднегеометрическое титра IgG Ат - 459,47 (428,66-492,5). Доля серопозитивных в группе МР и НМР, как и титры IgG Ат достоверно не различались (Таблица 33).

Таблица 33 - Доля серопозитивных к вирусу SARS-CoV-2 участников исследования среди медицинских работников и немедицинских работников

| Возрастная группа | Выявлено серопозитивных лиц | Численность группы | Доля серопозитивных лиц,P±m, в % | Средне геометрическое титра Ат к SARS-CoV-2 в AU/ml | 95% ДИ |
|---|---|---|---|---|---|
| Медицинские работники | 1527 | 1583 | 96,46±0,464 | 459,47 | 428,66-492,5 |
| Немедицинские работники | 7849 | 8347 | 94,03 ±0,66 | 477,8 | 5,17-1150 |
| Итого | 9376 | 9930 | 94,42±0,23 | 373,18 | 361,34-385,4 |

У лиц, не вакцинированных против COVID19, доля серопозитивных была 84,5±1,208%, что достоверно меньше доли серопозитивных среди всех вакцинированных (95,41±0,22). Среднегеометрическое значение титра IgG Ат не вакцинированных составило 210,34 (95% ДИ 181,21-244,13), что было достоверно ниже показателей вакцинированных против COVID-19 лиц (395,02, 95% ДИ 382,59-407,85, P<0,01) [112, 113]. Эти данные могут свидетельствовать об индуцировании гуморального иммунного ответа в отношении НКВИ после вакцинации (Таблица 34).

Изучение динамики титра Ат до и после вакцинации показало, что значение среднегеометрического титра IgG Ат к SARS-CoV-2 у 1399 лиц до вакцинации составило 32,13 (95% ДИ 28,09-34,5). После вакцинации уровень антительного ответа увеличился в 14,80 раз и составил 475,64 (95% ДИ 441,17-510,63) (P<0,0001) [109, 110].

В изученной популяции 12,94±0,346% лиц имели симптомы ОРВИ (в том числе COVID-19) до вакцинации. Изучение влияния наличия симптомов ОРВИ до вакцинации на антительный ответ показало, что значение среднегеометрического титра IgG Ат к SARS-CoV-2 до проведения вакцинации у лиц с наличием симптомов ОРВИ до вакцинации было ниже чем у лиц с отсутствием таких симптомов (P<0,01). После вакцинации уровень гуморального иммунного ответа возрастал в 14,86 раз и был выше среди лиц, имевших симптомы ОРВИ до вакцинации, чем среди лиц, у которых симптомы ОРВИ до вакцинации отсутствовали, титра Ат увеличивался в 10,72 раза (P<0,001) (Таблица 35).

Подавляющее большинство участников исследования вакцинировались препаратами Гам КОВИД Вак (Спутник V) от 34,0 до 92,0% и Гам КОВИД Вак (Спутник Лайт) до 62,0%, около 8,0% – вакциной ЭпиВакКороной, около 3,0% – вакциной Ковивак среди вакцинированых одно, двух, трех и четырехкратно (Рисунок 39).

Таблица 34 - Среднегеометрическое значение титра IgG антител к SARS-CoV-2 участников исследования в зависмости от вакцинального статуса

| Возрастная группа | Вакцинированные | | | | Невакцинированные | | | | Достоверность различий, P |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | Среднегеометрический титр IgG Ат к SARS-CoV-2 в AU/ml | 95% ДИ | Численность группы | Серопозитивных | Среднегеометрическое титра IgG Ат к SARS-CoV-2 в AU/ml | 95% ДИ | Численность группы | Серопозитивных | |
| Медицинские работник | 456,65 | 424,49 - 488,8 | 1545 | 1490/96,4 | 653,38 | 458,47 - 930,97 | 38 | 97,36 | 0,05 |
| Немедицинские работники | | 60,49- 2262,58 | 7488 | 7128/95,1 | 291,46 | 17,4- 1150 | 859 | 84,5 | <0,001 |
| Итого | 395,02 | 382,59 - 407,85 | 9033 | 8618/95,4 | 210,34 | 181,22 - 244,11 | 897 | 84,5 | <0,001 |

Таблица 35 - Гуморальный иммунный ответ у участников исследования в зависимости от наличия симптомов ОРВИ до вакцинации

| Наличие симптомов ОРВИ до вакцинации | Коли-чество | Титр IgG Ат до вакцинации, в AU/ml | 95% ДИ | Титр IgG Ат после вакцинации, в AU/ml | 95% ДИ |
|---|---|---|---|---|---|
| Отмечены | 1290 | 30,1 | 26,38-32,09 | 447,5 | 413,21-482,48 |
| Не отмечены | 7744 | 35,72 | 33,25-36,26 | 383,11 | 368,82-395,88 |
| Нет данных | 896 | - | - | 235,83 | 203,56-270,88 |
| Итого | 9930 | 33,96 | 31,75-34,21 | 374,18 | 361,34-385,4 |
| Примечание: НД – нет данных | | | | | |

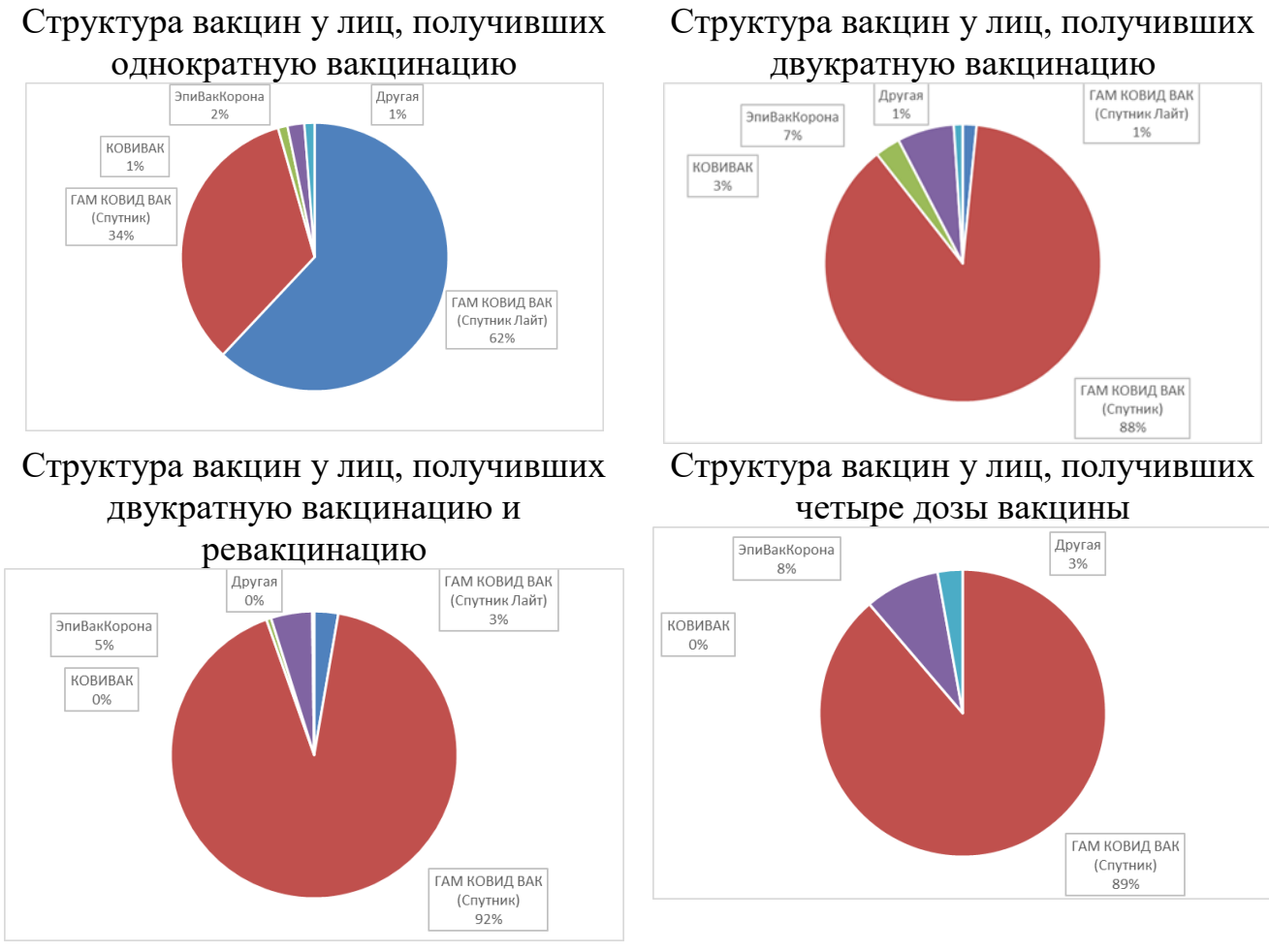



Рисунок 39 - Структура вакцин у лиц, получивших одну, две, три и четыре дозы вакцины от COVID-19 [109, 110]

Изучение влияния наличия в анамнезе диагноза COVID-19 до вакцинации на гуморальный ИО показало, что лица, которым был установлен диагноз COVID-19, имели достоверно более высокие значения среднегеометрического титра IgG

Ат к SARS-CoV-2 как до, так и после вакцинации, чем лица, у которых не было диагноза COVID-19 в анамнезе(P<0,01) [31, 109, 110]. В группе лиц, которым был установлен диагноз COVID-19, среднегеометрическое значение титра Ат после вакцинации было в 2,21 раза выше, чем до вакцинации (P<0,01). В группе контроля титры Ат после вакцинации увеличились в 10,99 раз по сравнению с уровнем до вакцинации (P<0,01).

В обеих группах вакцинация привела к достоверному росту титра Ат (P < 0,01) (Таблица 36). Сравнение среднегеометрического титра Ат после вакцинации различными вакцинами показало, что данные показатели были выше после вакцинации препаратами «Спутник V»(«Гам-КОВИД-Вак») и «Спутник Лайт», чем после применения препаратов Ковивак и ЭпиВакКорона [109, 110] (P<0,01), что может свидетельствовать о более высокой степени специфичности и чувствительности применяемых тест-систем в данном исследовании к иммуногенным эпитопам «Спутник V» («Гам-КОВИД-Вак») и «Спутник Лайт», по сравнению с препаратами Ковивак и ЭпиВакКорона, которые требуют применения других тестов для выявления пула формирующихся после вакцинации Ат, а так же значительно меньшей долей выборки лиц, вакцинированных препаратами Ковивак и ЭпиВакКорона (Таблица 37) [109, 110].

Изучение влияние комбинации вакцин на развитие гуморального иммунного ответа приведено в таблицах 38 и 39.

Таблица 36 - Гуморальный иммунный ответ в зависимости от установленного диагноза COVID-19 до вакцинации [31, 109, 110]

| Наличие диагноза COVID-19 в анамнезе | Коли-чество | Титр IgG Ат до вакцина-ции, в AU/ml | 95% ДИ | Титр IgG Ат после вакцина-ции в AU/ml | 95% ДИ |
|---|---|---|---|---|---|
| Установлен | 176 | 254,22 | 229,07-279,89 | 560,75 | 479,61-653,26 |
| Отсутствие | 1374 | 38,89 | 33,6-42,7 | 427,33 | 395,03 460,1 |
| Нед данных | 7874 | 31,58 | 29,38-31,83 | 362,57 | 348,8-374,81 |
| Итого | 9424 | 33,96 | 31,75-34,21 | 374,18 | 361,34 385,4 |

Таблица 37 - Гуморальный иммунный ответ у вакцинированных участников исследования в зависимости от кратности вакцинации [109, 110]

| Название вакцины | Коли-чество | Доля, P±m, в % | Среднегео-метрическое титра IgG Ат, в AU/ml | 95% ДИ |
|---|---|---|---|---|
| **Гуморальный иммунный ответ у лиц, получивших одну дозу вакцины** | | | | |
| ГАМ КОВИД ВАК (Спутник Лайт) | 701 | 62,04±2,454 | 561,13 | 513,24 - 613,49 |
| ГАМ КОВИД ВАК (Спутник) | 379 | 33,54±2,388 | 370,49 | 311,71 - 440,33 |
| КОВИВАК | 13 | 1,15±0,539 | 358,14 | 159,3 - 803,61 |
| ЭпиВакКорона | 23 | 2,04±0,715 | 92,42 | 34,58 - 244,32 |
| Нет данных | 14 | 1,24±0,56 | 377,18 | 167,62 - 847,18 |
| Итого | 1130 | 100±0 | 377,18 | 375,45 - 378,91 |
| **Гуморальный иммунный ответ у лиц, получивших две дозы вакцины** | | | | |
| ГАМ КОВИД ВАК (Спутник Лайт) | 96 | 1,6±5,827 | 426,61 | 314,18 - 579,14 |
| ГАМ КОВИД ВАК (Спутник) | 5250 | 87,76±15,221 | 376,41 | 360,57 - 392,95 |
| КОВИВАК | 177 | 2,96±7,871 | 237,6 | 184,49 - 305,92 |
| ЭпиВакКорона | 397 | 6,64±11,563 | 212,3 | 177,83 - 253,42 |
| Нет данных | 62 | 1,04±4,711 | 513,32 | 362,14 - 727,45 |
| Итого | 5982 | 100±0 | 359,36 | 344,96 - 374,37 |
| **Гуморальный иммунный ответ у лиц, получивших три дозы вакцины** | | | | |
| ГАМ КОВИД ВАК (Спутник Лайт) | 50 | 2,71±9,957 | 539,15 | 394 - 737,65 |
| ГАМ КОВИД ВАК (Спутник) | 1698 | 91,88±16,749 | 486,23 | 456,27 - 518,15 |
| КОВИВАК | 10 | 0,54±4,494 | 440,9 | 151,35- 1280,76 |
| ЭпиВакКорона | 86 | 4,65±12,912 | 315,44 | 218,6- 454,97 |
| Нет данных | 4 | 0,22±2,873 | 1119,8 | 1070,38-1171,53 |
| Итого | 1848 | 100±0 | 478,48 | 449,77-509,03 |
| **Гуморальный иммунный ответ у лиц, получивших четыре дозы вакцины** | | | | |
| ГАМ КОВИД ВАК (Спутник Лайт) | 0 | 0 | - | - |
| ГАМ КОВИД ВАК (Спутник) | 63 | 88,73±1,454 | 507,26 | 361,29 - 712,03 |
| ЭпиВакКорона | 6 | 8,45±1,279 | 905,61 | 659,79- 1242,89 |
| Другая (нет данных) | 2 | 2,82±0,761 | 1150 | 1150 - 1150 |
| Итого | 71 | 100±0 | 545,16 | 401,46 - 740,17 |

Таблица 38 - Комбинации вакцин, использованные при двукратной вакцинации и их влияние на гуморальный иммунный ответ

| Комбинация вакцин | Количество | Среднегеометрическое титра антител, в AU/ml | 95% ДИ |
|---|---|---|---|
| ЭЛ | 2 | 1150 | 1150 - 1150 |
| ВК | 4 | 962 | 786,18 - 1177,42 |
| ДВ | 3 | 659 | 230,13 - 1883,57 |
| ВЛ | 10 | 647 | 436,67 - 958,23 |
| ЛЛ | 38 | 630 | 420,77 - 943,05 |
| ВЭ | 5 | 561 | 155,77 - 2011,11 |
| ДД | 46 | 551 | 358,88 - 845,71 |
| ВВ | 3962 | 424 | 405,08 - 443,08 |
| ДЛ | 13 | 377 | 188,91 - 751,65 |
| ЛД | 43 | 366 | 229,84 - 581,75 |
| КД | 60 | 350 | 246,37 - 496,41 |
| ЭВ | 5 | 291 | 117,74 - 714,85 |
| ВД | 1269 | 258 | 231,67 - 287,03 |
| ЛВ | 14 | 221 | 79,04 - 614,75 |
| ЭД | 118 | 212 | 152,76 - 293,94 |
| ЭЭ | 272 | 209 | 168,14 - 258,77 |
| КК | 116 | 193 | 137,91 - 270,58 |
| Примечание: В – Гам КОВИД Вак (Спутник V), Л – Гам КОВИД Вак (Спутник Лайт), К – Ковивак, Э – ЭпиВакКорона, Д – другая (нет данных). | | | |

Таблица 39 - Комбинации вакцин, использованные при трехкратной вакцинации и их влияние на гуморальный иммунный ответ

| Комбинация вакцин | Количество | Среднегеометрическое титра антител, в AU/ml | 95% ДИ |
|---|---|---|---|
| ЛЛП | 2 | 1150 | 1150 - 1150 |
| ППЛ | 2 | 1150 | 1150 - 1150 |
| ЭПП | 4 | 1097 | 1000,03 - 1203,31 |
| КВВ | 4 | 886 | 531,24 - 1477,13 |
| ЛВВ | 2 | 833,9 | 443,26 - 1568,14 |
| ЛПЛ | 7 | 744,4 | 469,07 - 1180,86 |
| ЛПВ | 4 | 708,1 | 400,86 - 1250,11 |
| ВПП | 15 | 702,8 | 474,64 - 1040,46 |
| ВПЛ | 58 | 666,8 | 517,05 - 859,93 |
| ЭЭЭ | 9 | 610,7 | 360,78 - 1033,21 |
| ВПЭ | 3 | 584,2 | 255 - 1336,79 |
| ВВЭ | 57 | 579,8 | 453,98 - 740,43 |
| ВВЛ | 846 | 508,3 | 465,53 - 554,88 |

Продолжение таблицы 39

| | | | |
|---|---|---|---|
| ЛВЛ | 26 | 459,7 | 272,17 - 775,81 |
| ВПК | 8 | 458,6 | 162 - 1294,86 |
| ЛЛЛ | 3 | 455 | 177,69 - 1162,47 |
| ВВВ | 629 | 454 | 407,2 - 506,19 |
| ВВК | 12 | 377,9 | 153,58 - 927,75 |
| ВПВ | 41 | 361 | 210,17 - 619,54 |
| ВВП | 26 | 311,3 | 160,44 - 602,99 |
| ЭЭВ | 25 | 283,6 | 140,42 - 571,85 |
| ЭЭЛ | 39 | 283,3 | 157,79 - 508,05 |
| ЭПЛ | 4 | 237,3 | 23,43 - 2323,8 |
| ККЛ | 2 | 91,58 | -0,34 - 12958,69 |
| ЭЭП | 2 | 25,86 | 2,04 - 236,3 |
| Примечание: В – Гам КОВИД Вак (Спутник V), Л – Гам КОВИД Вак (Спутник Лайт), К – Ковивак, Э – ЭпиВакКорона, П – препарат не известен | | | |

Среди девятнадцати комбинаций вакцин, встретившихся в анкетах, при двукратной вакцинации сочетание Спутник Лайт-Спутник Лайт (ЛЛ) и Спутник V- Спутник V (ВВ) давала более выраженный иммунный ответ, чем комбинации Эпивак-Эпивак (ЭЭ) и Ковивак-Ковивак (КК) ($P<0,01$) (Таблица 38).

Среди сорока трех комбинаций вакцин при трехкратной вакцинации восемнадцать комбинаций ЛВП, ДПЛ, ККК, КПЛ, КПП, ЭВВ, ПВЛ, ЛЛЭ, ЛЛВ, ЭЭК, ЛЭЭ, ВЛЛ, ЛПК, ВЛВ, ЭПВ, ВЭЛ, КВК, ЛПЭ состояли по одному человеку, поэтому данные шесть комбинаций были исключены из анализа. Среди оставшихся двадцати пяти комбинаций среднее геометрическое значение титра Ат после третьей вакцинации снижалось в следующей последовательности: ЛЛП, ППЛ, ЭПП, КВВ, ЛВВ, ЛПЛ, ЛПВ, ВПП, ВПЛ, ЭЭЭ, ВПЭ, ВВЭ, ВВЛ, ЛВЛ, ВПК, ЛЛЛ, ВВВ, ВВК, ВПВ, ВВП, ЭЭВ, ЭЭЛ, ЭПЛ, ККЛ, ЭЭП. Статистический анализ по достоверности различий между среднегеометрическим титра Ат различных комбинаций позволил выделить следующие группы: наивысшие титры обеспечили сочетания ЛЛП, ППЛ, ЭПП по сравнению с другими ($P < 0,01$). Комбинации КВВ, ЛВВ, ЛПЛ, ЛПВ, ВПП, ВПЛ имели более высокие значения среднегеометрического титра Ат, чем последовательности ВВВ, ВПВ, ВВП, ЭЭВ, ЭЭЛ ($P<0,05$). Комбинация ЭЭП имела наименьшие значения среднегеометрического титра Ат по сравнению с остальными сочетаниями

вакцин (P<0,05). Комбинации ВВВ, ВПВ, ВВП, ЭЭВ, ЭЭЛ, ЭПЛ, ККЛ не показали существенной разницы в титрах Ат с другими комбинациями. Возможно, при увеличении числа наблюдений статистическая разница будет выявлена.

Обращает на себя внимание то, что из всех выявленных комбинаций вакцин лишь шесть комбинаций соответствовали критерию «большая группа»: ВВЛ, ВВЛ, ВПЛ, ВВЭ, ВПВ, ЭЭЛ. Среди этих шести групп сочетание вакцин ВПЛ показало более высокие титры Ат, чем ВВЛ, ВВВ, ВПВ, ЭЭЛ (P<0,05), а комбинация ЭЭЛ наименьшие значения по сравнению с ВПЛ, ВВЭ (P<0,05). Поскольку в двух из шести комбинаций один из трех препаратов неизвестен (П), поэтому можно считать, что все проанализированные вакцины против COVID-19 в разных комбинациях показали одинаковую эффективность (Таблица 39).

На наличие хронических заболеваний органов дыхания указали 2294 человек (24,34±0,442%), данная патология отсутствовала или не была указана у 7130 (75,66±0,442%) респондентов. До вакцинации лица, указавшие на наличие аллергического ринита, бронхита и риносинусита имели достоверно более высокие титры Ат, чем лица без хронических заболеваний органов дыхания (P<0,01). Лица, страдавшие тонзиллитом, бронхиальной астмой и фарингитом имели более низкий уровень Ат к SARS-CoV-2 по сравнению с лицами, не имевших хронических заболеваний органов дыхания (P<0,01). После вакцинации различия в титрах Ат у лиц с наличием в анамнезе различных хронических заболеваний органов дыхания и их отсутствием была несущественной. Следовательно, наличие хронической патологии дыхательных путей не оказывало влияния на уровень Ат после вакцинации (Таблица 40).

Четверть участников исследования имели другие хронические заболевания, кроме болезней органов дыхания. Больше половины всех заболеваний были представлены болезнями системы кровообращения и одна треть - болезнями эндокринной системы, расстройствами питания и нарушения обмена веществ (Таблица 41). Группа лиц, имевшая какое-либо хроническое заболевание, до вакцинации имела более низкий титр Ат, по сравнению с группой лиц, не

имевших хронической патологии (P<0,01). Значения среднегеометрического тира IgG Ат между лицами с наличием в анамнезе разных групп заболеваний не имели достоверных различий. Титр Ат в группе лиц с заболеваниями костно-мышечной системы и соединительной ткани был достоверно ниже (P<0,01), чем можно пренебречь в связи с малочисленностью выборки. После вакцинации значения среднегеометрического титра IgG Ат достоверно увеличились во всех группах лиц с раличной хронической патологией и были сопоставмим между группами с различной хронической патологией. Таким образом, вакцинация приводила к увеличению тира Ат среди лиц с наличием, так и отсутствием хронической патологии, без достоверных различий между этими группами (Таблица 41).

Таблица 40 – Гуморальный иммунный ответ к вирусу SARS-CoV-2 до и после вакцинации против COVID-19 у лиц с хроническими заболеваниями органов дыхания в анамнезе*

| Заболевание | Коли-чест-во | Титр антител до вак-цинации, в AU/ml | 95% ДИ | Титр антител после вак-цинации, в AU/ml | 95% ДИ |
|---|---|---|---|---|---|
| Бронхиальная астма | 153 | 11,2 | 10,2-10,2 | 299,83 | 224,76-397,2 |
| Бронхит | 49 | 87,82 | 60,19-125,03 | 472,6 | 321,82-690,87 |
| Ринит аллергический | 201 | 123,83 | 103,22-146,14 | 317,2 | 246,58-405,41 |
| Риносинусит | 113 | 39,21 | 26,62-54,66 | 297,23 | 218,7-401,13 |
| Тонзиллит | 441 | 18,47 | 15,42-19,78 | 369,32 | 316,53-428,56 |
| Фарингит | 102 | 3,6 | 2,6-2,6 | 422,94 | 321,81-553,13 |
| Нет указаний на заболевание | 7130 | 34,26 | 31,78-34,8 | 367,54 | 352,58-381,06 |
| Примечание - * - в таблицу не вошли лица с заболеваниями органов дыхания, у которых не был определен уровень антител до вакцинации; встречались указания на несколько заболеваний дыхательных путей, респонденты были сгруппированы по заболеваниям и одно лицо мог быть учтено в нескольких группах одновременно. | | | | | |

Таблица 41 - Гуморальный иммунный ответ к вирусу SARS-CoV-2 до и после вакцинации у лиц с наличием хронических заболеваний

| Группа заболеваний | Количество | Встречаемость, P±m, в % | Титр IgG Ат до вакцинации, в AU/ml | 95% ДИ | Титр IgG Ат после вакцинации, в AU/ml | 95% ДИ |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Болезни системы кровообращения | 1291 | 13±0,337 | 35,52 | 35,41 - 35,63 | 424,63 | 424,54 - 424,72 |
| Болезни органов пищеварения | 62 | 0,62±0,079 | 25,81 | 25,22 - 26,4 | 308,62 | 308,09 - 309,15 |
| Болезни мочеполовой системы | 45 | 0,45±0,067 | 8,2 | - | 181,48 | 180,66 - 182,3 |
| Болезни эндокринной системы, расстройства питания и нарушения обмена веществ | 781 | 7,87±0,27 | 40,84 | 40,7 - 40,98 | 378 | 377,89 - 378,11 |
| Новообразования | 91 | 0,92±0,096 | - | - | 396,01 | 395,62 - 396,4 |
| Болезни костно-мышечной системы и соединительной ткани | 26 | 0,26±0,051 | 2,48 | 2,41 - 2,55 | 173,16 | 172,14 - 174,18 |
| Болезни крови, кроветворных органов и отдельные нарушения, вовлекающие иммунный механизм | 18 | 0,18±0,043 | 23,26 | 21,42 - 25,1 | 640,83 | 640,21 - 641,45 |
| Болезни кожи и подкожной клетчатки | 16 | 0,16±0,04 | 5,5 | - | 94,21 | 92,88 - 95,54 |
| Болезни глаза и его придаточного аппарата. | 7 | 0,07±0,027 | - | - | 1131,77 | 1131,74 - 1131,8 |
| Всего лиц с заболеваниями | 3011 | 30,32±0,461 | 29,05 | 28,98 - 29,12 | 396,17 | 396,11 - 396,23 |
| Нет указаний на хронические заболевания | 7639 | 76,93±0,423 | 37,22 | 37,18 - 37,26 | 368,98 | 368,94 - 369,02 |
| Итого | 9930 | 100±0 | 34,25 | 34,21 - 34,29 | 374,18 | 374,15 - 374,21 |

Результаты наших исследований показывают формирование высокой серопревалентности и гуморального иммунитета у вакцинированных против COVID-19 жителей РТ на третьем году пандемии и о положительном эффекте вакцинации против COVID-19. От общих особенностей популяционного иммунологического исследования переходим к группе МР.

## 6.2. Изучение возрастно-гендерных, территориальных характеристик поствакцинального иммунного ответа к вирусу SARS-CoV-2, влияния вакцин, кратности и сроков вакцинации на гуморальный иммунный ответ у медицинских работников Республики Татарстан

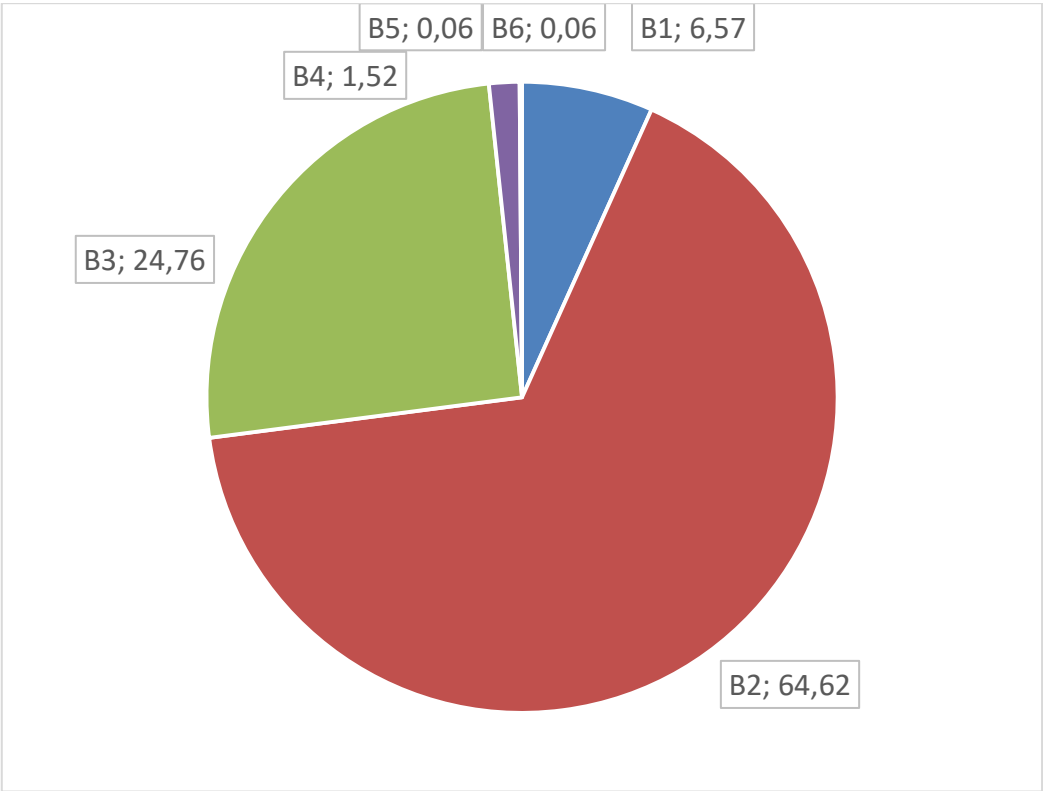
Среди жителей РТ, вакцинированных против COVID-19, участников популяционного исследования, проведенного с апреля по октябрь 2022 года было 1583 МР в возрасте от 18 до 73 лет, средний возраст составил 48,50832545 лет, медиана – 49 лет [31, 43, 78, 109, 110, 111, 115].

Наиболее активное участие в исследовании принимали женщины. Соотношение мужчин (144 человек, 9,1±0,723%) и женщин(1439 человек, 90,9±0,72 %) составило один к десяти (Таблица 42).

Таблица 42 - Распределение медицинских работников – участников популяционного исследования среди вакцинированных жителей Республики Татарстан по возрасту и гендерной принадлежности

| Возрастная группа | Мужчины | Женщины | Количество | P±m, в % |
|---|---|---|---|---|
| 18-19 | | 3 | 3 | 0,19±0,109 |
| 20-29 | 14 | 126 | 140 | 8,84±0,714 |
| 30-39 | 37 | 282 | 319 | 20,15±1,008 |
| 40-49 | 30 | 368 | 398 | 25,14±1,09 |
| 50-59 | 32 | 451 | 483 | 30,51±1,157 |
| 60-69 | 24 | 190 | 214 | 13,52±0,859 |
| 70+ | 7 | 19 | 26 | 1,64±0,319 |
| Итого | 144 | 1439 | 1583 | 100,0±0,0 |

1023 человека, получивших двукратную вакцинацию против COVID-19, составили 64,62%; каждый четвертый – 24,76% (392 МР) получил полный курс вакцинации и однократную ревакцинацию; однократную вакцинацию – 104 человека (6,57%); четыре дозы вакцины – 24 МР (1,5%) [109, 110] Также в единичных случаях были участники, получившие 5 и 6 доз вакцины против НКВИ (Рисунок 40).




Примечание: В1 – однократная вакцинация, В2 – двукратная вакцинация, В3 – полный курс вакцинации и ревакцинация, В4 – полный курс вакцинации и две ревакцинации, В5- полный курс вакцинации и три ревакцинации, В6- полный курс вакцинации и четыре ревакцинации, ГС – группа сравнения)

Рисунок 40 - Структура медицинских работников Республики Татарстан, вакцинированных против COVID-19

Серопревалентность к SARS-CoV-2 МР РТ составила 96,46±0,464% и не зависела от возраста обследованных. Значение среднегеометрического титра IgG Ат к SARS-CoV-2 - 459,5 (428,65-492,51). Титр антител к вирусу SARS-CoV-2 МР в возрасте 40-49 и 50-59 лет был достоверно выше, чем в возрасте 30-39 лет ($P<0,05$) (Таблица 43).

Таблица 43 - Серопревалентность к SARS-CoV-2 медицинских работников - участников популяционного исследования среди вакцинированных жителей Республики Татарстан разных возрастных групп

| Возрастная группа | Среднегеометрическое титра IgG Ат, в AU/ml | 95%т ДИ | Позитивны на IgG к SARS-CoV-2 | Негативны на IgG к SARS-CoV-2 | Всего | Серопревалентность, P±m, в % |
|---|---|---|---|---|---|---|
| 18-19 | 48,24 | 1,17-1115,06 | 2 | 1 | 3 | 66,67±27,217 |
| 20-29 | 386 | 305,97 -486,86 | 136 | 4 | 140 | 97,14±1,408 |
| 30-39 | 398,5 | 336,57 -471,88 | 304 | 15 | 319 | 95,3±1,185 |
| 40-49 | 499,4 | 439,91 - 566,8 | 387 | 11 | 398 | 97,24±0,822 |
| 50-59 | 494,6 | 435,68 -561,39 | 463 | 20 | 483 | 95,86±0,907 |
| 60-69 | 497,6 | 418,78 - 591,2 | 210 | 4 | 214 | 98,13±0,926 |
| 70+ | 322,1 | 162,82 -636,18 | 25 | 1 | 26 | 96,15±3,771 |
| Итого | 459,5 | 428,65 -492,51 | 1527 | 56 | 1583 | 96,46±0,464 |

Доля серопозитивных и значение среднегеометрического титра Ат к SARS-CoV-2 среди мужчин и среди женщин не имели достоверных различий (Таблица 44).

Таблица 44 - Уровень серопревалентности к вирусу SARS-CoV-2 и значение среднегеометрического титра IgG антител медицинских работников Республики Татарстан в зависимости от гендерной принадлежности

| Пол | Серопозитивны на IgG к SARS-CoV-2 | Серонегативны на IgG к SARS-CoV-2 | Всего | Доля серопозитивных, % | Среднегеометрическое титра IgG Ат, в AU/ml | 95% ДИ |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Мужчины | 136 | 8 | 144 | 94,44±1,909 | 439,02 | 338,32 - 569,61 |
| Женщины | 1391 | 48 | 1439 | 96,66±0,473 | 461,57 | 429,58 - 495,94 |
| Всего | 1527 | 56 | 1583 | 96,46±0,464 | 459,47 | 428,65 - 492,51 |

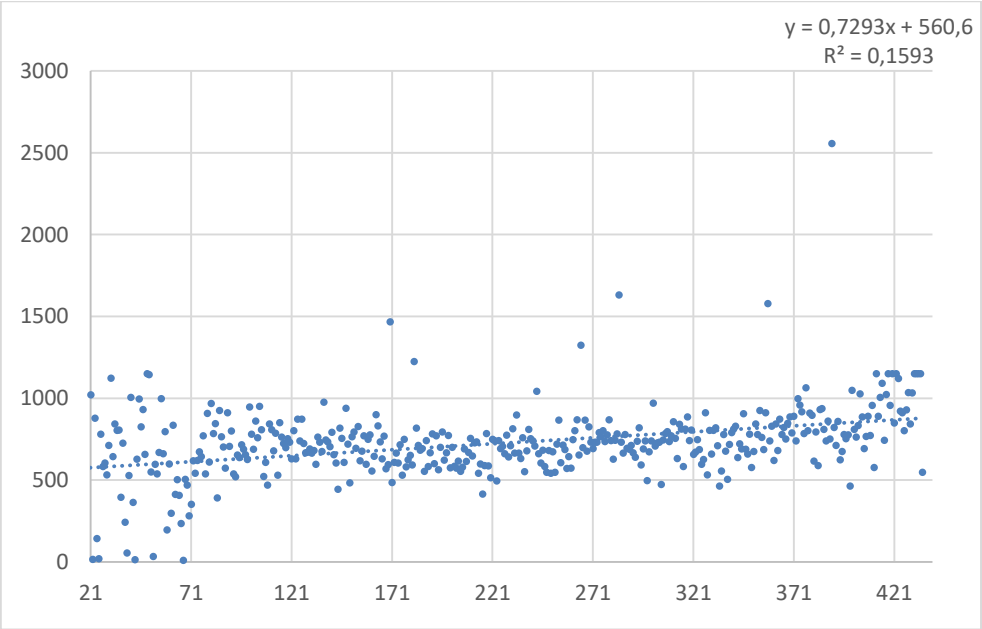
Титр Ат вакцинированных однократно, был достоверно выше, чем у лиц, привитых двух- и трехкратно (P<0,05). Вакцинированные двукратно имели достоверно более низкий титр Ат по сравнению с вакцинированными одно-, трехкратно и не вакцинированными МР (P<0,01) (Таблица 45).

Таблица 45 - Влияние кратности вакцинации на серопревалентность и уровень IgG антител к вирусу SARS-CoV-2 среди медицинских работников Республики Татарстан

| Вакцинальная группа | Выявлено серопозитивных лиц | Численность группы | Доля серопозитивных лиц, P±m, в % | Среднегеометрическое титра IgG Ат к SARS-CoV-2 в AU/ml | 95% ДИ |
|---|---|---|---|---|---|
| Вакцинированные 1-кратно | 103 | 104 | 99,04±0,957 | 664,78 | 554,82-796,51 |
| Вакцинированные 2-кратно | 978 | 1023 | 95,6±0,641 | 414,59 | 377,93-454,81 |
| Вакцинированные 3-кратно | 384 | 392 | 97,96±0,714 | 514,16 | 454,85-581,2 |
| Вакцинированные 4-кратно | 23 | 24 | 95,83±4,079 | 631,56 | 386,75-1030,93 |
| Не вакцинированные | 37 | 38 | 97,37±2,597 | 653,38 | 456,29-935,41 |
| Итого | 1527 | 1583 | 96,46±0,464 | 459,47 | 428,65-492,51 |

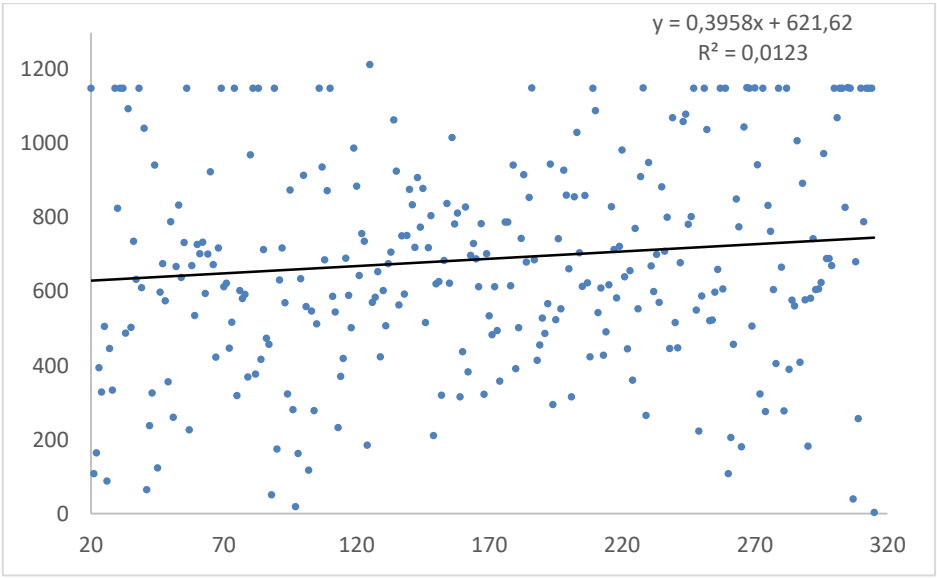
В группе лиц, получивших однократную вакцинацию против COVID-19, динамика титра Ат после вакцинации описывалась уравнением линейной регрессии y=560,6+0,7293 × x, (p<0,01), то есть чем больше проходило времени после ведения вакцины, тем более высокими были титры Ат (Рисунок 41).

Аналогичная тенденция отмечена в группе лиц, получивших двукратную вакцинацию против COVID-19, динамика титра Ат после введения второй дозы вакцины описывалась уравнением линейной регрессии y = 621,62 + 0,3958 × x (p<0,01), то есть чем больше проходило времени после введения второй дозы вакцины, тем более высокими были титры Ат (Рисунок 42).




Примечание: По оси ординат значение среднегеометрического титра IgG Ат в AU/ml; по оси абсцисс - количество дней от момента вакцинации

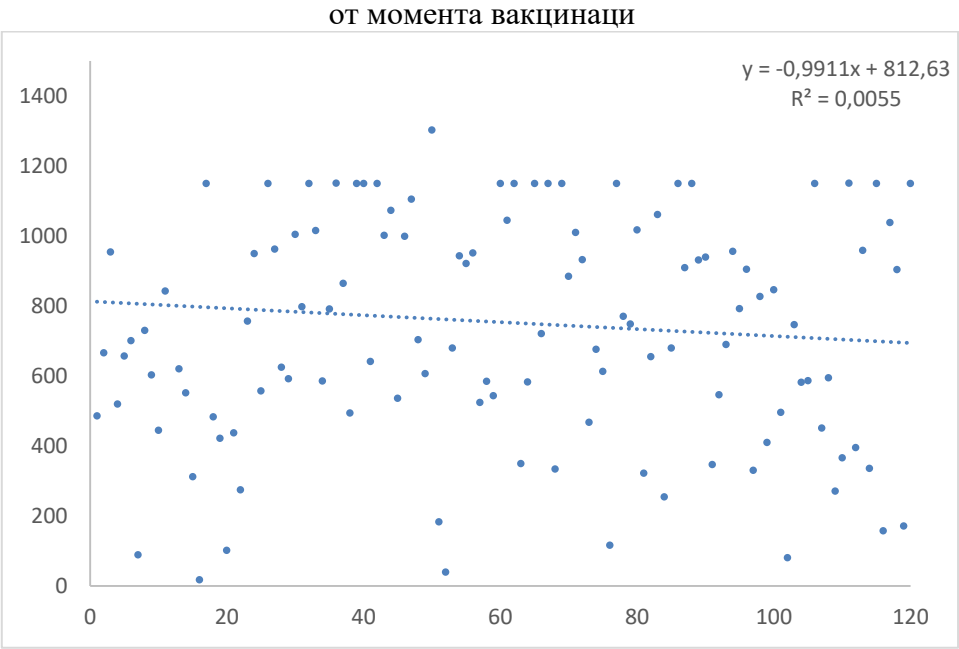
Рисунок 41 - Динамика титра IgG антител к SARS-CoV-2 после первой вакцинации в зависимости от времени, прошедшего после введения вакцины в группе медицинских работников, получивших только одну дозу вакцины против COVID-19




Примечание: По оси ординат значение среднегеометрического титра IgG Ат в AU/ml; по оси абсцисс - количество дней

Рисунок 42 - Динамика титра IgG антител к SARS-CoV-2 после второй вакцинации в зависимости от времени, прошедшего после введения второй дозы вакцины в группе медицинских работников, получивших двукратную вакцинацию против COVID-19 [31]

Противоположная динамика прослежена в группе лиц, получивших трехкратную вакцинацию против COVID-19, динамика титра Ат после введения третьей дозы вакцины описывалась уравнением линейной регрессии y =812,63 - 0,9911 × x, что свидетельствовало о постепенном снижении титра Ат у вакцинированных лиц после введения третьей дозы вакцины (p<0,01) (Рисунок 43).



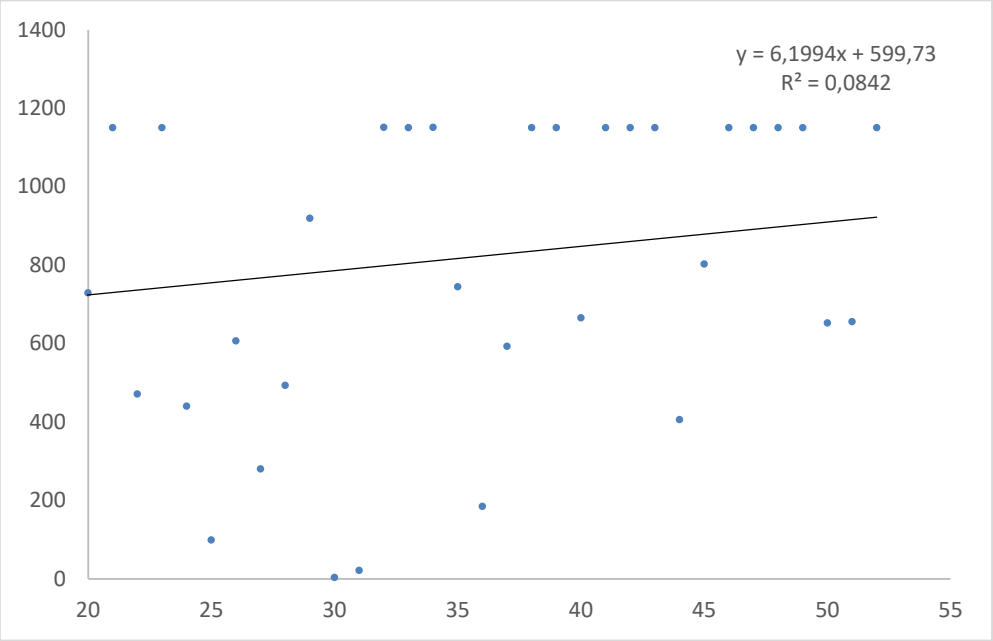

Примечание: По оси ординат значение среднегеометрического титра IgG Ат в AU/ml; по оси абсцисс - количество дней от момента вокцинации

Рисунок 43 - Динамика титра IgG антител к SARS-CoV-2 после третьей вакцинации в зависимости от времени, прошедшего после введения третьей дозы вакцины в группе медицинских работников, получивших трехкратную вакцинацию против COVID-19

В когорте МР, получивших две дозы вакцины против COVID-19, динамика титра Ат после второй вакцинации зависела от интервала времени между первой и второй вакцинациями и описывалась уравнением линейной регрессии y = 599,73 + 6,1994 × x. Увеличение интервала между первой и второй дозами вакцины приводило к росту титра Ат (p<0,01) (Рисунок 44).

В группе лиц, получивших полный курс вакцинации и ревакцинацию против COVID-19, динамика титра Ат после введения третьей дозы вакцины зависела от

интервала времени между второй и третьей вакцинациями и описывалась уравнением линейной регрессии y = 690,45 + 0,5369 × x. Увеличение интервала между второй и третьей дозами вакцины приводило к росту титра Ат против SARS-CoV-2 (p<0,01) (Рисунок 45).

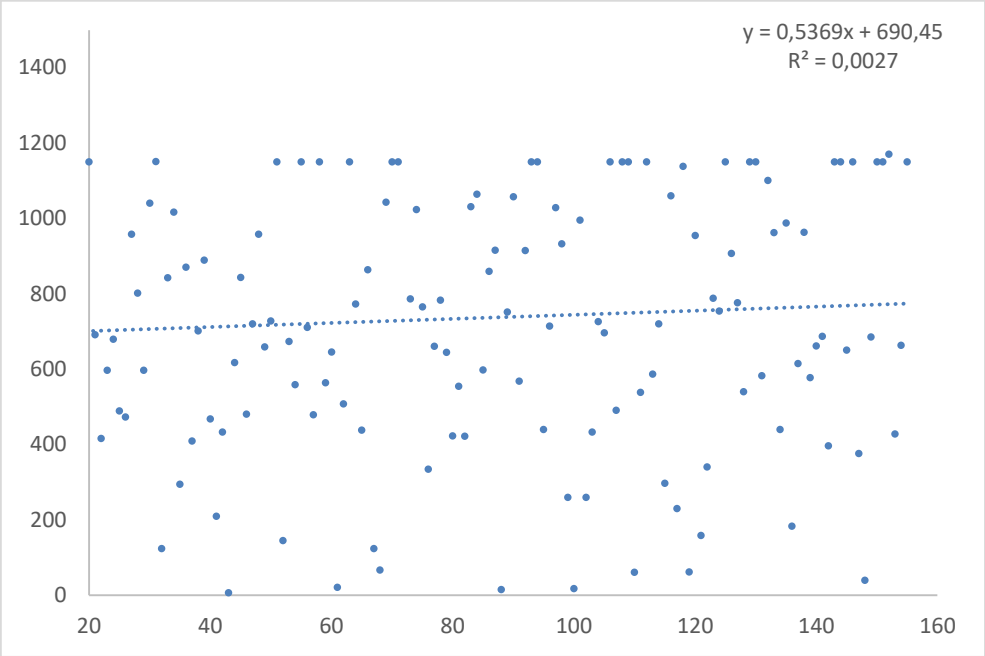



Примечание: По оси ординат значение среднегеометрического титра IgG Ат в AU/ml; по оси абсцисс - количество дней от момента вакцинации

Рисунок 44 - Динамика титра IgG антител к SARS-CoV-2 после второй вакцинации в зависимости от интервала между первой и второй вакцинациями в группе медицинских работников, получивших две дозы вакцины против COVID-19 [30]

Увеличение титра Ат может быть обусловлено естественной бустеризацией вследствие циркуляции дикого вируса в условиях пандемии, а также естественным течением инфекционного и поствакцинального процесса

Подавляющее большинство вакцинированных были привиты вакциной Гам КОВИД Вак (Спутник V), 5,9% – вакциной ЭпиВакКорона, 1,77% – вакциной Ковивак. Сравнение титров Ат после однократной иммунизации МР показало отсутствие статистически значимых различий в зависимости от вида вакцины в связи с недостаточной численностью МР, привитых вакцинами Ковивак (28) и ЭпиВакКорона (92).




Примечание: По оси ординат среднегеометрическое титра IgG Ат в AU/ml; по оси абсцисс-количество дней от момента вакцинации

Рисунок 45 - Динамика титра IgG антител к SARS-CoV-2 после полного курса вакцинации и ревакцинации в зависимости от интервала между введением второй и третьей дозы вакцины в группе медицинских работников, получивших три дозы вакцины против COVID-19 (полный курс вакцинации и ревакцинацию)

Сравнение среднегеометрического титра IgG Ат к SARS-CoV-2 после двукратной вакцинации различными вакцинами показало, что значения были выше после вакцинации Спутник, чем после применения препаратов Ковивак и ЭпиВакКорона ($P<0,05$), что может свидетельствовать о более высокой степени специфичности и чувствительности применяемых тест- систем в данном исследовании к иммуногенным эпитопам «Спутник V»(«Гам-КОВИД-Вак») и «Спутник Лайт» по сравнению с препаратами Ковивак и ЭпиВакКорона, которые требуют применения других тестов для выявления пула формирующихся после вакцинации Ат, а так же значительно меньшей долей выборки лиц, вакцинированных препаратами Ковивак и ЭпиВакКорона [109, 110] (Таблица 46).

Изучение влияния комбинации вакцин на иммунный ответ при двукратной вакцинации медицинских работников против COVID-19 приведено в таблице 47.

Таблица 46 - Иммунный ответ в когорте медицинских работников, получивших разное количество доз вакцин [109, 110]

| Название вакцины | Коли-чество МР | Доля, P±m, в % | Среднегео-метрическое титра IgG Ат, в AU/ml | 95% ДИ |
|---|---|---|---|---|
| **Однократная вакцинация** | | | | |
| ГАМ КОВИД ВАК (Спутник Лайт) | 141 | 8,91±0,716 | 669,2 | 569,1 - 786,86 |
| ГАМ КОВИД ВАК (Спутник) | 1311 | 82,82±0,948 | 456,5 | 423,33 - 492,19 |
| КОВИВАК | 28 | 1,77±0,331 | 291,6 | 150,78 - 562,91 |
| ЭпиВакКорона | 92 | 5,81±0,588 | 300,1 | 202,76 - 444,01 |
| Не указано | 11 | 0,69±0,208 | 905,4 | 664,67 - 1233,1 |
| Итого | 1583 | 100±0 | 459,5 | 428,65 - 492,51 |
| **Двукратная вакцинация** | | | | |
| ГАМ КОВИД ВАК (Спутник Лайт) | 11 | 0,68±0,205 | 710,75 | 544,84 - 927,1 |
| ГАМ КОВИД ВАК (Спутник) | 1341 | 83,29±0,93 | 456,38 | 423,51 - 491,8 |
| КОВИВАК | 28 | 1,74±0,326 | 305,11 | 156,71 - 593,15 |
| ЭпиВакКорона | 95 | 5,9±0,587 | 305,57 | 208,5 - 447,62 |
| Не указано | 108 | 8,39±0,691 | 693,05 | 596,39 - 805,34 |
| Итого | 1583 | 100±0 | 459,47 | 428,9 - 492,22 |
| **Трехкратная вакцинация** | | | | |
| ГАМ КОВИД ВАК (Спутник Лайт) | 259 | 17,76±0,952 | 550,44 | 479,92 - 631,31 |
| ГАМ КОВИД ВАК (Спутник) | 1172 | 72,8±1,109 | 437,13 | 401,92 - 475,42 |
| КОВИВАК | 1 | 0,06±0,061 | 1150 | - |
| ЭпиВакКорона | 2 | 0,12±0,086 | 1150 | 1150 - 1150 |
| Не указано | 149 | 9,25±0,722 | 475,4 | 384,29 - 588,06 |
| Итого | 1583 | 100±0 | 459,47 | 428,9 - 492,22 |

Среди тринадцати комбинаций вакцин, встретившихся в анкетах МР, при двукратной вакцинации сочетание Спутник Лайт - Спутник Лайт (ЛЛ) и Спутник V - Спутник V (ВВ) давали более выраженный иммунный ответ, чем комбинации ЭпиВакКорона - ЭпиВакКорона (ЭЭ) , сочетание Спутник V- Спутник Лайт (ВЛ) больше, чем комбинация Ковивак - Ковивак (КК) и ЭпиВакКорона - ЭпиВакКорона (ЭЭ) ($P<0,05$) (Таблица 47).

Таблица 47 – Иммунный ответ после двукратной вакцинации медицинских работников в зависимости от комбинации вакцин

| Комбинация вакцин | Количество | Среднегеометрическое титра Ig G Ат к SARS-CoV-2в AU/ml | 95% ДИ |
|---|---|---|---|
| ВЭ | 3 | 1150 | 1150 - 1150 |
| ЛП | 4 | 1095 | 995,27 - 1205,17 |
| ВЛ | 7 | 670 | 479,27 - 935,07 |
| ЛЛ | 2 | 541 | 307,81 - 951,8 |
| ПВ | 2 | 509 | 102,66 - 2511,71 |
| ВВ | 889 | 430 | 390,5 - 473,24 |
| ВП | 5 | 420 | 146,86 - 1198,53 |
| ЛВ | 3 | 320 | 209,68 - 487,72 |
| КК | 27 | 290 | 146,52 - 574,85 |
| ЭЭ | 78 | 261 | 166,99 - 406,21 |
| Примечание: В – Гам КОВИД Вак (Спутник V), Л – Гам КОВИД Вак (Спутник Лайт), К – Ковивак, Э – ЭпиВакКорона, П – нет данных. | | | |

Изучение влияния комбинации вакцин на иммунный ответ при трехкратной вакцинации медицинских работников против COVID-19 приведено в таблице 48.

Среди пятнадцати комбинаций вакцин при трехкратной вакцинации пять комбинаций ЛЛП, ВВК, ПВЛ, ВЭЛ, ЭЭП встречались по единичному случаю, поэтому они были исключены из анализа. Среди оставшихся десяти комбинаций среднегеометрическое титра IgG Ат к SARS-CoV-2 после третьей вакцинации уменьшалось в следующей последовательности: ВВЭ, ВПЛ, ЛПВ, ЭЭЛ, ЛПЛ, ВВЛ, ВВП, ЛВЛ, ВВВ, ЭЭВ. Статистический анализ по достоверности различий между среднегеометрическим титра Ат различных комбинаций позволил выделить следующие группы: наивысшие титры обеспечили сочетания ЛЛП, ППЛ, ЭПП по сравнению с другими ($P<0,01$). Комбинации ВВЭ, ВПЛ имели более высокие значения среднегеоометрического титра Ат, чем последовательности ВВЛ, ВВП, ЛВЛ, ВВВ, ЭЭВ ($P<0,01$). Комбинации ЛПВ, ЭЭЛ, ЛПЛ не показали существенной разницы в титрах Ат с другими комбинациями. Возможно, при увеличении числа наблюдений статистическая разница будет выявлена.

Обращает на себя внимание то, что из всех выявленных комбинаций вакцин лишь две комбинации соответствовали критерию «большая группа»: ВВЛ, ВВВ.

Между этими двумя группами статистическая разница была не существенной (Таблица 48).

Таблица 48 - Иммунный ответ после трехкратной вакцинации медицинских работников в зависимости от комбинации вакцин

| Комбинация вакцин | Количество | Титры Ig G Ат к вирусу SARS-CoV-2 в AU/ml | 95% ДИ |
|---|---|---|---|
| ВВЭ | 2 | 1150 | 1150 - 1150 |
| ВПЛ | 2 | 954,5 | 662,35 - 1375,24 |
| ЛПВ | 2 | 775,7 | 358,34 - 1677,98 |
| ЭЭЛ | 5 | 688 | 251,05 - 1882,64 |
| ЛПЛ | 3 | 647,5 | 256,75 - 1630,59 |
| ВВЛ | 231 | 553,6 | 475,41 - 644,7 |
| ВВП | 2 | 492,5 | 232,12 - 1043,58 |
| ЛВЛ | 25 | 452,7 | 262,6 - 779,88 |
| ВВВ | 113 | 439,9 | 342,49 - 564,99 |
| ЭЭВ | 2 | 317,3 | 24,62 - 3953,03 |
| Примечание: В – Гам КОВИД Вак (Спутник V), Л – Гам КОВИД Вак (Спутник Лайт), К – Ковивак, Э – ЭпиВакКорона, П – нет данных. Рассчитано среднегеометрическое значение титра Ат [109, 110]) | | | |

Изучение динамики титра IgG Ат к SARS-CoV-2 до и после вакцинации приведено в таблице 49. Среднегеометрическое титра IgG Ат к SARS-CoV-2 у 260 МР до вакцинации - 107,2 (95% ДИ 87,71-128,54). После вакцинации среднегеометрическое титра Ат в группе лиц, у которых был определен титр Ат до вакцинации, увеличился в 5,02 раз и составил 538,11 (95% ДИ 463,81-621,96) ($P<0,05$).

Таблица 49 - Гуморальный иммунный ответ к SARS-CoV2 у медицинских работников до и после вакцинации

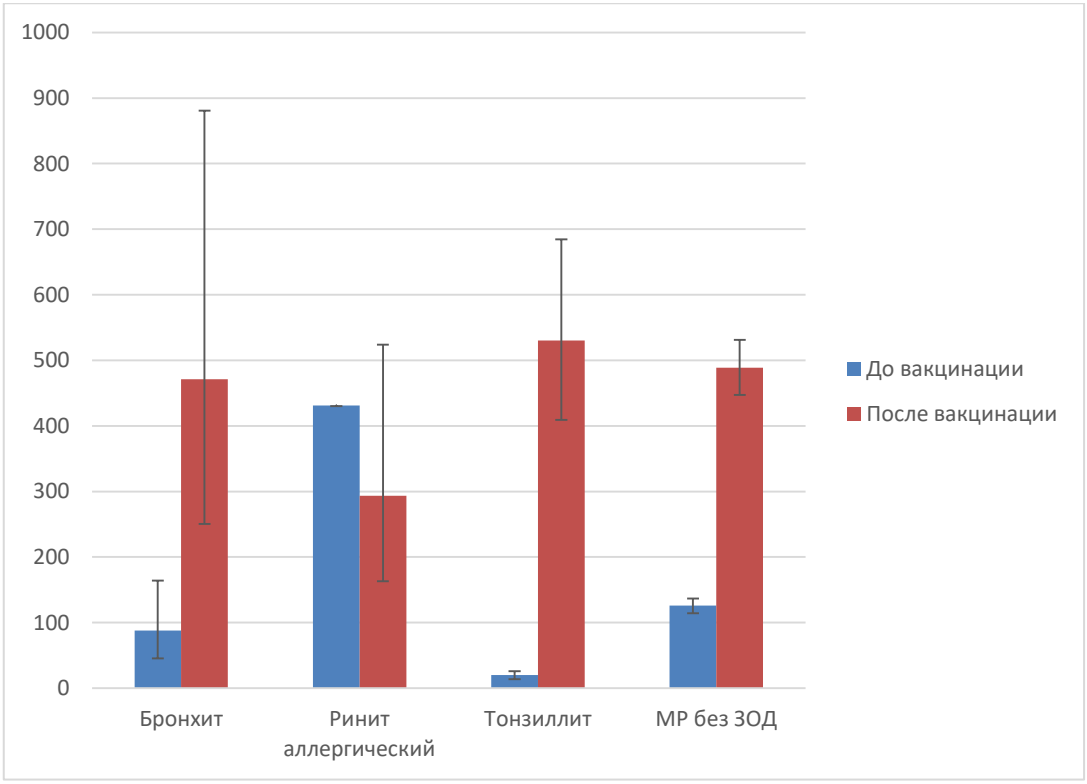
| Определение титра до вакцинации | Количество | Титр IgG Ат до вакцинации AU/ml | 95% ДИ | Титр IgG Ат после вакцинации AU/ml | 95% ДИ |
|---|---|---|---|---|---|
| Проводилось | 260 | 107,2 | 87,71-128,54 | 538,11 | 463,81-621,96 |
| Не проводилось | 1310 | - | - | 445,78 | 411,22-481,07 |
| Нет данных | 13 | - | - | 536,48 | 312,87-915,97 |
| Итого | 1583 | 107,2 | 98,28-114,75 | 460,47 | 428,65-492,51 |

Изучение влияния наличия хронических заболеваний органов дыхания на титр IgG к вирусу SARS-CoV-2 приведено в таблице 50 и на рисунке 46. На наличие хронических заболеваний органов дыхания указали 604 МР (38,16±1,221%), данная патология отсутствовала или не была указана у 979 (61,84±1,221 %) респондентов.

До вакцинации 50 МР, указавших на наличие аллергического ринита, имели достоверно более высокие титры Ат, чем лица с бронхитом (16 лиц), тонзиллитом (108 человек) и без хронических заболеваний органов дыхания (979МР) (P<0,01). Лица, страдавшие тонзиллитом, имели более низкий уровень IgG Ат к SARS-CoV-2- 19, 94 AU/ml по сравнению с лицами, не имевших хронических заболеваний органов дыхания- 125,88 AU/ml (P<0,01). После вакцинации различия в титрах Ат у лиц с наличием в анамнезе различных хронических заболеваний органов дыхания и их отсутствием были несущественными. Следовательно, наличие хронической патологии дыхательных путей не оказывало влияния на титры Ат после вакцинации (Таблица 50 и рисунок 46).

Таблица 50 - Гуморальный иммунный ответ у медицинских работников с наличием и отсутствием хронических заболеваний органов дыхания до и после вакцинации против COVID-19

| Заболевание | Коли-чест-во | Доля, P±m, в % | Титр IgG Ат до вакцина-ции AU/ml | 95% ДИ | Титр IgG Ат после вакцина-ции AU/ml | 95% ДИ |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Бронхит | 16 | 1,01± 0,251 | 87,82 | 45,67 - 164,25 | 470,94 | 250,57 - 880,63 |
| Ринит аллер-гический | 50 | 3,12± 0,341 | 431,1 | 430,1 - 430,1 | 293,39 | 162,98 - 523,92 |
| Тонзиллит | 108 | 6,75± 0,551 | 19,94 | 13,66 - 26,13 | 530,24 | 409,29 - 684,25 |
| Нет заболеваний | 979 | 61,84± 1,221 | 125,88 | 114,13 - 136,63 | 488,51 | 447,3 - 531,32 |



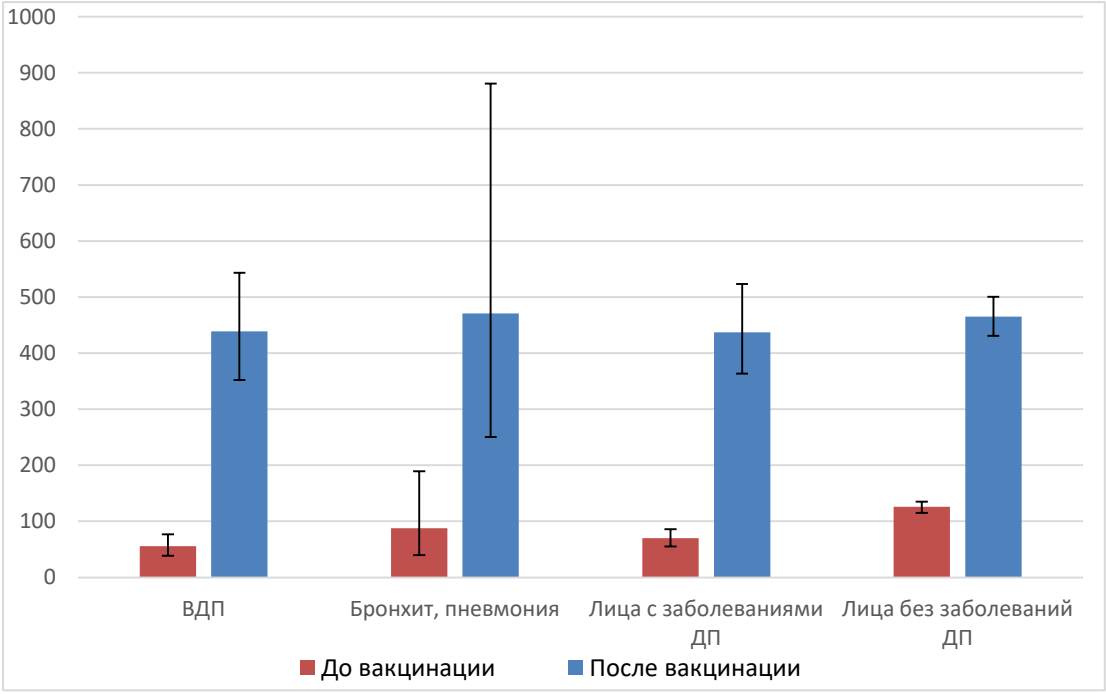

Примечание: По оси ординат: среднегеометрическое значение титра IgG Ат к SARS-CoV-2; по оси абсцисс: группы МР с заболеваниями органов дыхания и их отсутствием; респонденты были сгруппированы по заболеваниям и один МР мог быть учтен в нескольких группах [34, 109, 110]

Рисунок 46 - Гуморальный иммунный ответ к SARS-CoV-2 до- и после вакцинации у лиц с наличием и отсутствием хронических заболеваний органов дыхания

Уровень IgG Ат к SARS-CoV-2 до вакцинации был наибольшим у МР без заболеваний дыхательных путей по сравнению с группами МР с наличием заболеваний дыхательных путей и ВДП ($P<0,01$). Вакцинация привела к росту специфического иммунитета против COVID-19 во всех группах лиц с заболеваниями дыхательных путей ($P<0,01$). После вакцинации разница в титрах Ат в группах МР с наличием и отсутствием заболеваний дыхательных путей была не достоверной. Группировка МР по заболеваниям подтвердила сделанный ранее вывод об отсутствии влияния заболеваний дыхательных путей на ИО после вакцинации против COVID-19 (Таблица 51 и Рисунок 47).

Таблица 51 - Гуморальный иммунный ответ к вирусу SARS-CoV-2 до и после вакцинации против COVID-19 у медицинских работников с наличием и отсутствием заболеваний органов дыхания

| Группа | Коли-чество | Титры Ig G Ат к SARS-CoV-2 до вакцинации в AU/ml | 95% ДИ | Титры Ig G Ат к SARS-CoV-2после вакцинации в AU/ml | 95% ДИ |
|---|---|---|---|---|---|
| Заболевания верхних ДП | 200 | 55,56 | 38,78 - 76,6 | 438,6 | 352,28-543,55 |
| Бронхит, пневмония | 16 | 87,82 | 39,49 - 189,48 | 470,9 | 250,57-880,63 |
| Итого лица с заболеваниями ДП | 264 | 69,85 | 54,94 - 86,21 | 437,4 | 363,69-523,51 |
| Лица без заболеваний дп | 1319 | 125,9 | 115,27 - 135,29 | 465,2 | 430,71-500,38 |
| Примечание: ДИ – доверительный интервал, ДП – дыхательные пути. Расчитано среднегеометрическое значение титров IgG Ат | | | | | |




По оси ординат: среднегеометрическое значение титра IgG Ат к SARS-CoV-2; по оси абсцисс: группы МР с заболевания органов дыхания и их отсутствием; респонденты были сгруппированы по заболеваниям и один МР мог быть учтен в нескольких группах

Рисунок 47 - Гуморальный иммунный ответ к SARS-CoV-2 у медицинских работников с заболеваниями дыхательных путей до и после вакцинации против COVID-19

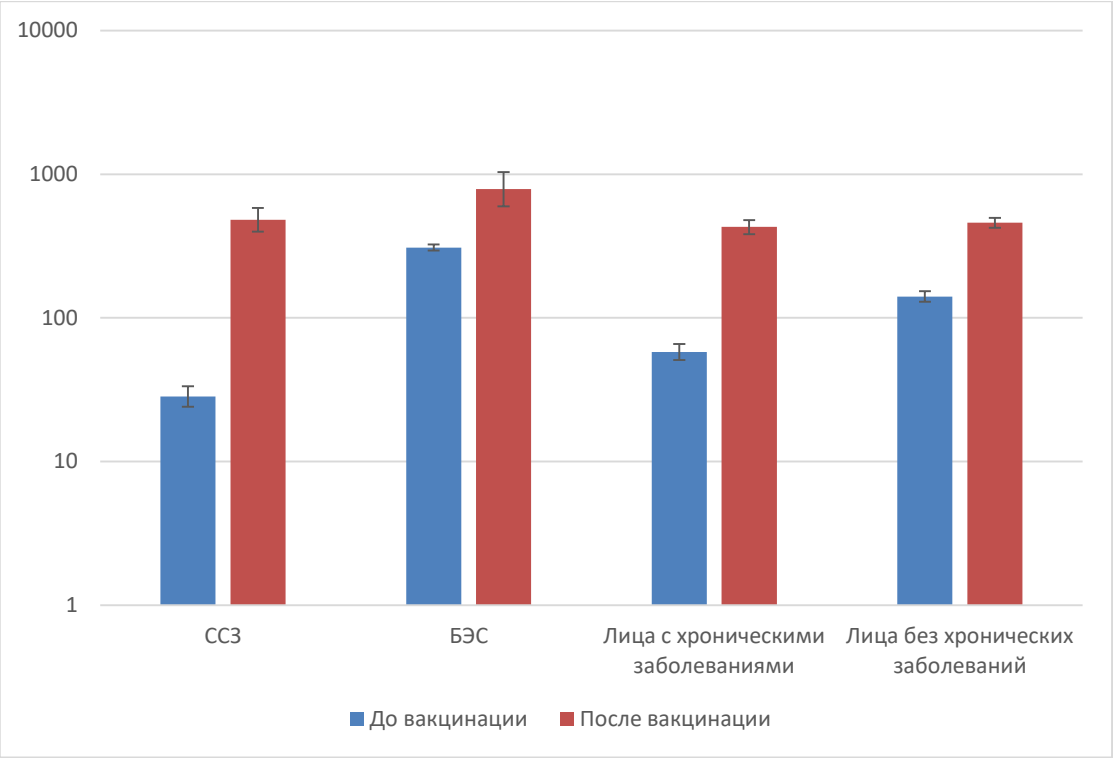
Изучение влияния наличия хронических заболеваний на гуморальный иммунный ответ к SARS-CoV-2 в когорте МР приведено в таблице 52. Отмеченные в анкетах заболевания были сгруппированы в соответствии с МКБ-10. Поскольку у одного человека могло быть несколько заболеваний, относящихся к разным классам МКБ-10, то при группировке в соответствии с МКБ-10 лица с несколькими заболеваниями учитывались по несколько раз в соответствующих классах болезней.

Таблица 52 - Гуморальный иммунный ответ к SARS-CoV-2- до- и после вакцинации у медицинских работников с наличием и отсутствием хронических заболеваний

| Группа заболеваний | Ко-ли-чест-во | Средне-геометри-ческое титра Ig G Ат к SARS-CoV-2 до вакцинации, в AU/ml | 95% ДИ | Средне-геометриче ское титра IgG Ат к SARS-CoV-2 после вак-цинации AU/ml | 95% ДИ |
|---|---|---|---|---|---|
| Болезни системы кровообращения | 208 | 28,36 | 24,07 - 33,37 | 482,34 | 397,53 - 582,78 |
| Болезни эндокринной системы, расстройства питания и нарушения обмена веществ | 130 | 308,84 | 294,79 - 323,55 | 787,97 | 597,68 - 1036,1 |
| Лица с хроническими заболеваниями | 657 | 57,91 | 50,99 - 65,77 | 429,02 | 382,44 - 479,02 |
| Лица без хронических заболеваний | 1199 | 140,75 | 129,26 - 153,25 | 459,58 | 423,82 - 496,18 |
| Итого | 1583 | 106,2 | 98,28 - 114,75 | 460,47 | 428,65 - 492,51 |

До вакцинации лица с какими-либо хроническими заболеваниями имели более низкие значения среднегеометрического титра Ат по сравнению с лицами без хронической патологии ($P<0,01$). Гуморальный иммунный ответ, характеризующийся среднегеометрическим значением титра IgG Ат к вирусу

SARS-CoV-2, был выше у МР, указавших на наличие болезней эндокринной системы, расстройств питания и нарушения обмена веществ по сравнению с группой МР, имеющих в анамнезе болезни системы кровообращения (P<0,01). Изучение ИО после вакцинации показало, что значение среднегеометрического титра IgG Ат к SARS-CoV-2 не отличалось в группах с наличием и отсутствием хронических заболеваний (Таблица 52 и рисунок 48).




Примечание: По оси ординат: значение среднегеометрического титра IgG Ат к SARS-CoV-2; по оси абсцисс: группы МР с хроническими заболеваниями и их отсутствием; респонденты были сгруппированы по заболеваниям и один МР мог быть учтен в нескольких группах

Рисунок 48 - Гуморальный иммунный ответ к SARS-CoV-2 до- и после вакцинации у медицинских работников с наличием и отсутствием хронических заболеваний

Таким образом, результаты исследования популяционного иммунитета показывают формирование высокой серопревалентности и гуморального иммунитета у вакцинированных против COVID-19 МР РТ.

***

Одним из доказанных последствий перенесенной НКВИ является формирование потенциальных дисфункций системного иммунитета [96, 121, 158]. Исследования свидетельствуют о нарушениях как врожденных, так и адаптивных механизмов иммунного ответа и необходимости оптимизации лечебно-профилактических мероприятий, направленных на повышение неспецифической резистентности, защиты барьеров слизистых респираторного тракта, и выявление генетических предикторов дефектов врожденного и адаптивного иммунного ответа, особенно в группах высокого риска инфицирования, к которым относятся МР [34].

В связи с этим нам представилось важным изучение показателей врожденного иммунитета у МР ВИГ в ранние сроки реконвалесценции после НКВИ и спустя 2,5-3 года после впервые перенесенной инфекции.

# ГЛАВА 7. ВРОЖДЕННЫЙ ИММУНИТЕТ У МЕДИЦИНСКИХ РАБОТНИКОВ В ПЕРИОД РЕКОНВАЛЕСЦЕНЦИИ ПОСЛЕ COVID-19 НА РАННИХ СРОКАХ И СПУСТЯ 2,5-3 ГОДА ПОСЛЕ ВПЕРВЫЕ ПЕРЕНЕСЕННОЙ ИНФЕКЦИИ

Как известно, врождённые компоненты иммуной системы, также вовлечены в систему противовирусного иммунитета. В частности, известно, что иммунные клетки экспрессирующие TLR, хорошо представлены в системе слизистой оболочки ВДП, через котрые происходит внедрение вируса SARS-CoV-2. Также показано, что макрофагальная система ВДП способна выявлять вирусы непосредственно через TLR, с участием антител через с Fc-рецепторный механизм. Установлено, что S-белок SARS-CoV-2 может связываться и активировать TLR-4, в то время как TLR-2 взаимодействует с белком оболочки вируса [119, 172, 262]. Взаимодействие белков E и S вируса SARS-CoV-2 с TLR-2 и TLR4 соответственно активирует внутриклеточные сигнальные пути, которые приводят к транскрипционной активации и экспрессии воспалительных генов и интерферон-стимулированных генов.

Результаты недавно проведенных исследований показали влияние специфической модификации доменов этих рецепторов. Так, в исследовании A.M. Alhabibi, A.S. Hassan, N.M. Abd Elbaky и др. (2023) [199], было установлено, что наличие SNP (rs5743708) TLR-2 с мутантным генотипом (G/A) и наличием аллели A, в значительной степени коррелировало с повышенным риском заражения SARS-CoV-2 и представляет собой один из факторов риска тяжести течения COVID-19 [34, 199].

В другой работе, E. Bakaros, I. Voulgaridi, V. Paliatsa и др. (2023) [206] было установлено, что носители полиморфизма SNP rs5743708 гена TLR-2 сохраняют повышенный риск развития выраженных воспалительных реакций в нижних дыхательных путях и склонность к более тяжелому течению респираторных заболеваний [34, 204]. Данный полиморфизм был ассоциирован с

гипореактивностью рецепторов и восприимчивостью к нескольким инфекционным заболеваниям.

Кроме того, было выявлено, что экспрессия TLR-4 и сенсибилизация к липополисахаридам бактериальной микробиоты, дисбаланс которой наблюдается при вирусных респираторных инфекциях, значительно усиливаются. Наличие полиморфизма SNP (rs4986790) в гене TLR-4 может способствовать повышенной восприимчивости к респираторным вирусным инфекциям, вызванным вирусами, имеющими тропизм к легочной ткани [148]. Недавние in silico исследования моделирования шиповидного гликопротеина на белковой оболочке коронавируса SARS-CoV-2 позволили установить, что данный гликопротеин обладает наиболее выраженными белок-белковыми взаимодействиями с TLR-4, что подтверждает значимую роль TLR-4 в инфекционном процессе при НКВИ у человека [34, 142, 217].

## 7.1. Изучение распространенности однонуклеотидных полиморфизмов TLR-4 (rs4986790) и TLR-2 (rs5743708) в группе медицинских работников

В связи с этим нами проведено исследование по распространённости данных SNP TLR-2 и TLR-4 в группе высокого риска по заболеваемости НКВИ – МР, а также городской группе лиц, представляющей собой более широкую выборку, необходимую для проведения скрининга на распространённость в данной части популяции вышеназванных полиморфизмов TLR-2 и TLR-4 [33, 34, 38, 77, 87, 113].

Распределения генотипов SNP (rs5743708, G>A и rs4986790, A>G, T) в генах TLR-2 и TLR-4 в исследуемой группе МР и в группе контроля представлены в Таблице 53. В результате нашего исследования было выявлено, что в группе МР частота встречаемости полиморфного аллеля A (rs5743708) в гене TLR-2 составляет 4,0% при кодоминантной модели наследования, тогда как

полиморфный аллель G (rs4986790) в гене TLR-4 встречается с частотой 9,7%. В контрольной группе частота полиморфного аллеля A (rs5743708) в гене TLR-2 составила 2,0%, а полиморфного аллеля G (rs4986790) в гене TLR-4 - 7,5% [34]. Таким образом, соответствующие SNP в генах TLR чаще встречаются в группе МР по сравнению с контрольной группой (отношение шансов (ОШ) = 2,05 и ОШ=1,4, соответственно, при значении $p<0,05$), что подтверждается данными, представленными в таблице 53.

Таблица 53 - Распределение однонуклеотидных полиморфизмов TLR-2 (rs5743708) и TLR-4 (rs4986790) в группе медицинских работников и группе контроля [34]

| Генотип | МР | Группа контроля | ОШ (95%ДИ) OR (95% CI) |
|---|---|---|---|
| Ген TLR-2 (rs5743708, G>A) | | | |
| GG | 126 (94,0%) | 97,0 (97,0%) | 2,05 (0,5-7,9) |
| GA | 5 (3,7%) | 2,0 (2,0%) | |
| AA | 3 (2,2%) | 1 (1,0%) | |
| Аллель G allele G | 96,0% | 98,0% | |
| Аллель A Allele A | 4,0% | 2,0%, | |
| Всего: Total: | 134 | 100 | 234 |
| Ген TLR-4 (rs4986790, A>G, T) | | | |
| AA | 111 (82,8%) | 87 (87,0%) | 1,4 (0,6-2,9) |
| AG | 20 (15,0%) | 11 (11,0%) | |
| GG | 3 (2,2%) | 2,0 (2,0%) | |
| Аллель A Allele A | 90,3% | 92,5% | |
| Аллель G allele G | 9,7% | 7,5% | |
| Всего: Total: | 134 | 100 | 234 |

В исследуемой популяции жителей Казани частота полиморфного генотипа AA (rs5743708) в гене TLR-2 составила 3,2%. А для полиморфного генотипа GG (rs4986790) в гене TLR-4 – 4,2%. Эти результаты по распространенности

мутантного аллеля A (rs5743708, G>A) в гене TLR-2 согласуются с данными о его частоте в финской и эстонской популяциях. Средняя частота полиморфного аллеля A (rs5743708, G>A) в гене TLR-2 в финской популяции, согласно исследованию FINRISK, составила 2,96%, а в эстонской - 4,75% [БД NCBI dbSNP rs5743708] [34]. Частота полиморфного аллеля G (rs4986790) в гене TLR-4 в казанской популяции наиболее близка к показателям в эстонской популяции, где она составила 6,7% (в выборку входило 4480 человек), и в финской популяции, где этот показатель равнялся 12,2% (в выборку входило 304 человека) [БД NCBI dbSNP rs4986790].

## 7.2. Изучение экспрессии TLR-2 на моноцитах периферической крови у медицинских работников с полиморфизмами SNP TLR-2 и TLR-4 и профиля цитокинов в период ранней и поздней реконвалесценции COVID-19

Полученные нами данные свидетельствуют об увеличении экспрессии TLR-2 на моноцитах периферической крови в ранний период реконвалесценции через 1 месяц после НКВИ, средняя интенсивность флюоресценции TLR-2 у МР была в 1,5 раза выше, чем в группе контроля (Таблица 54) [33, 34, 38, 40, 78, 87, 113].

Через 7 месяцев после перенесенной НКВИ наблюдалось устойчивое повышение экспрессии TLR-2 на мононуклеарных клетках периферической крови (Таблица 54). Было выявлено значительное снижение уровня сывороточного ИФН-γ, ключевого интерферона второго типа, обладающего противовирусными свойствами, который активирует макрофаги и антиген-презентирующие клетки, а также способствует переключению классов Ат на IgG 2A. У МР концентрация ИФН-γ в сыворотке крови снизилась в этот период в 82 раза, что было статистически значимо ниже по сравнению с контрольной группой, где снижение составило 59 раз. Также в период поздней реконвалесценции наблюдалось уменьшение уровней интерлейкинов ИЛ-1β и

ИЛ-10, которые способствуют дифференцировке В-лимфоцитов. Кроме того, отмечалось двукратное снижение уровня тромбоцитарного фактора гемостаза sCD40L по сравнению с группой контроля [34].

Сравнительный анализ динамики указанных показателей с группой пациентов с НКВИ, проходящих лечение в отделении интенсивной терапии, выявил значительное повышение уровня sCD40L - он был почти вдвое выше нормы. В то же время, концентрации ИФН-γ, ИЛ-1β и ИЛ-10 были практически не определяемы (Таблица 54). Только у пациентов с НКВИ в остром периоде, госпитализированных в отделение интенсивной терапии, уровень ИЛ-6 оказался статистически значимо выше, увеличившись в 7 раз по сравнению с исследуемой группой медицинских работников [34].

Таблица 54 - Показатели экспрессии TLR-2 на моноцитах крови и цитокиновый профиль сыворотки крови у медицинских работников временного инфекционного госпиталя через 1 и 7 месяцев после появления симптомов НКВИ [34]

| Показатель | Группа МР (SNP)* | | Контрольная группа (n=15) |
|---|---|---|---|
| | через месяц от появления симптомов 29.06.2020 (n=9) | через 7 месяцев от появления симптомов 19.01.2021 (n=9) | |
| | 1 | 2 | 3 |
| Экспрессия TLR-2 на моноцитах периферической крови | | | |
| СИФ TLR-2 на моноцитах ПК | 3050* [2750-3025] | 2578* [1875-2550] | 1350 [1400-1560] |
| ИФН-γ (пг/мл) | 216,0* [214,3-350,0] | 0,05* [0,02-0,15] | 237,0 [212,0-267,0] |
| ИЛ- 1β (пг/мл) | 1,1* [0,6-2,6] | 0,02* [0,0-0,1] | 2,36 [2,12-2,5] |
| ИЛ-6 (пг/мл) | 1,5 [1,4-3,4] | 1,4 [1,3-2,1] | 1,5 [1,5-1,67] |
| sCD40L (пг/мл) | 14,0* [11,9-36,0] | 8,7 [6,0-15,0] | 16,0 [15,0-16,8] |
| ИЛ-10 (пг/мл) | 9,8 [7,85-10,8] | 2,3 [0,6-3,8] | 4,26 [3,6-4,8] |
| Примечание - *значения статистически значимо различаются по сравнению с контрольной группой, $p<0,05$. | | | |

В исследуемой группе МР с генотипами, характеризующимися сочетанием однонуклеотидных полиморфизмов (SNP) в генах TLR-2 и TLR-4, было зафиксировано почти 5000-кратное снижение уровня ИФН-γ через 7 месяцев после перенесенного заболевания, а также 118-кратное снижение уровня ИЛ-1β [34]. Одновременно наблюдалось уменьшение уровня тромбоцитарного фактора гемостаза sCD40L, однако это снижение было менее выраженным (в 1,8 раза ниже нормы). Таким образом, учитывая выявленное подавление иммунного ответа у МР отделения интенсивной терапии с уменьшением продукции провоспалительных цитокинов ИФН-γ, ИЛ-1β и ИЛ-10, становится критически важным исследовать специфический гуморальный иммунный ответ на SARS-CoV-2 в динамике реконвалесценции, особенно в период, когда концентрация ИФН-γ снижается. В этот ключевой период необходимо формирование полноценного адаптивного гуморального противовирусного иммунитета, включая стимуляцию дифференцировки и созревания В-лимфоцитов, а также цитотоксических Т-лимфоцитов, для обеспечения эффективной противовирусной защиты. Для достижения этой цели требуется проведение динамического мониторинга гуморального иммунного ответа в период реконвалесценции, включая выявленный нами критический период [34, 217].

## 7.3. Взаимосвязь клинически значимых показателей врожденного иммунного ответа, цитокинового профиля периферической крови и адаптивного иммунного ответа на вирус SARS-CoV-2 у медицинских работников в период реконвалесценции COVID-19

Как известно гуморальный иммунный ответ на SARS-CoV-2 включает выработку трех видов антител: IgM, IgA и IgG. Образование IgA Ат начинается на второй день после начала заболевания, достигает пика через 2 недели и сохраняется на протяжении длительного периода времени. Для формирования

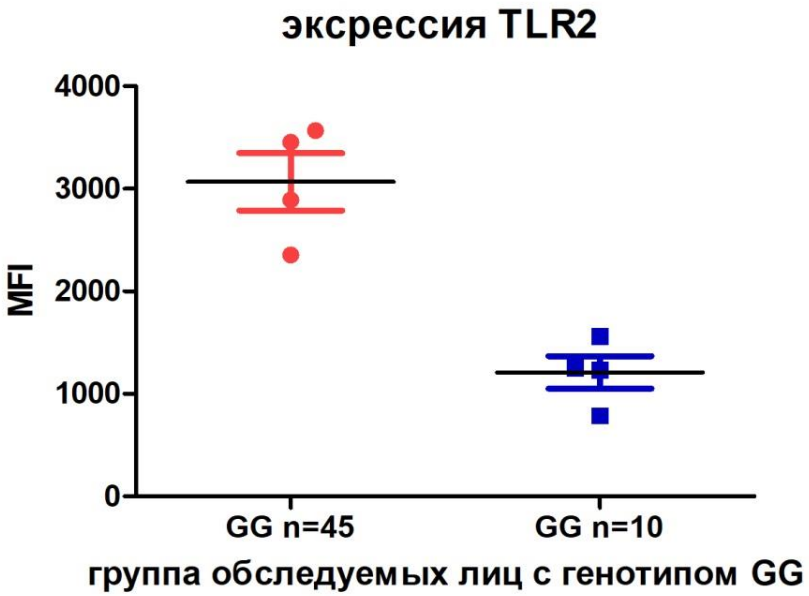
IgM Ат необходимо примерно 7 суток с момента инфицирования, а пик достигается через неделю после этого [153]. IgG Ат начинают обнаруживаться в крови приблизительно на третьей неделе или ранее после контакта с вирусом SARS-CoV-2 и могут сохраняться на протяжении нескольких месяцев [40, 154].

Как было показано в проведенных нами исследованиях в группе МР ВИГ в главе 3 после сероконверсии происходило снижение титра IgM и IgG Ат к SARS-CoV-2, причем наиболее быстрое снижение титра IgM Ат наблюдалось через месяц после сероконверсии, затем снижение происходило более равномерно со среднемесячным темпом убыли -23,56%, снижение титра IgG Ат было менее интенсивным, со среднемесячным уменьшением на 1,2% [33, 34, 38, 40, 77, 87, 106, 113].

Можно выделить следующие особенности иммунного ответа: спустя семь месяцев после перенесенного COVID-19 у МР отмечается существенное снижение уровней продукции ИФН-γ, ИЛ-1β и ИЛ-10, однако, экспрессия TLR-2 на моноцитах и макрофагах остается высокой, что, вероятно, связано с индивидуальными колебаниями уровня специфических IgM и IgG Ат к SARS-CoV-2.

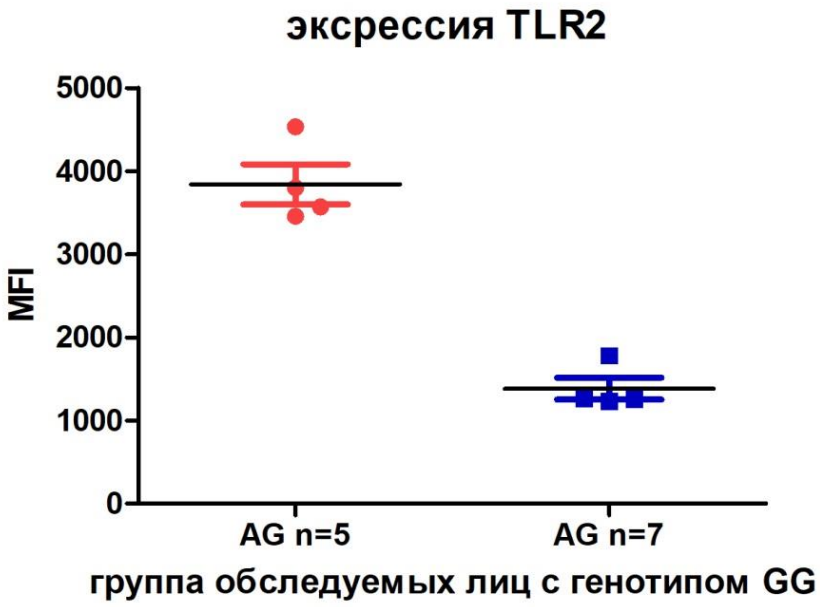
Нами проведена оценка экспрессия TLR-2 с различными генотипами полиморфизмов гена TLR-2 (p.Arg753Gln, rs5743708) на моноцитах и гранулоцитах периферической крови у серопозитивных к SARS-CoV-2 у МР в поздний период реконвалесценции после COVID19 (n=45, n=5), в качестве контроля исследована группа привитых не болевших COVID 19 лиц (n=10, n=7). Результаты представлены на Рисунках 49 и 50 [34].

В период ранней реконвалесценции после инфекции, вызванной вирусом SARS-CoV-2, нами была зафиксирована активация моноцитарно-макрофагальной системы у МР, серопозитивных к вирусу. Это проявлялось в повышении уровня экспрессии TLR-2, который превышал показатели, наблюдаемые в контрольной группе (здоровые лица). Уровень экспрессии TLR-2 не зависел от генотипа однонуклеотидного полиморфизма TLR-2 (p.Arg753Gln, rs5743708) (Рисунки 49 и 50).




Примечание: Красный цвет - МР, серопозитивные к SARS-CoV-2 в поздней реконвалесценции; Синий цвет - группа контроля, здоровые лица

Рисунок 49 - Экспрессия TLR-2 на мононуклеарах у МР в поздний период реконвалесценции НКВИ в зависимости от генотипа SNP GG генотип без мутантных аллелей TLR-2




Примечание: Красный цвет - МР, серопозитивные к SARS-CoV-2 в поздней реконвалесценции; Синий цвет - группа контроля, здоровые лица

Рисунок 50 - Экспрессия TLR-2 на мононуклеарах у МР в период поздней реконвалесценции НКВИ в зависимости от генотипа SNP AG гетерозиготный генотип, содержащий мутантный аллель «А» гена TLR-2 (p.Arg753Gln,rs5743708)

Мы также изучили экспрессию TLR-2 на мононуклеарах и нейтрофилах у медицинских работников в период ранней реконвалесценции в зависимости от тяжести НКВИ [33] (Рисунок 51).

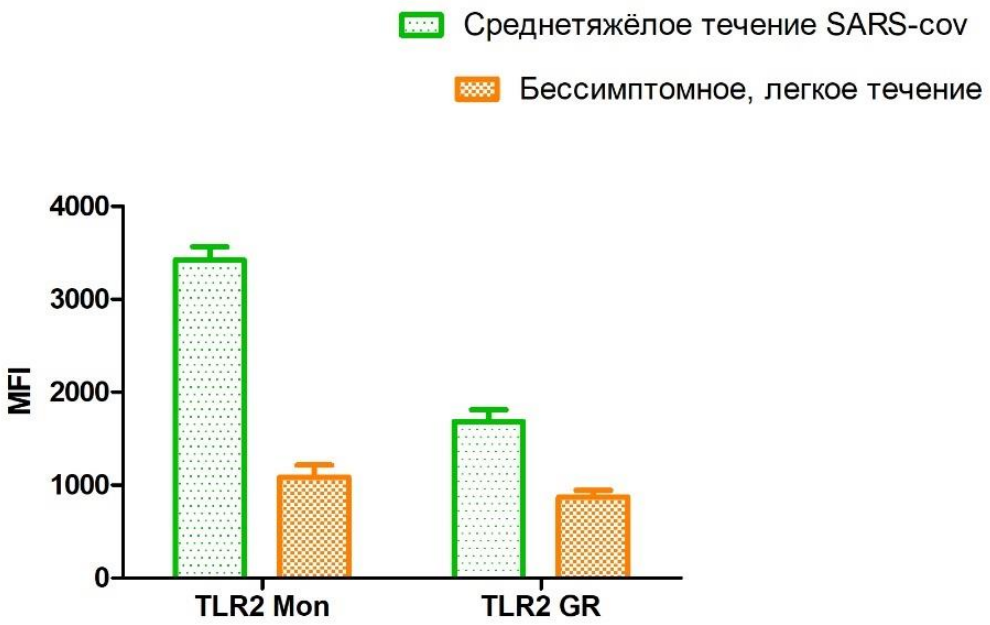



Рисунок 51 - Экспрессия TLR-2 на мононуклеарах и нейтрофилах у медицинских работников в период ранней реконвалесценции в зависимости от тяжести НКВИ

Показано, что значимое увеличение экспрессии TLR-2 на моноцитах и гранулоцитах зависело от тяжести перенесённой НКВИ у МР в ранний период реконвалесценции. У лиц с перенесенными бессимптомными или легкими формами НКВИ показатели экспрессии TLR-2 на гранулоцитах и моноцитах были в два раза ниже, чем в группе МР со среднетяжёлым течением COVID-19. [33]. Таким образом, особенности экспрессии TLR-2 можно рассматривать как следствие цитокинового дисбаланса, вызванного SARS-CoV-2 и значимый предиктор развития бактериальных осложнений верхних дыхательных путей в группе МР, серопозитивных к SARS-CoV-2.

В ходе комплексного исследования врожденных и адаптивных механизмов иммунного ответа у невакцинированных МР ВИГ, в разные периоды реконвалесценции после НКВИ, были установлены следующие особенности:

через 7 месяцев после инфицирования вирусом SARSC-CoV-2, регистрировалось значимое уменьшение уровня ИФН-γ, ИЛ-1β и ИЛ-10. В то же время, уровень экспрессии на моноцитах и макрофагах TLR-2 сохранялся в значительной степени высоким, не зависел от генотипа «значимого» SNP гена TLR-2 и коррелировал с индивидуальной динамикой титра специфических IgM и IgG Ат к вирусу SARS-CoV-2 [34].

В период ранней реконвалесценции после перенесённой НКВИ у МР наблюдалось резкое повышение концентрации sCD40L. Этот показатель свидетельствует об активации процессов тромбообразования и воспаления. Спустя семь месяцев было зафиксировано значительное снижение уровня sCD40L до значений ниже референсных показателей, характерных для контрольной группы [34].

Частота полиморфного аллеля G (rs4986790) в гене TLR-4 в исследуемой когорте МР была сопоставима с таковой в эстонской (6,7%) и финской популяциях (12,2%). У МР с установленной комбинацией полиморфизмов rs5743708 и rs4986790 в генах TLR-2 и TLR-4, частота встречаемости которых достигала 6,7%, был выявлен дисбаланс цитокинов. Эти цитокины играют ключевую роль в контроле противовирусного врождённого и адаптивного иммунного ответа [34].

Изучение иммунного ответа у МР в разные периоды реконвалесценции от COVID-19 выявило существенные изменения в иммунологических показателях, связанные с генетическими полиморфизмами, уровнем экспрессии TLR-2 и TLR-4 на моноцитах, цитокиновым профилем и маркерами активности тромбоцитов. Полученные данные свидетельствуют о нарушениях как врожденных, так и адаптивных механизмов иммунного ответа у МР, что может способствовать снижению устойчивости к респираторным инфекциям, в том числе COVID-19.

Выявленные нарушения в иммунном ответе у МР после перенесенной НКВИ требуют дальнейшего изучения. Особый интерес представляет изучение мукозальной иммунной системы ВДП, являющихся основными воротами для проникновения SARS-CoV-2, в ранние и поздние сроки реконвалесценции [34].

***

Выявленные нарушения актуальны прежде всего для респираторной системы, являющейся основными воротами вируса SARS-CoV-2. В связи с этим представляет интерес рассмотреть изменение мукозальной иммунной системы у МР на ранних и поздних сроках реконвалесценции от НКВИ, которая представлена фагоцитарным звеном и защитными компонентами микробиоты ВДП, которые в синергизме играют основную роль в предотвращении инфицирования и развития респираторной инфекции и обеспечивают формирование воспалительной реакции на респираторные вирусы и патогены.

# ГЛАВА 8. ПОКАЗАТЕЛИ МУКОЗАЛЬНОГО ИММУНИТЕТА И МИКРОБИОТЫ ВЕРХНИХ ДЫХАТЕЛЬНЫХ ПУТЕЙ У МЕДИЦИНСКИХ РАБОТНИКОВ В РАННИЕ СРОКИ РЕКОНВАЛЕСЦЕНЦИИ И СПУСТЯ 2,5-3 ГОДА ПОСЛЕ COVID-19

## 8.1. Изменения микробиоты верхних дыхательных путей и мукозального иммунитета в период ранней реконвалесценции после перенесенной новой коронавирусной инфекции COVID-19 в группе риска - медицинские работники

Для выявления закономерностей изменения состава патобиоты (условно-патогенной микрофлоры) и исключения случайных, транзиторных изменений в период ранней реконвалесценции, регистрируемой через 1,5-2 месяца после перенесенной инфекции COVID19, у 74 МР забирали кратно (от 4 до 6 раз) содержимое носа и носоглотки на микробиологическое исследование с интервалом 5-7 дней. Для сравнительной оценки изменений и вычленения влияния вирусной инфекции изучали состав микробиоты, в том числе и патобиоты, ВДП у лиц группы сравнения (n=33 человека) сходных по гендерному и возрастному распределению с группой МР ранних реконвалесцентов COVID-19. В состав группы сравнения включали лиц с серонегативных к SARS-CoV-2 или перенесших COVID-19 в бессимптомной форме [1, 5, 6, 8, 34, 54, 72, 83, 84, 105, 112, 146]. Результаты микробиологических исследований представлены в Таблице 55.

Изменения в составе патобиоты, как части микробиоты, ВДП характеризовались увеличением частоты встречаемости у ранних реконвалесцентов условно-патогенных бактерий и дрожжеподобных грибов рода Candida sp., а также повышением степени бактериальной обсеменённости слизистых оболочек ВДП бактериальными и грибковыми патобиотами и

увеличением встречаемости ассоциаций условно-патогенных видов бактерий, по сравнению с группой сравнения.

Таблица 55 – Встречаемость некоторых представителей патобиоты микробиоты ВДП у медицинских работников в период ранней реконвалесценции после НКВИ [72]

| Таксономическая группа (вид) | | МР - ранние реконвалесценты COVID-19 Me (Q1;Q3) N=74 | Группа сравнения Me (Q1;Q3) N=33 | P |
|---|---|---|---|---|
| | | 1 | 2 | |
| Грамположительные бактерии | Staphylococcus aureus | 35,1 (0,7;25,6) | 9,1 (1,5;6,7) | p<0,05 |
| | Коагулазо-негативные стафилококки | 18,5 (0,4;2,0) | 6,0 (1,6;2,0) | p<0,05 |
| | Streptococcus pyogenes | 16,2 (5,0;12,8) | 12,1 (2,8; 13,0) | p>0,05 |
| | Streptococcus pneumoniae | 10,8 (1,7;14,3) | 5,1 (0,9;2,5) | p>0,05 |
| Бактерии семейст-ва Enterobacterales | Escherichia coli | 8,5 (2,5:6,0) | 3,0 (0,3;2,6) | p<0,05 |
| | Klebsiella spp | 7,5 (3,7;5,8) | 3,0 (0,3;2,2) | p<0,05 |
| Неферментирующие грамотрицательные бактерии | Pseudomonas aeruginosa | 3,5 (1,9;2,8) | 3,0 (0,6;4,6) | p>0,05 |
| Грибы рода | Candida albicans | 18,9 (1,3;2,7) | 6,1 (1,3;6,7) | p<0,05 |
| Всего | | 74 (100%) | 33 (100%) | |
| Примечание: статистическая значимость в сравниваемых группах (реконвалесценты и группа сравнения) оценивалась по U-критерию Манна-Уитни, при p<0,05 | | | | |

В группе МР «ранних» реконвалесцентов НКВИ бактериальные и грибковые патобиоты в составе микробиоты встречались в 1,4 раза чаще, чем в группе сравнения (67,6% и 48,5% соответственно; p<0,05). В частности встречаемость золотистого стафилококка (S. aureus) на слизистых ВДП в период ранней реконвалесценции у МР была в 3,8 раза выше, грибов рода Candida в 3,0 раза выше, грамотрицательных энтеробактерий в 2,8-3,5 раза выше (Klebsiella spp., Escherichia coli; p<0,05, p<0,05), чем в группе сравнения (Таблица 55).

Устойчивое носительство на слизистых оболочках ВДП S. aureus у ранних реконвалесцентов COVID-19 составило 35,1% случаев, а в группе сравнения только 9,1% ($p<0,05$) (Таблица 55). Установлена высокая ($10^{4-6}$ КОЕ/мл) степень колонизации слизистых оболочек в 76,9% случаев, низкая и умеренная степень обсеменения ($10^{2-3}$ КОЕ/мл) в 23,1% случаев [112]. В группе ранних реконвалесцентов НКВИ S. aureus выделялся со слизистых оболочек ВДП в 66,7% случаев в низкой степени обсеменения, и только в 33,3% случаев в высоких титрах обсеменения. S. aureus был выделен в монокультуре у ранних реконвалесцентов НКВИ только в 42,3% случаев, тогда как в группе сравнения в 66,7% случаев ($p<0,05$).

В период ранней реконвалесценции НКВИ у МР на слизистых оболочках высевались микробные ассоциации патобиотов, включающие S. aureus + другой УПМ в 57,7% случаев, что в 1,7 раза выше по сравнению с группой сравнения, $p<0,05$. Из этих микробных ассоциаций нами выделены двух компонентные ассоциации: S. aureus + Candida albicans, которые встречались в 38,5% случаев, у 7,8% обследованных лиц выявлены S. aureus + Klebsiella spp. и в таком же проценте случаев - S. aureus + Streptococcus pyogenes. Трех компонентные микробные ассоциации, такие как S. aureus + Klebsiella spp.+Candida albicans, на слизистых оболочках ВДП у ранних реконвалесцентов НКВИ регистрировались нами только в 15,4%, случаев, а в группе сравнения, такие ассоциации нами не выявлены [72].

Грибы рода Candida sp. у ранних реконвалесцентов НКВИ нами были выделены со слизистых оболочек ВДП в 3,0 раза чаще, по сравнению с группой сравнения (Таблица 55), в видовом составе в 100% выделялся вид Candida albicans, причем в высоких титрах ($10^{4-5}$ КОЕ/мл) - в 72,7% случаев, в низких титрах ($10^{2-3}$ КОЕ/мл) только у 27,3% обследуемых лиц. В монокультуре Candida albicans выделялась со слизистых ВДП у ранних реконвалесцентов НКВИ только в 36,4% случаев (в группе сравнения только 12,1% случаев; $p<0,05$), в ассоциациях - Candida albicans + другие УПМ у МР - реконвалесцентов COVID-19 в 63,6% случаев [72].

В период ранней реконвалесценции НКВИ двухкомпонентные грибково-микробные ассоциации были представлены - Candida albicans + S. aureus в 45,5% случаев; Candida albicans+ Streptococcus pyogenes в 9,1% случаев, а трехкомпонентые микробные ассоциации - Candida albicans + S. aureus +Klebsiella spp. только в 18,2% случаев.

Колонизация грамотрицательными патобиотами (Klebsiella spp. и Escherichia coli) ВДП в период ранней реконвалесценции НКВИ регистрировалась в 17,8% случаев по сравнению 6,1% в группе сравнения ($p<0,05$). Моноинфицирование Klebsiella spp. выявлено в 16,6%, Escherichia coli - в 33,3%, коинфицирование двухкомпонентными микробными ассоциации (Escherichia coli + Str. pyogenes) установлено в 33,3%, трехкомпонентными - Klebsiella spp.+ S. aureus + Candida albicans так же в 33,3% случаев [72].

Колонизация патобиотами слизистых ВДП в группе сравнения были представлены двухкомпонентными микробными ассоциациями Candida albicans + S. aureus только в 6,1% случаев [72].

У ранних реконвалесцентов НКВИ наряду с изменением в составе микробиоты ВДП (увеличением степени обсеменённости патобиотами и частоты встречаемости ассоциаций УПБ и грибов рода Candida sp.) выявлено усиление деструктивных и апоптотических процессов в эвакуированных в слизистую оболочку НГ и увеличение количества клеток с разными классами деструктивных изменений (Таблица 56).

Так, содержание деструктивных изменений НГ в слизистой оболочке ВДП МР ранних реконвалесцентов НКВИ в показателях n=1 возрастало в 1,9 раза ($p<0,05$), в n=2 в 2,5 раза ($p<0,05$), n 3 в 3,8 раза ($p<0,05$), в n 4 в 2,4 ($p<0,05$) раза, а ИДК эвакуируемых НГ слизистой ВДВ увеличивался в 2,3 раза ($p<0,001$), СПД в 2,6 раза($p<0,05$), ИЦК в 2 раза($p<0,05$), по сравнению с группой сравнения. Значимо снижались показатели НСТ-теста у ранних реконвалесцентов НКВИ, по сравнению с группой сравнения (Таблица 56).

Таблица 56 - Маркеры деструкции и апоптоза, показатели функциональной активности нейтрофилов системы MALT у реконвалесцентов НКВИ [72]

| Класс деструкции, эвакуируемых НГ в состав мукозального секрета ВДП, и показатели фагоцитарной активности НГ | Ранние реконвалесценты НКВИ (n=74); M (SD) | Группа сравнения (n=33); M (SD) |
|---|---|---|
| n=0; % | 24,1 (3,2)* | 65,0 (7,3) |
| n=1; % | 32,4 (3,9)* | 18,3 (1,5) |
| n=2; % | 21, 4 (2,8)* | 9,1 (1,5) |
| n=3;% | 16,2 (3,2)* | 4,6 (0,5) |
| n=4;% | 5,9 (0,9)* | 2,8 (0,2) |
| аНГ; % | 11,1 (0,9) * | 2,8 (0,2) |
| ИДК | 0,4 (0,05) * | 0,2(0,1) |
| СПД | 0,9 (0,06) * | 0,3 (0,5) |
| ИЦК | 0,06 (0,02) * | 0,03 (0,01) |
| ФАН 1 | 18,7 (1,3) | 19,9(2,1) |
| ФАН 2 | 1,5 (0,6) | 1,6 (0,02) |
| ФИ | 22,7 (1,8) * | 67,6 (5,2) |
| ФЧ | 2,7 (0,8 * | 7,6 (0,8) |
| ИП | 45,3 (0,3)* | 67,6 (5,2) |
| ПП , % | 3,8 (0,4)* | 8,8 (0,8) |
| НСТ спонт., % | 6,9 (0,5)* | 17,6 (0, 2) |
| НСТ стим., % | 33,9 (2,8)* | 78,2 (6,2) |
| Примечание: n=0 – клетки с отсутствием признаков деструкции; n=1 – клетки с минимальными признаками деструкции цитоплазмы, n=2 – клетки с выраженными признаками деструкции цитоплазмы; n=3 – клетки с выраженными признаками деструкции цитоплазмы и минимальными признаками деструкции ядра, n=4 – клетки с выраженными признаками деструкции цитоплазмы и выраженными признаками деструкции ядра; *- статистическая значимость определена по парному t-критерию Стьюдента, $p<0,05$ | | |

Таким образом, результаты нашего исследования показали, что в периоде ранней реконвалесценции НКВИ у МР значимое место занимает колонизация ассоциациями двумя или тремя патобиотами, среди которых наиболее часто встречается ассоциации S.aureus+Candida albicans [72]. Доказано, что представители микробиоты ВДП в силу прямых и/или перекрестных взаимодействий с иммунной системой могут способствовать усилению симптомов и тяжести вирусной инфекции, в том числе и НКВИ [181]. При этом существенное значение имеет патогенный профиль доминирующих патобиотов в составе микробиоты слизистых оболочек ВДП.

В связи с этим нами проведено секвенирование генома двух штаммов грамположительного патобиота ВДП S. aureus, которые были выделены у двух МР с длительной персистенцией золотистого стафилококка на слизистой носа и носоглотки в ранний и поздний периоды реконвалесценции НКВИ. Заболевание COVID-19 бактерионосители МР перенесли в среднетяжелой форме и работали в «красной зоне». Полногеномное секвенирование, позволило нам установить молекулярно-генетический профиль золотистого стафилококка (S. aureus), носительство которого формируется у этой группы риска МР, оказывающих медицинскую помощь пациентам с COVID-19 в условиях ВИГ (Приложение Ж; Приложение И).

В таблице 57 представлены общие молекулярно-генетические особенности реконструированного генома на основе данных секвенирования двух изолятов S. aureus, выделенных со слизистых ВДП у МР ранних и поздних реконвалесцентов НКВИ, с длительной персистенцией золотистого стафилококка (более 2,5 лет). NGS секвенирование проведено на платформе Oxford Nanopore MinIon с предварительной подготовкой библиотек согласно протоколу Rapid Barcoding Kit 24 V14.

Таблица 57 - Молекулярно-генетические особенности генома двух изолятов S. aureus, выделенных со слизистых ВДП у медицинских работников реконвалесцентов НКВИ

| Название штамма | Номер в базе VGARUSдепозитор | Общее число контингов | Количество колирующих последовательностей | Размер генома (п.н.) | Количество | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | | рРНК | тРНК | тмРНК |
| *S. aureus* №11-05-03-2024 | Id fbun000491 | 12 | 3407 | 2812356 | 17 | 59 | 1 |
| *S. aureus* №12-05-04-2024 | Id fbun000492 | 4 | 2894 | 2729074 | 18 | 61 | 1 |

Факторы вирулентности, идентифицированные в реконструированном геноме штаммов S. aureus, выделенных у ранних и поздних реконвалесцентов COVID- 19, представлены в таблице 58. Поиск генов вирулентности проведен с помощью биоинформационного ресурса VirulenceFinder 2.0, Центра геномной эпидемиологии (CGE) (https://www.genomicepidemiology.org/).

Нами установлено, что в ранний и поздний период реконвалесценции после перенесенной НКВИ, ВДП колонизируют изоляты грамположительных патобиотов, в частности, S. aureus, которые относятся к штаммам с выраженными вирулентными свойствами, в геноме которых представлены гены, таких факторов вирулентности, как гамма-гемолизин (hlgA, hlgB, hlgC), различные энтеротоксины (sem, sen, sei, seg, seu, seo), стафилококковый белок ингибитор комплимента (scn), лейкоцидины (lukE, lukD), стафилокиназа (sak), которые способны воздействовать на фагоциты, вызывать деструктивные изменения в НГ и клетках слизистых оболочек ВДП, блокировать гуморальные факторы местного МИ [34]. Носительство вирулентных штаммов S. aureus на слизистых ВДП у реконвалесцентов НКВИ, создает предпосылки к формированию хронических очагов инфекции ВДП, приводя к формированию воспалительных очагов в органах лимфоидной системы носоглотки. Кроме этого, штаммы, выделенные у носителей, содержат гены протеиназ (aur, splA, B, E), которые способны расщеплять sIgA, а также действовать на другие факторы защиты слизистых оболочек ВДП, в частности на АМП и ИФНы (Таблица 58).

Также, нами установлено, что выделенные изоляты S. aureus, могут содержать в своем геноме гены устойчивости к АМП, которые обеспечивают им широкую резистентность к применяемым АМП (Приложение К; Приложение Л). Антибиотикорезистентность, генетически обусловленная в реконструированных геномах изолятов *S. aureus,* выделенных от ранних и поздних реконвалесцентов НКВИ, представлена в Таблице 59.

Таблица 58 - Факторы (гены) вирулентности, идентифицированные в реконструированном геноме штаммов *S.* aureus, в ранний и поздний период реконвалесценции после перенесенной НКВИ

| Название штамма | Гены токсинов | Локализация в реконструируемом геноме | Гены ферментов | Локализация в реконструируемом геноме | Гены факторов вирулентности, воздействующих на факторы иммунитета | Локализация в реконструируемом геноме | Всего количество генов |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| *S. aureus 11-05-03-2024* | *hlgA, hlgB, hlgC seg sei sem sen seo seu tst* | contig_3 1302947..1303923 contig_3 1303925..1304872 contig_3 1916558..1917333 contig_3 1913829..1914557 contig_3 1913075..1913794 contig_3 1915499..1916275 contig_3 1912013..1912794 contig_3 1914711..1915481 | aur | contig_3 1057010..1058538 | sak (staphylokinase) scn (staphylococcal complement inhibitor) | contig_3 1782666..1783157 contig_3 1785364..1785714 | 14 |
| *S. aureus* №12-05-04-2024 | hlgA hlgB hlgC lukD lukE | contig_1 844518..845447 contig_1 844518..845447 contig_1 842026..843002 contig_1 contig_1 1412215..1413197 | aur splA splB splE | contig_1 605621..607150 contig_1 1417330..1418042 contig_1 | sak scn | contig_1 1281878..1282369 contig_1 1283862..1284212 | 17 |

Продолжение таблицы 58

| | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | sec<br>sec3<br>sel<br>sep | 843004..843951 contig_1<br>1411278..1412213<br>contig_1<br>2421591..2422390<br>contig_1<br>2421591..2422390<br>contig_1<br>2420704..2421424<br>contig_1<br>2420704..2421424<br>contig_1<br>1279293..1280070 | | 1418167..1418889 contig_1<br>1420664..1421380 | | | |

Поиск генов резистентности к АМП проведен с помощью биоинформационного ресурса ResFinder 4.6.0, Центра геномной эпидемиологии (CGE) (https://www.genomicepidemiology.org/). Так в частности, нами показано, что один из выделенных изолятов *S.* aureus относился к MRSA-штамму, обладающему широкой устойчивостью к антибактериальным препаратам (Таблица 59).

Таблица 59 – Гены устойчивости к антимикробным препаратам и выявленный фенотип резистентности на основе WGS-данных секвенирования у изолятов S. aureus, выделенных в ранний и поздний период реконвалесценции после перенесенной НКВИ

| Название штамма | Гены резистенности | Фенотип резистентности штаммов на основе WGS-данных | Локализация в реконструированном геноме |
|---|---|---|---|
| S. aureus № 11 | *blaZ*<br>*mecA* | Амоксициллин, ампициллин, Пенициллин, амоксициллин+клавулановая кислота, ампициллин+клавулановая кислота, цефипим, цефиксим, цефотаксим, цефокситин, цефтазидим, эртапенем, имипенем, меропенем, пиперациллин, пиперациллин+тазобактам, | contig_14 6579..7478<br>contig_3 928824..9308 |
| | *lnu(A)* | Линкомицин | contig_3 934462..934947 |
| S. aureus №12 | Гены устойчивости к АМП не выявлены | Нерезистентый к АМП фенотип | - |

Необходимо отметить, что увеличение колонизации слизистой ВДП у ранних реконвалесцентов НКВИ ассоциациями из 2-х или 3-х патобиотов является многофакторным процессом и инициирует этот процесс повреждение вирусом SARS-CoV-2 клеток респираторного тракта, что приводит к нарушению целостности эпителия, снижению частоты сокращения ресничек, изменению

секреции слизи и мукоцилиарного клиренса. Процессы, приводящие к нарушению целостности эпителиального барьера и межклеточных соединений, способствуют миграции условно-патогенных представителей микробиоты (бактерий, грибов) в межклеточные щели и повышенной адгезии комменсальных микроорганизмов, которые в свою очередь способствуют прикреплению других патогенов и тем самым поддерживают персистенцию потенциально патогенных представителей микробиоты ВДП [170].

Также в проведённых исследованиях, установлено иммуносупрессивное действие SARS-CoV-2 за счет повреждения Т- и В- лимфоцитов, натуральных киллеров, МА [186, 216, 234] изменения ряда иммунных функций, таких как слияние фагосом с лизосомами у альвеолярных МА, также является причиной присоединения бактериальных суперинфекций, вызванных, в том числе и представителями патобиоты микробиоты слизистых оболочек [184].

И если повышенную высеваемость грибов рода Candida sp. можно объяснить получаемыми большинством больных НКВИ антибиотиками, то увеличение встречаемости условно-патогенной и патогенной бактериальной микрофлоры можно объяснить угнетением защитных функций слизистых.

В период ранней реконвалесценции у МР нами выявлено снижение врождённых механизмов защиты слизистых оболочек ВДП, особенно была изменена функция фагоцитирующих клеток, что может служить основой формирования длительной персистенции УПБ и грибов, и развитию местных «очагов» персистирующей инфекции ВДП. В популяции эвакуируемых назальных НГ отмечено нарастание содержания клеток в состоянии апоптоза. Для таких клеток характерно уменьшение в размерах, уплотненный бесструктурный хроматин, разделенный на несколько округлых телец и конденсированная цитоплазма [72, 105, 112, 146].

Также, регистрировалось снижение содержания «активных» эвакуируемых назальных НГ ($P<0,05$), объема захваченного патогена ($p<0,05$). Отмечалось угнетение процессов внутриклеточного киллинга патогенов, проявившееся в снижении ПП ($P<0,05$) и ИП ($P<0,05$). Показано резкое угнетение спонтанной

(P<0,001) и индуцированной внутриклеточной биоцидности эвакуируемых НГ (P<0,05; P<0,001), а так же увеличение мембранного маркера апоптоза – sCD95 (sAPO-1/FAS) (P<0,05) статистически значимое по сравнению с группой контроля. Установлена значимая корреляционная связь (r=0,47; P<0,05) между уровнем sAPO-1/FAS и показателем апоптоза эвакуируемых НГ. Индукция процессов апоптоза у реконвалесцентов НКВИ на уровне MALT слизистых верхних дыхательных путей определяется дисрегуляцией, опосредованной ФНО-α и Fas-рецепторами [72, 206]. Деструктивные и апоптотические изменения эвакуируемых НГ у ранних реконвалесцентов НКВИ сопровождались депрессией функционирования фагоцитирующих клеток и их противомикробной активностью.

## 8.2. Взаимосвязь микробиоты слизистой верхних дыхательных путей с маркерами деструкции и апоптоза нейтрофилов системы MALT спустя 2,5-3 года после перенесенной новой коронавирусной инфекции COVID-19 в группе риска – медицинские работники

С целью контроля изменений (восстановления) микробиоты нами проведено повторное микробиологическое исследование (проспективное исследование) встречаемости патобиотов слизистой ВДП у реконвалесценов МР COVID19 через 2,5-3 года после впервые перенесённой НКВИ («поздние» реконвалесценты) и взаимосвязи этих изменений с маркерами деструкции и апоптоза НГ системы MALT слизистых ВДП. Микробиологическое исследование проведено кратно (от 4-6 раз) с интервалом 6-10 дней в группе МР, а также в группе сравнения, состоящей из 20 человек, сходных по гендерному и возрастному распределению с группой МР «поздних» реконвалесцентов НКВИ [1, 5, 6, 8, 34, 54, 72, 77, 83, 84, 105, 112, 146]. Результаты проспективного микробиологического исследования представлены в Таблице 60.

Таблица 60 – Частота встречаемости представителей патобиоты микробиоты ВДП у медицинских работников - реконвалесцентов COVID-19 через 2,5-3 года после впервые перенесенной НКВИ [72]

| Таксономическая группа (вид) | | Поздние реконвалесценты НКВИ Me (Q1;Q3) N= 25 | Группа сравнения Me (Q1;Q3) N=20 | P |
|---|---|---|---|---|
| | | 1 | 2 | |
| Грамположительные бактерии | Staphylococcus aureus | 40,0 (20,5;4,0) | 7,5(3,5;8,5) | p<0,05 |
| | Коагулазонегативные стафилококки | 20,5 (10,5;32,0) | 43,5(25,0;54,5) | p<0,05 |
| | Streptococcus pyogenes | 35,5 (25,0;45,5) | 10,5 (5,5;13,0) | p<0,05 |
| | Streptococcus pneumoniae | 5,8(6,8;20,0) | 5,1(0,9;2,5) | p>0,05 |
| Бактерии семейства Enterobacterales | Escherichia coli | 1,0(1,5:2,0) | 2,0 (1,5;2,5) | p<0,05 |
| | Klebsiella spp | 1,5(3,5;2,5) | 2,0 (2,5;5,2) | p<0,05 |
| Неферментирующие грамотрицательные бактерии | Pseudomonas aeruginosa | 3,5(1,0;4,5) | 3,0(1,5;4,5) | p>0,05 |
| Грибы рода | Candida albicans | 34,5(11,3;44,7) | 5,5(4,0;6,6) | p<0,05 |
| Всего | | 25 (100%) | 20 (100%) | |
| Примечание - статистическая значимость в сравниваемых группах (реконвалесценты и группа сравнения) оценивалась по U-критерию Манна-Уитни, при p<0,05 | | | | |

Установлено, что в период «поздней» реконвалесценции НКВИ у МР сохранялась колонизация патобиотами слизистых ВДП, при этом патобиоты были представлены 2-х компонентными микробными ассоциациями, состоящими из Candida albicans + S. aureus. Встречаемость на слизистых ВДП в период «поздней» реконвалесценции НКВИ у МР S. aureus превышала показатели группы сравнения в 5,3 раза, а грибов рода Candida sp., в 6,3 раза, по сравнению с группой сравнения (Таблица 60). При этом, в период поздней реконвалесценции, колонизация слизистых ВДП грамотрицательными патобиотами (Escherichia coli, Klebsiella spp) не отличалась от группы сравнения, при этом возрастала

встречаемость грамположительных патобиотов, в том числе и Streptococcus pyogenes.

Выявленные нами показатели устойчивой колонизации слизистых ВДП грамположительными и грамотрицательными патобиотами и грибами рода Candida sp., коррелировали с маркерами деструкции и апоптоза мукозальных НГ и показателями их функциональной активности (Таблицы 61 и 62) [11].

Корреляционный анализ взаимосвязи между колонизацией патогенами и маркерами деструкции и апоптоза эвакуируемых НГ слизистой ВДП (Таблица 61) показал увеличение количества связей между маркерами деструкции клеток и микст колонизацией несколькими патобиотами (Таблица 61). Установлена обратная взаимосвязь между уровнем апоптоза НГ и встречаемостью патобиотов: грамположительного S. aureus, грамотрицательных патобиотов (Klebsiella spp., Escherichia coli), и грибов Candida albicans ($p<0,05$) (Таблица 61), а также подтверждена значимая обратная корреляционная связь между уровнем маркера апоптоза назальных НГ и доминирующими патобиотами слизистой ВДП у поздних реконвалесцентов НКВИ ($p<0,05$) (Таблица 61). Установлена обратная значимая взаимосвязь между уровнем sCD95 в назальном секрете и доминирующими патобиотами (Staphylococcus aureus и/или Streptococcus pyogenes, Candida albicans) микробиоты слизистых ВДП спустя 2,5-3 года после перенесенной НКВИ (Таблица 61). Таким образом, у МР через 2,5-3 года после перенесенной НКВИ повышенный уровень растворимой мембранной молекулы CD95 и уровень апоптоза НГ слизистых ВДП, ассоциированны как с моно, так и микст инфицированием СОВДП [71]. Нарастание уровня sCD95 и количества апоптотических НГ ассоциировано с колонизацией слизистых микробными ассоциациями состоящими из S.aureus+Candida albicans. Деструктивные изменения эвакуируемых НГ слизистых ВДП, определяющие нарушения функциональной активности, фагоцита взаимосвязаны с доминирующими патобиотами микробиоты ВДП.

Таблица 61 - Взаимосвязь между колонизацией патогенами и маркерами деструкции и апоптоза эвакуируемых НГ слизистой ВДП [72]

| Показатель | Staphylococcus aureus и/или Streptococcus pyogenes | | Candida albicans | | Klebsiella spp., Escherichia coli | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | Группа Моноинфици-рование N=11 | Группа Микробные ассоциации N=15 | Группа Моноинфици-рование N=11 | Группа Грибково-бактериальные ассоциаци N=12 | Группа Моноинфици-рование N=9 | Группа Микробные ассоциации N=8 |
| N a % | -0,61 p<0,05 | - 0,82 p<0,01 | -0,59 p<0,05 | -0,78 p<0,05 | -0,31 p<0,05 | -0,47 p<0,05 |
| sCD95 мкг/мл | -0,55 p<0,05 | -0,78 p<0,01 | -0,62 p<0,05 | -0,71 p<0,05 | -0,33 p>0,05 | -0,53 p<0,05 |
| n 1% | -0,47 p>0,05. | -0,42 p>0,05. | - 0,43 p>0,05 | -0,37 p>0,05. | -0,33 p>0,05 | -0,32 p>0,05. |
| n 2 % | -0,61 p<0,05 | -0,82 p<0,01 | -0,64 p<0,05 | -0,69 p<0,05 | -0,61 p<0,05 | -0,76 p<0,05 |
| n 3% | -0,64 p<0,05 | 0,73 p<0,01 | -0,69 p<0,05 | -0,73 p<0,01 | -0,58 Не дост | -0,71 p<0,05 |
| n 4 % | 0,61 p<0,05 | 0,71 p<0,01 | -0,64 p<0,05 | -0,78 p<0,01 | -0,51 Не дост. | 0,73 p<0,05 |
| ИДК | -0,67 p<0,05 | -0,47 Не дост. | -0,67 p<0,05 | 0,45 p<0,05 | -0,67 p<0,05 | -0,48 Не дост |
| СПД | -0,65 p<0,05 | -0,44 p<0,05 | -0,65 p<0,05 | 0,48 p<0,05 | -0,65 p<0,05 | -0,43 Не дост |
| ИЦК | -0,69 p<0,05 | -0,72 p<0,05 | -0,41 p<0,05 | -0,73 p<0,05 | -0,47 Не дост. | -0,65 p<0,05 |
| Примечание - Статистическая значимость r Спирмена при p<0,05. R крит. при n 8 p<0,05-0,64; p<0,01 - 0,83; r крит. при n=9 p<0,60; p<0,01 r- 0, 78; r крит. при n 11 p<0,05-0,53; p<0,01 - 0,72; r крит. при n 12 p<0,05-0,50; p<0,01 - 0,71;. r крит. при n 15 r p<0,05-0,43; p<0,01 - 0,62 | | | | | | |

Таблица 62 - Взаимосвязь между колонизацией патогенами и показателями функциональной активности нейтрофилов системы MALT [72]

| Показатель | Staphylococcus aureus | | Candida albicans | | Klebsiella spp., Escherichia coli | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | Группа 1 Моноинфици-рование N=11 | Группа 1а Микробные ассоциации N=15 | Группа 2 Моноинфици-рование N=11 | Группа 2а Грибково-бактериальные ассоциаци N=12 | Группа 3 Моноинфици-рование N=9 | Группа 3а Микробные ассоциации N=8 |
| ФАН 1 | -0,31 p> 0,05 | - 0,42 p> 0,05 | -0,50 p> 0,05 | -0,49 p> 0,05 | -0,30 p> 0,05 | -0,60 p> 0,05 |
| ФАН 2 | -0,41 p> 0,05 | -0,43 p> 0,05 | -0,50 p> 0,05 | -0,49 p> 0,05 | 0,20 p> 0,05 | -0,55 p> 0,05 |
| ФИ | -0,62 p<0,05 | -0,72 p<0,01 | -0,51 p> 0,05 | -0,72 p<0,01 | -0,61 p<0,05 | -0,88 p<0,01 |
| ФЧ | -0,42 p> 0,05 | -0,72 p<0,01 | -0,32 p> 0,05 | -0,69 p<0,01 | -0,32 p> 0,05 | -0,65 p<0,05 |
| % П | -0,31 p> 0,05 | -0,62 p<0,01 | -0,34 p> 0,05 | -0,60 p<0,05 | -0,49 p> 0,05 | -0,65 p<0,05 |
| ИП | -0,34 p> 0,05 | -0,61 p<0,01 | -0,31 p> 0,05 | -0,67 p<0,05 | -0,36 p> 0,05 | -0,69 p<0,05 |
| НСТ спонт.% | -0,76 p<0,01 | -0,74 p<0,01 | -0,62 p<0,05 | -0,71 p<0,05 | -0,56 p> 0,05 | -0,61 p> 0,05 |
| НСТ стим. % | -0,42 p> 0,05 | -0,81 p<0,01 | -0,48 p> 0,05 | -0,88 p<0,01 | -0,58 p> 0,05 | -0,63 p> 0,05 |
| Примечание - Статистическая значимость r Спирмена при p<0,05 R крит. при n 8 p<0,05-0,64; p<0,01 - 0,83; r крит. при n=9 p<0,60; p<0,01 r-0, 78; r крит. при n 11 p<0,05-0,53; p<0,01 - 0,72; r крит. при n 12 p<0,05-0,50; p<0,01 - 0,71;. r крит. при n 15 r p<0,05-0,43; p<0,01 - 0,62 | | | | | | |

Средний показатель деструкции (СПД) и индекс деструкции клеток (ИДК) по данным литературы, отражают преимущественно средние степени, индекс цитолиза клеток (ИЦК) - выраженные степени деструкции клеток [72, 95]. По полученным нами данным у МР в поздний период реконвалесценции COVID-19 ИДК и СПД значимо связаны с колонизацией слизистых оболочек такими патобиотами как S. aureus, Candida albicans и Klebsiella spp., Escherichia coli. Таким образом, выраженные деструктивные изменения в клетках слизистых облолочек, нарастание числа НГ с апоптозом свойственно колонизации слизистых оболочек ВДП в период поздней реконвалесценции НКВИ прежде всего такими патобиотами как S. aureus + Candida albicans. По результатам других исследований, развитие бактериального и вирусного воспаления связано с процессами апоптоза эвакуируемых в назальный секрет НГ [227]. Высказано предположение, что одной из причин слабого иммунного ответа на вирусную инфекцию является повышенный уровень s-формы мембранной молекулы CD95,что может приводить к длительной персистенции вируса в организме [238]. Возможно, именно механизмами усиления апоптоза НГ определяется выявляемая у реконвалесцентов НКВИ персистенция различных респираторных вирусов [72]. Усиление процессов апоптоза в период поздней реконвалесценции НКВИ может быть обусловлено способностью некоторых патобиотов, особенно при формировании микробных ассоциаций, синтезировать соединения, индуцирующие процессы апоптоза клеток [263].

Эффективность фагоцитоза мукозальными НГ бактериальных и грибковых патогенов обусловлена процессами опсонизации, связывания и распознавания специфическими рецепторами. Основными опсонинами являются иммуноглобулины и компоненты системы комплемента, которые взаимодействуют с патогенами и специфическими рецепторами (FcR; CR), расположенными на внешней поверхности цитоплазматической мембраны НГ [11, 72, 76]. В качестве объективных индексов, отражающих процессы инициации фагоцитоза и самого фагоцита за счет рецепции FcR и CR, нами были применены показатели фагоцитарного индекса (ФИ) и фагоцитарного числа (ФЧ) [72, 76].

Спустя 2,5-3 года после перенесенной НКВИ регистрируются обратные значимые взаимосвязи между ФИ НГ и доминирующими патобиотами (S. aureus, Candida albicans) слизистых оболочек, и грамотрицательными патобиотами (Таблица 62). Таким образом, показано, что нарушение рецепции НГ, как представителя МИ, в значительной мере определяет колонизацию патобиотами, как при моно-, так и при микст-колонизации. Более глубокое угнетение рецепции, в первую очередь связанное с Fc фрагментом иммуноглобулинов, ассоциируется с микст-колонизацией. Интегральные показатели (П, ИП), связанные с киллингом микроорганизмов фагоцитами в группе поздних реконвалесцентов НКВИ значимо коррелирует с колонизацией ВДП такими патобиотами как, S. aureus и Candida albicans ($p<0,05$), и грамм отрицательными патобиотами выделяемыми со слизистых оболочек в этой группе (Таблица 62).

Необходимо отметить, что процессы внутриклеточного киллинга связаны с выработкой активных форм кислорода (АФК) и их метаболитов, таких как $H_2O_2$ и HOCl- в результате активации метаболических процессов в клетке, образования и действия на поглощенный объект (микроб или вирус) надпероксидных анионов ($O_2$-), перекиси водорода ($H_2O_2$), синглетного кислорода ($1O_2$), гидроксильных радикалов (OH) [146]. У МР через 2,5–3 года после перенесенной НКВИ нами установлено одновременное снижение показателей спонтанного и индуцированного НСТ-тестов, что подтверждает выраженное снижение бактерицидных систем НГ [72]. У поздних реконвалесцентов НКВИ выявлены обратные взаимосвязи между НСТ спонт. и колонизацией S. aureus ($p<0,05$), Candida albicans ($p<0,05$). НСТ спонт. оценивает базисную биоцидность НГ. Угнетение базисной биоцидности у поздних реконвалесцентов НКВИ, несмотря на возбуждающий (микробный) фактор происходит, по-видимому, из-за подавления метаболизма клетки под воздействием цитотоксической активности вируса SARS-CoV-2. Недостаточное генерирование активных форм кислорода ассоциировано у поздних реконвалесцентов НКВИ с колонизацией слизистых ВДП такими патобиотами, как S. aureus и Candida albicans. Более глубокая депрессия базисной биоцидности влияет на микст колонизацию патобиотами, в

первую очередь S. aureus + Candida albicans. Для НСТ стим. обратные корреляционные связи нами установлены при микст-колонизации патобиотами S. aureus и Candida albicans ($p<0,05$) (Таблица 62). НСТ стим. показывает резервные возможности НГ, связанные с активацией метаболитов кислорода и процессами киллинга микроорганизмов [72].

Таким образом, выявленные нами изменения в составе микробиоты ВДП у МР в период ранней и поздней реконвалесценции НКВИ характеризовались увеличением колонизации бактериальными и грибковыми патобиотами (S. aureus, Candida albicans, Escherichia coli, Klebsiella spp.) и формированием устойчивых микробных ассоциаций из патобиотов. У ранних и поздних реконвалесцентов НКВИ с персистирующим носительством S. aureus, выделенные со слизистой ВДП изоляты характеризовались выраженными вирулентыми свойствами, которые обусловлены широким спектром токсинов, лейкоцидинов, гемолизинов, а также устойчивостью к широкому спектру АМП, характерному для MRSA-штаммов.

Данный факт, позволяет предположить, что грамположительная патобиота, в частности, S. aureus, как микробный фактор, может поддерживать выраженные процессы деструкции и апоптоза мукозальных НГ, эвакуируемых на слизистые ВДП у реконвалесцентов НКВИ и создавать дополнительный вклад в формирование нарушений на уровне функционально метаболической активности НГ и ЭК ворсинчатого эпителия слизистых ВДП.

# ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Окончание пандемии COVID-19 не завершилось прекращением циркуляции SARS-CoV-2 в человеческой популяции. SARS-CoV-2 демонстрирует эволюцию и мутационный процесс [138]. Эволюция вируса SARS-CoV-2 продолжается по пути образования новых субвариантов геновариантa «Omicron». Циркулирующий в настоящее время геновариант «Omicron» SARS-CoV-2, имеет глобальное распространение в мире, и способен «прорывать» вырабатываемый иммунитет к коронавирусу [177]. В связи с этими обстоятельствами исследования особенностей врожденного и приобретенного естественным путем или после вакцинации иммунного ответа, представляет значимую актуальность в иммунологии и инфектологии НКВИ.

Для эпидемиологического анализа состояния коллективного НКВИ и оценки динамики Ат к SARS-CoV-2-CoV-2 используют различные методы.

В начальный период пандемии учреждениями Роспотребнадзора в России было проведено исследование популяционного иммуннитета к иммуногенным S- и N-белкам коронавируса SARS-CoV-2, результаты которого показали значительную вариабельность показателей серопревалентности в разных регионах, а также продемонстрировали, существенный вклад МР как группы высокого риска инфицирования в развитии серопревалентности к SARS-CoV-2 [19, 29, 85, 143, 188, 190, 250, 252, 261, 269]. В проведенном нами поперечном исследовании было изучено формирование популяционного иммунитета у населения и МР РТ в ранний период заболеваемости COVID-19 и развития пандемии (с августа по декабрь 2020 гг.), которое оценивалось по спектру общих Ат различных классов (IgA, IgM, IgG) к антигенам SARS-CoV-2, выборка составила 41444 жителей РТ, из них 36,6% (15163) являлись МР. Результаты исследования продемонстрировали увеличение уровня серопозитивных лиц с августа по ноябрь 2020 года с 29,95±0,674% до 55,98±0,785%. Серопревалентность к SARS-CoV-2 среди населения РТ за этот период (август-

ноябрь 2020 года) составила в среднем 35,8±0,235%, среди МР РТ за анализируемый период - 35,23±0,388%. Отмечено нарастание доли серопозитивных лиц с августа по ноябрь 2020 года с 27,44±0,265% до 57,91±0,499% и увеличение среднегеометрического титра общих Ат (IgA, M, G) к SARS-CoV-2 за этот период с 84,43AU/мл до 101,09AU/мл. Указанная динамика происходила на фоне нарастания интенсивности эпидемического процесса и увеличения заболеваемости НКВИ с августа по декабрь 2020 года в РТ с 899 до 2950 случаев [123]. Гендерные различия в серопревалентности были незначительными как среди населения (среди женщин доля серопозитивных превышала на 4,0% данный показатель в когорте мужчин ($p<0,001$), так и в когорте МР (среди женщин доля серопозитивных была незначительно больше на 3,56% по сравнению с мужчинами ($P<0,001$), что можно связать с превалированием женщин в исследуемой популяции [40, 85]. В нашем исследовании выявлена сильная корреляционная связь между серопревалентностью и среднегеометрическим титра Ат, серопревалентностью и заболеваемостью, а так же между значениями среднегеометрического титра общих Ат A, M, G класса к антигенам SARS-CoV-2 и заболеваемостью у населения РТ. В когорте МР выявлена средняя умеренная прямая корреляционная связь между серопревалентностью и среднегеометрическим титра общих Ат к SARS-CoV-2. По нашим данным в этот период пандемии наблюдалось увеличение доли серопозитивных лиц и нарастание титров Ат к антигенам SARS-CoV-2, что свидетельствовало о формировании как индивидуального гуморального адаптивного ИО, так и популяционного иммунитета в РТ. При этом, вне зависимости от возрастных категорий (20-29 лет, 30-39 лет, 40-49 лет и 50-59 лет) показано преобладание количества серопозитивных лиц у взрослых по сравнению с детьми (возрастные категории от 1 года до 17 лет) [40]. По данным других авторов для детской популяции характерна высокая частота бессимптомных или слабовыраженных форм, которые могут протекать под маской ОРЗ без серьезных клинических проявлений, что может быть обусловлено возрастной особенностью плотности рецепторов ACE-2 на клетках мишенях и

перекрестным иммунитетом к близкородственным сезонным коронавирусам, что в конечном итоге снижает восприимчивость детей к SARS-CoV-2 [29]. Возможно, фактором ограничения распространённости клинически выраженной НКВИ у детей могут быть мезенхимальные стволовые клетки, способные негативно влиять на развитие «цитокинового шторма» и участвовать в регенерации пораженных тканей [224]. Необходимо отметить, что к марту 2021 года течения пандемии, возрастные различия серологической распространенности в российском населении полностью нивелировались [29, 216]. Наши данные согласуются с результатами мета-анализа 32 исследований, в которых также показано, что для детского населения характерна более высокая устойчивость к SARS-CoV-2 и меньшая серопозитивность, с превалированием бессимптомных форм COVID-19 [29, 40].

В группе риска среди МР МО РТ Уровень серопревалентности демонстрировал тенденцию к увеличению с возрастом от 18 до 59 лет, с последующим снижением к 70 годам. Наивысший уровень серопревалентности (37,76±0,756%) был зафиксирован в возрастной группе 50-59 лет [85]. Низкие показатели серопревалентности среди лиц старше 70 лет могут объясняться снижением мобильности и социальной активности данной группы населения, что, в свою очередь, уменьшает вероятность контакта с носителями вируса SARS-CoV-2.

Кроме этого, существенное значение в этой возрастной группе играет роль возрастные физиологические особенности ИО.

Бессимптомные формы НКВИ верифицировались нами, используя методику, примененную в исследовании серопревалентности у жителей Росссии [19, 29, 40, 143, 188, 190], то есть, у лиц, у которых отсутствуют клинические проявления заболевания, но вырабатываются АТ к SARS-CoV-2 верифицировалось бессимптомное течение инфекции [40, 119, 141, 279]. Согласно нашим данным, у 82,6±0,446% обследованных отсутствовали симптомы, характерные для COVID-19, острых респираторных вирусных инфекций (ОРВИ) или положительный результат метода полимеразной цепной реакции (ПЦР), что свидетельствует о

том, что они перенесли бессимптомную или инаппарантную форму НКВИ. Для МР этот показатель составил 84,97±0,498% [40]. Данный феномен инаппарантной сероконверсии, который предотвращает манифестацию заболевания, следует рассматривать как проявление общепопуляционного иммунитета, необходимого для успешного преодоления инфекции [72].

Таким образом, полученные результаты подчеркивают значимость бессимптомных и инаппарантных форм НКВИ в формировании серопревалентности к вирусу SARS-CoV-2 среди населения Республики Татарстан [40]. Эти данные совпадают с результатами популяционных исследований серопревалентности, проводившихся в различных регионах Российской Федерации в рамках проекта Роспотребнадзора в первую волну эпидемии COVID-19, где доля лиц с инаппарантными формами колебалась от 81,2±3,2% в Иркутской области до 98,8±0,7% в Краснодарском крае [86]. В республике Татарстан данный показатель составил 94,5%±0,8% [123]. Сравнимые данные о доле бессимптомных форм COVID-19 были зарегистрированы в Москве (82,6±1,6%), Московской области (83,4±1,4%) и Санкт-Петербурге (84,5±1,4%) [40, 85, 86]. По нашим данным инфекция протекала чаще в бессимптомной форме у лиц моложе 40 лет, аналогичная тенденция отмечена в когорте МР, где доля лиц с бессимптомным течением превалировала в возрастной группе 20-49 лет по сравнению с лицами старше 50 лет [86]. Необходимо отметить, что бессимптомная форма рассматривается, как один из клинических вариантов течения НКВИ и свидетельствует о высокой интенсивности эпидемического процесса, являясь фактором, дающим возможность противостоять вирусу SARS-CoV-2 и способствующая улучшению эпидемической ситуации.

Среди лиц, указавших на наличие клинических симптомов перенесенного COVID-19, антитела (Ат) были обнаружены в плазме крови в 89,72±0,908% случаев, тогда как в когорте (МР) данный показатель составил 89,29±1,05%. Эти данные свидетельствуют о формировании гуморального адаптивного иммунного ответа у большинства обследованных [40]. Доля серонегативных лиц среди перенесших новую коронавирусную инфекцию (НКВИ) была значительно ниже в

возрастной группе 60-69 лет (5,33±1,727%) по сравнению с группой 18-29 лет (14,68±3,39%) и 30-39 лет (14,94±2,872%). Такая же тенденция прослежена и среди МР, где доля серонегативных лиц среди перенесших COVID-19 была достоверно ниже у лиц старше 69 лет (25±5,735%) по сравнению с группой 20-29 лет (39,39±2,038%) [40, 85].

Проведённый анализ серопревалентности по социальным группам показал, что более высокий уровень установлен у лиц, работавших на производстве 39,5±2,146%, в творческих профессиях – 40,0±9,798%, в медицине – 35,24±0,389%, среди не работающих граждан 34,26±1,218% и госслужащих – 33,06±2,479%[40]. Таким образом, серопревалентность среди работников производственной сферы оказалась выше, чем в других социально-профессиональных группах, в то время как уровень серопревалентности в группах детей и работников образования был статистически значимо ниже по сравнению с представителями МР и безработными. Анализ серопревалентности к SARS-CoV-2 среди различных категорий МР показал высокую долю серопозитивных лиц среди младшего (42,01±1,384%) и среднего (37,5±0,527%) медицинского персонала по сравнению с врачами и другими категориями МР [85]. Наивысший уровень серопозитивности к SARS-CoV-2 был выявлен среди МР госпиталей для больных НКВИ (51,58±1,571%), затем следуют станции скорой и неотложной помощи (45,38±1,849%), стационары неинфекционного профиля (33,72±0,424%) и амбулаторно-поликлинические учреждения (31,15±1,57%).

Выявленные различия в уровнях серопревалентности между стационарами для лечения пациентов с НКВИ и станциями скорой помощи по сравнению с учреждениями неинфекционного профиля и амбулаторно-поликлинической сетью могут быть объяснены различиями в уровне, частоте и интенсивности профессиональных контактов с лицами, инфицированными вирусом SARS-CoV-2. Более низкие показатели серопревалентности, обнаруженные среди МР в стационарах инфекционного профиля (19,8±3,965%), вероятно, связаны с более высокой профессиональной подготовленностью врачей-инфекционистов для работы в очагах инфекции.

Таким образом, представленные данные требуют более глубокого изучения причинно-следственных факторов, включая различия в репрезентативности выборки, соблюдение противоэпидемических требований при проведении медицинских манипуляций, соблюдение правильности использования средств индивидуальной защиты (СИЗ), обработки рук, а также уровня образования и социальной ответственности [85]. Учитывая, что наибольшая доля серопревалентных МР выявлена среди сотрудников ведомств инфекционного профиля, дальнейшие исследования будут сосредоточены на проведении комплексного мониторинга, включающего изучение соответствующих параметров [40].

В связи с тем, что наибольшая доля серопревалентных МР выявлена среди сотрудников ВИГ, дальнейшие исследования были сосредоточены на проведении комплексного мониторинга, включающего изучение параметров врожденного, адаптивного гуморального и клеточного и мукозального иммунитета в период ранней и поздней реконвалесценции в группе повышенного риска инфицирования - МР ВИГ г. Казани.

Представления о времени появления различных классов Ат к SARS-CoV-2 в настоящее время хорошо сформированы, однако исследования по оценке длительности гуморального ИО охватывают пока небольшой период наблюдения, и полученные данные достаточно противоречивы. В настоящее время интерес иследователей направлен также на длительный мониторинг ИО на SARS-CoV-2 для понимания роли Ат в формировании ИО на инфекцию и длительности их сохранения, сопоставление постинфекционного ИО на вирус SARS-CoV-2 с вакцинальным, для возможной персонализации времени вакцинации и ревакцинации, особенно в наиболее уязвимых группах высокого риска инфицирования - МР.

В результате длительного продольного исследования нами показано, что гуморальный ИО на коронавирус SARS-CoV-2 у МР ВИГ характеризуется вариабельностью [81].

В результате анализа сероконверсии было выделено три основных тренда, характеризующих динамику титров иммуноглобулинов, среди которых наблюдается тенденция к снижению. У 69,0% испытуемых был зафиксирован неравномерный процесс уменьшения титров IgG Ат, в то время как у каждого пятого участника наблюдался низкий тренд снижения IgG Ат. Быстрый тренд снижения IgG Ат обнаружен в 4,0% случаев, а у 7,0% обследуемых отмечен тренд увеличения титров IgG Ат.

Что касается динамики IgM Ат, можно выделить три ключевых тренда: у каждого второго испытуемого антитела IgM в крови отсутствовали; 16,0% обследуемых сохраняли IgM Ат в течение 1-2 месяцев после сероконверсии, с последующим резким снижением их титров; у 34,0% участников IgM Ат сохранялись в крови на протяжении трех и более месяцев после сероконверсии [81].

Наряду с количеством вырабатываемых Ат, важной качественной характеристикой АТ является авидность, которая представляет собой суммарную силу связывания с антигеном и влияет на продолжительность и эффективность постинфекционного иммунитета к SARS-COV-2. Представляло интерес изучить изменение авидности к SARS-CoV-2 у реконвлесцентов НКВИ на ранних и поздних сроках после впервые перенесенной инфекции.

По полученным данным, показатели ИА IgG Ат к SARS-CoV-2 зависят от степени тяжести перенесенной НКВИ. У МР ВИГ ИА IgG Ат при среднетяжелой форме НКВИ был на 20,0-45,0% выше, чем при бессимптомном и легкой течении. Аналогичные результаты были получены L. Piccoli (2020), показавшем, что количество IgG Ат к S-белку и RBD было выше у госпитализированных пациентов по сравнению с больными, перенесшими COVID-19 в легкой или бессимптомной форме [31, 220], а также А.П. Топтыгиной с соавт. (2023), где ИА Ат увеличивался с 29,7% через 3 месяца после сероконверсии до 50,0% через год после перенесённой НКВИ, и оставался на этом уровне в следующие полгода, при этом не коррелировал с уровнем Ат к SARS-CoV-2 [31,96].

В контексте хорошо изученных вирусных инфекций, таких как корь и краснуха, где авидность антител достигает 90,0% и выше через 6-12 месяцев после заболевания, реконовалесценты COVID-19 демонстрируют уровень авидности на том же временном отрезке всего 49,9%, с максимальным значением 68,1% [125]. В группе реинфицированных SARS-CoV-2 наблюдались изначально низкие значения индекса авидности и титров Ат, которые нарастали параллельно; при этом через 7 месяцев индекс авидности оставался высоким и не снижался [81]. Повышение авидности Ат свидетельствует о дополнительных перестройках в антигенраспознающих участках Ат и образовании дополнительных плазмоцитов наряду с сформировавшимися при первичном инфицировании [160]. Полученные результаты согласуются с данными исследований среди реконовалесцентов и реинфицированных пациентом SARS-CoV-2, где показана прямая корреляция индекса авидности с тяжестью повторно перенесенной НКВИ. У пациентов с легкими формами заболевания и реинфицированных уровень авидности антител был достоверно выше, чем у лиц с первичным инфицированием (82,3% против 37,1%, $P<0,0001$). В то же время, у пациентов с тяжелыми формами НКВИ и реинфицированных по-прежнему фиксировались низкоавидные антитела, что подтвердило медиану авидности антител в 28,4% против 25,0% у пациентов с первичным инфицированием; разница при этом была недостоверной ($P>0,05$) [81].

Негативный прогностический фактор повышенного риска инфицирования для лиц, формирующих Ат с низкой авидностью, ранее был показан при ЦМВ-инфекция, лихорадка денге, РС-инфекция, корь [27]. Таким образом, полученные нами результаты и данные ранее проведённых исследований дают основание предположить, что выявление низкоавидных IgG Ат к RBD при реинфекции SARS-CoV-2 является прогностическим фактором риска развития тяжелой формы НКВИ.

Что касается уровня специфических АТ к SARS-CoV-2, то в нашем исследовании нами было показано практически двукратное снижение уровня IgG Ат к 7 месяцу после сероконверсии при всех клинически манифестных формах НКВИ, причем, при легкой и бессимптомной формах регистрироровалось

параллельное снижение ИА и титра IgG Ат. При среднетяжелой форме, выявленное нами увеличение титра Ат сопровождалось снижением их авидности через 4 месяца после перенесенной инфекции, и вероятно, было связанно с элиминацией высокоавидных Ат, нейтрализующих вирус при высокой вирусной нагрузке, которая обусловлена поражением нижних дыхательных путей и других тропных органов [187]. Сопоставимые результаты были получены другими авторами, показавшими, что у реконвалесцентов НКВИ уровень IgG Ат к S-белку SARS-CoV-2 постепенно снижается, причем более интенсивно в когорте, сформировавших высокий уровень АТ, чем в группе с низким уровнем гуморального ответа [31]. После 9 месяцев от сероконверсии уровень Ат выходит на плато, снижение замедляется и полной элиминации Ат не происходит [96, 125]. Результаты нашего исследования согласуются с данными других исследований, где уровень гуморального ответа на SARS-CoV-2 зависел от тяжести перенесенного COVID-19, а в период реконвалесценции уровень Ат постепенно снижается [175, 217, 218, 273].

Установленные в нашем исследовании закономерности формирования различных трендов гуморального ИО, которые характеризовались неравномерным снижением IgG Ат и сохранением IgM Ат в течение более чем 1 месяца, вероятно, обусловлены активной циркуляцией SARS-CoV-2, происходящими мутациями вируса и сменой штаммов в условиях продолжающейся пандемии, высоким риском инфицирования МР в период работы в ВИГ в связи с дополнительной антигенной стимуляцией, а так же динамикой продукции Ат с разной степенью авидности. Таким образом, можно констатировать, что уровень гуморального иммунитета после перенесенной НКВИ у МР снижался в первые полгода и различался в зависимости от степени тяжести перенесённой инфекции [31].

В дальнейшем наши исследования были сфокусированы на изучении продолжительности сохранения ИО на поздних сроках реконвалесценции НКВИ и сопоставление иммунитета после перенесенной инфекции и вакцинации.

По данным международных и российских исследований устойчивый гуморальный и клеточный ИО у реконвалесцентов НКВИ сохраняется в среднем в течение 6 месяцев после перенесенной инфекции с постепенным угасанием к 9-12 месяцам, при этом следует учитывать изменчивость вируса SARS-CoV-2, вследствии чего возможно реинфицирование из-за частичного ускользания геновариантa Омикрон от сформированного гуморального ответа [31, 42].

Проблема исчезновения Ат к антигенам вируса SARS-CoV-2 на отдаленных сроках после НКВИ изучена недостаточно. Для близкородственных респираторных инфекций, показано, что наличие защитных IgG Ат у 75,0% переболевших SARS-CoV-1 (атипичной пневмонией) сохраняются в течении 3лет после перенесённой инфекции, а в случае MERS (ближневосточного респираторного синдрома), при легком течении болезни, Ат могут элиминироваться уже в течение года после инфекции [183, 234]. По результатам наших исследований в группе МР – реконвалесцентов НКВИ через 2,5-3 года после перенесенной инфекции регистрируется достаточно высокий процент лиц с высоким уровнем специфических Ат в 83,5% случаев, при этом значимых различий между группами пациентов с легким и среднетяжелым течением инфекции не выявлено. Почти у 24,0% МР с бессимптомным течением НКВИ были выявлены уровни Ат к SARS-CoV-2. Исследование ассоциации трендов гуморального ИО, который сформировался в период ранней реконвалесценции у МР, с уровнями Ат на этапе поздней реконвалесценции (через 2,5-3 года) после впервые перенесенной НКВИ, выявил следующие закономерности: в период поздней реконвалесценции у МР уровень IgG Ат к SARS-CoV-2 более 500 BAU/ml был ассоциирован чаще с неравномерным трендом снижения IgG Ат (у 47,5% МР) и реже с медленным трендом снижения IgG Ат (19,6% случаев) [34]. Отсутствие специфических Ат к SARS-CoV-2 у МР на этапе поздней реконвалесценции ассоциировалось в большинстве случаев с быстрым трендом снижения IgG Ат (80,0% случаев) и реже с неравномерным трендом снижения IgG Ат (20,0% случаев) в ранний период реконвалесценции. Такая динамика Ат на отдаленных сроках после перенесенной НКВИ может объясняться в частности

активной циркуляцией вируса в условиях продолжавшейся в период исследования пандемии и возможностью бессимптомной бустеризации и стимуляции ИО, что отражается медленным трендом снижения IgG Ат, неравномерным трендом и трендом увеличения титров IgG Ат у части МР. Учет трендов на этапе раннего мониторинга позволяет прогнозировать сохранность оптимальных уровней Ат на этапах длительного мониторинга. Вместе с тем ряд исследователей указывают на то, что, несмотря на высокие уровни IgG Ат к SARS-CoV-2, гуморальный ответ на антигены SARS-CoV-2 характеризуется неполной матурацией (динамикой нарастания) авидности [17, 56, 57, 58, 96, 121, 162, 202, 230, 242].

В период поздней реконвалесценции у большей части (91,1%) МР выявлено формирование высокоавидных IgG Ат к N-белку SARS-CoV-2ИА (от 50,0 до 99,0%). При этом у 73,3% МР формировались Ат с очень высокой авидностью (ИА>75%) к N-белку SARS-CoV-2, титр IgG Ат к N-белку SARS-CoV-2 у МР этой группы составил 87,7 (1,6-77,8) BAU/ml. Только у 8,9% МР сохранялись IgG Ат низкой авидности и небольшой титр IgG Ат к N-белку SARS-CoV-2 (не более 37,2 BAU/ml). Такая же закономерность сохранялась у МР при формировании высокоавидных IgG Ат к поверхностному гликопротеину S-белку SARS-CoV-2. У большинства МР (78,9%) формировались высокоавидные IgG Ат, их титр составлял от 216 до 328 BAU/ml. У 21,0% МР выявлены низкоавидные IgG Ат к S-белку SARS-CoV-2, титр не превышал 218 BAU/ml. Полученные нами результаты согласуются с данными других исследователей [96], где в группе переболевших и привитых снижение IgG Ат к SARS-CoV-2 более выражено у лиц с изначально высоким гуморальным ответом, с замедлением и выходом на плато после 9-и месяцев с параллельным повышением авидности до 50,0% и сохранением до 18 месяцев. Кроме этого, нами установлена корреляция между числом эпизодов перенесённой НКВИ у МР и ИА IgG Ат к N-белку SARS-CoV-2, что также согласуется с данными других исследователей, которые показали, что прорывной иммунитет был значительно выше и сопровождался формированием IgG Ат высокой авидности, чем после первого заболевания [98].

Наряду с гуморальным ИО существенную роль в защите от SARS играет Т-клеточный иммунитет [151,178]. В ряде работ показано, что раннее формирование антигенспецифических клонов лимфоцитов коррелирует с уменьшением вирусной нагрузки и тяжести НКВИ, а снижение количества Т-клеток памяти и регуляторных Т-лимфоцитов приводит к прогрессированию воспалительной реакции, вплоть до развития цитокинового шторма, повреждению тканей и мультиорганной недостаточности [35, 39, 93, 105, 112, 184].

В связи с этим, нами проведено изучение некоторых параметров Т-клеточного ИО на иммуногенные пептиды вируса SARS-CoV-2: шиповидный (S-белок), нуклеокапсидный (N), мембранный (M), а также структурные белки ORF-3a, ORF-7a у переболевших и вакцинированных лиц в группе риска МР при долговременном мониторинге (через 2,5-3 года после впервые перенесенной НКВИ) [46]. Проведенные ранее исследования были сфокусированы на сохранности и продолжительности иммунитета к родственным короновирусам [211, 237, 271]. Так, у перенесших атипичную пневмонию в результате инфицирования SARS-CoV-1 через 6 лет после заболевания регистрировались специфичные Т-клетки памяти [121, 198]. В других исследованиях показано, что специфичные к белкам вируса SARS-CoV-1 CD8+ Т-клетки обнаруживались даже спустя 11 лет после перенесенного тяжелого острого респираторного синдрома, что свидетельствует о длительном поддержании Т-клеточного иммунитета [121, 222]. В рамках пандемии COVID-19 получены данные о поддержании иммунитета к вирусу SARS-CoV-2 в течение 6, 9 и более месяцев наблюдений [151, 158, 167, 242].

В результате проведённых исследований нами установлено, что Т-клеточный иммунитет к S-белку и структурным пептидам (N, M, ORF-3a, ORF-7a) вируса SARS-CoV-2 сохраняется на протяжении 2,5-3 лет после перенесенной инфекции в 72,53±5,495% и 86,81±3,807 % МР соответственно [98, 109, 110]. Т-клеточный ответ к S-пептиду SARS-CoV-2 и пептидам N,M,ORF3a и ORF7a у МР - реконвалесцентов НКВИ характеризуется значительной вариабельностью - от 13 спотов до уровня более 100 спотов [98, 109, 110]. Нами установлено, что

эффективная сохранность естественного Т-клеточного иммунитета к SARS-CoV-2 выше, по сравнению с поствакцинальным при долговременном мониторинге у МР (спустя 2,5-3 года после перенесенной инфекции НКВИ). Отрицательный результат Т-клеточного ИО к S-протеину может быть использован в качестве надёжного лабораторного теста для решения вопроса о ревакцинации МР против COVID-19 [46, 124]. Сохранность реакций Т-клеточного ИО на пептиды S-белка ассоциирована со степенью тяжести перенесенной НКВИ. Высокий уровень Т-клеточного иммунитета на антигены SARS-CoV-2 при долговременном мониторинге отмечается у лиц, которые перенесли среднетяжелую/тяжелую форму НКВИ [46, 124]. Сохранность параметров гибридного иммунитета по сравнению с постинфекционным выше, что является значимым как для групп с клинической манифестацией НКВИ в анамнезе, так и для группы с бессимптомными формами.

Установленное нами эмпирическим путем ранжирование количества спотов в классах при постановке «ТиграТест® SARS-CoV-2» может использоваться для оценки индивидуального клеточного иммунитета и стратификации рисков повторного инфицирования у МР.

Таким образом, лица, перенесшие НКВИ, сохраняют иммунную память в течении 2-х лет после впервые перенесенной НКВИ, при этом необходимы дальнейшие динамические исследования для уточнения сроков снижения Т-клеточного ИО, требующее профилактической вакцинации и/или ревакцинации. Вариабельность показателей Т-клеточных тестов может определяться не только сформированным и сохранным Т-клеточным ответом, но и эпизодической инфекционной нагрузкой, о чем свидетельствует более выраженный иммунный ответ на пул пептидов N, M, ORF3a и ORF7a SARS-CoV-2. Полученные нами данные согласуются с данными других исследователей, в которых показана вариабельность Т-клеточного специфического иммунитета. Так, в работе А.П. Топтыгиной (2023) установлено, что клеточный иммунитет к S-пептиду вируса SARS-CoV-2 значимо различается по уровням: 50,0% обследованных лиц имели высокий клеточный иммунитет и столько же - низкий [121]. Наиболее частая

встречаемость значений высокого и среднего уровня Т-клеточного ответа на пептиды N, M, ORF3a и ORF7a, как и более высокий уровень Т-лимфоцитов, способных реагировать на антигены N, M, ORF3a и ORF 7a свидетельствует о более эффективной сохранности естественного иммунитета по сравнению с поствакцинальным при долговременном мониторинге. Установленный более высокий уровень клеточного иммунного ответа на белки N, M, ORF3a и ORF7a может быть следствием уже сформированного клеточного иммунитета к простудным коронавирусам, таким как HCoV-OC43, HCoV-229E, HCoV-NL63 и HCoV-HKU1, что было показано в ранее проведенных исследованиях [159].

Проведённый нами многофакторный анализ показал, что статистически значимое влияние на показатели Т-клеточного иммунитета к S-белку оказывает сочетание таких факторов, как тяжесть впервые перенесённой НКВИ, вакцинальный статус МР и особенности формирования гуморального иммунитета к SARS-CoV-2 в первый год после перенесённого COVID-19, доля влияния сочетания данных трех факторов составляет 20,6%. Достоверное влияние на показатели Т – клеточного иммуннитета к пептидам N, M, ORF3a, ORF7a SARS-CoV-2 оказывает сочентание таких факторов, как тяжесть впервые перенесённой НКВИ, вакцинальный статус МР и возраст МР, доля влияния данных факторов составляет 26,2%. Нами установлена статистически значимая корреляционная зависимость между возрастом МР и показателями Т- клеточного иммунитета к SARS-CoV-2, прямая корреляционная зависимость регистрировалась у МР до 45 лет и обратная – у МР старше 60 лет. У 20,9% МР по данным многофакторного анализа мы можем прогнозировать формирование высокого уровня показателей Т-клеточного иммунитета к пептидам S-белка вируса SARS-CoV-2 при сочетанном влиянии таких факторов, как перенесенная НКВИ в среднетяжелой или тяжелой форме, отсутствие или наличие вакцинации против COVID-19 и формирование гуморального ИО с трендом неравномерного снижения титра IgG или с трендом увеличения титра IgG; легкое течение НКВИ, указание на наличие вакцинации против COVID-19 в анамнезе и формирование гуморального ИО, характеризующегося увеличением титра IgG Ат [31]. Установлено, что в 20,9%

случаев Т-клеточный иммунитет к пептидам S-белка может не сформироваться при сочетании таких факторов, как перенесенная НКВИ в легкой форме, отсутствие или наличие вакцинации против COVID-19 в анамнезе и формирование гуморального ИО, характеризующегося быстрым трендом снижения IgG Ат. В 26,2% случаев Т-клеточный иммунитет к пептидам N, M, ORF3a, ORF7a SARS-CoV-2 может не сформироваться при следующем сочетании факторов: легкая степень впервые перенесенного COVID-19, наличие вакцинации, гуморальный ИО с трендом медленного снижения IgG Ат. Высокие показатели Т-клеточного иммунитета к структурным пептидам SARS-CoV-2 при сочетании следующих факторов: впервые перенесенный COVID-19 в легкой и среднетяжелой форме, наличие или отсутствие вакцинации и гуморальный ИО с трендом неравномерного снижения IgG Ат. Установлена очень слабая связь ($r=0,2$; $P<0,05$) между количеством эпизодов перенесённой НКВИ и показателями Т-клеточного иммунитета к N, M, ORF3a, ORF7a.

Представляло интерес провести анализ влияния установленных нами факторов на формирование не только Т-клеточного, но и гуморального иммунитета. Многофакторный анализ проведен для оценки влияния на уровень ИА Ат к N-белку SARS-CoV-2 в период поздней реконвалесценции. Установлен суммарный эффект влияния трех факторов: тяжесть течения впервые перенесенного COVID-19, вакцинальный анамнез, работа в «красной зоне» - в 42,2% случаев. По результатам многофакторного анализа статистически значимо формируются высокоавидные Ат к N-белку SARS-CoV-2 с ИА от 78,5% до 98,2% при сочетании следующих факторов: легкое или среднетяжелое течение впервые перенесённого COVID19, наличие вакцинации, работа в «красной зоне» ВИГ. В 42,2% случаев ИА IgG Ат может быть менее 50,0% при сочетании следующих факторов: бессимптомная форма впервые перенесённого COVID19, отсутствие вакцинации, отсутствие указаний на работу в «красной зоне» ВИГ. Проведенный многофакторный анализ показал, что наибольшее влияние выделенных нами факторов (тяжесть перенесенной НКВИ, вакцинальный статус, работа в «красной зоне», тренд формирования гуморального ИО) приходится на формирование

авидности антител (42,0%) в меньшей степени – на показатели Т-клеточного иммунитета (20,0-26,0%).

Наиболее эффективным способом борьбы с эпидемиями является вакцинация [17]. НКВИ не явилась исключением. В России была зарегистрирована первая в мире вакцина против COVID-19 – Гам-Ковид-Вак (Спутник V) и с декабря 2020 началась масштабная, а с января 2021 г. массовая вакцинация против COVID-19. В течение кратчайшего времени были созданы и внедрены в практику вакцины, разработанные в Российской Федерации: ЭпиВакКорона, Спутник Лайт, Ковивак, ЭпиВакКорона-Н, Гам-КовидВак-М (Спутник М), Конвасэл. Следующим разделом наших популяционных иммунологических исследований было изучение иммунитета к SARS-CoV-2 среди населения РТ и МР в условиях масштабной вакцинации против COVID-19.

Данный раздел исследования базировался на поперечном популяционном исследовании, охватившем 9930 жителей РТ из них 15,9% (1583) МР РТ, направленном на изучение закономерностей ИО у вакцинированного населения к RBD-домену S-белка коронавируса SARS-CoV-2, проведенного с апреля по октябрь 2022 г., после окончания проекта Роспотребнадзора по изучению популяционного иммунитета в РФ к нуклеокапсиду SARS-CoV-2 (проводился в сроки с 26.06.2020 по 16.12.2021 гг.) В формировании защиты против вируса SARS-CoV-2 важную роль играют поверхностный S-белок, содержащий RBD-домен, нуклеокапсидный N-белок. К S-белку формируется Т-клеточный и гуморальный иммунитет [22, 71], обусловленный вируснейтрализующими Ат к RBD-домену, однако S-белок подвержен мутациям, что позволяет ускользать от вируснейтрализующих Ат, что увеличивает скорость распространения и приводит к утяжелению НКВИ [17, 42]. Всего к концу 2022 г. привито против COVID-19 2893921 человек, 88,2% от всего населения [123].

В проведенном нами популяционном иммунологическом исследовании, критерием включения в которое была предшествующая вакцинация или ревакцинация против COVID-19, приняли участие жители большинства районов РТ работники медицинских организаций составили 15,9% общего числа

обследованных. Также в исследовании приняли участие работники офисов, производств, сферы образования, транспорта, безработные, пенсионеры, государственные служащие, представители бизнеса, творческих профессий, студенты, все они были объединены в группу «немедициские работники» (НМР).

Среди участников исследования преобладали лица, получившие двукратную вакцинацию (60%); 18,61% лиц получили полный курс вакцинации [3, 98, 109, 110] и однократную ревакцинацию; 11,38% - только одну дозу вакцины; в единичных случаях были участники, получившие полный курс вакцинации и три ревакцинации (5 доз вакцины), полный курс вакцинации и четыре ревакцинации (6 доз вакцины). В группе вакцинированных как мужчин, так и женщин, доля серопозитивных к SARS-CoV-2 была больше, чем в контрольной группе, соотношение мужчин и женщин составило один к пяти. Ряд исследователей получили данные о наиболее высоких титрах Ат к SARS-CoV-2 у женщин [180, 215]. В нашем исследовании выявлены незначительные гендерные различия. В группах вакцинированных и контрольной группе доля серопозитивных к SARS-CoV-2 среди женщин (95,04±0,245%) была больше, чем среди мужчин (90,58±0,734%). Мнения исследователей относительно влияния демографических характеристик на уровень гуморального иммунного ответа и тяжесть НКВИ различаются, в ряде исследований показана корреляционная связь между уровнями Ат к SARS-CoV-2 и тяжестью НКВИ и более старшими возрастными группами [236].

Титры IgG Ат к SARS-CoV-2 были выше в когорте вакцинированных участников; значимые различия между когортами вакцинированных и не вакцинированных были получены по средним показателям обеих когорт в возрастных группах 20-29, 30-39 и 40-49 лет; средние значения составили 374,18 (374,08-374,28), наибольшие значения отмечены в возрастных группах от 18-19, 40-49, 50-59 и 60-69 лет, наименьшие - в категории 30-39 лет. В нашем исследовании серопревалентность в когорте вакцинированных составила 100%, не зависела от возраста, кроме возрастной группы 18-19 лет, что, вероятно, связано с малочисленностью выборки. Серопревалентность в когорте не

вакцинированных была наименьшей в возрастных группах 30-39 лет, 20-29 и 70 лет и старше.

Среди жителей РТ доля серопозитивных к вирусу SARS-CoV-2 составила 94,42±0,23% со среднегеометрическим титра IgG Ат 373,18 AU/ml. Среди МР доля серопозитивных составила 96,5% со среднегеометрическим значением титра Ат 459,47AU/ml (428,66-492,5). Доля серопозитивных в группе МР и НМР, как и значения среднегеометрического титра IgG Ат достоверно не различались.

У лиц, не вакцинированных против COVID-19, доля серопозитивных была 84,5%, что значимо меньше доли серопозитивных среди всех вакцинированных - 95,41%. Среднегеометрическое значение титра Ат не вакцинированных (210,34AU/ml) было значимо меньше показателей вакцинированных против COVID-19 лиц 395,02AU/ml [3, 98, 109, 110]. Эти данные могут свидетельствовать об иммуногенности, применяемых вакцин против НКВИ.

Уровень Ат у лиц, получивших одну, две, три и четыре дозы вакцины составил 94,83-98,59AU/ml и оставался значимо выше по сравнению с группой сравнения (84,5AU|ml).

Значение среднегеометрического титра IgG Ат к SARS-CoV-2 у 1399 лиц до вакцинации составило 32,13 AU/ml. После вакцинации титр Ат увеличился в 14,80 раз и составил [98, 109, 110] 475,64AU/ml, что свидетельствует о выраженной активации иммунной системы в ответ на проведение вакцинации против COVID-19.

С целью исследования возможных причин гетерогенности ответа на вакцинацию нами была проведена оценка влияния различных факторов на формирование вакцинального иммунитета. На наличие хронических заболеваний органов дыхания, указали 24,34% участника исследования. Несмотря на то, что до вакцинации лица, указавшие на наличие аллергического ринита, бронхита и риносинусита имели достоверно более высокие титры Ат к антигенам SARS-CoV-2, а лица, страдающие тонзиллитом, бронхиальной астмой и фарингитом - более низкий уровень Ат к SARS-CoV-2 по сравнению с лицами, не имевших хронических заболеваний органов дыхания, после вакцинации различия в титрах

АТ у лиц с наличием в анамнезе различных хронических заболеваний органов дыхания и их отсутствием была статистически не значимой. Таким образом, по нашим данным наличие хронической патологии дыхательных путей не оказывало влияния на уровень Ат после вакцинации.

Одна четверть участников исследования имели другие хронические заболевания, кроме болезней органов дыхания. Больше половины из которых были представлены болезнями системы кровообращения и одна треть - болезнями эндокринной системы, расстройствами питания и нарушениями обмена веществ. Группа лиц, имевшая какое-либо хроническое заболевание, до вакцинации имела более низкий титр 29,05 AU/ml, по сравнению с группой лиц, не имевших хронической патологии 37,22 AU/ml. ($P<0,01$). После вакцинации значения среднегеометрического титра IgG Ат к SARS-CoV-2 достоверно возросли во всех группах лиц с различной хронической патологией и были сопоставимы между группами с различной хронической патологией. Таким образом, вакцинация приводила к увеличению титра Ат среди лиц как с наличием, так и отсутствием хронической патологии, без достоверных различий между этими группами.

Изучение влияния наличия в анамнезе диагноза COVID-19 до вакцинации на гуморальный ИО показало, что лица, которым был установлен диагноз COVID-19, имели достоверно более высокие значения среднегеометрического титра IgG Ат к SARS-C0V-2 как до- (254,22 AU/ml), так и после вакцинации (560,75 AU/ml), чем лица, у которых не было диагноза COVID-19 в анамнезе (значения до - 38,89 AU/ml и после - 427,33 AU/ml ($P<0,01$). В группе лиц, которым был установлен диагноз COVID-19, среднегеометрическое титра Ат после вакцинации возросло в 2,21, а в группе лиц с отсутствием диагноза COVID-19 в анамнезе значение среднегеометрического титра Ат после вакцинации увеличилось в 10,99 раз по сравнению с уровнем до вакцинации ($P<0,01$), но было достоверно ниже данного показателя в группе лиц с гибридным иммунитетом.

В группе риска МР, которые получили вакцинацию (15,9% или 1583 человека в возрасте от 18 до 73 лет, средний возраст 48,5 лет, с преобладанием женщин в 90,9%), анализ полученных данных показал, что двухкратную вакцинацию против

COVID-19 получили 64,62%; полный курс вакцинации и однократную ревакцинацию – 24,76%; одну дозу вакцины - 6,57%; четыре дозы вакцины - 1,5%, так же в единичных случаях были участники, получившие более 5 и 6 доз вакцины против НКВИ [98, 109, 110].

Серопревалентность к SARS-CoV-2 МР РТ составила 96,46%, значение среднегеометрического титра Ат к SARS-CoV-2 - 459,5 AU/ml. Были выявлены различия значений среднегеометрического титра Ат к SARS-CoV-2 МР в возрастных группах 40-49 (499,4 AU/ml)и 50-59 (494,6 AU/ml)лет и 30-39 лет (398,5 AU/ml) ($P<0,05$). Проведённое нами сравнение серопревалентности и среднегеометрического титра Ат показало отсутствие статистически значимой разницы в серопревалентности и напряженности специфического иммунитета к SARS-CoV-2 у МР разных районов РТ. Доля серопозитивных и значения среднегеометрического титра IgG Ат к SARS-CoV-2 среди мужчин и женщин не имели достоверных различий.

Динамика титра Ат у МР, получивших одну и две дозы вакцины против COVID-19 описывалась уравнениями линейной регрессии $y=560,6+0,7293\times x$, ($p<0,01$) и $y=621,62+0,3958\times x$($p<0,01$), то есть чем больше проходило времени после одной и двух инъекций вакцины, тем более высокими были титры Ат, что могло свидетельствовать о естественной бустеризации в условиях пандемии, связанной с циркуляцией дикого вируса и сохранении латентной иммунизации. В группе лиц, получивших три дозы вакцины против COVID-19, динамика титра Ат описывалась также уравнением линейной регрессии $y=812,63-0,9911\times x$, что свидетельствовало о постепенном снижении титра Ат у вакцинированных лиц после введения третьей дозы вакцины. Согласно международным и российским исследованиям такая динамика может быть связана с сохранением в среднем в течение 6 месяцев после перенесенной инфекции, а в последующем постепенным угасанием через год устойчивого гуморального и клеточного ИО у лиц, переболевших НКВИ [17, 42].

Проведённое нами сравнение титров Ат после однократной иммунизации МР показало отсутствие статистически значимых различий в зависимости от вида

вакцины в связи с недостаточной численностью лиц, получивших вакцинацию Ковивак и ЭпиВакКорона. Необходимо особо отметить, что среди тринадцати комбинаций вакцин, встретившихся в анкетах МР, при двукратной вакцинации, сочетание Спутник Лайт - Спутник Лайт и Спутник V - Спутник V приводило к формированию более выраженного ИО, чем комбинации вакцин ЭпиВакКорона - ЭпиВакКорона, и Спутник V - Спутник Лайт и Ковивак-Ковивак и ЭпиВакКорона - ЭпиВакКорона ($P<0,05$) [98, 109, 110]. Среди пятнадцати комбинаций вакцин при трехкратной вакцинации лишь две комбинации соответствовали критерию «большая группа»: Спутник V - Спутник V - Спутник Лайт, Спутник V - Спутник V- Спутник V. Между этими двумя группами статистическая разница была не значимой. В результате анализа данных, показано, что среди МР титр Ат к SARS-CoV-2 после вакцинации увеличился в 5,02 раз и составил 538,11 AU/ml, а среди населения в целом увеличился более значительно в 14,80 раз, но не достиг уровня МР, составив 475,64 AU/ml, что вероятно, связано с тем, что до вакцинации уровень Ат у МР был выше 107,2 AU/ml по сравнению с другими категориями граждан 32,13 AU/ml. Данный факт может быть связан с более высоким уровнем гуморального ИО среди МР, в связи с высоким риском инфицирования на рабочем месте, а так же регистрацией практически в равных соотношениях лиц как с хорошо выраженным гуморальным ИО, так и лиц с низкими показателями антительного ответа (соответственно 57,0% и 43%) [121].

Необходимо отметить, что на эффективность формирования ИО оказывают влияние множество биологических факторов, в том, числе соматический статус и состояние здоровья МР. Анализ анкетных данных показал, что на наличие хронических заболеваний органов дыхания указали 38,16% лиц, включенных в исследование. У МР, указавших на наличие аллергического ринита, выявлены значимо более высокие титры Ат к SARS-CoV-2 до проведения вакцинации, чем у лиц с бронхитом, тонзиллитом и без хронических заболеваний органов дыхания, а лица, страдавшие хроническим тонзиллитом, имели более низкий уровень Ат к SARS-CoV-2 по сравнению с группой МР, не имевших хронических заболеваний органов дыхания. Наличие хронической патологии дыхательных путей не

оказывало влияния на уровень Ат после вакцинации, так как различия в значении среднегеометрического титра Ат у лиц с наличием в анамнезе различных хронических заболеваний органов дыхания и их отсутствием были не значимы. Необходимо отметить, что до проведения вакцинации МР с какими-либо хроническими заболеваниями имели более низкие значения среднегеометрического титра Ат к SARS-CoV-2 по сравнению с лицами без хронической патологии. Среднегеометрическое титра IgG Ат к SARS-CoV-2 было выше у МР с болезнями эндокринной системы, расстройствами питания и нарушениями обмена веществ, чем в группе с наличием болезней системы кровообращения. Изучение иммунного ответа после вакцинации показало, что значение среднегеометрического титра IgG Ат к SARS-CoV-2 не отличалось в группах с наличием и отсутствием хронических заболеваний.

Таким образом, результаты исследования популяционного иммунитета показывают формирование высокой серопревалентности и гуморального иммунитета у вакцинированных против COVID-19 МР РТ.

Одним из доказанных последствий перенесенной НКВИ является формирование потенциальных дисфункций системного иммунитета [96, 159]. Исследования свидетельствуют о нарушениях как врожденных, так и адаптивных механизмов ИО и необходимости оптимизации лечебно-профилактических мероприятий, направленных на повышение неспецифической резистентности, защиты барьеров слизистых респираторного тракта, и выявление генетических предикторов дефектов врожденного и адаптивного иммунного ответа, особенно в группах высокого риска инфицирования, к которым относятся МР [17, 34, 42, 58, 59, 69, 160, 239].

В связи с этим нам представилось важным изучение показателей врожденного иммунитета у МР ВИГ в ранние и поздние периоды реконвалесценции после НКВИ. В качестве генетических маркеров дисфункции врождённого компонента противовирусного и антимикробного иммунитета были выбраны полиморфизмы TLR-4 rs4986790 и TLR-2 rs5743708, особенности экспрессии TLR-2 на моноцитах периферической крови и цитокиновый профиль

периферической крови у МР с полиморфизмами SNP TLR-2 и TLR-4. А также проведено изучение взаимосвязи клинически значимых полиморфизмов в генах TLR-2, TLR-4, экспрессии TLR-2, TLR-4 на моноцитах периферической крови, цитокинового профиля периферической крови, специфического гуморального и клеточного ИО на SARS-COV-2 у МР – реконвалесцентов НКВИ [3, 34, 98, 109, 110]. Наличие генетически обусловленных иммунологических аномалий, которые затрагивают субпопуляции эффекторных Т- и В-клеток, мутации в ключевых рецепторах, контролирующих механизмы врождённого и адаптивного ИО, метаболические пути, связанные с окислительным фосфорилированием, генерацией активных форм кислорода оказывают влияние [34] на особенности патогенеза, клинические проявления НКВИ как в острый период, так и в период ранней и поздней реконвалесценции и прогноз у лиц, перенесших инфекцию, в частности у МР. Поэтому есть ряд исследований, согласующихся с нашим, сфокусированых на проблеме поиска прямых доказательств влияния этих аномалий на формирование постковидного синдрома, которые пока не найдены [160, 239].

Результаты проведенных исследований продемонстрировали значимое увеличение экспрессии TLR-2 на моноцитах и гранулоцитах в период ранней реконвалесценции у МР, которое зависело от тяжести перенесённой НКВИ. У лиц с бессимптомными или легкими формами показатели экспрессии TLR-2 на гранулоцитах и моноцитах были в два раза [34] ниже, чем в группе МР со среднетяжёлым течением НКВИ. Можно предположить, что особенности экспрессии TLR-2 являются следствием вызванного вирусом SARS-CoV-2 цитокинового дисбаланса, и могут быть одной из причин развития бактериальных осложнений ВДП в группе МР, серопозитивных к вирусу SARS-CoV-2.

В ходе проведенного исследования врожденных и адаптивных механизмов ИО у невакцинированных МР ВИГ в разные периоды реконвалесценции после НКВИ, были установлены следующие особенности: через 7 месяцев после инфицирования SARS-CoV-2 регистрировалось значимое уменьшение уровня ИФН-γ, ИЛ-1β и ИЛ-10. В то же время, уровень экспрессии TLR-2 на моноцитах и

макрофагах сохранялся высоким, не зависел от генотипа «значимого» SNP гена TLR-2 , и коррелировал с индивидуальной динамикой титра специфических IgM и IgG Ат к SARS-CoV-2 [34].

В период ранней реконвалесценции НКВИ у МР отмечено резкое повышение концентрации sCD40L, что свидетельствует об активации системы тромбообразования и воспаления, а в последующие 7 месяцев, наблюдалось значительное снижение показателя ниже референсных значений контрольной группы.

Распространенность полиморфного (мутантного) аллеля A (rs5743708, G>A) в гене TLR-2 в когорте МР составила 4,0%, что соответствует данным о средней частоте распространенности полиморфного аллеля A (rs5743708, G>A) в финской популяции, которая составляет до 2,96%.

Распространенность полиморфного аллеля G (rs4986790) в гене TLR-4 в изучаемой когорте МР была сопоставима с эстонской (6,7%) и финской популяциями (12,2%), в которых было проведено соответствующее генетическое типирование. По нашим данным, у МР с комбинацией полиморфизмов rs5743708 и rs4986790 в генах TLR-2 и TLR-4 (частота встречаемости до 6,7%) выявлен дисбаланс цитокинов, которые контролируют противовирусный врожденный и адаптивный ИО - ИФН-γ , ИЛ- 1β, ИЛ-6, sCD40L, ИЛ-10.

Таким образом, изучение ИО, как в ранние, так и в более поздние сроки реконвалесценции у МР ВИГ, показало значительные изменения в иммунологических показателях и взаимное влияние клинически значимых полиморфизмов в генах ИО, уровней экспрессии TLR-2 и TLR-4 на моноцитах периферической крови, цитокинового профиля периферической крови (ИЛ-10, ИЛ-1β, ИНФ-γ, ИЛ-6) и маркеров активности тромбоцитов (sCD40L), а также специфического гуморального ИО на вирус SARS-CoV-2.

Выявленные изменения свидетельствуют о нарушениях как врожденных, так и адаптивных механизмов ИО и способны снизить устойчивость к респираторным инфекциям.

Результаты исследования обосновывают необходимость оптимизации лечебно-профилактических и диагностических мероприятий, направленных на повышение неспецифической резистентности, защиту барьеров слизистых респираторного тракта и выявление генетических предикторов дефектов врожденного и адаптивного ИО [3, 34, 98, 109, 110].

Важную роль в защите от инфекций ВДП играет мукозальный иммунитет. Последствиями его нарушения являются изменения микробиоты ВДП (56, 61, 69]. Эта проблема актуальна и для НКВИ [60, 69, 80]. В период ранней реконвалесценции у МР на слизистых оболочках выявлены микробные ассоциации патобиотов, включающие S. aureus + другой УПМ в 57,7% случаев, что в 1,7 превышало количество таких ассоциаций в группе сравнения, ($p<0,05$). Среди этих микробных ассоциаций нами выделены двухкомпонентные ассоциации, которые представлены S. aureus + Candida albican и выявлены в 38,5% случаев, S. aureus + Klebsiella spp., а также S. aureus + Streptococcus pyogenes, которые регистрировались по 7,8% случаев. Трех-компонентные микробные ассоциации, такие как S. aureus + Klebsiella spp.+Candida albicans [72] на слизистых оболочках ВДП у ранних реконвалесцентов НКВИ регистрировались нами только в 15,4%, случаев, тогда как в группе сравнения, такие ассоциации нами вообще не выявлены. Грибы рода Candida sp. в 100,0% представленные Candida albicans, на слизистых оболочках ВДП у ранних реконвалесцентов НКВИ обнаруживались в 3,0 раза чаще, чем в группе сравнения. Установлено, что Candida albicans в высоких титрах ($10^{4-5}$ КОЕ/мл) регистрировалась в 72,7% случаев, а в низких титрах ($10^{2-3}$ КОЕ/мл) только в 27,3% случаев. В виде монокультуры Candida albicans [72] выделялась со слизистых ВДП у ранних реконвалесцентов COVID-19 только в 36,4% случаев (в группе сравнения только 12,1% случаев; $P<0,05$), в ассоциациях - Candida albicans + другие УПМ у реконвалесцентов COVID-19 в 63,6% случаев. У ранних реконвалесцентов COVID-19 2-х компонентные грибково-микробные ассоциации были представлены Candida albicans + S. aureus в 45,5% случаев; Candida albicans+ Streptococcus pyogenes в 9,1% случаев, а трехкомпонентые микробные ассоциации

- Candida albicans + S. aureus + Klebsiella spp. [72] только в 18,2% случаев.

Колонизация грамотрицательными патобиотами (Klebsiella spp. и Escherichia coli) ВДП у ранних реконвалесцентов COVID-19 выявлены в 17,8% случаев, тогда как в группе сравнения только у 6,1% случаев ($p<0,05$). Моноинфицирование Klebsiella spp. регистрировалось в 16,6%, Escherichia coli в 33,3%, коинфицирование 2-х компонентными микробными ассоциации (Escherichia coli+ Str. pyogenes) в 33,3%, 3-х компонентными - Klebsiella spp.+ S. aureus + Candida albicans в 33,3% случаев [72]. Колонизация патобиотами слизистых ВДП в группе сравнения были представлены 2-х компонентными микробными ассоциациями, включающими Candida albicans + S. aureus только в 6,1% случаев. Нами установлено, что в период «поздней» реконвалесценции НКВИ у МР сохранялась колонизация патобиотами слизистых ВДП, при этом патобиоты были представлены 2-х компонентными микробными ассоциациями, состоящими из Candida albicans + S. aureus. Таким образом, выявленные нами изменения в составе микробиоты ВДП у МР ранних и поздних реконвалесцентов НКВИ характеризовались увеличением колонизации бактериальными и грибковыми патобиотами (S. aureus, Candida albicans, Escherichia coli, Klebsiella spp.) и формированием устойчивых микробных ассоциаций из патобиотов. У МР с персистирующим носительством S. aureus, как на ранних, так и на поздних сроках реконвалесценции, выделенные со слизистой ВДП изоляты характеризовались выраженными вирулентыми свойствами, которые обусловлены широким спектром токсинов, лейкоцидинов, гемолизинов, а также устойчивостью к широкому спектру АМП, характерному для MRSA-штаммов.

Как известно, представители микробиоты ВДП могут усугублять симптомы и способствовать усилению тяжести заболевания, в том числе и НКВИ, возможно, из-за прямых и/или перекрестных взаимодействий с иммунной системой [72, 192]. При этом существенное значение имеет патогенный профиль доминирующих патобиотов в составе микробиоты слизистых оболочек ВДП. В связи с этим нами проведено секвенирование генома двух штаммов грамположительного патобиота ВДП S. aureus, выделенных у двух работающих в «красной зоне» МР, с

длительной персистенцией золотистого стафилококка на слизистой носа и носоглотки в ранний и поздний периоды реконвалесценции после среднетяжелой формы НКВИ, где оказались представлены гены гамма-гемолизин (hlgA, hlgB, hlgC), различные энтеротоксины (sem, sen, sei, seg, seu, seo), стафилококковый белок ингибитор комплемента (scn), лейкоцидины (lukE, lukD), стафилокиназа (sak), которые способны вызывать деструктивные изменения в НГ и клетках слизистых оболочек ВДП, негативно воздействовать на фагоциты, блокировать гуморальные факторы мукозального иммунитета [69]. Носительство вирулентных штаммов S. aureus на слизистых ВДП у реконвалесцентов НКВИ создает предпосылки к формированию хронических очагов инфекции верхних дыхательных путей и воспалительных очагов в лимфоидной системе носоглотки. Кроме этого, штаммы, выделенные у носителей, содержат гены протеиназ (aur, splA, B, E), способны расщеплять секреторные IgA, а также действовать на другие факторы защиты слизистых оболочек ВДП, в том числе АМП и интерфероны. По нашим данным, выделенные изоляты *S. aureus*, могут также содержать гены устойчивости к АМП обуславливая широкую устойчивость этих штаммов к антимикробным препаратам.

Полученные нами данные продемонстрировали снижение врождённых механизмов мукозальной защиты слизистых оболочек ВДП в период ранней реконвалесценции у МР с нарушением, прежде всего функции фагоцитирующих клеток, что может служить основой формирования длительной персистенции УПБ и грибов. Также в популяции эвакуируемых назальных НГ отмечено нарастание содержания клеток в состоянии апоптоза. На уровне эвакуируемых назальных НГ отмечалось снижение содержания «активных» фагоцитов и объема захваченного патогена. Выявлено угнетение процессов внутриклеточного киллинга патогенов на мукозальном уровне, проявившиеся в снижении показателей переваривания и ИП, а также резкое угнетение спонтанной и индуцированной внутриклеточной биоцидности эвакуируемых назальных НГ. В назальном секрете реконвалесцентов НКВИ по сравнению с группой сравнения регистрировалось увеличение содержания мембранного маркера апоптоза –

sCD95 (sAPO-1/FAS) [72]. Продемонстрирована значимая корреляция между уровнем sAPO-1/FAS и показателем апоптоза эвакуируемых назальных НГ. Как известно, индукция процессов апоптоза у реконвалесцентов НКВИ на уровне мукозального иммунитета определяется дисрегуляцией, опосредованной ФНО-α и Fas-рецепторами [72, 206, 219]. Деструктивные и апоптотические изменения эвакуируемых НГ у МР в период ранней реконвалесценции сопровождались депрессией функционирования фагоцитирующих клеток и их противомикробной активностью.

Эффективность фагоцитоза мукозальными НГ бактериальных и грибковых патогенов обусловлена процессами опсонизации, основными опсонинами являются иммуноглобулины и компоненты системы комплемента, которые взаимодействуют как с патогенами, так и связываются и распознаются рецепторами (FcR;CR), расположенными на внешней поверхности цитоплазматической мембраны НГ [11, 72, 76]. Проведённый нами корреляционный анализ взаимосвязи между колонизацией патогенами и маркерами деструкции и апоптоза эвакуируемых НГ слизистой ВДП показал увеличение количества связей между маркерами деструкции клеток и микст колонизацией несколькими патобиотами СПД и ИДК, по данным литературы, отражают преимущественно средние степени, ИДК-выраженные степени деструкции клеток [9, 75]. Как отмечалось выше, у МР в поздний период реконвалесценции НКВИ ИДК и СПД значимо связаны с колонизацией слизистых оболочек такими патобиотами как S. aureus, Candida albicans и Klebsiella spp., Escherichia coli. Таким образом, выраженные деструктивные изменения в клетках слизистых оболочек, нарастание числа НГ с апоптозом свойственно колонизации слизистых оболочек ВДП у МР на поздних сроках реконвалесценции НКВИ, прежде всего такими патобиотами как S. aureus + Candida albicans. Как показано ранее, развитие бактериального и вирусного воспаления связано с процессами апоптоза эвакуируемых НГ в первую очередь [227]. Предполагается, что повышенный уровень s-формы мембранной молекулы CD95, является одной из причин слабого ИО на вирусную инфекцию и, как следствие, ее длительной

персистенции [238]. Возможно, именно механизмами усиления апоптоза НГ определяется выявляемая у реконвалесцентов НКВИ персистенция различных респираторных вирусов [72]. Усиление процессов апоптоза в период поздней реконвалесценции НКВИ может быть также обусловлено способностью некоторых патогенов (патобиотов), особенно при формировании микробных ассоциаций, синтезировать соединения, индуцирующие процессы апоптоза клеток [262].

Показатели ФИ и ФЧ, регистрируемые нами, были применены как объективные индексы, отражающие процессы инициации фагоцитоза и самого фагоцита за счет рецепции FcR и CR [76]. В период поздней реконвалесценции НКВИ у МР регистрируются обратные значимые взаимосвязи между ФИ НГ и доминирующими патобиотами (S. aureus, Candida albicans) слизистых оболочек, и грамотрицательными патобиотами. Таким образом, нарушение рецепции НГ, как представителя мукозального иммунитета, определяет колонизацию патобиотами, как при моно-, так и при микст-колонизации [72]. Более глубокое угнетение рецепции, в первую очередь к Fc фрагменту иммуноглобулинов, ассоциируется с микст-колонизацией.

Интегральные показатели, связанные с киллингом микроорганизмов фагоцитами в период поздней реконвалесценции НКВИ значимо коррелирует с колонизацией ВДП такими патобиотами как, S. aureus, Candida albicans, и грамм отрицательными патобиотами. Процессы внутриклеточного киллинга связаны с выработкой активных форм кислорода (АФК) и их метаболитов, таких как $H_2O_2$ и HOCl-. В результате активации метаболических процессов в клетке происходит разрушение микробов и вирусов фагоцитами с участием кислород-зависимых механизмов под действием надпероксидных анионов (O2-), перекиси водорода (H2O2), синглетного кислорода (1O2), гидроксильных радикалов (OH) [72, 145].

Установленное нами одновременное снижение показателей спонтанного и индуцированного НСТ-тестов подтверждает выраженное снижение бактерицидных систем [72]. НГ, что подтверждает выявленные обратные взаимосвязи между НСТ спонт. и колонизацией S. aureus, Candida albicans.

Недостаточное генерирование активных форм кислорода ассоциировано с колонизацией слизистых ВДП такими патобиотами, как S. aureus и Candida albicans.

Представленные данные позволяют предположить, что грамположительная патобиота, в частности, S. aureus, может поддерживать выраженные процессы деструкции и апоптоза мукозальных НГ, эвакуируемых на слизистые ВДП у реконвалесцентов НКВИ и усиливать нарушения на уровне функционально метаболической активности НГ и ЭК ворсинчатого эпителия слизистых ВДП.

Таким образом, в период реконвалесценции COVID-19 у МР установлено угнетение антимикробных функций НГ на уровне мукозального иммунитета, что коррелирует с нарастанием титра колонизации ВДП условно-патогенными бактериями и грибами, а также их ассоциациями, при этом стафилококковая микрофлора, характеризуется персистенцией штаммов S. aureus с выраженными вирулентными свойствами широкой лекарственной устойчивостью.

Состояние мукозального иммунитета и ассоциированные с ним изменения микробиома у МР-реконвалесцентов COVID-19 приобретают особое значение в связи с тем, что нагрузки при эскалации вирусных (в том числе и мутировавших штаммов SARS-CoV-2) и бактериальных патогенов при выполнении МР профессиональных обязанностей и подавляющее большинство ИО происходят именно в барьерных тканях [72].

НГ, как представители МИ в периоде «ранней» реконвалесценции, характеризуются «вирусиндуцированным» усилением деструктивных и апоптотических внутриклеточных процессов и нарушением клеточных антимикробных стратегий - угнетением кислородзависимой биоцидности, быстрой истощаемостью резервных возможностей, незавершенным фагоцитозом, ограниченной способность к захвату и киллингу патогенов. Изменения функционально-метаболической активности НГ в периоде «ранней» реконвалесценции, ассоциируются с изменениями в составе микробиома и характеризуются двумя направлениями – усилением колонизации бактериальными и грибковыми патобиотами (S. aureus, Candida albicans,

Escherichia coli, Klebsiella spp.) и нарастанием микст инфицирования в первую очередь 2-компонентной ассоциацией S.aureus + Candida albicans [72]. Нарастание колонизации S.aureus и Candida albicans в периоде «ранней» реконвалесценции вызывает особую тревогу в связи с синергическими патогенными взаимодействиями патобиот в составе микст инфицирования - усилением пролиферации, образованием биопленок и в связи с этим формированием устойчивости к антимикробным препаратам [ 63, 80, 170].

В период «поздней» реконвалесценции НКВИ возрастает колонизация грамположительными патобиотами, в том числе, и Streptococcus pyogenes. Встречаемость на слизистых ВДП S. aureus превышала показатели группы сравнения в 5,3 раза, а грибов рода Candida sp., в 6,3 раза, при этом, как в «ранний», так и «поздний» периоды реконвалесценции после перенесенной НКВИ ВДП колонизируют штаммы S.aureus с выраженными вирулентными свойствами (в геноме представлены гены факторов вирулентности - гамма-гемолизин (hlgA, hlgB, hlgC), энтеротоксины (sem, sen, sei, seg, seu, seo), стафилококковый белок ингибитор комплемента (scn), лейкоцидины (lukE, lukD), стафилокиназа (sak). Длительная колонизация патобиот с вирулентными свойствами у реконвалесцентов НКВИ способствует дальнейшему усилению деструктивных и апоптотических изменений в НГ системы MALT и подавляет антимикробные клеточные стратегии килинга и элиминации патогенов.

Таким образом, схема этиопатогенеза иммунных расстройств на уровне мукозального иммунитета у МР в периодах «ранней» и «поздней» реконвалесценции может быть представлена следующим образом: цитотоксические воздействия вируса SARS-CoV-2 на слизистые оболочки ВДП в остром периоде НКВИ определяют формирование деструктивных и апоптотических изменений и функциональную неполноценность НГ, проявляющуюся угнетением кислородзависимой микробицидности, функций поглощения, рецепции, захвата и киллинга патогенов, что во многом, определяет нарушения микробиома ДП и последующую длительную колонизацию патобиот с высоким вирулентным патогенным потенциалом в периоде «ранней

реконвалесценции» [35, 39, 70]. Длительная колонизация патогенами, пролонгируемая в период «поздней» реконвалесценции, приводит к формированию «порочного круга», ассоциированного с дальнейшими бактериально-индуцировапнными нарушениями функциональных клеточных возможностей системы MALT.

Выявленные нарушения на уровне микробиома и клеточных механизмов системы MALT в группе риска МР предполагают необходимость длительного периода восстановления после НКВИ, начиная с периода «ранней» реконвалесценции, проведения иммунотропной терапии для предотвращения формирования нарушений микробиома и угнетения механизмов мукозального иммунитета в периоде «поздней» реконвалесценции [34].

Таким образом, проведённое нами в РТ комплексное клинико-иммунологическое и эпидемиологическое исследование в период начала и завершения пандемии НКВИ, как до начала, так и после проведения масштабной массовой вакцинации против COVID-19 продемонстрировало особенности формирования постинфекционного и вакцинального коллективного и индивидуального ИО к вирусу SARS-CoV-2 в группе риска – медицинские работники. Полученные нами данные представляют объективную базу для научного обоснования профилактических и персонализированных рекомендаций, направленных как на выявление иммунно-опосредованных механизмов, приводящих к дефектам противоинфекционной защиты, так и оптимизации подходов к диагностике и вакцинации против COVID-19.

# ВЫВОДЫ

1. В период начала пандемического распространения SARS-CoV-2 (вторая волна заболеваемости) популяционный иммунитет в Республике Татарстан формировался естественным путем, серопревалентность повторяла динамику заболеваемости, максимальное нарастание численности серопозитивных лиц к SARS-CoV-2 отмечено в декабре 2020 г., установлена сильная корреляционная связь между серопревалентностью и напряженностью популяционного иммунитета.

2. В период с августа по декабрь 2020г. медицинские работники Республики Татарстан занимали третье место среди лидирующих по уровню серопревалентности к вирусу SARS-CoV-2 профессиональных групп, при этом наибольший уровень серопревалентсности отмечен в возрастной группе 50-59 лет.

3. У перенесших COVID-19 медицинских работников временного инфекционного госпиталя в течение годичного наблюдения после впервые перенесенной НКВИ наблюдались различающиеся тренды как динамики уровней IgM и IgG антител к вирусу SARS- CoV-2, так и их авидности, которые зависели от тяжести перенесенной инфекции, установленной в соответствии с действующими временными методическими рекомендациями.

4. Гуморальный иммунный ответ в виде высокоавидных IgG антител к S и N белку SARS-CoV-2 у большинства медицинских работников временного инфекционного госпиталя сохраняется и через 2,5-3 года после перенесенной COVID-19. Полное отсутствие антител или низкие титры низкоавидных антител к S-белку SARS-CoV-2 выявлены у 21,0% обследованных, к N-белку SARS-CoV-2 - у 9,0%.

5. У большинства медицинских работников временного инфекционного госпиталя адаптивный Т-клеточный иммунитет к пептидам S - белка и структурным пептидам N, M, ORF3a и ORF7a, сохраняется через 2,5-3 года после

перенесенного COVID-19, выраженность ассоциируется со степенью тяжести перенесенной НКВИ, установленной в соответствии с действующими временными методическими рекомендациями, а так же возрастом и вакцинальным статусом. Отсутствие Т-клеточного иммунного ответа к S-белку на этих сроках выявлено в 27,47±4,679%случаев, а к пулу структурных антигенов N, M, ORF3a и ORF7a вируса SARS-CoV-2 - в 13,19±3,547%. Через 2,5-3 года после перенесенной НКВИ сохранность гибридного Т клеточного иммунитета на пептиды S-белка и на пептиды N, M, ORF3a и ORF7 значительно выше, по сравнению с постинфекционным.

6. Установлен суммарный эффект влияния факторов эпидемиологического анамнеза медицинских работников временного инфекционного госпиталя (работа в «красной зоне», вакцинальный статус, тяжесть перенесённой НКВИ, тренды гуморального иммунного ответа в первый год после перенесенной НКВИ) на уровень индекса авидности IgG антител к N- белку вируса SARS-CoV-2 и показатели Т-клеточного иммунитета к пептидам S- белка и антигенам N, M, ORF3a и ORF7a через 2,5-3 года после перенесенной НКВИ.

7. Вакцинация против COVID-19 как у населения Республики Татарстан в целом, так и у медицинских работников приводила к формированию выраженного гуморального иммунного ответа на вирус SARS-CoV-2, характеризующегося увеличением в 5-14,8 раз среднегеометрического титра IgG антител по сравнению с значением до вакцинации, при этом уровень гибридного иммунитета был достоверно выше поствакцинального и постинфекционного (третий год пандемии).

8. В начальный период реконвалесценции после COVID-19 у медицинских работников временного инфекционного госпиталя выявлено повышение экспрессии TLR-2 на мононуклеарах периферической крови, коррелирующее с тяжестью перенесенной НКВИ и цитокиновый дисбаланс ИФН-γ, ИЛ- 1β, ИЛ-6, sCD40L, ИЛ-10, наиболее выраженный у лиц с комбинацией в генах TLR-2 и TLR-4 полиморфизмов rs5743708 и rs4986790.

9. У медицинских работников временного инфекционного госпиталя в начальный период реконвалесценции после COVID-19 выявляются выраженные изменения мукозального иммунитета (деструктивные и апоптотические изменения нейтрофильных гранулоцитов, проявляющиеся угнетением кислородзависимой микробицидности, функций поглощения, рецепции, захвата и киллинга патогенов), что определяет нарушения микробиома верхних дыхательных путей и длительную колонизацию патобиот с высоким вирулентным патогенным потенциалом через 2,5-3 года после перенесенной НКВИ.

# ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

Медицинским работникам, относящимся к группе повышенного риска инфицирования вирусом SARS-CoV-2 проводить комплексную оценку иммунитета с включением исследования IgG Ат, степени их авидности, цитологических, иммунологических, микробиологических методов исследования микробиоты верхних дыхательных путей, адаптивного клеточного иммунного ответа к пептидам SARS-CoV-2 S-белка, N, M, ORF3a и ORF7a и врожденного иммунитета для выявления дисфункций противомикробной защиты и выбора стратегии иммунореабилитации и ревакцинации.

Медицинским работникам как группе повышенного риска инфицирования вирусом SARS-CoV-2 проводить оценку показателей мукозального иммунитета (фагоцитоз, биоцидность, килинговая активность, процессы деструкции и апоптоза, интерлейкиновый профиль) и состояния микробиома слизистой верхних дыхательных путей, для назначения лечебно-профилактических мероприятий, направленных на нормализацию микробиоты и повышение эффективности механизмов мукозального иммунитета, защиту барьеров слизистых респираторного тракта для предотвращения рисков повторного инфицирования вирусом SARS-CoV-2 и другими респираторными патогенами.

Проводить изучение Т-клеточного иммунитета к иммуногенным пептидам S, N, M, ORF3a и ORF7a вируса SARS-CoV-2 с использованием технологии IGRA-ELISPOT «ТиграТест SARS-CoV-2» с ранжированием количества спотов в классах (от первого до четвертого класса) для оценки стратификации рисков повторного инфицирования и персонализации вакцинации у медицинских работников - реконвалесцентов COVID-19.

Для оценки эффективности сформированного адаптивного гуморального и клеточного иммунитета в группе риска – медицинские работники, необходимо учитывать комплекс факторов: тяжесть впервые перенесенной НКВИ, вакцинальный статус, возраст, тренд формирования гуморального иммунного

ответа по уровню IgG антител в первый год после перенесенной НКВИ и характер профессиональной деятельности (работа в «красной зоне»).

# СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

АМП- антимикробные препараты

аНГ- апоптоз нейтрофильных гранулоцитов

Ат – антитело

ВДП - верхние дыхательные пути

ВИГ – временный инфекционный госпиталь

ГМ-КСФ - гранулгоцитарно-макрофагальный колониестимулирующий фактор

ДИ - достоверный интервал значений, при Р=95%

ДК – дендритные клетки

ИА – индекс авидности

ИДК - индекс деструкации клеток

ИЛ – интерлейкин

ИО – иммунный ответ

ИФН-γ интерферон- гамма

ИХЛА – иммунохемилюминес-центный анализ

ИП- индекс переваривания ИФА – иммуноферментный анализ

ИФА – иммунофнрментный анализ ИФН -Ү -интерферон Ү

ИЦК – индекс цитолиза клеток

Л – лимфоциты

МА – макрофаги

МАЛТ – мукоассоциированная лимфоидная ткань

МКПК – мононуклеары периферической крови

МО – медицинская организация

МПК – мононуклеары периферической крови

МР - медицинские работники

МИ – мукозальный иммунитет

НКВИ – новая коронавирусная инфекция

НГ – нейтрофильные гранулоциты

НСТ- тест- тест восстановления нитросинего тетразолия

ОШ – отношение шансов

ПП - процент переваривания фагоцитированных бактерий

ИП - индекс переваривания

ПАГ – панель антигенов

СИФ- средняя интенсивность флюоресценции

СОДП- слизистые оболочки дыхательных путей

СПД – средний показатель деструкции

ФАН1- процент фагоцитирующих нейтрофилов

ФАН2 – процент деструктурированных нейтрофилов

ФИ – фагоцитарный индекс

ФНОα – фактор некроза опухолей

ФЧ – фагоцитарное число

Э – эозинофилы

ЭК - эпителиальные клетки

COVID-19 - Coronavirus Disease 2019 (новая коронавирусная инфекция)

ACE2 - IGRA-ELISPOT (Interferon-Gamma Release Assay — Enzyme Linked Spot Analysis, тест на секрецию гамма- интерферона — иммуноферментный анализ пятен)

NGS секвенирование - Next Generation Sequencing – высокопроизводительное секвенирование

PRR - семейство рецепторов распознавания образов

SARS-CoV-2 – Severe Acute Respiratory Syndrome- Related Coronavirus 2- вирус тяжелого острого респираторного синдрома 2

SNP – однонуклеотидные генетические полиморфизмы

TLR- 2 - Толл –подобный рецептор второго типа

TLR- 4 – Толл –подобный рецептор четвертого типа

# СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Агафонова, Е.В. Вирусиндуцированная иммунодепрессия мукозального иммунитета у лиц, перенесших новую коронавирусную инфекцию COVID-19 / Е.В. Агафонова, И.Д. Решетникова, Г.Ш. Исаева // Материалы Онлайн-конгресса с международным участием «Молекулярная диагностика и биобезопасность-2021. COVID-19: эпидемиология, диагностика, профилактика» (Москва, 28-29.04.2021). — Москва, 2021. — С. 55—56.

2. Агафонова, Е.В. Дифференцированные изменения показателей клеточного иммунитета у реконвалесцентов COVID-19 в зависимости от тяжести перенесенного заболевания / Е.В. Агафонова, И.Д. Решетникова, Ю.В. Скибо // Вестник аллерголога-иммунолога (федеральный медицинский портал для практикующих врачей) IMAC-2022. - 2022 (Материалы Международного конгресса по молекулярной аллергологии и иммунологии (Москва, 02-03.12.2022). — Москва, 2022. https://allergovestnik.ru/differencirovannye-izmeneniya-pokazatelej-kletochnogo-immuniteta-u-rekonvalescentov-covid-19-v-zavisimosti-ot-tyazhesti-perenesennogo-zabolevaniya/.

3. Агафонова, Е.В. Локальный и системный цитокиновый профиль у медицинских работников реконвалесцентов COVID-19 / Е.В. Агафонова, И.Д. Решетникова // Журнал инфектологии. — 2024. — Т. 16, № 2. — Прил. 2. – С. 6—7 (Материалы X Юбилейного конгресса Евро—Азиатского общества по инфекционным болезням. — С-Петербург, 19-21.05.2024).

4. Агафонова, Е.В. Нарушения клеточного иммунитета у реконвалесцентов COVID-19 в зависимости от тяжести перенесенной инфекции / Е.В. Агафонова, И.Д. Решетникова // Проблемы медицинской микологии. — 2023. — Т. 25, №2. — С. 78 (Материалы VII Всероссийский конгресс по медицинской микробиологии, клинической микологии и иммунологии (XXVI Кашкинские чтения).

5. Агафонова, Е.В. Особенности структуры и функции эпителиальных клеток верхних дыхательных путей у реконвалесцентов COVID-19 / Е.В. Агафонова, И.Д. Решетникова, Ю.А. Тюрин // Материалы XIV Ежегодного Всероссийского

Конгресса по инфекционным болезням имени акад. В.И. Покровского «Инфекционные болезни в современном мире: эволюция, текущие и будущие угрозы» (Москва, 28-30.03.2022). – Москва, 2022. — С. 6—7.

6. Агафонова, Е.В. Показатели системного и мукозального иммунитета при постковидном синдроме, ассоциированном с рекурентными респираторными инфекциями / Е.В. Агафонова, И.Д. Решетникова, Д.Н. Петрова // Сборник трудов XI Международной научно-практической конференции «Молекулярная диагностика» (Москва, 14-17.11.2023). — Москва, 2023. – С. 446—447.

7. Агафонова, Е.В. Технология ELISPOT в оценке Т-клеточного иммунитета у реконвалесцентов COVID-19 на отдаленных сроках после перенесенной коронавирусной инфекции / Е.В. Агафонова, И.Д. Решетникова // Проблемы медицинской микологии. — 2024. — Т. 26, №2. — С. 74 (Материалы VIII Всероссийского конгресса по медицинской микробиологии, клинической микологии и иммунологии (XXVII Кашкинские чтения). – С-Петербург 05-07.06.2024).

8. Агафонова, Е.В. Функциональные и структурные изменения эпителиоцитов у реконвалесцентов COVID-19 / Е.В. Агафонова, И.Д. Решетникова, Д.Н. Петрова // Проблемы медицинской микологии. — 2022. — Т. 24. — № 2. — С. 39 (Материалы Всероссийского конгресса по медицинской микробиологии, клинической микологии и иммунологии (XXV Кашкинские чтения). – С-Петербург, 08-10.06.2022).

9. Азнабаева, Л.Ф. Иммуноцитологические исследования в диагностике ринита и риносинусита: атлас / Л.Ф. Азнабаева, Н.А. Арефьева, Ф.А. Кильсенбаева. — Уфа: Изд-во ГБОУ ВПО БГМУ Минздрава России, 2013. — 40 с.: ил. 16.

10. Алгоритм оценки уровня Т-клеточного иммунного ответа против SARS-CoV-2 и результаты его применения у не вакцинированных и вакцинированных людей, переболевших COVID-19 / М.С. Бляхер, И.М. Федорова, С.И. Котелева [и др.] // Инфекция и иммунитет. — 2024. — Т. 14. — №3. — С. 451—458.

11. Андреева, Ю.С. Роль нейтрофилов в формировании микробиоценозов

слизистых оболочек / Ю.С. Андреева, И.И. Долгушин // Вестник новых медицинских технологий. — 2009. — Т. 16. — С. 20—22.

12. Астахова, Е.А. Авидность вирус-специфических антител, полученных от стимулированных in vitro В-клеток памяти доноров, не меняется через месяц после ревакцинации Спутником V или Comirnaty / Е.А. Астахова // Инфекция и иммунитет. — 2024. — Т. 14. — №3. — С. 465—470.

13. Ахматова, Н.К. Врожденный иммунитет: противоопухолевый и противоинфекционный / Н.К. Ахматова, М.В. Киселевский. – Москва: Практическая медицина, 2008. — 256 с.

14. База данных однонуклеотидных полиморфизмов. NCBI dbSNP rs4986790. URL: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/snp/rs4986790#frequency_tab (06.05.2023).

15. База данных однонуклеотидных полиморфизмов. NCBI dbSNP rs5743708. URL: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/snp/?term=rs5743708 (06.05.2023).

16. Вакцинация как фактор защиты медицинских сотрудников в период пандемии COVID-19 / Е.А. Медведева, Г.Г. Марьин, О.А. Свитич [и др.] // Наука и инновации в медицине. — 2024. — № 9 (1). — С. 37—43.

17. Вакцинопрофилактика COVID-19 у пациентов с коморбидными заболеваниями. Руководство для врачей.— 2-е изд. доп. / под ред. М.П. Костинова. — Москва: Группа МВД, 2022 — 256 с.

18. Варианты гуморального иммунного ответа к SARS-COV-2 у медицинских работников временного инфекционного госпиталя / И.Д. Решетникова, Е.В. Агафонова, Н.М. Хакимов [и др.] // Сборник трудов XI Международной научно-практической конференции «Молекулярная диагностика» (Москва, 14.11-17.11.2023). – Москва, 2023. – С. 456—457.

19. Влияние специфического Т-клеточного и гуморального иммунного ответа к SARS-CoV-2 на выживаемость пациентов, впервые болеющих COVID-19 / О.С. Попов, Н.Н. Сушенцева, И.А. Полковникова [и др.] // Иммунология. — 2023. — № 44 (1). — С. 53—62.

20. Временные методические рекомендации «Профилактика, диагностика и лечение новой коронавирусной инфекции (COVID-19) Министерство

здравоохранения Российской Федерации Версия 10 (08.02.2021). — 261 с. [Interim guidelines «Prevention, diagnosis and treatment of new coronavirus infection (COVID-19) Ministry of Health of the Russian Federation Version 10 (02/08/2021). — 261 s.

21. Временные методические рекомендации «Профилактика, диагностика и лечение новой коронавирусной инфекции (COVID-19) Министерство Здравоохранения Российской Федерации Версия 10 (07.05.2021). — 225 с.

22. Генералова, Л.В. Модификация подходов к клинико-лабораторному обследованию пациентов с новой коронавирусной инфекцией (COVID-19): дисс … канд. мед. наук: 3.1.22. — инфекционные болезни, 1.5.11. — микробиология / Генералова Любовь Викторовна. — Москва, 2023. — 189 с.

23. Гизингер, О.А. Влияние низкоинтенсивного лазерного излучения на нейтрофилы и факторы мукозального иммунитета: дис.… д-ра биол. наук: 14.03.09 — клиническая иммунология, аллергология / Оксана Анатольевна Гизингер. — Челябинск: ЧелГМА, 2010. — 356 с.

24. Гуморальный иммунный ответ на линейные и конформационные эпитопы SARS-CoV-2 у пациентов с COVID-19 / В.А. Шокина, Д.С. Матюшкина, Д.В. Кривонос [и др.] // Иммунология. — 2023. — № 44 (1). — С. 38—52.

25. Гуморальный иммунный ответ слизистых дыхательных путей у медицинских работников в постковидном периоде / Н.О. Крюкова, А.А. Хасанова, И.А. Баранова [и др.] // Российский иммунологический журнал. — 2023. — Т. 26, № 4. — С. 633—640.

26. Динамика антител к различным антигенам коронавируса SARS-CoV-2 у больных с подтвержденной инфекцией COVID-19 / А.В. Алешкин, Л.И. Новикова, С.С. Бочкарева [и др.] // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. — 2021. — Т. 171. — № 2. — С. 196—199.

27. Динамика матурации авидности IgG-антител к RBD SARS-CoV-2 в зависимости от срока и типа иммунизации / А.М. Кудряшова, В.А. Мануйлов, А.А. Мурзина [и др.] // Инфекция и иммунитет. — 2023. — Т. 13. — №1. — С. 67—74.

28. Динамика специфического гуморального ответа у пациентов, перенесших

COVID-19 / В.Я. Закурская, Л.П. Сизякина, М.В. Харитонова, С.В. Шлык // Иммунология. — 2022. — № 43 (1). — С. 71—77.

29. Закономерности в развитии коллективного иммунитета к SARS-CoV-2 в ходе пандемииCOVID-19 / А.Ю. Попова, В.С. Смирнов, С.А. Егорова [и др.] // Медицинская иммунология. — 2023. — Т. 25, № 4. — С. 759—766.

30. Зорина, В.Н. Молекулярная мимикрия и COVID-19 / В.Н. Зорина // Инфекция и иммунитет. — 2023. — Т. 13. — №5. — С. 841—852.

31. Изменение авидности IgG антител к S белку SARS-COV-2 после перенесенной коронавирусной инфекции у медицинских работников временного инфекционного госпиталя / И.Д. Решетникова, Ю.А. Тюрин, Е.В. Агафонова, Р.С. Фассахов // Российский аллергологический журнал. — 2024. — Т. 21, № 1. — С.29—42.

32. Изменение экспрессии генов, кодирующих ACE2 и молекулы врожденного иммунитета (TLR7, ИФН-α, ИЛ-1β, ФНО), у пожилых пациентов с COVID-19 / В.В. Греченко, О.С. Уварова, Т.В. Громова [и др.] // Иммунология. — 2023. — № 44 (1). — С. 72—82.

33. Изменение экспрессии толл-подобных рецепторов на лейкоцитах периферической крови у медицинских работников, перенесших новую коронавирусную инфекцию (COVID19) / О.В. Гайчик, Ю.А. Тюрин, И.Г. Мустафин [и др.] // Материалы X Всероссийской заочной научно-практической конференции с международным участием, посвящённой 100-летию со дня образования государственной санитарно—эпидемиологической службы России «Микробиология в современной медицине» (Казань, 15.06.2022). — Казань, 2022. — С.34.

34. Изучение молекулярно-генетических и иммунологических предикторов течения новой коронавирусной инфекции нового типа COVID-19 в группе риска — медицинские работники / И.Д. Решетникова, Ю.А. Тюрин, И.Г. Мустафин [и др.] // Инфекция и иммунитет. — 2024. — Т. 14, № 2. — С. 289—298.

35. Изучение напряженности гуморального иммунного ответа к SARS-COV-2 у медицинских работников в динамике восьми месячного наблюдения / И.Д.

Решетникова, Е.В. Агафонова, Н.М. Хакимов [и др.] // Материалы IX Всероссийской заочной научно—практической конференции с международным участием «Микробиология в современной медицине» (Казань, 15.06. 2021). — Казань, 2021. — С. 84—85.

36. Изучение особенностей гуморального иммунного ответа к новой коронавирусной инфекции COVID-19 среди медицинских работников / И.Д. Решетникова, Ю.А. Тюрин, Е.В. Агафонова [и др.] // Инфекция и иммунитет. — 2021. — Т. 11. — №5. — С. 934 —942.

37. Изучение показателей иммунного ответа у медицинских работников — реконвалесцентов COVID-19 / И.Д. Решетникова, Н.М. Хакимов, Е.В. Агафонова [и др.] // Материалы Международного Симпозиума «Единое здоровье – взгляд в будущее». — Алматы: Изд-во ННЦООИ им. М. Айкимбаева, 2022. — С. 34—35.

38. Изучение показателей экспрессии TLR2-рецептора на мононуклеарах периферической крови у медицинских работников — реконвалесцентов COVID19 / Ю.А. Тюрин, И.Д. Решетникова, И.Г. Мустафин [и др.] // Вестник аллерголога—иммунолога (федеральный медицинский портал для практикующих врачей) IMAC—2022. — 2022 (Материалы Международного конгресса по молекулярной аллергологии и иммунологии (Москва, 02-3.12.2022). – https://allergovestnik.ru/category/baza—znanij/reports/imac—2022/.

39. Изучение серопревалентности к вирусу SARS-COV-2 среди медицинских работников / И.Д. Решетникова, Е.В. Агафонова, Ю.А. Тюрин [и др.] // Материалы IX Всероссийской заочной научно—практической конференции с международным участием «Микробиология в современной медицине» (Казань, 15.06. 2021). – Казань, 2021. — С. 85—87.

40. Изучение уровня и структуры популяционного иммунитета к SARS—CoV2 у населения Республики Татарстан в период второго пика распространения COVID-19 / М.Н. Садыков, В.Б. Зиатдинов, И.Д. Решетникова [и др.] // Эпидемиология и Вакцинопрофилактика. — 2021. — Т. 20. — № 5. – С. 39—51.

41. Иммунокоррекция в педиатрии: Практическое руководство для врачей / М.П. Костинов, В.А. Булгакова, З.Р. Абаева [и др.]. — 2—е издание, дополненное.

– Москва: Медицина для всех, 2001. — 240 с.

42. Иммунопрофилактика инфекционных заболеваний: учеб. пособие / Г.Г. Харсеева, М.П. Костинов, С.Ю. Тюкавкина, В.В. Балахнова; ФГБОУ ВО РостГМУ Минздрава России, ФГАОУ ВО «Первый МГМУ им. И.М. Сеченова» Минздрава России (Сеченовский университет). — Москва: Изд-во Группа МВД, 2023. — 144 с.

43. Информационно—методическое письмо «Исследование по определению антител к возбудителю новой коронавирусной инфекции COVID-19 у жителей Республики Татарстан, вакцинированных от COVID-19 (Согласовано с МЗ РТ от 18.09.2023) / И.Д. Решетникова, Н.М. Хакимов, Г.Ф. Гилязутдинова [и др.]. — Казань, 2023. — 36 с.

44. Информационно-методическое письмо «Серологический мониторинг к коронавирусу SARS-CoV-2 у жителей Республики Татарстан» (Согласовано с МЗ РТ от 01.03.2021) / В.Б. Зиатдинов, И.Д. Решетникова, Н.М. Хакимов [и др.]. — Казань, 2021. — 24 с.

45. Информационно-методическое письмо «Серологический мониторинг к коронавирусу SARS-CoV-2 у медицинских работников Республики Татарстан» (Согласовано с МЗ РТ от 01.03.2021) / В.Б. Зиатдинов, И.Д. Решетникова, Н.М. Хакимов [и др.]. — Казань, 2021. — 17 с.

46. Исследование показателей Т-клеточного специфического иммунитета у медицинских работников — реконвалесцентов COVID 19 в динамике длительного наблюдения / И.Д. Решетникова, Е.В. Агафонова, Г.Ф. Гилязутдинова [и др.] // Материалы XI Всероссийской заочной научно-практической конференции с международным участием «Микробиология в современной медицине» (Казань, 15.06.2023). – Казань, 2023. — С.69—72.

47. История изучения и современная классификация коронавирусов (Nidovirales: Coronaviridae) / М.Ю. Щелканов, А.Ю. Попова, В.Г. Дедков [и др.] // Инфекция и иммунитет. — 2020. — № 10 (2). – С. 221—246.

48. Калюжин, О.В. БЦЖ, мурамилпептиды, тренированный иммунитет (часть II): низкомолекулярная альтернатива многокомпонентным бактериальным

иммуностимуляторам для профилактики респираторных инфекций в условиях пандемии COVID-19 / О.В. Калюжин, Т.М. Андронова, А.В. Караулов // Терапевтический архив. — 2021. — Т. 93. — № 1. — С. 108—113.

49. Калюжин, О.В. БЦЖ, мурамилпептиды, тренированный иммунитет (часть I): взаимосвязи в свете пандемии COVID-19 / О.В. Калюжин, Т.М. Андронова, А.В. Караулов // Терапевтический архив. — 2020. — Т. 92. — № 12. — С. 195—200.

50. Киселева, И.В. От коронавирусов к коронавирусам / И.В. Киселева, Т.Д. Мусаева // Инфекция и иммунитет. — 2023. — Т. 13, № 5. — С. 822—840.

51. Ковальчук, Л.В. Новые возможности лечения цитокинами: иммуноцитокины в локальной иммунокоррекции / Л.В. Ковальчук, Л.В. Ганковская // Международный журнал по иммунореабилитологии. — 1997. — № 6. — С. 57—60.

52. Козлов, И.Г. Микробиота, мукозальный иммунитет и антибиотики: тонкости взаимодействия / И.Г. Козлов // Русский Медицинский Журнал. — 2018. – Т. 26. — № 8—1. — С. 19—27.

53. Коллективный иммунитет к SARS-CoV-2 населения Республики Беларусь в условиях пандемии COVID-19 / А.Ю. Попова, А.А. Тарасенко, В.Ю. Смоленский [и др.] // Инфекция и иммунитет. — 2021. — Т. 11. — №5. — С. 887—904.

54. Комплексное изучение системного и местного иммунитета у реконвалесцентов COVID-19 / Е.В. Агафонова, И.Д. Решетникова, Г.Ш. Исаева, Ю.А. Тюрин // Материалы III Международной научно-практической конференции по вопросам противодействия новой коронавирусной инфекции и другим инфекционным заболеваниям. — Санкт-Петербург, 15-16.12.2022. — С. 14—17.

55. Костинов, М.П. Иммунопатогенные свойства SARS-CoV-2 как основа для выбора патогенетической терапии / М.П. Костинов // Иммунология. — 2020. — №41 (1). — С.83—91

56. Костинов, М.П. Основы иммунореабилитации при новой коронавирусной инфекции (COVID-19): пособие для врачей / под ред. М.П. Костинова. — Москва: Группа МДВ, 2020. — 112 с.

57. Костинов, М.П. Потенциальная иммунопрофилактика COVID-19 у групп высокого риска инфицирования: Временное пособие для врачей / М.П. Костинов, О.А. Свитич, Е.В. Маркелова. – Москва: Группа МДВ, 2020. — 60 с.

58. Костинов, М.П. Противостояние иммунной системы инфицированию SARS-CoV-2 / М.П. Костинов // Отечественные иммунотропные средства в профилактике, терапии и реабилитации пациентов с COVID-19: монография. — Москва: Группа МДВ, 2024. — 172 с.

59. Кравцов, А.Л. Секреторная дегрануляция нейтрофилов как триггер воспаления и регулятор иммунного ответа: роль сериновых лейкоцитарных протеаз и протеолитически активируемых рецепторов / А.Л. Кравцов, Т.П. Шмелькова // Эпидемиология и вакцинопрофилактика. — 2011. — № 1. — С. 79—87.

60. Крюкова, Н.О. Состояние мукозального иммунитета респираторной системы у медицинских работников, перенесших COVID-19: автореф. дис. … канд. мед. наук: 3.1.29, 3.2.7 / Крюкова Надежда Олеговна. — Москва, 2024. — 24 с.

61. Маланичева, Т.Г. Особенности мукозального иммунитета у детей дошкольного возраста с внебольничной пневмонией, протекающей на фоне рекуррентных респираторных заболеваний / Т.Г. Маланичева, Е.В. Агафонова, С.С. Можгина // Практическая медицина. — 2016. — № 7. — С. 68—73.

62. Матвеева, Л.А. Местный иммунитет при болезнях легких у детей / Л.А. Матвеева. — Томск: Изд-во Томского ун-та, 1986. — 192 с.

63. Медицинская безопасность в период пандемии COVID-1 Обзор литературы / О.П. Цигенгагель, Н.Е. Глушкова, З.А. Хисметова [и др.] // Наука и Здравоохранение. — 2021. — № 2 (Т. 23). — С. 13—23.

64. Микрофлора мокроты и аутопсийного материала пациентов с COVID-19 / Е.А. Максимова, А.В. Козлов, А.В. Лямин [и др.] // Клиническая лабораторная диагностика. — 2022. — № 67 (6). — С. 380—384.

65. Мисирова, И.А. Патофизиологическое обоснование интервальной гипокситерапии и оксигенотерапии у лиц, перенесших новую коронавирусную

инфекцию (COVID-19): дисс ... канд. мед. наук: 3.3.3. Патологическая физиология / Мисирова Индира Алиевна. — Омск, 2024. — 208 с.

66. Молекулы-ловушки интерлейкина 6 и интерлейкина 18 при COVID-19 / А.А. Коротаева, Е.В. Самойлова, Д.А. Чепурнова [и др.] // Инфекция и иммунитет. — 2024. — Т. 14. — №3. — С. 411—415.

67. Мониторинг коллективного и персонального иммунитета к SARS-COV-2 у медицинских работников многопрофильного стационара / И.Д. Решетникова, Е.В. Агафонова, Н.М. Хакимов [и др.] // Материалы конгресса с международным участием «Молекулярная диагностика и биобезопасность — 2022» (Москва, 27-28.04.2022). – Москва, 2022. — С.153—154.

68. Мукозальная иммунная система пищеварительного и респираторного трактов: возможности профилактики и лечения инфекционных заболеваний / Е.В. Каннер, А.В. Горелов, Д.В. Печкуров [и др.] // Медицинский совет. — 2019. — № 11. — С. 100—107.

69. Мукозальный иммунитет у пациентов с Covid-19: лечение и реабилитация / А.Г. Чучалин, Н.Д. Абрамова, Н.К. Ахматова [и др.]. — Москва: Группа МДВ, 2022. — 128 с.

70. Мукозальный иммунитет у реконваленцентов COVID-19 / Е.В. Агафонова, И.Д. Решетникова, Г.Ш. Исаева, Ю.А. Тюрин // Материалы IX Всероссийской заочной научно—практической конференции с международным участием «Микробиология в современной медицине» (Казань, 15.06. 2021). — Казань, 2021. — С. 23—26.

71. Мурзина, А.А. Оценка иммунологической и эпидемиологической эффективности вакцины «Гам-КОВИД-Вак» у сотрудников медицинских организаций Московской области: психиатрического стационара закрытого типа и областной больницы: дисс. … канд. мед. наук 3.2.7. Иммунология 3.2.2. Эпидемиология / Мурзина Алена Андреевна. — Москва, 2023. — 175 с.

72. Нарушение антимикробных стратегий нейтрофила на уровне мукозального иммунитета у реконвалесцентов / Е.В. Агафонова, И.Д. Решетникова, Л.Т. Баязитова [и др.] // Практическая медицина. — 2022. — Т. 20. — №7. — С. 122—

131.

73. Нейтрофильные гранулоциты: новый взгляд на 2старых игроков» на иммунологическом поле / И.В. Нестерова, Н.В. Колесникова, Г.А. Чудилова [и др.] // Иммунология. — 2015. — Т. 36. — № 4. — С. 257—265.

74. Новиков, В.В. «Шторм» растворимых дифференцировочных молекул при COVID-19 / В.В. Новиков, А.В. Караулов // Иммунология. — 2022. — № 43 (4). — С. 458—467.

75. Новое в физиологии мукозального иммунитета / А.В. Караулов, В.А. Алешкин, С.С. Афанасьев [и др.]. — Москва: Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова Министерства здравоохранения и социального развития Российской Федерации, 2015. —168 с.

76. Новый взгляд на нейтрофильные гранулоциты: переосмысление старых догм. Часть 1 / И.В. Нестерова, Н.В. Колесникова, Г.А. Чудилова. // Инфекция и иммунитет. —2017.— Т. — С. 219—230.

77. О состоянии санитарно-эпидемиологического благополучия населения в Российской Федерации в 2022 году: Государственный доклад. — Москва: Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, 2023. — 368 с.

78. О состоянии санитарно-эпидемиологического благополучия населения в Российской Федерации в 2023 году: Государственный доклад. — Москва: Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, 2024. — 364 с.

79. Опыт динамического наблюдения за формированием иммунной прослойки к вирусу SARS-COV-2 / Г.Ш. Исаева, Г.Ф. Гилязутдинова, И.Д. Решетникова [и др.] //Материалы Онлайн-конгресса с международным участием «Молекулярная диагностика и биобезопасность—2021. COVID-19: эпидемиология, диагностика, профилактика» (Москва, 28-29.04.2021). — Москва, 2021. — С. 34.

80. Опыт изучения коллективного и персонального иммунитета к вирусу SARS-CoV-2 у медицинских работников / И.Д. Решетникова, Е.В. Агафонова, Ю.А. Тюрин [и др.] // Проблемы особо опасных инфекций. — 2021. — № 2. — С. 123—

140.

81. Особенности гуморального иммунного ответа к SARSCoV-2 у медицинских работников временного инфекционного госпиталя / И.Д. Решетникова, Е.В. Агафонова, Н.М. Хакимов [и др.] // Эпидемиология и Вакцинопрофилактика. — 2023. — № 22 (1). — С. 13—21.

82. Особенности гуморального ответа на инфекцию, вакцинацию и ревакцинацию при COVID-19 / С.Ю. Комбарова, А.В. Алешкин, Л.И. Новикова [и др.] // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. — 2022. — Т. 173. — № 6. — С. 719—725.

83. Особенности микробиоты верхних дыхательных путей у медицинских работников в зависимости от обнаружения антител к SARS-CoV-2 / И.Д. Решетникова, Е.В. Агафонова, Ю.А. Тюрин [и др.] // Российский аллергологический журнал. — 2021. — Т. 18. — С. 38 (Материалы III научно-практической конференции в формате онлайн «Аллергология и иммунология: от инноваций к практике» (Москва, 06.02.2021).

84. Особенности микробиоты верхних дыхательных путей у серопозитивных по SARS-COV-2 медицинских работников / Г.Ш. Исаева, Л.Т. Баязитова, Е.В. Халдеева [и др.] //Материалы Онлайн-конгресса с международным участием «Молекулярная диагностика и биобезопасность-2021. COVID-19: эпидемиология, диагностика, профилактика» (Москва, 28-29.04.2021). — Москва, 2021. — С. 77—78.

85. Особенности формирования популяционного иммунитета к SARS-CoV-2 у сотрудников медицинских организаций в период распространения COVID-19 / М.Н. Садыков, В.Б. Зиатдинов, И.Д. Решетникова [и др.] // Казанский медицинский журнал. — 2022. — Т. 103. — № 2. — С. 285—295.

86. Особенности формирования серопревалентности населения Российской Федерации к нуклеокапсиду SARS-CoV-2 в первую волну эпидемии COVID-19 / А.Ю. Попова, Е.Е. Андреева, Е.А. Бабура [и др.] // Инфекция и иммунитет. — 2021. — № 11 (2). — С. 297—323.

87. Особенности экспрессии TLR2 рецепторов на клетках периферической

крови у медицинских работников реконвалесцентов новой коронавирусной инфекции (SARS-cov-2) / Ю.А. Тюрин, И.Г. Мустафин, И.Д. Решетникова [и др.] // Материалы XIV Ежегодного Всероссийского Конгресса по инфекционным болезням имени академика В.И. Покровского «Инфекционные болезни в современном мире: эволюция, текущие и будущие угрозы» (Москва, 28-30.03.2022). — Москва, 2022. — С.167.

88. Оценка популяционного иммунитета к SARS-CoV-2 среди населения Ленинградской области в период эпидемии COVID-19 / А.Ю. Попова, Е.Б. Ежлова, А.А. Мельникова [и др.] // Проблемы особо опасных инфекций. — 2020. — № 3. — С. 114—123.

89. Оценка иммунного ответа SARS-CoV-2—специфичных Т-клеток методом ELISPOT / В.В. Герасимова, С.В. Колесник, Д.А. Кудлай, А.С. Гольдерова // Acta biomedica scientifica. — 2022. — № 7 (5-2). – С. 96—102.

90. Оценка клеточного звена иммунитета при новой коронавирусной инфекции COVID-19 / А.В. Лобов, П.И. Иванова, Е.А. Погодина [и др.] // Российский биотерапевтический журнал. — 2021. — № 20 (4). — С. 10—17.

91. Оценка Т-клеточного иммунитета к SARS-CoV-2 у переболевших и вакцинированных против COVID-19 лиц с помощью ELISPOT набора ТиграТест® SARS-CoV-2 / Д.А. Потеряев, С.Г. Аббасова, П.Е. Игнатьева [и др.] // БИОпрепараты. Профилактика, диагностика, лечение. — 2021. — Т. 21, № 3. — С. 178—192.

92. Оценка уровней молекул trec и krec у больных COVID-19 с разной степенью тяжести течения заболевания / М.А. Сайтгалина, Ю.В. Останкова, Н.А. Арсентьева [и др.] // Инфекция и иммунитет. — 2023. — Т. 13. — № 5. — С. 873—884.

93. Оценка формирования и напряженности адаптивного иммунитета у переболевших COVID-19 / И.А. Иванова, А.В. Филиппенко, А.А. Труфанова [и др.] // Инфекция и иммунитет. — 2023. — Т. 13. — №2. — С. 319—328.

94. Палтышев, И.П. Основы описательной эпидемиологии: учебно—метод. пособие для аспирантов / Казан. гос. мед. ун-т М-ва здравоохранения Рос.

Федерации, Каф. эпидемиологии и доказат. медицины; [сост. И.П. Палтышев и др.]. — Казань: МеДДоК, 2019. — 110 [2] с.: ил.

95. Патент № RU 2200319 C1 Российская Федерация, МПК G01N33/48; Способ оценки эффективности лечения риносинуситов: №2001131336/14 : заявл. 20.11.2001 : опубл. 10.03.2003 / Л.Ф. Азнабаева, Ф.А. Кильсенбаева, Н.А. Арефьева, П.Н. Машко // Patents.Google : официальный сайт. – URL: https://patents.google.com/patent/RU2200319C1/ru

96. Поддержание иммунологической памяти к вирусу SARS-CoV-2 в условиях пандемии / А.П. Топтыгина, З.Э. Афридонова, Р.Ш. Закиров, Е.Л. Семикина // Инфекция и иммунитет. — 2023. – Т. 13, № 1. — С. 55—66.

97. Показатели врожденного и адаптивного иммунитета у реконвалесцентов COVID-19 / Е.В. Агафонова, И.Д. Решетникова, Г.Ш. Исаева, О.А. Троценко // Бактериология. — 2021. — Т. 6. — № 3. — С.12—13.

98. Показатели специфического Т-клеточного иммунитета у медицинских работников — реконвалесцентов COVID-19 при длительном наблюдении / И.Д. Решетникова, Е.В. Агафонова, Г.Ф. Гилязутдинова, Г.Ч. Гатина // Журнал Инфектологии — 2024. — Т. 16, № 1. — Прил. 1. – С. 82 (Материалы Российской научно—практической конференции «Управляемые инфекции: диагностика, лечение и профилактика». — С-Петербург, 06-07.022024).

99. Популяционный иммунитет к SARS-CoV-2 среди населения Санкт-Петербурга в период эпидемии COVID-19 / А.Ю. Попова, Е.Б. Ежлова, А.А. Мельникова [и др.] // Проблемы особо опасных инфекций. — 2020. — № 3. — С.124—130.

100. Поствакцинальный и постинфекционный гуморальный иммунный ответ на инфекцию SARS-CoV-2 / И.В. Андреев, К.О. Нечай, А.И. Андреев [и др.] // Иммунология. — 2022. — Т. 43, № 3. — С. 18—32.

101. Потапнев, М.П. Аутофагия, апоптоз, некроз клеток и иммунное распознавание своего и чужого / М.П. Потапнев // Иммунология. — 2015. — Т. 35. — № 2. — С. 95—102

102. Приоритетная вакцинация респираторных инфекций в период пандемии

SARS-COV-2 и после ее завершения: пособие для врачей / М.П. Костинов, А.Г. Чучалин, Л.С. Намазова-Баранова [и др.] Российское респираторное общество. – Москва: Группа МДВ, 2020. —32 с.

103. Протокол популяционного стратифицированного по возрасту сероэпидемиологического исследования инфекции COVID-19 у человека Версия: 2.0 Дата: 26.05.2020. WHO/2019-nCoV/Seroepidemiology/2020.2. [Protocol for a population-based age-stratified sero-epidemiological study of COVID-19 infection in humans Version: 2.0 Date: May 26, 2020WHO/2019-nCoV/Seroepidemiology/2020.2 (in Rus)].

104. Распределение серопревалентности к SARS-CoV-2 среди жителей Тюменской области в эпидемическом периоде COVID-19 / А.Ю. Попова, Е.Б. Ежлова, А.А. Мельникова [и др.] // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. — 2020. — № 97 (5). — С. 392—400.

105. Результаты исследования микробиоты верхних дыхательных путей и ротоглотки у медицинских работников, серопозитивных и серонегативных к SARS-COV-2 / И.Д. Решетникова, Ю.А. Тюрин, Л.Т. Баязитова [и др.] // Материалы Всероссийской научно-практической конференции с международным участием, посвященной 100-летию акад. И.Н. Блохиной: Эпидемиологический надзор за актуальными инфекциями: новые угрозы и вызовы / под ред. д.м.н. Н.Н. Зайцевой. — Н. Новгород: Изд-во «Медиаль», 2021. — С. 348—351.

106. Результаты исследования серопревалентности к SARS-CoV-2 у медицинских работников: возрастные и профессиональные аспекты / Е.В. Агафонова, С.Н. Куликов, И.Д. Решетникова [и др.] // Эпидемиология и Вакцинопрофилактика. — 2021. – Т. 20. — № 2. — С. 49—57.

107. Ремоделирование структуры хроматина и изменение фенотипа нейтрофильных гранулоцитов под влиянием G-CSF у больных колоректальным раком / И.В. Нестерова, С.В. Ковалева, А.А. Евглевский [и др.] // Современные проблемы науки и образования. — 2014. — № 3. — С. 601.

108. Решетникова, И.Д. Нарушения клеточного иммунитета в периоде ранней реконвалесценции COVID-19 / И.Д. Решетникова, Е.В. Агафонова, Г.Ш. Исаева //

Материалы Онлайн-конгресса с международным участием «Молекулярная диагностика и биобезопасность-2021. COVID-19: эпидемиология, диагностика, профилактика» (Москва, 28-29.04.2021). — Москва, 2021. — С. 129.

109. Решетникова, И.Д. Оценка специфического Т-клеточного иммунитета у вакцинированных медицинских работников-реконвалесцентов COVID-19 при долговременном мониторинге (2,5-3 года) / И.Д. Решетникова, Е.В. Агафонова, Г.Ф. Гилязутдинова // Журнал Инфектологии. — 2024. — Т. 16, № 2. — Прил. 2. — С. 146 (Материалы X Юбилейного конгресса Евро-Азиатского общества по инфекционным болезням. — С-Петербург, 19-21.05.2024).

110. Решетникова, И.Д. Серо—эпидемиологический мониторинг среди вакцинированного от COVID-19 населения и медицинских работников республики Татарстан / И.Д. Решетникова, Н.М. Хакимов, Д.В. Лопушов // Журнал инфектологии. — 2024. — Т. 16, №1. — Прил. 1. — С. 83 (Материалы Российской научно—практической конференции «Управляемые инфекции: диагностика, лечение и профилактика». — С-Петербург, 06–07.02.2024).

111. Решетникова, И.Д. Формирование иммунного ответа на вакцинацию от COVID-19 среди населения Республики Татарстан / И.Д. Решетникова, Н.М. Хакимов, Д.В. Лопушов // Современная иммунопрофилактика: вызовы, возможности, перспективы: Материалы IV Всероссийской научно-практической конференции с международным участием (12–13.10.2023) / под ред. акад. РАН В.Г. Акимкина. — Москва: ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора, 2023. — С.94—95.

112. Роль нейтрофилов в регуляции колонизации Shaphylococcus aureus у реконвалесцентов COVID-19 / Е.В. Агафонова, И.Д. Решетникова, Л.Т. Баязитова [и др.] // Актуальные вопросы профилактической медицины и санитарно—эпидемиологического благополучия населения: факторы, технологии, управление и оценка рисков. Сборник научных трудов. Специальный выпуск: по материалам межрегиональной научно—практической конференции «Актуальные вопросы эпидемиологии и гигиены: наука и практика. Ответы на глобальные вызовы» И.А. Умнягина, Н.Н. Зайцева, Н.С. Кучеренко [и др.]. — Н. Новгород: Изд-во

«Медиаль», 2022. — С. 231—235.

113. Свидетельство о государственной регистрации базы данных №2023620659 Российская Федерация. База данных показателей иммунного статуса у медицинских работников серопозитивных к SARS-cov-2 (новой коронавирусной инфекции) — база данных : № 2023620359 : заявл. 21.02.2023: опубл. 21.02.2023/ И.Г. Мустафин, И.Д. Решетникова, Ю.А. Тюрин [и др.] // Федерация службы по интеллектуальной собственности. — Бюллетень № 3.

114. Свидетельство о государственной регистрации базы данных №2023623264 Российская Федерация. База данных серопревалентность к SARS-CoV2 у населения Республики Татарстан в период распространения COVID-19 с августа по декабрь 2020 — база данных : № 2023622992: заявл. 14.09.2023: опубл. 28.09.2023 / Н.М. Хакимов, И.Д. Решетникова, Д.В. Лопушов // Федерация службы по интеллектуальной собственности. — Бюллетень № 10.

115. Свидетельство о государственной регистрации базы данных №2024620874 Российская Федерация. База данных мониторинга поствакцинального иммунного ответа к новой коронавирусной инфекции COVID-19 среди населения и медицинских работников Республики Татарстан за период с апреля по октябрь 2022 — база данных : № 2024620545: заявл. 16.02.2024: опубл. 26.02.2024 / Н.М. Хакимов, И.Д. Решетникова, Д.В. Лопушов // Федерация службы по интеллектуальной собственности. — Бюллетень № 3.

116. Свидетельство о государственной регистрации базы данных №2024623048 Российская Федерация. База данных показателей специфического Т-клеточного и гуморального иммунного ответа к SARS-CoV-2 у медицинских работников временного инфекционного госпиталя — база данных : № 2024622697: заявл. 11.07.2024: опубл. 11.07.2024 / И.Д. Решетникова // Федерация службы по интеллектуальной собственности. — Бюллетень № 7.

117. Семенов, А.В. Уроки эпидемии COVID-19 в Италии / А.В. Семенов, Н.Ю. Пшеничная // Инфекция и иммунитет. — 2020. – № 10 (3). — С. 410—420.

118. Серологический мониторинг к коронавирусу SARS-CoV-2 у медицинских работников Республики Татарстан в период второго пика распространения

COVID-19 / И.Д. Решетникова, Н.М. Хакимов, Д.В. Лопушов [и др.] // Материалы XIV Ежегодного Всероссийского Конгресса по инфекционным болезням имени акад. В.И. Покровского «Инфекционные болезни в современном мире: эволюция, текущие и будущие угрозы». (Москва, 28-30.03.2022). – Москва. 2022. — С.141.

119. Смирнов, В.С. Биология возбудителей и контроль гриппа и ОРВИ: монография / В.С. Смирнов, В.В. Зарубаев, С.В. Петленко. – С-Петербург: Гиппократ, 2020. — 338 с.

120. Современный взгляд на особенности развития и течения противовирусного иммунного ответа / А.В. Москалев, Б.Ю. Гумилевский, А.В. Жестков, М.О. Золотов // Наука и инновации в медицине. — 2023. — № 8 (4). – С. 239—250.

121. Сопоставление гуморального и клеточного иммунитета у переболевших COVID-19 / А.П. Топтыгина, Е.Л. Семикина, Р.Ш. Закиров, З.Э. Афридонова // Инфекция и иммунитет. — 2022. — Т. 12, № 3. — С. 495–504.

122. Супрун, Е.Н. Динамика иммунного ответа / Е.Н. Супрун // Аллергология и иммунология в педиатрии. — 2014. — №2 (37). URL: https://cyberleninka.ru/article/n/dinamika-immunnogo-otveta (дата обращения: 14.09.2022).

123. Татарстан в пандемию COVID-19: практический опыт проведения профилактических и противоэпидемических мероприятий / М.А. Патяшина, М.Н. Садыков, Е.П. Сизова [и др.]. — Казань: Медицина, 2023. — 312 с. ISBN 978—5—7645—0728—6.

124. Т-клеточный иммунный ответ на иммуногенные пептиды вируса SARS-CoV-2 у медицинских работников через 2,5-3 года после перенесенной COVID-19 / И.Д. Решетникова, Е.В. Агафонова, Ю.А. Тюрин, Р.С. Фассахов // Российский аллергологический журнал. – 2025. — Т. 22. — № 1. – С. 11—22.

125. Топтыгина, А.П. Особенности специфического гуморального иммунного ответа против вируса кори / А.П. Топтыгина, Т.А. Мамаева, В.А. Алешкин // Инфекция и иммунитет. — 2013. — Т. 3, № 3. — С. 243—250.

126. Тюрин, Ю.А. Изменения локальной микробиоты при атопическом дерматите и аллергическом рините: роль иммунных и неиммунных факторов: дисс … д-ра мед. наук: 3.2.7. Аллергология и иммунология, 1.5.11.

Микробиология / Тюрин Юрий Александрович. — Москва, 2022. — 284 с.

127. Уровень серопревалентности к SARS-CoV-2 среди жителей Хабаровского края на фоне эпидемии COVID-19 / А.Ю. Попова, Е.Б. Ежлова, А.А. Мельникова [и др.] // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. — 2021. — № 98 (1). — С. 7017.

128. Уровни гуморального иммунитета среди медицинских работников к возбудителям острых респираторных вирусных инфекций (COVID-19, кори и краснухи) / Г.Ш. Исаева, И.Д. Решетникова, Ю.А. Тюрин [и др.] // Медицина, фармация. — 2020. — № 4. — С. 131 (Материалы VII Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Перспективы внедрения инновационных технологий в медицине и фармации». — Орехово-Зуево: Известия ГГТУ, 27.11.2020).

129. Функционально-метаболический статус клеточных факторов врожденного иммунитета назального секрета ринохирургических больных в ранний послеоперационный период / О.А. Гизингер, А.М. Коркмазов, О.Л. Кокшарова, Н.В. Кудряшова // Педиатрический вестник Южного Урала. – 2017. — № 2. — С. 25—29.

130. Характеристика популяционного иммунитета к SARS-CoV-2 у жителей Саратова и Саратовской области в период эпидемии COVID-19 / А.Ю. Попова, Е.Б. Ежлова, А.А. Мельникова [и др.] // Проблемы особо опасных инфекций. — 2020. — № 4. — С.106—116.

131. Характеристика серопревалентности к SARS-CoV-2 среди населения Республики Татарстан на фоне COVID-19 / А.Ю. Попова, Е.Б. Ежлова, А.А. Мельникова [и др.] // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. — 2020. — № 97(6). – С. 518—528.

132. Шабашова, Н.В. Местный иммунитет и микробиота ротовой полости (обзор) / Н.В. Шабашова, Е.Ю. Данилова // Проблемы медицинской микологии. — 2015. — Т. 17. — С. 4—9.

133. Экспрессия провоспалительных цитокинов (IL-18, IL-33) на уровне слизистой оболочки входных ворот инфекции у лиц, перенесших заболевание

COVID-19 / Н.Д. Рассказова, Н.Д. Абрамова, Т.Д. Сощенко [и др.] // Инфекция и иммунитет. — 2024. — Т. 14. — №3. — С. 423—428.

134. Юнкеров, В.И. Математико-статистическая обработка данных медицинских исследований, 3-е изд., доп. / В.И. Юнкеров, С.Г. Григорьев, М.В. Резванцев. – С-Петербург: ВМедА, 2011. — 320 с.

135. COVID-19: эволюция пандемии в России. Сообщение I: проявления эпидемического процесса COVID-19 / В.Г. Акимкин, А.Ю. Попова, А.А. Плоскирева [и др.] // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. — 2022. — № 99 (3). — С. 269—286.

136. COVID-19: эволюция пандемии в России. Сообщение II: динамика циркуляции геновариантов вируса SARS-CoV-2 / В.Г. Акимкин, А.Ю. Попова, К.Ф. Хафизов [и др.] // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. — 2022. — № 99 (4). — С. 381–396.

137. COVID-19: этиология, клиника, лечение / М.Ю. Щелканов, Л.В. Колобухина, О.А. Бургасова [и др.] // Инфекция и иммунитет. — 2020. — Т. 10. — № 3. — С. 421—445.

138. A comprehensive review of viral characteristics, transmission, pathophysiology, immune response, and management of SARS-CoV-2 and COVID-19 as a basis for controlling the pandemic / C.R. Triggle, D. Bansal, H. Ding [et al.] // Frontiers in immunology. — 2021. – Т. 12. – С. 631139.

139. A conserved domain in the coronavirus membrane protein tail is important for virus assembly / F. Tang, Y. Quan, Z.T. Xin [et al.] // J. Virol. – 2010 — Vol. 84 (21). — P. 11418—11428.

140. A human monoclonal antibody blocking SARS-CoV-2 infection / C. Wang, W. Li, D. Drabek [et al.] // Nat. Commun. — 2020. — Vol. 11 (1). — P. 2251.

141. A Systematic Review of Asymptomatic Infections with COVID / Z. Gao, Y. Xu, C. Sun [et al.] // J. Microbiol. Immunol. Infect. — 2021. — Vol. 54 (1). — P. 12—16.

142. Aboudounya, M.M. COVID-19 and Toll-Like Receptor 4 (TLR4): SARS—CoV-2 May Bind and Activate TLR4 to Increase ACE2 Expression, Facilitating Entry and Causing Hyperinflammation / M.M. Aboudounya, R.J. Heads // Mediators Inflamm. —

2021. — Vol. 2021. — P. 8874339.

143. Achievement of maximal SARS-CoV-2 collective immunity among the Tajik population by March 2022 / A.Yu. Popova, VOL.S. Smirnov, S.A. Egorova [et al.] // Medical Immunology (Russia). — 2023. — Vol. 25 (1). — P. 193—214 (In Russ.).

144. Afucosylated IgG characterizes enveloped viral responses and correlates with COVID-19 severity / M.D. Larsen, E.L. de Graaf, M.E. Sonneveld [et al.] // Science. — 2021. — Vol. 371 (6532). — P. eabc8378.

145. Afzal, M.M. Study of neutrophilic function by nitroblue tetrazolium test in septicemias and immune deficiency diseases / M.M. Afzal, A. Jeshtadi, A.K. Mohmmed // Int. J. Res. Health. Sci. — 2014. — VOL. 2. — P. 581—591.

146. Agafonova, E. Mucosal Immunity After Novel COVID-19 Infection — Virus Induced Immunosuppression: Preliminary Study (Иммунитет слизистых оболочек у реконвалесцентов COVID-19 — иммуносупрессия, вызванная вирусом: предварительное исследование) / E. Agafonova, I. Reshetnikova, F. Rizvanova // BioNano Science. — 2022. — № 2 (12). — P. 1473-1481.

147. Ahmed, S.F. Preliminary identification of potential vaccine targets for the COVID-19 coronavirus (SARS-CoV-2) based on SARS-CoV immunological studies / S.F. Ahmed, A.A. Quadeer, M.R. McKay // Viruses. — 2020. — Vol. 12 (3). — P. 254.

148. Al-López, E.L. GUTI Respiratory Infections Network. Genetic Susceptibility to Life-threatening Respiratory Syncytial Virus Infection in Previously Healthy Infants / E.L. Al-López, F.M. Ferolla, A. Toledano [et al.] // Pediatr Infect Dis J. — 2020. — Vol. 39 (11). — P.1057—1061.

149. Altarawneh, H.N. Protection against the omicron variant from previous SARS—CoV—2 infection / H.N. Altarawneh, H. Chemaitelly, M.R. Hasan [et al.] // N. Engl. J. Med. — 2022. — Vol. 386 (13). — P. 1288—1290.

150. Alterations of the Gut Microbiota in Patients with Coronavirus Disease 2019 or H1N1 Influenza / S. Gu, Y. Chen, Zh. Wu [et al.] // Clin. Infect. — 2020. — Vol. 71 (10). — P. 2669—2678.

151. Antibody and T Cell Immune Responses to SARS-CoV-2 Peptides in COVID-19 Convalescent Patients / E. Garanina, S. Hamza, R.J. Stott-Marshall [et al.] // Frontiers in

Microbiology. — 2022. — Vol. 13. — Art. 842232.

152. Antibody detection and dynamic characteristics in Patients with COVID-19 / F. Xiang, X. Wang, X. He [et al.] // Clin. Infect. Dis. — 2020. — Vol. 71 (8). — P. 1930—1934.

153. Antibody responses to SARS-CoV-2 in patients of novel coronavirus disease 2019 / J. Zhao, Q. Yuan, H. Wang [et al.] // Clin. Infect. Dis. — 2020. — Vol. 71 (16). — P. 2027—2034.

154. Antibody responses to SARS-CoV-2 in patients with COVID-19 / Q. Long, B. Liu, H. Deng [et al.] // Nat. Med. — 2020. — Vol. 26 (6). — P. 845—848.

155. Antigen-specific adaptive immunity to SARSCoV-2 in acute COVID-19 and associations with age and disease severity / C.R. Moderbacher, S.I. Ramirez, J.M. Dan [et al.] // Cell. — 2020. — Vol. 183 (4). — P. 996—1012.

156. Arg753gln and Arg677 Trp Polymorphisms of Toll—Like Receptor 2 In Acute Apical Abscess / E. Miri—Moghaddam, N. Farhad Mollashahi, N. Naghibi [et al.] // J Dent (Shiraz). — 2018. — Vol. 19 (2). — P. 109—117.

157. Ariel, L.A. A conserved domain in the coronavirus membrane protein tail is important for virus assembly / L.A. Ariel, J.L. Blake, G.H. Brenda // J. Virol. – 2010 — Vol. 84 (21). — P. 11418—11428.

158. Assessment of indicators of specific humoral immune against COVID-19 in children during the distribution of a new coronavirus infection in the Irkutsk region (2020–2021) / D.D. Bryukhova, VOL.I. Dubrovina, N.O. Kiseleva [et al.] // Acta biomedica scientifica. — 2023. — Vol. 8 (1). — P. 239—246. doi: 10.29413/ ABS.2023—8.1.24

159. Assessment of the cellular immunity response to the newcoronavirus infection COVID-19. Rossiyskiy bioterapevticheskiy zhurnal / A.VOL. Lobov, P.I. Ivanova, E.A. Pogodina [et al.] // Russian Journal of Biotherapy. — 2021. — Vol. 20 (4). — P. 10—17. (In Russ.).

160. Autoimmunity is a hallmark of post-COVID syndrome / M. Rojas, Y. Rodríguez, Y. Acosta-Ampudia [et al.] // J. Transl. Med. — 2022. — Vol. 20 (1). — P. 129.

161. Avidity of IgG to SARS-CoV-2 RBD as a prognostic factor for the severity of

COVID-19 reinfection / VOL. Manuylov, O. Burgasova, O. Borisova [et al.] // Viruses. — 2022. — Vol. 14 (3). — P. 617.

162. Bauer, G. The potential significance of high avidity immunoglobulin G (IgG) for protective immunity towards SARS-CoV-2 / G. Bauer // Int. J. Infect. Dis. — 2021. — Vol. 106. — P. 61—64.

163. Bölke, E. Loss of Anti-SARS-CoV-2 Antibodies in Mild COVID-19 / E. Bölke, Ch. Matuschek, J.C. Fischer // N. Engl. J. Med. — 2020. — Vol. 383 (17). — P. 1694—1695.

164. Broadly neutralizing antibodies overcome SARS-CoV-2 Omicron antigenic shift / E. Cameroni, J.E. Bowen, L.E. Rosen [et al.] // Nature. — 2022. — Vol. 602. — P. 664—670.

165. CD40 ligand on activated platelets triggers an inflammatory reaction of endothelial cells / VOL. Henn, J.R. Slupsky, M. Gräfe [et al.] // Nature. – 1998. — Vol. 391 (6667). — P. 591—594.

166. Cell death and infection: a double-edged sword for host and pathogen survival / H. Mimuro, M. Ogawa, T. Kobayashi [et al.] // J. Cell Biol. – 2011. — Vol. 195 (6). — P. 931—942.

167. Cellmediated and humoral immunity during COVID-19 in the Republic of Crimea / E.Yu. Zyablitskaya, D.A. Kudlay, S.VOL. Kolesnik [et al.] // Acta biomedica scientifica. — 2023. — Vol. 8 (1). — P. 12—19. doi: 10.29413/ABS.2023—8.1.2

168. Chen, Y. Emerging coronaviruses: Genome structure, replication, and pathogenesis / Y. Chen, Q. Liu, D. Guo // J. Med. Virol. — 2020. — Vol. 92 (4). — P. 418—423.

169. Clinical and biochemical indexes from 2019-nCoV infected patients linked to viral loads and lung injury / Y. Liu, Y. Yang, C. Zhang [et al.] // Sci. China. Life. Sci. — 2020. — Vol. 63 (3). — P. 364–374.

170. Co-infections in people with COVID—19: a systematic review and meta-analysis / L. Lansbury, B. Lim, VOL. Baskaran, W.S. Lim // J. Infect. — 2020. — Vol. 20. — P. 30323—30326.

171. Coronavirus biology and replication: implications for SARS-CoV-2 / Ph.

V'kovski, A. Kratzel, S. Steiner [et al.] // Nature Reviews Microbiology. — 2021. — T. 19. — № 3. – С. 155—170.

172. Coronavirus infections and immune Responses / G. Li, Y. Fan, Y. Lai [et al.] // J. Med. Virol. — 2020. — Vol. 92. — P. 424–432.

173. COVID-19 infection: the perspectives on immune responses / Y. Shi, Y. Wang, C. Shao [et al.] // Cell Death Differ. — 2020. — Vol. 27 (5). — P. 1451—1454.

174. COVID-19 vaccine effectiveness in New York state / E.S. Rosenberg, VOL. Dorabawila, D. Easton [et al.] // N. Engl. J. Med. — 2022. — Vol. 386. — P. 116—127.

175. Crotty, S. Hybrid immunity / S. Crotty // Science. — 2021. — Vol. 372 (6549). — P. 1392—1393.

176. Current understanding of epidemiology and pathogenesisof multisystem inflammatory syndrome associated with SARS-COV-2 in children / Yu.E. Konstantinova, A.A. Vilnitz, M.K. Bekhtereva [et al.] // Acta biomedica scientifica (EXTREM MEDICINE). — 2023. — Vol. 3 (25). — P. 13—21.

177. Danza, Ph. SARS-CoV-2 Infection and Hospitalization Among Adults Aged ≥18 Years, by Vaccination Status, Before and During SARS-CoV-2 B.1.1.529 (Omicron) Variant Predominance / Ph. Danza, T.H. Koo, M. Haddix // MMWR Morb. Mortal. Wkly. Rep. — 2022. — Vol. 71. — P. 177—181 (Los Angeles County, California, 2021-January 8, 2022).

178. Detection of SARS-CoV-2-Specific Humoral and Cellular Immunity in COVID-19 Convalescent Individuals / L. Ni, F. Ye, M.L. Cheng [et al.] // Immunity. — 2020. — Vol. 52 (6). — P. 971—977.

179. Development and application of a GuHCl-modified ELISA to measure the avidity of anti-HPV L1 VLP antibodies in vaccinated individuals / J. Dauner, Y. Pan, A. Hildesheim [et al.] // Mol. Cell. Probes. – 2012. — Vol. 26. – P.73—80.

180. Development and clinical application of a rapid IgM-IgG combined antibody test for SARS-CoV-2 infection diagnosis / Z. Li, Y. Yi, X. Luo [et al.] // J. Med. Virol. — 2020. — Vol. 92 (9). — P. 1518—1524.

181. Dickson, R.P. The role of the microbiome in exacerbations of chronic lung diseases / R.P. Dickson, F.J. Martinez, G.B. Huffnagle // Lancet. — 2014. — Vol. 384.

— P. 691—702.

182. Dimitrov, J. Important parameters for evaluation of antibody avidity by immunosorbent assay / J. Dimitrov, S. Lacroix-Desmazes, VOL. Kaveri // Anal, Biochem. – 2011. — Vol. 418. – P.149—151.

183. Disappearance of antibodies to SARS—associated coronavirus afterrecovery / W.C. Cao, W. Liu, P.H. Zhang [et al.] // N. Engl. J. Med. – 2007. — Vol. 357 (11). — P. 1162–1163.

184. Dysregulation of immune response in patients with Coronavirus 2019 (COVID-19) in Wuhan, China / C. Qin, L. Zhou, Z. Hu [et al.] // Clin. Infect. Dis. — 2020. — Vol. 71 (15). — P. 762—768.

185. Elkoshi, Z. SARS-CoV-2 Omicron (B.1.1.529) Variant: Corticosteroids Treatment/Respiratory Coinfection / Z. Elkoshi // Front. Immunol. — 2022. — Vol. 13. — P. 856072.

186. Epidemiology, genetic recombination, and pathogenesis of coronaviruses / S. Su, G. Wong, W. Shi [et al.] // Trends. Microbiol. – 2016. — Vol. 24 (6). — P. 490—502.

187. Extraordinary Titer and Broad Anti-SARS-CoV-2 Neutralization Induced by Stabilized RBD Nanoparticles from Strain BA / Zh. Wang, B. Zhang, L. Ou [et al.] // Vassines. (Basel). — 2023. — Vol. 12 (1). — P.n37.

188. Features of developing SARS-CoV-2nucleocapsid protein population-based seroprevalence during the first wave of the COVID-19 epidemic in Russia / A.Yu. Popova, E.E. Andreeva, E.A. Babura [et al.] // Russian Journal of Infection and Immunity. — 2021. — Vol. 11 (2). . — P. 297—323 (In Russ.)

189. Ghosh, A. A Domain Model for SARS-Co V-2 Rational Vaccine Design to Engineer a Prediction Tool for Binding Affinity and Antigenicity / A. Ghosh, M.M. Larrondo—Petrie, M.D. Pavlovic // 20-th International Conference on Ubiquitous Computing and Communications (IUCC/CIT/DSCI/SmartCNS), — London, United Kingdom, 2021. — P. 557—564.

190. Herd immunity to SARS-CoV-2 among the population of the Republic of Belarus amid the COVID-19 pandemic / A.Y. Popova, A.A. Tarasenko, VOL.Yu. Smolenskiy [et al.] // Russian Journal of Infection and Immunity. — 2021. — Vol. 11 (5). — P.

887—904 (In Russ.).

191. HLH Across Speciality Collaboration, UK. COVID-19: consider cytokine storm syndromes and immunosuppression / P. Mehta, D.F. McAuley, M. Brown [et al.] // Lancet. — 2020. — Vol. 395. — P 1033—1034.

192. Huffnagle, G.B. The respiratory tract microbiome and lung inflammation: a two-way street / G.B. Huffnagle, R.P. Dickson, N.W. Lukacs // Mucosal Immunol. – 2017. — Vol. 10. — P. 299—306.

193. Identification of conserved immunogenic peptides of SARS—CoV—2 nucleocapsid protein / J. Verma, N. Kaushal, M. Manish [et al.] // Journal of Biomolecular Structure and Dynamics. — 2023. — Vol. 26. — P. 1—17.

194. Immune response in COVID-19: what is next? / Q. Li, Y. Wang, Q. Sun [et al.] // Cell Death & Differentiation. — 2022. — Т. 29. — № 6. — С. 1107—1122.

195. Immunological memory to SARS-CoV-2 assessed for up to 8 months after infection / J.M. Dan, J. Mateus, Y. Kato [et al.] // Science. — 2021. — Vol. 371 (6529). — P. eabf4063.

196. Immunology of COVID-19: Current State of the Science / N. Vabret, G.J. Britton, C. Gruber [et al.] // Immunity. — 2020. — Vol. (6). — P. 910–41.

197. Immunology of SARS-CoV-2 Infection of SARS-CoV-2 Infection / A.G. Gabdoulkhakova, R.N. Mingaleeva, A.M. Romozanova [et al.] // Biochemistry (Moscow). — 2024. — Vol. 89 (1). — P. 65—83.

198. Impact of convalescent plasma therapy on SARS—CoV—2 antibody profile in COVID-19 patients / J. Tang, G. Grubbs, Y. Lee [et al.] // Clin. Infect. Dis. — 2022. — Vol. 74 (2). — P. 327—334.

199. Impact of Toll-Like Receptor 2 and 9 Gene Polymorphisms on COVID—19: Susceptibility, Severity, and Thrombosis / A.M. Alhabibi, A.S. Hassan, N.M. Abd Elbaky [et al.] // J. Inflamm. Res. — 2023. — Vol. 16. – P. 665—675.

200. Imprinted SARS-CoV-2-specific memory lymphocytes define hybrid immunity / L.B. Rodda, P.A. Morawski, K.B. Pruner [et al.] // Cell. — 2022. — Vol. 185. — P. 1588—1601.

201. In Nasal Mucosal Secretions, Distinct IFN and IgA Responses Are Found in

Severe and Mild SARS-CoV-2 Infection / J. de Mel, B. dos Santos, C. Pereira Soares [et al.] // Front. Immunol. — 2021. — Vol. 12. — P. 595343.

202. Incomplete IgG avidity maturation after seasonal coronavirus infections / F. Struck, P. Schreiner, E. Staschik [et al.] // J. Med. Virol. — 2021. — Vol. 94 (1). — P. 186—196.

203. Innate and adaptive immune responses against coronavirus / A. Hosseini, VOL. Hashemi, N. Shomali [et al.] // Biomedicine & pharmacotherapy. — 2020. – T. 132. – C. 110859.

204. Innate Immune Gene Polymorphisms and COVID-19 Prognosis / E. Bakaros, I. Voulgaridi, VOL. Paliatsa [et al.] // Viruses. — 2023. — Vol. 15 (9). — P. 1784.

205. Iwata, S. The importance of B cell-T cell interaction in autoimmune diseases / S. Iwata, Y. Tanaka // Nihon Rinsho Meneki Gakkai Kaishi. — 2015. — Vol. 38 (5). — P. 398—402.

206. Jose, R.J.C. COVID-19 cytokine storm: the interplay between inflammation and coagulation / R.J.C. Jose, A. Manuel // Lancet Resp. Med. — 2020. — VOL. 8. — P. 46—47.

207. Kellam, P. The dynamics of humoral immune responses following SARS-CoV-2 infection and the potential for reinfection / P. Kellam, W. Barclay // J. Gen. Virol. 2020. — Vol. 101 (8). – P.791—797.

208. Kellam, P. The dynamics of humoral immune responses following SARS-CoV-2 infection and the potential for reinfection / P. Kellam, W. Barclay // J. of General Virology. —2020. — Vol. 101 (8). — P. 791—797.

209. Kennedy, A.D. Neutrophil apoptosis and the resolution of infection / A.D. Kennedy, F.R. DeLeo // Immunol. Res. — 2009. — Vol. 43. — P. 25—61.

210. Khanmohammadi, S. Role of Toll-like receptors in the pathogenesis of COVID-19 / S. Khanmohammadi, N. Rezaei // J. Med. Virol. — 2021. — Vol. 93 (5). — P. 2735—2739.

211. Kojima, N. A systematic review of the protective effect of prior SARS-CoV-2 infection on repeat infection / N. Kojima, N.K. Shrestha, J.D. Klausner // Eval. Health Prof. — 2021. — Vol. 44 (4). — P. 327—332.

212. Lack of peripheral memory B cell responses in recovered patients with severe acute respiratory syndrome: a six-year follow-up study / F. Tang, Y. Quan, Zh.T. Xin [et al.] // J. Immunol. — 2011. — Vol. 186 (12). — P. 7264—7268.

213. Lipopolysaccharide inhibits macrophage phagocytosis of apoptotic neutrophils by regulating the production of tumour necrosis factor α and growth arrest—specific gene 6 / X. Feng, T. Deng, Y. Zhang [et al.] // Immunol. — 2011. — Vol. 132, iss. 2. — P. 287—295.

214. Longitudinal characteristics of lymphocyte responses and cytokine profiles in the peripheral blood of SARS-CoV-2 infected patients / J. Liu, S. Li, J. Liu [et al.] // E.Bio.Medicine. — 2020. — Vol. 55. — P. 102763.

215. Longitudinal observation and decline of neutralizing antibody responses in the three months following SARS-CoV-2 infection in humans / J. Seow, C. Graham, B. Merrick [et al.] // Nat. Microbiol. — 2020. — Vol. 5 (12). — P. 1598—1607.

216. Longitudinal randomized cohort study of SARS-CoV-2 antibody seroprevalence in the St.Petersburg population / VOL.S. Smirnov, L.VOL. Lyalina, A.M. Milichkina [et al.] // Viruses. — 2022. — Vol. 14. — P. 913.

217. Lorkiewicz, P. Biomarkers of Post—COVID Depression / P. Lorkiewicz, N. Waszkiewicz // J. Clin. Med. — 2021. — Vol. 14 (18). — P. 4142.

218. Magnitude and kinetics of anti-SARS-CoV-2 antibody responses and their relationship to disease severity / K.L. Lynch, J.D. Whitman, N.P. Lacanienta [et al.] // Clin. Infect. Dis. — 2020. — Vol. 72 (2). — P. 301–308.

219. Mangalmurti, N.C. Cytokine storms: understanding COVID-19 / N.C. Mangalmurti, C.A. Hunter // Immunity. — 2020. — Vol. 53. — P. 19—25.

220. Mapping neutralizing and immunodominant sites on the SARS-CoV-2 Spike Receptor-Binding Domain by structure-guided high-resolution serology / L. Piccoli, Y. Park, M. Tortorici [et al.] // Cell. — 2020. — Vol. 183 (4). — P. 1024—1042.

221. Mechanisms of SARS-CoV-2 entry into cells / C.B. Jackson, M. Farzan, B. Chen, H. Choe // Nat. ReVol. Mol. Cell. Biol. — 2022. — Vol. 23 (1). — P. 3—20.

222. Memory T cell responses targeting the SARS coronavirus persist up to 11 years post—infection / O.W. Ng, A. Chia, A.T. Tan [et al.] // Vaccine. — 2016. — Vol. 34

(17). — P. 2008—2014.

223. Menden, H.L. Toll like receptor 2—mediated neonatal lung injury in a model of COVID-19 viremia that is rescued by the glucocorticoid ciclesonide / H.L. Menden, S.M. Mabry, A. Venkatraman // Am. J. Physiol. Lung. Cell. Mol. Physiol. — 2023. — Vol. 324 (5). — L722—L736.

224. Mesenchymal stemcells-bridge catalyst between innate and adaptive immunity in COVID 19 / VOL. Rao, S. Thakur, J. Rao [et al.] // Med. Hypotheses. — 2020. — Vol. 143. — P. 109845.

225. Mishra, B.B. Expression and distribution of Toll-like receptors 11–13 in the brain during murine neurocysticercosis / B.B. Mishra, U.M. Gundra, J.M. Teale // J. Neuroinflamm. — 2008. — Vol. 5. — P. 53–63.

226. mRNA—based COVID-19 vaccine boosters induce neutralizing immunity against SARS—CoV—2 Omicron variant / W.F. Garcia—Beltran, K.J. St Denis, A. Hoelzemer [et al.] // Cell. — 2022. — Vol. 185 (3). – P.457—466.

227. Nagata, S. Apoptosis by death factor / S. Nagata // Cell. — 2007. — Vol. 88. — P. 355—365.

228. Neutralizing antibody responses to SARS-CoV-2 in a COVID-19 recovered patient cohort and their implications / F. Wu, A. Wang, M. Liu [et al.] // Preprint at medRxiVol. 28.03.2020. Available from: https://doi.org/10.1101/ 2020.03.30.20047365.

229. Neutrophil secretion products pave the way for inflammatory monocytes / O. Soehnlein, A. Zernecke, E.E. Eriksson [et al.] // Blood. — 2008. — Vol. 112 (4). — P. 1461—1471.

230. Nordström, P. Risk of SARS-CoV-2 reinfection and COVID-19 hospitalisation in individuals with natural and hybrid immunity: a retrospective, total population cohort study in Sweden / P. Nordström, M. Ballin, A. Nordström // Lancet Infect. Dis. — 2022. — Vol. 22 (6). — P. 781—790.

231. One Year after Mild COVID-19: The Majority of Patients Maintain Specific Immunity, But One in Four Still Suffer from Long—Term Symptoms / A. Rank, A. Tzortzini, E. Kling [et al.] // J. Clin. Med. — 2021. — Vol. 10 (15). — P. 3305.

232. Pathogenic T cells and inflammatory monocytes incite inflammatory storm in severe COVID-19 patients / Y. Zhou, B. Fu, X. Zheng [et al.] // Natl. Sci. ReVol. — 2020. — Vol. 7 (6). — P. 998—1002

233. Pearson, C. Lymphoid microenvironments and innate lymphoid cells in the gut / C. Pearson, H.H. Uhlig, F. Powrie // Trends Immunol. — 2012. — Vol. 33. — P. 289—296.

234. Persistence of antibodies against middle east respiratory syndrome coronavirus / D.C. Payne, I. Iblan, B. Rha [et al.] // Emerg. Infect. Dis. – 2016. — Vol. 22 (10). — P. 1824—1826.

235. Persistence of antibody and cellular immune responses in coronavirus disease 2019 patients over nine months after infection / L. Yao, G.L. Wang, Y. Shen [et al.] // J. Infect. Dis. — 2021. — Vol. 224 (4). — P. 586—594.

236. Persistence of serum and saliva antibody responses to SARS-CoV-2 spike antigens in COVID-19patients / B. Isho, K.T. Abe, M. Zuo [et al.] // Sci. Immunol. — 2020. — Vol. 5 (52). — P. eabe5511.

237. Petras, M. Highly effective naturally acquired protection against COVID-19 persists for at least 1 year: a meta-analysis / M. Petras // J. Am. Med. Dir. Assoc. — 2021. — Vol. 22 (11). — P. 2263–2265.

238. Phagocyte recognition of cells undergoing apoptosis [review] / J. Savill, VOL. Fadok, P. Henson, C. Haslett // Immunol. Today. — 2003. — VOL. 14. — P. 131—136.

239. Post-COVID-19 symptoms 6 months after acute infection among hospitalized and non-hospitalized patients / M. Peghin, A. Palese, M. Venturini [et al.] // Clin. Microbiol. Infect. — 2021. — Vol.27. (10). — P. 1507—1513.

240. Preliminary evaluation of QuantiFERON SARS-CoV-2 and QIAreach anti-SARS-CoV-2 total test in recently vaccinated individuals / S. Jaganathan, F. Stieber, S.N. Rao [et al.] // Infect. Dis. Ther. — 2021. – VOL. 10 (4). — P. 2765–2776.

241. Prevalence of IgG antibodies to SARS-CoV-2 in Wuhan — implications for the ability to 13 produce long-asting protective antibodies against SARS-CoV-2 / T. Liu, S. Wu, H. Tao [et al.] // medRxiVol. — 2020 doi:

https://doi.org/10.1101/2020.06.13.20130252.

242. Protection and waning of natural and hybrid immunity to SARS—CoV—2 / Y. Goldberg, M. Mandel, Y.M. Bar-On [et al.] // N. Engl. J. Med. — 2022. — Vol. 386 (23). — P. 2201—2212.

243. Rapid Decay of Anti-SARS-CoV-2 Antibodies in Persons with Mild COVID-19 / F.J. Ibarrondo, J.A. Fulcher, D. Goodman-Meza [et al.] // Engl. J. Med. — 2020. — Vol. 383 (11). — P. 1085—1087.

244. Regulation of the ER stress response by the ion channel activity of the infectious bronchitis coronavirus envelope protein modulates virion release, apoptosis, viral fitness, and pathogenesis / S. Li, L. Yuan, G. Dai [et al.] // Front. Microbiol. — 2020. — Vol. 10. — P. 322.

245. Relationship between toll-like receptor 2 R753Q and T16934A polymorphisms and Staphylococcus aureus nasal carriage / M. Żukowski, O. Taryma-Leśniak, M. Kaczmarczyk [et al.] // Anaesthesiol. Intensive Ther. – 2017. — Vol. 49 (2). — P. 110—115.

246. Robust T cell Immunity in Convalescent Individuals with Asymptomatic., or Mild COVID-19 / T. Sekine, A.P. Perez-Potti, O.R. Ballesteros [et al.] // Cell. — 2020. — Vol. 183 (1). — P. 158–168.

247. Root—Bernstein, R. Innate Receptor Activation Patterns Involving TLR and NLR Synergisms in COVID—19, ALI/ARDS and Sepsis Cytokine Storms: A Review and Model Making Novel Predictions and Therapeutic Suggestions / R. Root-Bernstein // Int. J. Mol. Sci. — 2021. — Vol. 22 (4). — P.2108.

248. SARS-CoV-2 accessory proteins ORF7a and ORF3a use distinct mechanisms to down-regulate MHC-I surface expression / N. Arshad, M.L. Rolle, W.S. Ahmed [et al.] // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. — 2023. — Vol. 120 (1). — P. e2208525120.

249. SARS-CoV-2 antibody avidity responses in COVID-19 patients and convalescent plasma donors / S.E. Benner, E.U Patel, O. Laeyendecker et al. // J. Infect. Dis. — 2020. — Vol. 222. — P. 1974–1984.

250. SARS-CoV-2 collective immunity among the population of the Republic of Armenia / A.Yu. Popova, VOL.S. Smirnov, S.A. Egorova [et al.] // Russian Journal of

Infection and Immunity. — 2023. — Vol. 13 (1). — P. 75—90 (In Russ.).

251. SARS-CoV-2 E protein induces Toll like receptor 2-mediated neonatal lung injury in a model of COVID-19 viremia that is rescued by the glucocorticoid ciclesonide / H.L. Menden, S.M. Mabry, A. Venkatraman [et al.] // Am. J. Physiol. Lung. Cell. Mol. Physiol. — 2023. — Vol. 324 (5). – P.L722—L736.

252. SARS-CoV-2 herd immunity of the Kyrgyz population in 2021 / A.Y. Popova, O.T. Kasymov, VOL.Y. Smolenski [et al.] // Med. Microbiol. Immunol. — 2022. — Vol. 211 (4). — P. 195—210.

253. SARS-CoV-2 infection and COVID-19 in asthmatics: a complex relationship / C. Skevaki, H. Renz, A. Karsonova [et al.] // Nature Reviews. Immunology. — 2021. — Т. 21. — № 4. — С. 202—203.

254. SARS-CoV-2 infection and hospitalization among adults aged ≥ 18 years, by vaccination status, before and during SARS-CoV-2 B.1.1.529 (omicron) variant predominance / P. Danza, T.H. Koo, M. Haddix [et al.] // MMWR Morb. Mortal. Wkly. Rep. — 2022. — Vol. 71. — P. 177—181.

255. SARS-CoV-—2 infection induces long—lived bone marrow plasma cells in humans / J.S. Turner, W. Kim, E. Kalaidina [et al.] // Nature. — 2021. — Vol. 595 (7867). — P. 421—425.

256. SARS-CoV-2 infection induces robust, neutralizing antibody responses that are stable for at least three months. July 17, 2020 / A. Wajnberg, F. Amanat, A. Firpo [et al.] // (https: // www.medrxiVol.org/content/10.1101/2020.07.14. 20151126v1. opens in new tab).

257. SARS-CoV-2 natural acquired immunity vs vaccine-induced immunity, reinfections versus breakthrough infections: a retrospective cohort study / S. Gazit, R. Shlezinger, G. Perez [et al.] // Clin. Infect. Dis. — 2022. — Vol. 75 (1). — P. e545—e551.

258. SARS-CoV-2 Omicron variant neutralization in serum from vaccinated and convalescent persons / A. Rossler, L. Riepler, D. Bante [et al.] // N. Engl. J. Med. — 2022. — Vol. 386. — P. 698—700.

259. SARS-CoV-2 Omicron variant: recent progress and future perspectives / Y. Fan,

X. Li, L. Zhang [et al.] // Signal. Transduct. Target. Ther. — 2022. — Vol. 7 (1). — P. 141.

260. SARS-CoV-2 specific serological pattern in healthcare workers of an Italian COVID-19 forefront hospital / G. Sotgiu, A. Barassi, M. Miozzo [et al.] // BMC Pulm. Med. — 2020. — Vol. 20 (1). — P. 203.

261. SARS-CoV-2seroprevalence structure of the russian population during the COVID-19 Pandemic / A.Y. Popova, VOL.S. Smirnov, E.E. Andreeva [et al.] // Viruses. — 2021. — Vol. 13. — P. 1648.

262. SARS-CoV-2-Specific Immune Response and the Pathogenesis of COVID-19 / E. Gusev, A. Sarapultsev, L. Solomatina, VOL. Chereshnev // Int. J. Mol. Sci. — 2022. — Vol. 23 (3). — P. 1716.

263. Savill, J. Fadok Corpse clearance defines the meaning of cell death / J. Savill // Nature. — 2000. — Vol. 407. — P. 784—788.

264. Schmaljohn, C. Hantaan virus M RNA: Coding strategy, nucleotide sequence, and gene order / C. Schmaljohn, A. Schmaljohn, J. Dalrymple // Virol. — 1987. — Vol. 157. — P. 31—39.

265. Score estimate of COVID-19 risks as per socio—hygienic and behavioral indicators / T.S. Isiutina-Fedotkova, D.Yu. Kazieva, VOL.A. Sukhov, O.VOL. Mitrokhin // Health Risk Analysis. — 2021. — Vol. 4. — P. 16—24.

266. Selective and cross-reactive SARS-CoV-2 T cell epitopes in unexposed humans / J., Mateus A. Grifoni, A. Tarke [et al.] // Science. — 2020. — Vol. 370 (6512). — P. 89—94.

267. Selective and cross—reactive SARS—CoV—2 T cell epitopes in unexposed humans / J. Mateus, A. Grifoni, A. Tarke [et al.] // Science. — 2020. — VOL. 370 (6512). — P. 89—94. DOI: 10.1126/science.abd3871.

268. Serology testing in the COVID-19 pandemic response / R.W. Peeling, C.J Wedderburn, P.J. Garcia [et al.] // The Lancet Infectious Diseases. — 2020. — Т. 20. — № 9. — С. e245—e249.

269. Seroprevalence of antibodies to SARS-CoV-2 in children against the background of the COVID-19 epidemic in Russia / A.Y. Popova, VOL.S. Smirnov, E.E. Andreeva

[et al.] // Pediatria n.a. G.N. Speransky. — 2022. — Vol. 101 (3). — P. 85—97.

270. Sethuraman, N. Interpreting Diagnostic Tests for SARS—CoV—2 / N. Sethuraman, S.S. Jeremiah, A. Ryo // JAMA. — 2020. — Vol. 323 (22). — P. 2249—2251.

271. Shenai, M.B. Equivalency of protection from natural immunity in COVID-19 recovered versus fully vaccinated persons: a systematic review and pooled analysis / M.B. Shenai, R. Rahme, H. Noorchashm // Cureus. — 2021. — Vol. 13. — P. e19102.

272. Site—specific glycan analysis of the SARS-CoV-2 spike / Y. Watanabe, J.D. Allen, D. Wrapp [et al.] // Science. — 2020. — Vol. 369 (6501). — P. 330—333.

273. Spilchuk, VOL. Potential risk factors associated with COVID-19 in health care workers / VOL. Spilchuk, VOL.H. Arrandale, J. Armstrong // Occup. Med. (Lond). — 2022. — Vol. 72 (1). — P. 35—42.

274. Stephens, D.S. COVID-19 and the path to immunity / D.S. Stephens, M.J. McElrath // JAMA. — 2020. — Vol. 324 (13). — P. 1279—1281.

275. Study of the antigenic specificity of T—cell immune reactions in response to immunization of laboratory mice with a recombinant adenoviral vector encoding the Spike—protein of SARS—CoV—2 / R.I. Ataullakhanov, E.I. Ushakova, A.VOL. Pichugin [et al.] // Immunologiya. — 2024. — Vol. 45 (1). — P. 33—49.

276. Susceptibility to SARS-CoV-2 infection amongst children and adolescents compared with adults: a systematic review and meta-analysis doi: ttps://doi.org/10.1101/2020.05.20.20108126 / R.M. Viner, O.T. Mytton, Ch. Bonell [et al.] // JAMA Pediatrics. — 2021. — Vol. 175 (2). — P. 143—156.

277. Takeda, K. Toll—like receptors in innate immunity / K. Takeda, S. Akira // Inter. Immunol. — 2005. — Vol. 17. — P. 1—14.

278. Tantuoyir, M.M. Serological tests for COVID-19: Potential opportunities / M.M. Tantuoyir, N. Rezaei // Cell. Biol. Int. — 2021. — Vol. 45. — P. 740—748.

279. Tawfiq, J.A. Asymptomatic coronavirus infection: MERS-CoV and SARS-CoV-2 (COVID-19) / J.A. Tawfiq // Travel. Med. Infect Dis. — 2020. — Vol. 35. — P. 101608.

280. The Novel Coronavirus Pneumonia Emergency Response Epidemiology Team.

The Epidemiological Characteristics of an Outbreak of 2019 Novel Coronavirus Diseases (COVID-19) — China, 2020. // China CDC Weekly. — 2020. — Vol. 2 (8). — P. 113—122.

281. The origin, transmission and clinical therapies on coronavirus disease 2019 (COVID-19) outbreak — an update on the status / Y.R. Guo, Q.D. Cao, Zh.S. Hong [et al.] // Mil. Med. Res. — 2020. — Vol. 7 (1). — P. 11.

282. Thomas, S. The structure of the membrane protein of SARS-CoV-2 resembles the sugar transporter SemiSWEET / S. Thomas // Pathog. Immun. — 2020. — Vol. 5 (1). — P. 342—363.

283. Time course of the sensitivity and specificity of anti-SARS-CoV-2 IgM and IgG antibodies for symptomatic COVID-19 in Japan / Y. Nakano, K. Makoto, M. Yoshifumi [et al.] // Scientific reports. — 2021. — Т. 11. — № 1. — С. 2776.

284. Tyrrell, D.A. Cultivation of viruses from a high proportion of patients with colds / D.A. Tyrrell, M.L. Bynoe // Lancet. — 1966. — Vol. 1 (7428). — P. 76—77.

285. Underwood, A. Problems and pitfalls with measurement of antibody affinity using solid phase binding in the ELISA / A. Underwood // Immunol. Methods. — 1993. — Vol. 164. — P.119–130.

286. Vaccination versus infection with SARS-CoV-2: establishment of a high avidity IgG response versus incomplete avidity maturation / F. Struck, P. Schreiner, E. Staschik [et al.] // J. Med. Virol. — 2021. — Vol. 93 (12). — P. 6765—6777.

287. Van Ginkel, F.W. Vaccines for mucosal immunity to combat emerging infectious diseases / F.W. van Ginkel, H.H. Nguyen, J.R. McGhee // Emerg. Infect. Dis. — 2000. — Vol. 6 (2). — P. 123—132.

288. Virus infection and death receptor—mediated apoptosis / X. Zhou, W. Jiang, Z. Liu [et al.] // Viruses. — 2017. — Vol. 9. — P. 316—350.

289. Zhao, Y. SARS—CoV—2 spike protein interacts with and activates TLR4 / Y. Zhao, M. Kuang // Cell Res. — 2021. — Vol. 31 (7). — P. 818—820.

# ПРИЛОЖЕНИЯ

## ПРИЛОЖЕНИЕ А. ФОРМА АНКЕТЫ (ОПРОСНИК ДЛЯ ВОЛОНТЕРА) ПОПУЛЯЦИОННОЕ СЕРОЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ НА ИНФЕКЦИЮ COVID-19

Анкета А.1. Форма анкеты **(**Опросник для волонтера) Популяционное сероэпидемиологическое исследование на инфекцию COVID-19

НОМЕР ПРОБЫ КРОВИ_____Дата взятия крови _____
Результат тестирования крови _____

| **Персональная информация** | |
|---|---|
| Фамилия | |
| Имя | |
| Отчество | |
| Пол (М/Ж) | |
| Город, *населенный пункт* | |
| Район | |
| С какого года постоянно проживаете в данном регионе? | |
| Дата рождения (число, месяц, год) | |
| Телефон для связи (мобильный) | |
| Место работы (учебы), *должность, род деятельность* | |
| Категория деятельности | медицина<br>наука<br>бизнес<br>образование<br>творчество<br>производство<br>транспорт<br>военная служба<br>гос. служба<br>офис<br>безработные<br>дети<br>прочее (напишите) _____ |
| Медицинский работник | Да<br>Нет |

Продолжение анкеты А.1

| | |
|---|---|
| Категория медицинского работника | Врач , средний медицинский работник<br>Младший медицинский работник ,<br>Прочие<br>указать_____ |
| Вы работник скорой помощи | НЕТ / ДА |
| Вы работник «ковидного» госпиталя | НЕТ / ДА |
| **Специальные вопросы** | |
| Категория по COVID-19 | Переболевший COVID-19<br>Не переболевший COVID-19 |
| Приводили ли Вам ПЦР-анализ на SARS CoV-2? | НЕТ / ДА<br>(дата_____ );<br>*результат: ОТР./ ПОЛ.)* |
| Был ли поставлен диагноз COVID-19? | НЕТ / ДА (указать дату) |
| Были ли у Вас симптомы заболевания COVID-19 | НЕТ/ ДА |
| Дата появления симптомов COVID-19 | Дата |
| *COVID-19, осложнённый пневмоний (заполняется если диагноз COVID-19 был подтверждён)* | НЕТ / ДА |
| Идентификационный номер переболевшего в регистре | |
| Наличие симптомов ОРЗ в день обследования:<br>*насморк*<br>*кашель*<br>*температура*<br>*прочие (указать какие),* | НЕТ/ ДА<br>НЕТ/ ДА<br>НЕТ/ ДА<br>НЕТ/ ДА<br> |
| Дата появления симптомов ОРЗ (день, месяц) | |
| Вопрос для лиц с подтверждённым положительным анализом на COVID-19 (ПЦР или ИФА). Предполагаемый источник заражения. Выбрать один вариант ответа. | Не знаю<br>Родственники<br>Друзья<br>Коллеги по работе<br>Посетители, клиенты и т.п. на работе<br>Пассажиры общественного транспорта<br>Пациенты<br>Медицинский персонал<br>Участники массового мероприятия |
| Предполагаемое место заражения. Выбрать один вариант ответа | По месту жительства<br>На работе<br>На транспорте<br>В медучреждении<br>На массовом мероприятии |

Продолжение анкеты А.1

| | |
|---|---|
| | Профессиональный контакт с животными<br>Другое_____ |
| Были ли в семье или на работе контакты с больными COVID-19? | НЕТ/ ДА (указать когда) |
| На дату заполнения Анкеты Вы находитесь<br>(подчеркнуть нужное): | В стационаре<br>На карантине в обсерваторе<br>На карантине дома<br>Дома (соблюдаю объявленный режим)<br>Продолжаю работать |
| Как часто болеете ОРЗ (выделения из носа, кашель, температура, першение или боль в горле) | Реже 1 раза в год<br>1 раз в год<br>2 раза в год<br>Более 2 раз в год |
| Наличие хронических заболеваний дыхательных путей (выбрать один вариант наиболее сильно выраженный) | Нет<br>Ринит аллергический<br>Бронхиальная астма<br>ХОБЛ<br>Риносинусит<br>Тонзиллит, фарингит<br>Другое |
| Наличие хронических заболеваний | Нет<br>Сахарный диабет<br>Ишемическая болезнь сердца<br>Инфаркт миокарда<br>Гипертоническая болезнь<br>Ожирение |
| *Был ли с января 2020 г. выезд из страны:* | НЕТ / ДА (указать дату возвращения в РФ, из какой страны) |
| *Был ли с января 2020 г. выезд в другие регионы РФ* | НЕТ / ДА (указать дату возвращения в субъект, из какого субъекта) |
| Прививка от пневмококка (пневмококковой инфекции) | Нет<br>Да, не помню какая<br>Да, Превенар<br>Да, Пневмо-23<br>Не знаю |
| Прививка от гриппа | Нет<br>Да, в 2019-2020 гг.<br>Да, до 2019 года |
| Прививались ли Вы против туберкулеза (БЦЖ)? | НЕТ/ ДА<br>Не помню |

Продолжение анкеты А.1

| | |
|---|---|
| Какая у Вас реакция Манту? | Положительная<br>Отрицательная<br>Не помню |
| Курение | Никогда не курил (а)<br>Курю<br>Курил(а) в прошлом |
| Количество проживающих вместе с вами людей (членов семьи), включая вас | Число |
| Проживают ли с вами лица 65 лет и старше? | НЕТ/ ДА |
| Проживают ли с вами дети дошкольного возраста (включая вас)? | НЕТ/ ДА |
| Проживают ли с вами дети школьного возраста (включая вас)? | НЕТ/ ДА |
| Во время весеннего карантина (апрель-май) вы продолжали посещать место работы/учёбы? | НЕТ/ ДА |
| Во время весеннего карантина (апрель-май) продолжали ли посещать место работы/учёбы кто-либо из вашей семьи (проживающих вместе с вами)? | НЕТ/ ДА |
| Если во время весеннего карантина (апрель-май) вы продолжали посещать место работы/учёбы контактировали ли вы в рабочее время с коллегами по работе или населением? | Контактов не было<br>Контакты только с коллегами<br>Контакты в том числе с населением |
| Если во время весеннего карантина (апрель-май) вы продолжали посещать место работы/учёбы и контактировали с коллегами и/или населением - со скольким количеством лиц вы контактировали в среднем в день? | Менее 10 чел.<br>10-25 чел.<br>25-50 чел.<br>Более 50 чел. |
| Пользовались ли вы общественным транспортом до карантина (январь-март)? | Нет<br>Редко (несколько раз в неделю)<br>Регулярно |
| Пользовались ли вы общественным транспортом во время карантина (апрель-май)? | Нет<br>Редко (несколько раз в неделю)<br>Регулярно |
| Принимали ли вы профилактические антивирусные или иммуномодулирующие препараты прошедшей зимой и весной? | Нет<br>Зимой<br>Весной<br>И зимой и весной |

Продолжение анкеты А.1

| | |
|---|---|
| В период работы в медицинских организациях отмечались перебои со средствами индивидуальной защиты | НЕТ/ ДА<br>Иногда |
| Продолжение анкеты А.1 | |
| Какие средства защиты вы использовали для защиты органов дыхания | Маска медицинская<br>Респиратор<br>Маска гигиеническая |
| Готовы вы защитить себя с помощью вакцины против коронавирусной инфекции нового типа | НЕТ/ ДА<br>Не решил (а) |
| Будете ли вы вакцинироваться против гриппа в этом году | НЕТ/ ДА<br>Не решил(а) |
| Будете ли вы вакцинироваться против пневмококковой инфекции | НЕТ/ ДА<br>Не решил(а) |

Дата заполнения Опросника (число, месяц, год)

Согласен на обработку персональных данных _____

# ПРИЛОЖЕНИЕ Б. ФОРМА АНКЕТЫ (ОПРОСНИК ДЛЯ ВОЛОНТЕРА) ДЛЯ УЧАСТНИКА СЕРОЛОГИЧЕСКОГО МОНИТОРИНГА ПОСТВАКЦИНАЛЬНОГО ИММУНИТЕТА К ВИРУСУ SARS-COV-2

Анкета Б.1 - Форма анкеты (Опросник для волонтера) для участника серологического мониторинга поствакцинального иммунитета к вирусу SARS-CoV-2

НОМЕР ПРОБЫ КРОВИ_____
Дата взятия крови _____
Результат тестирования крови _____

| **Персональная информация** | |
|---|---|
| Фамилия | |
| Имя | |
| Отчество | |
| Пол (М/Ж) | |
| Муниципальное образование | |
| Дата рождения (день, месяц,год) | |
| Категория деятельности | медицина<br>наука<br>бизнес<br>образование<br>творчество<br>производство<br>транспорт<br>военная служба<br>гос. служба<br>офис<br>безработные<br>прочее |
| Впишите категорию деятельности, если отметили "Прочее" | |
| **Специальные вопросы** | |
| Какой вакциной вы вакцинировались | ГАМ КОВИД ВАК (Спутник)<br>ЭПИВАК<br>КОВИВАК |
| Почему Вы решили вакцинироваться | Не хочу заболеть<br>Переболел, но не хочу повторно заболеть<br>Заставили на работе |

| Продолжение анкеты Б.1 | |
|---|---|
| Место вакцинации | Поликлиника<br>Выездная прививочная бригада<br>Торговый центр<br>Прочее |
| Впишите место вакцинации, если отметили "Прочее" | |
| Регистрационный номер в Регистре вакцинированных | |
| Дата 1 вакцинации | |
| Дата 2 вакцинации | |
| Были ли у Вас симптомы заболевания COVID-19 до вакцинации | НЕТ/ ДА |
| Был ли поставлен диагноз COVID-19 до вакцинации: НЕТ/ДА, если "Да", укажите дату | НЕТ / ДА (указать дату) |
| Были ли у Вас антитела IgG к SARS-CoV2 до вакцинации, если "Да", укажите титр и дату анализа | НЕТ / ДА (указать дату) |
| Наличие хронических заболеваний дыхательных путей (выбрать один вариант наиболее сильно выраженный) | Нет<br>Ринит аллергический<br>Бронхиальная астма<br>ХОБЛ<br>Риносинусит<br>Тонзиллит, фарингит<br>Другое |
| Впишите хроническое заболевание дыхательных путей, если отметили "Другое" | |
| Наличие хронических заболеваний | Нет<br>Сахарный диабет<br>Ишемическая болезнь сердца<br>Инфаркт миокарда<br>Гипертоническая болезнь<br>Ожирение<br>Эндокринные заболевания<br>Онкология<br>Прочее |
| Впишите хроническое заболевание, если отметили "Прочее" | |

| Продолжение анкеты Б.1 | |
|---|---|
| Общие реакции сразу после введения 1 компонента вакцины (заполняются пациентом после введения I компонента вакцины): | температура, озноб, недомогание, головная боль, прочее *(нужное подчеркните)* |
| Укажите общую реакцию после первой вакцинации, если отметили "Прочее" | |
| Местные реакции сразу после введения 1 компонента вакцины (заполняются пациентом после введения I компонента вакцины): | местные реакции (в месте введения вакцины): уплотнение, покраснение, болезненность в месте введения вакцины *(нужное подчеркните)*<br>Прочее |
| Укажите местную реакцию после первой вакцинации, если отметили "Прочее" | |
| Через какое время после первой прививки были реакции на введение вакцины | Не было<br>Через 2-3 часа<br>через 5-6 часов<br>через 10- 12 часов<br>через сутки |
| Через какое время после первой прививки реакции на введение вакцины прошли | Через 10-12 часов<br>На следующий день<br>Через 2 дня |
| Общие реакции сразу после введения 2 компонента вакцины (заполняются пациентом после введения 2 компонента вакцины): | температура, озноб, недомогание, головная боль, прочее *(нужное подчеркните)* |
| Укажите общую реакцию после второй вакцинации, если отметили "прочее" | |
| Местные реакции сразу после введения 2 компонента вакцины (заполняются пациентом после введения 2 компонента вакцины): | местные реакции (в месте введения вакцины): уплотнение, покраснение, болезненность в месте введения вакцины *(нужное подчеркните)*<br>Прочее |
| Укажите местную реакцию после второй вакцинации, если отметили "прочее" | |
| Через какое время после второй прививки были реакции на введение вакцины | Не было<br>Через 2-3 часа<br>через 5-6 часов<br>через 10- 12 часов<br>через сутки |

| Продолжение анкеты Б.1 | |
|---|---|
| Через какое время после второй прививки реакции на введение вакцины прошли | Через 10-12 часов<br>На следующий день<br>Через 2 дня |
| Принимали ли Вы в течение месяца до прививки следующие лекарственные препараты: глюкокортикостероиды, цитостатики, иммуносупрессоры, моноклональные антитела? Нет/да (указать какие) | нет<br>да (указать какие)_____ |
| Были ли симптомы ОРВИ после вакцинации. Нет/Да | Да, нет |
| Был ли контакт с подтвержденным больным COVID -19 после вакцинации. Нет/Да, если "Да", укажите дату (даты) | Нет<br>Да, на _____сутки<br>после_____прививки |
| Заболели ли Вы COVID -19 после вакцинации. Нет/Да, если "Да", укажите дату | Нет<br>Да, на ____ сутки<br>после_____прививки |

# ПРИЛОЖЕНИЕ В. ФОРМА ИНФОРМИРОВАННОГО СОГЛАСИЯ ДЛЯ УЧАСТНИКА СЕРОЛОГИЧЕСКОГО МОНИТОРИНГА ИММУНИТЕТА К ВИРУСУ COVID-19

Форма
информированного согласия для участника
серологического мониторинга иммунитета к вирусу COVID-19

Я, нижеподписавшийся (шаяся), _____
(ФИО полностью)

Проживающий(ая) по адресу_____,

| |
|---|
| *Этот раздел заполняется только на лиц, не достигших возраста 18 лет или недееспособных граждан.*<br>Являюсь законным представителем (мать, отец, усыновитель, попечитель, опекун)<br>- ФИО полностью _____ |

Даю свое добровольное согласие на свое участие и/или участие моего несовершеннолетнего ребенка в исследовании «Серологический мониторинг за населением в условиях резкого обострения эпидемиологической обстановки по новой коронавирусной инфекции».

**Я** получил(ла) исчерпывающие разъяснения от сотрудника, который обсуждал со мной вопрос о моем участии и/или участии моего несовершеннолетнего ребенка в исследовании, по поводу характера, целей и продолжительности данного исследования.

**Я** подтверждаю, что полностью прочитал(а) и понял(а) прилагаемую информацию. Мне была предоставлена полная и понятная информация для участника исследования. У меня была возможность задать все возникшие вопросы.

**Я** понимаю, что мое участие и/или участие моего несовершеннолетнего ребенка в этом исследовании добровольное. Я могу в любое время и без объяснения причин забрать свое согласие, и это не повлечет никаких нежелательных последствий для моего здоровья и последующего медицинского наблюдения.

**Я** понимаю, что уполномоченные представители контролирующих организаций и этического комитета могут ознакомиться с некоторыми разделами моей и/или моего несовершеннолетнего ребёнка медицинской документации, относящейся к моему участию и/или участию моего ребёнка в данном исследовании. Своей подписью я предоставляю им право доступа к моей и/или моего несовершеннолетнего ребенка медицинской документации.

**Я** понимаю, что в ходе данного исследования будет собрана информация, которая будет рассматриваться как конфиденциальная. Никому и никогда не будет сообщаться мое имя и/или моего несовершеннолетнего ребенка.

**Я** не буду пытаться ограничить возможное использование результатов исследования.

**Я** согласен(на) принять участие в данном исследовании и сотрудничать с врачом-исследователем при необходимости с уполномоченными сотрудниками из его/ее группы.

**Я** даю добровольное согласие на проведение мне и/или моему несовершеннолетнему ребёнку медицинского вмешательства - взятия крови из вены.

**Я** обязуюсь немедленно сообщать обо всех замеченных отклонениях от нормы в состоянии своего здоровья и/или здоровья моего несовершеннолетнего ребенка.

**Я** согласен(на) с тем, что мой участковый врач или другие врачи, ответственные за мое и/или моего несовершеннолетнего ребенка лечение, будут проинформированы о моем и/или моего несовершеннолетнего ребенка участии в данном исследовании.

**Я** согласен(на) с тем, что врач-исследователь может обратиться к моим родственникам или знакомым, лечащему/участковому врачу или другим медицинским специалистам, для получения информации о состоянии моего и/или

моего несовершеннолетнего ребенка здоровья, если это будет необходимо для выполнения данного исследования.

**Я** согласен(на) с тем, что результат моего анализа и/или анализа моего несовершеннолетнего ребенка будет выслан на мою электронную почту, указанную мною в Анкете.

**Я** получил(а) подписанный экземпляр этой Формы информации для пациента и согласия на участие в исследовании.

**Я** подтверждаю свое бессрочное согласие на обработку (сбор, хранение, систематизацию, учет, передачу, накопление, хранение) моих персональных данных и/или персональных данных моего несовершеннолетнего ребенка, а также, в случае участия в исследовании лица, законным представителем которого я являюсь – персональных данных указанного лица, а именно гражданства, фамилии, имени, отчества, пола, места проживания, длительности проживания по месту жительства, даты рождения, номера телефона, адреса электронной почты, места работы, сведений из истории болезни, медицинского диагноза, результатов исследования (равно и иных, связанных с моим здоровьем сведений, либо сведений о состоянии здоровья лица, законным представителем которого я являюсь) для целей исследования.

***Я*** даю свое согласие на использование факсимиле при подписании данного документа.

---

Имя и фамилия пациента (законного представителя) Дата Подпись

---

*ФИО сотрудника,* Дата Подпись

*ответственного за проведение исследования*

# ПРИЛОЖЕНИЕ Г. СЕРОПРЕВАЛЕНТНОСТЬ И СРЕДНЕГЕОМЕТРИЧЕСКИЙ ТИТР АНТИТЕЛ К SARS-COV-2 СРЕДИ ЖИТЕЛЕЙ РАЗНЫХ РАЙОНОВ РЕСПУБЛИКИ ТАТАРСТАН В ПЕРИОД АВГУСТ – ДЕКАБРЬ 2020 Г.

Таблица Г.1 - Серопревалентность к SARS-CoV-2 в различных муниципальных образованиях Республики Татарстан в зависимости от возрастной группы и гендерной принадлежности в период август- декабрь 2020 г.

| Район | Гендер | | Возрастная структура, % | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | мужчин, % | женщин, % | 0-17 | 18-29 | 30-39 | 40-49 | 50-59 | 60-69 | 70+ |
| Агрызский | 23,1 | 76,9 | 9,09 | 9,64 | 21,49 | 29,75 | 14,33 | 12,12 | 3,58 |
| Азнакаевский | 18,8 | 81,2 | 2,69 | 9,41 | 14,29 | 26,22 | 32,61 | 11,76 | 3,03 |
| Аксубаевский | 20,6 | 79,4 | 7,08 | 7,38 | 12,31 | 26,15 | 32,62 | 6,46 | 8,00 |
| Актанышский | 15,2 | 84,8 | 1,32 | 9,24 | 15,18 | 27,39 | 42,24 | 3,63 | 0,99 |
| Алексеевский | 19,6 | 80,4 | 2,08 | 4,17 | 23,33 | 27,08 | 39,17 | 4,17 | 0,00 |
| Алькеевский | 15,5 | 84,5 | 0,00 | 7,73 | 16,91 | 25,60 | 41,55 | 6,76 | 1,45 |
| Альметьевский | 19,0 | 81,0 | 6,31 | 15,06 | 18,98 | 21,81 | 21,07 | 12,49 | 4,27 |
| Апастовский | 21,9 | 78,1 | 8,10 | 4,76 | 11,90 | 24,29 | 37,14 | 9,05 | 4,76 |
| Арский район | 14,3 | 85,7 | 8,96 | 7,94 | 18,13 | 22,40 | 23,42 | 12,83 | 6,31 |
| Атнинский | 21,1 | 78,9 | 8,16 | 14,29 | 14,97 | 21,09 | 18,37 | 14,97 | 8,16 |
| Бавлинский | 20,2 | 79,8 | 8,09 | 10,98 | 12,72 | 26,88 | 23,99 | 13,29 | 4,05 |
| Балтасинский | 14,2 | 85,8 | 5,28 | 6,67 | 16,67 | 28,89 | 36,39 | 5,56 | 0,56 |
| Бугульминский | 24,8 | 75,2 | 12,33 | 14,61 | 15,53 | 13,24 | 14,46 | 14,46 | 15,37 |
| Буинский район | 14,8 | 85,2 | 7,59 | 15,40 | 16,67 | 17,30 | 17,72 | 16,24 | 9,07 |
| Верхнеуслонский | 24,9 | 75,1 | 7,34 | 16,95 | 15,82 | 16,95 | 17,51 | 15,82 | 9,60 |
| Высокогорский | 26,1 | 73,9 | 7,21 | 12,57 | 16,64 | 17,74 | 20,33 | 18,30 | 7,21 |
| Дрожжановский | 20,5 | 79,5 | 7,11 | 14,23 | 13,81 | 21,34 | 18,83 | 15,48 | 9,21 |
| Елабужский | 21,5 | 78,5 | 53,92 | 6,94 | 6,83 | 9,22 | 10,58 | 7,39 | 5,12 |
| Заинский район | 18,8 | 81,2 | 7,89 | 7,55 | 18,29 | 22,99 | 28,02 | 13,42 | 1,85 |
| Зеленодольский | 24,1 | 75,9 | 12,82 | 12,62 | 15,79 | 17,95 | 15,90 | 15,18 | 9,74 |
| Казань | 24,0 | 76,0 | 5,39 | 16,54 | 18,35 | 20,86 | 20,16 | 12,42 | 6,29 |
| Кайбицкий | 14,8 | 85,2 | 6,04 | 16,78 | 16,78 | 16,78 | 17,45 | 16,11 | 10,07 |
| Камско-Устьинский | 20,5 | 79,5 | 7,28 | 9,93 | 18,54 | 20,53 | 38,41 | 5,30 | 0,00 |
| Кукморский | 16,4 | 83,6 | 7,62 | 8,74 | 15,43 | 24,16 | 31,41 | 11,71 | 0,93 |
| Лаишевский | 27,4 | 72,6 | 6,36 | 9,63 | 20,42 | 20,62 | 27,17 | 13,87 | 1,93 |
| Лениногорский | 15,0 | 85,0 | 7,19 | 8,50 | 19,72 | 27,89 | 24,51 | 11,55 | 0,65 |
| Мамадышский | 21,5 | 78,5 | 6,11 | 7,79 | 17,68 | 22,32 | 28,00 | 10,53 | 7,58 |

Продолжение таблицы Г.1

| | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Менделеевский | 17,4 | 82,6 | 5,49 | 7,93 | 16,46 | 24,70 | 33,84 | 10,98 | 0,61 |
| Мензелинский | 25,0 | 75,0 | 7,43 | 16,22 | 16,22 | 15,88 | 16,55 | 17,57 | 10,14 |
| Муслюмовский | 12,4 | 87,6 | 8,11 | 8,11 | 13,51 | 29,73 | 37,30 | 3,24 | 0,00 |
| Набережные Челны | 24,2 | 75,8 | 13,36 | 12,11 | 16,00 | 16,58 | 18,19 | 12,49 | 11,27 |
| Нижнекамский | 16,9 | 83,1 | 7,43 | 9,23 | 19,20 | 24,09 | 27,00 | 12,18 | 0,87 |
| Новошешминский | 20,9 | 79,1 | 6,76 | 3,38 | 16,22 | 22,97 | 26,35 | 7,43 | 16,89 |
| Нурлатский | 8,8 | 91,2 | 4,80 | 5,00 | 17,60 | 29,80 | 36,00 | 6,00 | 0,80 |
| Пестречинский | 17,8 | 82,2 | 6,14 | 7,92 | 23,76 | 23,56 | 25,35 | 12,87 | 0,40 |
| Рыбно-Слободский | 18,4 | 81,6 | 4,80 | 1,77 | 11,11 | 25,25 | 38,89 | 16,67 | 1,52 |
| Сабинский | 18,5 | 81,5 | 6,74 | 6,18 | 20,79 | 26,69 | 32,87 | 4,78 | 1,97 |
| Сармановский | 24,1 | 75,9 | 6,09 | 12,74 | 12,74 | 19,39 | 25,48 | 15,51 | 8,03 |
| Спасский | 14,8 | 85,2 | 6,22 | 4,31 | 14,83 | 27,75 | 31,58 | 14,35 | 0,96 |
| Тетюшский | 28,5 | 71,5 | 7,11 | 16,32 | 15,90 | 17,15 | 17,15 | 16,74 | 9,62 |
| Тукаевский | 23,4 | 76,6 | 5,85 | 12,88 | 14,99 | 16,86 | 27,87 | 16,16 | 5,39 |
| Тюлячинский | 17,3 | 82,7 | 4,67 | 10,00 | 22,67 | 27,33 | 31,33 | 4,00 | 0,00 |
| Черемшанский | 28,8 | 71,2 | 7,21 | 14,42 | 16,83 | 20,19 | 18,75 | 14,42 | 8,17 |
| Чистопольский | 20,1 | 79,9 | 9,90 | 8,36 | 17,92 | 26,96 | 22,18 | 12,97 | 1,71 |
| Ютазинский | 17,5 | 82,5 | 5,66 | 5,66 | 21,23 | 27,83 | 24,53 | 5,66 | 9,43 |
| **Итого** | **21,6** | **78,4** | **7,86** | **12,90** | **17,51** | **21,36** | **22,58** | **12,19** | **5,61** |

# ПРИЛОЖЕНИЕ Д. СЕРОПРЕВАЛЕНТНОСТЬ И СРЕДНЕГЕОМЕТРИЧЕСКИЙ ТИТР АНТИТЕЛ К SARS-COV-2 СРЕДИ ЖИТЕЛЕЙ РАЗНЫХ РАЙОНОВ РЕСПУБЛИКИ ТАТАРСТАН В ПЕРИОД АВГУСТ – ДЕКАБРЬ 2020 Г.

Таблица Д.1 - Серопревалентность и среднегеометрический титр антител к SARS-CoV-2 среди жителей разных районов Республики Татарстан в период август – декабрь 2020 г.

| Район | Позитивны на IgA, M, G к SARS-CoV-2 | Негативны на IgA,M,G к SARS-CoV-2 | Всего | Серопревалентность,% (M±m) | Среднегеометрический титр |
|---|---|---|---|---|---|
| **Высокий уровень серопревалентности 51,2-62,3** | | | | | |
| Арский район | 306 | 185 | 491 | 62,32±2,187 | 20,41 (15,5-26,78) |
| Кукморский | 328 | 210 | 538 | 60,97±2,103 | 17,83 (14,72-21,55) |
| Тюлячинский | 85 | 65 | 150 | 56,67±4,046 | 13,91 (10,41-18,49) |
| Апастовский | 116 | 94 | 210 | 55,24±3,431 | 12,15 (8,92 - 16,43) |
| Ютазинский | 115 | 97 | 212 | 54,25±3,422 | 12,44 (8,73 - 17,55) |
| Муслюмовский | 99 | 86 | 185 | 53,51±3,667 | 12,82 (9,43 - 17,3) |
| Рыбно-Слободский | 211 | 185 | 396 | 53,28±2,507 | 11,42 (10,32-12,63) |
| Алькеевский | 106 | 101 | 207 | 51,21±3,474 | 10,58 (7,17-15,4) |
| **Средний уровень серопревалентности 39,8-47,6** | | | | | |
| Камско-Устьинский | 72 | 79 | 151 | 47,68±4,065 | 7,53 (5,68 - 9,89) |
| Черемшанский | 98 | 110 | 208 | 47,12±3,461 | 7,8 (4,88 - 12,19) |
| Набережные Челны | 1453 | 1653 | 3106 | 46,78±0,895 | 8,17 (6,55 - 10,14) |
| Нурлатский | 226 | 274 | 500 | 45,2±2,226 | 6,64 (5,18 - 8,44) |
| Альметьевский | 1011 | 1286 | 2297 | 44,01±1,036 | 6,29 (4,89 - 8,03) |
| Новошешминский | 65 | 83 | 148 | 43,92±4,079 | 6,55 (4,24 - 9,89) |
| Бугульминский | 284 | 373 | 657 | 43,23±1,933 | 5,5 (3,81 - 7,79) |
| Сармановский | 152 | 209 | 361 | 42,11±2,599 | 7,45 (5,64 - 9,75) |

Продолжение таблицы Д.1

| | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| Тукаевский | 178 | 249 | 427 | 41,69±2,386 | 6,97 (5,65 - 8,55) |
| Спасский | 86 | 123 | 209 | 41,15±3,404 | 5,15 (4,13 - 6,37) |
| Нижнекамский | 1219 | 1770 | 2989 | 40,78±0,899 | 5,35 (4,52 - 6,32) |
| Пестречинский | 201 | 304 | 505 | 39,8±2,178 | 5,06 (4,32 - 5,92) |
| **Умеренный уровень серопревалентности 31,0-38,0** | | | | | |
| Атнинский | 56 | 91 | 147 | 38,1±4,005 | 4,04 (3,18 - 5,08) |
| Сабинский | 133 | 223 | 356 | 37,36±2,564 | 4,16 (2,5 - 6,59) |
| Дрожжановский | 86 | 153 | 239 | 35,98±3,105 | 4,63 (2,75 - 7,44) |
| Актанышский | 108 | 195 | 303 | 35,64±2,751 | 4,78 (4,61 - 4,96) |
| Кайбицкий | 53 | 96 | 149 | 35,57±3,922 | 4 (3,15 - 5,03) |
| Зеленодольский | 332 | 643 | 975 | 34,05±1,518 | 3,76 (2,93 - 4,76) |
| Чистопольский | 191 | 395 | 586 | 32,59±1,936 | 3,49 (2,28 - 5,15) |
| Азнакаевский | 191 | 404 | 595 | 32,1±1,914 | 2,89 (2,2 - 3,73) |
| Мамадышский | 152 | 323 | 475 | 32±2,14 | 3,58 (2,51 - 4,98) |
| Высокогорский | 172 | 369 | 541 | 31,79±2,002 | 3,32 (3,02 - 3,63) |
| Казань | 5425 | 11646 | 17071 | 31,78±0,356 | 3,23 (1,92 - 5,13) |
| Балтасинский | 114 | 246 | 360 | 31,67±2,452 | 3,34 (3,09 - 3,6) |
| Аксубаевский | 102 | 223 | 325 | 31,38±2,574 | 3,6 (2,7 - 4,72) |
| Мензелинский | 92 | 204 | 296 | 31,08±2,69 | 3,82 (3,17 - 4,57) |
| **Низкий уровень серопревалентности 6,8-28,9** | | | | | |
| Менделеевский | 95 | 233 | 328 | 28,96±2,505 | 2,73 (2,17 - 3,4) |
| Заинский | 164 | 432 | 596 | 27,52±1,829 | 2,68 (1,98 - 3,54) |
| Алексеевский | 66 | 174 | 240 | 27,5±2,882 | 2,47 (1,67 - 3,52) |
| Буинский | 125 | 349 | 474 | 26,37±2,024 | 2,19 (1,3 - 3,42) |
| Тетюшский | 62 | 177 | 239 | 25,94±2,835 | 2,38 (1,63 - 3,34) |
| Лениногорский | 229 | 689 | 918 | 24,95±1,428 | 2,34 (1,42 - 3,6) |
| Елабужский | 213 | 666 | 879 | 24,23±1,445 | 2,12 (1,56 - 2,79) |
| Лаишевский | 122 | 397 | 519 | 23,51±1,861 | 2,04 (1,08 - 3,45) |
| Бавлинский | 81 | 265 | 346 | 23,41±2,276 | 1,8 (1,05 - 2,83) |
| Верхнеуслонский | 36 | 141 | 177 | 20,34±3,026 | 1,31 (0,96 - 1,73) |
| Агрызский | 25 | 338 | 363 | 6,89±1,329 | 0,41 (0,21 - 0,65) |
| **Итого** | **14836** | **26608** | **41444** | **35,8±0,235** | 4,2 (4,09 - 4,31) |

# ПРИЛОЖЕНИЕ Е. СЕРОПРЕВАЛЕНТНОСТЬ К SARS-COV-2 СРЕДИ МЕДИЦИНСКИХ РАБОТНИКОВ РАЗНЫХ РАЙОНОВ РЕСПУБЛИКИ ТАТАРСТАН, РАНЖИРОВАННАЯ ПО УРОВНЯМ, В ПЕРИОД АВГУСТ – ДЕКАБРЬ 2020 Г.

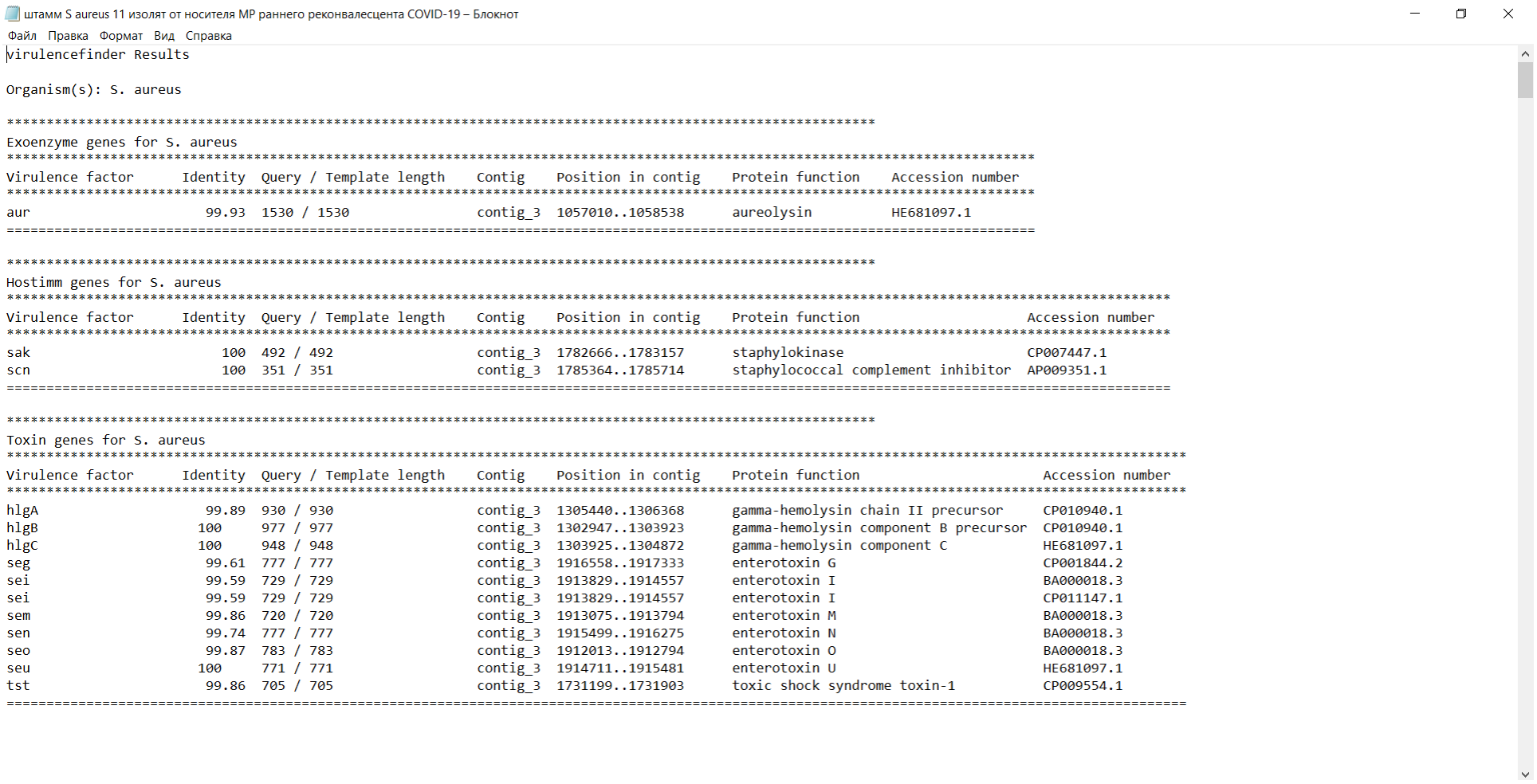
Таблица Е.1 - Серопревалентность к SARS-CoV-2 среди медицинских работников разных районов Республики Татарстан, ранжированная по уровням в период август–декабрь 2020 г.

| Район республики | Позитивны на IgA, M,G к SARS-CoV-2 | Негативны на IgA,M,G к SARS-CoV-2 | Доля серопозитивных, % |
|---|---|---|---|
| **Уровень серопревалентности 53,1-64,4%** | | | |
| Арский | 277 | 153 | 64,42±2,309 |
| Муслюмовский | 92 | 72 | 56,1±3,875 |
| Набережные Челны | 588 | 517 | 53,21±1,501 |
| Тукаевский | 170 | 150 | 53,13±2,79 |
| **Уровень серопревалентности 42,9-49,6%** | | | |
| Черемшанский | 69 | 70 | 49,64±4,241 |
| Ютазинский | 83 | 87 | 48,82±3,834 |
| Камско-Устьинский | 59 | 68 | 46,46±4,426 |
| Нурлатский | 219 | 253 | 46,4±2,295 |
| Сармановский | 119 | 147 | 44,74±3,049 |
| Бугульминский | 146 | 194 | 42,94±2,684 |
| **Уровень серопревалентности 8,9-39,0%** | | | |
| Лаишевский | 16 | 25 | 39,02±7,618 |
| Сабинский | 116 | 185 | 38,54±2,805 |
| Атнинский | 33 | 54 | 37,93±5,202 |
| Кукморский | 3 | 5 | 37,5±17,116 |
| Пестречинский | 22 | 37 | 37,29±6,296 |
| Зеленодольский | 44 | 74 | 37,29±4,452 |
| Альметьевский | 324 | 599 | 35,1±1,571 |
| Нижнекамский | 409 | 785 | 34,25±1,373 |
| Мензелинский | 70 | 138 | 33,65±3,276 |
| Балтасинский | 102 | 218 | 31,88±2,605 |
| Дрожжановский | 40 | 87 | 31,5±4,122 |
| Казань | 1666 | 3934 | 29,75±0,611 |
| Буинский | 100 | 245 | 28,99±2,443 |
| Тетюшский | 40 | 98 | 28,99±3,862 |
| Чистопольский | 138 | 344 | 28,63±2,059 |

Продолжение таблицы Е.1

| | | | |
|---|---|---|---|
| Азнакаевский | 2 | 5 | 28,57±17,075 |
| Аксубаевский | 72 | 192 | 27,27±2,741 |
| Лениногорский | 214 | 619 | 25,69±1,514 |
| Бавлинский | 67 | 203 | 24,81±2,629 |
| Агрызский | 22 | 223 | 8,98±1,826 |
| Итого по РТ: | 5342 | 9821 | 35,23±0,388 |

# ПРИЛОЖЕНИЕ Ж. ШТАММ S. AUREUS 11 ИЗОЛЯТ ОТ НОСИТЕЛЯ – МЕДИЦИНСКОГО РАБОТНИКА ВРЕМЕННОГО ИНФЕКЦИОННОГО ГОСПИТАЛЯ В ПЕРИОД РАННЕЙ РЕКОНВАЛЕСЦЕНЦИИ COVID-19



штамм S aureus 11 изолят от носителя МР раннего реконвалесцента COVID-19 – Блокнот

Файл Правка Формат Вид Справка

virulencefinder Results

Organism(s): S. aureus

Exoenzyme genes for S. aureus

| Virulence factor | Identity | Query / Template length | Contig | Position in contig | Protein function | Accession number |
|---|---|---|---|---|---|---|
| aur | 99.93 | 1530 / 1530 | contig_3 | 1057010..1058538 | aureolysin | HE681097.1 |

Hostimm genes for S. aureus

| Virulence factor | Identity | Query / Template length | Contig | Position in contig | Protein function | Accession number |
|---|---|---|---|---|---|---|
| sak | 100 | 492 / 492 | contig_3 | 1782666..1783157 | staphylokinase | CP007447.1 |
| scn | 100 | 351 / 351 | contig_3 | 1785364..1785714 | staphylococcal complement inhibitor | AP009351.1 |

Toxin genes for S. aureus

| Virulence factor | Identity | Query / Template length | Contig | Position in contig | Protein function | Accession number |
|---|---|---|---|---|---|---|
| hlgA | 99.89 | 930 / 930 | contig_3 | 1305440..1306368 | gamma-hemolysin chain II precursor | CP010940.1 |
| hlgB | 100 | 977 / 977 | contig_3 | 1302947..1303923 | gamma-hemolysin component B precursor | CP010940.1 |
| hlgC | 100 | 948 / 948 | contig_3 | 1303925..1304872 | gamma-hemolysin component C | HE681097.1 |
| seg | 99.61 | 777 / 777 | contig_3 | 1916558..1917333 | enterotoxin G | CP001844.2 |
| sei | 99.59 | 729 / 729 | contig_3 | 1913829..1914557 | enterotoxin I | BA000018.3 |
| sei | 99.59 | 729 / 729 | contig_3 | 1913829..1914557 | enterotoxin I | CP011147.1 |
| sem | 99.86 | 720 / 720 | contig_3 | 1913075..1913794 | enterotoxin M | BA000018.3 |
| sen | 99.74 | 777 / 777 | contig_3 | 1915499..1916275 | enterotoxin N | BA000018.3 |
| seo | 99.87 | 783 / 783 | contig_3 | 1912013..1912794 | enterotoxin O | BA000018.3 |
| seu | 100 | 771 / 771 | contig_3 | 1914711..1915481 | enterotoxin U | HE681097.1 |
| tst | 99.86 | 705 / 705 | contig_3 | 1731199..1731903 | toxic shock syndrome toxin-1 | CP009554.1 |

Рисунок Ж.1 - Штамм *S. aureus* 11 изолят от носителя – медицинского работника временного инфекционного госпиталя в период ранней реконвалесценции COVID-19

# ПРИЛОЖЕНИЕ И. ШТАММ S. AUREUS 12 ИЗОЛЯТ ОТ НОСИТЕЛЯ МЕДИЦИНСКОГО РАБОТНИКА ВРЕМЕННОГО ИНФЕКЦИОННОГО ГОСПИТАЛЯ В ПЕРИОД ПОЗДНЕЙ РЕКОНВАЛЕСЦЕНЦИИ COVID-19

штамм S aureus 12 изолят от носителя МР позднего реконвалесцента COVID-19 – Блокнот

Файл Правка Формат Вид Справка

virulencefinder Results

Organism(s): S. aureus

Toxin genes for S. aureus

| Virulence factor | Identity | Query / Template length | Contig | Position in contig | Protein function | Accession number |
|---|---|---|---|---|---|---|
| hlgA | 99.68 | 930 / 930 | contig_1 | 844518..845447 | gamma-hemolysin chain II precursor | AP014942.1 |
| hlgA | 99.68 | 930 / 930 | contig_1 | 844518..845447 | gamma-hemolysin chain II precursor | CP006630.1 |
| hlgB | 100 | 977 / 977 | contig_1 | 842026..843002 | gamma-hemolysin component B precursor | BA000033.2 |
| hlgC | 99.58 | 948 / 948 | contig_1 | 843004..843951 | gamma-hemolysin component C | CP001996.1 |
| lukD | 99.09 | 984 / 984 | contig_1 | 1412215..1413197 | leukocidin D component | BA000018.3 |
| lukE | 99.79 | 936 / 936 | contig_1 | 1411278..1412213 | leukocidin E component | AP014942.1 |
| sec | 99.88 | 801 / 801 | contig_1 | 2421591..2422390 | enterotoxin C | AB860417.1 |
| sec3 | 99.88 | 801 / 801 | contig_1 | 2421591..2422390 | - | M28364.1 |
| sel | 99.17 | 723 / 723 | contig_1 | 2420704..2421424 | enterotoxin L | AF217235.1 |
| sel | 99.17 | 723 / 723 | contig_1 | 2420704..2421424 | enterotoxin L | BA000018.3 |
| sep | 100 | 778 / 778 | contig_1 | 1279293..1280070 | enterotoxin P | KF831354.1 |

Exoenzyme genes for S. aureus

| Virulence factor | Identity | Query / Template length | Contig | Position in contig | Protein function | Accession number |
|---|---|---|---|---|---|---|
| aur | 99.8 | 1530 / 1530 | contig_1 | 605621..607150 | aureolysin | AP014653.1 |
| splA | 99.86 | 713 / 713 | contig_1 | 1417330..1418042 | serine protease splA | CP003194.1 |
| splB | 99.72 | 723 / 723 | contig_1 | 1418167..1418889 | serine protease splB | AP014942.1 |
| splE | 98.61 | 717 / 717 | contig_1 | 1420664..1421380 | serine protease splE | AP014942.1 |

Hostimm genes for S. aureus

| Virulence factor | Identity | Query / Template length | Contig | Position in contig | Protein function | Accession number |
|---|---|---|---|---|---|---|
| sak | 100 | 492 / 492 | contig_1 | 1281878..1282369 | staphylokinase | BA000017.4 |
| scn | 100 | 351 / 351 | contig_1 | 1283862..1284212 | staphylococcal complement inhibitor | LC032460.1 |

Рисунок И.1 - Штамм *S. aureus* 12 изолят от носителя медицинского работника временного инфекционного госпиталя в период поздней реконвалесценции COVID-19

# ПРИЛОЖЕНИЕ К. ШТАММ S. AUREUS 12 МОЛЕКУЛЯРНО - ГЕНЕТИЧЕСКИЙ ПРОФИЛЬ АНТИБИОТИКОРЕЗИСТЕНТНОСТИ ШТАММА

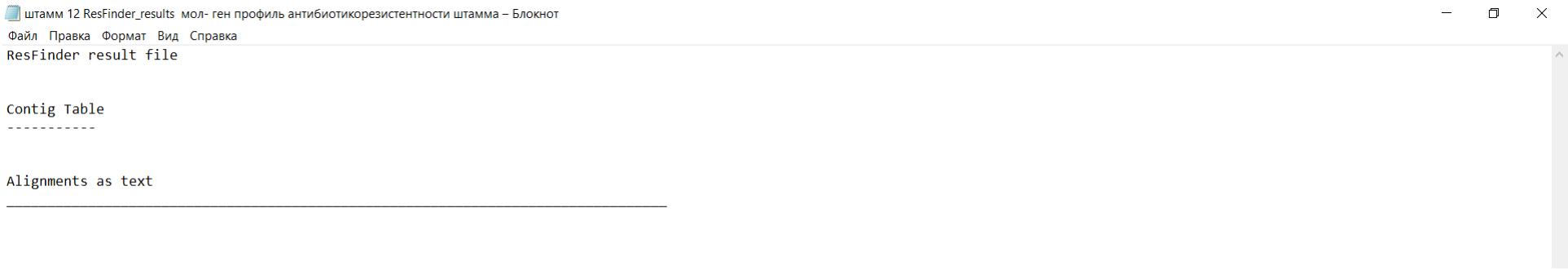
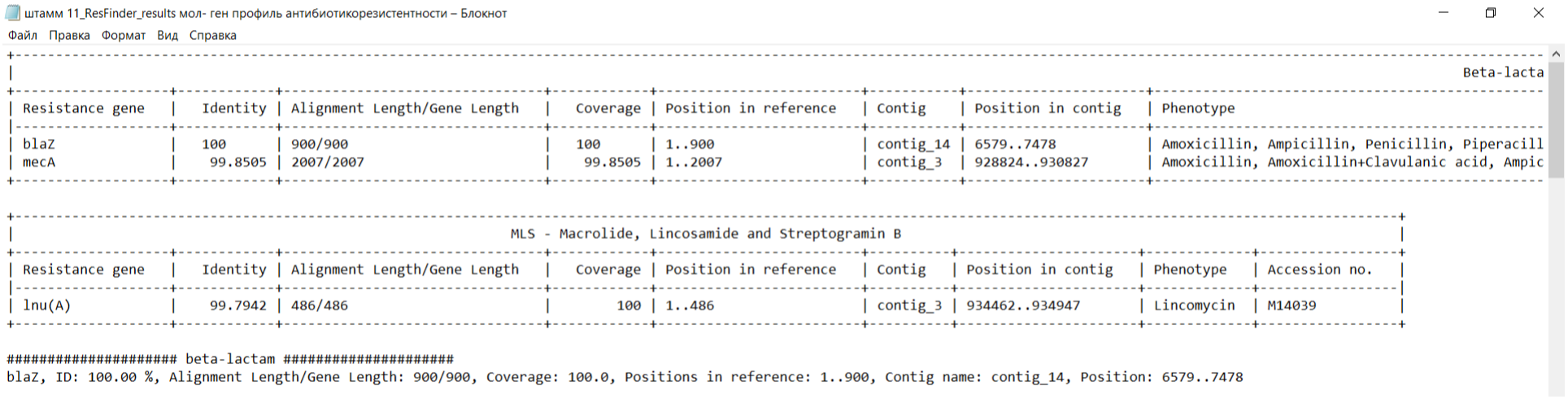



Рисунок К.1 - Штамм *S. aureus* 12 молекулярно - генетический профиль антибиотикорезистентности штамма

# ПРИЛОЖЕНИЕ Л. ШТАММ S. AUREUS 11 МОЛЕКУЛЯРНО- ГЕНЕТИЧЕСКИЙ ПРОФИЛЬ АНТИБИОТИКОРЕЗИСТЕНТНОСТИ ШТАММА



штамм 11_ResFinder_results мол- ген профиль антибиотикорезистентности – Блокнот

Файл Правка Формат Вид Справка

| | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | | | | Beta-lacta |
| Resistance gene | Identity | Alignment Length/Gene Length | Coverage | Position in reference | Contig | Position in contig | Phenotype |
| blaZ | 100 | 900/900 | 100 | 1..900 | contig_14 | 6579..7478 | Amoxicillin, Ampicillin, Penicillin, Piperacill |
| mecA | 99.8505 | 2007/2007 | 99.8505 | 1..2007 | contig_3 | 928824..930827 | Amoxicillin, Amoxicillin+Clavulanic acid, Ampic |

| | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| MLS - Macrolide, Lincosamide and Streptogramin B | | | | | | | | |
| Resistance gene | Identity | Alignment Length/Gene Length | Coverage | Position in reference | Contig | Position in contig | Phenotype | Accession no. |
| lnu(A) | 99.7942 | 486/486 | 100 | 1..486 | contig_3 | 934462..934947 | Lincomycin | M14039 |

###################### beta-lactam ######################

blaZ, ID: 100.00 %, Alignment Length/Gene Length: 900/900, Coverage: 100.0, Positions in reference: 1..900, Contig name: contig_14, Position: 6579..7478

Рисунок Л.1 - Штамм *S. aureus* 11 молекулярно- генетический профиль антибиотикорезистентности штамма