

Куличенко А.Н., Прислегина Д.А., Малецкая О.В., Махова В.В.

ТАКТИКА ОРГАНИЗАЦИИ ЛАБОРАТОРНОЙ ДИАГНОСТИКИ COVID-19 ПРИ ПРОВЕДЕНИИ ПРОТИВОЭПИДЕМИЧЕСКИХ МЕРОПРИЯТИЙ ЗА РУБЕЖОМ

Глобальное распространение новой коронавирусной инфекции COVID-19 привело к экономической и социальной дестабилизации во многих странах мира, стало серьезной проблемой для систем здравоохранения. Ввиду отсутствия препаратов для специфической профилактики и лечения, основные меры по сдерживанию распространения новой коронавирусной инфекции состояли в реализации комплекса противоэпидемических мер, в том числе организации массового диагностического тестирования для своевременного выявления заболевших. В условиях сохраняющегося эпидемиологического неблагополучия анализ эффективности различных тактик мониторинга заболеваемости приобретает особое значение. Требуется внимания проблема лабораторного скрининга лиц, относящихся к группе наиболее высокого риска заражения, например, медицинских работников, заболевание которых приводит к распространению инфекции как среди персонала, так и пациентов.

Актуальным на сегодняшний день является изучение опыта зарубежных стран по организации и выполнению серологических исследований с целью оценки формирования популяционного иммунитета к новой коронавирусной инфекции.

Цель исследования

Проведение сравнительного анализа применяемых за рубежом подходов к организации и проведению лабораторной диагностики COVID-19 на начальном этапе пандемии и оценка их эффективности.

Результаты

В первые месяцы пандемии COVID-19 (февраль-июль 2020 г.) системы здравоохранения различных стран при проведении диагностических

исследований придерживались разных тактик лабораторного скрининга: сплошного или выборочного (только лиц с подозрением на заболевание или относящихся к группам риска).

Наибольшую эффективность продемонстрировал подход Южной Кореи, заключающийся в проведении «квазислучайного массового тестирования», основная цель которого – повышение потенциала диагностики коронавируса и исследование максимально большого числа граждан (не только больных, но и всех контактных лиц) [1]. Для решения данной задачи была создана широкая сеть мобильных центров для бесплатного тестирования. Использовались мобильные скрининговые лаборатории двух типов. «Walk-thru» – диагностические кабины с отрицательным давлением, обеспечивающие изоляцию медицинского работника во время отбора клинического материала и специальные пункты «drive-through», устроенные таким образом, что в них можно заехать на автомобиле и, не выходя из него, сдать тест (через опущенное стекло) [2]. При проведении исследований использовали исключительно метод ПЦР. Благодаря раннему началу и оперативности массовой диагностики с последующей своевременной изоляцией заболевших стране удалось стабилизировать эпидемиологическую ситуацию по COVID-19 практически за месяц, даже без введения жестких ограничительных мероприятий.

Стратегия массового тестирования населения при организации мероприятий, направленных на борьбу с COVID-19, также была успешно использована в Китае. Отбор проб на наличие вируса производился не только у лиц, имеющих симптомы заболевания, но и у всех людей, имеющих даже минимальный риск заражения. ПЦР-тесты повторяли через 2-3 дня до истечения двухнедельного инкубационного периода. Кроме исследований методом ПЦР, были апробированы и одобрены к применению несколько экспресс-тестов для обнаружения антител IgM и IgG к коронавирусу в крови [3,4].

Относительно быстро остановить распространение эпидемии также удалось в Германии, где была заблаговременно обеспечена готовность системы здравоохранения для оперативного массового лабораторного скрининга – ПЦР-тестирование проводилось всем лицам с симптомами, подозрительными на COVID-19. По инициативе медицинского факультета Гейдельбергского университета были созданы так называемые «корона-такси», на которых медицинские работники приезжали к людям, находящимся на карантине, и отбирали пробы клинического материала на дому. Кроме того, для повышения скорости и снижения стоимости сотрудниками Мюнхенского технического университета были предложен ряд методик группового тестирования, общий принцип которых заключался в одновременном исследовании мазков от 10 человек в одном анализе с последующим повтором для каждого образца индивидуально только в случае получения положительного результата [5,6].

Тактика борьбы с коронавирусной инфекцией, основанная на принципе выборочного проведения лабораторных исследований, оказалась менее эффективной. Так, в США в начале пандемии (в течение февраля) пробы для диагностики методом ПЦР отбирались только у приехавших из г. Ухань или лиц, находившихся в непосредственном контакте с инфицированными. Затем перечень показаний для тестирования в марте был расширен и включал несколько групп:

- наиболее приоритетные – госпитализированные пациенты и медицинский персонал стационаров (для снижения риска развития внутрибольничного инфицирования);

- лица старше 65 лет, пациенты с подозрительными симптомами;

- больные с легкой формой заболевания, проживающие в местности с высоким уровнем заражения, работники системы здравоохранения, оказывающие неотложную помощь, сотрудники жизнеобеспечивающих организаций с симптомами, подозрительными на COVID-19. Граждане без симптомов относились к неприоритетным для тестирования группам [1].

Таким образом, позднее начало массовых диагностических исследований, наряду с низким охватом населения, неэффективность мер защитного и ограничительного характера – основные факторы, которые вывели страну на первое место в мире по числу случаев заболеваний (летальности) COVID-19.

В Великобритании, изначально придерживающейся концепции выработки «коллективного иммунитета», объемы тестирования также были недостаточны. Исследования проводились только пациентам, находящимся в критическом состоянии (или нуждающимся в госпитализации) с пневмонией, острым респираторным дистресс-синдромом или гриппоподобным заболеванием, а также в случае вспышки COVID-19 в специализированных и медицинских учреждениях. Введение массового тестирования и увеличение его масштабов было связано с призывом ВОЗ [7]. С 12 марта 2020 г. тестирование по месту жительства было прекращено и лицам с лихорадкой или постоянным кашлем было рекомендовано соблюдать режим самоизоляции в течение 7 дней (членам их семей при отсутствии симптомов – 14), чтобы лаборатории могли проводить приоритетное исследование для увеличивающегося числа госпитализированных пациентов [8,9]. В середине апреля был закреплён перечень профессий, представители которых обследовались в первую очередь (обязательно при наличии симптомов). В него вошли сотрудники экстренных служб и системы здравоохранения, правоохранители и социальные работники. Остальным гражданам диагностику проводили во вторую очередь. Кроме того, в целях экономии тест-систем пробы клинического материала от пациентов, состояние которых свидетельствовало о выздоровлении, не отбирались, что значительно затрудняло анализ статистических сведений о выздоровевших людях (сведения на сайте www.worldometers.info перестали обновляться с конца марта). Таким образом, официальные данные по заболеваемости и летальности COVID-19 в Великобритании, могут быть недостаточно точными.

Лабораторные исследования во Франции в связи с нехваткой тестов проводились только лицам из групп риска – госпитализированным с подозрением на COVID-19, медицинским работникам, людям с тяжелой сопутствующей соматической патологией и беременным женщинам. Была создана сеть консультационных центров (Pop-up COVID-19 centres) для амбулаторного лечения больных с легкими формами (в том числе в дистанционном режиме). В дальнейшем, стратегия мониторинга была изменена в сторону расширения показаний для проведения тестирования с целью скорейшего выявления инфицированных и предотвращения дальнейшего распространения инфекции. Так, согласно новым рекомендациям, действующим с 11 мая (начало снятия ограничений), все лица с подозрением на COVID-19 или контактировавшие с больными подлежали обязательному скринингу на SARS-CoV-2 [10].

Тестирование населения в Италии, ставшей в марте 2020 г. эпицентром пандемии в Европе и одной из наиболее пострадавшей от COVID-19 страной, также изначально проводилось только людям с тяжелой респираторной инфекцией или с подозрительными симптомами при наличии в анамнезе тесных контактов с больным или поездок в эпидемически неблагополучные районы. Данный подход не позволил принять своевременные меры по сдерживанию распространения COVID-19. Только последующее введение массовой диагностики и комплекса противоэпидемических мер позволило стабилизировать эпидемиологическую ситуацию.

Во многих странах проводился серологический мониторинг COVID-19. В Китае было выполнено поперечное исследование образцов сыворотки здоровых доноров методом ИФА. Обязательными условиями включения для участников в эксперимент являлись отсутствие в течение предшествующих 28 дней лихорадки или симптомов ОРВИ, а также контактов с больными COVID-19 или с подозрением на инфекцию. Вначале во всех пробах определяли наличие суммарных антител к коронавирусу (TAb), затем дополнительно в положительных – IgG (к нуклеопротеину SARS-CoV-2 (N) и

рецептор-связывающему домену (RBD) S-белка) и IgM. Статистическая обработка данных проводилась с применением метода бинарной логистической регрессии: однофакторного анализа – для выделения переменных со статистической разницей и многомерного регрессионного анализа – для корректировки отношения шансов этих переменных [11].

Общенациональное популяционное сероэпидемиологическое исследование для определения распространенности антител к SARS-CoV-2 было проведено в Испании. Страты для выборки были сформированы путем перекрестной классификации административно-территориальных образований, сгруппированных по числу жителей (<5000, 5000 – 19 999, 20000 – 99 999 и $\geq 100\ 000$). Для учета влияния социально-демографических факторов были выполнены статистическое выравнивание данных по методу взвешивания и пост-стратификация по доходу (ниже или выше медианы по провинции), полу и возрастным группам (< 20, 20–34, 35–49, 50–64 или ≥ 65 лет) так, чтобы взвешенная сумма респондентов в каждой страте соответствовала известной общей численности населения. После заполнения анкеты о наличии или отсутствии симптомов, характерных для COVID-19, у испытуемых производили забор проб крови – для выявления антител против рецептор-связывающего домена S белка с использованием иммунохроматографического экспресс-теста (на месте) и качественного определения IgG против нуклеопротеина SARS-CoV-2 методом ИФА (иммуноанализом хемилюминесцентных микрочастиц) [12].

Особое внимание на сегодняшний день уделяется изучению распространения COVID-19 среди медицинских работников – исследования по данной проблеме выполнены в ряде стран.

При тестировании методом ИФА на наличие IgG образцов сывороток крови 285 сотрудников госпиталя «Маунт-Синай» в Нью-Йорке (у которых прошло не менее двух недель с момента появления симптомов или предположительного контакта с больным) положительные пробы составили

36 %. Причем большинство обследуемых имели минимальные признаки и продолжали работать в течение предшествующих нескольких недель [13].

Необходимость обязательного обследования медицинского персонала также подтверждается результатами лабораторного скрининга 1533 работников учебной больницы Шеффилда в Великобритании с проявлениями катарально-респираторного синдрома, у 18 % из которых была обнаружена РНК SARS-CoV-2. У всех заболевших инфекция протекала в легкой форме, поэтому более трети из них отработали хотя бы одну полную смену, несмотря на наличие симптомов [14].

В Германии при проведении проспективного моноцентрического поперечного исследования сотрудники университетской клиники (г. Эссен) были разделены на три группы риска:

- высокого – ежедневно оказывающие помощь лицам с подтверждённым заболеванием или с подозрением на него (n = 244);

- среднего – регулярно контактирующие с больными без подозрения на COVID-19 при поступлении в стационар (n = 37);

- низкого – без контакта с пациентами (n = 35).

Несмотря на то, что антитела были обнаружены только в 1,6 % проб сывороток крови, их распространенность в группе среднего риска была выше по сравнению с группой высокого – 5,4 % и 1,2 % соответственно (доверительный интервал 95% 0,04–1,35) [15].

Аналогичное исследование было выполнено в Италии, где были протестированы 727 работников института охраны здоровья матери и ребенка «Бурло Гарофоло» с выделением трех групп по степени риска инфицирования:

- высокого – наиболее тесно контактирующие с больными (работающие в отделениях реанимации и интенсивной терапии) или биологическим материалом;

- среднего – врачи и медицинские сестры других специальностей;

- низкого – административный персонал больницы.

Положительный результат ПЦР-анализа был получен только в одном случае. Доля серопозитивных сотрудников составила 17,2 %, большинство из которых принадлежали к группам высокого и среднего риска (с преобладанием врачей) и указывали на наличие симптомов ОРВИ в анамнезе [16].

В настоящее время полностью не выяснена роль детского населения в передаче COVID-19. В начале пандемии многие страны включили закрытие школ с переводом на дистанционное обучение в число мер, принимаемых для ограничения передачи вируса (по аналогии с мероприятиями при возникновении эпидемий гриппа). Вместе с тем, согласно многочисленным данным, дети, возможно, менее восприимчивы к заражению, и заболевание протекает у них преимущественно в лёгкой форме [17–20]. Оценке скорости формирования коллективного иммунитета и передачи инфекции между учениками и персоналом школ посвящен ряд работ, выполненных на базе учебных заведений региона О-де-Франс, характеризующегося наиболее высокими показателями заболеваемости COVID-19 во Франции.

Так, было проведено ретроспективное закрытое когортное сероэпидемиологическое исследование для определения уровня инфицирования (% IAR infection attack rate) в средней школе департамента Уаза, в котором принял участие 661 человек (в том числе 53 учителя, 27 других работников, не входящих в преподавательский состав, 240 учеников, 211 родителей школьников, а также другие члены их семей). После заполнения анкеты на наличие симптомов, подозрительных на COVID-19 (не менее чем за 7 дней до даты начала эксперимента), был выполнен отбор проб сывороток крови с их последующим исследованием на IgG к SARS-CoV-2 тремя методами: ИФА – к нуклеопротеину вируса (N), проточной цитометрии (S-Flow анализ) – к рецептор-связывающему домену (RBD) S-белка и иммунопреципитации – для одновременного обнаружения антител обоих видов. Положительные результаты (хотя бы одного из трех тестов) были получены для 171 участника эксперимента, у 9 из которых диагноз был ранее

подтвержден при госпитализации в стационар. Среди учеников, учителей и школьного персонала антитела обнаруживались в 38,3 %, 43,4 % и 59,3 % соответственно, реже у родителей (11,4 %) и родственников учащихся (10,2 %). Наибольшее число серопозитивных испытуемых (40,0 %) относились к возрастной группе 15-17 лет [21].

Аналогичное исследование было проведено в шести начальных школах г. Крепи-ан-Валуа (регион О-де-Франс, департамент Уаза), в трёх из которых среди учеников было зарегистрировано по одному подтвержденному случаю COVID-19 до введения карантина. Из отобранных 1340 образцов крови доля серопозитивных проб при исследовании методом проточной цитометрии составила 10,4 %. Антитела Ig G к SARS-CoV-2 были обнаружены у 8,8 % обучающихся, 7,1 % учителей, 3,6 % других сотрудников школ, 11,9 % родителей и 11,8 % родственников учащихся. В 41,4 % случаев у детей отмечалось бессимптомное течение COVID-19, в остальных – легкое. Высокая частота обнаружения антител у родителей (61,0 %) и родственников инфицированных учеников (44,4 %) свидетельствовала о внутрисемейной кластеризации инфекции. Вторичных случаев инфицирования среди обучающихся и сотрудников школ не было отмечено, уровень передачи инфекции внутри школьных коллективов был низкий [22].

Заключение

Таким образом, результаты проведённого анализа различных тактик организации лабораторных исследований при эпидемиологическом мониторинге COVID-19 за рубежом свидетельствуют о значительно большей эффективности массового тестирования населения по сравнению с выборочным лабораторным скринингом. Очевидно, что последний может применяться только на стадии контролируемого распространения (передачи) инфекции. Наличие случаев заболеваний с неустановленным источником заражения – сигнал для начала массового тестирования на определенной территории. Лабораторная диагностика с использованием ПЦР-анализа для выявления маркеров (РНК) вируса SARS-CoV-2 имеет решающее значение

для выявления заболевших и проведения противоэпидемических мероприятий. Иммунологические исследования по определению специфических антител дают возможность определить истинные масштабы заражения, что необходимо для понимания особенностей протекания эпидемического процесса, планирования специфической профилактики. Зарубежный опыт планирования организации лабораторных исследований при решении различных задач может быть использован в нашей стране, для выработки оптимальных вариантов лабораторного мониторинга как COVID-19, так и в будущем при возникновении эпидемий других инфекционных болезней.

Поэтапное расширение показаний для проведения лабораторного тестирования, наряду со своевременным введением ограничительных мероприятий в Российской Федерации, позволили обеспечить раннее выявление больных с бессимптомными формами инфекции и их изоляцию, что в конечном итоге способствовало сохранению низкого уровня заболеваемости и особенно летальности по сравнению с другими странами.

Особого внимания по-прежнему требует проблема лабораторного скрининга медицинских работников с целью ранней изоляции заболевших (особенно в случаях бессимптомных и легких форм заболевания) для предотвращения инфицирования других сотрудников и пациентов.

Важным направлением является проведение сероэпидемиологических исследований, позволяющее оценить не только распространение COVID-19 в различных группах населения, но и особенности формирования иммунитета к новой коронавирусной инфекции, что важно для последующего планирования вакцинации.