

Sveikatos priežiūros įstaigos darbuotojų imuninio atsako į COVID-19 ligos iRNR vakciną įvertinimas

Mantas Didikas^{1,2}, Vilija Gurkšnienė^{3,4}, Ligita Jančorienė^{5,6}, Dalius Vitkus^{1,2}

¹Vilniaus universiteto Medicinos fakulteto Biomedicinos mokslų instituto Fiziologijos, biochemijos, mikrobiologijos ir laboratorinės medicinos katedra

Department of Physiology, Biochemistry, Microbiology and Laboratory Medicine, Institute of Biomedical Sciences, Faculty of Medicine, Vilnius University

²Vilniaus universiteto ligoninės Santaros klinikų Laboratorinės medicinos centras

Centre of Laboratory Medicine of Vilnius University Hospital Santaros Klinikos

³Vilniaus universiteto Medicinos fakulteto Sveikatos mokslų instituto Visuomenės sveikatos katedra

Department of Public Health, Institute of Health Sciences, Faculty of Medicine, Vilnius University

⁴Vilniaus universiteto ligoninės Santaros klinikų Infekcijų kontrolės skyrius

Department of Infection Control of Vilnius University Hospital Santaros Klinikos

⁵Vilniaus universiteto Medicinos fakulteto Klinikinės medicinos instituto Infekcinių

ligų ir dermatovenerologijos klinika

Clinic of Infectious Diseases and Dermato-venerology, Institute of Clinical Medicine, Faculty of Medicine, Vilnius University

⁶Vilniaus universiteto ligoninės Santaros klinikų Infekcinių ligų centras

Centre of Infectious Diseases of Vilnius University Hospital Santaros Klinikos

El. paštas: mantas.didikas@santa.lt

Santrauka

Įvadas. Sunkaus ūminio respiracinio sindromo koronavirusas 2 (SARS-CoV-2) sukėlė koronavirusinės ligos 2019 (COVID-19) pandemiją. Ši pandemija paveikė visą pasaulį. Lietuvoje užfiksuota daugiau kaip 1,25 milijono infekcijos ir daugiau kaip 9 tūkstančiai mirties atvejų. Medicinos darbuotojai susiduria su ypač didele rizika užsikrėsti COVID-19 liga, nes tiesiogiai dirba su infekuotais pacientais, todėl pagaminus vakciną medicinos darbuotojai buvo pirmieji, kuriomis jie buvo pradėti skiepyti. COVID-19 ligos informacinės ribonukleorūgšties vakcina koduoja visą spyglio (S) baltymą ir sukelia imuninę apsaugą nuo SARS-CoV-2 viruso stimuliuojant imunoglobulinų (Ig) sintezę. SARS-CoV-2 IgG antikūnai prieš S baltymo receptorių sujungiantį domeną (RBD) pasižymi neutralizuojančiu poveikiu ir slopina SARS-CoV-2 viruso prisijungimą prie angiotenziną konvertuojančio fermento 2 receptoriaus.

Tyrimo tikslas. Remiantis po vakcinacijos susidariusių specifinių antikūnų tyrimų duomenimis, įvertinti sveikatos priežiūros įstaigos darbuotojų imuninį atsaką į COVID-19 ligos iRNR vakciną.

Tyrimo medžiaga ir metodai. Tyrimo metu ištirta 9955 serumo mėginiai, kurie buvo suskirstyti į penkis imtis.

SARS-CoV-2 IgG antikūnai prieš S baltymo RBD sritį buvo kiekybiškai nustatyti kraujo serume cheminės liuminescencijos mikrodalelių imunoanalizės metodu. Antikūnų sukeltas imuninio atsako stiprumas įvertintas pagal Pasaulio sveikatos organizacijos gaires.

Tyrimo rezultatai ir išvados. Didžiausias antikūnų koncentracijos vidurkis ($1927,2 \pm 83,9$ BAU/ml) ir mediana ($1309,6$ BAU/ml IQR $732,1$ – $2553,3$) sveikatos priežiūros įstaigos darbuotojams nustatyti praėjus 3–4 mėnesiams po 3-iosios vakcinos dozės, tuo metu dauguma ($76,2\%$) SPĮ darbuotojų turėjo stiprų (>700 BAU/ml) imuninį atsaką. Po 2-osios vakcinos dozės moterys turėjo stipresnį imuninį atsaką, o po 3-iosios vakcinos dozės moterų ir vyrų imuninio atsako stiprumas reikšmingai nesiskyrė. Po 2-osios vakcinos dozės jauniausi SPĮ darbuotojai turėjo stipresnį imuninį atsaką nei vyresnieji, o po 3-iosios vakcinos dozės dauguma asmenų turėjo stiprų imuninį atsaką nepriklausomai nuo amžiaus. Po 2-osios vakcinos dozės jaunesni vyrai ir moterys turėjo stipresnį imuninį atsaką, o po 3-iosios vakcinos dozės vyresnės moterys turėjo stipriausią imuninį atsaką; vyresni vyrai – silpniausią.

Reikšminiai žodžiai: SARS-CoV-2, COVID-19, IgG prieš SARS-CoV-2 S1 RBD.

IVADAS

Koronavirusinės ligos 2019 (COVID-19) pandemija sukėlė pasaulinę sveikatos krizę precedento neturinčiu mastu; pasaulyje nustatyti daugiau kaip 630 milijonų SARS-CoV-2 infekcijos ir daugiau kaip 6,5 milijono mirties atvejų. Pandemijos pradžioje reikėjo skubiai sukurti efektyvią COVID-19 ligos vakciną, kuri padėtų sustabdyti ligos plitimą, ypač tarp labiausiai pažeidžiamų asmenų [1]. Medicinos darbuotojai susiduria su ypač didele rizika užsikrėsti COVID-19 liga ar tapti viruso nešiotojais, nes tiesiogiai dirba su infekuotais pacientais [2].

Sunkaus ūminio respiracinio sindromo koronavirusas 2 (SARS-CoV-2) priklauso *Coronaviridae* šeimai, *Betacoronavirus* genčiai. Virusas yra sudarytas iš nukleokapsidės (N), apvalkalo (E), membranos (M) ir spyglio (S) struktūrinių baltymų. S baltymas sudarytas iš S1 ir S2 subvienetų; S1 subvieneto receptorių sujungiantis domenas (RBD) prisijungia prie angiotenziną konvertuojančio fermento 2 (ACE2) receptoriaus. RBD sritis yra stipriai imunogeniška, todėl antikūnų atsakas prieš šią sritį yra svarbus stabdant SARS-CoV-2 infekcijos patogenezę [3].

2020 m. pabaigoje buvo pradėta naudoti COVID-19 ligos informacinės ribonukleorūgšties (iRNR) BNT162b2 (*Pfizer-BioNTech*) vakcina. Šios vakcinos iRNR yra „įvilktą“ į lipidinių nanodalelių (LNP) apvalkalą ir koduoja visą SARS-CoV-2 S baltymą [1]. Po vakcinacijos imuninė sistema gamina atminties B ląsteles, kurios sintetina neutralizuojančius antikūnus [4]. Imunoglobulinai (Ig) G ir IgM prisijungdami prie RBD srities slopina SARS-CoV-2 prisijungimą prie ACE2 receptoriaus [1].

SARS-CoV-2 IgG antikūnai prieš S baltymo RBD sritį kiekybiškai nustatomi kraujo serume cheminės liuminescencijos mikrodalelių imunoanalizės (CMIA) metodu. Šis didelį jautrumą ir specifiskumą turintis serologinis tyrimas padeda įvertinti po vakcinos susidariusį imuninį atsaką [4]. Serologiniai tyrimai taip pat padeda įvertinti po SARS-CoV-2 infekcijos susidariusį imuninį atsaką ir patvirtinti persirgtą COVID-19 ligą, kai buvo jaučiami ligos simptomai, bet gautas neigiamas PGR rezultatas. IgG antikūnai kraujo serume gali būti aptikti praėjus 7–14 dienų nuo infekcijos pradžios [5]. Atlikti tyrimai parodė, kad medicinos darbuotojų populiacijos kraujo serume nustatyta antikūnų koncentracija yra didesnė nei bendros populiacijos [6–8].

DARBO TIKSLAS

Remiantis po vakcinacijos susidariusių IgG antikūnų prieš SARS-CoV-2 S baltymo receptorių sujungiantį domeną koncentracija, įvertinti sveikatos priežiūros įstaigos darbuotojų imuninį atsaką į COVID-19 ligos iRNR vakciną lyties ir amžiaus grupėse prieš vakcinaciją, po dviejų ir trijų vakcinos dozių.

TYRIMO MEDŽIAGA IR METODAI

Į šį tyrimą įtraukti sveikatos priežiūros įstaigos (SPI) darbuotojai (sveikatos priežiūros specialistai, administracijos ir kiti darbuotojai) iš Vilniaus universiteto ligoninės

Santaros klinikų. Nė vienas iš SPI darbuotojų, įtrauktų į šį tyrimą, neturėjo patvirtinto COVID-19 ligos atvejo. Visi asmenys buvo paskiepyti BNT162b2 (*Pfizer-BioNTech*) vakcina. Duomenys ir tiriamoji medžiaga apie SPI darbuotojus buvo renkami nuo 2020 iki 2022 metų. Šiam tyrimui gautas Vilniaus regioninio biomedicininio tyrimų etikos komiteto leidimas Nr. 2021/11-1395-870. Tyrimai buvo atliekami Vilniaus universiteto ligoninės Santaros klinikų Laboratorinės medicinos centro Biochemijos laboratorijoje.

Asmenų veninio kraujo ėminiai paimti į vakuuminis mėgintuvėlius su geliu ir krešėjimo sistemos aktyvikiiais, laikantis visų reikalavimų. Tuomet centrifuguoti 10 min. 3000 aps./min. Paruošti mėginiai buvo tiriami nedelsiant.

Kraujo serumo SARS-CoV-2 IgG antikūnų prieš S baltymo receptorių sujungiantį domeną (RBD) koncentracijai nustatyti buvo naudojamas ARCHITECT SARS-CoV-2 IgG II Quant tyrimo rinkinys (Abbott, JAV), kuris pagrįstas dviejų etapų cheminės liuminescencijos mikrodalelių imunoanalizės metodu. Tyrimas buvo atliktas laikantis gamintojo nurodytų rekomendacijų.

Aptikimo riba, arba mažiausia nustatoma SARS-CoV-2 IgG (anti-RBD) antikūnų koncentracija, – 0,0 AU/ml. Tiesiškumo intervalas yra nuo 0,0 iki 40 000,0 AU/ml. Jautrumas po 15 ir daugiau dienų po COVID-19 ligos simptomų atsiradimo – 99,37 %, specifiskumas – 99,55 %.

Kiekybiniai kintamieji aprašyti naudojant vidurkius su 95 % pasikliautину intervalu (CI), medianas su tarpkvartiliniu plociu (IQR), minimalias ir maksimalias reikšmes, o kategoriniai – absoliutines ir procentines vertes. Kintamųjų duomenų normalumui tikrinti naudotas Šapiro ir Vilko (*Shapiro-Wilk*) testas. SARS-CoV-2 IgG antikūnų prieš S baltymo receptorių sujungiantį domeną koncentracijos netenkino normalaus skirstinio, todėl taikyti neparametrinės statistinės analizės metodai. Koncentracijų skirtumams tarp dviejų grupių įvertinti naudotas Mano ir Vitnio (*Mann-Whitney*) U testas. Analizuojant tris ar daugiau grupių pritaikytas Kruskalio ir Voliso (*Kruskal-Wallis*) testas.

Tyrimą sudaro penkios skirtingos imtys, kurios sudarytos atsižvelgiant į laiką, praėjusį po vakcinos dozės, ir prieš vakcinaciją. Pirmąją imtį (prieš vakcinaciją) sudaro 2438 asmenys, antrąją (praėjus 3 mėnesiams po 2-osios vakcinos dozės) – 2542, trečiąją (praėjus 6 mėnesiams po 2-osios vakcinos dozės) – 2619, ketvirtąją (praėjus 3–4 mėnesiams po 3-iosios vakcinos dozės) – 916 ir penktąją (praėjus 5–6 mėnesiams po 3-iosios vakcinos dozės) – 1440. Visos penkios imtys buvo analizuojamos atsižvelgiant į lytį ir penkias pasirinktas amžiaus grupes (1 lentelė). Amžiaus grupės pasirinktos pagal Lietuvoje ir Europos Sąjungoje taikytą kvietimą vakcinuotis, kai pirmieji buvo kviečiami skiepytis patys vyriausi asmenys (>65 m.) ir vėliau – dešimtmečiu jaunesni, taip pat išskirta pati jauniausia amžiaus grupė – jaunesni kaip 35 metų asmenys, sudarytos jaunesnių ir vyresnių kaip 65 metų vyrų ir moterų grupės.

Antikūnų sukeltas imuninio atsako stiprumas įvertintas pagal Pasaulio sveikatos organizacijos (PSO) gaires [9]. Tyrimų rezultatai buvo perskaiciuoti pagal PSO standartą (PSO 20/163), kuris sudarė prielaidas palyginti serumo antikūnus,

kiekybiškai nustatytus skirtingomis diagnostikos sistemomis, naudojant sujungiančių antikūnų vienetų (BAU – angl. *binding antibody units*). Tyrimui naudotų reagentų 0,142 AU/ml atitinka 1 BAU/ml. Rezultatas nuo 0,0 iki 7,1 BAU/ml yra nei-

giamas; nuo 7,1 iki 199,0 BAU/ml – sukeliantis silpną imuninį atsaką; nuo 200,0 iki 699,0 BAU/ml – sukeliantis vidutinio stiprumo imuninį atsaką; 700,0 BAU/ml ir daugiau – sukeliantis stiprų imuninį atsaką [10].

1 lentelė. Tyrimo imčių skaitinis ir procentinis pasiskirstymas pagal lytį ir amžiaus grupes

Table 1. Numerical and percentage distribution of study samples by gender and age groups

Imties Nr.		1 (prieš vakcinavimą)		2 (praėjus 3 mėn. po 2-osios vakcinos dozės)		3 (praėjus 6 mėn. po 2-osios vakcinos dozės)		4 (praėjus 3–4 mėn. po 3-iosios vakcinos dozės)		5 (praėjus 5–6 mėn. po 3-iosios vakcinos dozės)	
n (imties dydis)		2438		2542		2619		916		1440	
		Skaičius	%	Skaičius	%	Skaičius	%	Skaičius	%	Skaičius	%
Moterys	Bendras	1971	80,8	2071	81,5	2142	81,8	796	86,9	1184	82,2
	Amžiaus grupė (metai)										
	<35	358	14,7	365	14,4	383	14,6	149	16,3	223	15,5
	35–44	277	11,4	290	11,4	296	11,3	115	12,6	153	10,6
	45–54	583	23,9	628	24,7	643	24,6	254	27,7	349	24,3
	55–64	601	24,7	632	24,9	658	25,1	228	24,9	364	25,2
	≥65	152	6,2	156	6,1	162	6,2	50	5,5	95	6,6
Vyrai	Bendras	467	19,2	471	18,5	477	18,2	120	13,1	256	17,8
	Amžiaus grupė (metai)										
	<35	133	5,5	140	5,5	143	5,5	31	3,4	81	5,6
	35–44	80	3,3	77	3	77	2,9	25	2,7	35	2,4
	45–54	83	3,4	86	3,4	89	3,4	28	3,1	42	2,9
	55–64	114	4,7	105	4,1	99	3,8	21	2,3	62	4,3
	≥65	57	2,3	63	2,5	69	2,6	15	1,6	36	2,5

TYRIMO REZULTATAI IR JŲ APTARIMAS

Antikūnų koncentracija tyrimo imtyse

Prieš vakcinaciją (pirmojoje imtyje) tik 10 (0,4 %) SPI darbuotojų nustatyta daugiau kaip 7,1 BAU/ml antikūnų (toliau – Ak), tačiau didžiausias (26,5 BAU/ml) pirmosios imties rezultatas vis tiek rodo silpną atsaką.

Antrosios imties (praėjus 3 mėnesiams po 2-osios vakcinos dozės) Ak koncentracijos vidurkis yra 503,8 (BAU/ml) – aukštesnis, nei vidutinį imuninį atsaką galinti sukelti Ak koncentracija (pagal PSO 200–300 BAU/ml). Lyginant su prieš vakcinaciją gautais rezultatais, praėjus 3 mėnesiams po 2-osios vakcinos dozės, Ak koncentracija vidutiniškai išaugo daugiau kaip 1000 kartų.

Trečiosios imties (praėjus 6 mėnesiams po 2-osios vakcinos dozės) Ak koncentracijos vidurkis yra 199,1 (BAU/ml) – tik šiek tiek mažesnis, nei vidutinį imuninį atsaką galinti sukelti Ak koncentracija. Lyginant su prieš vakcinaciją gautais rezultatais, praėjus 6 mėnesiams po 2-osios vakcinos dozės, Ak koncentracija vidutiniškai išaugo beveik 400 kartų. Tačiau lyginant rezultatus, gautus praėjus 3 mėnesiams po 2-osios vakcinos dozės, Ak koncentracija sumažėjo maždaug 2,5 karto. Taip pat 3,4 karto išaugo asmenų, turinčių mažesnę kaip 200 BAU/ml Ak koncentraciją, skaičius, o 2,4 karto suma-

žėjo SPI darbuotojų, turinčių vidutinį imuninį atsaką sukeliančią Ak koncentraciją ir beveik 9 kartus sumažėjo SPI darbuotojų, turinčių stiprų imuninį atsaką sukeliančią Ak koncentraciją, skaičius.

Ketvirtosios imties (praėjus 3–4 mėnesiams po 3-iosios vakcinos dozės) Ak koncentracijos vidurkis yra 1927,2 BAU/ml – reikšmingai aukštesnis, nei stiprų imuninį atsaką galinti sukelti Ak koncentracija. Žemiausia šios imties vertė – 88,1 BAU/ml. Lyginant su prieš vakcinaciją gautais rezultatais, Ak koncentracija vidutiniškai išaugo beveik 4000 kartų, o lyginant su rezultatais, gautais antrojoje ir trečiojoje imtyse, Ak koncentracija padidėjo apytiksliai 3,8 karto ir beveik 10 kartų. Taip pat atitinkamai daugiau kaip 16 kartų ir 56 kartus sumažėjo asmenų, turinčių mažesnę kaip 200 BAU/ml Ak koncentraciją, ir beveik 4 kartus ir 33 kartus padidėjo SPI darbuotojų, turinčių stiprų imuninį atsaką sukeliančią Ak koncentraciją.

Penktosios imties (praėjus 5–6 mėnesiams po 3-iosios vakcinos dozės) Ak koncentracijos vidurkis yra 1917,2 BAU/ml – reikšmingai aukštesnis, nei stiprų imuninį atsaką galinti sukelti Ak koncentracija. Žemiausia šios imties vertė – 53,4 BAU/ml. Lyginant su prieš vakcinaciją gautais rezultatais, Ak koncentracija vidutiniškai išaugo beveik 4000 kartų. Lyginant su antrosios ir trečiosios imčių rezultatais, Ak koncentracija padidėjo atitinkamai 3,8 karto ir beveik 10 kartų. Taip pat atitinkamai daugiau kaip 6 kartus ir 22 kartus sumažėjo asmenų, turinčių mažesnę kaip 200 BAU/ml Ak koncentraciją. Atitinkamai

daugiau kaip 3 kartus ir daugiau kaip 28 kartus padaugėjo SPI darbuotojų, turinčių stiprų imuninį atsaką sukeliančią Ak koncentraciją. Lyginant su rezultatais, gautais penktojoje imtyje, Ak koncentracijos vidurkis sumažėjo tik 10 BAU/ml vienetų (0,5 %), Ak koncentracijos media-

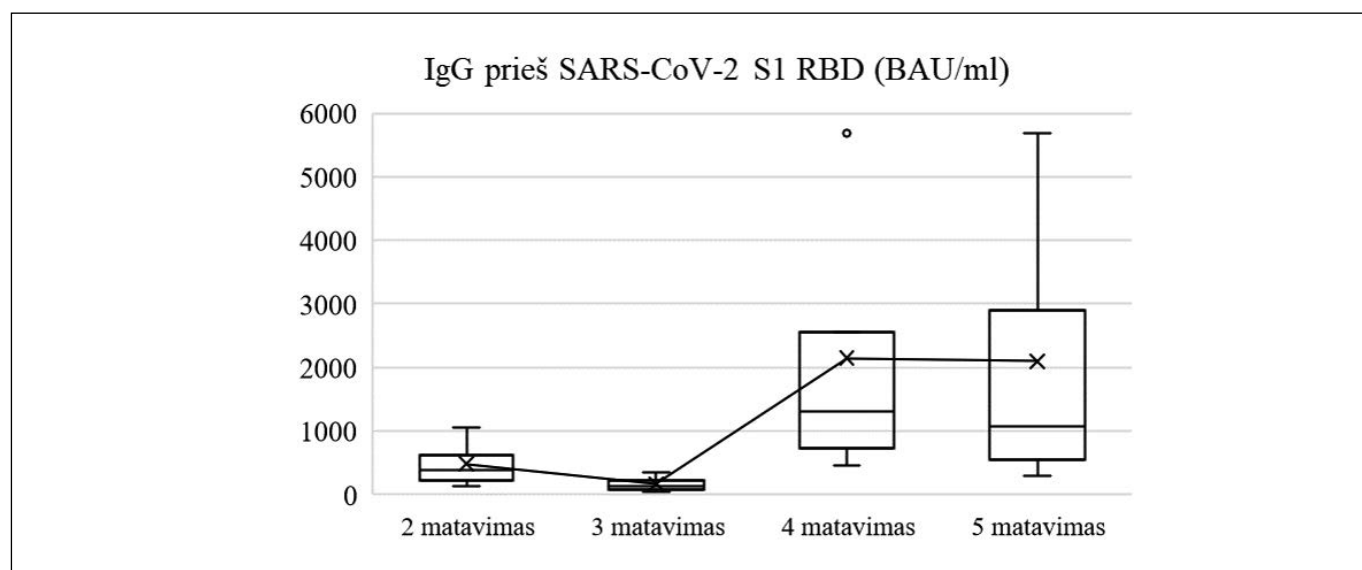
na sumažėjo 239,7 BAU/ml vienetu (18,3 %), tačiau 2,5 karto (254 %) padaugėjo SPI darbuotojų, turinčių mažesnę kaip 200 BAU/ml Ak koncentraciją, ir 14,7 % sumažėjo asmenų, turinčių stiprų imuninį atsaką sukeliančią Ak koncentraciją.

2 lentelė. Antikūnų (Ak) koncentracijos vidurkis ir mediana tyrimo imtyse
Table 2. Mean and median of antibody concentrations in study samples

Imties Nr.	1 (prieš vakcinavimą)	2 (praėjus 3 mėn. po 2-osios vakcinos dozės)	3 (praėjus 6 mėn. po 2-osios vakcinos dozės)	4 (praėjus 3–4 mėn. po 3-iosios vakcinos dozės)	5 (praėjus 5–6 mėn. po 3-iosios vakcinos dozės)
Ak vidurkis (BAU/ml (95 % CI))	0,5 (±0,04)	503,8 (±18,7)	199,1 (±14,8)	1927,2 (±83,9)	1917,2 (±94,3)
Ak mediana (BAU/ml (IQR))	0,3 (0,1–0,5)	376,5 (218,6–621,1)	126,8 (76,9–212,8)	1309,6 (732,1–2553,3)	1069,9 (546,5–2889,9)

3 lentelė. Imuninio atsako stiprumas tyrimo imtyse
Table 3. The strength of the immune response in the study samples

Imuninio atsako stiprumas (BAU/ml)	1 imtis	2 imtis	3 imtis	4 imtis	5 imtis
	Procentinė dalis (%)				
Neigiamas (<7,1)	99,6	0,1	0,2	0	0
Silpnas (7,1–199)	0,4	21,2	72,9	1,3	3,3
Vidutinis (200–699)	0	58,5	24,8	22,5	31,7
Stiprus (≥700)	0	20,3	2,3	76,2	65



1 pav. Antikūnų koncentracijos pokyčiai tyrimo imtyse
Fig. 1. Changes of antibody concentrations in study samples

Moterų ir vyrų antikūnų koncentracija tyrimo imtyse

Pirmosios imties moterų ir vyrų Ak koncentracijos vidurkiai nesiskiria nuo bendros pirmosios imties Ak koncentracijos vidurkio ir nesiskiria tarpusavyje.

Antrosios imties moterų Ak koncentracijos vidurkis 1,3 % didesnis už bendrą imties vidurkį, vyrų – 10,2 % mažesnis. Taip pat antrosios imties moterų Ak koncentracijos vidurkis

11,3 % didesnis už vyrų ($p < 0,05$). Lyginant antrosios imties rezultatus su pirmosios imties, moterų populiacijoje liko 0,2 % neigiamų Ak rezultatų, o vyrų – neigiamų Ak rezultatų neliko.

Trečiosios imties moterų Ak koncentracijos vidurkis buvo 3,7 % didesnis už bendrą imties vidurkį, vyrų – 16,8 % mažesnis. Pažymėtina, kad trečiosios imties moterų Ak koncentracijos vidurkis buvo statistiškai reikšmingai didesnis už vyrų (19,8 %, $p < 0,05$). Lyginant trečiosios imties rezultatus su an-

trosios imties, 3,7 karto išaugo moterų silpną imuninį atsaką sukelianti Ak koncentracija, 2,4 karto sumažėjo vidutinį imuninį atsaką sukelianti Ak koncentracija ir daugiau kaip 8 kartus sumažėjo stiprų imuninį atsaką sukelianti Ak koncentracija. Vyrų grupėje 2,7 karto išaugo silpną imuninį atsaką sukelianti Ak koncentracija, šiek tiek daugiau nei 2 kartus sumažėjo vidutinį imuninį atsaką sukelianti Ak koncentracija ir daugiau kaip 12 kartų sumažėjo stiprų imuninį atsaką sukelianti Ak koncentracija.

Ketvirtosios imties moterų ir vyrų Ak koncentracijų vidurkiai reikšmingai nesiskiria nuo visos ketvirtosios imties vidutinės Ak koncentracijos ir reikšmingai nesiskiria tarpusavyje, tačiau vyrų Ak koncentracijų mediana yra 20,5 % didesnė nei moterų ($p < 0,05$). Lyginant ketvirtosios imties rezultatus su trečiosios imties, beveik 50 kartų sumažėjo moterų silpną imuninį atsaką sukelianti Ak koncentracija ir 30 kartų išaugo stiprų imuninį atsaką sukelianti Ak koncentracija bei 55 kartus padidėjo vyrų stiprų imuninį atsaką sukelianti Ak koncentracija. Lyginant ketvirtosios imties rezultatus su antrosios imties rezultatais, 13 kartų sumažėjo moterų silpną imuninį atsaką sukelianti Ak koncentracija ir beveik 4 kartus išaugo stiprų imuninį atsaką sukelianti Ak

koncentracija. Taip pat daugiau kaip 4 kartus padidėjo vyrų stiprų imuninį atsaką sukelianti Ak koncentracija.

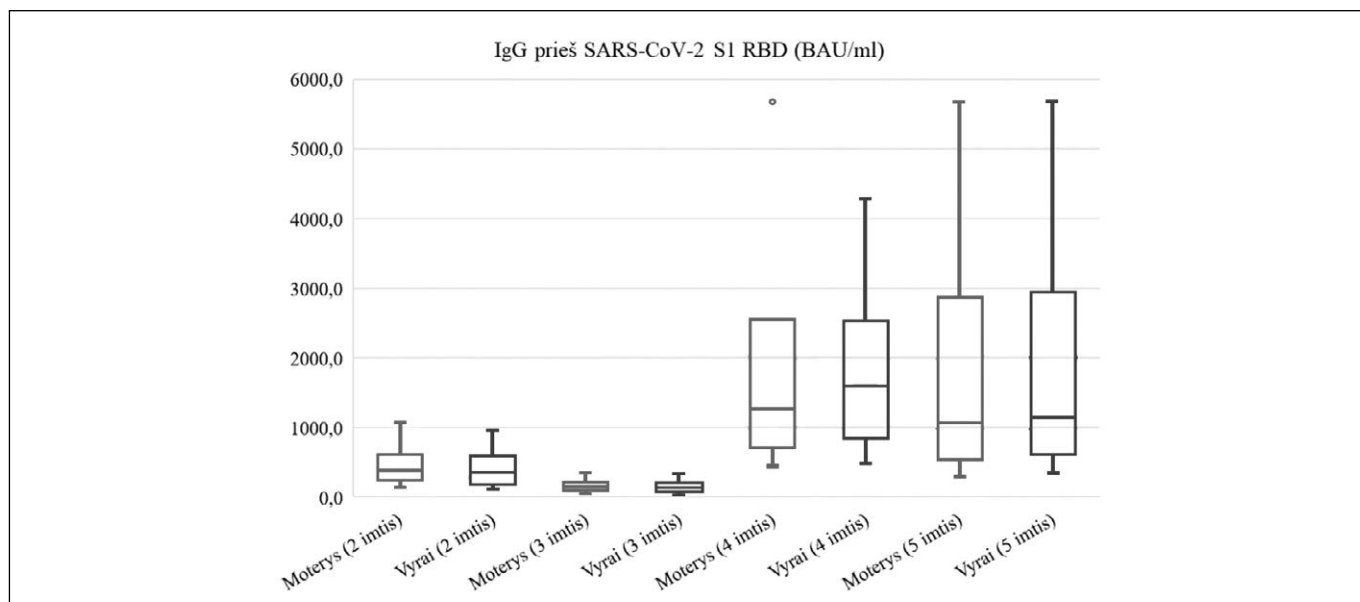
Lyginant penktosios imties rezultatus su ketvirtosios imties rezultatais, moterų populiacijoje daugiau kaip 2 kartus padidėjo silpną imuninį atsaką sukelianti Ak koncentracija ir 15,1 % sumažėjo stiprų imuninį atsaką sukelianti Ak koncentracija. Vyrų populiacijoje panašiai – 15,3 % sumažėjo stiprų imuninį atsaką sukelianti Ak koncentracija. Lyginant penktosios imties rezultatus su trečiosios imties, moterų grupėje 20 kartų sumažėjo silpną imuninį atsaką sukelianti Ak koncentracija ir 25 kartus išaugo stiprų imuninį atsaką sukelianti Ak koncentracija; vyrų beveik 32 kartus sumažėjo silpną imuninį atsaką sukelianti Ak koncentracija, 46 kartus padidėjo stiprų imuninį atsaką sukelianti Ak koncentracija. Lyginant penktosios imties rezultatus su antrosios imties rezultatais, moterų grupėje 5,6 karto sumažėjo silpną imuninį atsaką sukelianti Ak koncentracija ir 3 kartus išaugo stiprų imuninį atsaką sukelianti Ak koncentracija; vyrų – daugiau kaip 11 kartų sumažėjo silpną imuninį atsaką sukelianti Ak koncentracija ir daugiau kaip 3 kartus padidėjo stiprų imuninį atsaką sukelianti Ak koncentracija.

4 lentelė. Moterų ir vyrų tyrimo imčių antikūnų koncentracijos vidurkiai ir medianos
Table 4. Means and medians of antibody concentrations for female and male study samples

	Imties Nr.	1 (prieš vakcinavimą)	2 (praėjus 3 mėn. po 2-osios vakcinos dozės)	3 (praėjus 6 mėn. po 2-osios vakcinos dozės)	4 (praėjus 3–4 mėn. po 3-iosios vakcinos dozės)	5 (praėjus 5–6 mėn. po 3-iosios vakcinos dozės)
Imties dydis (n)	1971	2071	2142	796	1184	
Moterys	Ak vidurkis (BAU/ml (95 % CI))	0,5 ($\pm 0,06$)	510,4 ($\pm 20,5$)	206,5 ($\pm 17,7$)	1927,3 ($\pm 115,3$)	1911,7 ($\pm 104,5$)
	Ak mediana (BAU/ml (IQR))	0,3 (0,1–0,5)	377,7 (227,2–627,4)	127,7 (79,0–213,6)	1279,2 (706,6–2553,3)	1047,8 (535,2–2876,0)
Imties dydis (n)	467	471	477	120	256	
Vyrai	Ak vidurkis (BAU/ml (95 % CI))	0,5 ($\pm 0,09$)	452,4 ($\pm 32,6$)	165,7 ($\pm 15,7$)	1926,3 ($\pm 244,9$)	1942,7 ($\pm 219,0$)
	Ak mediana (BAU/ml (IQR))	0,3 (0,2–0,5)	374,6 (182,1–601,6)	125,2 (67,6–209,4)	1608,0 (830,7–2547,9)	1130,3 (634,6–2944,2)

5 lentelė. Moterų ir vyrų imuninio atsako stiprumas tyrimo imtyse
Table 5. The strength of the female and male immune response in the study samples

	Imuninio atsako stiprumas (BAU/ml)	1 imtis	2 imtis	3 imtis	4 imtis	5 imtis
	Procentinė dalis (%)					
Moterys	Neigiamas ($< 7,1$)	99,5	0,1	0,2	0	0
	Silpnas (7,1–199)	0,5	19,7	72,6	1,5	3,5
	Vidutinis (200–699)	0	59,6	24,7	23,2	32,6
	Stiprus (≥ 700)	0	20,6	2,5	75,3	63,9
Vyrai	Neigiamas ($< 7,1$)	99,8	0	0	0	0
	Silpnas (7,1–199)	0,2	27,4	73,4	0	2,3
	Vidutinis (200–699)	0	53,7	25,2	17,5	27,7
	Stiprus (≥ 700)	0	18,9	1,5	82,5	69,9



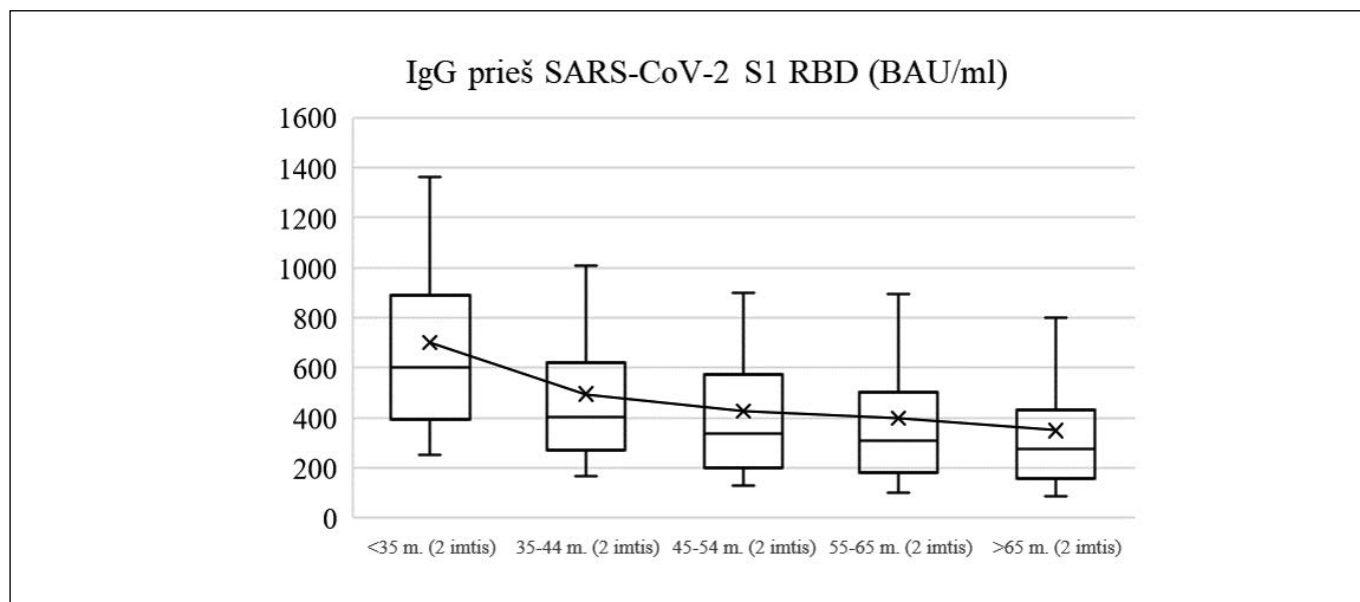
2 pav. Moterų ir vyrų IgG klasės antikūnų prieš SARS-CoV 2 S1 RBD koncentracijos tyrimo imtyse
Fig. 2. Concentration of IgG class antibodies against SARS-CoV 2 S1 RBD in female and male study samples

Antikūnų koncentracija tyrimo imčių amžiaus grupėse

Pirmojoje imtyje visose penkiose amžiaus grupėse gautas 0,5 ar 0,6 BAU/ml Ak koncentracijos vidurkis, visų amžiaus grupių Ak koncentracijos mediana yra 0,3 BAU/ml.

Antrojoje imtyje didžiausia Ak koncentracija susidarė

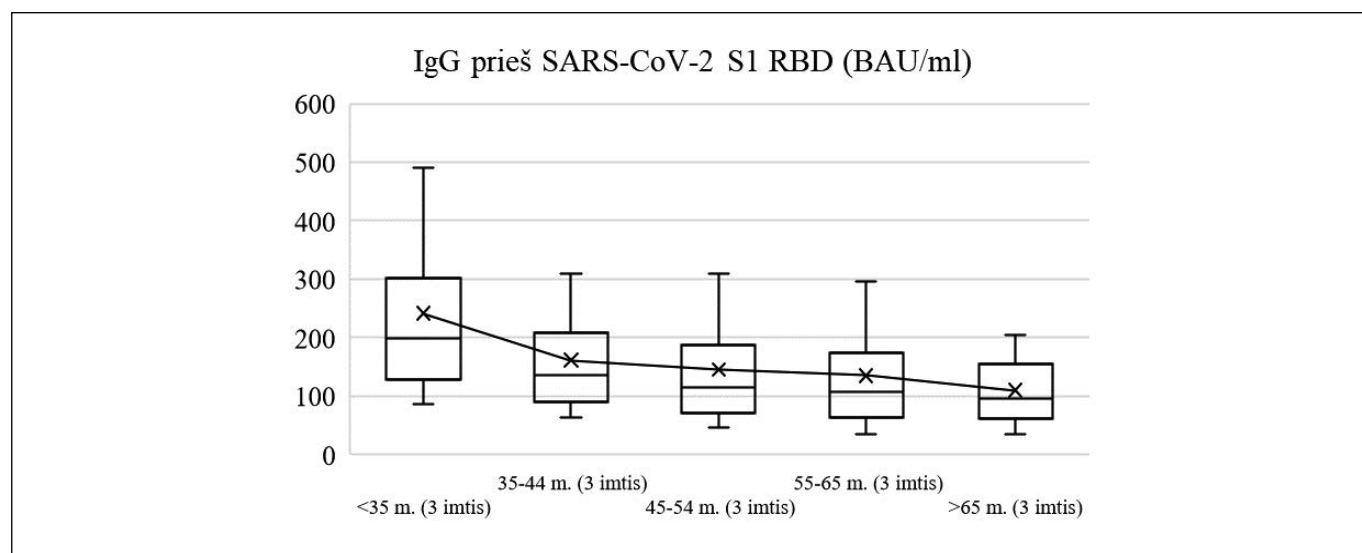
jauniausio (<35 m.) amžiaus grupėje. Ak koncentracijos vidurkis vyresnio amžiaus grupėse palaipsniui mažėja, o mažiausias Ak koncentracijos vidurkis ir mediana pastebima vyriausio (>65 m.) amžiaus grupėje. Lyginant šią imtį su pirmąja imtimi, didžiausias Ak koncentracijos prieaugis (1428 kartai) yra jauniausio amžiaus grupėje, o mažiausias (630 kartų) – vyriausio.



3 pav. Antrosios imties antikūnų koncentracija pagal amžiaus grupes
Fig. 3. Sample 2 antibody concentration by age groups

Trečiojoje imtyje didžiausia Ak koncentracija išlieka jauniausio (<35 m.) amžiaus grupėje. Ak koncentracijos vidurkis vyresnio amžiaus grupėse, taip pat kaip ir antrojoje imtyje, palaipsniui mažėja, o mažiausias Ak koncentracijos vidurkis ir mediana pastebima vyriausio (>65 m.) amžiaus grupėje. Lyginant šią imtį su pirmąja imtimi, didžiausias Ak

koncentracijos prieaugis (506 kartai) yra jauniausio amžiaus grupėje, o mažiausias (264 kartai) – vyriausio. Tačiau lyginant šią imtį su antrąja, visose amžiaus grupėse pastebimas žymus Ak koncentracijos sumažėjimas. Ak koncentracijos vidurkis mažėjo atitinkamai 282 %, 238 %, 246 %, 247 %, 239 % – nuo jauniausio iki vyriausio amžiaus grupių.

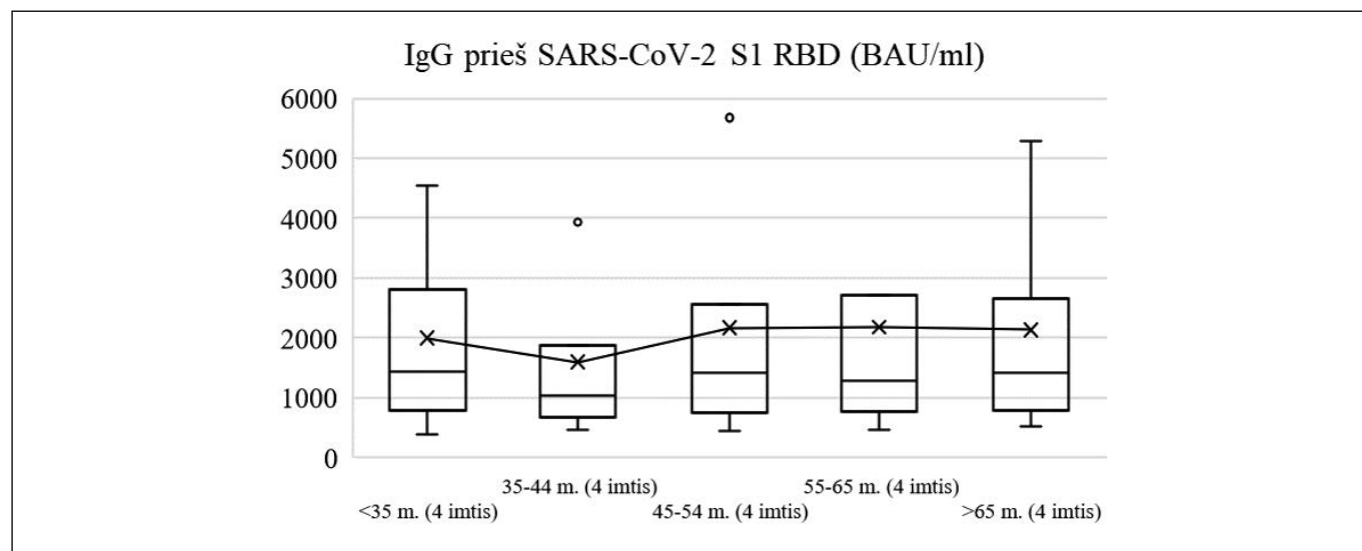


4 pav. Trečiosios imties antikūnų koncentracija pagal amžiaus grupes

Fig. 4. Sample 3 antibody concentration by age groups

Ketvirtojoje imtyje didžiausia Ak koncentracija nustatyta vyriausio (≥ 65 m.) amžiaus grupėje. Panaši į vyriausios amžiaus grupės yra Ak koncentracija ir 55–64 metų, jauniausio (<35 m.) ir 45–54 metų amžiaus grupėse, o 23,9 % mažesnė Ak koncentracija – 35–44 metų amžiaus grupėje. Šioje imtyje daugumai visų amžiaus grupių tiriamųjų susidarė stiprų

imuninį atsaką sukelianti Ak koncentracija. Lyginant šią imtį su antrąja ir su trečiąja imtimis, visose amžiaus grupėse pastebimas žymus Ak koncentracijos padidėjimas. Lyginant su antrąja imtimi, Ak koncentracijos vidurkis išaugo nuo 271 % iki 556 %, o lyginant su trečiąja imtimi – nuo 742 % iki 1326 % nuo jauniausio iki vyriausio amžiaus grupių.

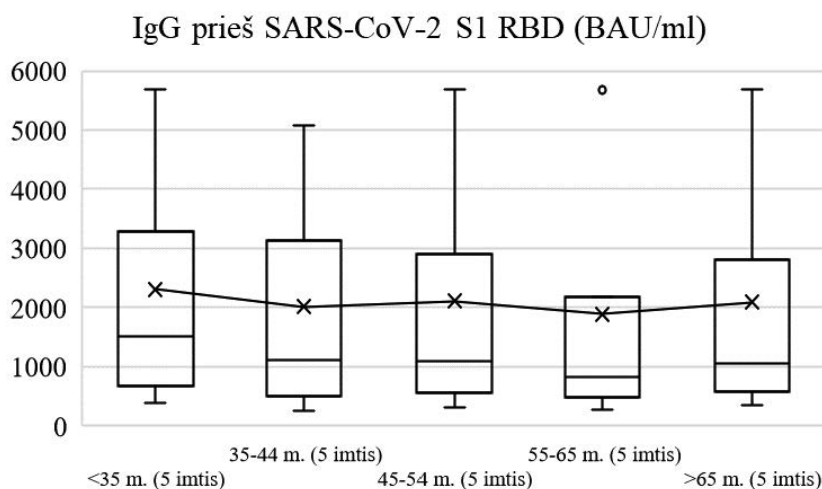


5 pav. Ketvirtosios imties antikūnų koncentracija pagal amžiaus grupes

Fig. 5. Sample 4 antibody concentration by age groups

Penktojoje imtyje didžiausia Ak koncentracija nustatyta jauniausio (<35 m.) amžiaus grupėje. Panaši Ak koncentracija yra vyriausio ir 45–54 metų amžiaus grupėse, o 20,7 % mažesnė Ak koncentracija – 55–64 metų amžiaus grupėje. Visose amžiaus grupėse šioje imtyje daugumai tiriamųjų susidarė stiprų imuninį atsaką sukelianti antikūnų koncentracija. Lyginant šią imtį su antrąja ir trečiąja imtimis, visose amžiaus grupėse pastebimas žymus Ak koncentracijos padidėjimas. Lyginant su antrąja imtimi, Ak koncentracijos vidurkis išaugo nuo 304 % iki 509 %, o lyginant su trečiąja

imtimi – nuo 859 % iki 1215 % nuo jauniausios iki vyriausios amžiaus grupių. Lyginant šią imtį su ketvirtąja imtimi, jauniausios amžiaus grupės Ak koncentracijos vidurkis išaugo dar 11,9 % (231,9 BAU/ml vienetais), taip pat 18,3 % (292,6 BAU/ml vienetais) išaugo 35–44 metų amžiaus grupės Ak koncentracijos vidurkis, 45–55 metų amžiaus grupės vidurkis išliko reikšmingiau nepakitęs, o 55–64 metų ir vyriausio amžiaus grupių Ak koncentracijos vidurkiai sumažėjo atitinkamai 16,3 % (334,8 BAU/ml vienetais) ir 8,4 % (175,9 BAU/ml vienetais).



6 pav. Penktosios imties antikūnų koncentracija pagal amžiaus grupes

Fig. 6. Sample 5 antibody concentration by age groups

Lyginant ketvirtosios ir penktosios imties antikūnų sukeltą imuninio atsako stiprumą praėjus daugiau laiko po vakcinacijos, mažėja stiprų imuninį atsaką sukeliančios Ak koncentracijos dažnis visose amžiaus grupėse, ir dažniau randama silpną ir vidutinį imuninį atsaką sukelianti Ak koncentracija. Mažiausiai stiprų imuninį atsaką sukeliančių rezultatų prarasta jauniausio amžiaus grupėje (3,3 %),

o daugiausiai – 55–64 metų ir vyriausio amžiaus grupėse – atitinkamai 18,4 % ir 12,0 %. Abiejose imtyse mažiausią dalį sudarė silpną imuninį atsaką sukeliančios Ak koncentracijos. Nors praėjus daugiau laiko po vakcinacijos stiprų imuninį atsaką sukelianti Ak koncentracija nustatoma rečiau, tačiau penktojoje imtyje visose amžiaus grupėse vis tiek dauguma rezultatų yra didesni už 700 BAU/ml.

6 lentelė. Antikūnų koncentracijos vidurkis tyrimo imčių amžiaus grupėse

Table 6. The average concentration of antibodies in the age groups of the study samples

Amžiaus grupė (metai)	1 imtis	2 imtis	3 imtis	4 imtis	5 imtis
	Antikūnų koncentracijos vidurkis (BAU/ml + 95 % CI)				
<35	0,5 (±0,1)	714,1 (±41,7)	253,0 (±24,4)	1941,1 (±223,8)	2173,0 (±203,2)
35–44	0,6 (±0,2)	513,0 (±43,9)	215,2 (±49,8)	1597,8 (±234,5)	1890,4 (±248,8)
45–54	0,5 (±0,06)	445,8 (±29,2)	183,2 (±27,8)	1926,4 (±191,4)	1940,1 (±182,7)
55–64	0,6 (±0,11)	448,6 (±38,8)	181,5 (±27,0)	2058,1 (±216,9)	1723,3 (±173,5)
≥65	0,6 (±0,14)	378,0 (±61,9)	158,4 (±52,9)	2100,0 (±406,6)	1924,1 (±322,5)

7 lentelė. Ketvirtosios ir penktosios imčių imuninio atsako stiprumo pasiskirstymas pagal amžiaus grupes

Table 7. The strength of the immune response of samples 4 and 5 by age groups

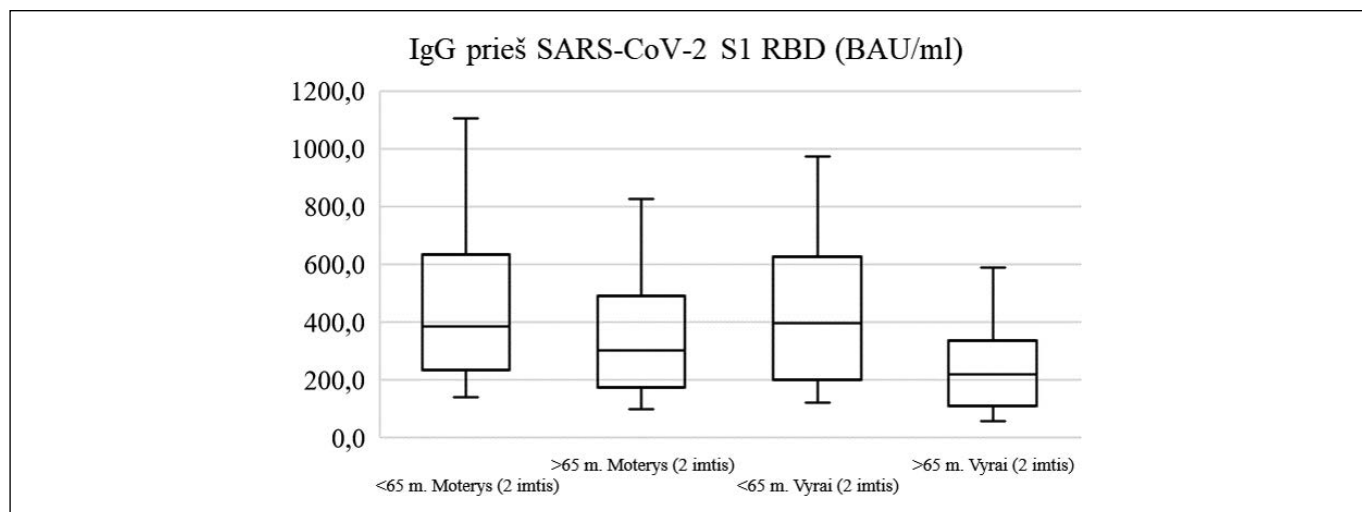
Amžiaus grupė (metai)	Imuninio atsako stiprumas	4 imtis	5 imtis
<35	Neigiamas	0,0 %	0,0 %
	Silpnas	1,1 %	2,6 %
	Vidutinis	22,2 %	24,0 %
	Stiprus	76,7 %	73,4 %
35–44	Neigiamas	0,0 %	0,0 %
	Silpnas	2,9 %	4,3 %
	Vidutinis	24,3 %	30,3 %
	Stiprus	72,9 %	65,4 %
45–54	Neigiamas	0,0 %	0,0 %

	Silpnas	1,1 %	2,6 %
	Vidutinis	22,3 %	32,2%
	Stiprus	76,6 %	65,2 %
55–64	Neigiamas	0,0 %	0,0 %
	Silpnas	0,8 %	4,5 %
	Vidutinis	22,1 %	36,9 %
	Stiprus	77,1 %	58,7 %
≥65	Neigiamas	0,0 %	0,0 %
	Silpnas	1,5 %	1,5 %
	Vidutinis	21,5 %	33,6 %
	Stiprus	76,9 %	64,9 %

Moterų ir vyrų antikūnų koncentracija tyrimo imčių amžiaus grupėse

Antrojoje imtyje didžiausia Ak koncentracija susidarė

jaunesnių nei 65 metų moterų grupėje, o mažiausia – vyresnių nei 65 metų vyrų grupėje. Ir moterų, ir vyrų jaunesnio amžiaus grupėse susiformavo didesnė Ak koncentracija nei vyresnio amžiaus grupėse.

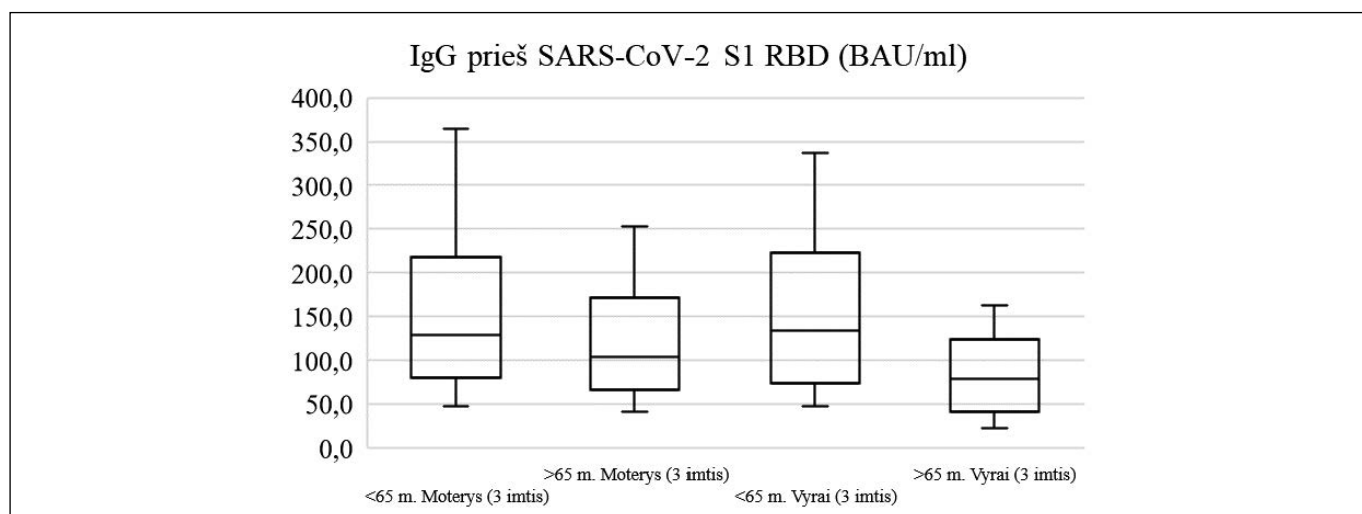


7 pav. Antrosios imties antikūnų koncentracija vyrų ir moterų amžiaus grupėse

Fig. 7. Sample 2 antibody concentration in male and female by age groups

Trečiojoje imtyje, kaip ir antrojoje, didžiausia Ak koncentracija susidarė jaunesnio nei 65 metų amžiaus moterų grupėje, o mažiausia – vyresnių nei 65 metų vyrų grupėje. Ir

moterų, ir vyrų jaunesnio amžiaus grupėse susidarė didesnė Ak koncentracija nei vyresnėse grupėse.

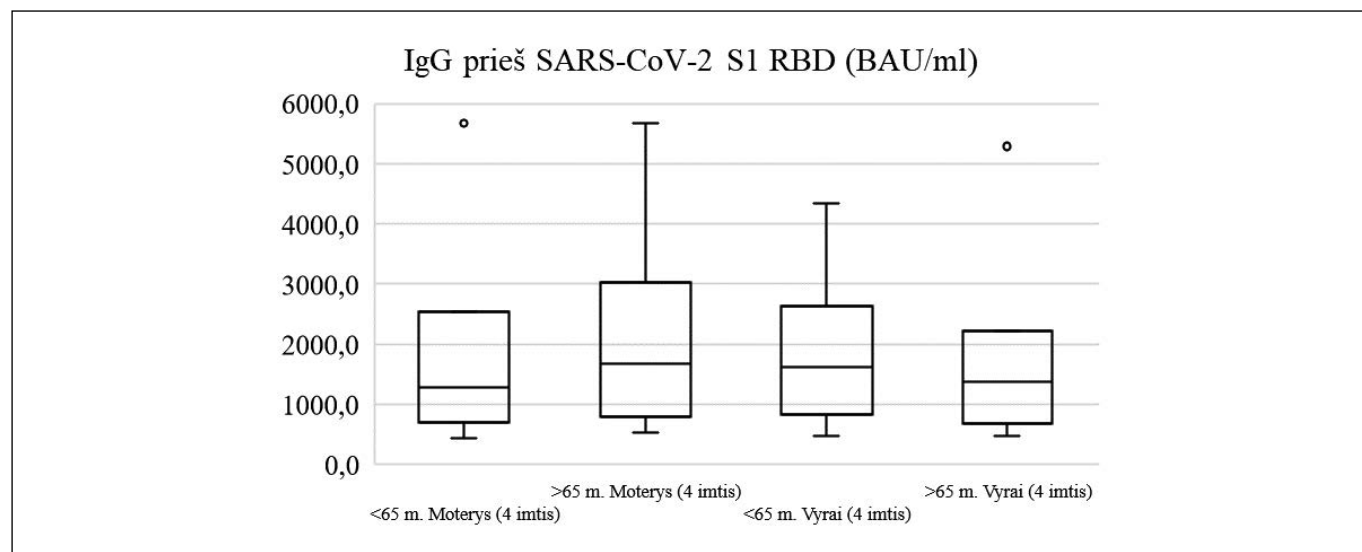


8 pav. Trečiosios imties antikūnų koncentracija vyrų ir moterų amžiaus grupėse

Fig. 8. Sample 3 antibody concentration in male and female by age groups

Ketvirtojoje imtyje didžiausia Ak koncentracija susidarė vyresnių nei 65 metų moterų grupėje, o mažiausia – vyresnių nei 65 metų vyrų grupėje. Šioje imtyje, priešingai nei 2-ojoje ir 3-ojoje imtyse, vyresnio amžiaus moterų grupėje

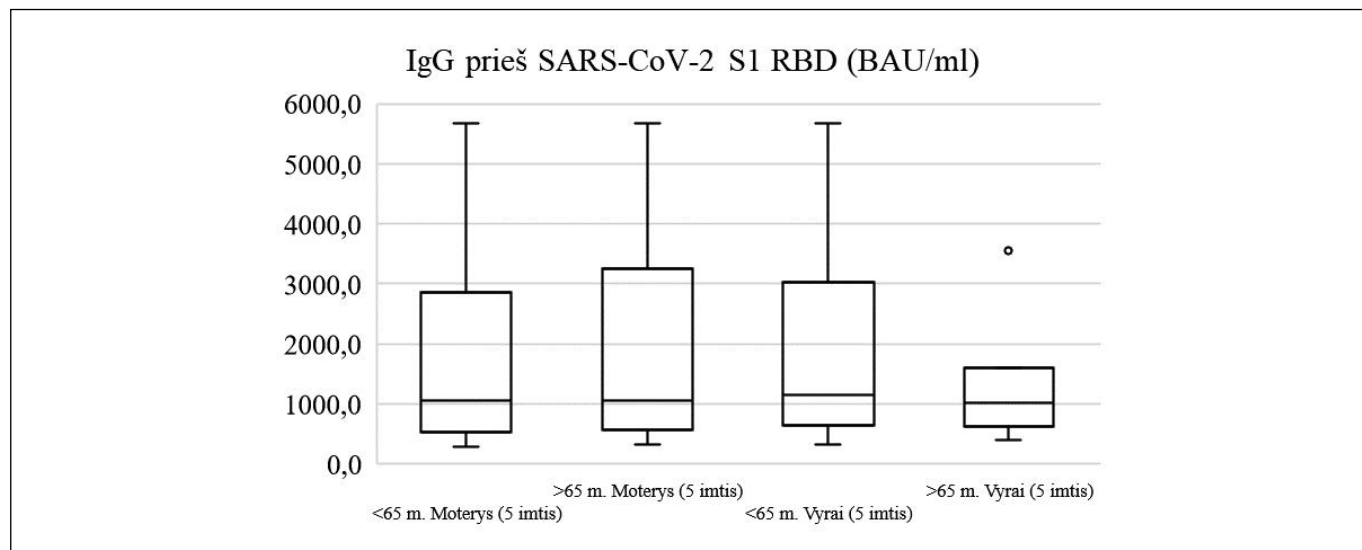
susidarė didesnė antikūnų koncentracija, tačiau išlieka tendencija, kad vyresnio amžiaus vyrų grupėje susiformuoja mažesnė Ak koncentracija.



9 pav. Ketvirtosios imties antikūnų koncentracija vyrų ir moterų amžiaus grupėse
Fig. 9. Sample 4 antibody concentration in male and female by age groups

Penktojoje imtyje, kaip ir 4-ojoje, didžiausia Ak koncentracija susidarė vyresnių nei 65 metų moterų grupėje, o mažiausia – vyresnių nei 65 metų vyrų grupėje. Šioje imtyje, priešingai nei 2-ojoje ir 3-ojoje imtyse, tačiau taip pat

kaip 4-ojoje imtyje, vyresnio amžiaus moterų grupėje susidarė didesnė antikūnų koncentracija, tačiau išlieka tendencija, kad vyresnio amžiaus vyrų grupėje susiformuoja mažiau Ak.



10 pav. Penktosios imties antikūnų koncentracija vyrų ir moterų amžiaus grupėse
Fig. 10. Sample 5 antibody concentration in male and female by age groups

Ketvirtojoje imtyje visose moterų ir vyrų amžiaus grupėse didžiausią dalį sudaro stiprų imuninių atsaką sukeliančios Ak koncentracijos vertės (75,0–86,7 %). Vidutinį imuninių atsaką sukeliančios Ak koncentracijos vertės pasikartoja nuo 13,3 % iki 23,5 %. Nė vienoje moterų ir vyrų amžiaus grupėje negautas neigiamas Ak rezultatas, o vyrų – negauta ir silpną imuninių atsaką sukeliančių Ak koncentracijų. Šioje imtyje vyresnių kaip 65 metų vyrų grupėje gauta daugiausiai

stiprų imuninių atsaką sukeliančių Ak koncentracijos atvejų, o mažiausiai – jaunesnių kaip 65 metų moterų grupėje.

Penktojoje imtyje visose moterų ir vyrų amžiaus grupėse vyraavo stiprų imuninių atsaką sukeliančios Ak koncentracijos (63,8–70,9 %). Vidutinį imuninių atsaką sukelianti Ak koncentracija buvo antra pagal dažnumą, pasikartojanti nuo 26,4 % iki 36,1 % moterų ir vyrų amžiaus grupėse. Neigiamų rezultatų negauta nė vienoje moterų ir vyrų amžiaus

grupėje, o vyresnių kaip 65 metų vyrų amžiaus grupėje nenustatyta ir silpną imuninį atsaką sukelianti Ak koncentracija. Šioje imtyje jaunesnių kaip 65 metų vyrų grupėje rasta

daugiausiai stiprų imuninį atsaką lemiančių Ak koncentracijos atvejų, o mažiausiai, kaip ir 4-ojoje imtyje – jaunesnių kaip 65 metų moterų grupėje.

8 lentelė. Moterų ir vyrų antikūnų koncentracijos vidurkiai imčių amžiaus grupėse
Table 8. Means of female and male antibody concentration in the age groups of the samples

	Moterys		Vyrų	
	<65 m.	>65 m.	<65 m.	>65 m.
	Ak koncentracijos vidurkis (BAU/ml + 95 % CI)			
2 imtis	523,9 (±22,5)	378,4 (±44,1)	476,9 (±34,8)	377,0 (±186,4)
3 imtis	209,8 (±18,3)	166,7 (±68,8)	170,2 (±13,5)	139,0 (±73,3)
4 imtis	1908,2 (±118,6)	2213,3 (±483,6)	1955,4 (±262,0)	1722,3 (±704,9)
5 imtis	1898,5 (±108,1)	2063,3 (±401,8)	2005,8 (±241,2)	1556,8 (±490,6)

9 lentelė. Ketvirtosios ir penktosios imčių imuninio atsako stiprumo pasiskirstymas moterų ir vyrų amžiaus grupėse

Table 9. Distribution of the strength of the immune response in samples 4 and 5 in female and male by age groups

Amžiaus grupė (metai)	Imuninio atsako stiprumas	4 imtis	5 imtis
<65 metų moterys	Neigiamas	0,0 %	0,0 %
	Silpnas	1,5 %	3,6 %
	Vidutinis	23,5 %	32,6 %
	Stiprus	75,0 %	63,8 %
≥65 metų moterys	Neigiamas	0,0 %	0,0 %
	Silpnas	2,0 %	2,1 %
	Vidutinis	20,0 %	32,6 %
	Stiprus	78,0 %	65,3 %
<65 metų vyrai	Neigiamas	0,0 %	0,0 %
	Silpnas	0,0 %	2,7 %
	Vidutinis	16,2 %	26,4 %
	Stiprus	83,8 %	70,9 %
≥65 metų vyrai	Neigiamas	0,0 %	0,0 %
	Silpnas	0,0 %	0,0 %
	Vidutinis	13,3 %	36,1 %
	Stiprus	86,7 %	63,9 %

IŠVADOS

Prieš vakcinaciją 99,6 % asmenų antikūnų nebuvo rasta. Praėjus 3 mėn. po 2-osios vakcinos dozės 20,3 % sveikatos priežiūros įstaigos darbuotojų turėjo stiprų imuninį atsaką prieš SARS-CoV-2. Praėjus 6 mėnesiams po 2-osios vakcinos dozės, iki 2,3 % sumažėjo tiriamųjų, turinčių stiprų imuninį atsaką. Didžiausia Ak koncentracija nustatyta praėjus 3–4 mėn. po 3-iosios vakcinos dozės. Tuomet dauguma (76,2 %) SPĮ darbuotojų turėjo stiprų imuninį atsaką. Stiprus imuninis atsakas daugumai asmenų išliko ir praėjus 5–6 mėnesiams po 3-iosios vakcinos dozės (65,0 %).

Po 2-osios vakcinos dozės moterų Ak koncentracijos vidurkis buvo didesnis už vyrų ir daugiau moterų turėjo stiprų imuninį atsaką. Po 3-iosios vakcinos dozės moterų ir vyrų Ak koncentracijos vidurkiai reikšmingai nesiskyrė ir daugiau vyrų turėjo stiprų imuninį atsaką.

Po 2-osios vakcinos dozės jauniausi asmenys turėjo stipresnį imuninį atsaką už vyresnius asmenis; imuninis atsakas silpnėjo priklausomai nuo amžiaus ir silpniausią imuninį atsaką turėjo vyriausi SPĮ darbuotojai. Po 3-iosios vakcinos dozės dauguma asmenų turėjo stiprų imuninį atsaką nepriklausomai nuo amžiaus.

Po 2-osios vakcinos dozės jaunesni vyrai ir moterys turėjo stipresnį imuninį atsaką už vyresnius vyrus ir moteris. Po 3-iosios vakcinos dozės vyresnės moterys turėjo stipresnį imuninį atsaką už jaunesnes moteris ir vyrus; vyresni vyrai vis dar turėjo silpniausią imuninį atsaką.

Gauta: 2023 01 24

Priimta spaudai: 2023 02 24

Summary

EVALUATION OF THE IMMUNE RESPONSE TO COVID-19 mRNA VACCINE IN HEALTHCARE WORKERS

Mantas Didikas, Vilija Gurkšnienė,
Ligita Jančorienė, Dalius Vitkus

Summary

Introduction. Severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2) has caused a pandemic of coronavirus disease 2019 (COVID-19). This pandemic

affected the whole world; with 1.25 million cases and 9 thousand deaths in Lithuania to date. Healthcare workers (HCW) are at increased risk for COVID-19 infection, due to the frontline nature of their work. COVID-19 messenger ribonucleic acid (mRNA) vaccine encodes full-length code of the spike (S) protein. These vaccines have been shown to offer protection by stimulating production of immunoglobulin (Ig) G. IgG antibodies against receptor binding domain (RBD) with neutralization activity are capable of inhibiting SARS-CoV-2 binding to the angiotensin-converting enzyme 2 (ACE2) receptor. Quantitative detection of IgG antibodies were detected by the chemiluminescent microparticle immunoassay (CMIA).

The purpose of the study was to evaluate the immune response to COVID-19 mRNA vaccine in healthcare workers based on the data from specific antibody tests post-vaccination.

Materials and methods. In this study, a total of 9955 serum samples from five groups: HCW before vaccination (n=2438), HCW 3 months after the 2nd vaccine dose (n=2542), HCW 6 months after the 2nd vaccine dose (n=2619), HCW 3–4 months after the 3rd vaccine dose (n=916) and HCW 5–6 months after the 3rd vaccine dose

(n=1440) were analysed. Antibody induced immune response was evaluated according to the World Health Organization (WHO) guidelines.

Results. The highest concentration mean (1927.2 ± 83.9 BAU/ml) and median (1309.6 BAU/ml IQR 732.1–2553.3) of antibodies was among the HCW 3–4 months after 3rd vaccine dose group; also the majority of HCW in this group (76.2%) had a strong (≥ 700 BAU/ml) immune response. After the 2nd dose of the vaccine, the women group had stronger immune response, whereas after the 3rd vaccine dose, the immune response in women and men did not differ significantly. After 2nd vaccine dose the youngest HCW had stronger immune response than older HCW. However, after the 3rd vaccine dose, majority of all the HCW had strong immune response regardless of age. After the 2nd vaccine dose, the younger men and younger women had stronger immune response, however after the 3rd vaccine dose, older women had the strongest immune response; meanwhile, the older men had the weakest immune response.

Keywords: SARS-CoV-2, COVID-19, SARS-CoV-2 S1 RBD IgG Ab.

LITERATŪRA

1. Ali Hamad, Alahmad Barrak, Al-Shammari Abdullah A., Alterki Abdulmohsen, Hammad Maha, Cherian Preethi, et al. Previous COVID-19 Infection and Antibody Levels After Vaccination. *Front Public Health* 2021; 9(778243).
2. Guo YR, Cao QD, Hong ZS, Tan YY, Chen SD, Jin HJ, et al. The origin, transmission and clinical therapies on coronavirus disease 2019 (COVID-19) outbreak - an update on the status. *Mil Med Res* 2020; 7(11).
3. Altawalah H. Antibody Responses to Natural SARS-CoV-2 Infection or after COVID-19 Vaccination. *Vaccines (Basel)* 2021; 9(8): 910.
4. Narasimhan M, Mahimainathan L, Araj E, Clark AE, Markantonis J, Green A, et al. Clinical Evaluation of the Abbott Alinity SARS-CoV-2 Spike-Specific Quantitative IgG and IgM Assays among Infected, Recovered, and Vaccinated Groups. *J Clin Microbiol* 2021; 59(7): e00388-21.
5. Castejon MJ, Yamashiro R, Oliveira EL, Silveira ERP, Hong MA, Oliveira CAF, et al. Performance evaluation of a Sars-CoV-2 rapid test and two automated immunoassays. *J Bras Patol Med Lab* 2021; 57(1): 1–10.
6. Galanis P, Vrakaki I, Fragkou D, Bilali A, Kaitelidou D. Seroprevalence of SARS-CoV-2 antibodies and associated factors in healthcare workers: a systematic review and meta-analysis. *J Hosp Infect* 2021; 108: 120–34.
7. Iversen K, Bundgaard H, Hasselbalch RB, Kristensen JH, Nielsen PB, Pries-Heje M, et al. Risk of COVID-19 in health-care workers in Denmark: an observational cohort study. *Lancet Infect Dis* 2020; 20(12): 1401–8.
8. Shields A, Faustini SE, Perez-Toledo M, Jossi S, Aldera E, Allen JD, et al. SARS-CoV-2 seroprevalence and asymptomatic viral carriage in healthcare workers: a cross-sectional study. *Thorax* 2020; 75: 1089–94.
9. Mattuzio G, Bentley EM, Hassall M, Routley S, Richardson S, Bernasconi V, et al. Establishment of the WHO International Standard and Reference Panel for Anti-SARS-CoV-2 Antibody. *WHO Expert Committee on Biological Standardization* 2020; WHO/BS/2020.2403.
10. Ruetalo N, Flehmig B, Schindler M, Pridzun L, Haage A, Reichenbacher M, et al. Long-Term Humoral Immune Response against SARS-CoV-2 after Natural Infection and Subsequent Vaccination According to WHO International Binding Antibody Units (BAU/mL). *Viruses* 2021; 13(12): 2336.