

Спектр вируснейтрализующих антител у пациентов с COVID-19, заболевших во время циркуляции различных вариантов SARS-CoV-2

С. К. Пылаева*^{1,2}, Л. И. Козловская^{1,3,4}, А. А. Еровиченков¹, Д. И. Сиразова¹,
Е. Ю. Шустова¹, Е. А. Артамонова¹, А. А. Синюгина¹, И. В. Гордейчук^{1,6},
Д. В. Троцанский⁵, Е. В. Косарева⁵, О. Н. Солодовникова^{2,5}, Р. К. Коготыжев⁵,
А. Ю. Берестовская⁵, И. Н. Тюрин^{2,5}, Д. Н. Проценко^{2,5}, А. А. Ишмухаметов¹

¹Федеральный научный центр исследований и разработки иммунобиологических препаратов им. М.П. Чумакова РАН (Институт полиомиелита), Москва

²Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н. И. Пирогова (РНИМУ им. Н. И. Пирогова), Москва

³ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет), Москва

⁴ФГБОУ ДПО Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования Минздрава России, Москва

⁵Московский многопрофильный клинический центр «Коммунарка» Департамента здравоохранения города Москвы, Москва

⁶Институт трансляционной медицины и биотехнологии (Сеченовский Университет), Москва

Резюме

Актуальность. SARS-CoV-2 начал активно циркулировать в человеческой популяции с конца 2019 г. К 2021 г. вирус приобрел более 140 нуклеотидных мутаций и 20 делеций на геном от исходного варианта, выявленного в Ухани. При широкой циркуляции вируса увеличивается доля переболевших, однако неясно насколько хорошо нейтрализующие антитела, сформированные ранними вариантами, нейтрализуют новые линии варианта Омикрон. **Цель.** Анализ нейтрализующей активности сывороток, собранных от пациентов с диагнозом «COVID-19» в 2020–2021 гг., по отношению к вариантам SARS-CoV-2, циркулировавшим в 2020–2023 гг. **Материалы и методы.** Проведен анализ нейтрализующей активности 286 сывороток взрослых пациентов разного возраста, переболевших COVID-19 в 2020–2021 гг. во время циркуляции прототипных линий и варианта Дельта SARS-CoV-2, против штаммов исходных линий и варианта Омикрон BA.1 и XBB.1.9. 2. **Результаты.** Не менее 10% сывороток людей, переболевших COVID-19 во время циркуляции прототипных штаммов, и не менее 50% людей, переболевших во время циркуляции варианта Дельта, содержат антитела, нейтрализующие вариант XBB.1.9 Омикрон, циркулировавший в 2023 г. **Заключение.** Таким образом, часть людей, независимо от возраста, переболевших в 2020–2021 гг., обладают спектром антител, способным нейтрализовать актуальные и, возможно, родственные им варианты SARS-CoV-2, которые сформируются в ближайшем будущем, несмотря на значительные различия в аминокислотной последовательности белка S, накопленные за время циркуляции вируса. Однако не выявлено сильной положительной корреляции между уровнями IgG к рецептор-связывающему домену и титрами вируснейтрализующих антител к SARS-CoV-2, что может затруднять серологическую диагностику COVID-19 и приводить к неправильной оценке защищенности человека и наличия иммунной прослойки к SARS-CoV-2 при проведении популяционных исследований.

Ключевые слова: SARS-CoV-2, COVID-19, серологический тест, нейтрализующие антитела, BNA, NAT, связывающие антитела
Конфликт интересов не заявлен.

Для цитирования: Пылаева С. К., Козловская Л. И., Еровиченков А. А. и др. Спектр нейтрализующих антител у пациентов с COVID-19, заболевших во время циркуляции различных вариантов SARS-CoV-2 в 2020–2021 гг. Эпидемиология и Вакцинопрофилактика. 2024;23(5):63–72. <https://doi.org/10.31631/2073-3046-2024-23-5-63-72>

* Для переписки: Пылаева София Константиновна, м. н. с. клинического отдела ФГАНУ «ФНЦИРИП им. М. П. Чумакова РАН», 108819, Россия, Москва, поселение Московский, поселок Института полиомиелита, домовладение 8, корпус 1. +7 (916) 853-74-94, pylaeva@gmail.com.
©Пылаева С. К. и др.

Neutralizing Antibody Spectrum in COVID-19 Patients who Became Ill During the Circulation of Different SARS-CoV-2 Variants

SK Pylaeva^{*1,2}, LI Kozlovskaya^{1,3,4}, AA Erovichenkov⁴, DI Sirazova¹, EY Shustova¹, EA Artamonova¹, AA Sinyugina¹, IV Gordeychuk^{1,6}, DV Troshyanskiy⁵, EV Kosareva⁵, ON Solodovnikova^{2,5}, RK Kogotyzhev⁵, AU Berestovskaia⁵, IN Tyurin^{2,5}, DN Protsenko^{2,5}, AA Ishmukhametov¹

¹M.P. Chumakov Federal Scientific Center for Research and Development of Immunobiological Drugs of the Russian Academy of Sciences (Polio Institute), Moscow, Russia

²Pirogov Russian National Research Medical University of the Ministry of Health of the Russian Federation, Moscow, Russia

³Sechenov First Moscow State Medical University of Ministry of Healthcare of the Russian Federation (Sechenov University), Moscow, Russia

⁴Russian Medical Academy of Continuing Professional Education of the Ministry of Health of the Russian Federation, Moscow, Russia

⁵Moscow Multidisciplinary Clinical Center «Kommunarka» of the Moscow Department of Health, Moscow, Russia

⁶Institute for Translational Medicine and Biotechnology (Sechenov University), Moscow, Russia

Abstract

SARS-CoV-2 has been actively circulating in the human population since late 2019. During this time, the virus acquired more than 140 nucleotide mutations and 20 deletions per genome from the original variant identified in Wuhan. As the virus circulates, the proportion of re-infected individuals increases, but it is unclear how well neutralizing antibodies formed by infection with early variants neutralize the new Omicron variant lines. We analyzed the neutralizing activity of 286 sera from 286 adult patients with COVID-19 in 2020-2021, during the circulation of the prototypical lines and the Delta variant of SARS-CoV-2, against strains of the original lines and the Omicron BA.1 and XBB.1.9. 2. About 10% of the sera of people who overexperienced COVID-19 while the prototypical strains were circulating and about 50% of people who overexperienced it while the Delta variant was circulating contain antibodies that neutralize Omicron XBB.1.9 was circulating in 2023. Thus, a fraction of people, regardless of age, who became infected in 2020-2021 have an antibody spectrum capable of neutralizing current and possibly related SARS-CoV-2 variants that will emerge in the near future. However, no strong positive correlation was found between IgG levels to RBD and NAT titers to SARS-CoV-2 ($R < 0.5$), which may complicate serologic diagnosis of COVID-19 and lead to inappropriate assessment of human protection and the presence of an immune layer to SARS-CoV-2 in population-based studies.

Keywords: SARS-CoV-2, COVID-19, serological test, neutralizing antibodies, NAT, binding antibodies

No conflict of interest to declare.

For citation: Pylaeva SK, Kozlovskaya LI, Erovichenkov AA et al. Neutralizing antibody spectrum in COVID-19 patients who became ill during the circulation of different SARS-CoV-2 variants in 2020-2021. *Epidemiology and Vaccinal Prevention*. 2024;23(5):63-72 (In Russ.). <https://doi.org/10.31631/2073-3046-2024-23-5-63-72>

Введение

С момента начала пандемии COVID-19 в мире было зарегистрировано более 767 млн случаев COVID-19 и более 6,9 млн подтвержденных летальных исходов [1]. Несмотря на заверченный статус пандемии, заболеваемость COVID-19 сохраняется, продолжает нести социально-экономический ущерб и нагрузку на системы здравоохранения, а вирус SARS-CoV-2 продолжает эволюционировать [2].

За время циркуляции с 2020 г. SARS-CoV-2 приобрел более 140 нуклеотидных мутаций и 20 делеций на геном от исходного варианта, выявленного в Ухани. Большая часть изменений коснулась белка вириона S, образующего шипы на поверхности вирусной частицы, и его рецептор-связывающего домена (RBD), опосредующего связывание с ACE2 молекулой клетки. Эти изменения образуются в результате накопления иммунной прослойки в человеческой популяции и опосредуют уклонение вируса от иммунного ответа человека [3]. Большинство изменений практически не влияют на свойства вируса. Однако некоторые мутации определяют скорость распространения вируса, тяжесть связанного с ним заболевания и другие его характеристики [2].

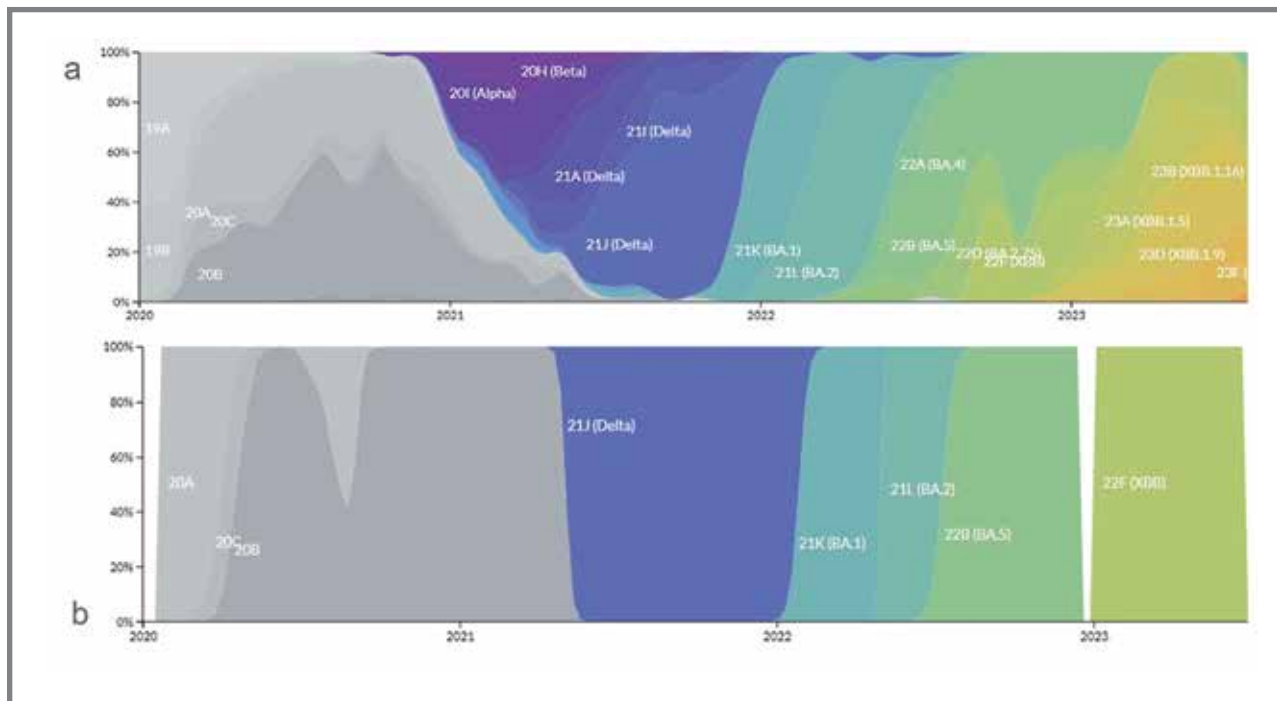
На основании свойств различных вариантов SARS-CoV-2 и скорости их распространения ВОЗ выделяет варианты, потенциально обладающие большей вирулентностью и трансмиссивностью – VOC (variants of concern), и новые варианты, обладающие такими свойствами VOI (variants of interest, [4]), с целью предсказания и отслеживания эпидемиологических подъемов заболеваемости и корректировки мер общественного здравоохранения.

В разные периоды пандемии вариантами, вызывающими озабоченность, считались варианты Альфа (B.1.1.7), Бета (B.1.351), Гамма (P.1), Дельта (B.1.617.2), а также родительская линия варианта Омикрон (B.1.1.529). В настоящее время несколько линий варианта Омикрон рассматриваются ВОЗ как варианты, представляющие интерес [2]. Эти варианты, однажды появившись, распространялись по миру и вытесняли предшествующий вариант из циркуляции, при этом в период смены нескольких вариантов могли циркулировать одновременно (рис. 1). Однако не все VOC распространялись глобально, особенно в первые 2 года циркуляции SARS-CoV-2: наблюдалось быстрое появление новых вариантов и их совместная

* For correspondence: Pylaeva Sofia K., researcher, M.P. Chumakov Federal Scientific Center for Research and Development of Immunobiological Drugs of the Russian Academy of Sciences (Polio Institute), Moscow, Russia. +7 (916) 853-74-94, pylaevava@gmail.com. ©Pylaeva SK, et al.

Рисунок 1. Распределение циркулирующих вариантов SARS-CoV-2 по времени с начала пандемии: А) в мире, В) в России [6]

Figure 1. Circulating SARS-CoV-2 distribution over time since pandemic start: A) globally, B) in Russia [6]



циркуляция в разных странах – до появления варианта Дельта, который вытеснил остальные варианты из циркуляции в мире. На смену ему пришел вариант Омикрон, производные которого циркулируют и в настоящее время.

На территории Российской Федерации смена циркулирующих вариантов SARS-CoV-2 в целом соответствовала общемировым тенденциям, тем не менее, согласно анализу последовательностей геномов вирусов, представленных в базе данных GISAID (Global Initiative on Sharing All Influenza Data), не все варианты были выделены на территории страны (см. рис. 1). До середины 2021 г. большая часть выделенных изолятов соответствовала прототипным вариантам, несущим менее 20 мутаций на геном. С июня 2021 г. в РФ быстро распространился вариант Дельта, вызвав резкий подъем заболеваемости. С февраля 2022 г. вариант Омикрон и его производные составляют более 98% всех последовательностей [2,5]. В 2023 г. основная часть выделенных вирусов относится к XBB.1.5, 1.9 и 1.16 вариантам SARS-CoV-2 (см. рис. 1).

Основной функцией антител является их нейтрализующая функция, которая блокирует проникновение вируса в клетки-мишени. Было исследовано, что уровень нейтрализации у вакцинированных и ранее перенесших инфекцию в высокой степени предсказывает иммунную защиту [7,8]. Ввиду того, что одной из основных движущих сил эволюции SARS-CoV-2 является уход от иммунного ответа хозяина, новые варианты слабее нейтрализуются антителами, сформированными инфекцией, перенесенной в начале пандемии, или вакцинацией сертифицированными вакцинами, тем не менее

можно полагать, что основные адаптивные мутации были накоплены вирусом в первое время циркуляции, и новые мутации определяются подстройкой вариантов под существующую иммунную прослойку [9,10]. С другой стороны, несмотря на изменчивость вируса, N-концевой домен S1 субъединицы и S2 субъединица белка S менее подвержены накоплению мутаций, хотя также содержат нейтрализующие эпитопы [11]. Таким образом, часть нейтрализующих эпитопов присутствует в поверхностных белках всех вариантов SARS-CoV-2. Но остается неизученным спектр нейтрализующей активности антител, индуцированный инфекцией вариантами вируса, циркулировавшими в начале пандемии, и насколько эффективно эти антитела нейтрализуют актуально распространенные варианты вируса.

Цель исследования – анализ нейтрализующей активности сывороток, собранных от пациентов с диагнозом «COVID-19» в 2020–2021 гг., по отношению к вариантам SARS-CoV-2, циркулировавшим в 2020–2023 гг.

Материалы и методы

Клинические данные

Ретроспективное исследование проведено на базе ММКЦ «Коммунарка». Клинические, лабораторные и анамнестические данные пациентов были получены из лабораторной информационной системы (ЛИС) «АЛИСА» и единой медицинской информационной системы (ЕМИАС).

С 24 апреля 2020 г. по 3 ноября 2021 г. методом случайной выборки из числа пациентов с подозрением на COVID-19 было отобрано 3503 пациента;

из них, согласно критериям включения, были выбраны 427 пациентов, из которых были сформированы группы по времени заболевания и возрасту. В итоговую выборку вошли данные 286 человек.

Критерии включения: установленный диагноз U07.1 или U07.2; госпитализация с апреля 2020 г. по ноябрь 2021 г.; заболевание средней тяжести и выше; положительный результат ПЦР-мазка на SARS-CoV-2 во время или до госпитализации; отсутствие госпитализации по поводу COVID-19 в анамнезе (за исключением переведенных из других больниц и поступивших повторно на госпитализацию в течение 14 дней после выписки); отсутствие вакцинации против COVID-19 в анамнезе; наличие антител IgG (ИХЛА) в сыворотке крови.

Опираясь на данные о циркуляции различных вариантов SARS-CoV-2 в РФ [12], выбранные пациенты были ранжированы по периодам циркуляции разных штаммов SARS-CoV-2 (рис. 1) [13]. В группу 1 были включены пациенты, поступившие в стационар в 2020 г. во время циркуляции вариантов прототипных линий (Pango B.1.1), в группу 2 – пациенты, поступившие в стационар с января по май 2021 г. во время циркуляции вариантов Альфа и Бета (Pango B.1.1.7, B.1.351) и их производных, в группу 3 – пациенты, поступившие в стационар с июня по ноябрь 2021 г. во время циркуляции варианта Дельта (Pango B.1.617.2). Далее для учета иммунологических особенностей людей разного возраста [14] группы были ранжированы по возрастам (табл. 1). В итоговую выборку вошли данные о 286 пациентах.

Образцы назофарингеальных мазков и крови были собраны во время госпитализации пациентов для проведения лабораторной диагностики и обезличены, информированное согласие на исследование образцов было получено в больнице. Использование анонимных образцов и обезличенных данных не требует получения дополнительного информированного согласия.

Лабораторное обследование пациентов

Данные лабораторного обследования пациентов взяты из медицинских карт. Исследования проводились в рамках оказания стационарной медицинской помощи согласно Временным методическим рекомендациям [15] и включали: общий анализ крови (Beckman Coulter DxH, Becton Coulter, США), биохимический анализ крови (определение активности общей ЛДГ, аспартатаминотрансферазы, аланинаминотрансферазы, концентраций билирубина и креатинина) (Beckman Coulter AU 680, Becton Coulter, США). Лабораторное определение количества IgG к SARS-CoV-2 проводилось иммунохемилюминесцентным (ИХЛА) методом (Mindray CL-2000, Shenzhen Mindray Bio-Medical Electronics Co., Ltd., Китай).

Выделение вируса

из назофарингеальных мазков в клетках Vero

Выделение вируса проводили согласно методике, описанной ранее [12].

Реакция нейтрализации

Реакцию нейтрализации проводили в культуре клеток Vero (WHO Biologicals, BO3, Швейцария) против разных штаммов SARS-CoV-2: ПИК35 (Pango линия B.1.1, GISAID EPI_ISL_428852), 4724d (Pango линия B.1.617.2 Дельта, GISAID EPI_ISL_8799478), 7995o (Pango линия BA.1. Омикрон, GISAID EPI_ISL_9613539) по методике, описанной ранее [14]. Сыворотки, которые не проявили вируснейтрализующей активности в разведении 1:8, считались негативными. В реакции нейтрализации со штаммом 10969 исследовали только сыворотки с титром не менее 1:16 к шт. 7995o, сыворотки с титром менее 1:16 считали не содержащими антител к шт. 10969.

Статистическая обработка

Статистический анализ проводился с использованием программ IBM SPSS Statistics

Таблица 1. Количество пациентов, включенных в исследование, и их разделение на группы по времени госпитализации и возрасту

Table 1. Number of patients included in to the study and their division into groups according to the time of hospitalization and age

Группа Group Дата госпитализации Hospitalization time	Группа 1 Group 1 (2020)	Группа 2 Group 2 (I–V.2021)	Группа 3 Group 3 (VI–XI.2021)
Циркулирующий вариант SARS-CoV-2 Circulating variant SARS-CoV-2	Прототипные линии Prototype lineages	Варианты Альфа и Бета Variants Alpha and Beta	Вариант Дельта Variant Delta
< 45 лет < 45 years old, n	11	10	7
45–59 лет 45–59 years old, n	20	20	17
≥ 60 лет ≥ 60 years old, n	68	62	71
Всего Total, n	99	92	95

v.26 (IBM Corporation) и OriginPro 2020 (Origin Corp.). Количественные показатели проверяли на соответствие нормальному распределению

с использованием критериев Шапиро-Уилка. Для описания количественных показателей, имеющих нормальное распределение, рассчитывали

Таблица 2. Характеристика анализируемых групп
Table 2. Description of the study groups

Параметр Parameter	Группа 1 Group 1 (2020), N = 99	Группа 2 Group 2 (I–V.2021), N = 92	Группа 3 Group 3 (VI–XI.2021), N = 95	p (χ^2)
Основные характеристики анализируемых групп The main characteristics of the study groups				
Возраст, лет Age, years, Me [Q1;Q3]	64 [58;73]	66,5 [63;69]	69 [57;79]	0,161
Мужчин, % (95%ДИ) Men, % (95% CI)	47,5 (37–57,1)	44 (34,2–55)	40 (30,2–49,4)	0,572
День болезни A day of disease, Me [Q1; Q3]	8 [5;10]	7 [4;10]	7 [4;11,5]	0,704
День взятия крови от начала болезни Day of blood collection Me [Q1; Q3]	10 [6;14]	13 [8;17]	11,5 [6;21,5]	0,039
Дни в стационаре Hospital days, Me [Q1; Q3]	8 [5;13]	8,5 [5;16,76]	8 [5;17]	0,846
Кол-во человек, поступивших в ОРИТ, % (95%ДИ) Number of people admitted to the ICU, % (95% CI)	24,2 (4,2–33)	29,3 (20,4–39,6)	44,2 (34,2–54,8)	0,009
К/д в ОРИТ Number of days spent in the ICU, Me [Q1; Q3]	6 [3;11,5]	12 [4;18]	2 [1;13]	0,001
Летальные исходы, % (95%ДИ) Fatal outcomes, % (95% CI)	7,1 (2,3–12,6)	14,1 (7,4–21,9)	17,9 (10,5–25,9)	0,074
Сопутствующие состояния Comorbidities				
Артериальная гипертензия, % (95%ДИ) Arterial hypertension, % (95% CI)	51,5 (41,8–61,3)	64,1 (54,3–73,7)	70,5 (61,9–80)	0,021
Эндокринологические заболевания, % (95%ДИ) Endocrinology diseases, % (95% CI)	6,1 (1,9–11,2)	12 (5,8–18,8)	8,4 (3,1–14,3)	0,351
Сахарный диабет, % (95%ДИ) Diabetes mellitus, % (95% CI)	21,2 (13,5–29,7)	18,5 (10,8–27,1)	27,4 (18,4–36,5)	0,352
Ожирение, % (95%ДИ) Obesity, % (95% CI)	6,1 (1,9–11,3)	10,9 (4,9–17,6)	10,5 (4,5–17,5)	0,430
Нарушение ритма сердца, % (95%ДИ) Heart rhythm disorder, % (95% CI)	18,2 (11,1–25,7)	13 (6,1–20,4)	15,8 (9–23,6)	0,622
Ревматологические заболевания, % (95%ДИ) Rheumatological diseases, % (95% CI)	0	4,3 (1–9)	2,1 (0–5,3)	0,111
Хронические заболевания легких, % (95%ДИ) Chronic lung diseases, % (95% CI)	9,1 (4,1–14,7)	7,6 (2,5–13)	5,3 (1,1–10,1)	0,589
Хронические заболевания почек, % (95%ДИ) Chronic kidney diseases, % (95% CI)	9,1 (4,1–14,7)	20,7 (12,6–29,3)	24,2 (16,5–33,7)	0,160
Онкологические заболевания в анамнезе, % (95%ДИ) History of oncological diseases, % (95% CI)	7,1 (2,2–12,8)	10,9 (4,7–17,7)	14,7 (7,6–22,4)	0,229
Гематологические заболевания, % (95%ДИ) Hematological diseases, % (95% CI)	3 (0–6,7)	4,3 (1–9)	14,7 (7,7–22,4)	0,003

Practical Aspects of Epidemiology and Vaccine Prevention

средние арифметические значения (M), стандартные отклонения (SD), границы 95% доверительного интервала (95% ДИ). Для описания количественных показателей, не имеющих нормального распределения, рассчитывали медианы (Me) и квартили (Q1 и Q3). Для сравнения независимых совокупностей, не имеющих нормального распределения данных, использовался U-критерий Манна-Уитни. Для изучения связи между явлениями проводили расчет коэффициента ранговой корреляции Спирмена. Результаты принимались как статистически значимые при $p < 0,05$.

Результаты

Анализ сформированных групп показал, что группы были сопоставимы по гендеру (40–47,5% мужчины), возрасту (67 Me [57;77] лет) и по дню поступления в стационар от начала заболевания (7 Me [4;10] дней) (табл. 2). Выбранные группы также были сопоставимы по наличию хронических заболеваний, таких как сахарный диабет, ожирение, эндокринологические заболевания (за исключением сахарного диабета), хронические заболевания легких, онкологические заболевания (в анамнезе), хроническая болезнь почек, ревматологические заболевания. В группах отмечались тромбоцитопения и анемия различной степени выраженности. Таким образом, группы сравнимы между собой и подходят для сравнения спектров вируснейтрализующих антител (ВНА). Также группы сопоставимы

по количеству летальных исходов (12,9%, ДИ [9,1–16,4]) и дней, проведенных в стационаре (8 Me [5;15] дней) (см. табл. 2). При сравнении групп по частоте поступления в отделение реанимации и интенсивной терапии (ОРИТ) установлено, что пациенты из группы 3 (циркуляция варианта Дельта SARS-CoV-2) значимо чаще поступали в ОРИТ, чем пациенты из групп 1 и 2 ($p < 0,001$), однако лица из группы 2 значимо дольше находились в ОРИТ ($p < 0,001$).

Спектр нейтрализующей активности постинфекционных антител

Сыворотки выбранных пациентов анализировали в реакции нейтрализации (табл. 3 и рис. 2) с набором штаммов различных вариантов SARS-CoV-2, циркулировавших в анализируемые периоды: ПИК35 (прототипная линия B.1.1) и 4724d (вариант Дельта), а также появившиеся и циркулировавшие позже штамм 7995o варианта Омикрон исходной линии BA.1. Для анализа антител к актуальным на момент исследования вариантам провели выделение изолятов вируса из назофарингеальных мазков пациентов с диагнозом COVID-19 в культуре клеток Vero. Штамм 10969, выделенный из пробы, собранной 22.03.2023, вызывал устойчивую гибель клеток, и был выбран для постановки реакции нейтрализации. Генетический анализ последовательности белка S штамма 10969 показал, что он относится к Pango линии XBB.1.9 (GISAID EPI_ISL_18525720).

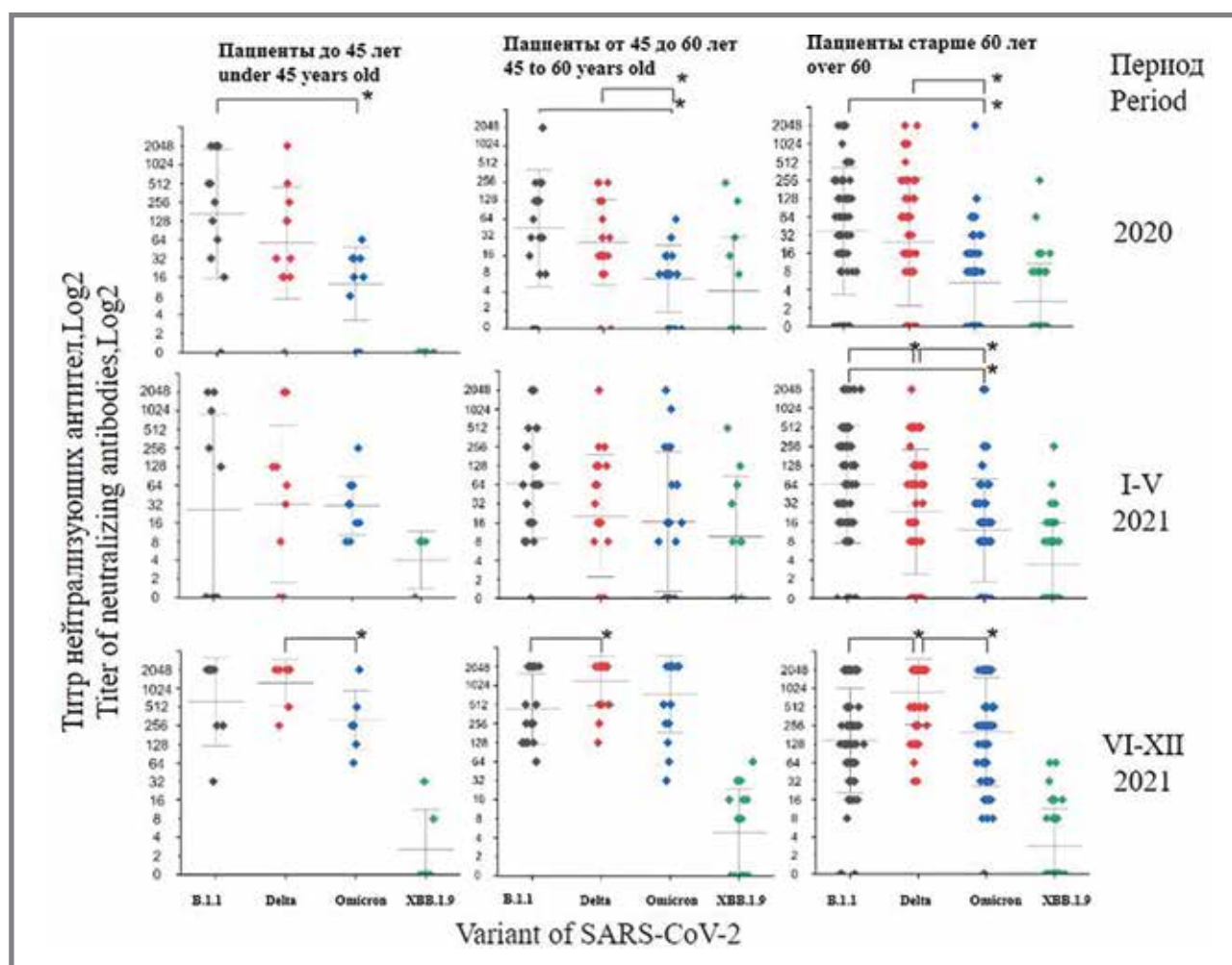
Таблица 3. Сравнение нейтрализующей активности сывороток в зависимости от времени заболевания
Table 3. Comparison of the neutralizing ability of sera depending on the time of illness

Параметр Parameter	Группа по времени госпитализации Group by time of hospitalization						Значи- мость различий, р (Критерий Краскел- ла-Уол- леса/ Kruskal- Wallis test)
	Группа 1 Group 1 (2020), n = 99		Группа 2 Group 2 (I-V.2021), n = 90		Группа 3 Group 3 (VI-XI.2021), n = 96		
Циркулирующий вариант SARS-CoV-2 Circulating variant of SARS- CoV-2	Прототипные линии Prototype line		Варианты Альфа и Бета Alpha and Beta variants		Вариант Дельта /Delta variant		
	СГТ GMT M ± SD Log2	Положи- тельные сыво- ротки/ Positive sera	СГТ GMT M ± SD Log2	Положи- тельные сыво- ротки/ Positive sera	СГТ GMT M±SD Log2	Положи- тельные сыворотки Positive sera	
ВНА к B.1.1 nAB to B.1.1 Lineage	5,5 ± 3,45	82/9	5,9 ± 3,3	77/90	7,6 ± 2,7	92/96	0,000
ВНА к Дельта Neutralizing antibodies against the Delta Lineage	4,8 ± 3,24	77/99	4,55 ± 3,34	66/90	9,9 ± 1,66	96/96	0,000
ВНА к Омикрон BA.1 nAB to Omicron BA.1	2,6 ± 2,36	62/99	3,8 ± 2,84	68/90	8 ± 2,78	93/96	0,000
ВНА к Омикрон ХВВ.1.9 nAB to Omicron ХВВ.1.9	0,4 ± 1,15	10/99	0,5 ± 1,24	14/90	2,3 ± 2,52	49/96	0,2

Примечание: Титры к циркулировавшему на момент заболевания варианту SARS-CoV-2 выделены полужирным. * СГТ - среднее геометрическое титра.

Note: Titres to the circulating SARS-CoV-2 variant at the time of illness are shown in bold. * GMT - geometric mean titre.

Рисунок 2. Уровень ВНА к разным вариантам SARS-CoV-2 в группах по возрасту и периодам заболевания
 Figure 2. Level of neutralising AB to different strains of SARS-CoV-2 in age and period groups



В сыворотках крови пациентов всех групп, переболевших в разное время, выявлены антитела, нейтрализующие вариант ХВВ.1.9 2023 г. (всего 73 из 150 исследованных сывороток). При этом количество сывороток с ВНА при варианте ХВВ.1.9 выше у людей, переболевших во время циркуляции варианта Дельта (до 50%), чем у пациентов, переболевших прототипными вариантами (до 10%). Таким образом, спектр антител, образовавшихся к исходным вариантам белка S, частично перекрывается со спектром антител, нейтрализующих вариант, сформировавшийся в 2023 г.

Титр ВНА к вирусам, циркулировавшим в момент заболевания, в соответствующих группах был ожидаемо выше, чем к остальным исследованным вирусам (см. табл. 3). Однако в среднем титр ВНА в сыворотках пациентов, переболевших в период циркуляции варианта Дельта, был выше, чем в период циркуляции ранних вариантов SARS-CoV-2 ($p < 0,001$). А также титр ВНА к циркулировавшему на момент заболевания варианту значимо выше, чем к варианту Омикрон обеих линий BA.1 и ХВВ.1.9 (Манн-Уитни, $p < 0,05$).

Анализ нейтрализующей активности сывороток пациентов по возрастным группам

в общем показывает сходную динамику по спектру нейтрализующей активности: сыворотки лучше нейтрализуют вирус, соответствующий времени заболевания; титр ВНА выше в сыворотках пациентов, болевших во время циркуляции варианта Дельта, и эти сыворотки лучше нейтрализуют вариант ХВВ.1.9. При этом в группе пациентов от 60 лет и старше доля сывороток без ВНА была выше, чем в группе пациентов 45–59 лет, независимо от времени заболевания и вируса, использованного в реакции нейтрализации. Стоит отметить, что при этом не наблюдается статистически значимого снижения титра ВНА у пациентов от 60 лет, по сравнению с пациентами 45–59 лет. Хотя для пациентов, переболевших во время циркуляции варианта Дельта, есть снижение нейтрализующей активности антител по отношению к штаммам варианта Омикрон, выраженное в виде снижения среднего геометрического титра.

Соотношение между титрами ВНА и IgG к SARS-CoV-2

Ранее в различных исследованиях была показана корреляция между титром ВНА и уровнем IgG-IgG-антител, определенными в ИХЛА и ИФА

тест-системах с RBD SARS-CoV-2 [19,20]. Однако с изменением циркулирующего варианта эта корреляция в случае неизменности тест-системы или изменения спектра индуцируемых инфекцией антител с увеличением доли нейтрализующих антител не к RBD может изменяться.

Был проведен анализ возможной корреляции между уровнем IgG при SARS-CoV-2, определенным в ИХЛА тест-системе (Shenzhen Mindray) в месте госпитализации, и титром ВНА к циркулировавшему на момент заболевания вирусу. Сыворотки заболевших в 2020 г. характеризует средняя положительная корреляция между уровнем IgG (Ед/л) и титром ВНА к прототипному штамму ПИК35 линии B.1.1 (коэффициент Спирмена $R = 0,624$, рис. 3). Сыворотки заболевших в 2021 г. во время циркуляции варианта Дельта также имели среднюю положительную корреляцию между уровнем IgG и титром ВНА к штамму 4724d варианта Дельта, но с меньшим значением коэффициента корреляции Спирмена ($R = 0,523$).

Таким образом, выявленная корреляция для обоих периодов незначительная. Сыворотки с уровнем IgG 10–150 Ед/л (2020 г.) и 10–500 Ед/л (2021 г.) могли не содержать детектируемые титры ВНА. Снижение специфичности ИХЛА тест-системы также заметно в том, что сыворотки от переболевших в 2021 г. с титром ВНА $> 1:32$ были негативными по результатам ИХЛА, чего не наблюдалось для сывороток пациентов 2020 г.

Обсуждение

Инфекция SARS-CoV-2 формирует антитела к белкам вируса, входящим в состав вириона, а также к некоторым неструктурным белкам.

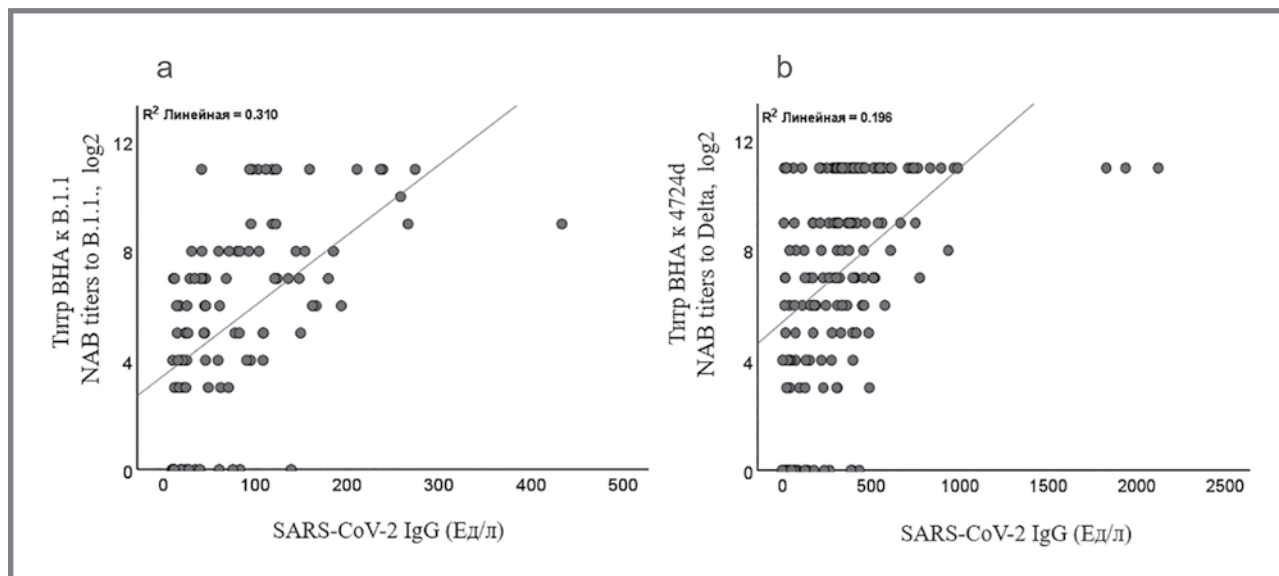
Значимый защитный эффект выявлен у антител к белку S по сравнению антителами к мембранному (M), оболочечному (E) и нуклеокапсидному (N) белкам [16]. При этом ВНА к белку S можно разделить на 3 группы: связывающиеся с RBD и блокирующие взаимодействие с рецептором ACE2 [17]; связывающиеся с N-концевым доменом S1 субъединицы; связывающиеся с S2 субъединицей, что мешает осуществлению конформационных перестроек, необходимых для слияния мембран и проникновения вируса [18,19].

Сравнительно высокий уровень изменчивости SARS-CoV-2 на фоне всемирной циркуляции создает условия для появления новых вариантов, способных избежать коллективный иммунитет, сформировавшийся в человеческой популяции [20,21]. Несмотря на изменчивость вируса, N-концевой домен S1 субъединицы и S2 субъединица белка S менее подвержены накоплению мутаций, хотя также содержат нейтрализующие эпитопы. Можно полагать, что часть нейтрализующих эпитопов присутствует в белках всех вариантов SARS-CoV-2 и обеспечивает широту нейтрализующей активности [22,23].

При широкой циркуляции SARS-CoV-2 люди постоянно сталкиваются с вирусом и могут получать бустерную иммунизацию, что может изменять исходный гуморальный иммунный ответ.

Для изучения спектра нейтрализующих антител, индуцированных вариантами вируса, циркулировавшими в 2020–2021 гг., было проведено ретроспективное исследование. Сыворотки пациентов, госпитализированных в 2020–2021 гг. с диагнозом COVID-19, изучали в реакции нейтрализации

Рисунок 3. Корреляция между уровнями SARS-CoV-2 IgG и уровнями ВНА в различные периоды пандемии
Figure 3. Correlation between SARS-CoV-2 IgG levels and levels of neutralising AB during different periods of the pandemic



Примечание: а) корреляция между уровнями SARS-CoV-2 IgG и уровнями нейтрализующих АТ к B. 1. 1(Пик 35) в 2020 г.; б) корреляция между уровнями SARS-CoV-2 IgG и уровнями нейтрализующих АТ к Дельта (4724d) в 2021 г.
Note: а) correlation between SARS-CoV-2 IgG levels and levels of neutralizing antibodies to B. 1. 1 in 2020; б) correlation between SARS-CoV-2 IgG levels and levels of neutralizing antibodies to Delta (4724d) in 2021.

4. WHO. Tracking SARS-CoV-2 variants. Доступно на: <https://www.who.int/activities/tracking-SARS-CoV-2-variants> [документ 23/12/2023]
5. The GISAID Initiative <<https://gisaid.org>> [документ 17/06/2023].
6. Nextstrain SARS-CoV-2 resources. Доступно на: <https://nextstrain.org/ncov/open/global/all-time> (29.11.2023)
7. Kent SJ, Triccas JA, Davenport MP. Neutralizing antibody levels are highly predictive of immune protection from symptomatic SARS-CoV-2 infection. *Nat Med.* 2021 Jul;27(7):1205–1211. doi: 10.1038/s41591-021-01377-8. Epub 2021 May 17. PMID: 34002089.
8. Feng S, Phillips DJ, White T, et al. Oxford COVID Vaccine Trial Group. Correlates of protection against symptomatic and asymptomatic SARS-CoV-2 infection. *Nat Med.* 2021 Nov;27(11):2032–2040. doi: 10.1038/s41591-021-01540-1. Epub 2021 Sep 29. PMID: 34588689; PMCID: PMC8604724.
9. Khoury DS, Cromer D, Reynaldi A, et al. Neutralizing antibody levels are highly predictive of immune protection from symptomatic SARS-CoV-2 infection. *Nat Med.* 2021 Jul;27(7):1205–1211. doi: 10.1038/s41591-021-01377-8. Epub 2021 May 17. PMID: 34002089.
10. Planas D, Veyer D, Baidaliuk A, et al. Reduced sensitivity of SARS-CoV-2 variant Delta to antibody neutralization. *Nature.* 2021;596(7871):276–280.
11. Micochova P, Kemp SA, Dhar MS, et al. Indian SARS-CoV-2 Genomics Consortium (INSACOG): Genotype to Phenotype Japan (G2P-Japan) Consortium; CITIID-NIHR BioResource COVID-19 Collaboration; Movousian A, Lee JH, Bassi J, et al. SARS-CoV-2 B.1.617.2 Delta variant replication and immune evasion. *Nature.* 2021;599(7883):114–119.
12. Kozlovskaya L, Pinaeva A, Ignatyev G, et al. Isolation and phylogenetic analysis of SARS-CoV-2 variants collected in Russia during the COVID-19 outbreak. *Int J Infect Dis.* 2020 Oct;99:40–46. doi: 10.1016/j.ijid.2020.07.024.
13. The GISAID Initiative, <https://gisaid.org/ncov-19-variants-dashboard/> [дата захода 01.11.2023]
14. Gordeychuk IV, Kozlovskaya LI, Siniugina AA, et al. Safety and Immunogenicity of Inactivated Whole Virion COVID-19 Vaccine CoviVac in Clinical Trials in 18-60 and 60+ Age Cohorts. *Viruses.* 2023 Aug 29;15(9):1828. doi: 10.3390/v15091828.
15. Temporary guidelines for the prevention, diagnosis, and treatment of new coronavirus infections. Version 3 (03/03/2020)
16. Fan Wu, Aojie Wang, Mei Liu, et al. Neutralizing antibody responses to SARS-CoV-2 in a COVID-19 recovered patient cohort and their implications. *April 2020* doi:<https://doi.org/10.1101/2020.03.30.20047365>.
17. Suthar MS, Zimmerman MG, Kauffman RC, et al. Rapid Generation of Neutralizing Antibody Responses in COVID-19 Patients. *Cell Rep Med.* 2020;1(3):100040.
18. Huang Q, Han X, Yan J. Structure-based neutralizing mechanisms for SARS-CoV-2 antibodies. *Emerg Microbes Infect.* 2022;11(1):2412–2422.
19. Li CJ, Chang SC. SARS-CoV-2 spike S2-specific neutralizing antibodies. *Emerg Microbes Infect.* 2023;12(2):220582.
20. Micochova P, Kemp SA, Dhar MS, et al. SARS-CoV-2 B.1.617.2 Delta variant replication and immune evasion. *Nature.* 2021;599(7883):114–119.
21. Planas D, Veyer D, Baidaliuk A, et al. Reduced sensitivity of SARS-CoV-2 variant Delta to antibody neutralization. *Nature.* 2021;596(7871):276–280.
22. Liu H, Wilson IA. Protective neutralizing epitopes in SARS-CoV-2. *Immunol Rev.* 2022;310(1):76–92.
23. Chen Y, Zhi X, Zhou X, Zhou H, et al. Antigen-Specific Adaptive Immunity to SARS-CoV-2 in Acute COVID-19 and Associations with Age and Disease Severity. *Cell.* 2020;183(4):996–1012.e19.
24. Rydzynski M, Maderbacher C, Ramirez SI, Dan JM, Grifoni A, et al. Antigen-Specific Adaptive Immunity to SARS-CoV-2 in Acute COVID-19 and Associations with Age and Disease Severity. *Cell.* 2020;183(4):996–1012.e19.
25. Wang Q, Guo Y, Zhang RM, et al. Antibody neutralisation of emerging SARS-CoV-2 subvariants: EG.5.1 and XBC.1.6. *Lancet Infect Dis.* 2023;23(10):e397–e398.
26. Qu P, Evans JP, Zheng YM, et al. Evasion of neutralizing antibody responses by the SARS-CoV-2 BA.2.75 variant. *Cell Host Microbe.* 2022;30(11):1518–1526.e4.

Об авторах

- **София Константиновна Пылаева** – младший научный сотрудник клинического отдела ФГАНУ «ФНЦИРИП им. М. П. Чумакова РАН». +7 (916) 853-74-94, pylaevava@gmail.com. <https://orcid.org/0000-0003-4106-0184>.
- **Любовь Игоревна Козловская** – д. б. н., ведущий научный сотрудник лаборатории полиомиелита и других энтеровирусных инфекций с референс-центром ВОЗ по надзору за полиомиелитом ФГАНУ «ФНЦИРИП им. М. П. Чумакова РАН»; доцент кафедры организации и технологии производства иммунобиологических препаратов Института трансляционной медицины и биотехнологии ФГАОУ ВО Первого МГМУ им. И. М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет). lubov_i_k@mail.ru. <https://orcid.org/0000-0002-3029-1035>.
- **Александр Анатольевич Еровиченков** – д. м. н., профессор, заведующий клиническим отделом ФГАНУ «ФНЦИРИП им. М. П. Чумакова РАН». erovichenkov_aa@chumakovs.ru. <https://orcid.org/0000-0002-5087-6946>.
- **Дина Ильгамовна Сиразова** – студентка Сеченовского Университета, 2 курс магистратуры по направлению Биотехнология; лаборант-исследователь ФГАНУ «ФНЦИРИП им. М. П. Чумакова РАН», лаборатория полиомиелита и других ЭВИ с референс-центром ВОЗ по надзору за полиомиелитом. dinasirza@gmail.com. <https://orcid.org/0009-0003-9101-5282>.
- **Елена Юрьевна Шустова** – н. с., лаборатория молекулярной биологии вирусов ФГАНУ «ФНЦИРИП им. М. П. Чумакова РАН». riw.sun@list.ru. <https://orcid.org/0000-0003-1314-0152>.
- **Евгения Алексеевна Артамонова** – младший научный сотрудник клинического отдела ФГАНУ «ФНЦИРИП им. М. П. Чумакова РАН». e.artamoon@gmail.com. <https://orcid.org/0000-0003-1496-0478>.
- **Александра Александровна Синогина** – руководитель направления по качеству и инновационным разработкам ФГАНУ «ФНЦИРИП им. М. П. Чумакова РАН». asina78@mail.ru. <https://orcid.org/0000-00026416-257>.
- **Илья Владимирович Гордейчук** – к. м. н., заведующий отделом инновационных биотехнологических препаратов ФГАНУ «ФНЦИРИП им. М. П. Чумакова РАН». gordeychuk_iv@chumakovs.ru. <https://orcid.org/0000-0002-4551-7535>.
- **Дмитрий Витальевич Трошанский** – д. м. н., руководитель информационно-аналитического отдела Московского многопрофильного клинического центра «Коммунарка» Департамента здравоохранения города Москвы. gkb40@zdrav.mos.ru.
- **Елена Владимировна Косарева** – врач-терапевт, заведующая отделением 23 терапевтического отделения Московского многопрофильного клинического центра «Коммунарка» Департамента здравоохранения города Москвы. kosarevaalena@mail.ru.
- **Ольга Николаевна Солодовникова** – к. м. н., заместитель главного врача по инфекции Московского многопрофильного клинического центра «Коммунарка» Департамента здравоохранения города Москвы. docsolodovnikova@yandex.ru. <https://orcid.org/0000-0002-2792-4903>.
- **Рустам Казбекович Коготыжев** – заместитель главного врача по онкологии Московского многопрофильного клинического центра «Коммунарка» Департамента здравоохранения города Москвы. mr.kogotyjeff@yandex.ru. <https://orcid.org/0000-0002-1589-6423>.
- **Анастасия Юрьевна Берестовская** – заведующая клинико-диагностической лабораторией, Московский многопрофильный клинический центр «Коммунарка» Департамента здравоохранения города Москвы Россия. berestovskaya@gmail.com. <https://orcid.org/0000-0003-4267-1745>.
- **Игорь Николаевич Тюрин** – к. м. н., заместитель директора по лечебной работе, главный врач Московского многопрофильного клинического центра «Коммунарка» Департамента здравоохранения города Москвы. tyurin.dti@yandex.ru. <https://orcid.org/0000-0003-3931-1431>.
- **Денис Николаевич Проценко** – д. м. н., главный врач Московского многопрофильного клинического центра «Коммунарка» Департамента здравоохранения города Москвы; заведующий кафедрой анестезиологии и реаниматологии ФДПО РНИМУ им. Н. И. Пирогова. ProtsenkoDN@zdrav.mos.ru. <https://orcid.org/0000-0002-5166-3280>.
- **Айдар Айратович Ишмухаметов** – член-корреспондент РАН, д. м. н., профессор, генеральный директор ФГАНУ «ФНЦИРИП им. М. П. Чумакова РАН». sue_polio@chumakovs.ru. <https://orcid.org/0000-0001-6130-4145>.

Поступила: 15.05.2024. Принята к печати: 20.06.2024.

Контент доступен под лицензией CC BY 4.0.

About the Authors

- **Sofia K. Pylaeva** – Chumakov Federal Scientific Center for Research and Development of Immune-and-Biological Products of Russian Academy of Sciences. +7 (916) 853-74-94, pylaevava@gmail.com. <https://orcid.org/0000-0003-4106-0184>.
- **Lubov I. Kozlovskaya** – Dr. Sci. (Biol.), Chumakov Federal Scientific Center for Research and Development of Immune-and-Biological Products of Russian Academy of Sciences; I.M. Sechenov First Moscow State Medical University of Ministry of Healthcare of the Russian Federation (Sechenov University). lubov_i_k@mail.ru. <https://orcid.org/0000-0002-3029-1035>.
- **Aleksandr A. Erovichenkov** – Dr. Sci. (Med.), Professor, Chumakov Federal Scientific Center for Research and Development of Immune-and-Biological Products of Russian Academy of Sciences. erovichenkov_aa@chumakovs.ru. <https://orcid.org/0000-0002-5087-6946>.
- **Dina I. Sirazova** – I.M. Sechenov First Moscow State Medical University of Ministry of Healthcare of the Russian Federation (Sechenov University); Chumakov Federal Scientific Center for Research and Development of Immune-and-Biological Products of Russian Academy of Sciences. dinasirza@gmail.com. <https://orcid.org/0009-0003-9101-5282>.
- **Elena Y. Shustova** – Chumakov Federal Scientific Center for Research and Development of Immune-and-Biological Products of Russian Academy of Sciences. riw.sun@list.ru. <https://orcid.org/0000-0003-1314-0152>.
- **Evgenia A. Artamonova** – Chumakov Federal Scientific Center for Research and Development of Immune-and-Biological Products of Russian Academy of Sciences. e.artamoon@gmail.com. <https://orcid.org/0000-0003-1496-0478>.
- **Aleksandra A. Sinyugina** – Chumakov Federal Scientific Center for Research and Development of Immune-and-Biological Products of Russian Academy of Sciences. asina78@mail.ru. <https://orcid.org/0000-00026416-257>.
- **Ilya V. Gordeychuk** – Chumakov Federal Scientific Center for Research and Development of Immune-and-Biological Products of Russian Academy of Sciences; Institute for Translational Medicine and Biotechnology, Sechenov University. gordeychuk_iv@chumakovs.ru. <https://orcid.org/0000-0002-4551-7535>.
- **Dmitriy V. Troshyanskiy** – Moscow Multidisciplinary Clinical Center «Kom-munarka» of the Moscow Department of Health. gkb40@zdrav.mos.ru.
- **Elena V. Kosareva** – Moscow Multidisciplinary Clinical Center «Kommu-narka» of the Moscow Department of Health. kosarevaalena@mail.ru.
- **Olga N. Solodovnikova** – Moscow Multidisciplinary Clinical Center «Kommu-narka» of the Moscow Department of Health. docsolodovnikova@yandex.ru. <https://orcid.org/0000-0002-2792-4903>.
- **Rustam K. Kogotyzhev** – Moscow Multidisciplinary Clinical Center «Kom-munarka» of the Moscow Department of Health. mr.kogotyjeff@yandex.ru. <https://orcid.org/0000-0002-1589-6423>.
- **Anastasiya U. Berestovskaia** – Moscow Multidisciplinary Clinical Center «Kommu-narka» of the Moscow Department of Health. berestovskaya@gmail.com. <https://orcid.org/0000-0003-4267-1745>.
- **Igor N. Tyurin** – Cand. Sci. (Med.), Moscow Multidisciplinary Clinical Center «Kommu-narka» of the Moscow Department of Health. tyurin.dti@yandex.ru. <https://orcid.org/0000-0003-3931-1431>.
- **Denis N. Protsenko** – Dr. Sci. (Med.), Moscow Multidisciplinary Clinical Center «Kommu-narka» of the Moscow Department of Health; Pirogov Russian National Research Medical University of the Ministry of Health of the Russian Federation. ProtsenkoDN@zdrav.mos.ru. <https://orcid.org/0000-0002-5166-3280>.
- **Aydar A. Ishmukhametov** – Chumakov Federal Scientific Center for Research and Development of Immune-and-Biological Products of Russian Academy of Sciences. sue_polio@chumakovs.ru. <https://orcid.org/0000-0001-6130-4145>.

Received: 15.05.2024. Accepted: 20.06.2024.

Creative Commons Attribution CC BY 4.0.