

ДИНАМИКА КОНЦЕНТРАЦИИ АНТИТЕЛ К SARS-COV-2 В ТЕЧЕНИЕ 12 МЕСЯЦЕВ ПОСЛЕ ПЕРЕНЕСЕННОЙ ИНФЕКЦИИ COVID-19

Н. А. Маянский¹✉, Е. А. Бржозовская¹, С. С. Стоянова¹, А. В. Фролков¹, Ю. С. Лебедин²

¹ Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н. И. Пирогова, Москва, Россия

² Общество с ограниченной ответственностью «ХЕМА», Москва, Россия

Формирование и поддержание иммунитета против SARS-CoV-2 является важным условием преодоления пандемии новой коронавирусной инфекции COVID-19. Целью работы было охарактеризовать динамику уровня антител IgG к рецептор-связывающему домену (RBD) SARS-CoV-2 с использованием набора для иммуноферментного анализа (ИФА), откалиброванного при помощи Международного стандарта анти-SARS-CoV-2-иммуноглобулинов (IS-SARS-CoV-2). Концентрацию анти-RBD-IgG измеряли в когорте лиц после выздоровления от COVID-19 с интервалом в месяц в течение 6 месяцев и в точке 12 месяцев с использованием наборов ИФА, откалиброванных IS-SARS-CoV-2; результаты представляли в единицах связывания антител (BAU) на 1 мл. Всего исследовали 97 образцов сыворотки крови от 20 человек с ПЦР-подтвержденной инфекцией SARS-CoV-2. К первому месяцу после заражения средний геометрический титр (GMT) анти-RBD-IgG составил 433 BAU/мл (диапазон 36–25900 BAU/мл). Со временем концентрация IgG против RBD постепенно снижалась, достигая GMT в 68 BAU/мл к 12 месяцу; анти-RBD-IgG сохранялись у 13 из 14 (93%) лиц, обследованных через 12 месяцев после инфицирования. Стандартизированные количественные серологические данные играют важную роль в мониторинге иммунного ответа и облегчают сравнение между исследованиями, создавая основу для поиска общего серологического коррелята иммунной защиты против SARS-CoV-2.

Ключевые слова: SARS-CoV-2, анти-RBD IgG, динамика, концентрация, BAU/мл

Вклад авторов: Н. А. Маянский — концепция, обработка результатов, написание текста; Е. А. Бржозовская — сбор образцов, выполнение ИФА, обработка результатов, подготовка иллюстраций; С. С. Стоянова — сбор образцов, обработка результатов, подготовка иллюстраций; А. В. Фролков — обработка результатов, подготовка рукописи; Ю. С. Лебедин — концепция, выполнение ИФА, редактирование рукописи.

Соблюдение этических стандартов: исследование одобрено этическим комитетом РНИМУ им. Н. И. Пирогова (протокол № 197 от 21 мая 2020 г.).

✉ **Для корреспонденции:** Николай Андреевич Маянский
ул. Островитянова, д. 1. г. Москва, Россия; mayanskiy.nikolay@gmail.com

Статья получена: 01.02.2022 **Статья принята к печати:** 14.02.2022 **Опубликована онлайн:** 20.02.2022

DOI: 10.24075/vrgmu.2022.007

DYNAMIC CHANGES IN THE CONCENTRATION OF ANTI-SARS-COV-2 ANTIBODIES WITHIN 12 MONTHS AFTER RECOVERY FROM COVID-19

Mayanskiy NA¹✉, Brzhozovskaya EA¹, Stoyanova SS¹, Frolkov AV¹, Lebedin YuS²

¹ Pirogov Russian National Research Medical University, Moscow, Russia

² XEMA LLC, Moscow, Russia

Generation and maintenance of immunity to SARS-CoV-2 is essential for overcoming the pandemic of the novel coronavirus infection COVID-19. The study was aimed to assess the dynamic changes in the levels of IgG antibodies against the SARS-CoV-2 receptor-binding domain (RBD) with the use of the enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) kits, calibrated using the International Standard for anti-SARS-CoV-2 immunoglobulin (IS-SARS-CoV-2). The concentrations of anti-RBD-IgG were measured in the cohort of individuals, who had recovered from COVID-19, with an interval of a month for 6 months, and at a time point of 12 months, using the ELISA kits, calibrated with the use of IS-SARS-CoV-2; the results were expressed in binding antibody units (BAU) per 1 mL. A total of 97 blood serum samples, obtained from 20 individuals with SARS-CoV-2 infection, confirmed by PCR, were collected. The geometric mean titer (GMT) of anti-RBD-IgG was 433 BAU/mL (range 36–25,900 BAU/mL) within a month after the infection. The concentration of anti-RBD-IgG gradually decreased with time and reached the GMT value of 68 BAU/mL by the 12th month; anti-RBD-IgG persisted in 13 individuals (93%) out of 14, examined 12 months after the infection. The standardized quantitative serological data play a vital part in monitoring the immune response and make it easier to compare the studies, providing the basis for seeking the common serological correlate of the protective immunity to SARS-CoV-2.

Keywords: SARS-CoV-2, anti-RBD IgG, dynamic changes, concentration, BAU/mL

Author contribution: Mayansky NA — concept, data processing, manuscript writing; Brzhozovskaya EA — sample collection, ELISA, data processing, making illustrations; Stoyanova SS — sample collection, data processing, making illustrations; Frolkov AV — data processing, manuscript preparation; Lebedin YuS — concept, ELISA, manuscript editing.

Compliance with ethical standards: the study was approved by the Ethics Committee of the Pirogov Russian National Research Medical University (protocol № 197 dated May 21, 2020).

✉ **Correspondence should be addressed:** Nikolay A. Mayanskiy
Ostrovitianova, 1, Moscow, Russia; mayanskiy.nikolay@gmail.com

Received: 01.02.2022 **Accepted:** 14.02.2022 **Published online:** 20.02.2022

DOI: 10.24075/brsmu.2022.007

Естественное инфицирование и вакцинация против COVID-19 приводят к выработке антител против вирусных антигенов, играющих важную роль в мониторинге иммунного ответа [1]. Хотя ожидается, что приобретенный естественным путем иммунитет к SARS-CoV-2 будет длительным [2–3], серологический эквивалент защиты от вируса еще не установлен. Одним из препятствий для определения такого коррелята является отсутствие

стандартизации лабораторных анализов, что, вероятно, объясняет противоречивые литературные данные о серологических исследованиях при SARS-CoV-2-инфекции. Недавно ВОЗ ввела Международный стандарт анти-SARS-CoV-2-иммуноглобулинов (IS-SARS-CoV-2), который позволяет унифицировать результаты измерения уровня антител к SARS-CoV-2, используя единицы IS-SARS-CoV-2, а именно единицы связывания антител

(binding antibody units, BAU) [1]. Целью исследования было измерить концентрацию IgG к рецепторсвязывающему домену (RBD) SARS-CoV-2 в разные моменты времени в течение 12-месячного периода в когорте медицинских работников, переболевших SARS-CoV-2-инфекцией, с использованием наборов для иммуноферментного анализа (ИФА), откалиброванных по IS-SARS-CoV-2.

ПАЦИЕНТЫ И МЕТОДЫ

В исследовании, продолжавшемся с мая 2020 г. по июнь 2021 г., приняли участие сотрудники Российской детской клинической больницы РНИМУ им. Н. И. Пирогова. Критерии включения в исследование: наличие положительного ПЦР-теста на CoVID-19. Критерии исключения: отсутствовали.

В апреле и мае 2020 г. лица с положительным результатом ПЦР на SARS-CoV-2 после возвращения на работу сдавали образец сыворотки с интервалом в месяц для измерения анти-RBD-IgG. Образцы собирали ежемесячно в течение 6 месяцев, а последняя проба была получена через 12 месяцев после положительного результата ПЦР; от каждого участника было получено 4–7 образцов. Собранные образцы хранили при температуре -80°C .

Все образцы были проанализированы в одной серии в июле 2021 г. с использованием набора ИФА для количественного определения анти-RBD-IgG (ХЕМА; Россия) [4], откалиброванного при помощи IS-SARS-CoV-2. Аналитический диапазон составлял 15–240 BAU/мл; образцы с концентрацией анти-RBD-IgG >240 BAU/мл дополнительно разводили в 10–100 раз и повторно измеряли в отдельной серии. Положительными считали образцы при уровне анти-RBD-IgG ≥ 15 BAU/мл.

Статистическую обработку проводили при помощи пакета программ IBM SPSS Statistics 27.0 (IBM Corp.; США).

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Всего в ходе исследования было получено 97 образцов сыворотки у 20 индивидов, в том числе у 14 (70%) женщин, с подтвержденной ПЦР SARS-CoV-2-инфекцией. Медиана возраста составила 50 лет (Q_1 – Q_3 , 40–57 лет). Течение COVID-19 у всех участников было легкой или средней степени тяжести, тяжелые случаи отсутствовали.

У трех человек образцы сыворотки были получены за месяц до заражения SARS-CoV-2; в этих образцах анти-RBD-IgG не обнаружены. Через месяц после положительного результата ПЦР SARS-CoV-2 у всех участников присутствовали анти-RBD-IgG в концентрации выше порогового значения, равного 15 BAU/мл, со средним геометрическим титром (GMT) 433 BAU/мл (95% ДИ, 123–1527 BAU/мл; диапазон — 36–25900 BAU/мл) (см. рисунок). В точке 2 месяца медиана GMT имела близкое значение — 456 BAU/мл (95% ДИ, 154–1353 BAU/мл). В дальнейшем концентрация анти-RBD-IgG постепенно снижалась, достигнув медианы GMT 68 BAU/мл (95% ДИ, 35–131 BAU/мл) к 12 месяцу. В промежутке между первым и шестым месяцами все образцы были анти-RBD-IgG-положительными. Из 14 человек, обследованных через 12 месяцев после заражения SARS-CoV-2, 13 (93%) индивидов сохраняли серопозитивность в отношении анти-RBD-IgG с GMT выше 15 BAU/мл. Медиана концентрации анти-RBD-IgG была в 6,7 раза ниже (95% ДИ, 4,4–10,3 раз) через 12 месяцев по сравнению с самой высокой медианой GMT, выявленной на втором месяце после инфицирования SARS-CoV-2.

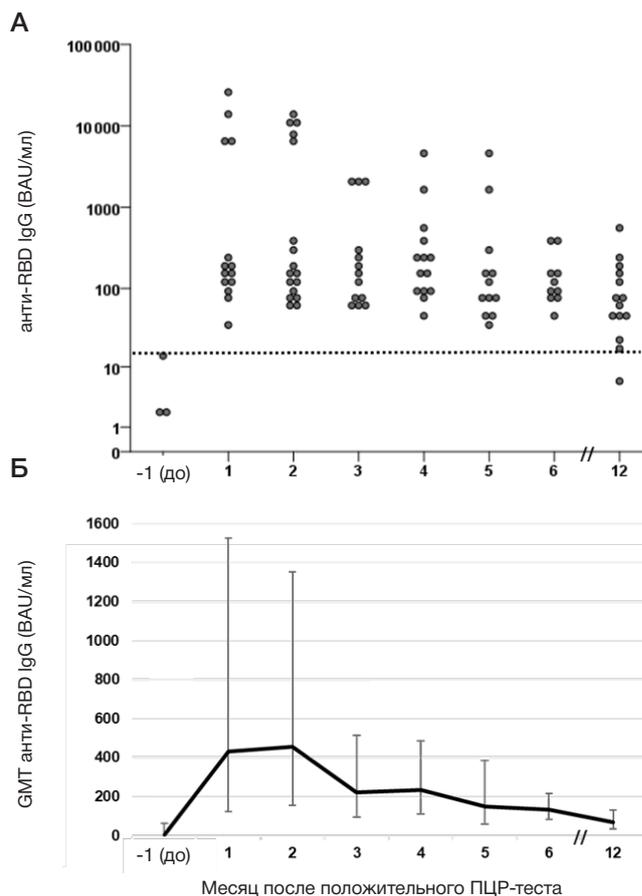


Рис. Концентрация анти-RBD-IgG в зависимости от времени после положительного ПЦР-теста на SARS-CoV-2. (А) Индивидуальные значения 97 образцов и (Б) средние геометрические титры (GMT) с 95%-м ДИ анти-RBD-IgG, выраженные в BAU/мл; пунктирная линия в (А) на уровне 15 BAU/мл указывает порог положительных значений

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

До сих пор было опубликовано лишь несколько исследований, в которых использованы стандартизированные значения количества антител против SARS-CoV-2 после естественной инфекции и/или вакцинации [5–7]. Так, при помощи метода нейтрализации живого вируса показано, что анти-RBD-IgG в концентрации ≥ 100 BAU/мл через год после заражения полностью нейтрализовали три вызывающих опасения варианта SARS-CoV-2, что снизило риск повторного заражения этими штаммами вируса [5]. В другом сообщении у вакцинированных м-РНК-вакциной на 14-й день после вакцинации GMT анти-RBD-IgG составлял 7756 BAU/мл [6]. Таким образом, количественные результаты дают основание для поиска общего серологического коррелята иммунной защиты против SARS-CoV-2. Более того, такие данные важны для мониторинга естественного иммунитета и облегчают сравнение иммунного ответа на различные вакцины [1]. Значительные различия и системная погрешность в числовых результатах, выраженных в BAU/мл, при использовании различных тест-систем [7] оправдывают дальнейшие усилия по унификации серологических тестов, выявляющих антитела против SARS-CoV-2.

ВЫВОДЫ

В работе проведена оценка динамики антительного ответа на SARS-CoV-2-инфекцию в ходе формирования естественного иммунитета. Применение IS-SARS-CoV-2

для калибровки ИФА-тест-системы позволило продемонстрировать изменение концентрации анти-RBD IgG в широком диапазоне от 36 до 25900 ВАУ/мл с максимальным разбросом значений в первые два месяца

после инфицирования. С течением времени уровень анти-RBD-IgG постепенно снижался, однако положительные значения сохранялись на протяжении всех 12 месяцев наблюдения у большинства обследованных.

Литература

1. Kristiansen PA, Page M, Bernasconi V, Mattiuzzo G, Dull P, Makar K, et al. WHO International Standard for anti-SARS-CoV-2 immunoglobulin. *Lancet*. 2021; 397: 1347–8. DOI: 10.1016/S0140-6736(21)00527-4.
2. Wang Z, Muecksch F, Schaefer-Babajew D, Finkin S, Viant C, Gaebler C, et al. Naturally enhanced neutralizing breadth against SARS-CoV-2 one year after infection. *Nature*. 2021; 595: 426–31. DOI: 10.1038/s41586-021-03696-9.
3. De Giorgi V, West KA, Henning AN, Chen LN, Holbrook MR, Gross R, et al. Naturally acquired SARS-CoV-2 immunity persists for up to 11 months following infection. *J Infect Dis*. 2021: jjab295. DOI: 10.1093/infdis/jjab295.
4. SARS-CoV-2-IgG EIA instruction manual. <https://xema-medica.com/eng/sets/ifu/Archive/>. (kit K153GQIE v2018). (Assessed 20 September 2021).
5. Gallais F, Gantner P, Bruel T, Velay A, Planas D, Wendling MJ, et al. Evolution of antibody responses up to 13 months after SARS-CoV-2 infection and risk of reinfection. *EBioMedicine*. 2021; 71: 103561. DOI: 10.1016/j.ebiom.2021.103561.
6. Borobia AM, Carcas AJ, Pérez-Olmeda M, Castaño L, Bertran MJ, García-Pérez J, et al. Immunogenicity and reactogenicity of BNT162b2 booster in ChAdOx1-S-primed participants (CombiVacS): a multicentre, open-label, randomised, controlled, phase 2 trial. *Lancet*. 2021; 398: 121–30. DOI: 10.1016/S0140-6736(21)01420-3.
7. Kim Y, Lee JH, Ko GY, Ryu JH, Jang JH, Bae H, 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 (Basel)*. 2021; 11: 1496. DOI: 10.3390/diagnostics11081496.

References

1. Kristiansen PA, Page M, Bernasconi V, Mattiuzzo G, Dull P, Makar K, et al. WHO International Standard for anti-SARS-CoV-2 immunoglobulin. *Lancet*. 2021; 397: 1347–8. DOI: 10.1016/S0140-6736(21)00527-4.
2. Wang Z, Muecksch F, Schaefer-Babajew D, Finkin S, Viant C, Gaebler C, et al. Naturally enhanced neutralizing breadth against SARS-CoV-2 one year after infection. *Nature*. 2021; 595: 426–31. DOI: 10.1038/s41586-021-03696-9.
3. De Giorgi V, West KA, Henning AN, Chen LN, Holbrook MR, Gross R, et al. Naturally acquired SARS-CoV-2 immunity persists for up to 11 months following infection. *J Infect Dis*. 2021: jjab295. DOI: 10.1093/infdis/jjab295.
4. SARS-CoV-2-IgG EIA instruction manual. <https://xema-medica.com/eng/sets/ifu/Archive/>. (kit K153GQIE v2018). (Assessed 20 September 2021).
5. Gallais F, Gantner P, Bruel T, Velay A, Planas D, Wendling MJ, et al. Evolution of antibody responses up to 13 months after SARS-CoV-2 infection and risk of reinfection. *EBioMedicine*. 2021; 71: 103561. DOI: 10.1016/j.ebiom.2021.103561.
6. Borobia AM, Carcas AJ, Pérez-Olmeda M, Castaño L, Bertran MJ, García-Pérez J, et al. Immunogenicity and reactogenicity of BNT162b2 booster in ChAdOx1-S-primed participants (CombiVacS): a multicentre, open-label, randomised, controlled, phase 2 trial. *Lancet*. 2021; 398: 121–30. DOI: 10.1016/S0140-6736(21)01420-3.
7. Kim Y, Lee JH, Ko GY, Ryu JH, Jang JH, Bae H, 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 (Basel)*. 2021; 11: 1496. DOI: 10.3390/diagnostics11081496.