## ИММУНОЛОГИЯ

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2022

Акиншина Ю.А.[1], Марданлы С.Г.[1, 2, 3], Ротанов С.В.[1, 4], Помазанов В.В.[1, 3], Киселева В.А.[3], Ермолаев И.И.[1]

# ОСОБЕННОСТИ ГУМОРАЛЬНОГО ИММУННОГО ОТВЕТА НА ВАКЦИНАЦИЮ «ГАМ-КОВИД-ВАК» И У ПЕРЕБОЛЕВШИХ COVID-19

[1]ЗАО «ЭКОлаб», 142530, г. Электрогорск, Россия;
[2]ФГАОУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет им. И. М. Сеченова» Минздрава РФ (ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И. М. Сеченова Минздрава РФ),119991, Москва, Россия;
[3]ГОУВО МО «Государственный гуманитарно-технологический университет» (ГОУ ВО МО «ГГТУ»),142611, г. Орехово-Зуево, Россия;
[4]ГБУЗ МО «Люберецкий кожно-венерологический диспансер» (ГБУЗ МО «ЛКВД»), 140013, г. Люберцы, Россия

*Представлены результаты обследования лиц, прошедших иммунизацию комбинированной векторной вакциной для профилактики коронавирусной инфекции COVID-19 «Спутник V – «Гам-КОВИД-Вак», рековалесцентов COVID-19. С помощью количественного иммуноферментного анализа определены уровни специфических IgG у лиц, переболевших до вакцинации в разной степени тяжести, у иммунонегативных до иммунизации лиц, у реконвалесцентов, перенесших коронавирусную инфекцию разной степени тяжести. Рассмотрена иммунная направленность антител против разных белков SARS-CoV-2.*

Ключевые слова: *иммунохроматография; иммуноферментный анализ; SARS-CoV-2; COVID-19; коронавирус.*

**Для цитирования**: Акиншина Ю.А., Марданлы С.Г., Ротанов С.В., Помазанов В.В, Киселева В.А., Ермолаев И.И. Особенности гуморального иммунного ответа на вакцинацию «Гам-КОВИД-Вак» и у переболевших COVID-19. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2022; 67 (4): 227-233. DOI: http://dx.doi.org/10.51620/0869-2084-2022-67-4-227-233

**Для корреспонденции**: *Акиншина Юлия Александровна*, руководитель научно-производственного отдела ИХТС ЗАО «ЭКОлаб»; e-mail: akinshina.opr@mail.ru

**Финансирование.** *Исследование не имело спонсорской поддержки.*
**Конфликт интересов.** *Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.*

Поступила 15.03.2022
Принята к печати 21.03.2022
Опубликовано 17.04.2022

*Akinshina Yu.A.[1], Mardanly S.G.[1, 2, 3], Rotanov S.V.[1, 4], Pomazanov V.V.[1, 4], Kiseleva V.A.4, Ermolaev I.I.[1].*

FEATURES OF THE HUMORAL RESPONSE TO IMMUNIZATION «GAM-COVID-VAC» AND IN PATIENTS WITH COVID-19

[1]CJSC «EKOlab», 142530, Elektrogorsk, Russia;
[2]«First Moscow State Medical University after I. M. Sechenov» of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation (1st MSMU after I. M. Sechenov), 119991, Moscow, Russia;
[3]State educational institution of higher education of the Moscow region «State Humanitarian University of Technology» (GGTU), 142611, Orekhovo-Zuyevo, Russia;
[4]State budgetary healthcare institution of Moscow region «Liuberetskiy kozhno-venerologicheskiy dispanser», 140013, Liubertsy, Russia

*The paper present the results of a survey of people who have undergone immunization with a combined vector vaccine for the prevention of coronavirus infection COVID-19 «Sputnik V – Gam-COVID-Vac», as well as COVID-19 recovalents. Using a quantitative enzyme-linked immunosorbent assay, the levels of specific IgG were determined in persons who had had different degrees of severity before vaccination, in persons who were immuno-negative before immunization, as well as in convalescents who had undergone coronavirus infection of varying severity. The immunological targeting of antibodies against various SARS-CoV-2 proteins is considered.*

Key words: *immunochromatographic assay; enzyme-linked immunosorbent assay; SARS-CoV-2; COVID-19; coronavirus.*

**For citation:** Akinshina Yu. A., Mardanly S. G., Rotanov S. V., Pomazanov V. V., Kiseleva V. A., Ermolaev I.I. Features of the humoral response to immunization “Gam-COVID-Vac” and in patients with COVID-19. *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika (Russian Clinical Laboratory Diagnostics)*. 2022; 67 (4): 227-233 (in Russ.). DOI: http://dx.doi.org/10.15620/0869-2084-2022-67-4-227-233

**For correspondence**: *Akinshina Yuliya Aleksandrovna*, specialist of the Innovative Development Department CJSC «EKOlab»; e-mail: akinshina.opr@mail.ru

**Information about authors:**

Akinshina Yu.A., https://orcid.org/0000-0002-9223-3455;
Mardanly S.G., https://orcid.org/0000-0002-4556-135X;
Rotanov S.V., https://orcid.org/0000-0002-3222-1401;
Pomazanov V.V., https://orcid.org/0000-0002-7336-9912;
Kiseleva V.A., https://orcid.org/0000-0003-3565-1981;
Ermolaev I.I., https://orcid.org/0000-0003-0982-3970.

**Conflict of interests**. *The authors declare the absence of conflict of interests.*
**Acknowledgment.** *The study had no sponsor support.*

Received 15.03.2022
Accepted 21.03.2022
Published 17.04.2022

***Введение.*** Тестирование населения на антитела к SARS-CoV-2 продолжает играть важную роль в управлении пандемией COVID-19. Обнаружение специфических антител к антигенам SARS-CoV-2 необходимо как на индивидуальном, так и на популяционном уровне для выявления лиц, подверженных риску заражения [1]. Во время всеобщей вакцинации, к серологическому обследованию населения добавляется ещё одна важная задача: количественное определение уровня специфических антител после активной иммунизации [2,3]. Это необходимо для оценки клинической и эпидемиологической эффективности применяемых вакцин, разработки новых их вариантов, для последующего персонифицированного наблюдения за вакцинированными лицами. Ввиду своей доступности и относительно хорошей стандартизуемости, серологические тесты по выявлению антител к антигенам SARS-CoV-2 сохраняют свое значение как ценные диагностические инструменты [5].

Первые иммуноферментные тест-системы (ИФТС) по выявлению антител к SARS-CoV-2 разработаны для дифференцирования лиц, уже перенесших COVID-19, и имеющих иммунную защиту, от тех, кто может быть подвержен заражению [6]. Данные иммунологические тесты разработаны преимущественно как качественные, а не количественные. Разработчики ИФТС ставили перед собою задачи достижения максимально возможной специфичности и высокой чувствительности. Высокая специфичность незаменима, особенно в начале пандемии, поскольку чрезвычайно низкие уровни распространённости серотипа привели к множеству ложноположительных результатов обследования в тест-системах с невысокой специфичностью [7]. Высокоспецифичные ИФТС не обладали достаточной чувствительностью, что вело к усложнению диагностики бессимптомных и лёгких случаев заболевания, состояния естественной элиминации антител [8-14].

Для изготовления диагностических ИФТС использованы различные антигены на основе нуклеокапсидных и спайковых белков [15]. Антитела против нуклеокапсидных антигенов SARS-CoV-2 у большинства инфицированных этим вирусом лиц индуцируются рано и интенсивно благодаря их выраженной иммуногенности [16]. Путём направленной модификации антигена нуклеокапсида в составе ИФТС, может быть достигнута очень высокая специфичность результатов, даже при исследовании образцов, содержащих антитела к близкородственным вирусам. Следовательно, дискриминационные свойства определения антител на основе антигенов нуклеокапсида могут иметь высокую клиническую диагностическую и прогностическую ценность [17, 18]. С другой стороны, физиологическое значение этих антител не до конца ясно.

Антитела, реагирующие со спайковым белком (S), действуют иначе. Часть S-связывающих антител способна выполнять функцию вируснейтрализующих антител [19]. Это подтверждают многочисленные исследования корреляции между результатами выявления S-специфичных антител и результатами реакции нейтрализации [20-25].

В контексте применения вакцин против SARS-CoV-2 эти вируснейтрализующие антитела имеют первостепенное значение. Основная цель активной иммунизации – индуцировать выработку вируснейтрализующих антител, специфичных для SARS-CoV-2, которые на самых начальных этапах предотвращают проникновение вируса в чувствительные клетки организма, останавливают системное распространение инфекции, предотвращают манифестацию заболевания [26].

Функциональные исследования в реакции нейтрализации не могут широко применяться для определения уровня *spike*-специфичных антител в крови, поскольку основаны на использовании культур живых вирусов в лабораториях 2 уровня биологической безопасности [27, 28]. Для массового скрининга незаменимым инструментом диагностики должны стать классические лабораторные исследования, позволяющие выявлять и измерять количество антител в сыворотке/плазме к определённым антигенам возбудителя; эти тесты должны выполняться достаточно быстро и с высокой пропускной способностью.

Использование *spike*-белков в качестве иммуносорбентов для диагностических лабораторных исследований на основе иммуноферментного анализа (ИФА) играет важную роль в оценке напряжённости гуморального иммунитета пациентов, в изучении и длительном мониторинге клинической эффективности вакцин.

***Материал и методы.*** Исследовано 145 образцов сывороток крови людей. Из них 17 образцов получены от лиц, иммунизированных против новой коронавирусной инфекции вакциной «Спутник V – «Гам-КОВИД-Вак» (разработанной Национальным исследовательским центром эпидемиологии и микробиологии имени Н. Ф. Гамалеи), и 128 сывороток, предоставленных от переболевших COVID-19 в бессимптомной или манифестной форме (Диагностический центр «El Clinic», г. Электрогорск).

Использована тест-система иммуноферментная выявления антител класса IgG к SARS-CoV-2 «ИФА-SARS-CoV-2-AT-G. Количественный» (ЗАО «ЭКОлаб»; РУ № РЗН 2021/15302 от 14.09.2021), серия № 01, серия № 02 предназначенная для количественного выявления

антител класса G (IgG) к коронавирусу 2 типа, вызывающему COVID-19, в сыворотке (плазме) крови человека методом иммуноферментного анализа (ИФА) на твёрдофазном носителе при «ручной» постановке и с использованием ИФА-анализаторов. Указанный набор реагентов предназначен для оценки гуморального иммунитета при текущей или перенесенной инфекции COVID-19 и в различные сроки после вакцинации.

При наличии в исследуемом образце антител класса IgG к SARS-CoV-2 происходит связывание их с антигеном, сорбированным в лунках планшета-иммуносорбента, образовавшийся комплекс «антиген-антитело» реагирует с внесённым в реакционную среду раствором конъюгата – антителами к IgG человека, меченными пероксидазой хрена. Образовавшийся комплекс «антиген-антитело-конъюгат» выявляется в реакции с раствором индикаторным, содержащим хромоген – тетраметилбензидин (ТМБ), в результате которой меняется цвет (оптическая плотность) реакционной смеси в лунке планшета; изменение регистрируется спектрофотометрически. Интенсивность окрашивания прямо пропорциональна количеству антител в образце.

Концентрацию антител класса G к SARS-CoV-2 в исследуемых образцах сыворотки (плазмы) крови человека определяют по калибровочному графику зависимости оптической плотности от содержания антител класса IgG к SARS-CoV-2 в калибровочных пробах.

Тест-система иммуноферментная для выявления антител класса IgM к SARS-CoV-2 «ИФА-SARS-CoV-2-АТ-М» (ЗАО «ЭКОлаб»; № РЗН 2020/13045 от 25.12.2020). Набор реагентов предназначен для качественного выявления видоспецифических антител класса М (IgM) к коронавирусу 2 типа (SARS-CoV-2) в сыворотке (плазме) крови человека методом ИФА на твёрдофазном носителе при «ручной» постановке и с использованием ИФА-анализаторов.

Определение IgM, специфичных к SARS-CoV-2, базируется на принципе «IgM-захвата» (формат *«capture»*) с двухэтапной инкубацией. В лунках иммунологического планшета сорбированы моноклональные антитела мыши к IgM человека. Во время первого этапа инкубации, присутствующие в исследуемых образцах IgM связываются с моноклональными антителами на твёрдой фазе в лунках ИФА-планшета. После отмывания компонентов, не вступивших в реакцию, в лунки добавляют смесь конъюгатов рекомбинантных антигенов вируса SARS-CoV-2 с пероксидазой хрена, которые взаимодействуют со специфическими IgM в составе иммунных комплексов на иммуносорбенте твёрдой фазы. Несвязанные компоненты вновь удаляются во время отмывания. Сложные иммунные комплексы выявляют добавлением в лунки раствора индикаторного, содержащего ТМБ, в результате чего меняется цвет (оптическая плотность) реакционной смеси. Интенсивность окрашивания пропорциональна количеству IgM к SARS-CoV-2 в образце. После остановки реакции добавлением стоп-реагента результаты определения регистрируются путём измерения оптической плотности на спектрофотометре.

Тест-система иммуноферментная для выявления антител класса IgG к антигенам SARS-CoV-2 методом иммунного блоттинга с использованием рекомбинантных антигенов «Лайн-Блот SARS-CoV-2-IgG» разработана ЗАО «ЭКОлаб» и используется для исследовательских целей.

Набор реагентов предназначен для дифференцированного выявления специфических антител класса IgG к белкам SARS-CoV-2: нуклеопротеину N, белку шипа S, мембранному и оболочечному с целью определения гуморального иммунного статуса пациента. Тест-полоски представляют собой стрипы из нитроцеллюлозной мембраны, на каждую из которых в виде поперечных линий нанесены рекомбинантные аналоги антигенов вышеуказанных белков, и три контрольные линии: с минимальной и (на «0,5+» условных единиц по системе четырёх плюсов), средней интенсивностью окрашивания («2,0+») и линия контроля внесения исследуемого образца (Кво). Линия «0,5+» соответствует критическому уровню для учёта интенсивности окрашивания. Нанесённые на стрипы антигены визуально не определяются.

При наличии в исследуемом образце специфических к какому-либо белку антител к SARS-CoV-2 они связываются с антигенами иммуносорбента. Образовавшиеся комплексы антиген-антитело связываются с конъюгатом – антителами козы к IgG человека, меченными щелочной фосфатазой, и выявляются по цветной реакции с хромогеном, которая приводит к появлению в соответствующих зонах стрипа окрашенных линий (формазонов). Интенсивность окрашивания формазонов пропорциональна содержанию соответствующих IgG в исследуемой пробе.

Работа выполнена на основе опыта исследований, накопленного в ЗАО «ЭКОлаб» при создании и производстве иммуноферментных тест-систем для диагностики ряда бактериальных и вирусных инфекций [30-33]. Работа является очередной в цикле исследований, посвящённых серодиагностике COVID-19 и начатых разработкой ИФТС для выявления специфических IgG к возбудителю этой инфекции [34].

***Результаты.*** При исследовании сывороток крови 17 лиц, впоследствии прошедших иммунизацию комбинированной векторной вакциной для профилактики коронавирусной инфекции COVID-19 «Спутник V – «Гам-КОВИД-Вак», установлено, что 8 человек не имели анамнестических указаний на контакт с возбудителем новой коронавирусной инфекции или перенесенную инфекцию в скрытой форме, и в образцах их крови на начальном этапе антитела класса G к антигенам этого патогена не обнаружены, 9 человек имели контакт с вирусом SARS-CoV-2 до начала вакцинации, так как сыворотка их крови содержала специфические антитела (IgG) (реконвалесценты).

В соответствии с регламентирующими документами к препарату «Спутник V – «Гам-КОВИД-Вак», вакцинацию проводили в 2 этапа (в 0 и 21-й день). При этом все пациенты оба компонента вакцины перенесли удовлетворительно без выраженных осложнений или нежелательных реакций.

У всех 8 человек, в крови которых в начале исследования антитела не обнаруживались, при обследовании на 29-79 дни после вакцинации установлено появление специфических антител (IgG) к SARS-CoV-2. Максимальные уровни IgG составили 77-2160 BAU/мл; средние показатели M±m = 548,5±491,1 BAU/мл (табл. 1).

Трое пациентов этой группы дополнительно обследованы на 49-85-й дни после начала вакцинации, у всех отмечено повышение концентрации специфических антител в крови в 1,6-3,7 раза, что свидетельствует о

Таблица 1

**Уровень антител (IgG) у лиц с исходно серонегативными показателями после их иммунизации вакциной «Гам-КОВИД-Вак»**

| Пациенты | Дни обследования после начала иммунизации | Уровень антител (BAU/мл) | Кратность повышения уровня антител |
|---|---|---|---|
| 1 | 29 | 116 | - |
| | 49 | 420 | 3,7 |
| 2 | 36 | 137 | - |
| | 85 | 400 | 2,9 |
| 3 | 49 | 320 | - |
| 4 | 43 | 156 | - |
| 5 | 55 | 49 | - |
| | 74 | 77 | 1,6 |
| 6 | 55 | 580 | - |
| 7 | 79 | 870 | - |
| 8 | 55 | 2160 | - |

продолжающемся гуморальном иммунном ответе в эти сроки. Другие пациенты за дополнительным обследованием не обращались.

При изучении данных анамнеза и исследования крови 9 пациентов, имевших антитела (IgG) к SARS-CoV-2 уже до вакцинации, установлено, что 5 человек болели COVID-19 практически бессимптомно (трое – за 5 мес до вакцинации и уровень IgG на начальном этапе перед вакцинацией у них составил 51, 54, 127 BAU/мл; один – за 4 мес и уровень IgG – 67 BAU/мл; один – за 2,5 мес и уровень антител – 880 BAU/мл); 4 человека перенесли заболевание с характерными симптомами лёгкой и средней тяжести в виде ОРВИ-подобного клинического проявления с аносмией и/или утратой ощущения вкуса еды (у двух пациентов с давностью заболевания 9 и 12 мес антитела класса IgG в крови не выявлены, у 2-х других – через 8 и 12 мес определены 23 и 67 BAU/мл, соответственно) (табл. 2).

Во всех случаях после введения 1-й и 2-й доз вакцины наблюдалось нарастание уровня антител в крови. У лиц с бессимптомным течением первоначального инфицирования коронавирусом после первого компонента вакцины (через 20-21 день) концентрация специфических IgG в крови возрастала в 3,0-6,3 раза, после второго компонента (в сроки 49-55 дней от начала иммунизации) – в 1,5-24,6 раза (итого в среднем в 11,7±9,7 раза). Максимальные показатели содержания антител у вакцинированных реконвалесцентов со скрытым течением предшествовавшего заболевания варьировали в интервале 163-3120 BAU/мл (средние показатели M±m составили 1238,6±785,1 BAU/мл). У одного пациента, чья кровь исследована через 20 и 120 дней, наблюдался спад напряжённости гуморального иммунитета с уровня 163 до 120 BAU/мл, что могло быть обусловлено индивидуально низким иммунным ответом с последующей естественной элиминацией антител.

Содержание специфических IgG у вакцинированных реконвалесцентов с клиническими проявлениями лёгкой и средней тяжести после вакцинации через 53-62 дня повышалось в 7,1-91,5 раз (в среднем в 53,7±24,4 раза) до максимальных значений 420-

Таблица 2

**Уровень специфических антител (IgG) в сыворотке крови реконвалесцентов COVID-19 до и после иммунизации вакциной «Гам-КОВИД-Вак»**

| Пациенты | Форма перенесенной COVID-19 | Срок после болезни до вакцинации, мес | Уровень антител до вакцинации, BAU/мл | Дни исследования после начала вакцинации | Уровень антител, BAU/мл | Кратность повышения уровня антител |
|---|---|---|---|---|---|---|
| 9 | Бессимптомная | 4 | 67 | 21 | 420 | 6,3 |
| 10 | | 5 | 51 | 49 | 1170 | 22,9 |
| 11 | | 2,5 | 880 | 55 | 1320 | 1,5 |
| 12 | | 5 | 54 | 20 | 163 | 3,0 |
| | | | | 120 | 130 | 2,4 |
| 13 | | 5 | 127 | 55 | 3120 | 24,6 |
| 14 | Манифестная | 12 | 0 | 53 | 4840 | 91,5 |
| 15 | | 9 | 0 | 59 | 420 | 7,1 |
| 16 | | 12 | 67 | 55 | 3560 | 64,7 |
| 17 | | 8 | 23 | 62 | 3200 | 51,6 |

Концентрация IgG у реконвалесцентов COVID-19.

4840 BAU/мл (средние показатели M±m составили 3005,0±1292,5 BAU/мл).

Отмечено, что у лиц, перенесших COVID-19 с выраженными симптомами средней и лёгкой степени тяжести, иммунный ответ на вакцину статистически достоверно (t >0,05) значительно более выражен по сравнению с лицами, переболевшими бессимптомно, и обе эти группы показывали более выраженный гуморальный иммунный ответ на введение вакцины по отношению к лицам с исходно интактным к SARS-CoV-2.

Данные исследования могут помочь в решении проблемы первичной или бустерной вакцинации лиц, переболевших COVID-19, или ранее успешно вакцинированных в отношении возбудителя этой инфекции, в крови которых ещё поддерживается определяемый уровень антител. Сомнения в целесообразности проведения вакцинации в подобных случаях основывались на возможности снижения иммуногенности материала вакцины за счёт нейтрализующего воздействия циркулирующих в крови специфических антител. Нами показана достаточно высокая эффективность вакцинации у этих лиц и статистически достоверный более высокий уровень гуморального иммунного ответа.

Для изучения специфической направленности антител у переболевших COVID-19 людей (в разных формах проявления), образцы их крови изучены методом линейного иммунного блоттинга с использованием 4 рекомбинантных антигенов в составе иммуносорбента набора реагентов «Лайн-Блот SARS-CoV-2-IgG». У переболевших лиц в крови до иммунизации в 100% случаев выявлялись антитела к нуклеопротеину и RBD домену S-белка (в 100%). Антитела к мембранному и оболочечному антигенам выявлялись с незначительной разницей у лиц, перенесших бессимптомную инфекцию: 33,3% и 37,5%, соответственно, и с ОРВИ-подобной клиникой: в 34,4% и 28,1%, соответственно.

У привитых с исходным отсутствием иммунитета к SARS-CoV-2 в реакции линейного иммунного блоттинга выявлены специфические IgG только к RBD домену S-белка. В основе вакцины «Гам-КОВИД-Вак» использован аденовирусный вектор со встроенным в него фрагментом генетического материала SARS-CoV-2, кодирующим информацию о структуре S-белка шипа вируса, и целью иммунизации является выработка антител к S белку.

Исследование содержания специфических IgM в сыворотке крови иммунизированных лиц, показали, что у 6 человек (3,5%) обнаружены эти антитела, у 5 больных присутствие антител обусловлено длительной постинфекционной персистенцией их в крови, причём после иммунизации их уровень продолжал снижаться. У одного пациента (№ 5), не имеющего в анамнезе COVID-19, обнаружены антитела после вакцинации при исследовании сыворотки крови на 55-й день после начала иммунизации, но на уровне порогового значения. Можно предположить, что при иммунизации IgM вырабатываются короткий период.

Исследованы сыворотки переболевших COVID-19 в бессимптомной форме (*n*=52), в лёгкой форме (преимущественно аносмия, температура 1-2 дня (t=37$^0$ C), с респираторными проявлениями, стойкой температурой выше 38$^0$ C в течение нескольких дней (t=39$^0$ C). При оценке уровня антител у этих больных стало очевидно, что тяжесть заболевания нередко коррелирует с уровнем антител. Согласно данным литературы, уровень антител 150 BAU/ml и выше обеспечивает защиту от инфицирования SARS-CoV-2. В группе бессимптомно перенесших заболевание 12 человек (23,1%) имели уровень антител выше этого значения, в группе переболевших в лёгкой форме – 10 человек (27%), в группе больных с ОРВИ-подобным течением – 28 человек до (71,8%) (см. рисунок). У всех переболевших наблюдался иммунный ответ на N и RBD домена S белка. К оболочечному и мембранному белку наблюдался иммунный ответ у бессимптомно переболевших – 17,3% и 19,2%, соответственно. У переболевших в лёгкой форме – 5,4% и 13,5%, у переболевших из третьей группы – 17,9% и 15,4%, соответственно.

***Обсуждение.*** Тесты для детекции антител к SARS-CoV-2 становятся важным инструментом при оценке иммунного статуса лиц, затронутых COVID-19, и выявления тех, кто всё ещё находится в группе риска заражения. С началом всеобщей вакцинации важное значение отводится серологическим тестам с количественной оценкой результата. Показано, что наибольшие уровни антител вырабатываются у реконвалесцентов COVID-19 с ОРВИ-подобным течением, иммунизированных позднее «Гам-КОВИД-Вак», однако, и у серонегативных пациентов в ответ на вакцинацию вырабатывается стойкий иммунитет.

При иммунизации выработанные антитела специфичны к белку шипа S, при инфекции – к белку нуклеокапсида SARS-CoV-2, к остальным белкам вируса, по нашим данным, антитела не продуцируются, либо появ-

ляются в незначительных количествах, таким образом, эти белки не имеют диагностического значения.

Исследования, включающие лиц переболевших COVID-19 разной степени тяжести, показали, что тяжесть, характер течения заболевания часто коррелирует с уровнем постинфекционных IgG.

***Заключение.*** Показана возможность более обширного исследования с использованием количественного ИФА для решения вопроса безопасности вакцинации лиц с протективным уровнем постинфекционных IgG. Контроль уровня IgG позволит своевременно произвести вакцинацию или ревакцинацию, что значительно сократит число случаев реинфекций COVID-19.

## ЛИТЕРАТУРА (пп. 1-29 см. REFERENCES)

30. Марданлы С.Г. Разработка и испытания новых иммуноферментных тест систем для диагностики токсоплазмоза. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2009; 2: 35-7.
31. Марданлы С.Г., Симонов В.В., Авдонина А.С. Производство наборов реагентов для клинической лабораторной диагностики иммунохимическими методами. Орехово-Зуево: ГГТУ; 2017.
32. Марданлы С.Г., Симонова Е.Г., Симонов В.В. Инфекции ToRCH-группы: клиническая лабораторная диагностика, эпидемиологический надзор и контроль. Москва: Транзит-ИКС; 2018.
33. Марданлы С.Г., Симонова Е.Г., Симонов В.В. Герпесвирусные инфекции: этиология и патогенез, клиника и лабораторная диагностика, эпидемиология и профилактика. Орехово-Зуево: ГГТУ; 2020.
34. Марданлы С.Г., Авдонина А.С. Мамедова С.Г. Разработка иммуноферментной тест-системы для выявления антител класса IgG к возбудителю COVID-19 в сыворотке (плазме) крови человека. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2020; 65 (11): 683-7. DOI: http://dx.doi.org/10.18821/0869-2084-2020-65-11-683-687.

## REFERENCES

1. Krammer F., Simon V. Serology assays to manage COVID-19. *Science*. 2020; 368: 1060-1. DOI:10.1126/science.abc1227.
2. Alter G., Seder R. The power of antibody-based surveillance. *The New England Journal of Medicine.* 2020; 383: 1782-4. DOI: 10.1056/NEJMe2028079.
3. Abu Jabal K., Ben-Amram H., Beiruti K., Batheesh Y., Sussan C., Zarka S. et al. Impact of age, ethnicity, sex and prior infection status on immunogenicity following a single dose of the bnt162b2 mrna COVID-19 vaccine: Real-world evidence from healthcare workers, Israel, december 2020 to january 2021. *Eurosurveillance*. 2021; 26(6): 2100096. DOI: 10.2807/1560-7917.ES.2021.26.6.2100096.
4. Prendecki M., Clarke C., Brown J., Cox A., Gleeson S., Guckian M. et al. Effect of previous SARS-CoV-2 infection on humoral and t-cell responses to single-dose bnt162b2 vaccine. *Lancet*. 2021; 397(10280): 1178-81. DOI: 10.1016/S0140-6736(21)00502-X.
5. Jin P., Li J., Pan H., Wu Y., Zhu F. Immunological surrogate endpoints of covid-2019 vaccines: The evidence we have versus the evidence we need. *Signal Transduction and Targeted Therapy*. 2021; 6: 48. DOI: 10.1038/s41392-021-00481-y.
6. McMahan K., Yu.J., Mercado N.B., Loos C., Tostanoski L.H., Chandrashekar A. et al. Correlates of protection against SARS-COV-2 in rhesus macaques. *Nature.* 2021; 590(7847): 630-4. DOI: 10.1038/s41586-020-03041-6.
7. Perkmann T., Perkmann-Nagele N., Breyer M. K., Breyer-Kohansal R., Burghuber O. C., Hartl S. et al. Side-by-side comparison of three fully automated SARS-CoV-2 antibody assays with a focus on specificity. *Clinical Chemistry.* 2020; 66: 1405-13. DOI: 10.1093/clinchem/hvaa198.
8. Pollan M., Perez-Gomez B., Pastor-Barriuso R., Oteo J., Hernan M.A., Perez-Olmeda M. et al. Prevalence of SARS-COV-2 in spain (ene-COVID): A nationwide, population-based seroepidemiological study. *Lancet.* 2020; 396: 535-44. DOI:10.1016/S0140-6736(20)31483-5.
9. Oved K., Olmer L., Shemer-Avni Y., Wolf T., Supino-Rosin L., Prajgrod G. et al. Multi-center nationwide comparison of seven serology assays reveals a SARS-CoV-2 non-responding seronegative subpopulation. *E Clinical Medicine.* 2020; 29: 100651. DOI: 10.1016/j.eclinm.2020.100651.
10. Long Q.X., Tang X.J., Shi Q.L., Li Q., Deng H.J., Yuan J. et al. Clinical and immunological assessment of asymptomatic SARS-CoV-2 infections. *Nature Medicine.* 2020; 26: 1200-4. DOI: 10.1038/s41591-020-0965-6.
11. Lumley S. F., Wei J., O'Donnell D., Stoesser N. E., Matthews P. C., Howarth A. et al. The duration, dynamics and determinants of SARS-CoV-2 antibody responses in individual healthcare workers. *Clinical Infection Diseases.* 2021; 73(3): e699-e709. DOI: 10.1093/cid/ciab004.
12. Muecksch F., Wise H., Batchelor B., Squires M., Semple E., Richardson C. et al. Longitudinal analysis of serology and neutralizing antibody levels in COVID-19 convalescents. *The Journal of Infectious Diseases*. 2020; 223 (3). DOI: 10.1101/2020.08.05.20169128.
13. Robbiani D.F., Gaebler C., Muecksch F., Lorenzi J. C. C., Wang Z., Cho A. et al. Convergent antibody responses to SARS-CoV-2 in convalescent individuals. *Nature.* 2020; 584: 437-42. DOI: 10.1038/s41586-020-2456-9.
14. Buss L.F., Prete C.A.Jr., Abrahim C.M.M., Mendrone A.Jr., Salomon T., de Almeida-Neto C. et al. Three-quarters attack rate of SARS-CoV-2 in the brazilian amazon during a largely unmitigated epidemic. *Science*. 2021; 371: 288-92. DOI: 10.1126/science.abe9728.
15. Bolotin S., Tran V., Osman S., Brown K. A., Buchan S. A., Joh E. et al. SARS-CoV-2 seroprevalence survey estimates are affected by anti-nucleocapsid antibody decline. *Journal of the Infectious Diseases.* 2021; 223(8): 1334-8. DOI: 10.1093/infdis/jiaa796.
16. Favresse J., Brauner J., Bodart N., Vigneron A., Roisin S., Melchionda S. et al. An original multiplex method to assess five different SARS-CoV-2 antibodies. *Clinical chemistry and laboratory medicine.* 2020; 59(5): 971-8. DOI: 10.1515/cclm-2020-1652.
17. Le Bert N., Tan A. T., Kunasegaran K., Tham C. Y. L., Hafezi M., Chia A. et al. SARS-CoV-2-specific t cell immunity in cases of COVID-19 and SARS, and uninfected controls. *Nature.* 2020; 584: 457-62. DOI: 10.1038/s41586-020-2550-z.
18. Musico A., Frigerio R., Mussida A., Barzon L., Sinigaglia A., Riccetti S. et al. SARS-CoV-2 epitope mapping on microarrays highlights strong immune-response to n protein region. *Vaccines (Basel).* 2021; 9(1): 35. DOI: 10.3390/vaccines9010035.
19. Klausberger M., Dürkop M., Haslacher H., Wozniak-Knopp G., Cserjan-Puschmann M., Perkmann T. et al. A comprehensive antigen production and characterization study for easy-to-implement, highly specific and quantitative SARS-CoV-2 antibody assays. *EBioMedicine.* 2021; 67: 103348. DOI:10.1101/2021.01.19.212499921.
20. Wajnberg A., Amanat F., Firpo A., Altman D.R., Bailey M.J., Mansour M. et al. Robust neutralizing antibodies to SARS-CoV-2 infection persist for months. *Science.* 2020; 370: 1227-30. DOI: 10.1126/science.abd7728.
21. Bal A., Pozzetto B., Trabaud M.A., Escuret V., Rabilloud M., Langlois-Jacques C. et al. Evaluation of high-throughput SARS-CoV-2 serological assays in a longitudinal cohort of patients with mild COVID-19: Clinical sensitivity, specificity and association with virus neutralization test. *Clinical Chemistry.* 2021; 67(5): 742-52. DOI: 10.1093/clinchem/hvaa336.
22. Bonelli F., Sarasini A., Zierold C., Calleri M., Bonetti A., Vismara C. et al. Clinical and analytical performance of an automated serological test that identifies s1/s2-neutralizing igg in COVID-19 patients semiquantitatively. *Journal of Clinical Microbiology*. 2020; 58(9): e01224-20.DOI: 10.1128/JCM.01224-20.

23. Padoan A., Bonfante F., Pagliari M., Bortolami A., Negrini D., Zuin S. et al. Analytical and clinical performances of five immunoassays for the detection of SARS-CoV-2 antibodies in comparison with neutralization activity. *EBioMedicine.* 2020; 62: 103101.
24. Patel E.U., Bloch E.M., Clarke W., Hsieh Y.H., Boon D., Eby Y. et al. Comparative performance of five commercially available serologic assays to detect antibodies to SARS-CoV-2 and identify individuals with high neutralizing titers. *Journal Clinical Microbiology*. 2021; 59(2): e02257-20. DOI: 10.1128/JCM.02257-20.
25. Suhandynata R.T., Hoffman M.A., Huang D., Tran J.T., Kelner M.J., Reed S.L. et al. Commercial serology assays predict neutralization activity against SARS-CoV-2. *Clinical Chemistry.* 2021; 67(2): 404-14. DOI: 10.1093/clinchem/hvaa262.
26. Tang M.S., Case J.B., Franks C.E., Chen R.E., Anderson N.W., Henderson J.P. et al. Association between SARS-CoV-2 neutralizing antibodies and commercial serological assays. *Clinical Chemistry.* 2020; 66(12):1538-47. DOI: 10.1093/clinchem/hvaa211.
27. Krammer F. SARS-CoV-2 vaccines in development. *Nature.* 2020; 586(7830): 516-27. DOI: 10.1038/s41586-020-2798-3.
28. Nie J., Li Q., Wu J., Zhao C., Hao H., Liu H. et al. Establishment and validation of a pseudovirus neutralization assay for SARS-CoV-2. *Emerging Microbes Infections.* 2020; 9: 680-6. DOI: 10.1080/22221751.2020.1743767.
29. Oguntuyo K.Y., Stevens C.S., Hung C.T., Ikegame S., Acklin J.A., Kowdle S.S. et al. Quantifying absolute neutralization titers against SARS-CoV-2 by a standardized virus neutralization assay allows for cross-cohort comparisons of covid-19 sera. *mBio*; 2021; 12(1): e02492-20. DOI: 10.1128/mBio.02492-20.
30. Mardanly S.G., Development and testing of new ELISA test systems for the diagnosis of toxoplasmosis. *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika.* 2009; 2: 35-7. (in Russian)
31. Mardanly S.G., Simonov V.V., Avdonina A.S. Production of reagent kits for clinical laboratory diagnostics by immunochemical methods. Orekhovo-Zuevo: GGTU; 2017. (in Russian)
32. Mardanly S.G., Simonova E.G., Simonov V.V. ToRCH- infections: clinical laboratory diagnostics, epidemiological surveillance and control. Moscow: Tranzit-IKS; 2018. (in Russian)
33. Mardanly S.G., Simonova E.G., Simonov V.V. Herpesvirus infections: etiology and pathogenesis, clinic and laboratory diagnostics, epidemiology and prevention. Orekhovo-Zuevo: GGTU; 2020. (in Russian)
34. Mardanly S.G., Avdonina A.S., Mamedova S.G. Development of an enzyme-linked immunosorbent assay for the detection of IgG antibodies against COVID-19 pathogen in human serum (plasma). *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika.* 65 (11): 683-7. DOI: 10.18821/0869-2084-2020-65-11-683-687. (in Russian)