

На правах рукописи

ПЫЛАЕВА
София Константиновна

**ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ И ПРОГНОСТИЧЕСКИЕ МАРКЕРЫ ПРИ ИНФЕКЦИИ,
ВЫЗВАННОЙ ВИРУСОМ SARS-CoV-2, В РАЗЛИЧНЫЕ ПЕРИОДЫ
ПАНДЕМИИ**

1.5.10. Вирусология
3.1.22. Инфекционные болезни

АВТОРЕФЕРАТ
диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Москва - 2026

Работа выполнена в Федеральном государственном автономном научном учреждении «Федеральный научный центр исследований и разработки иммунобиологических препаратов им. М.П. Чумакова РАН» (Институт полиомиелита).

Научные руководители:

Козловская Любовь Игоревна – доктор биологических наук.

Еровиченков Александр Анатольевич – доктор медицинских наук, профессор.

Официальные оппоненты:

Файзулов Евгений Бахтиерович – доктор биологических наук, заведующий лабораторией прикладной вирусологии Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова» Министерства науки и высшего образования Российской Федерации.

Климова Елена Анатольевна – доктор медицинских наук, доцент, профессор кафедры инфекционных болезней и эпидемиологии Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Российский университет медицины» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Ведущая организация:

Федеральное бюджетное учреждение науки «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии имени Пастера» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека Российской Федерации.

Защита состоится «___» _____ 2026 года в _____ час. на заседании диссертационного совета 24.1.255.01 на базе Федерального государственного автономного научного учреждения «Федеральный научный центр исследований и разработки иммунобиологических препаратов им. М.П. Чумакова РАН» (Институт полиомиелита) по адресу: 108819, город Москва, вн.тер.г. муниципальный округ Филимонковский, поселок Института полиомиелита, дом 8, корпус 1.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ФГАНУ «ФНЦИРИП им. М.П. Чумакова РАН» (Институт полиомиелита) по адресу: 108819, город Москва, вн.тер.г. муниципальный округ Филимонковский, поселок Института полиомиелита, дом 8, корпус 1 и на сайте: <https://chumakovs.ru>

Автореферат разослан «___» _____ 20__ г.

Учёный секретарь
диссертационного совета,
кандидат биологических наук

Белякова Алла Владимировна

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы исследования

С начала пандемии COVID-19 (Coronavirus Disease, 2019) в мире было зарегистрировано свыше 767 млн подтверждённых случаев новой коронавирусной инфекции и более 7 млн летальных исходов от данного заболевания (Johns Hopkins COVID-19 Resources 01.10.2023). Несмотря на официальный переход к постпандемийному периоду (с 5 мая 2023 года), продолжает регистрироваться высокий уровень заболеваемости, который оказывает значительное социально-экономическое влияние и создает нагрузку на системы здравоохранения, тогда как вирус SARS-CoV-2 продолжает эволюционировать, находя новые способы ухода от постинфекционного и поствакцинального ответа (ВОЗ 01.07.2025).

Понимание механизмов иммунного ответа при COVID-19, включая спектр нейтрализующей активности сывороток, который формируется в результате контакта с одним вариантом вируса, и его способности противостоять мутантным вариантам имеет важное практическое значение для оценки эффективности существующих вакцин, прогнозирования тяжести течения заболевания при первичном и повторном инфицировании, а также для разработки новых лечебных мероприятий (Du L. 2021; Suthar M.S. 2020).

В условиях массовой заболеваемости COVID-19 важно свести к минимуму количество ложноположительных результатов серологических исследований, особенно в процессе скрининговых обследований групп риска. Отсутствие четкого алгоритма действий для пациентов, получивших ложноположительный результат определения IgM антител к вирусу SARS-CoV-2, создает значительные трудности в доступе к плановой медицинской помощи, а также приводит к дополнительным финансовым издержкам, оказывая негативное влияние на систему здравоохранения в целом (Kumleben N. 2020; Deeks J.J. 2020). С другой стороны, чёткое определение IgG антител, сформировавшихся во время циркуляции различных вариантов вируса, важно для понимания эффективности вакцин, прогнозирования тяжести течения заболевания и для мониторинга состояния популяционного иммунитета.

Ключевым направлением исследований также остаётся поиск и валидация доступных лабораторных маркеров, позволяющих прогнозировать тяжесть течения COVID-19. Это имеет первостепенное значение для маршрутизации пациентов и повышения эффективности лечебных стратегий, а также может быть использовано в будущем для улучшения работы в случае возникновения новой пандемии (Lombardi Y. 2021; Wynants L. 2021).

Значимым ограничением клинического применения существующих прогностических шкал является отсутствие унифицированных пороговых значений оцениваемых показателей и высокая вариабельность референсных интервалов, определяемая используемыми диагностическими реагентами и аналитическим оборудованием. Указанные обстоятельства свидетельствуют о недостаточной степени валидации данных инструментов и существенно затрудняют проведение сравнительного анализа результатов различных исследований, а также разработку стандартизированных алгоритмов диагностики и лечебной тактики. В связи с этим сохраняется необходимость проведения дальнейших исследований, направленных на уточнение и унификацию прогностических критериев течения COVID-19.

Лактатдегидрогеназа (ЛДГ) является универсальным биохимическим индикатором цитолиза, отражающим степень органного повреждения, уровень гипоксии и выраженность метаболического стресса в тканях (Chen H. 2021). Установление пороговых значений ЛДГ создаёт предпосылки её использования в качестве доступного стандартизированного теста при прогнозировании неблагоприятного течения COVID-19. Изучение изоферментного спектра данного фермента позволит уточнить преимущественный локус поражения при новой коронавирусной инфекции, что дополнительно может повысить его диагностическую значимость (Guo L. 2020).

Комплексная оценка динамики специфического иммунного ответа к вирусу SARS-CoV-2 и поиск надежных прогностических маркеров образуют целостную научную задачу, решение которой стало основным направлением данного исследования.

Степень разработанности темы

Изучение особенностей иммунного ответа при новой коронавирусной инфекции остается актуальной проблемой современной вирусологии и медицины. Значительный вклад в понимание механизмов формирования гуморального иммунитета против SARS-CoV-2 внесли исследования, посвященные особенностям накопления и специфичности иммуноглобулинов классов M, A и G, а также роли вируснейтрализующих и ненейтрализующих антител в формировании защитного иммунного ответа. В ранних исследованиях была продемонстрирована динамика формирования перекрестного иммунитета, а также показана его недостаточная эффективность в отношении новых вариантов вируса. Однако способность антител, индуцированных исходными вариантами SARS-

CoV-2, нейтрализовать современные варианты остается открытым и имеет важное значение в разработке эффективных мер профилактики COVID-19.

Отдельное направление исследований касается проблемы диагностики и прогноза течения COVID-19. В ходе пандемии было выявлено множество биомаркеров, функционирующих в качестве предикторов тяжелого течения новой коронавирусной инфекции. С изменением циркулирующих вариантов вируса прогностическая значимость многих биомаркеров претерпела изменения.

Ключевой проблемой валидации прогностических шкал является отсутствие унифицированных пороговых уровней и высокая вариабельность референсных интервалов, что существенно ограничивает их клиническую применимость. Это обстоятельство подчеркивает необходимость установления прогностических маркеров и определения стандартизированных референсных значений для их применения в актуальной эпидемиологической ситуации.

Ещё одним мало затронутым направлением является проблема определения ложноположительных результатов тестирования на антитела IgM к вирусу SARS-CoV-2. Исследования данного вопроса ограничены отдельными клиническими наблюдениями, в основном касающимися пациентов с аутоиммунными заболеваниями. В представленных работах отсутствует унифицированный алгоритм для верификации сомнительных результатов, что приводит к диагностической неопределенности, особенно в условиях массового скрининга уязвимых групп населения (пожилые люди, пациенты с хроническими заболеваниями). Данная ситуация подчеркивает необходимость глубокого изучения клинико-лабораторных характеристик пациентов с ложноположительными результатами, а также разработки эффективных подходов к их интерпретации. Это направление является одним из ключевых аспектов настоящего исследования.

Значительное число исследований ограничено периодом от 2020 года до 2022 года и не включает данные о новых подвариантах варианта Омикрон (BA.4; BA.5; XBB 1.9), которые оказывали существенное влияние на эпидемиологическую ситуацию в 2023 году. В связи с этим, сохраняется потребность в обновленных данных, отражающих реальную картину иммунной защиты населения в условиях эволюции коронавируса.

Учитывая вышеизложенное, можно сделать заключение, что несмотря на наличие многочисленных исследований, часть проблем, связанных с оценкой гуморального иммунного ответа, диагностикой ложноположительных результатов и прогнозированием тяжести течения COVID-19, остается нерешенной. Это

определяет научную и практическую значимость настоящей работы, направленной на восполнение выявленных пробелов.

Цель исследования: изучение особенностей гуморального иммунного ответа на вирус SARS-CoV-2 и его диагностики во время пандемии (2019–2023 гг.) и после нее (2023–2025 гг.), а также оценка клинико-лабораторных маркеров для прогнозирования течения новой коронавирусной инфекции.

Для достижения цели необходимо было решить следующие **задачи**:

1. выявить пациентов с ложноположительными результатами определения IgM антител к вирусу SARS-CoV-2 и разработать алгоритм верификации сомнительных результатов;
2. выделить изоляты вариантов вируса SARS-CoV-2, циркулировавших в московском регионе (Москва и Московская область) в 2022–2025 гг., для получения тест-штаммов для постановки реакции нейтрализации и получить частичные нуклеотидные последовательности их геномов (ген S) для анализа смены доминирующих вариантов;
3. провести анализ нейтрализующей активности сывороток крови пациентов с COVID-19 в зависимости от времени инфицирования по отношению к выделенным тест-штаммам разных вариантов вируса SARS-CoV-2;
4. проанализировать корреляцию между уровнями специфических антител класса IgG к вирусу SARS-CoV-2, определяемых стандартными тест-системами (Mindray CL-2000, Китай), и титрами вируснейтрализующих антител в различные периоды пандемии;
5. оценить прогностическую значимость лейкоцитарных индексов и биохимических показателей для оценки риска тяжелого течения COVID-19 в различные периоды пандемии;
6. установить прогностическую значимость общей активности лактатдегидрогеназы и ее изоферментного спектра для оценки риска неблагоприятного течения COVID-19, включая развитие органических поражений.

Научная новизна

Впервые предложен алгоритм действий при подозрении на выявление ложноположительных IgM к вирусу SARS-CoV-2. Впервые на репрезентативной выборке продемонстрировано отсутствие статистически значимой связи между некоторыми аутоиммунными заболеваниями и ложноположительными результатами определения IgM к вирусу SARS-CoV-2.

На обширной когорте российских пациентов (Москва и Московская область) впервые представлена динамика перекрестной нейтрализующей активности сывороток крови в культуре клеток Vero с изолятами вируса SARS-CoV-2, соответствующими последовательно сменявшимся вариантам вируса в 2020–2025 гг.

Впервые количественно охарактеризована корреляционная взаимосвязь между уровнем IgG антител к вирусу SARS-CoV-2, определяемым с использованием стандартной тест-системы (Mindray CL-2000, Китай), и титрами вируснейтрализующих антител.

Впервые установлено, что прогностически значимыми критериями тяжелого течения COVID-19, сохраняющими свою информативность независимо от циркулирующего варианта вируса, являются уровни ЛДГ, D-димера, С-реактивного белка и индекс соотношения нейтрофилов к лимфоцитам.

Впервые на репрезентативной выборке пациентов с COVID-19 количественно определено и унифицировано пороговое значение общей активности ЛДГ, превышение которого служит независимым предиктором высокого риска неблагоприятного исхода заболевания.

Впервые изучен и охарактеризован изоферментный спектр ЛДГ у пациентов с тяжелым течением COVID-19. Показано, что определение изоферментного спектра ЛДГ является методом, позволяющим идентифицировать пациентов с высоким риском полиорганной недостаточности и неблагоприятного исхода COVID-19.

Теоретическая и практическая значимость работы

В работе обоснована необходимость корректного подхода к интерпретации титров IgG и IgM к вирусу SARS-CoV-2 у лиц, перенесших инфекцию, в контексте оценки риска заражения новыми вариантами вируса SARS-CoV-2.

Выявлено несоответствие между уровнями вируснейтрализующих антител и результатами стандартных тестов на выявление антител класса IgG к вирусу SARS-CoV-2. Подчеркнута необходимость актуализации прогностических шкал течения заболевания в условиях смены доминирующих вариантов вируса SARS-CoV-2. Установлено прогностическое пороговое значение уровня ЛДГ, позволяющее использовать данный показатель для оценки риска неблагоприятного течения COVID-19. Показано, что определение изоферментного спектра ЛДГ может быть рекомендовано в качестве дополнительного метода ранней идентификации пациентов, относящихся к группе высокого риска. В ходе исследования также были выделены два изолята

коронавируса, нуклеотидные последовательности которых внесены в международную базу данных GISAID (EPI_ISL_19062522; EPI_ISL_19062520), что имеет практическое значение для мониторинга эволюции вируса, прогнозирования эпидемической ситуации и анализа региональных особенностей его циркуляции.

Методология и методы исследования

Особенностью работы является комплексный методический подход на основе сочетания анализа данных медицинских карт пациентов, госпитализированных с диагнозом U07.1 — «Коронавирусная инфекция, вызванная вирусом COVID-19, вирус идентифицирован» с современными клинико-лабораторными, вирусологическими и серологическими методами исследования гуморального иммунного ответа. Результаты исследований были обработаны с использованием современных и адекватно подобранных методов статистического анализа для получения корректных корреляций и обоснованных выводов.

Положения, выносимые на защиту

1. Подтверждением ложноположительного характера результатов определения IgM к вирусу SARS-CoV-2 служит отсутствие сероконверсии (появления IgG) при повторном исследовании. Ложноположительные результаты IgM к вирусу SARS-CoV-2 не ассоциированы с аутоиммунной патологией.
2. Создана коллекция тест-штаммов вируса SARS-CoV-2, представляющая варианты, циркулировавшие с 2020 по 2025 гг. в московском регионе (г. Москва и Московская область), для оценки гуморального иммунного ответа в реакции нейтрализации в культуре клеток Vero.
3. Сыворотки крови пациентов, перенёсших COVID-19 в период циркуляции варианта Дельта (B.1.617.2), обладают более широким спектром вируснейтрализующей активности по сравнению с сыворотками переболевших ранними вариантами вируса SARS-CoV-2. При этом возрастные группы старше 60 лет демонстрируют сопоставимые титры вируснейтрализующих антител с группой лиц до 45 лет на исследованной выборке пациентов.
4. Выявлена слабая положительная корреляция между уровнем антител класса IgG к вирусу SARS-CoV-2, определяемым стандартной коммерческой тест-системой (Mindray CL-2000; иммунохемилюминесцентный анализ), применяемой в стационаре на момент госпитализации пациентов, и титрами вируснейтрализующих антител к циркулирующему варианту вируса. Со сменой варианта вируса коэффициент корреляции изменяется, но корреляция остается

слабо положительной.

5. Прогностически значимыми критериями тяжести течения COVID-19 независимо от циркулирующего варианта являются уровни лактатдегидрогеназы, D-димера и С-реактивного белка, а также индекс соотношения нейтрофилов к лимфоцитам, тогда как корреляция между титрами вируснейтрализующих антител и тяжестью заболевания статистически не была подтверждена.
6. Изменения в соотношении изоферментов лактатдегидрогеназы (снижение лактатдегидрогеназы 1 и лактатдегидрогеназы 2 при увеличении лактатдегидрогеназы 3, лактатдегидрогеназы 4) на 9 сутки заболевания являются значимыми прогностическими маркерами неблагоприятного течения COVID-19, включая риск госпитализации в отделение реанимации и интенсивной терапии, длительного пребывания в стационаре и летального исхода, особенно у пациентов старше 60 лет.

Степень достоверности и апробация результатов

Достоверность полученных результатов обеспечивается воспроизводимостью данных, длительным периодом наблюдения, адекватным формированием исследуемых когорт, использованием современных методов исследования и корректной статистической обработкой. Выводы и практические рекомендации обоснованы полученными результатами и соответствуют цели и задачам исследования.

Основные положения диссертации представлены и обсуждены на X и XI Всероссийских междисциплинарных научно-практических конференциях с международным участием «Социально-значимые и особо опасные инфекционные заболевания» (Сочи, 2023, 2024), XVI Ежегодном Всероссийском конгрессе по инфекционным болезням имени академика В.И. Покровского «Инфекционные болезни в современном мире: эволюция, текущие и будущие угрозы» (Москва, 2024), а также на Всероссийских научно-практических конференциях с международным участием «Актуальные вопросы профилактики инфекционных и неинфекционных болезней: эпидемиологические, организационные и гигиенические аспекты» (Москва, 2024) и «Актуальные вопросы профилактики инфекционных болезней: эпидемиологические, организационные и гигиенические аспекты» (Москва, 2025).

Личный вклад автора

Автором принято участие в планировании и разработке дизайна исследования, определении цели и задач работы. Автор координировал

взаимодействие с медицинскими учреждениями, контролировал соблюдение этических стандартов и требований биобезопасности. Сбор данных осуществлялся автором из медицинской документации и анкетирования персонала. Вирусологическое исследование проводилось совместно с сотрудниками ФГАНУ «ФНЦИРИП им. М.П. Чумакова РАН» (Институт полиомиелита), а серологические исследования выполнялись клинικο-диагностическими подразделениями. Автор систематизировал данные, провел статистический анализ и сформулировал выводы, подготовил статьи к публикации и представил данные на конференциях и конгрессах.

Соответствие диссертации паспортам научных специальностей

По тематике, методам исследования и полученным научным результатам диссертация соответствует пунктам 7 и 10 паспорта научной специальности 1.5.10. Вирусология (медицинские науки), а также пунктам 2 и 3 паспорта научной специальности 3.1.22. Инфекционные болезни (медицинские науки).

Публикации

По теме диссертационного исследования опубликовано 5 печатных работ, из них 3 – научные статьи и 1 – научный обзор опубликованы в журналах из перечня рецензируемых научных изданий, рекомендованных ВАК для публикаций основных научных результатов диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук. Представленные научные работы индексируются в международных базах Scopus и RSCI, а также опубликована 1 глава монографии.

Структура и объем диссертации

Диссертационная работа изложена на 122 страницах машинописного текста и состоит из введения и трех глав основной части диссертации, включая обзор литературы, материалы и методы, результаты и их обсуждение, заключение, выводы, практические рекомендации, перспективы дальнейшей разработки темы, список сокращений и условных обозначений, список литературы, содержащий 153 источника (24 отечественных и 129 зарубежных авторов) и приложение А. Работа иллюстрирована 31 таблицей, 13 рисунками и 4 клиническими наблюдениями (Приложение А).

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Материалы методы исследования

Исследование, охватывающее период с 2020 по 2025 гг., состояло из четырех частей. В первой части проанализировали ложноположительные результаты антител к SARS-CoV-2 с участием 99 человек из ГБУЗ «МКНИЦ

Больница 52 ДЗМ»: основная группа — медицинские работники с положительными IgM и отрицательными IgG; негативная контрольная группа — сотрудники с отрицательными результатами; позитивная контрольная группа — пациенты с COVID-19. Во второй части изучали эволюцию SARS-CoV-2 и создавали набор штаммов разных вариантов вируса. Сбор проб назофарингеальных мазков осуществлялся в день поступления пациентов в стационары ГБУЗ «ММКЦ «Коммунарка» (2021–2023 гг.) и ГБУЗ «ИКБ №1 ДЗМ» (2024–2025 гг.), с последующим выделением вируса в культуре клеток и его генетической характеристикой. В третьей части проводили анализ вируснейтрализующей активности сывороток пациентов с COVID-19, поступивших в ГБУЗ «ММКЦ «Коммунарка» ДЗМ». В четвёртой части исследования искали прогностические маркеры тяжелого течения COVID-19.

Вirus SARS-CoV-2 выделяли из назофарингеальных мазков в клетках Vero. Реакция нейтрализации проводилась в культуре Vero с сыворотками пациентов (1:8-1:1024). Для секвенирования гена S вирусную РНК выделяли из суспензии клеток, фрагмент генома амплифицировали с помощью OneStep RT-PCR Kit (QuantaBio, США) со специфическими праймерами, секвенирование проводили на секвенаторе ABI PRISM 3100. Антитела к SARS-CoV-2 определяли методами иммунохроматографического анализа (ИХА, Inzek International, Нидерланды), иммуноферментного анализа (ИФА, Euroimmun AG, Германия; Beijing Wantai Biological Pharmacy Enterprise, Китай) и иммунохемилюминесцентного анализа (ИХЛА, Mindray CL-2000 (лот 1, №105-019882-00; лот 2, №105-019881-00)). Уровни биохимических маркеров определяли на анализаторе Beckman Coulter AU 680. Статистическую обработку данных проводили с использованием MS Excel и IBM SPSS Statistics, считая различия значимыми при $p \leq 0,05$.

Характеристика пациентов с ложноположительными результатами определения IgM к вирусу SARS-CoV-2

В период пандемии COVID-19 в стационарах был внедрен протокол скрининга медицинских работников с еженедельным тестированием на наличие РНК вируса SARS-CoV-2 и определением антител. Выявлялась группа лиц с IgM к SARS-CoV-2, но без последующей сероконверсии в IgG. Несмотря на отрицательные результаты ПЦР и отсутствие симптомов, такие сотрудники считались потенциально заразными и подлежали самоизоляции. Аналогично, пациенты с изолированным выявлением IgM к SARS-CoV-2 не допускались к плановой госпитализации.

С целью выяснения причин ложноположительных результатов серологического исследования было проведено сравнительное исследование. В основную группу вошли сотрудники стационара с ложноположительными результатами IgM к SARS-CoV-2 (n=33), в контрольную группу 1 — без детектируемых антител (n=33). Группы были сопоставимы по демографическим показателям. Предполагалось, что аутоиммунные заболевания могут быть причиной ложноположительных результатов. Однако при сравнении групп по наличию аутоиммунных заболеваний и специфических маркеров различий не выявлено ($p > 0,05$) (Таблица 1).

Таблица 1- Выявление маркеров аутоиммунных заболеваний в группах сравнения

Заболевание в анамнезе	Группа 1 n % (95%ДИ)	Группа 2 n % (95%ДИ)	p Критерий Фишера
Наличие любого из маркеров аутоиммунных заболеваний у пациентов	18 53 (38–72)	17 50 (48–80)	0,805
Антитела к гликопротеиду (а-ГП)	7 21 (6–36)	4 12 (3–23)	0,511
Антитела к тиреопероксидазе (а-ТПО)	8 23 (10–38)	5 15 (3–28)	0,537
Ревматоидный фактор (РФ), суммарный	0	2 6 (0–14)	*
Антитела к циклическому цитруллинированному пептиду (АЦЦП)	0	4 12 (3–23)	*
Антинуклеарный фактор (АНФ)	2 6 (0–15)	0	*
Антитела к двуспиральной ДНК (анти-дсДНК)	0	1 3 (0–10)	*
Антитела к кардиолипину (а-КЛ)	1 3 (0–10)	0	*
Антитела к тиреоглобулину (а-ТГ)	0	1 3 (0–10)	*

* – статистическое сравнение невозможно в связи с малым числом ожидаемых наблюдений в ячейках таблиц сопряженности

Для оценки воспроизводимости результатов выявления антител в сыворотках участников исследования было проведено сравнение нескольких тест-систем разных производителей, основанных на разных принципах. В первой сыворотке крови в основной группе у всех сотрудников были положительные результаты на IgM (ИХЛА лот 1) и отрицательными на IgG (ИХЛА лот 2), в контрольной 1 – результаты обоих ИХЛА-тестов (IgM лот 1 и IgG лот 2) были отрицательные (Рисунок 1). При повторном исследовании сыворотки крови через 49 [34;58] дней с использованием того же набора положительные результаты по IgM сохранились лишь у 20 из 33 участников (60%) основной группы. При применении альтернативных тест-систем частота выявления IgM в повторных

образцах основной группы существенно варьировала. В контрольной группе 1 при исследовании 2-х образцов положительные или сомнительные результаты были зарегистрированы в 9 образцах (27%) при использовании ИФА и ИХА-тест-систем (Рисунок 1).

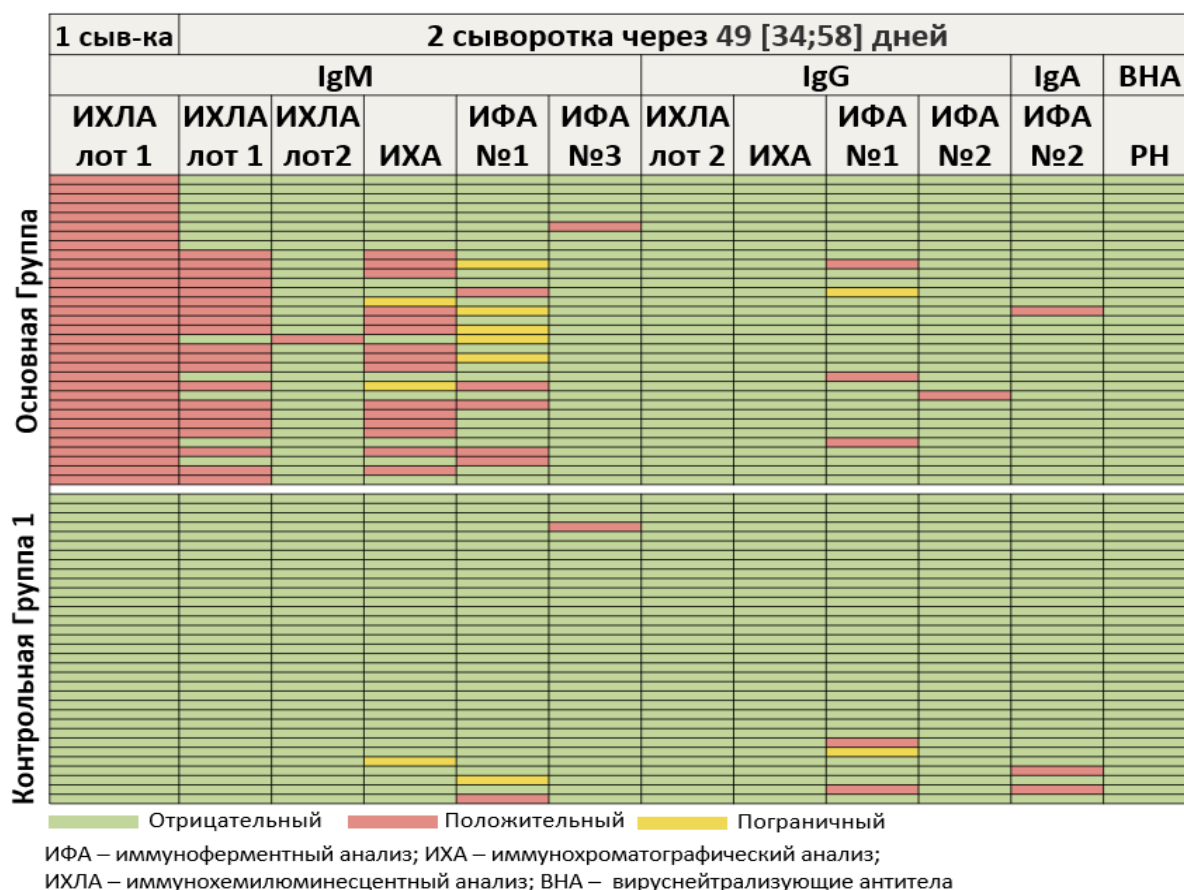


Рисунок 1 - Результаты определения антител к вирусу SARS-CoV-2 в различных тест-системах в основной группе и в контрольной группе 1

Вируснейтрализующие антитела (ВНА) к шт. ПИК35 SARS-CoV-2 не были обнаружены ни у одного из участников обеих групп, что подтверждает отсутствие сероконверсии и ложноположительность выявления IgM.

Для контроля истинности результатов тест-систем было проведено динамическое обследование пациентов с подтвержденным COVID-19 (Контрольная группа 2), которое показало, что сероконверсия IgM в IgG наступала в среднем на 6-й день от начала заболевания (медиана 6,0 [5;7] дней) (Mindray CL-2000, Китай). К 14–19-му дню IgG выявлялись у всех пациентов, что подтвердило надежность сероконверсии как маркера истинной инфекции.

Ложноположительные результаты, наблюдаемые при использовании различных тест-систем с одинаковыми антигенами, указывают на необходимость верификации IgM к SARS-CoV-2 с помощью теста на основе другого антигена или определения ВНА. Однако внедрение двух тест-систем в одном учреждении

ограничено организационными и экономическими факторами, а определение ВНА доступно лишь в специализированных лабораториях и не является распространенным в стационарах.

Исследование парных сывороток, собранных с интервалом 14-21 день, показало высокую эффективность, поэтому отсутствие сероконверсии IgG при повторном тестировании может служить надежным и доступным методом дифференциальной диагностики.

Выделение изолятов вируса SARS-CoV-2 для оценки вируснейтрализующей активности сывороток

С октября 2021 г. по октябрь 2023 г. проводился сбор назофарингеальных мазков от пациентов, госпитализированных с положительным результатом ПЦР-исследования на SARS-CoV-2. Всего было собрано 1105 проб. Из них выделено 112 изолятов вируса SARS-CoV-2. Для 54 изолятов получены нуклеотидные последовательности фрагмента генома (ген S), которые были депонированы в международную базу данных GISAID.

Клинические данные о пациентах показали медиану возраста 64 [53;69] года. Назофарингеальные мазки собирали на 3-й день заболевания. Большинство пациентов имели легкую степень тяжести COVID-19 и были госпитализированы из-за сопутствующих заболеваний. Серологическое исследование проведено у 41 пациента, из которых 19 (46,3%) были вакцинированы, а 22 (53,7%) — не вакцинированы. Различий в уровнях антител к SARS-CoV-2 между группами не обнаружено ($p = 0,375$) (Таблица 2).

Таблица 2 - Общая характеристика пациентов ММКЦ «Коммунарка», от которых выделены изоляты вируса SARS-CoV-2, в период с декабря 2021 по октябрь 2023 гг.

Параметр	Значение
Возраст, Ме [Q1; Q3], годы	64 [53;69,5]
День болезни по данным анамнеза, Ме [Q1; Q3], дни	3 [2;4]
Вакцинация, n % (95% ДИ)	41 43,6 (33–54,3)
Средняя степень тяжести, n % (95% ДИ)	25 26,6 (18,1–35,1)
Легкая степень тяжести, n % (95% ДИ)	69 73,4 (64,9–81,9)
Анализ на иммуноглобулины к SARS-CoV-2, n % (95% ДИ)	41 43,6 (34–54,3)
Антитела к SARS-CoV-2 у вакцинированных пациентов, Ме [Q1; Q3]	IgM 0,215 [0,155;0,367] IgG 34,02 [15,93;189,74]
Антитела к SARS-CoV-2 у невакцинированных пациентов, Ме [Q1; Q3]	IgM 0,41 [0,235;0,81,5] IgG 19,87 [5,275;72,40]

Анализ нуклеотидных последовательностей гена S с использованием платформы Nextclade позволил идентифицировать 12 генетических линий SARS-CoV-2 среди 54 секвенированных изолятов: вариант Дельта (B.1.617.2) и подварианты Омикрона от BA.2 до LF.7.1.3. Для оценки вируснейтрализующей активности сывороток крови были отобраны штаммы варианта Омикрон (10969, XBB.1.5; 12454, JN.1; 12751, LF.7.1.3) и ранее внесенные штаммы Дельта (4724d) и Омикрон BA.1 (7995o). Исследование позволило создать набор изолятов SARS-CoV-2, представляющий основные генетические линии, циркулировавшие в Москве и московской области в 2021–2025 гг., что стало основой для дальнейшей оценки вируснейтрализующей активности сывороток.

Анализ вируснейтрализующей активности сывороток крови к различным вариантам вируса SARS-CoV-2

Для оценки вируснейтрализующей активности сывороток крови было сформировано три группы пациентов в зависимости от периода госпитализации (2020 г.; I-V.2021 г.; VI-XII.2021 г.), что соответствовало циркуляции прототипных линий (B.1.1), вариантов Альфа и Бета (B.1.1.7, B.1.351) и варианта Дельта (B.1.617.2). Группы были сопоставимы по гендерному составу, возрасту и срокам поступления в стационар от начала заболевания (Таблица 3). Пациенты, госпитализированные в период циркуляции варианта Дельта, значительно чаще нуждались в переводе в отделение реанимации по сравнению с группами 2020 г. и I-V.2021 г. ($p=0,009$), однако различий в частоте летальных исходов не обнаружено ($p=0,074$).

Таблица 3 - Основные характеристики анализируемых групп в третьей части исследования

Параметр	Группа 1 (2020) N=99	Группа 2 (I-V.2021) N=92	Группа 3 (VI–XI.2021) N=95	Р Н-критерий Краскела- Уоллиса; χ^2
Возраст, лет Ме [Q1; Q3]	64 [58;73]	66,5 [63;69]	69 [57;79]	0,161
Мужчин, % (95%ДИ)	47,5 (37–57,1)	44 (34,2–55)	40 (30,2–49,4)	0,572
День болезни на момент поступления по данным анамнеза, Ме [Q1; Q3]	8 [5;10]	7 [4;10]	7 [4;11,5]	0,704
Кол-во человек, поступивших в ОРИТ, % (95% ДИ)	24,2 (4,2–33)	29,3 (20,4–39,6)	44,2 (34,2–54,8)	0,009
Дни, проведенные в ОРИТ Ме [Q1; Q3]	6 [3;11,5]	12 [4;18]	2 [1;13]	0,001
Летальные исходы, % (95ДИ)	7,1 (2,3–12,6)	14,1 (7,4–21,9)	17,9 (10,5–25,9)	0,074

ОРИТ - отделение реанимации и интенсивной терапии

В сыворотках 286 пациентов были обнаружены антитела, нейтрализующие циркулирующие во время заболевания варианты. Сыворотки пациентов, перенесших инфекцию во время циркуляции варианта Дельта (Группа 3), демонстрировали более широкий спектр перекрестной нейтрализующей активности. Количество сывороток с детектируемыми ВНА против поздних линий SARS-CoV-2 (XBB.1.9, изоляты 12454 и 12751) было статистически выше в Группе 3 по сравнению с Группами 1 и 2 ($p < 0,05$).

Средние геометрические титры (СГТ) ВНА в Группе 3 к варианту Дельта были значимо выше, чем в Группе 1 и 2 ($p < 0,001$). Аналогичная закономерность наблюдалась и в отношении подвариантов Омикрона. СГТ ВНА к изоляту 12454 (2024 г.) в Группе 3 составил $3,35 \pm 2,30 \log_2$, тогда как в Группе 1 — $0,60 \pm 1,59 \log_2$ ($p = 0,001$), а доля сывороток с ВНА к данному изоляту достигла 76,4% (68 из 89) в Группе 3 против 13,9% (5 из 36) в Группе 1 (Таблица 4).

Таблица 4 - Сравнение вируснейтрализующей активности сывороток крови в зависимости от периода заболевания и варианта вируса SARS-CoV-2

Параметр		Группа по времени госпитализации						p	
		Группа 1 (2020)		Группа 2 (I-V.2021)		Группа 3 (VI–XII.2021)		Критерий Краскела- Уоллиса (для СГТ)	χ ² (абс знач.)
Вариант SARS-CoV-2		Прототипные линии (B.1.1)		Варианты Альфа и Бета		Вариант Дельта			
		СГТ, log ₂	+ сыв- ки, п/всего	СГТ, log ₂	+ сыв- ки, п/всего	СГТ, log ₂	+сыв- ки, п/всего		
B.1.1, шт. ПИК-35 (2020 г.)		5,50 ± 3,45	82/99	5,90 ± 3,30	77/92	7,60 ± 2,70	92/95	0,000	0,01
Дельта шт. 4724d (2021 г.)		4,80 ± 3,24	77/99	4,55 ± 3,34	66/92	9,90 ± 1,66	95/95	0,000	0,001
Омикрон	шт. 8995o (2022 г.)	2,60 ± 2,36	62/99	3,80 ± 2,84	68/92	8,00 ± 2, 78	93/95	0,000	0,001
	шт.10969 (2023 г.)	0,34 ± 1,05	10/99	0,58 ± 1,34	15/92	2,25 ± 2,53	48/95	0,001	0,001
	шт. 12454 (2024 г.)	0,60 ±1,59	5/36	1,30 ±1,87	17/50	3,35 ± 2,30	68/89	0,001	0,001
	шт.12751 (2025 г.)	0,92 ± 1,78	8/36	1,60 ± 2,13	19/50	3,63 ± 2,34	68/89	0,001	0,001

Анализ вируснейтрализующей активности в зависимости от возраста (до 45 лет, 45–60 лет, старше 60 лет) не выявил статистически значимых различий в наличии ВНА и их уровнях ($p > 0,05$). Однако у пациентов старше 60 лет чаще регистрировали тяжелые формы COVID-19 ($p = 0,001$), что может быть связано с факторами, не оцениваемыми в данном исследовании (Таблица 5).

Таблица 5 - Сравнение вируснейтрализующей активности сывороток в зависимости от возраста пациентов

Параметр		Пациенты до 45 лет (включительно)		Пациенты от 45 до 60 лет		Пациенты старше 60 лет		p	
Вариант SARS-CoV-2		СГТ, log2	сыв-ки, п/всего	СГТ, log2	сыв-ки, п/всего	СГТ, log2	сыв-ки п/всего	Критерий Краскела- Уоллиса (для СГТ)	χ^2 (абс знач.)
В.1.1, шт. ПИК-35 (2020 г.)		6,89 ± 4,2	22/28	6,67 ± 3,04	53/57	6,16 ± 3,23	176/201	0,229	0,161
Дельта шт. 4724d (2021 г.)		6,64 ± 3,78	24/28	6,25 ± 3,57	50/57	6,44 ± 3,84	166/201	0,822	0,625
Омикрон	шт. 8995o(2022г.)	5,25 ± 2,5	26/28	5,23 ± 3,9	45/57	4,62 ± 3,56	152/201	0,380	0,117
	шт. 10969 (2023)	1,04 ± 1,77	8/28	1,23 ± 2,07	17/57	1,0 ± 1,94	48/201	0,701	0,920
	шт. 12454 (2024г.)	1,98 ± 2,38	10/22	2,59 ± 2,31	21/34	2,13 ± 2,39	59/119	0,541	0,493
	шт.12751 (2025г.)	2,39 ± 2,58	11/22	2,81 ± 2,25	21/34	2,4 ± 2,46	63/119	0,750	0,571

В исследовании был проведен корреляционный анализ уровней IgG, определяемых с помощью ИХЛА (Mindray CL-2000, Китай), и титров ВНА к вирусу на момент заболевания. В 2020 г. коэффициент корреляции Спирмена между IgG и титром ВНА к штамму В.1.1 составил $R = 0,624$, в 2021 г. (вариант Дельта) — $R = 0,523$ (Рисунок 2). После исключения образцов с неопределёнными результатами ($<1:8$ и $>1:1024$) корреляция в 2020 г. снизилась до $R = 0,484$, а в 2021 г. повысилась до $R = 0,629$. Несмотря на введение поправки, корреляция оценивалась как слабая или умеренная (Рисунок 3).

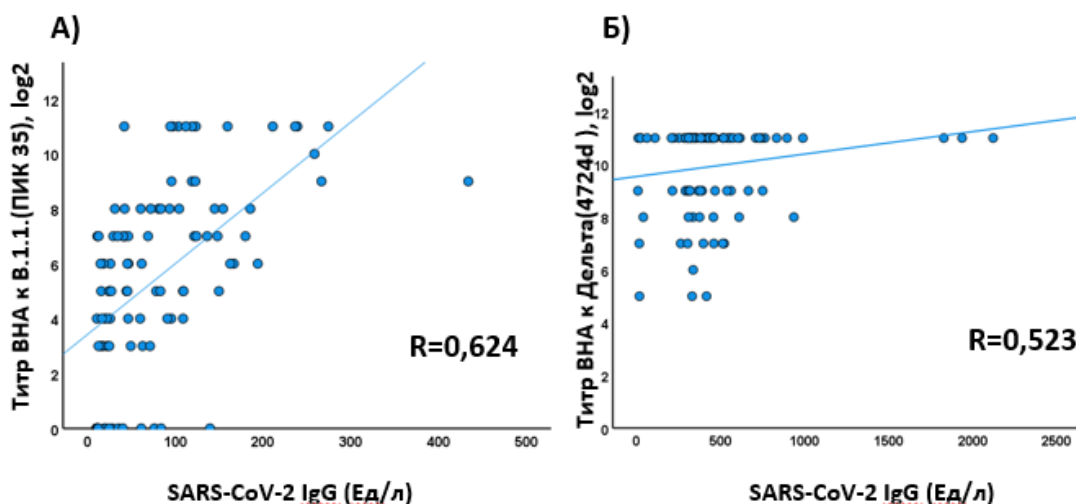


Рисунок 2 - А) Корреляция между уровнями IgG (ИХЛА, Shenzhen Mindray, Китай) к вирусу SARS-CoV-2 и уровнями вируснейтрализующих антител (ВНА) к штамму циркулирующего подварианта вируса В.1.1 (шт. ПИК35) в 2020 г.; Б) Корреляция между уровнями IgG к вирусу SARS-CoV-2 (ИХЛА, Shenzhen Mindray, Китай) и уровнями вируснейтрализующих антител (ВНА) к штамму циркулирующего варианта Дельта (шт. 4724d) в 2021 г.

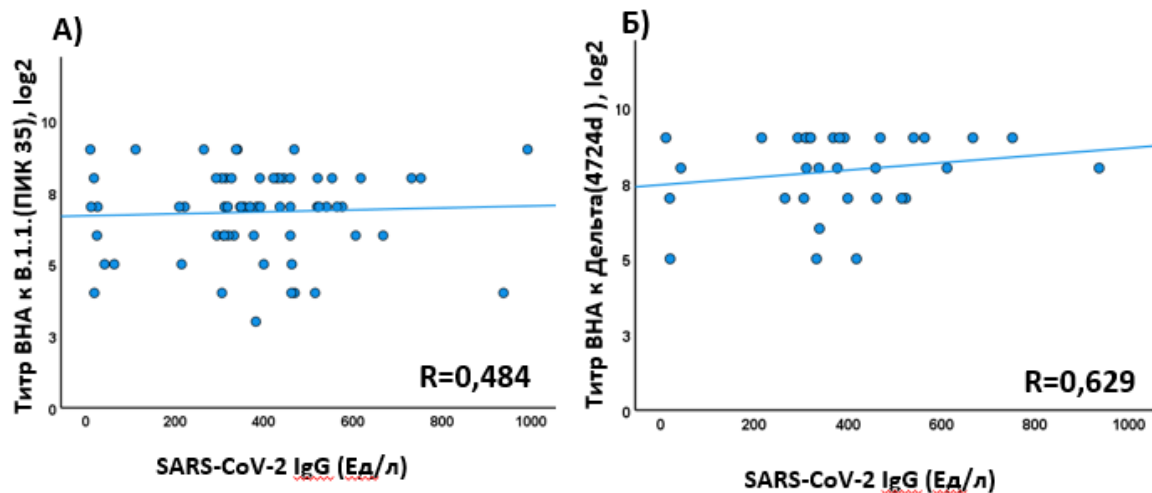


Рисунок 3 - А) Корреляция в скорректированной группе между уровнями IgG (ИХЛА, Shenzhen Mindray) к вирусу SARS-CoV-2 и уровнями вируснейтрализующих антител (ВНА) штамму циркулирующего варианта вируса B.1.1 (шт. ПИК35) в 2020 г.; Б) Корреляция в скорректированной группе между уровнями IgG к вирусу SARS-CoV-2 (ИХЛА, Shenzhen Mindray) и уровнями вируснейтрализующих антител (ВНА) к штамму циркулирующего варианта Дельта (шт. 4724d) в 2021 г.

Клинически важно, что сыворотки с уровнями IgG 10–150 Ед/л (2020 г.) и 10–500 Ед/л (2021 г.) могли не содержать детектируемых ВНА (титр <1:8). В то же время некоторые сыворотки с высокими титрами ВНА (>1:32) в 2021 г. давали отрицательные результаты при определении IgG.

Исследование прогностической значимости лейкоцитарных индексов и биохимических показателей сыворотки крови для оценки риска тяжелого течения COVID-19 в различные периоды пандемии

Прогностическая значимость лабораторных показателей была проанализирована на когорте из 286 пациентов, госпитализированных в 2020–2021 гг., в контексте циркуляции различных вариантов SARS-CoV-2. При оценке лейкоцитарных индексов установлено, что индекс соотношения нейтрофилов к лимфоцитам (ИСНЛ) был статистически значимо выше у пациентов с тяжелым течением COVID-19 во всех анализируемых периодах. В 2020 г. медиана ИСНЛ в группе тяжелого течения составила 5,98 [3,5;10,2] против 3,4 [2,6;6,4] в группе среднетяжелого течения ($p=0,047$); в период циркуляции вариантов Альфа и Бета — 6,737 [3,9;11,3] против 3,853 [2,4;8,9] ($p=0,023$); в период циркуляции варианта Дельта — 8,093 [4,2;16,2] против 5,2 [3,2;9,9] ($p=0,024$) (Таблица 6).

Таблица 6 - Сравнение лейкоцитарных индексов в зависимости от времени заболевания и тяжести течения COVID-19

Параметр	2020 Прототипные линии (В.1.1), n = 99			I-V.2021 Варианты Альфа и Бета, n = 92			VI–XII.2021 Вариант Дельта, n = 95		
	Тяж. n=44	Среднетяж. n=55	p*	Тяж. n=43	Среднетяж. n=49	p*	Тяж. n=51	Среднетяж. n=44	p*
ИСНЛ Me [Q1; Q3]	5,98 [3,5;10,2]	3,4 [2,6; 6,4]	0,047	6,737 [3,9;11,3]	3,853 [2,4;8,9]	0,023	8,093 [4,2;16,2]	5,2 [3,2;9,9]	0,024
ИСНМ Me [Q1; Q3]	13,4 [7,5;22,1]	9 [6,4;3,1]	0,029	10,08 [6,4;21,6]	9,384 [6,1;23,1]	0,719	12,33 [8,8;16]	11 [7;14,7]	0,2
ИСТЛ Me [Q1; Q3]	16,5 [10,7;28]	10,459 [7,4;17,8]	0,046	18 [10,1;30,5]	10,696 [6,17;32,1]	0,028	21 [10,4;42]	17 [9,1;29,5]	0,151
ИСЛМ Me [Q1; Q3]	2,3 [1,9;3,5]	2,37 [1,8;3,4]	0,356	2 [1,1;2,7]	2,561 [1,5;3,8]	0,03	1,5 [0,8;2,5]	1,805 [1,4;2,5]	0,094

* U-критерий Манна - Уитни для количественных показателей

В отличие от ИСНЛ, другие лейкоцитарные индексы — соотношения нейтрофилов к моноцитам (ИСНМ), соотношения тромбоцитов к лимфоцитам (ИСТЛ) и соотношения лимфоцитов к моноцитам (ИСЛМ) — не демонстрировали стабильной прогностической значимости. Стабильно на протяжении всех периодов пандемии прогностически значимыми показателями, ассоциированными с тяжелым течением COVID-19, являлись уровни ЛДГ, D-димера и С-реактивного белка (СРБ). В отличие от указанных показателей, уровни ферритина и фибриногена не демонстрировали стабильных статистически значимых различий между группами тяжелого и среднетяжелого течения ($p>0,05$). (Таблица 7).

Таблица 7 - Сравнение биохимических показателей крови в зависимости от времени заболевания и тяжести течения COVID-19

Параметр	2020, n = 99 Прототипные линии			I-V.2021, n = 92 Варианты Альфа и Бета			VI–XII.2021, n = 95 Вариант Дельта		
	Тяж. n=44	Среднетяж. n=55	p*	Тяж n=43	Среднетяж. n=49	p*	Тяж n=44	Среднетяж. n=51	p*
ЛДГ, Me [Q1; Q3]	468,3 [323;696]	367,5 [261;540]	0,041	421,6 [311;585]	311,4 [244;378]	0,004	421,6 [311;585]	294,6 [233;429]	0,001
Ферритин, Me [Q1; Q3]	532,1 [280;886]	502,75 [291;730]	0,92	358,2 [196;627]	257,95 [199;503]	0,342	358,2 [196;627]	500,6 [225;831]	0,695
Фибриноген Me [Q1; Q3]	5,7 [4,32; 7,9]	5,5 [4,56; 6,7]	0,248	6,3 [4,6; 6,9]	5,02 [4,6; 6,8]	0,451	6,35 [4,63; 6,9]	5,5 [4,1;6,2]	0,991
Д-Димер, Me[Q1; Q3]	755 [363;2194]	255 [170;463]	0,009	912,5 [516;3714]	450 [294;1237]	0,042	912,5 [516;3714]	905,5 [560;1701]	0,001
СРБ, Me[Q1; Q3]	98,8 [48,2;154,1]	66,8 [20,9;119,4]	0,015	86,05 [35,3;132,5]	42,7 [12,5;85,4]	0,005	86,1 [35,3;132,5]	37,9 [14,2;98,8]	0,026

* U критерий Манна - Уитни

Определение значимости общей лактатдегидрогеназы и ее изотипов в прогнозировании неблагоприятного течения COVID-19

Для оценки прогностической значимости общей активности ЛДГ и ее изоферментного спектра была проанализирована 461 история болезни пациентов с COVID-19, госпитализированных в сентябре 2021 г. Основную группу составили пациенты с уровнем ЛДГ ≥ 372 Ед/л ($n=155$), контрольную группу 1 — с ЛДГ < 372 Ед/л ($n=306$), а контрольную группу 2 — из здоровых доноров ($n=28$). Группы были сопоставимы по дню болезни на момент поступления (медиана 6 [4;8] дней, $p>0,05$) и дню выполнения анализа (9 [7;11]).

Продолжительность госпитализации пациентов основной группы была значительно больше, чем в контрольной группе 1 (13 [10;19] против 7 [6;10] дней, $p<0,01$). Частота госпитализации в ОРИТ в основной группе составила 29,0% (45 из 155), в контрольной группе 1—1,6% (5 из 306, $p<0,001$). Относительный риск перевода в ОРИТ у пациентов с ЛДГ ≥ 372 Ед/л составил 17,8 (95% ДИ 7,2–43,8).

Длительность пребывания в ОРИТ в основной группе также была значимо больше (7 [3;16] против 1 [1;3] дней ($p < 0,01$)). В контрольной группе 1 четыре из пяти пациентов находились в реанимации не более 24 часов. Летальность в основной группе составила 16,1% (25 из 155), тогда как в контрольной группе 1 летальных исходов зарегистрировано не было. У пациентов основной группы было выявлено статистически значимое изменение изоферментного спектра ЛДГ по сравнению с контрольной группой 2: снижение долей ЛДГ1 и ЛДГ2 при одновременном повышении ЛДГ3 и ЛДГ4 (Таблица 8, Рисунок 4А).

Таблица 8 - Результаты определения изоферментов ЛДГ в основной и контрольной группе 2

Изофермент ЛДГ и его локализация	Доли фракций ЛДГ, Ме [Q1; Q3]		р критерий Манна - Уитни
	Основная группа	Контрольная группа 2	
ЛДГ1 (Кардиомиоциты; эритроциты)	16,8 [14,0;19,2]	22,9 [20,3;24,7]	0,000
ЛДГ2 (Ретикулоэндотелиальная система)	28,9 [26,0;32,7]	30,5 [29,0;32,7]	0,044
ЛДГ3 (Легочная ткань)	25,4 [22,5;27,6]	23,6 [22,5;24,9]	0,012
ЛДГ4 (Почечная ткань и поджелудочная железа)	13,3 [11,6;15,7]	11,7 [10,8;12,7]	0,000
ЛДГ5 (Печень и поперечнополосатая мускулатура)	12,6 [9,6;18,2]	10,8 [9,3;13,4]	0,140

При анализе в зависимости соотношения изоферментов от исхода заболевания установлено, что у пациентов с летальным исходом ($n=25$) по сравнению с выписанными ($n=130$) пациентами из основной группы наблюдался относительный рост ЛДГ1 и ЛДГ2 на фоне снижения ЛДГ5, в тоже время статистически значимых различий по ЛДГ3 выявлено не было (Таблица 9,

Рисунок 4Б). В подгруппе пациентов с летальным исходом наблюдалось изменение изоферментного паттерна ЛДГ: соотношение фракций смещалось в сторону ЛДГ2 > ЛДГ1 > ЛДГ3 > ЛДГ4 > ЛДГ5, приближаясь к распределению, характерному для здоровых лиц. У пациентов с благоприятным исходом сохранялось патологическое смещение с преобладанием «легочно-почечных» фракций (ЛДГ3, ЛДГ4) над «кардиальными» (ЛДГ1, ЛДГ2).

Таблица 9 - Сравнение средних долей изоферментов ЛДГ в зависимости от исхода заболевания в основной группе

Фракция ЛДГ	Доля фракции ЛДГ, Ме [Q1; Q3]		p критерий Манна-Уитни
	Выписанные пациенты (n=130)	Умершие пациенты (n=25)	
ЛДГ1 (Кардиомиоциты; эритроциты)	16,5[13,9;19,02]	18,2[16,4;19,6]	0,028
ЛДГ2 (Ретикулоэндотелиальная система)	28,4[25,9;32,0]	32,4[27,8;34,5]	0,007
ЛДГ3 (Легочная ткань)	25,15[22,17;27,6]	26,7[24,9;27,5]	0,793
ЛДГ4 (Почечная ткань и поджелудочная железа)	13,8[11,75;15,75]	12,8[11,6;15,3]	0,004
ЛДГ5 (Печень и поперечнополосатая мускулатура)	13,5[10,17;20,8]	9,4[7,3;14,4]	0,001

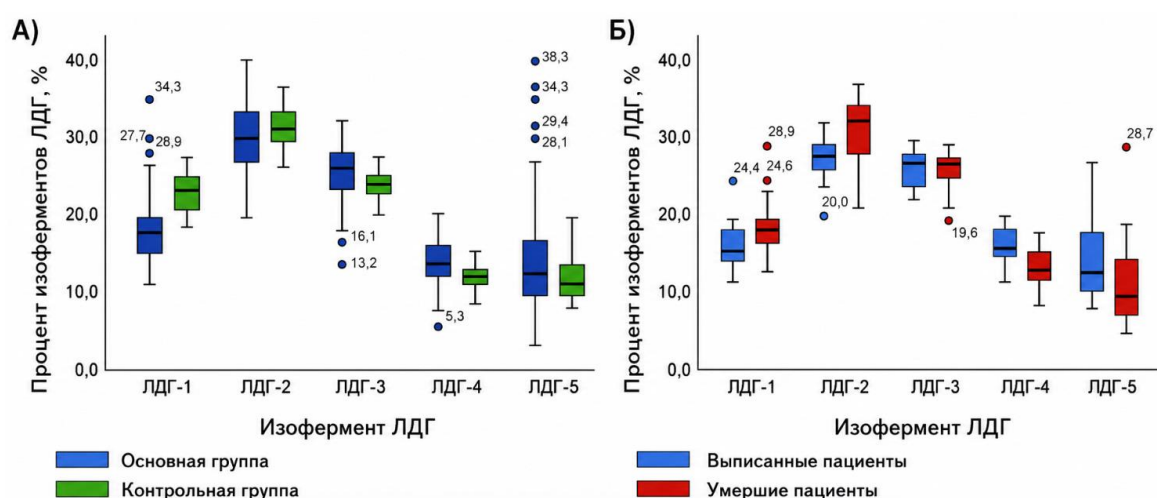


Рисунок 4. А) Результаты определения изоферментов ЛДГ в основной группе (ЛДГ ≥ 352 Ед/л) и контрольной группе 2; Б) Сравнение средних долей изоферментов ЛДГ в зависимости от исходов среди пациентов из основной группы

Тип изоферментного спектра ЛДГ на 9-й день заболевания может служить прогностическим признаком для выявления пациентов с преобладающим сердечно-сосудистым поражением и неблагоприятным исходом COVID-19.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Пандемия COVID-19 стала сложным испытанием для научной и

медицинской сферы, что потребовало всестороннего изучения вируса и его взаимодействия с организмом хозяина и клинических проявлений заболевания. В работе исследована динамика вируснейтрализующей активности сывороток крови пациентов с COVID-19 в отношении вариантов SARS-CoV-2. Установлено, что гуморальный иммунитет, сформировавшийся против ранних вариантов вируса, сохраняется, но, менее активен против антигенно отдалённых подвариантов, таких как ХВВ.1.9, что объясняет волны повторных инфекций. Обнаружено несоответствие между уровнями IgG и функциональной активностью антител, что снижает надежность IgG как индикатора защитных антител. Также проанализированы маркеры оценки тяжести COVID-19; индекс нейтрофилов к лимфоцитам, уровень С-реактивного белка и Д-димера сохраняли значимость, а изоферментный спектр лактатдегидрогеназы оказался высоко прогностическим для оценки риска неблагоприятного исхода в течение всего периода наблюдения.

ВЫВОДЫ

1. Наиболее достоверным критерием исключения ложноположительных результатов определения антител класса IgM к вирусу SARS-CoV-2 является отсутствие сероконверсии по антителам класса IgG при исследовании «парных сывороток».
2. Установлено, что получение ложноположительных результатов определения антител класса IgM к SARS-CoV-2 не имеет статистически значимой корреляции с наличием аутоиммунных заболеваний.
3. В 78,9% сыворотках крови людей, переболевших новой коронавирусной инфекцией во время циркуляции варианта Дельта, присутствуют антитела, способные нейтрализовать варианты вируса SARS-CoV-2, циркулировавшие в 2023–2025 гг.
4. Показано, что высокий уровень IgG к SARS-CoV-2 (Mindray CL-2000, Китай; имунохемилюминесцентный анализ) не является надежным маркером наличия вируснейтрализующих антител к актуальным вариантам SARS-CoV-2 и требует пересмотра критериев оценки популяционного иммунитета.
5. Уровни показателей лактатдегидрогеназы, D-димера, С-реактивного белка и индекса соотношения нейтрофилов к лимфоцитам являются прогностически значимыми для оценки тяжести течения COVID-19 независимо от циркулирующего варианта вируса.
6. Повышение общей активности лактатдегидрогеназы в сыворотке крови более чем в 1,5 раза от верхней границы нормы (≥ 372 Ед/л) является независимым и значимым прогностическим маркером неблагоприятного течения COVID-19,

ассоциированным с риском госпитализации в отделения реанимации и интенсивной терапии, увеличением длительности пребывания в стационаре и летальным исходом.

7. Изменение соотношения изоферментов лактатдегидрогеназы: снижение долей ЛДГ1, ЛДГ2 при одновременном увеличении долей ЛДГ3, ЛДГ4 – является более чувствительным прогностическим маркером, чем общая активность лактатдегидрогеназы, и позволяет идентифицировать пациентов с высоким риском развития полиорганной недостаточности и неблагоприятного исхода при COVID-19.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. При изолированном положительном результате IgM к SARS-CoV-2 (с отрицательными IgG и ПЦР-анализа) следует повторно исследовать сыворотку через 14 дней в той же тест-системе. Отсутствие сероконверсии IgG указывает на ложноположительный результат и позволяет отменить карантин.
2. Высокие уровни IgG к SARS-CoV-2 могут быть не ассоциированы с наличием нейтрализующих антител к современным вариантам. Для косвенной оценки иммунной защиты рекомендуется использовать тесты на нейтрализующую активность антител.
3. Для прогнозирования риска тяжелого течения COVID-19 у госпитализированных пациентов рекомендуется учитывать индекс соотношения нейтрофилов к лимфоцитам, уровни лактатдегидрогеназы, С-реактивного белка и D-димера.
4. При повышении лактатдегидрогеназы более чем в 1,5 раза от нормы (≥ 372 Ед/л) рекомендуется анализировать изоферментный спектр. Снижение ЛДГ1/ЛДГ2 и рост ЛДГ3/ЛДГ4 указывает на полиорганное поражение, а увеличение ЛДГ1/ЛДГ2 при высокой общей ЛДГ является неблагоприятным признаком.

ПЕРСПЕКТИВЫ ДАЛЬНЕЙШЕЙ РАЗРАБОТКИ ТЕМЫ

Проведенное исследование углубило понимание особенностей гуморального иммунного ответа при инфекции SARS-CoV-2. Перспективными направлениями исследований являются изучение кросс-реактивности антител и ее влияния на эффективность вакцин, а также выделение и секвенирование новых штаммов SARS-CoV-2 для мониторинга генетической изменчивости вируса. Полученные данные о возможности ложноположительных результатов при определении IgM обуславливают необходимость совершенствования алгоритмов серологической диагностики, а прогностическая ценность активности ЛДГ и ее

изоферментов требует дальнейшей валидации в исследованиях с участием более крупных когорт пациентов.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Сайфуллин Р.Ф., **Пылаева С.К.**, Фролова Н.Ф., Синявкин Д.О., Байков Д.А. / Определение активности общей лактатдегидрогеназы и ее изотипов для прогнозирования тяжести течения и диагностики органных поражений при COVID-19 // Инфекционные болезни: новости, мнения, обучение. Журнал имени академика Н.Д. Ющука. – 2023. – Т. 12. – № 4. – С. 39-47. DOI: 10.33029/2305-3496-2023-12-4-39-47 (Scopus, RSCI, Перечень ВАК, K1). 0,563/0,113 п.л.
2. **Пылаева С.К.**, Козловская Л.И., Еровиченков А.А., Сиразова Д.И., Шустова Е.Ю., Артамонова Е.А., Синюгина А.А., Гордейчук И.В., Трощанский Д.В., Косарева Е.В., Солодовникова О.Н., Коготыжев Р.К., Берестовская А.Ю., Тюрин И.Н., Проценко Д.Н., Ишмухаметов А.А. / Спектр вируснейтрализующих антител у пациентов с COVID-19, заболевших во время циркуляции различных вариантов SARS-CoV-2 // Эпидемиология и Вакцинопрофилактика. – 2024. – Т. 23. – № 5. – С. 63-72. DOI: 10.31631/2073-3046-2024-23-5-63-72 (Scopus, RSCI, перечень ВАК, K1). 0,625/0,039 п.л.
3. **Пылаева С.К.**, Сайфуллин Р.Ф., Карань Л.С., Стуколова О.А., Козловская Л.И., Синявкин Д.О., Ишмухаметов А.А. / Клинико-лабораторная характеристика пациентов с ложноположительным результатом определения IgM к SARS-CoV-2 // Иммунопатология, аллергология, инфектология – 2024. – Т. 4. – С. 14-21. DOI: 10.14427/jirai.2024.4.14 (RSCI, Перечень ВАК, K2). 0,500/0,071 п.л.
4. **Пылаева С.К.**, Синюгина А.А., Козловская Л.И., Артамонова Е.А., Еровиченков А.А., Сайфуллин Р.Ф., Гордейчук И.В., Ишмухаметов А.А. / Нейтрализующие и ненейтрализующие антитела к SARS-CoV-2: роль при инфекции и в эволюции антигенной структуры // Эпидемиология и Вакцинопрофилактика. – 2024. – Т. 23. – № 6. – С. 169-176. DOI: 10.31631/2073-3046-2024-23-6-169-176 (Scopus, RSCI, перечень ВАК, K1). 0,500/0,009 п.л.
5. **Пылаева С.К.**, Артамонова Е.А., Козловская Л.И., Еровиченков А.А., Синюгина А.А., Гордейчук И.В., Ишмухаметов А.А., Формирование и спектр нейтрализующей активности антител у переболевших COVID-19 во время пандемии // COVID-19: опыт российской медицины: в 4 томах / гл. ред. В. И. Стародубов. – М.: Изд-во ООО «ГРУППА РЕМЕДИУМ», 2025. – Т. 1: Общие данные о COVID-19 / под ред. В.Г. Акимкина, С.И. Колесникова. – С. 340-355. – ISBN 978-5-906499-85-1.