

КЛИНИЧЕСКАЯ ЛАБОРАТОРНАЯ ДИАГНОСТИКА АНТИТЕЛ К SARS-COV-2: ОТ QR-КОДА К РЕАЛЬНОСТИ

Я.Д. Шанский¹, А.В. Господарик¹, А.В. Комарова^{1, 2}, С.С. Есиев¹, Л.А. Улаханова¹,
А.С. Серкина¹, Л.В. Плотникова^{1, 2}, Ю.А. Беспярых^{1, 2, 3}

¹ Федеральный научно-клинический центр физико-химической медицины имени академика Ю.М. Лопухина, Москва, Российская Федерация

² Российский химико-технологический университет имени Д.И. Менделеева, Москва, Российская Федерация

³ Национальный научно-исследовательский институт общественного здоровья имени Н.А. Семашко, Москва, Российская Федерация

Обоснование. Иммуный ответ на попадание вируса SARS-CoV-2 в организм включает выработку специфических иммуноглобулинов к антигенам коронавируса. В зависимости от типа и уровня содержания иммуноглобулинов можно сделать вывод о стадии заболевания и оценить эффективность вакцинопрофилактики новой коронавирусной инфекции COVID-19. Основным подходом к определению иммуноглобулинов к SARS-CoV-2 является иммуноферментный анализ (ИФА), данные которого используются, в частности, для выдачи электронного сертификата COVID-19 с QR-кодом. Однако качественный и количественный состав иммуноглобулинов для выдачи QR-кода официально не регламентирован. **Цель исследования** — определить уровни иммуноглобулинов разных классов в сыворотке крови добровольцев с различными типами иммунитета к COVID-19 для выбора наиболее информативных показателей защитного иммунитета. **Методы.** От мужчин и женщин в возрасте 18–50 лет получено 76 образцов сыворотки крови. Обнаружение IgA, IgM, IgG (суммарные к SARS-CoV-2, S-белку и его RBD-фрагменту), оценку avidности IgG и уровня N-антигена SARS-CoV-2 проводили методом ИФА с использованием коммерчески доступных наборов реагентов. **Результаты.** Показатели уровня антител (защитных IgG и IgA начальной фазы инфекции) в наибольшей степени выражены у вакцинированных и перенесших COVID-19, в наименьшей — у невакцинированных. У переболевших невакцинированных лиц уровень общих защитных антител и IgG к S-белку, включая RBD-фрагмент, наиболее низкий; avidность IgG ниже, чем в остальных группах. Avidность иммуноглобулинов у вакцинированных выше, чем у переболевших. Для переболевших COVID-19 и вакцинированных лиц не отмечалось различий в уровне суммарных IgG к коронавирусу, его S-белку и RBD-фрагменту S-белка. **Заключение.** Анализ иммуноглобулинов к SARS-CoV-2 свидетельствует о разном профиле гуморального иммунного ответа при вакцинации и перенесенной инфекции COVID-19. Для быстрой оценки иммунного ответа на перенесенную и текущую инфекцию COVID-19 и выявления поствакцинального иммунитета целесообразно использовать общий уровень IgG к SARS-CoV-2. Для более глубокой оценки профилактического иммунитета и выработки защитных антител целесообразно оценивать количественное содержание IgG к S-белку и его RBD-фрагменту. Формирование электронного сертификата COVID-19 лишь по одному из показателей без учета остальных нерационально.

Ключевые слова: иммуноферментный анализ; иммуноглобулины; диагностика COVID-19.

Для цитирования: Шанский Я.Д., Господарик А.В., Комарова А.В., Есиев С.С., Улаханова Л.А., Серкина А.С., Плотникова Л.В., Беспярых Ю.А. Клиническая лабораторная диагностика антител к SARS-CoV-2: от QR-кода к реальности. *Клиническая практика*. 2023;14(1):In Press. doi: <https://doi.org/10.17816/clinpract163553>

Поступила 01.02.2023

Принята 21.02.2023

Опубликована ????.2023

ОБОСНОВАНИЕ

Новая коронавирусная инфекция COVID-19, вызываемая выделенным в 2019 году серотипом РНК-содержащего коронавируса SARS-CoV-2, характеризуется высокой контагиозностью и большой частотой поражения дыхательной и ряда других систем человеческого организма. Иммунный ответ на

попадание SARS-CoV-2 в организм человека включает выработку специфических иммуноглобулинов (Ig) — IgA, IgM и IgG — к структурному белку нуклеокапсида (N-белок), гликопротеину, отвечающему за проникновение в клетку (S-белок), и другим антигенам [1, 2]. В зависимости от типа и уровня содержания иммуноглобулинов можно сделать вывод о ста-

CLINICAL LABORATORY DIAGNOSTICS OF ANTIBODIES TO SARS-COV-2: FROM QR CODE TO REALITY

Ya.D. Shanskiy¹, A.V. Gospodarik¹, A.V. Komarova^{1, 2}, S.S. Esiev¹, L.A. Ulakhanova¹, A.S. Serkina¹, L.V. Plotnikova^{1, 2}, J.A. Bespyatykh^{1, 2, 3}

¹ Lopukhin Federal Research and Clinical Center of Physical-Chemical Medicine of Federal Medical Biological Agency, Moscow, Russian Federation

² Mendeleev University of Chemical Technology of Russia, Moscow, Russian Federation

³ N.A. Semashko National Research Institute of Public Health, Moscow, Russian Federation

Background: The immune response to SARS-CoV-2 includes the production of specific immunoglobulins to protein antigens of SARS-CoV-2. Depending on the type and level of immunoglobulins, it is possible to assess the stage of the disease and evaluate the effectiveness of vaccination. The main approach to the determination of immunoglobulins to SARS-CoV-2 in human biological fluids is enzyme-linked sorbent immunoassay. Its data, in particular, are used to issue an electronic COVID-19 certificate with a QR code. However, the qualitative and quantitative composition of immunoglobulins for a QR code is not officially regulated. **Aim:** measuring the immunoglobulins' level in the human blood serum with different types of immunity to the new coronavirus infection (COVID-19) to select the most informative indicators of protective immunity. **Methods:** The study included 76 blood serum samples from male and female volunteers (age, 18 to 50 y.o.) in compliance with the ethical standards. The detection of IgA, IgM, IgG (total to different regions of SARS-CoV-2, S-protein IgG and RBD-fragment IgG), IgG avidity, and the level of the SARS-CoV-2 N-antigen was performed by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) using commercially available reagent kits. **Results:** The indicators of the level of antibodies (both "protective" IgG and IgA of the initial phase of infection) are most pronounced in persons who have been vaccinated and have had COVID-19, and least pronounced in unvaccinated people. For recovered unvaccinated individuals, the level of total "protective" antibodies and IgG to the S-protein, including the RBD fragment, is the lowest; the avidity of IgG is lower than that in the other groups, too. The IgG avidity in vaccinated patients is higher than that in recovered ones. It should be noted that there were no differences in the level of both total IgG to SARS-CoV-2, to the S-protein and to the RBD-fragment of the S-protein for recovered and vaccinated individuals. **Conclusion:** The analysis of COVID-19 immunoglobulins indicates a different profile of the humoral immune response following vaccination and previous infection with COVID-19. To quickly assess the immune response to previous and current COVID-19 infection, as well as to detect the post-vaccination immunity, it is advisable to use the total level of IgG to SARS-CoV-2. For deeper assessment of protective immunity and production of protective antibodies, it is better to evaluate the quantitative content of IgG to the S protein and its RBD fragment. The equal level of IgA in the experimental groups indicates an ongoing interaction with SARS-CoV-2 in the population. Thus, the electronic COVID-19 certificate is of little use when it is formed by only one of the indicators without taking into account the rest.

Keywords: ELISA; immunoglobulins; COVID-19 testing; SARS-CoV-2.

For citation: Shanskiy YaD, Gospodarik AV, Komarova AV, Esiev SS, Ulakhanova LA, Serkina AS, Plotnikova LV, Bespyatykh JA. Clinical Laboratory Diagnostics of Antibodies to SARS-CoV-2: from QR Code to Reality. *Journal of Clinical Practice*. 2023;14(1):In Press. doi: <https://doi.org/10.17816/clinpract163553>

Submitted 01.02.2023

Revised 21.02.2023

Published ???.2023

дии заболевания (начальной, выздоровления). Кроме того, по уровню антител можно оценить эффективность вакцинопрофилактики, являющейся одним из основных способов профилактики COVID-19

Основным подходом к определению иммуноглобулинов в биологических жидкостях человека является неконкурентный иммуноферментный анализ (ИФА) [3]. В настоящий момент в России

наличие у гражданина иммунитета к SARS-CoV-2 подтверждается официально по факту проведенной вакцинации и/или ревакцинации, при постановке в медучреждении официального диагноза COVID-19 с внесением сведений о выздоровлении в регистр больных COVID-19, при положительном результате теста на IgG к SARS-CoV-2 в сертифицированных лабораториях, а также в случае поло-

жительного теста полимеразной цепной реакции на SARS-CoV-2. На основании вышеперечисленного гражданину выдается электронный сертификат с QR-кодом, действующий в течение 6 месяцев. Возможность сформировать сертификат при обнаружении антител предусмотрена Приказом Минздрава от 04.02.2022 № 58-н [4], при этом не учитывается, был ли выполнен качественный или количественный анализ IgG. В то же время, согласно временным методическим рекомендациям по профилактике, диагностике и лечению новой коронавирусной инфекции, для определения уровней иммуноглобулинов к SARS-CoV-2 необходимо использовать наборы реагентов для количественного определения, а результаты исследований представлять с использованием условных единиц измерения — единиц связывающих антител (binding antibody units, BAU/мл) [5]. В нормативной документации не оговаривается, должны ли это быть IgG, вырабатываемые суммарно к N- и S-белкам SARS-CoV-2, либо к S-белку отдельно, либо к его рецепторсвязывающему домену — RBD-фрагменту (receptor-binding domain), и в каком количестве. Согласно данным последних исследований, в наибольшей степени «защитными» следует считать именно IgG к RBD-фрагменту S-белка [6], и в то же время компоненты иммунитета к COVID-19 не ограничиваются содержанием только IgG. Таким образом, на настоящий момент отсутствует унифицированный показатель гуморального иммунитета, и поиск такого показателя и/или комплекса показателей является актуальной задачей.

Цель исследования — определить уровни иммуноглобулинов в сыворотке крови добровольцев с различными типами иммунитета к новой коронавирусной инфекции (COVID-19) для выбора наиболее информативных показателей защитного иммунитета.

МЕТОДЫ

Критерии соответствия

Критерии включения в группу вакцинированных препаратами «Гам-Ковид-Вак» и «КовиВак»: мужской/женский пол; возраст от 18 до 50 лет; отсутствие антител (IgM и IgG) к вирусу SARS-CoV-2; отсутствие COVID-19 и вакцинации против COVID-19 в анамнезе.

Критерии включения в группу с подтвержденной перенесенной инфекцией COVID-19/вакцинированных препаратом «КовиВак» и подтвержденной перенесенной инфекцией COVID-19/вакцинированных препаратом «Гам-Ковид-Вак» и подтвержденной перенесенной инфекцией COVID-19: добровольцы,

которые перенесли новую коронавирусную инфекцию/добровольцы, которые вакцинированы от COVID-19 «Гам-Ковид-Вак» или «КовиВак» и перенесли новую коронавирусную инфекцию и имели в сыворотке крови антитела к SARS-CoV-2, подтвержденные методом ИФА.

Критерии не включения: ВИЧ, сифилис, гепатит в анамнезе/со слов добровольца; прием лекарственных средств из группы нейролептиков, антидепрессантов, транквилизаторов, антиконвульсантов, антидепрессантов, антибластомных средств, а также средств, существенно влияющих на гемодинамику; радиотерапия в течение 3 последних лет; алкоголизм, наркомания, токсикомания в анамнезе; хронические заболевания сердечно-сосудистой, дыхательной, пищеварительной, кроветворной, иммунной систем, печени, почек, психические заболевания в стадии декомпенсации; ожирение 2 степени и выше ($ИМТ \geq 35$); дефицит массы тела ($ИМТ < 16$); гиперчувствительность к компонентам вакцинам; иммунодефицитное состояние; тяжелые аллергические реакции в анамнезе; тяжелые реакции или осложнения на введение иммунобиологических препаратов в анамнезе; острые и хронические заболевания в стадии обострения в течение предшествующих 4 недель; системные воспалительные заболевания; онкологические заболевания в течение предшествующих 3 лет; вакцинация против других инфекционных агентов в течение 30 дней; жалобы на состояние здоровья.

Критерии исключения: новая коронавирусная инфекция, выявленная после проведенной вакцинации; неявка пациентов для проведения вакцинации; выявление параметров, указанных в критериях не включения, после начала исследования.

Условия проведения

Исследование проводили в клинической больнице №123 ФГБУ ФНКЦ ФХМ имени Ю.М. Лопухина ФМБА (г. Одинцово, Московская область, Российская Федерация).

Продолжительность исследования

Исследование проводилось с мая 2021 по май 2022 года.

Описание медицинского вмешательства

Материалы и реагенты. В образцах сыворотки крови 76 добровольцев методом ИФА с использованием коммерческих наборов определяли следующие показатели:

- качественное содержание IgG (наборы «SARS-CoV-2-IgG-ИФА-БЕСТ», АО «Вектор-Бест», Россия; «SARS-CoV-2 IgG-ИМБИАН-ИФА», ООО «Имбиан Лаб», Россия);
- количественное содержание IgG к коронавирусу (набор «SARS-CoV-2-IgG количественный-ИФА-БЕСТ», АО «Вектор-Бест», Россия);
- количественное содержание IgG к поверхностному гликопротеину S SARS-CoV-2 (набор «SARS-CoV-2 IgG Spike-количественный-ИМБИАН», ООО «Имбиан Лаб», Россия);
- количественное содержание IgG к RBD SARS-CoV-2 (наборы «SARS-CoV-2 IgG RBD-количественный», ООО «Имбиан Лаб», Россия; «SARS-CoV-2-IgG-ELISA-RBD-Q», ООО «Алелль», Россия);
- индекс авидности IgG к RBD SARS-CoV-2 (набор «SARS-CoV-2 IgG RBD Авидность-ИМБИАН-ИФА», ООО «Имбиан Лаб», Россия);
- качественное содержание IgM (набор «SARS-CoV-2 IgM Screen», ООО «Имбиан Лаб», Россия);
- качественное содержание IgA к коронавирусу (набор «SARS-CoV-2 IgA», ООО «Имбиан Лаб», Россия);
- количественное содержание N-белка коронавируса (набор «SARS-CoV-2 Ag-количественный-ИМБИАН-ИФА», ООО «Имбиан Лаб», Россия).

Сбор и хранение образцов крови. У добровольцев, включенных в исследование, отбирали венозную кровь в вакутейнеры объемом 8 мл с активатором свертывания и разделительным гелем. Сыворотку отделяли центрифугированием в течение 10 мин со скоростью 3000 об/мин, аликвотировали и хранили при -80°C до дальнейшего использования.

Иммуноферментный анализ. Методом твердофазного ИФА на аналитическом анализаторе Lazurite (Dynex, США) в 82 образцах сыворотки крови в соответствии с инструкцией производителя определяли показатели, указанные в разделе «Материалы и реагенты». При интерпретации результатов считали, что иммуноглобулины к SARS-CoV-2 обнаружены, если коэффициент позитивности (КП) тестируемого образца $\geq 1,1$ или BAU ≥ 20 . При значении индекса авидности $< 30\%$ считали, что IgG к RBD антигену SARS-CoV-2 в анализируемом образце обладают низкой, при $30\text{--}50\%$ — средней, при $> 50\%$ — высокой авидностью.

Этическая экспертиза

Исследование одобрено ЛЭК ФГБУ ФНКЦ ФХМ им Ю.М. Лопухина ФМБА России № 2022/05/31 от 10.01 2021 г. Пациентами/добровольцами или их за-

конными представителями 10.01.2021 подписано добровольное информированное согласие на проведение исследования и публикацию его результатов.

Статистический анализ

Статистический анализ проводили с использованием пакета программ Statistica 10.0 (Statsoft Inc., 2011, CA, США). Для оценки нормальности распределения данных использовали тест Шапиро–Уилка. Так как распределение данных, вошедших в анализ, было отличным от нормального, то их представляли в виде медианы (Q_2) и минимального–максимального значений (Min–Max). Для графического отображения данных использовали медиану и межквартильный интервал ($Q_1\text{--}Q_3$). Для сравнения множественных несвязанных выборок применяли тест Краскела–Уоллиса. При наличии значимых различий между группами проводили попарные post-hoc сравнения с помощью критерия Тьюки–Крамера. Результаты считали значимыми при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Объекты (участники) исследования

В исследование включено 76 добровольцев, стратифицированных по следующим категориям:

- неболевшие и непривитые от SARS-CoV-2 (контроль; $n=10$);
- вакцинированные препаратом «КовиВак», 35-й день после введения первой дозы вакцины ($n=10$);
- вакцинированные препаратом «КовиВак», 172-й день после введения первой дозы вакцины ($n=10$);
- вакцинированные препаратом «Гам-Ковид-Вак» ($n=18$);
- с подтвержденной перенесенной инфекцией COVID-19 ($n=10$; из них с давностью перенесенного заболевания 2 недели — 1, 1 месяц — 3, 2 месяца — 1, 3 месяца — 1, 6 месяцев — 3, 7 месяцев — 1);
- вакцинированные препаратом «КовиВак» и перенесшие подтвержденную инфекцию COVID-19 ($n=10$; давность перенесенного заболевания: 1 месяц — 2, 2 месяца — 2, 4 месяца — 1, 5 месяцев — 1, 6 месяцев — 1, 7 месяцев — 2, 8 месяцев — 1);
- вакцинированные препаратом «Гам-Ковид-Вак» и перенесшие подтвержденную инфекцию COVID-19 ($n=8$; давность перенесенного заболевания: 6 месяцев — 1, 8 месяцев — 1; 1 год — 1, у 5 пациентов давность заболевания установить не удалось).

Основные результаты исследования

Уровень иммуноглобулинов в сыворотке крови. Анализ на наличие IgG является наиболее распространенным (суммарные результаты определения уровня IgG в исследуемых группах приведены на рис. 1).

По результатам ИФА с использованием набора «SARS-CoV-2-IgG-ИФА-БЕСТ» суммарный уровень IgG был выше во всех группах в сравнении с контрольной: медиана значения КП IgG составила 6,48 (Min–Max 0,29–14,85), 9,96 (3,52–14,86), 15,13 (3,60–18,61) для переболевших, вакцинированных, переболевших и вакцинированных и 0,08 (0,06–0,29) для контроля ($p=0,001$, $p<0,001$ и $p<0,001$ соответственно). Таким образом, наи-

более высокий уровень суммарных IgG у вакцинированных лиц, перенесших COVID-19 ($p=0,012$ и $p<0,001$ в сравнении с перенесшими инфекцию и вакцинированными соответственно).

Несколько иные значения наблюдали при использовании набора «SARS-CoV-2 IgG-ИМБИАН-ИФА»: 0,03 (0,03–0,42), 1,72 (0,03–15,68), 1,40 (0,03–16,57), 14,04 (0,05–16,57). В данном случае вакцинированные лица, перенесшие COVID-19, имели также более высокий КП в сравнении с неболевыми, вне зависимости от статуса вакцинации ($p<0,001$). При использовании наборов обоих производителей не найдено различий между группами переболевших и вакцинированных лиц ($p=0,967$, $p=0,894$).

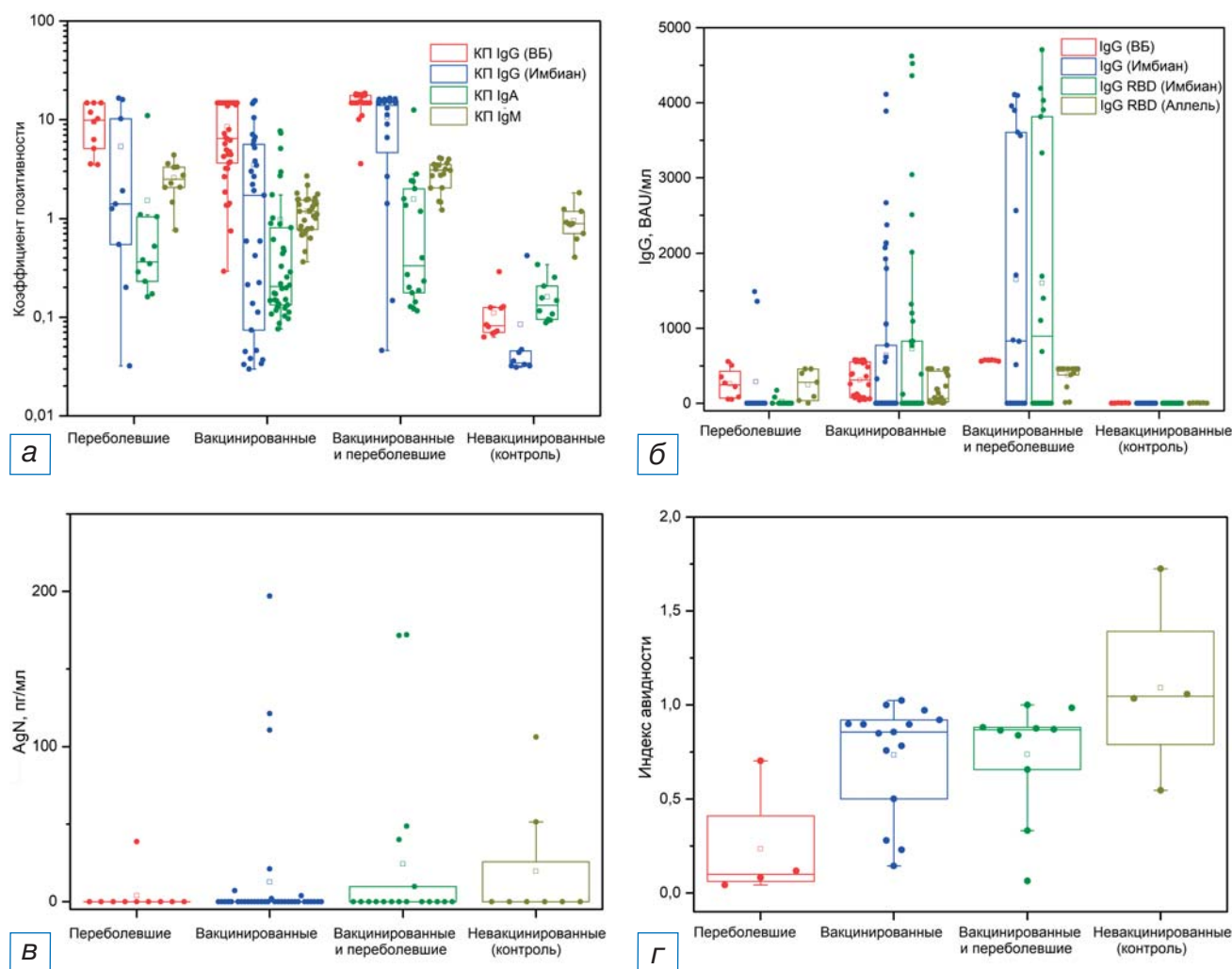


Рис. 1. Сравнительный анализ качественных и количественных показателей иммунного ответа в группах с различным иммунитетом к COVID-19: коэффициент позитивности IgA, IgM, IgG (а); количественное содержание общих IgG и IgG к RBD-домену S-белка (б); количественное содержание N-антигена (в), индекс avidности IgG (г).

Примечание. КП — коэффициент позитивности, ББ — компания «Вектор БЕСТ»; RBD — рецепторсвязывающий домен.

Fig. 1. Comparison of the qualitative and quantitative indicators of the immune response in groups with different immunity to COVID-19: Ig A, M, G coefficient of positivity (a), total IgG level and RBD-S-protein IgG level (б), N-antigen level (в), IgG avidity index (г).

Note: КП — coefficient of positivity, ББ — Vector BEST Company; RBD — receptor binding domain.

Аналогичная картина наблюдалась и для количественного уровня IgG (набор «SARS-CoV-2-IgG количественный-ИФА-БЕСТ»), медиана которого составила 3,35 (0,2–6,8), 310,1 (42,7–581,7), 246,5 (51,5–554,8), 573,5 (560,5–580,7) BAU/мл для переболевших, вакцинированных, переболевших в сочетании с вакцинацией и невакцинированных соответственно.

При использовании набора реагентов «SARS-CoV-2 IgG spike-количественный-ИМБИАН-ИФА» были получены следующие значения: 0 (0–4110,3), 0 (0–1490,0), 834,1 (0–4106,0) и 0 (0–0) BAU/мл для тех же групп соответственно. Уровень IgG у лиц, сочетано вакцинированных и перенесших COVID-19, значительно выше в сравнении с группой вакцинированных ($p=0,022$) или перенесших инфекцию ($p=0,026$) по отдельности, а также с контролем ($p=0,005$). Различий между группами невакцинированных и переболевших не было обнаружено ($p=0,075$).

Различия между группами вакцинированных и невакцинированных лиц были значимыми при использовании набора «SARS-CoV-2-IgG количественный-ИФА-БЕСТ» ($p=0,005$); при использовании набора «SARS-CoV-2 IgG spike-количественный-ИМБИАН-ИФА» различий выявить не удалось ($p=0,441$). И вакцинированные, и переболевшие COVID-19 имели примерно равный уровень IgG ($p=0,829$, $p=0,711$ для наборов «SARS-CoV-2-IgG количественный-ИФА-БЕСТ» и «SARS-CoV-2 IgG spike-количественный-ИМБИАН-ИФА»).

Уровень IgG к RBD-участку S-белка при использовании набора «SARS-CoV-2 IgG RBD-количественный» составил 0 (0–4621,0), 0 (0–171,6), 896,2 (0–4705,0) и 0 (0–0) для вакцинированных, переболевших, переболевших и вакцинированных и контрольной группы ($p=0,983$, $p=0,520$, $p=0,039$ в сравнении с контролем соответственно). Как и для наборов для качественного и количественного определения IgG, уровень исследованных антител был выше при сочетании вакцинации и перенесенной инфекции в сравнении с перенесенной инфекцией без вакцинации ($p=0,039$). При использовании набора «SARS-CoV-2-IgG-ELISA-RBD-Q» соответствующие значения составили 63,3 (4,3–457,8), 279,7 (2,8–457,5), 457,1 (11,5–457,7) и 4,185 (1,9–6,8) ($p=0,077$, $p=0,145$, $p<0,001$ в сравнении с контролем соответственно). При использовании обоих наборов различий между группами переболевших и вакцинированных лиц не найдено ($p=0,434$, $p=0,236$).

Значения индекса авидности составили 1,05 (0,54–1,73), 0,86 (0,14–1,02), 0,10 (0,04–0,70), 0,87

(0,065–1,00) для невакцинированных, вакцинированных, переболевших и вакцинированных переболевших соответственно. Индекс авидности IgG был наибольшим для невакцинированных и наименьшим для переболевших; для данных групп различия были статистически значимыми ($p=0,004$).

Медиана КП для IgM, выявленных методом захвата, составила 0,88 (Min–Max 0,41–1,82), 1,18 (0,36–2,70), 2,51 (0,77–4,39), 3,10 (1,22–4,12) для невакцинированных, вакцинированных, переболевших и вакцинированных переболевших соответственно. Уровень IgM у переболевших вакцинированных был значимо выше, чем в группах вакцинированных и невакцинированных ($p<0,001$). В то же время у вакцинированных лиц без COVID-19 в анамнезе не было различий в уровне IgM в сравнении с невакцинированными ($p=0,679$).

Величина КП IgA значимо не различалась между группами ($p=0,646$). КП IgA для всех групп варьировал в пределах 0,13–0,33, что указывает на отсутствие IgA в анализируемых образцах сыворотки крови.

ОБСУЖДЕНИЕ

За последние два года значительно увеличился объем знаний о формировании и поддержании иммунитета против SARS-CoV-2. В иммунном ответе участвует ряд факторов, среди которых важное место занимают антитела-иммуноглобулины. Оценка последних важна на разных этапах течения COVID-19, а также при оценке эффективности вакцинации. ИФА сохраняет свою актуальность в диагностике коронавирусной инфекции, в частности, в связи со своей относительно высокой скоростью проведения, что реализуется и в новых тест-системах для прикроватной диагностики (point-of-care), где также определяют IgM и IgG к SARS-CoV-2 [3, 7, 8]. Взаимодействие вируса SARS-CoV-2 с клеткой-мишенью человеческого организма опосредовано S-белком, в частности, его RBD-доменом [9–11]. В связи с этим анализ содержания защитных IgG, вырабатываемых к S-белку и его RBD-фрагменту, является наиболее актуальным на сегодняшний день [6, 11, 12].

В ходе работы проведена сравнительная оценка уровня гуморального иммунитета к COVID-19 с использованием общедоступных методов клинической лабораторной диагностики (рис. 2). Согласно полученным данным, показатели уровня антител (как защитных IgG, так и IgA начальной фазы инфекции) в наибольшей степени выражены у лиц, вакцинированных и перенесших COVID-19, в наи-

меньшей — у невакцинированных (условно здоровые, не имевшие контактов с вирусом SARS-CoV-2). У переболевших отмечались высокий уровень IgM и отсутствие IgA, что может быть связано с особенностями кинетики их накопления. Пациенты перенесли COVID-19 за 0,5–7 месяцев до исследования (у 9 из 10 пациентов данный интервал составил от 1 месяца и более), при этом известно, что IgA после 3-й недели инфицирования постепенно снижаются [13], в то время как IgM могут циркулировать в крови до года [14]. В данном исследовании для групп переболевших (как вакцинированных, так и невакцинированных) не удалось установить наличия значимой корреляции между давностью перенесенного заболевания и уровнем иммуноглобулинов, что может быть связано с небольшим количеством пациентов по каждому из сроков давности COVID-19.

У переболевших невакцинированных лиц уровень общих защитных антител и IgG к S-белку, включая RBD-фрагмент, наиболее низкий; авидность IgG ниже, чем в остальных группах. Следует отметить, что авидность IgG у вакцинированных выше, чем у переболевших, что подтверждается данными более ранних исследований [15]. Можно предположить, что иммунная система пациентов, перенесших коронавирусную инфекцию, более активно использует собственные средства защиты, тем самым избегая контакта с вирусом, и у таких пациентов авидность антител, выработанных после болезни, снижается быстрее.

У невакцинированных был выявлен крайне низкий уровень IgG (КП~1,0), которые, вероятно, только начали вырабатываться в ответ на недавний контакт с вирусом, и такие антитела будут иметь высокую авидность.

У переболевших, привитых вакциной «Ковивак», как и «ГамКовидВак», наблюдается средняя тенденция к продукции антител: уровень IgG ниже, чем у вакцинированных, но перенесших инфекцию, и присутствует более низкий уровень IgM. Следует отметить, что для переболевших COVID-19 и вакцинированных лиц не отмечалось различий в уровне как суммарных IgG к коронавирусу, так и его S-белку и RBD-фрагменту S-белка.

Ограничения исследования

Представленные результаты измерения уровня иммуноглобулинов к SARS-CoV-2 в сыворотке крови человека ограничены имеющимися образцами и требуют валидации на большей выборке для составления более точной характеристики эпидеми-

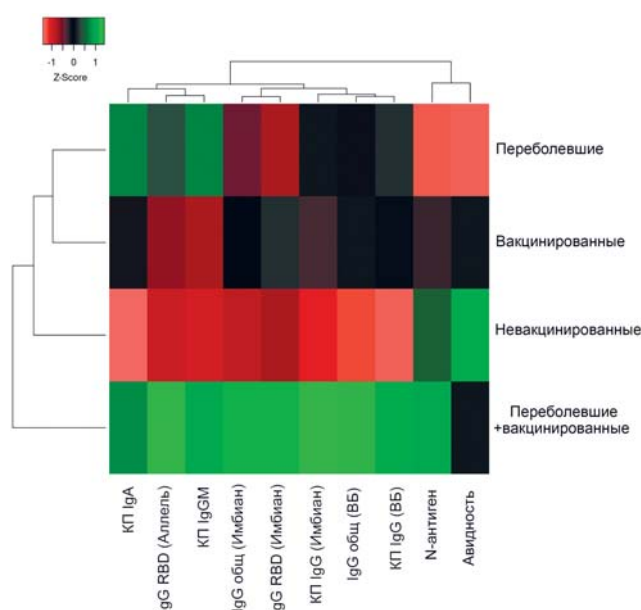


Рис. 2. Сравнение эффективности параметров гуморального иммунитета в изученных группах.

Примечание. ВБ — компания «Вектор БЕСТ»; КП — коэффициент позитивности.

Fig. 2. Comparison of the effectiveness of the humoral immunity parameters in the studied groups.

Note: WB — Vector BEST Company; KP — coefficient of positivity.

ологической ситуации относительно COVID-19, что планируется выполнить в дальнейших исследованиях. Параметры уровней иммуноглобулинов могут варьировать в зависимости от ряда факторов, таких как наличие в анамнезе сопутствующих заболеваний, возрастных особенностей, курения, приема медикаментов. Вклад данных факторов не был изучен в представленной работе.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В ходе исследования проведены измерения некоторых показателей гуморального иммунитета, доступных для исследования с помощью коммерчески доступных наборов реагентов для ИФА — IgA, IgM, IgG (суммарные к различным участкам SARS-CoV-2, S-белку и его RBD-фрагменту), авидности IgG и уровня N-антигена SARS-CoV-2. Исследование показало, что уровень суммарных IgG наиболее высокий у вакцинированных лиц, перенесших COVID-19, в сравнении с перенесшими инфекцию и вакцинированными.

В целом, полученные нами данные по уровню иммуноглобулинов COVID-19 свидетельствуют о различном профиле гуморального ответа при вакцинации и перенесенной инфекции COVID-19, а также подтверждают полученные ранее данные

о совокупности факторов иммунитета, участвующих в иммунном ответе на SARS-CoV-2.

Выбор однозначного маркера иммунитета к COVID-19 затруднителен, поскольку будет определяться его видом (поствакцинальный или постинфекционный) и оценкой контакта с возбудителем (недавний или отдаленный). Для быстрой оценки иммунного ответа на перенесённую и текущую инфекцию COVID-19, а также для выявления поствакцинального иммунитета целесообразно использовать общий уровень IgG к SARS-CoV-2. Для более глубокой оценки профилактического иммунитета и выработки защитных антител целесообразно оценивать количественное содержание IgG к S-белку и его RBD-фрагменту.

Таким образом, формирование электронного сертификата COVID-19 лишь по одному из показателей без учета остальных нецелесообразно и зачастую не отображает реального состояния иммунитета.

ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Вклад авторов. Я.Д. Шанский, А.В. Господарик — получение данных для анализа и их анализ, написание текста рукописи, обзор публикаций по теме статьи; С.С. Есиев, Л.А. Улаханова — написание текста рукописи, обзор публикаций по теме статьи; А.В. Комарова, А.С. Серкина, Л.В. Плотникова — получение данных для анализа, Ю.А. Беспятых — концепция исследования, финальное редактирование текста рукописи. Авторы подтверждают соответствие своего авторства международным критериям ICMJE (все авторы внесли существенный вклад в разработку концепции, проведение исследования и подготовку статьи, прочли и одобрили финальную версию перед публикацией).

Author contribution. Ya.D. Shansky, A.V. Gospodarik — data acquisition and analysis, literature review, manuscript writing; S.S. Esiev, L.A. Ulahanova — literature review, manuscript writing; A.V. Komarova, A.S. Serkina, L.V. Plotnikova — data acquisition, J.A. Bespyatykh — study concept, final manuscript editing. The authors made a substantial contribution to the conception of the work, acquisition, analysis, interpretation of data for the work, drafting and revising the work, final approval of the version to be published and agree to be accountable for all aspects of the work.

Источник финансирования. Научное исследование проведено при поддержке гранта Президента Российской Федерации (грант № МК-2988.2022.3).

Funding source. This work was supported by the grant of the President of Russian Federation (grant МК-2988.2022.3).

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Competing interests. Authors declare that they have no competing interests.

Благодарности. Авторы выражают благодарность ООО «ИМБИАН ЛАБ» и ООО НПФ «Литех» и их сотрудникам за содействие в проведении исследования и предоставление коммерческих наборов.

Acknowledgments. The authors are grateful to IMBIAN LAB LLC and Litekh LLC as well as their employees for assistance in conducting the study and providing commercial kits.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Маянский Н.А., Бржозовская Е.А., Стоянова С.С., и др. Динамика концентрации антител к SARS-CoV-2 в течение 12 месяцев после перенесенной инфекции COVID-19 // *Вестник Российского государственного медицинского университета*. 2022. № 1. С. 11–13. [Mayansky NA, Brzhozovskaya EA, Stoyanova SS, et al. Dynamic changes in the concentration of anti-SARS-CoV-2 antibodies within 12 months after recovery from COVID-19. *Bulletin of Russian state medical university*. 2022;(1):11–13. (In Russ).] doi: 10.24075/vrgmu.2022.007
2. Kim Y., Lee J.H., Ko G.Y., et al. Quantitative SARS-CoV-2 spike antibody response in COVID-19 patients using three fully automated immunoassays and a surrogate virus neutralization test. *Diagnostics*. 2021;11:1496. doi: 10.3390/diagnostics11081496
3. Yuan H, Chen P, Wan C, et al. Merging microfluidics with luminescence immunoassays for urgent point-of-care diagnostics of COVID-19. *TrAC Trends Anal Chem*. 2022;157: 116814. doi: 10.1016/J.TRAC.2022.116814.
4. Drain PK, Ampajwala M, Chappel C, et al. A rapid, high-sensitivity SARS-CoV-2 nucleocapsid immunoassay to aid diagnosis of acute COVID-19 at the point of care: A clinical performance study. *Infect Dis Ther*. 2021;10:753–761. doi: 10.1007/S40121-021-00413-X/FIGURES/2
5. Приказ Министерства здравоохранения Российской Федерации от 4 февраля 2022 г. N 58н «О внесении изменений в приложения N 3 и N 4 к приказу Министерства здравоохранения Российской Федерации от 12.11.2021 N 1053н "Об утверждении формы медицинской документации "Справка о проведенных профилактических прививках против новой коронавирусной инфекции (COVID-19) или наличии медицинских противопоказаний к вакцинации" и порядка ее выдачи, формы медицинской документации "Медицинский сертификат о профилактических прививках против новой коронавирусной инфекции (COVID-19) или медицинских противопоказаниях к вакцинации и (или) перенесенном заболевании, вызванном новой коронавирусной инфекцией (COVID-19)" и (или) перенесенном заболевании, вызванном новой коронавирусной инфекцией (COVID-19)". [The order of the Ministry of Health of the Russian Federation "O vneseniiy izmeneniy v prilozheniya N 3 i N 4 k prikazu Ministerstva zdravookhraneniya Rossiyskoy Federatsii

- от 12.11.2021 N 1053n "Ob utverzhdenii formy meditsinskoj dokumentatsii "Spravka o provedennykh profilakticheskikh privivkakh protiv novoy koronavirusnoy infektsii (COVID-19) ili nalichii meditsinskikh protivopokazaniy k vaksinatcii" i poryadka yeye vydachi, formy meditsinskoj dokumentatsii "Meditsinskiy sertifikat o profilakticheskikh privivkakh protiv novoy koronavirusnoy infektsii (COVID-19) ili meditsinskikh protivopokazaniy k vaksinatcii i (ili) perenesennom zabolevanii, vyzvannom novoy koronavirusnoy infektsiyei (COVID-19) i poryadka yeye vedeniya, a takzhe formy "Sertifikat o profilakticheskikh privivkakh protiv novoy koronavirusnoy infektsii (COVID-19) ili meditsinskikh protivopokazaniy k vaksinatcii i (ili) perenesennom zabolevanii, vyzvannom novoy koronavirusnoy infektsiyei (COVID-19)". (In Russ.)] Режим доступа: <http://publication.pravo.gov.ru/Document/View/0001202202080016>. Дата обращения: 18.01.2023.
6. Баклаушев В.П., Юсубалиева Г.М., Бычинин М.В., и др. Рациональная стратегия поддержания противовирусного иммунитета к новым вариантам SARS-CoV-2 // *Клиническая практика*. 2022. Т. 13, № 3. С. 43–55. [Baklaushev VP, Yusubalieva GM, Bychinin MV, et al. A rational strategy for the maintenance of antiviral immunity to new SARS-CoV-2 strains. *Journal of Clinical Practice*. 2022;13(3):43–55. (In Russ.)] doi: 10.17816/clinpract111120
 7. Временные методические рекомендации «Профилактика, диагностика и лечение новой коронавирусной инфекции (COVID-19). Версия 17 (14.12.2022)» (утв. заместителем Министра здравоохранения Российской Федерации А.Н. Плутницким). [Vremennyye metodicheskiye rekomendatsii «Profilaktika, diagnostika i lecheniye novoy koronavirusnoy infektsii (COVID-19). V. 17 (14.12.2022)» (utv. zamestitelem Ministra zdavookhraniya Rossijskoi Federatsii A.N. Plutnitskim). (In Russ.)] Режим доступа: <https://normativ.kontur.ru/document?moduleId=1&documentId=438135>. Дата обращения: 18.01.2023.
 8. Zhou Y, Chen Y, Liu W, et al. Development of a rapid and sensitive quantum dot nanobead-based double-antigen sandwich lateral flow immunoassay and its clinical performance for the detection of SARS-CoV-2 total antibodies. *Sensors Actuators B Chem*. 2021;343:130139. doi: 10.1016/J.SNB.2021.130139
 9. Hajazadeh F, Khanzadeh S, Khodadadi H, et al. SARS-COV-2 RBD (Receptor binding domain) mutations and variants (A sectional-analytical study). *Microb Pathog*. 2022;168:105595. doi: 10.1016/J.MICPATH.2022.105595
 10. Heggstad JT, Kinnammon DS, Olson LB, et al. Multiplexed, quantitative serological profiling of COVID-19 from blood by a point-of-care test. *Sci Adv*. 2021;7:4901–4926. doi: 10.1126/SCIADV.ABG4901/.
 11. Gan HH, Zinno J, Piano F, Gunsalus KC. Omicron spike protein has a positive electrostatic surface that promotes ACE2 recognition and antibody escape. *Front Virol*. 2022;2:43. doi: 10.3389/FVIRO.2022.894531
 12. Zhuo R, Charlton C, Plitt S, et al. Comparison of SARS-CoV-2 spike antibody quantitative titer reporting using the World Health Organization International Standard Units by four commercial assays. *Journal of Clinical Virology*. 2022;(156):105292. doi: 10.1016/j.jcv.2022.105292
 13. Liao B, Chen Z, Zheng P, et al. Detection of anti-SARS-CoV-2-S2 IgG is more sensitive than anti-RBD IgG in identifying asymptomatic COVID-19 patients. *Front Immunol*. 2021;12:724763. doi: 10.3389/fimmu.2021.724763
 14. Xiao K, Yang H, Liu B, et al. Antibodies can last for more than 1 year after SARS-CoV-2 infection: A follow-up study from survivors of COVID-19. *Front Med*. 2021;8:967. doi: 10.3389/fmed.2021.684864
 15. Генералова Л.В., Григорьев И.В., Васина Д.В., и др. Свойства антител к RBD у переболевших COVID-19 и вакцинированных препаратом «Спутник V» // *Вестник Российской государственной медицинской академии*. 2022. № 1. С. 15–22. [Generalova LV, Grigor'yev IV, Vasina DV, et al. Properties of RBD specific IgG from COVID-19 patients and Sputnik V vaccinated individuals. *Bulletin of Russian state medical university*. 2022;(1):15–22. (In Russ.)] doi: 10.24075/vrgmu.2022.005

ОБ АВТОРАХ

Автор, ответственный за переписку:

Шанский Ярослав Дмитриевич, к.б.н., н.с.;
адрес: Россия, 119435, Москва,
ул. Малая Пироговская, д. 1А;
e-mail: yar.shansky@rcpcm.org; eLibrary SPIN: 7640-5940;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4672-2474>

Соавторы:

Господарик Алина Владимировна, к.б.н., н.с.;
e-mail: alina.gospodaryk@rcpcm.org

Комарова Анастасия Валерьевна, м.н.с.;
e-mail: komaanasta@yandex.ru; eLibrary SPIN: 3694-1084

Есиев Сулейман Сергеевич;
e-mail: kap20081@gmail.com; eLibrary SPIN: 9593-2893

Улаханова Людмила Алексеевна, м.н.с.;
e-mail: ulahanova@mail.ru; eLibrary SPIN: 6284-8699

Серкина Анна Сергеевна;
e-mail: anny.serkina@yandex.ru

Плотникова Людмила Владимировна, студент-магистр;
e-mail: ntmdfs@gmail.com

Беспярых Юлия Андреевна, к.б.н., доцент;
e-mail: JuliaBes@rcpcm.org; eLibrary SPIN: 6003-9246;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4408-503X>

AUTHORS' INFO

The author responsible for the correspondence:

Yaroslav D. Shansky, PhD, Research Associate;
address: 1A Malaya Pirogovskaya street,
119435 Moscow, Russia;
e-mail: yar.shansky@rcpcm.org; eLibrary SPIN: 7640-5940;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4672-2474>

Co-authors:

Alina V. Gospodarik, PhD, Research Associate;
e-mail: alina.gospodaryk@rcpcm.org

Anastacia V. Komarova, Junior Research Associate;
e-mail: komaanasta@yandex.ru; eLibrary SPIN: 3694-1084

Sulejman S. Esiev;
e-mail: kap20081@gmail.com; eLibrary SPIN: 9593-2893

Ludmila A. Ulakhanova, Junior Research Associate;
e-mail: ulahanova@mail.ru; eLibrary SPIN: 6284-8699

Anna S. Serkina;
e-mail: anny.serkina@yandex.ru

Lyudmila V. Plotnikova, 2nd year master's student;
e-mail: ntmdfs@gmail.com

Julia A. Bespyatykh, PhD, Assistant Professor;
e-mail: JuliaBes@rcpcm.org; eLibrary SPIN: 6003-9246;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4408-503X>