

Оценка эффективности гуморального иммунного ответа после вакцинации «КовиВаком»

С. П. Казаков^{1,2}, Д. В. Решетняк¹, Н. В. Давыдова¹, С. Б. Путков¹

¹ФГБУ «Главный военный клинический госпиталь имени академика Н. Н. Бурденко» Минобороны России, Москва

²ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Минздрава России, Москва

РЕЗЮМЕ

Значительной проблемой в настоящее время является определение эффективности средств специфической иммунопрофилактики в формировании поствакцинального иммунитета к новой коронавирусной инфекции (НКИ), а также эффективности, то есть выбора методов лабораторной диагностики для адекватной оценки уровня и характера поствакцинального иммунного ответа (ПИО).

Цель исследования. Проведение исследования эффективности гуморального ПИО с выработкой специфических антител у пациентов, вакцинированных «КовиВаком», с использованием полуколичественных и количественных тест-систем отечественного и зарубежного производства.

Материал и методы. У 103 испытуемых, вакцинированных «КовиВаком», на 22–30-е сутки после окончания вакцинации основными иммунохимическими методами (иммуноферментным и иммунохеми-люминесцентным) определялись уровни антител к основным антигенам вируса SARS-CoV-2 – S-антигену и рецептор-связывающий домен (RBD) S-антигена. Изучался характер и уровень ПИО в отношении выработки этих видов антител и адекватность использованных диагностических методов с определением сходимости результатов, а также их перекрёстной чувствительности и специфичности.

Результаты. Выявлена недостаточная эффективность ПИО при вакцинации «КовиВаком» в отношении выработки антител к SARS-CoV-2 и достижения их высоких уровней, предположительно, достаточных для формирования стойкого иммунитета к НКИ. Однако при этом установлена высокая корреляция между результатами количественных методов определения антител к S-белку и его RBD вируса SARS-CoV-2 и достаточно высокая сходимость результатов количественных и полуколичественных методов исследования этих видов антител.

Вывод. Поствакцинальный иммунный ответ при вакцинации «КовиВаком» характеризуется недостаточной эффективностью в отношении формирования долгоживущих антител IgG к поверхностным антигенам SARS-CoV-2, особенно в достижении («защитных») уровней этих антител, при этом диагностическая эффективность использованных иммунохимических тест-систем является высокой, а их использование в оценке ПИО при вакцинации «КовиВаком» адекватным.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: новая коронавирусная инфекция, SARS-CoV-2, вакцины, «КовиВак», поствакцинальный иммунитет, антитела к S-белку, антитела к RBD S-белка, антитела к N-белку.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Evaluation of effectiveness of humoral immune response after vaccination with 'CoviVac'

S. P. Kazakov^{1,2}, D. V. Reshetnyak¹, N. V. Davydova¹, S. B. Putkov¹

¹Main Military Clinical Hospital n. a. academician N.N. Burdenko, Moscow, Russia

²Russian Medical Academy for Continuing Professional Education, Moscow, Russia

SUMMARY

Determining the efficiency of the principal means of specific immunoprophylaxis in forming the post-vaccinal immunity against the new coronavirus infection (COVID-19) is a very important and topical problem. Solving it involves the evaluation of the efficiency and choosing the laboratory diagnostics technique for an adequate estimation of the nature and the level of the post-vaccinal immune response (PIR).

Research objectives. Evaluating efficiency of the humoral PIR involving the production of specific antibodies in patients vaccinated with 'CoviVac' using quantitative and semi-quantitative test systems developed by Russian and international companies.

Material and methods. The level of antibodies matching the principal known antigens of the SARS-CoV-2 virus was measured. The probes were taken in a group of 103 persons 22–30 days after vaccination. The techniques used were the principal immunochemical ones (enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) and chemiluminescent microparticle immunoassay (CMIA)). The nature and the level of the PIR in terms of these antibodies' production was studied, and the adequacy of the diagnostic techniques applied was evaluated, wherefore the result convergence was studied, and the techniques' cross-sensitivity and specificity were determined.

Results. Insufficient level of PIR in terms of producing antibodies against SARS-CoV-2 after vaccination with 'CoviVac' was established. The levels of antibodies were found to be not high enough to ensure a reliable immunity against the Covid-19. However, a high degree of correlation between the results of different quantitative techniques for measuring the antibodies matching the S-protein and its BRD of the SARS-CoV-2 virus was determined. A rather high convergence of the results of the quantitative and semi-quantitative techniques used for studying this type of antibodies was found.

Conclusions. The PR upon the vaccination with the 'CoviVac' is characterized by insufficient intensity level in terms of forming the long-living IgG antibodies with surface antigens of SARS-CoV-2. In particular, the antibody count, which is generally considered capable of ensuring reliable protection, was not reached. Efficiency of the immunochemical test systems used in this study is high enough and can provide an adequate estimate of the PIR after the vaccination with 'CoviVac'.

KEY WORDS: COVID-19, SARS-CoV-2, vaccines, 'CoviVac', post-vaccinal immunity, antibodies matching the S-protein, antibodies matching the RBD of the S-protein, antibodies matching the N-protein.

CONFLICT OF INTEREST. The authors declare no conflict of interest.

Введение

Стремительное распространение новой коронавирусной инфекции (НКИ), вызванной вирусом *SARS-CoV-2* и в 2020–2021 годах принявшей характер пандемии, заставляет разрабатывать новые методы ее диагностики, мониторинга и терапии [1]. В настоящее время становится очевидным, что борьба с НКИ должна вестись с помощью новых этиотропных фармакологических препаратов и схем патогенетической терапии, а также с использованием методов специфической профилактики, из которых вакциноterapia является наиболее перспективным [2, 3]. Формирование значительных групп населения, вакцинированных против *SARS-Cov-2*, позволяет не только создать популяционный иммунитет и тем самым препятствовать дальнейшему стремительному распространению вируса в мире, но и прежде всего снизить степень тяжести заболевания, в большей части переведя его течение в легкую форму, а у части людей – в бессимптомную.

Приоритет в области создания вакцин против НКИ, вызванной *SARS-Cov-2*, принадлежит Российской Федерации. Первой зарегистрированной в мире вакциной стала российская «Гам-КОВИД-Вак» ФГБУ «НИЦЭМ имени Н. Ф. Гамалеи» Минздрава России, получившая патентованное название «Спутник V» [4, 5]. В дальнейшем появилось еще несколько отечественных вакцин, при создании которых использованы технологии, основанные на пептидных платформах и инактивированных вирусах.

Так, широкое распространение получила перспективная вакцина, основанная на инактивированных вирусах, которая проходит III фазу испытания, – «КовиВак» ФГБНУ «Федеральный научный центр исследований и производства иммунобиологических препаратов имени И. П. Чумакова» РАН, имеющего большой авторитет благодаря проверенной десятилетиями технологии [6]. Однако дальнейшее ее применение в клинических условиях является предметом будущих научных исследований.

Тем не менее, из-за того, что ни одна из имеющихся вакцин не лишена недостатков, процесс создания и совершенствования средств специфической профилактики НКИ продолжается [7, 8]. В условиях начавшейся в РФ в 2021 году массовой вакцинации возрастает актуальность определения способов оценки эффективности вакцин в формировании ими поствакцинального иммунного ответа (ПИО) и прежде всего выработки специфических антител. В настоящее время одним из основных и доступных способов является оценка эффективности гуморального иммунитета по уровню продукции специфических антител класса IgG к спайк-белку (S-protein), в том числе к его рецептор-связывающему домену (RBD) вируса *SARS-CoV-2* (Anti-*SARS-CoV-2*, S-protein [RBD]), а также к нуклеокапсидному белку (N-белку) *SARS-CoV-2* (Anti-*SARS-CoV-2*, N-protein), если это касается вакцин на основе инактивированных вирусов [9, 10]. Проблема оценки эффективности ПИО для лабораторной диагностики – выбора метода исследования – остается наиболее актуальной [10–13]. В наибольшей степени дискуссионным остается определение целевого уровня антител, достигаемого вакцинацией и обеспечивающего эффективный ПИО [12–19]. А поскольку для этой оценки используются

самые различные лабораторные методы с отечественными и зарубежными тест-системами, необходимым является проведение сравнительных исследований, в частности, антител к S-белку и RBD S-белка на разных диагностических системах. Все это делает оценку эффективности гуморальной составляющей ПИО, в особенности количественного уровня антител, определяемого только количественными тест-системами, по-настоящему актуальной прикладной проблемой для клинической лабораторной диагностики, в иммунологической практике и для терапии НКИ, требующей своего решения.

Цель работы

Проведение исследования эффективности гуморального ПИО с выработкой специфических антител к S-, RBD-S- и N-антигенам у вакцинированных «КовиВаком» с использованием полуколичественных и количественных тест-систем отечественного и зарубежного производства.

Материал и методы

Были обследованы 103 испытуемых: 50 женщин и 53 мужчины в возрасте 24–81 года, вакцинированных «КовиВаком», на 22–30-е сутки после введения второго компонента вакцины с августа по сентябрь 2021 года. Из них были сформированы три группы. В первую вошло 66 испытуемых, ранее не вакцинировавшихся и не имевших клинических проявлений заболевания НКИ (условно – «ранее не иммунизированные»); во вторую – 31 человек, ранее переболевший клинически подтвержденной НКИ в апреле 2020 – январе 2021 года, и в третью – 6 испытуемых, ранее вакцинированных «Спутником V».

У всех испытуемых определялись антитела класса IgM к рекомбинантным белкам *SARS-CoV-2*-нуклеокапсида и RBD S-белка методом захвата (capture) и класса IgG – к рекомбинантному полноразмерному вирусному S-белку (полноформатному тримеризованному) непрямой иммуноферментным анализом (ИФА), полуколичественными методами с использованием тест-систем «*SARS-Cov-2*-IgM-ИФА-БЕСТ D-5502» и «*SARS-Cov-2*-IgG-ИФА-БЕСТ D-5501» («Вектор-Бест», Россия) соответственно. Результат измерен в единицах коэффициента позитивности (КП) с пределом измерений метода по КП = 18,1. Также антитела класса IgG к RBD S-белка у всех испытуемых определялись количественным иммунохемилюминесцентным (ИХЛА) методом с использованием тест-системы *SARS-Cov-2*-IgG II на анализаторе Architect 1000i (Abbott, США). Полученные результаты в Antibody Units в 1 мл (AU/мл) были пересчитаны в Binding Antibody Units в 1 мл (BAU/мл) с коэффициентом BAU = 0,142 AU.

У большей части испытуемых ($n = 92$) (табл. 1) также исследовались антитела IgG к рекомбинантному полноразмерному вирусному S-белку количественным методом ИФА «*SARS-Cov-2*-IgG количественный ИФА-БЕСТ D-5505» (лот 1, в BAU/мл) и антитела IgG к N-белку полуколичественным ИФА (NovaLisa *SARS-Cov-2*-IgG NovaTec, Германия) и ИХЛА (*SARS-Cov-2* IgG, на анализаторе Architect 1000i, Abbott, США). Результаты в обоих случаях определены в КП.

Таблица 1
Количество выполненных исследований у вакцинированных «КовиВаком»

Характеристика групп вакцинированных	Вакцинированные «КовиВаком»						
	«SARS-CoV-2-IgG-ИФА-БЕСТ D-5501» (антитела к S-белку)	«SARS-CoV-2-IgM-ИФА-БЕСТ D-5502» (антитела к S-белку)	«SARS-CoV-2-IgG количественный ИФА-БЕСТ D-5505» (антитела к S-белку)	Abbot SARS-CoV-2-IgG (антитела к N-белку)	Novalisa SARS-CoV-2-IgG (антитела к N-белку)	Abbot SARS-CoV-2-IgGII (антитела к RBD)	
Обследовано за 90–120 суток до вакцинации	42	42	0	0	0	0	
• в т.ч. ранее неиммунизированных	26	26	0	0	0	0	
• ранее переболевших НКИ	13	13	0	0	0	0	
• ранее вакцинированных	3	3	0	0	0	0	
Обследовано на 22–30-е сутки после вакцинации	103	103	92	94	92	103	
• в т.ч. ранее неиммунизированных	66	66	62	62	62	66	
• ранее переболевших НКИ	31	31	28	29	28	31	
• ранее вакцинированных	6	6	2	3	2	6	

Таблица 2
Результаты исследования у вакцинированных «КовиВак» по уровням антител класса IgG к S-белку SARS-CoV-2, с использованием полуколичественного ИФА

№	Уровни антител у испытуемых (ИФА, КП, P3 < 1,1)	Группы вакцинированных «КовиВак»					
		НИ*(n=66)		НКИ*(n=31)		В*(n=6)	
		Всего	%	Всего	%	Всего	%
1.	≥ 1,1 < 10,0	9	13,6	11	35,5	1	16,7
2.	≥ 10,0 < 15,0	20	30,3	13	41,9	2	33,3
3.	≥ 15,0	0	0,0	7	22,6	3	50,0
4.	Всего ≥ 10,0	20	30,3	20	64,5	5	83,3
5.	Итого ≥ 1,1	47	71,2	31	100	6	100
6.	Отрицательные	19	28,8	0	0	0	0

*Примечание. НИ – ранее неиммунизированные, НКИ – ранее болевшие НКИ, В – ранее вакцинированные.

У 42 испытуемых (26 ранее неиммунизированных, 13 ранее переболевших НКИ и 3 ранее вакцинированных «Спутником V» [более полугодом назад]) за 90–120 суток были исследованы антитела класса IgM к RBD и класса IgG к S-белку полуколичественным ИФА с использованием тест-систем «SARS-CoV-2-IgM-ИФА-БЕСТ D-5502» и «SARS-CoV-2-IgG-ИФА-БЕСТ D-5501» («Вектор Бест», Россия) соответственно. Результат измерен в единицах КП.

Опираясь на мнение большинства авторов [20–26], предполагающих, что эффективный уровень антител находится в диапазоне 150–550 ВАУ/мл, условным критерием оценки эффективности вакцины нами сочтено нарастание уровня антител класса IgG к S-белку или RBD ≥ 1,1 КП в ИФА и ≥ 7,1 ВАУ/мл в ИХЛА, промежуточным (однозначно сопровождавшимся выработкой значимого количества антител) ≥ 10 КП и ≥ 150 ВАУ/мл (≥ 880 АУ/мл) соответственно, и надёжным (достигаемым целевым значением) ≥ 550 ВАУ/мл (≥ 3872 АУ/мл) только в количественных исследованиях.

Математическая обработка результатов количественных исследований выполнялась с использованием программы «IBMSPSSStatistics», дополнительно для получения статистических данных применяли корреляционный анализ по Спирмену.

Результаты и обсуждение

Среди всех вакцинированных «КовиВак» в полуколичественном ИФА уровень антител IgG к S-белку превысил референсные значения (P3) ≥ 1,1 КП у 84 (81,6%) испытуемых, у 45 (43,7%) составил ≥ 10 КП и у 10 (9,7%) испытуемых ≥ 15 КП (табл. 2). Соответственно у 19 (18,4%) испытуемых на 22–30-е сутки после вакцинации уровень антител оказался ниже 1,1 КП, то есть ПИ О

оказался отрицательным. Эти 19 испытуемых относились к группе ранее неиммунизированных, среди которых составили 28,8%. В этой группе уровня ≥ 1,1 достигли 47 (71,2%) испытуемых, уровня ≥ 10 у 20 испытуемых (30,3%), а уровня ≥ 15,0 КП не достиг ни один ранее неиммунизированный.

У всех испытуемых, ранее перенесших НКИ (n = 31), уровень антител превысил P3 ≥ 1,1 КП, из них у 11 (35,5%) человек КП находился в пределах ≥ 1,1 < 10,0, у 20 (64,5%) человек КП превысил 10,0, в том числе у 7 (22,6%) человек КП был ≥ 15,0.

Среди 6 ранее вакцинированных «Спутником V» уровень антител превысил P3 в 100% случаев, был ≥ 10,0 КП в 5 (83,3%), а в 3 (50,0%) случаях КП был ≥ 15,0.

Таким образом, можно полагать, что вакцинация «КовиВаком» в основной целевой группе (ранее неиммунизированных) согласно результатам одного из наиболее часто используемых в нашей стране ИФА-исследования вызвала ПИО с выработкой антител у 71,2% вакцинированных, а появление антител на уровне ≥ 10,0 КП – лишь у 30,3% вакцинированных. Эти результаты сопоставлялись с данными ретроспективного исследования. У 42 вакцинированных «КовиВаком» (13 – ранее переболевшие НКИ, 3 – ранее вакцинированные «Спутником V», 26 – ранее неиммунизированные) за 90–120 суток до вакцинации антитела исследовались полуколичественным ИФА. У 24 человек (13 [100%] – ранее переболевшие, 2 [66,7%] – ранее вакцинированные «Спутником V», 9 [34,6%] – ранее не имевшие клинических проявлений НКИ) обнаружился уровень антител IgG ≥ 1,1 КП.

Из 42 испытуемых, у которых имелись данные о периоде, предшествовавшем вакцинации, появление антител или прирост их уровня в ответ на вакцинацию отмечен лишь у 20 (47,6%) человек, а их появление в количестве ≥ 1,1 КП (≥ 7,1 ВАУ/мл) и лишь у 7 (38,9%) из 18 испытуемых, ранее их не имевших.

Из 24 испытуемых, у которых в ИФА до вакцинации «КовиВаком» определялся уровень антител IgG ≥ 1,1 КП, на 22–30-е сутки после окончания вакцинации, у 17 (70,8%) человек (10

Сравнительные результаты в группе вакцинированных «КовиВаком», ранее неиммунизированных по уровням антител класса IgG к RBD S-белка и полноразмерного S-белка SARS-CoV-2 при использовании разных иммунохимических методов

№	Уровни антител у испытуемых (ИХЛА, ВАУ/мл)	Вакцинированные «КовиВаком», ранее неиммунизированные (n = 66)							Соответствие, %
		Количество испытуемых с соответствующим уровнем антител к RBD S-белка, (ИХЛА количественный, ВАУ/мл, P3 < 7,1)				Количество испытуемых с антителами к S-белку (ИФА полуколичественный, КП, P3 < 1,1) соответственно группе ИХЛА			
		Все	%	Среднее	Разброс*	Все ≥ 1,1	Среднее	Разброс	
1.	≥ 7,1 < 150	33	50,0	61,2	7,3–148,5	31	10,0	3,7–14,5	93,9
2.	(Защитные) ≥ 150 < 550	9	13,7	268,0	156,5–483,2	9	14,5	7,1–16,4	100
3.		3	4,5	1622,1	792,6–3086,3	3	12,6	9,6–15,1	100
4.		12	18,2	596,4	156,5–3086,3	12	14,6	7,1–16,4	100
5.	Итого ≥ 7,1	45	68,2	237,3	7,3–3086,3	45	10,9	2,6–16,4	100
6.	Отрицательные < 7,1	21	31,8	1,2	0–6,7	6	2,3	1,2–4,2	72,5

Примечание. * – минимальный и максимальный показатели в группе.

[76,9%] – ранее переболевшие, 2 – [100%] ранее вакцинированные «Спутником V», 5 [55,6%] – ранее неиммунизированные) он в абсолютных значениях вырос, а у 7 (29,2%) (3 – ранее переболевшие НКИ, 4 – ранее неиммунизированные) – снизился на 10–30%. Из 42 испытуемых, обследованных за 90–120 дней до вакцинации «КовиВаком», по сравнению с результатами, полученными через 22–30 дней после ее окончания, в 7 (17,0%) случаях произошло появление антител на уровне ≥ 1,1 КП (≥ 7,1 ВАУ/мл), в 13 (31%) случаях наблюдался прирост уровня антител, в том числе в 2 (4,7%) случаях – более 50%. У 3 (7,1%) испытуемых уровень антител не претерпел заметных изменений в ИФА, снижение же уровня антител на 10–50% наблюдалось в зависимости от метода у 6 (14,2%) и 2 (4,7%) испытуемых соответственно. У 13 (31%) испытуемых появление антител на уровне ≥ 1,1 КП (≥ 7,1 ВАУ/мл) не отмечено.

Таким образом, после вакцинации «КовиВаком» уровень антител ≥ 1,1 КП в полуколичественном ИФА наблюдался у 84 (81,6%) испытуемых. Появление антител непосредственно в результате вакцинации «КовиВак» следует предполагать не более чем у 58 из 80 (72,5%) всех испытуемых, не более чем у 43 из 61 (70,5%) ранее не болевших НКИ, и не более чем у 39 из 57 (68,4%) всех «ранее неиммунизированных».

Достижение условного целевого значения ≥ 150 ВАУ/мл непосредственно в результате вакцинации можно предполагать в зависимости от метода у 24,3–63,8% испытуемых, а у ранее неиммунизированных – в 19,7–51,6% случаев.

При ИХЛА-исследовании уровень антител IgG к RBD S-белка характеризовался большим разбросом (0,0–3086,3 ВАУ/мл) и составил в среднем $150,3 \pm 217,85$ ВАУ/мл. Из числа всех испытуемых он превысил P3 (≥ 7,1 ВАУ/мл [50 АУ/мл]) у 81 (78,6%), ≥ 150 ВАУ/мл у 25 (24,3%) и ≥ 550 ВАУ/мл у 4 (3,9%). У ранее неиммунизированных (n = 66) эти значения составили 45 (68,2%), 12 (18,2%) и 3 (4,5%) соответственно (табл. 3). У переболевших НКИ (n = 31): 30 (96,8%), 9 (29,0%) и 1 (3,2%) соответственно (табл. 4). Все 6 ранее вакцинированных «Спутник V» имели уровень антител ≥ 7,1 ВАУ/мл, 3 (50%) ≥ 150 ВАУ/мл и 1 (16,7%) ≥ 550 ВАУ/мл.

При сопоставлении результатов, полученных для антител класса IgG к RBD и ранее приведенных данных полуколичественного ИФА-исследования для антител к полноформатному тримеризованному S-белку (табл. 4), видно, что в группе ранее неиммунизированных средний уровень антител в КП (для ИФА) повышался в прямой зависимости от значений антител в ВАУ/мл (для ИХЛА), при этом можно отметить, что для всех диапазонов результатов ИХЛА, в соответствующих им результатам ИФА наблюдалась высокая сходимость результатов, по крайней мере по превышению P3 (7,1 ВАУ/мл или 1,1 КП), на уровне 93,9–100%. Лишь у испытуемых, у которых в ИХЛА-исследовании антитела не превысили P3 (< 7,1 ВАУ/мл, n = 21), сходимость составила 72,5%, поскольку у 6 из них в ИФА-исследовании антитела к S-белку превышали P3 (≥ 1,1 КП).

Таблица 4

Сравнительные результаты в группе вакцинированных «КовиВак», ранее переболевших НКИ, по уровням антител класса IgG к RBD S-белка и полноразмерному S-белку SARS-CoV-2 при использовании разных иммунохимических методов

№	Уровни антител у испытуемых (ИХЛА, ВАУ/мл)	Вакцинированные «КовиВаком», ранее переболевшие НКИ, (n = 31)							Соответствие, %
		Количество испытуемых с антителами к RBD S-белка, (ИХЛА, количественный в ВАУ/мл, P3 < 7,1)				Количество испытуемых с антителами к S-белку, (ИФА, КП, P3 < 1,1)			
		Все	%	Среднее	Разброс*	Все ≥ 1,1	Среднее	Разброс*	
1.	≥ 7,1 < 150	21	67,7	74,9	7,3–148,5	21	10,7	1,4–15,8	100
2.	(Защитные) ≥ 150 < 550	8	25,8	216,2	156,5–483,2	8	14,9	10,5–16,1	100
3.		1	3,2	359,7	792,6–3086,3	1	16,1	-	100
4.		9	29,0	216,2	156,5–3086,3	9	14,9	10,5–16,1	100
5.	Итого ≥ 7,1	30	96,8	105,2	7,3–3086,3	30	11,7	1,4–16,1	100
6.	Отрицательные < 7,1	1	3,2	6,7	0–6,7	1	3,1	-	0,0

Примечание. * – минимальный и максимальный показатели в группе.

Таблица 5
Сравнительные результаты в группах вакцинированных «КовиВаком», по уровням количества антител класса IgG к S-белку SARS-CoV-2 при использовании количественного ИФА

№	Уровни антител у испытуемых (ИФА, ВАУ/мл, P3<10,0)	Группы пациентов, вакцинированных «КовиВаком»				
		НИ*(n=62)		НКИ*(n=28)		В*(n=2)
		все	%	все	%	все
1.	≥10 <150	16	25,7	3	10,7	0
2.	«Защитные» ≥150 <550	22	35,4	15	53,6	1
3.		10	16,1	10	35,7	1
4.		32	51,6	25	89,3	2
5.	Итого ≥10 ВАУ/мл	48	77,4	28	100	2
6.	Отрицательные <10 ВАУ/мл	14	22,6	0	-	0

*Примечание. НИ – ранее неиммунизированные; НКИ – ранее болевшие НКИ; В – ранее вакцинированные.

В группе ранее переболевших НКИ наблюдалась подобная картина в отношении средних показателей, а сходимость результатов во всех диапазонах свыше P3 составила 100%. Лишь у одного испытуемого, имевшего в исследовании методом ИХЛА уровень антител к RBD < 7,1 ВАУ/мл, антитела к полноразмерному S-белку присутствовали (табл. 4).

Таким образом, можно отметить, что в целом нарастание уровней антител к RBD S-белка и полноформатному тримеризованному S-белку происходило однонаправленно, и что накопление «защитных» уровней антител к RBD S-белка сопровождалось также и повышением уровня антител к полноформатному тримеризованному S-белку до значений, превышавших по крайней мере 7,1 КП. Специфичность для обоих методов составила 92,4%, чувствительность – 96,2%.

Соответственно, применение обоих методов исследования для оценки ПИО при вакцинации «КовиВаком» можно считать вполне адекватной.

При количественном ИФА уровень антител IgG к S-белку также характеризовался значительным разбросом значений (0–850 ВАУ/мл), при среднем – 248,6 ± 255,3 ВАУ/мл. Из числа всех испытуемых (n = 92) он превысил P3 (≥ 10 ВАУ/мл) у 78 (84,8%) человек, уровень ≥ 150 ВАУ/мл наблюдался у 59 (64,1%) человек и ≥ 550 ВАУ/мл у 21 (22,8%) испытуемого.

У ранее неиммунизированных (n=62) эти значения составили 48 (77,4%), 32 (51,6%) и 10 (16,1%) соответственно. В группе переболевших НКИ (n=28) 100% испытуемых имели уровень антител ≥ 10 ВАУ/мл, 25 (89,3%) ≥ 150 ВАУ/мл и 10 (35,7%). Двое (100%) ранее вакцинированных «Спутник V» имели уровень антител ≥ 10 ВАУ/мл и ≥ 150 ВАУ/мл и один (50,0%) – ≥ 550 ВАУ/мл (табл. 5).

Таким образом, при количественном исследовании методом ИФА уровень антител к S-белку выше P3 (в 84,8%) определялся чаще, чем в полуколичественном ИФА (81,6%), и чаще, чем антитела к RBD в исследовании методом ИХЛА (78,6%) среди всех испытуемых, и ещё это более заметно в группе ранее неиммунизированных – 77,4% против 71,2 и 68,2% соответственно.

При сравнении результатов количественного исследования методами ИФА и ИХЛА (табл. 6) становится заметным, что в исследование проводимое методом количественного ИФА значительно чаще определялись антитела к S-белку ≥ 150 ВАУ/мл и ≥ 550 ВАУ/мл, особенно среди ранее неиммунизированных, чем такие же уровни антител при их исследовании к RBD S-белка. Соответственно, соотношение результатов, выполненных методом количественного ИФА и ИХЛА имеет высокое соответствие в диапазонах < 10 ВАУ/мл, ≥ 10 ВАУ/мл и ≥ 10 < 150 ВАУ/мл и значительно меньшее в диапазонах ≥ 150 ВАУ/мл и ≥ 550 ВАУ/мл, при этом наблюдалась высокая корреляция между уровнями обоих видов антител. Коэффициент корреляции (по Спирмену) для ранее неиммунизированных составил для всей группы 0,93; в диапазоне ≥ 10 ВАУ/мл – 0,8, ≥ 10 < 150 ВАУ/мл – 0,78, ≥ 150 < 550 ВАУ/мл – 0,66 и ≥ 150 ВАУ/мл – 0,81; у ранее переболевших НКИ для всей группы – 0,91, для всех ≥ 10 ВАУ/мл – 0,95, для диапазона ≥ 10 < 150 ВАУ/мл – 0,9 и ≥ 150 < 550 ВАУ/мл – 0,95. Прочие значения (прежде всего ≥ 550 ВАУ/мл) оказались статистически незначимыми вследствие малочисленности группы обследованных.

Таким образом, можно предполагать прямую взаимосвязь между образованием антител класса IgG к полноформатному тримеризованному S-белку и к RBD S-белка.

При исследовании антител класса IgG к нуклеокапсиду (N-белку), проводившемся полуколичественными ИФА и ИХЛА, превышение P3 обнаружено в исследовании методом ИФА у 50 вакцинированных (28 ранее неиммунизированных (45,2% от их числа) и 22 (75,9%) ранее переболевших НКИ) и в исследовании методом ИХЛА

Таблица 6
Сопоставление групп вакцинированных «КовиВаком» по уровням антител IgG к SARS-CoV-2 при использовании различных иммунохимических методов

№	Уровни антител к S-белку у испытуемых (ИФА, ВАУ/мл, P3<10)	Группы пациентов с уровнем антител к RBD S-белка в ВАУ/мл. (ИХЛА) P3<7,1					
		НИ (n=62)			НКИ (n=28)		
		Среднее	Разброс	Соответствие* (%)	Среднее	Разброс	Соответствие* (%)
1.	≥10 <150	11,4	0,1–50,7	56,3	12,6	6,7–19,4	75,0
2.	«Защитные» ≥150 <550	80,0	23,5–146,3	9,1	74,4	25,8–158,8	4,5
3.		774,9	156,5–1328,0	40,0	176,4	95,7–344,5	0,0
4.		314,0	23,4–1328,0	34,8	115,2	25,8–344,5	24,0
5.	Итого ≥10	215,2	0,1–1328,0	85,4	101,8	6,7–344,5	96,4
6.	Отрицательные <10	2,2	0–3,7	100	-	-	-

Примечание. * – Количество испытуемых в группе, имеющих аналогичные результаты относительно выборки испытуемых, выполненных методом ИФА.

Сопоставление групп вакцинированных «КовиВаком» по уровням антител IgG к RBD S-белка и N-белка SARS-CoV-2 различными методами

№	Уровни антител к RBD S-белка у вакцинированных (BAU/мл)	Количество вакцинированных с антителами к N-белку							
		ИХЛА (КП, P3<1,4)				ИФА полуколичественный (КП, P3<10,5)			
		НИ (n=62)		НКИ (n=29)		НИ (n=62)		НКИ (n=29)	
		Всего	Соответствие (%)	Всего	Соответствие (%)	Всего	Соответствие (%)	Всего	Соответствие (%)
1.	Уровень $\geq 7,1 < 150$	12	36,4	10	47,6	16	48,5	17	81,0
2.	«Защитные» $\geq 150 < 550$	7	77,8	7	87,5	7	77,8	5	62,5
3.		1	33,3	-	-	1	33,3	-	-
4.		8	66,6	7	87,5	8	66,7	5	65,5
5.	Итого с уровнем $\geq 7,1$	20	48,8	17	56,7	24	53,3	22	78,6
6.	Всего с уровнем $< 7,1$	2	-	0	-	4	-	0	-
7.	Итого	22	35,5	17	58,6	28	45,2	22	75,9

*Примечание. НИ – ранее неиммунизированные; НКИ – ранее болевшие НКИ.

у 39 вакцинированных (22 – ранее неиммунизированных [35,5%] и у 17 – ранее переболевших [58,6%]) (табл. 7).

Закономерностей между количеством антител к RBD S-белка и динамикой уровня антител к N-белку у вакцинированных выявлено не было.

Таким образом, даже у ранее переболевших НКИ вакцинация не привела к восстановлению уровней антител к N-белку до 100%. Выявлено наличие антител к N-белку в 24,1–41,4% случаев, а у ранее неиммунизированных такие антитела продолжали отсутствовать более чем у половины (54,8–64,5%) вакцинированных, что может свидетельствовать о невысокой эффективности ПИО в отношении выработки антител к N-белку.

Определение уровня антител класса IgM у вакцинированных изначально не рассматривалось в качестве значимого критерия оценки эффективности ПИО, однако наличие этого исследования в программе диагностики НКИ побудило оставить его в списке исследования, а полученные данные могли оказаться интересными с научной точки зрения.

При исследовании методом ИФА у вакцинированных «КовиВаком» уровень антител IgM к RBD $\geq 1,1$ КП (с забросом 1,1–5,3) определялся у 23 (22,3%) испытуемых, в том числе у одного ранее привитого «Спутником V» и по 11 (35,5%) в группе ранее переболевших и ранее неиммунизированных (16,7%). Причем у 2 (1,9%) испытуемых повышение IgM сопровождалось низким уровнем антител IgG. При отсутствии каких-либо статистически подтвержденных закономерностей можно отметить, что вакцинация, то есть повторный контакт с антигеном, вызывала в качестве составляющей ПИО у более чем трети (35,5%) ранее переболевших относительно длительный период выработки антител IgM к RBD S-белка и, соответственно, гарантированно обеспечила контакт с RBD-антигеном у 16,7% ранее неиммунизированных.

Заключение

Анализ полученных результатов показал, что при вакцинации «КовиВаком» поствакцинальный иммунный ответ характеризуется недостаточной эффективностью в отношении формирования антител IgG к поверхностным антигенам SARS-CoV-2 (S-белку и его RBD), и особенно в форми-

ровании целевых «защитных» уровней этих антител для наиболее чувствительной категории вакцинируемых – ранее неиммунизированных, при этом эффективность оценки гуморального иммунного ответа при вакцинации «КовиВаком» можно признать адекватной, поскольку различные тест-системы, использованные в исследовании, демонстрировали высокую сходимость результатов, а у количественных методов для большинства диапазонов результатов наблюдалась статистически значимая корреляция.

Соответственно, как более чувствительный, точный и быстрый метод ИХЛА определения антител IgG к RBD S-белка является предпочтительным и, по данным литературных источников зарубежных авторов, имеет выраженную корреляцию с защитным уровнем нейтрализующих антител.

Количественный ИФА определения антител IgG к полноформатному тримеризованному S-белку дает возможность адекватно оценивать уровни «защитных» антител и может быть рекомендован для мониторинга поствакцинального иммунного ответа во всех клиничко-диагностических лабораториях, но особенно там, где отсутствуют аппараты для ИХЛАА. Одним из сдерживающих моментов его использования является достаточно длительный (более 4 часов) этап его постановки.

Применение полуколичественного ИФА при необходимости допустимо, однако его использование не позволяет достоверно оценивать уровни защитных антител, так как их значения могут находиться выше максимального предела корректного измерения для используемого нами метода (18,1 КП).

Анализ результатов определения антител IgG к нуклеокапсидному белку SARS-CoV-2 после вакцинации «КовиВаком» показывает, что формирование антител к N-белку происходит лишь у меньшей части вакцинированных, составившей 35,5–45,2%, по данным разных методов детекции антител, при этом количество вакцинированных с антителами IgG к N-белку было выявлено в большем проценте случаев при использовании ИФА, чем при анализе этого показателя с детекцией методом ИХЛА.

Такой низкий процент вакцинированных с антителами IgG к N-белку может иметь неблагоприятные последствия прежде всего для формирования Т-клеточного поствакцинального иммунитета. В то же время (вследствие многофак-

торности формирования Т-клеточного ответа) только лишь недостаточное обнаружение антител к N-белку не является значимым фактором, препятствующим формированию достаточного и выраженного Т-клеточного иммунного ответа.

Почти у четверти вакцинированных «КовиВаком» вырабатываются антитела класса IgM, что свидетельствует об особенностях иммунного ответа организма человека после вакцинации.

Все вышесказанное подчеркивает абсолютную необходимость дальнейшего глубокого изучения таких аспектов, как определение роли выработки конкретных видов антител к различным антигенам SARS-CoV-2 и их критически значимых уровней в формировании полноценного иммунитета к НКИ при вакцинации различными вакцинами и количественными наборами реагентов отечественных и зарубежных производителей.

Список литературы /References

1. Временные методические рекомендации («Профилактика, диагностика и лечение новой коронавирусной инфекции (COVID-19)»). Версия 14 (27.12.2021). М.: Министерство здравоохранения Российской Федерации; 2021. 232 с. Interim guidelines "Prevention, diagnosis and treatment of a new coronavirus infection (COVID-19)". Version 14 (12/27/2021). Moscow: Ministry of Health of the Russian Federation; 2021. 232 p.
2. Извеков А. А., Капто О. В., Хритинин Д. Ф. и др. Применение рефлексо-терапевтических методов в лечении транзиторных поствакцинальных реакций после иммунизации от COVID-19. Вестник неврологии, психиатрии и нейрохирургии. 2021;(7):504–510. Izvekov A. A., Kapto O. V., Khrifin D. F., et al. The use of reflexotherapy techniques in the treatment of transient post-vaccination reactions after immunization against COVID-19. Bulletin of neurology, psychiatry and neurosurgery. 2021;(7):504–510. <https://doi.org/10.33920/med-01-2107-02>.
3. Ignatiev S. A., Alekseev I. B., Kazakov S. P., et al. Some Features of the Development of AMD and Other Diseases of the Posterior Pole Associated with the Virus Carrier and the Novel Coronavirus Disease COVID-19. International Journal of Clinical and Experimental Medical Sciences. 2021;7(5):127–137. <https://doi.org/10.11648/j.ijcems.20210705.11>
4. Logunov D. Y., Dolzhikova I. V., Zubkova O. V., et al. Safety and immunogenicity of an rAd26 and rAd5 vector-based heterologous prime-boost COVID-19 vaccine in two formulations: two open, non-randomised phase 1/2 studies from Russia. Lancet. 2020;396(10255):887–897. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(20\)31866-3](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(20)31866-3)
5. Rossi A. H., Ojeda D. S., Varese A., et al. Sputnik V vaccine elicits seroconversion and neutralizing capacity to SARS-CoV-2 after a single dose. Cell Rep Med. 2021;2(8):100359. <https://doi.org/10.1016/j.crm.2021.100359>
6. Kozlovskaya L. I., Piniava A. N., Ignatyev G. M., et al. Long-term humoral immunogenicity, safety and protective efficacy of inactivated vaccine against COVID-19 (CovVac) in preclinical studies. Emerg Microbes Infect. 2021;10(1):1790–1806. <https://doi.org/10.1080/22221751.2021.1971569>
7. Tukhvatulin A. I., Dolzhikova I. V., Shcheblyakov D. V., et al. An open, non-randomised, phase 1/2 trial on the safety, tolerability, and immunogenicity of single-dose vaccine "Sputnik Light" for prevention of coronavirus infection in healthy adults. The Lancet Regional Health Europe. 2021;11:100241. <https://doi.org/10.1016/j.lanepe.2021.100241>
8. Временные методические рекомендации («Порядок проведения вакцинации взрослого населения против COVID-19»). М.: Министерство здравоохранения Российской Федерации, ФГБУ «НМИЦ ПМ» Минздрава России; 2021. 65 с.

Сведения об авторах

Казakov Сергей Петрович, д.м.н., доцент, начальник центра клинической лабораторной диагностики – главный лаборант¹, зав. кафедрой медицинской биохимии и иммунопатологии Академического образовательного центра трансляционной и фундаментальной медицины². E-mail: gvkg.c.kld@mail.ru; rmapo.kafimm@mail.ru; РИНЦ: 5560–3931. WoS Researcher ID: C-6644–2018. Scopus ID: 57211351588. ORCID: 0000–0001–6528–1059

Решетняк Дмитрий Витальевич, к.м.н., врач клинической лабораторной диагностики Высшей квалификационной категории отделения клинических инфекционно-иммунологических исследований¹. E-mail: dvrld@yandex.ru

Давыдова Наталья Вячеславовна, врач клинической лабораторной диагностики высшей квалификационной категории отделения клинических инфекционно-иммунологических исследований центра клинической лабораторной диагностики¹

Путков Станислав Борисович, зав. отделением клинических инфекционно-иммунологических исследований, врач клинической лабораторной диагностики центра клинической лабораторной диагностики¹. E-mail: gvkg.c.kld@mail.ru; ORCID: 0000–0003–0542–4278

¹ФГБУ «Главный военный клинический госпиталь имени Академика Н. Н. Бурденко» Минобороны России, Москва

²ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Минздрава России, Москва

Автор для переписки: Казakov Сергей Петрович.
E-mail: gvkg.c.kld@mail.ru; rmapo.kafimm@mail.ru

Для цитирования: Казakov С. П., Решетняк Д. В., Давыдова Н. В., Путков С. Б. Оценка эффективности гуморального иммунного ответа после вакцинации («Кови-Ваком»). Медицинский алфавит. 2022; (6): 18–24. <https://doi.org/10.33667/2078-5631-2022-6-18-24>.

Interim guidelines "Procedure for vaccination of the adult population against COVID-19". M.: Ministry of Health of the Russian Federation, Federal State Budgetary Institution "NMITSIPM" of the Ministry of Health of Russia; 2021. 65 p

9. Shen C., Wang Z., Zhao F., et al. Treatment of 5 Critically Ill Patients With COVID-19 With Convalescent Plasma. JAMA. 2020;323(16):1582–1589. <https://doi.org/10.1001/jama.2020.4783>
10. Казakov С. П., Алимбарова Л. М., Чиркова Е. Ю. и др. Изучение эффективности тест-системы на основе иммунохимического метода для определения специфических антител классов IgM, IgG к коронавирусу SARS-CoV-2. Журнал иммунологии. 2021;13(1 S1):53–54. Kazakov S. P., Alimbarova L. M., Chirkova E. Yu., et al. Study of the effectiveness of test systems based on the immunochemical method for the determination of specific antibodies of the IgM, IgG classes to SARS-CoV-2 coronavirus. Journal of Infectology. 2021;13(1 S1):53–54.
11. Dombourian M. G., Annen K., Huey L., Andersen G. Analysis of COVID-19 convalescent plasma for SARS-CoV-2 IgG using two commercial immunoassays. J Immunol Methods. 2020;486:112837. <https://doi.org/10.1016/j.jim.2020.112837>
12. Meschi S., Colavita F., Bordi L., et al. Performance evaluation of Abbott ARCHITECT SARS-CoV-2 IgG immunoassay in comparison with indirect immunofluorescence and virus microneutralization test. J Clin Virol. 2020;129:104539. <https://doi.org/10.1016/j.jcv.2020.104539>
13. SARS-CoV-2 IgG II – количественные реагенты «Architect» (SARS-CoV-2 IgG II Quant Reagent Kit): инструкция для тест-системы компании «Abbot», декабрь 2020 г. SARS-CoV-2 IgG II – количественные реагенты «Architect» (SARS-CoV-2 IgG II Quant Reagent Kit): инструкция для тест-системы компании «Abbot», декабрь 2020.
14. Feng S., Phillips D. J., White T., et al. Correlates of protection against symptomatic and asymptomatic SARS-CoV-2 infection. Nat Med. 2021;27(11):2032–2040. <https://doi.org/10.1038/s41591-021-01540-1>
15. Komisarov A. A., Dolzhikova I. V., Efimov G. A., et al. Boosting of the SARS-CoV-2-specific immune response after vaccination with single-dose Sputnik Light vaccine. MedRxiv. 2021. <https://doi.org/10.1101/2021.10.26.21265531>
16. Xiao A. T., Gao C., Zhang S. Profile of specific antibodies to SARS-CoV-2: The first report. J Infect. 2020;81(1):147–178. <https://doi.org/10.1016/j.jinf.2020.03.012>
17. Ng D. L., Goldof G. M., Shy B. R., et al. SARS-CoV-2 seroprevalence and neutralizing activity in donor and patient blood. Nat Commun. 2020;11(1):4698. <https://doi.org/10.1038/s41467-020-18468-8>
18. Charlton C. L., Kanji J. N., Johal K., et al. Evaluation of Six Commercial Mid- to High-Volume Antibody and Six Point-of-Care Lateral Flow Assays for Detection of SARS-CoV-2 Antibodies. J Clin Microbiol. 2020;58(10):e01361–20. <https://doi.org/10.1128/JCM.01361-20>
19. Okba N. M. A., Müller M. A., Li W., et al. Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2-Specific Antibody Responses in Coronavirus Disease Patients. Emerg Infect Dis. 2020;26(7):1467–1488. <https://doi.org/10.3201/eid2607.200841>
20. Grzelak L., Temmam S., Planchais C., et al. A comparison of four serological assays for detecting anti-SARS-CoV-2 antibodies in human serum samples from different populations. Sci Transl Med. 2020;12(559):eabc3103. <https://doi.org/10.1126/scitranslmed.abc3103>
21. Luchsingher L. L., Ransegnala B. P., Jin D. K., et al. Serological Assays Estimate Highly Variable SARS-CoV-2 Neutralizing Antibody Activity in Recovered COVID-19 Patients. J Clin Microbiol. 2020;58(12):e02005–20. <https://doi.org/10.1128/JCM.02005-20>
22. Joyner M. J., Bruno K. A., Klassen S. A., et al. Safety Update: COVID-19 Convalescent Plasma in 20,000 Hospitalized Patients. Mayo Clin Proc. 2020;95(9):1888–1897. <https://doi.org/10.1016/j.mayocp.2020.06.028>
23. Khoury D. S., Cromer D., Reynaldi A., et al. Neutralizing antibody levels are highly predictive of immune protection from symptomatic SARS-CoV-2 infection. Nat Med. 2021;27(7):1205–1211. <https://doi.org/10.1038/s41591-021-01377-8>
24. Muecksch F., Wise H., Batchelor B., et al. Longitudinal Serological Analysis and Neutralizing Antibody Levels in Coronavirus Disease 2019 Convalescent Patients. J Infect Dis. 2021;223(3):389–398. <https://doi.org/10.1093/infdis/jiaa659>
25. van Kampen J. J. A., van de Vijver D. A. M. C., Fraaij P. L. A., et al. Duration and key determinants of infectious virus shedding in hospitalized patients with coronavirus disease-2019 (COVID-19). Nat Commun. 2021;12(1):267. <https://doi.org/10.1038/s41467-020-20568-4>
26. Dimaggio C., Herin F., Martin-Blondel G., et al. Antibody titers and protection against a SARS-CoV-2 infection. J Infect. 2021 Sep 21: S0163-4453(21)00483-7. <https://doi.org/10.1016/j.jinf.2021.09.013>

Статья поступила / Received 24.03.2022

Получена после рецензирования / Revised 25.03.2022

Принята в печать / Accepted 25.03.2022

About authors

Kazakov Sergei P., DM Sci (habil.), associate professor, head of the Centre for Clinical Laboratory Diagnostics – Chief laboratory assistant¹, head of Dept of Medical Biochemistry and Immunopathology of Academic Educational Centre for Translational and Fundamental Medicine². E-mail: gvkg.c.kld@mail.ru; rmapo.kafimm@mail.ru; RSCI: 5560–3931. WoS Researcher ID: C-6644–2018. Scopus ID: 57211351588. ORCID: 0000–0001–6528–1059

Reshetnyak Dmitry V., PhD Med, doctor of clinical laboratory diagnostics of Supreme expert category at Dept of Clinical and Infectious-Immunological Research of Centre for Clinical Laboratory Diagnostics¹. E-mail dvrld@yandex.ru

Davydova Natalia V., doctor of Clinical Laboratory diagnostics of superior expert category at Dept of Clinical and Infectious-Immunological Research of Centre for Clinical Laboratory Diagnostics¹

Putkov Stanislav B., head of Dept, doctor of Clinical Laboratory diagnostics of superior expert category at Dept of Clinical and Infectious-Immunological Research of Centre for Clinical Laboratory Diagnostics¹. E-mail: gvkg.c.kld@mail.ru. ORCID: 0000–0003–0542–4278

¹Main Military Clinical Hospital n. a. academician N. N. Burdenko, Moscow, Russia

²Russian Medical Academy for Continuing Professional Education, Moscow, Russia

Corresponding author: Kazakov Sergei P.
E-mail: gvkg.c.kld@mail.ru; rmapo.kafimm@mail.ru

For citation: Kazakov S. P., Reshetnyak D. V., Davydova N. V., Putkov S. B. Evaluation of effectiveness of humoral immune response after vaccination with "CoviVac". Medical alphabet. 2022; (6): 18–24. <https://doi.org/10.33667/2078-5631-2022-6-18-24>.

