

ВАКЦИНЫ ПРОТИВ COVID-19 И ОПРЕДЕЛЕНИЕ НЕЙТРАЛИЗУЮЩЕЙ АКТИВНОСТИ К ВИРУСУ SARS-CoV-2 КАК МЕТОД ДЛЯ ПОНИМАНИЯ ИММУНИТЕТА.

Мельник А.А., к.б.н.

В мире продолжается пандемия, связанная с коронавирусом COVID-19, что сопровождается значительной заболеваемостью и смертностью. По состоянию на начало января 2021 г. имеется уже более 80 миллионов случаев инфицирования людей и около 2 миллионов смертельных исходов. Согласно современному пониманию течения этой болезни, тяжесть COVID-19 варьируется от бессимптомной до летального исхода (1).

Практически все основные производители лабораторного оборудования и тест-систем в мире ответили на этот вызов с рекордной скоростью, что позволило охватить большую часть населения, проведя крупномасштабные лабораторные тестирования и получив тем самым очень ценную информацию (2-5). В свою очередь разработчики вакцин также приняли быстрые ответные меры. С момента начала пандемии COVID-19 количество разрабатываемых вакцин против вируса SARS-CoV-2 стремительно растет. По данным ВОЗ (Всемирная организация здравоохранения) в разработке находятся 173 кандидата, 31 из которых проходит тестирование в клинической фазе (10 вакцин дошли до III фазы), а 142 - в доклинической.

Необходимо отметить, что за последние десятилетия успехи ученых в таких областях как молекулярная биология, иммунология, биотехнология и др. смежных дисциплинах позволили значительно усовершенствовать подходы к разработке вакцин. Последовательная смена технологий от классических методов до современных представлена на рисунке 1 (6).

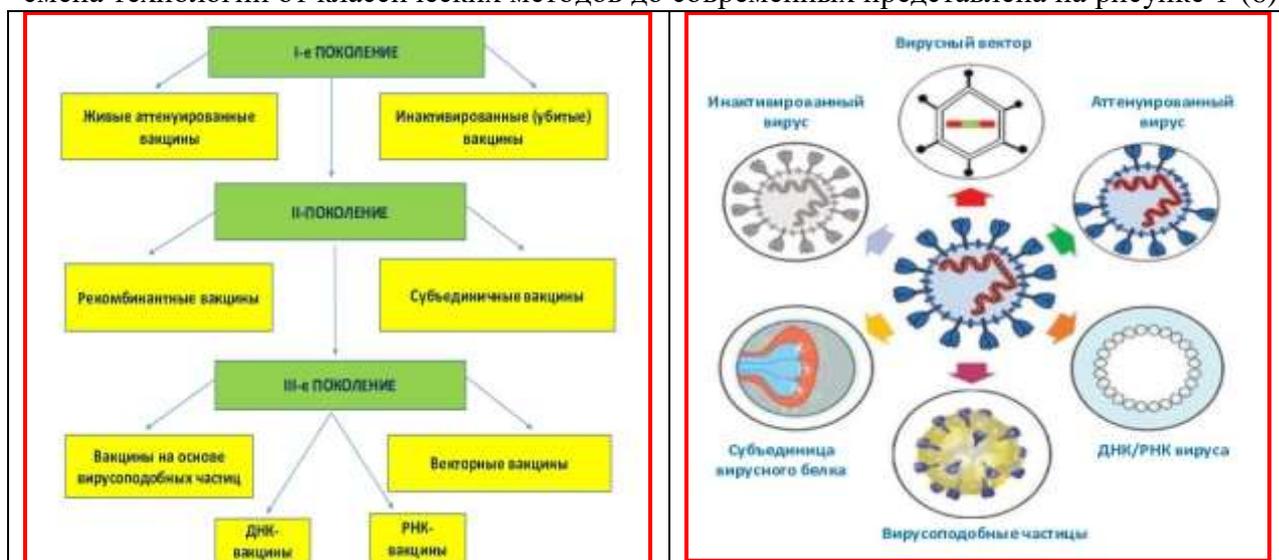


Рис. 1. Классификация вакцин по поколениям.

Для разработки вакцин против SARS-CoV-2 используются различные платформы (7). К ним относятся как традиционные технологии производства вакцин, так и инновационные методы такие как платформы на основе векторов, а также ДНК или РНК. Для разных платформ вакцин требуются разные производственные мощности. Для производства цельновирусных вакцин (живых аттенуированных или цельных инактивированных) необходимо культивировать большое количество вируса, для чего необходимо соблюдения строгого регулирования по соображениям биологической безопасности. В противоположность вакцинам на основе РНК и ДНК не требуется биопроизводства микроорганизмов на базе реакторов. Характеристика вакцин против COVID-19 представлена в таблице 1.

№ п/п	Вакцины	Процесс изготовления вакцин	Вакцины против SARS-CoV-2
1.	Живые аттенуированные вакцины	Из живых микроорганизмов (вирусы, бактерии), которые ослаблены в лабораторных условиях.	Размножаются в организме человека и формируют ответ (могут вызывать заболевание в легкой форме). Живые аттенуированные вакцины производятся путем получения генетически ослабленных версий вируса дикого типа. Эти ослабленные вирусы реплицируются в реципиента, вызывая иммунный ответ, но не вызывают заболевания. Ослабление может быть достигнуто путем генетической модификации вируса или его выращивания в неблагоприятных условиях, так что вирулентность теряется, но иммуногенность сохраняется. Одним из преимуществ живых вакцин состоит в том, что их можно вводить интраназально. Однако проблема безопасности живых аттенуированных вакцин состоит в возможном возврату к вирусу дикого типа. Несколько живых аттенуированных вакцин против SARS-CoV-2 находятся в стадии доклинической исследований, но ни одна из них не была испытана на людях (8).
2.	Инактивированные вирусные вакцины	Из вирулентных вирусов путем разрушения вирусных детерминант химическими или физическими методами. (при этом сохраняется иммуногенность).	Содержат большое количество антигена вируса, чтобы вызвать иммунный ответ и выработку антител. Инактивированные вакцины производятся путем культивирования SARS-CoV-2 в культуре клеток с последующей химической инактивацией вируса (9,10). Инактивированный вирус часто комбинируют с адьювантом в вакцине для стимуляции иммунного ответа. Для их производства требуется технологическая установка с уровнем биобезопасности 3. Иммунные ответы на вакцину, инактивированную SARS-CoV-2, будут нацелены не только на S-белок, но и на другие компоненты вируса. Прототипы ин-

			активированных вакцин против SARS-CoV-2 разрабатываются в Китае, Индии и Казахстане. Некоторые из них находятся на последних стадиях клинических исследований.
3.	Рекомбинантные векторные вакцины	Получают генно-инженерными методами. В качестве векторов используют живые аттенуированные вирусы, бактерии, дрожжи или эукариотические клетки, в которые встраивают ген, кодирующий образование протективного антигена возбудителя против которого будет направлена вакцина.	Преимуществом использования вирусов в качестве вектора является более длительная персистенция вирусов в организме по сравнению с бактериями. Рекомбинантные белковые вакцины состоят из вирусных белков, которые экспрессируются в одной из различных систем, включая клетки насекомых и млекопитающих, дрожжевые клетки и растения. Эти вакцины обычно вводятся внутримышечно. Для них не требуется репликация живого вируса, что облегчает их производство, хотя выход продукции зависит от способности экспрессировать S-белок. Рекомбинантные вакцины против SARS-CoV-2, находящиеся в разработке, включают вакцины с рекомбинантным S-белком, рекомбинантные вакцины RBD и вакцины с вирусоподобными частицами (VLP).
4.	Субъединичные вакцины	Состоят из одной или нескольких субъединиц белков, которые могут индуцировать иммунитет против вирусов. Эти вакцины не содержат живых компонентов патогена, а содержат лишь его антигенные части.	Необходимы для выработки протективного иммунитета. Вакцина, в состав которой входит очищенный иммуногенный вирусный белок, безопасна, стабильна, не содержит дополнительных балластных белков и нуклеиновых кислот, которые могли бы вызвать нежелательные побочные реакции при вакцинации.
5.	Вакцины на основе вирусоподобных частиц (Virus Like Particle Vaccine - VLPV).	VLPV - это пустые частицы вирусов, состоящие из основных структурных белков, имитирующие организацию и конформацию нативных вирусов.	Сохраняется конформационная структура эпитопов, что имеет значение для иммуногенности вакцин. Отсутствует риск получения вирулентных ревертантов, что имеет место при применении живых аттенуированных вакцин.
6.	Векторные вакцины	В векторных вакцинах,]Одним из недостатков вектор-

		<p>не способных к репликации, используется другой векторный вирус, который был сконструирован так, чтобы не реплицироваться <i>in vivo</i> и не экспрессировать вирусный белок, который является предполагаемой иммунной мишенью. Многие некомпетентные к репликации векторные вакцины-кандидаты используют аденовирусные векторы.</p>	<p>ных вакцин является то, что ранее существовавший иммунитет к вектору может ослаблять иммуногенность вакцины (11). Этого можно избежать, используя вирусные векторы, которые не распространены у людей (векторы, полученные из вирусов животных, таких как аденовирус шимпанзе). Большинство разрабатываемых векторных вакцин, не способных к репликации SARS-CoV-2, вводятся внутримышечно и сконструированы таким образом, чтобы экспрессировать S-белок, что приводит к иммунному ответу хозяина на этот белок.</p>
7.	ДНК-вакцины	<p>Создаются на основе технологии, с помощью которой накопление протективного антигена происходит в организме прививаемого.</p>	<p>ДНК конструкция, которая кодирует синтез протективного антигена, встраивается в вектор, в качестве которого выступают плазмиды, фаги, вирусы, липосомы, эукариотические клетки. Вектор со встроенной ДНК вводится в организм вакцинируемого, в котором происходит наработка протективного антигена. ДНК-вакцины вызывают более слабый иммунный ответ по сравнению с цельновирионными. Для повышения иммуногенности ДНК-вакцин применяют: включение иммуностимулирующих нуклеотидных последовательностей в ДНК конструкцию; адьюванты; усовершенствованные методы доставки, в частности с использованием липосом. Однако ДНК-вакцины часто обладают низкой иммуногенностью и нуждаются в специальных устройствах для доставки, таких как электропораторы (воздушный пистолет, стреляющий частицами покрытыми репортными генами), что ограничивает их использование. Кроме того, ДНК-вакцины должны достичь ядра, чтобы транскрибироваться в мРНК и генерировать белки для сти-</p>

			муляции иммунного ответа. Разрабатываемые ДНК-вакцины против SARS-CoV-2 содержат в качестве мишени ген S-белка.
8.	РНК-вакцины	<p>Применяются два основных подхода:</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. использование не-реплицирующейся мРНК, кодирующей, как правило, только один антиген; 2. получение само-амплифицирующегося РНК-репликона из одноцепочечных (+/-) РНК вирусов, в геноме которых структурные гены заменены на гены, кодирующие необходимые антигены и РНК-полимеразу. 	<p>Вакцины на основе мРНК получают путем транскрипции <i>in vitro</i> из линейной ДНК-матрицы, в качестве которой выступает плазмида, с использованием различных РНК-полимераз бактериофагов. При использовании мРНК нет проблем с иммунным ответом на вектор, который часто препятствует повторному введению других вакцин. Кроме того, мРНК не может интегрироваться в геном клетки организма.</p> <p>РНК-вакцины были первыми вакцинами против SARS-CoV-2 и представляют собой совершенно новый подход к вакцинам. После введения РНК транслируется в целевой белок, который призван вызвать иммунный ответ. При этом мРНК остается в цитоплазме клетки и не проникает в ядро. мРНК-вакцины не взаимодействуют и не интегрируются с ДНК реципиента. Эти вакцины производятся полностью <i>in vitro</i>, что облегчает производство. Некоторые вакцины необходимо хранить при очень низких температурах. Данная технология является новой,</p>

Табл.1. Характеристика основных видов вакцин против COVID-19.

Мировые усилия по созданию безопасной и эффективной вакцины против COVID-19 начинают приносить плоды. В настоящее время по всему миру разрешено производство и применение нескольких вакцин (табл.2), многие другие остаются в разработке. Для получения подробной информации о статусе той или иной вакцины на сайте <https://www.raps.org/news-and-articles/news-articles/2020/3/covid-19-vaccine-tracker> представлена информация о вакцинах, которые получили разрешение или одобрение регулирующих органов, а также данные о некоторых перспективных кандидатах на ранней стадии разработки. Эта информация обновляется еженедельно.

Компания - производитель	Pfizer/BioN Tech	Moderna	Oxford-Astra Zeneca	НИЦЭМ им. Н. Ф. Гамалеи	Sinovac Biotech.
Страна-производитель	США, Германия	США	Англия	Россия	Китай
Название вакцины	Comirnaty (tozinameran, BNT162b2)	mRNA-1273	AZD 1222 (Covishield)	Sputnik-V (Gam-COVID-Vac)	Vero Cell
Платформа вакцины	мРНК	мРНК	Аденовирусная векторная вакцина	Аденовирусная векторная вакцина	Инактивированная вакцина
Состав вакцины	мРНК, липиды ((4-гидроксипутил) азан-диил) бис (гексан-6,1-диил) бис (2-гексилдеcanoат), 2 [(полиэтиленгликоль) - 2000]-N, N-дитетрадецилацетамид, 1,2-дистеароил-sn-глицеро-3-фосфохолин и холестерин), хлорид калия, одноосновный фосфат калия, хлорид натрия, дигидрат двухосновного фосфата натрия и сахараза	мРНК, липиды (SM-102, полиэтиленгликоль [PEG] 2000, димиристоил-глицерин [DMG], холестерин и 1,2-дистеароил-sn-глицеро-3-фосфохолин [DSPC]), трометамин, гидрохлорид трометамина, уксусная кислота, ацетат натрия и сахараза	Векторная вакцина, использующая генетически модифицированный аденовирус шимпанзе ChAdOx1	Технология на основе 2-х векторов: аденовирусный вектор-1 (AD26-S), аденовирусный вектор-2 (AD5-S)	Вакцина сделана по самой старой технологии из «убитого» (инактивированного) природного вируса. Производство таких вакцин требует лицензирования по высокому классу биобезопасности так как производитель работает с «живым» вирусом, а не его белками или РНК В состав входит адъювант - гидроксид алюминия
Статус	Утверждена FDA 11 декабря	Утверждена FDA 18 декабря 2020	Утверждена МНРА (Медицин-	Регистрация в МЗ России	

	2020 г. и ЕМА 21 декабря 2020 г.	г.	ский регулятор в Англии) 30 декабря 2020 г.		
Эффективность	95%	94,5%	до 90%	91,4 %	до 80 %
Дозировка и пути введения	Серия из 2-х доз, вводимых с интервалом в 3 недели, (внутримышечно)	Вводится внутримышечно, серией из 2 доз с интервалом в 1 месяц	Вводится внутримышечно, серией из 2-х доз, с промежуточным интервалом от 4-х до 12 недель	Вводится внутримышечно, серией из 2-х доз с интервалом в 21 день	Вводится внутримышечно, серией из 2-х доз с интервалом в 28 дней
Хранение	- 70 ⁰ С	- 20 ⁰ С	2-8 ⁰ С	В жидкой форме при -18 ⁰ С, в лиофилизированной форме "Gam-COVID-Vac-Lyo" 2-8 ⁰ С	2-8 ⁰ С
Ограничения по возрасту	Разрешено к применению для лиц в возрасте 16 лет и старше	Разрешено к применению для лиц в возрасте 18 лет и старше	Разрешено к применению для лиц в возрасте 18 лет и старше	Разрешено к применению для лиц в возрасте 18 лет и старше	Разрешено к применению для лиц в возрасте 18 лет и старше
Стоимость	20 US-\$	33 US-\$	4 US-\$	10 US-\$	20 US-\$

Табл.2. Некоторые вакцины против COVID-19, которые начали применять в мире с начала января 2021 г.

Однако на сегодняшний день возникает чрезвычайно важный вопрос о том, будут ли пациенты, переболевшие COVID-19 иметь защитный иммунитет и каким образом при использовании вакцины возможно определять нейтрализующие антитела, которые ингибируют вирусную репликацию.

Необходимо отметить, что для оценки того, насколько хорошо работает вакцина является иммуногенность. Она показывает какой иммунный ответ вызывает вакцина и как он меняется со временем (12). При измерении иммуногенности оценивается, какие типы иммунных ответов активируются, а также как меняется сила иммунного ответа с течением времени. Этот анализ не только дает информацию о том, насколько хорошо работает вакцина, но и может помочь при расчете дозировки препарата и определении оптимального графика вакцинации (13). В отношении COVID-19 ученые до конца не выяснили, что именно представляет собой эффективный естественный иммунный ответ. Без этого трудно однозначно оценить иммунный ответ, вызванный вакциной. Ориентиром в данном случае могут быть результаты первых исследований, а также знания о других коронавирусах, таких как SARS. В частности, в ходе доклинических исследований было выяснено, что антитела, особенно те, которые способны связаться с S-белком вируса SARS-CoV-2 и не допустить проникновение вируса в клетки, известные как нейтрализующие антитела, являются частью механизма защиты от инфекции. Вместе с тем на данный момент неизвестно, какой уровень (титр) антител необходим для эффективной защиты. Недавние исследования также показали, что количество нейтрали-

зующих антител, образующихся при естественном иммунитете, может уменьшаться в течение нескольких месяцев. Несмотря на то, что данный вывод не стал неожиданностью, пока неизвестно, какое влияние это окажет на продолжительность иммунного ответа.

Нейтрализующие антитела к SARS-CoV-2.

Антитела к SARS-CoV-2 могут быть нацелены на многие кодируемые им белки, включая структурные и неструктурные антигены. До сих пор для серологических исследований в качестве антигенов-мишеней использовались два структурных белка. Один из них нуклеопротеин (NP), который находится внутри вируса или внутри инфицированных клеток. Однако, в связи с тем, что NP защищен от антител вирусной мембраной, поэтому является маловероятным, что антитела к NP могут напрямую нейтрализовать SARS-CoV-2. Второй структурный белок, часто используемый в качестве мишени для характеристики иммунного ответа на SARS-CoV-2 - это Spike-protein (S-белок или белок-шип). S-белок - это большой тримерный гликопротеин, содержащий рецептор-связывающий домен, который использует вирус для соединения со своим клеточным рецептором, ангиотензинпревращающим ферментом 2 (АПФ-2). Для вируса SARS-CoV-2 он является основной потенциальной мишенью для нейтрализующих антител (17-19).

S-белок состоит из двух субъединиц - S1 и S2. S1-субъединица взаимодействует с клетками хозяина через рецептор-связывающий домен (Receptor Binding Domain, RBD) (рис.2).

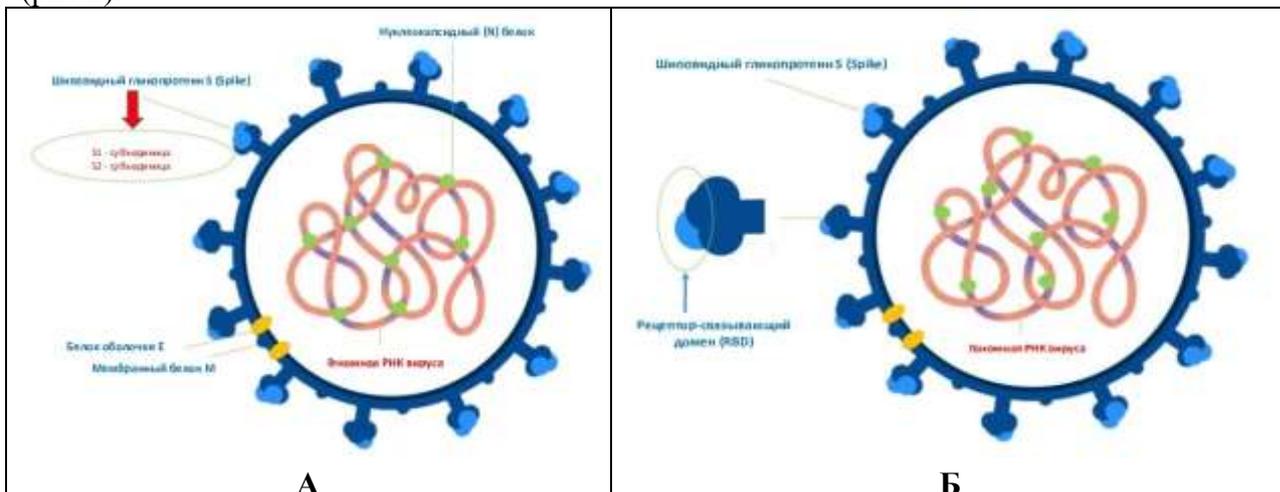


Рис.2. Строение вируса SARS-CoV-2 (А) и рецептор-связывающий домен (RBD), являющийся структурным доменом S1-субъединицы гликопротеина S (Б).

RBD связывается с рецептором АПФ-2, тем самым инициируя процесс внедрения вируса в клетку. Антитела, способные связываться с RBD доменом, могут блокировать контакт с рецептором АПФ-2 и препятствовать проникновению вируса в клетки человека и его последующему размножению. Анти-RBD антитела являются вирус-нейтрализующими (рис.3).

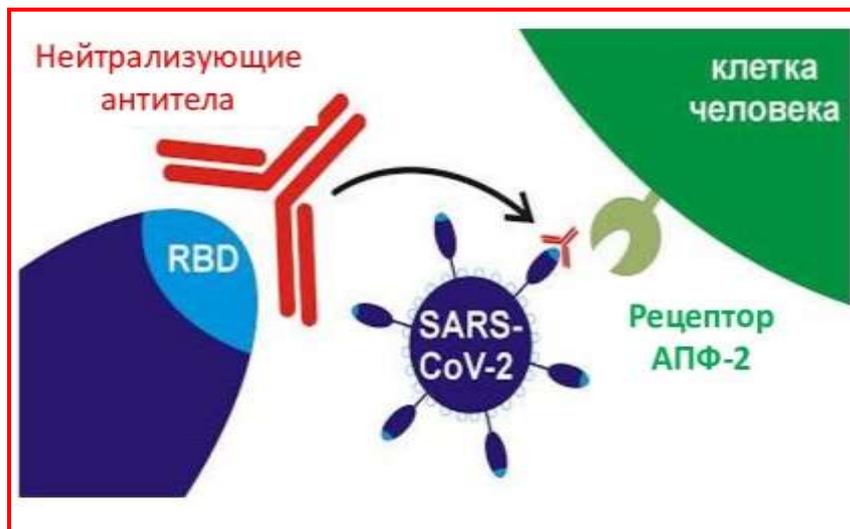


Рис.3. Нейтрализующие антитела, способные связываться с RBD доменом блокируют контакт с рецептором АПФ-2 и препятствуют проникновению вируса в клетки человека.

Моноклональные антитела к S1 субъединице, показывающие нейтрализующую активность, используются как потенциальные терапевтические средства для лечения COVID-19. Нейтрализующие антитела к S-белку являются ключевым активным компонентом конвалесцентной плазмы, используемой для терапии пациентов с тяжелым течением COVID-19. Многие из разрабатываемых в настоящий момент вакцины против COVID-19 направлены на индукцию нейтрализующих анти-S антител.

S-белок является главной целью для нейтрализующих антител против SARS-CoV-2, и анти-S нейтрализующие антитела играют ключевую роль в иммунитете к COVID-19. Однако данные научных исследований четко показали, что не все пациенты с COVID-19 вырабатывают детектируемый уровень антител и абсолютно точно не все пациенты вырабатывают нейтрализующие антитела. Даже среди доноров конвалесцентной плазмы около 10% образцов не содержат детектируемый уровень нейтрализующей активности, что ставит под сомнение терапевтическую эффективность подобной плазмы. Следовательно, для получения желаемых терапевтических эффектов применения конвалесцентной плазмы и для оценки эффективности при разработке вакцин против COVID-19 крайне важно измерение нейтрализующей активности антител.

Учитывая гетерогенность иммунного ответа среди пациентов с COVID-19, важно оценить активность нейтрализующих антител как для индивидуальных пациентов, так и для популяции в целом, чтобы дать ответ на ключевые вопросы об иммунитете к COVID-19, а именно:

1. Какой уровень нейтрализующих антител достаточен для обеспечения полной защиты;
2. Как долго держится эта защита.

Измерение нейтрализующих антител.

Активность нейтрализующих антител обычно измеряется при помощи биологических методов исследования в которых имитируется вирусная инфекция на культурах клеток. Эти тесты трудо- и времязатратны и имеют низкую производительность. Операционная сложность данных тестов делает невозможным их масштабирование для рутинного тестирования до размеров популяции в целом. Такие тест-системы требуют использование вирусных частицы и живых клеток, что также ограничивает возможность применения в обычной клинической лаборатории. Поэтому существует четкая необходимость в разработке простых в работе серологических тестов в качестве потенциальных тестов для оценки активности нейтрализующих антител на большой популяции пациентов.

Набор COVID-SeroKlir, Kantaro Semi-Quantitative SARS-CoV-2 IgG Antibody Kit для определения нейтрализующих антител.

EKF Diagnostics, глобальная компания по диагностике *in vitro*, представила один из первых тестов для точного измерения уровней нейтрализующих антител COVID-19 у людей. В отличие от других тестов на антитела, набор для тестирования антител Kantaro COVID-SeroKlir SARS-CoV-2 IgG определяет как присутствие, так и конкретные количества человеческих антител IgG к вирусу SARS-CoV-2. Это позволяет использовать широкие возможности при диагностике и лечения COVID-19, такие как предоставление жизненно важных знаний для углубления понимания защитного иммунитета, оценки реакции на вакцины и терапевтического лечения.

Набор Kantaro COVID-SeroKlir представляет собой прямой ELISA (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay) тест для количественного определения человеческих антител IgG к вирусу SARS-CoV-2 в образцах сыворотки и плазмы (K2-EDTA/Li-гепарин).

COVID-SeroKlir получил разрешение FDA на использование в чрезвычайных ситуациях (EUA) в ноябре 2020 года (СЕ в октябре 2020 года). COVID-SeroKlir продемонстрировал 98,8% чувствительность и 99,6% специфичность для обнаружения антител IgG, специфичных для SARS-CoV-2 против двух вирусных антигенов - полноразмерного S-белка и его рецептор-связывающего домена. COVID-SeroKlir - это двухэтапный иммуноферментный анализ (ELISA), который может использоваться любой лабораторией без необходимости использования специального оборудования.

Набор был использован для клинических исследований на очень разнообразной когорте из более чем 75 000 пациентов, в том числе более 30 000, у которых был диагностирован COVID-19 (это больше, чем любой другой тест на COVID-19). Кроме того, тест был независимо проверен рецензируемыми журналами, включая Nature и Science (20,21), а также Национальным институтом здоровья США (NIH) (рис.4).



Рис.4. Набор COVID-SeroKlir, Kantaro Semi-Quantitative SARS-CoV-2 IgG Antibody Kit для определения нейтрализующих антител.

2-х этапный анализ (RBD-ELISA и Spike ELISA).

Шаг 1. RBD-ELISA (Определение антител к рецептор-связывающему домену).

Рекомбинантный антиген SARS-CoV-2 Receptor Binding Domain (RBD), предварительно нанесен на стенки 96-луночного микропланшета. В лунках планшета при добавлении исследуемого во время первой инкубации происходит связывание антигена с антителами и образование комплекса «антиген-антитело». После промывки в лунки добавляется моноклональные антитела, связанные с ферментом, специфичные к человеческому IgG.

После повторной промывки добавляется субстрат. Реакцию останавливают стоп-реагентом и измеряют оптическую плотность (ОП) в каждой лунке на микропланшетном ридере при длине волны 450 нм (рис.5).

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	Blank	S6	S14	S22	S30	S38	S46	S54	S62	S70	S78	S86
B	Pos Control	S7	S15	S23	S31	S39	S47	S55	S63	S71	S79	S87
C	Neg Control	S8	S16	S24	S32	S40	S48	S56	S64	S72	S80	S88
D	S1	S9	S17	S25	S33	S41	S49	S57	S65	S73	S81	S89
E	S2	S10	S18	S26	S34	S42	S50	S58	S66	S74	S82	S90
F	S3	S11	S19	S27	S35	S43	S51	S59	S67	S75	S83	Blank
G	S4	S12	S20	S28	S36	S44	S52	S60	S68	S76	S84	Pos Control
H	S5	S13	S21	S29	S37	S45	S53	S61	S69	S77	S85	Neg Control

Рис.5. Планшет для проведения ELISA RBD.

Расчет результатов производится по следующей формуле:

$$\text{Cutoff Index (CI)} = \frac{\text{ОП}_{\text{образца}}}{\text{ОП}_{\text{RBD положительного контроля}}}$$

Образцы, которые имеют измеренное значение выше заранее определенного порога, считаются положительными на первом этапе ELISA RBD и тестируются на втором этапе Spike ELISA.

Шаг 2. Spike ELISA (Определение антител к S-белку).

Рекомбинантный белок SARS-CoV-2 Spike предварительно нанесен в лунки 96-луночного микропланшета. При добавлении образца с антителами происходит связывание их с белком SARS-CoV-2 Spike. После отмывки от не связавшихся компонентов добавляют меченные ферментом моноклональные антитела, специфичные к человеческому IgG. После вторичной инкубации и удаления избытка конъюгата антител с ферментом определяют ферментативную активность носителя, которая пропорциональна начальной концентрации SARS-CoV-2 Spike. Сигнал от неизвестных образцов сравнивается с калибровочной кривой для получения окончательного результата в условные единицы на миллилитр (AU/мл) (рис.6).

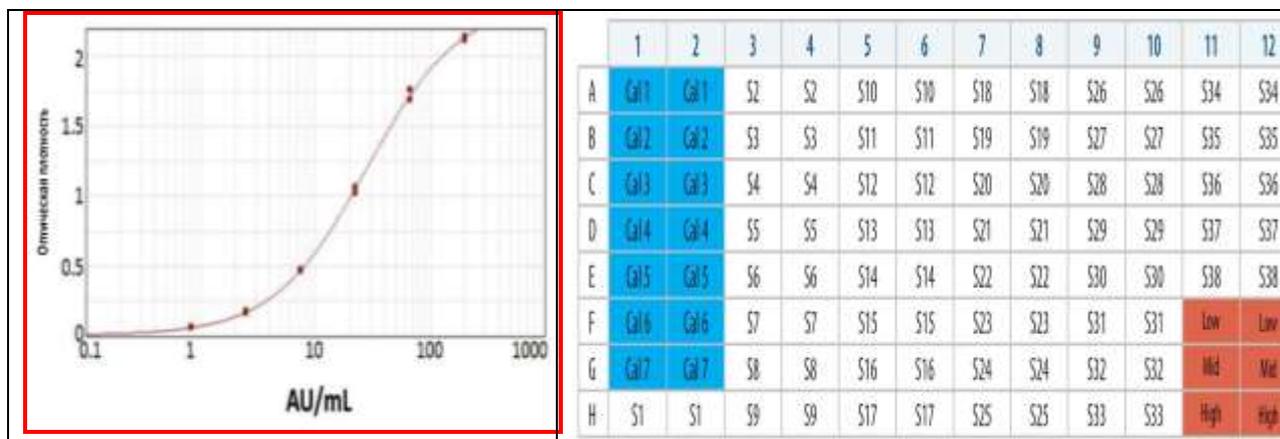


Рис.6. Калибровочная кривая для теста Spike ELISA.

Интерпретация результатов

На этапе RBD ELISA, если рассчитанное значение $CI \geq 0,70$, образец считается RBD-положительный и требует подтверждения с помощью Spike ELISA. Если значение $CI < 0,70$, образец определен как отрицательный. На этапе Spike ELISA результаты отображаются в условных единицах на миллилитр (AU/мл). Значение меньше чем предел количественного определения (LoQ) считается отрицательным. LoQ составляет 3,2 AU/мл. Значение более 3,2 AU/мл считается положительным. Значения выше аналитических диапазона измерения должны указываться как > 125 AU /мл (табл.3).

COVID-SeroKlir, Kantaro Semi-Quantitative SARS-CoV-2 IgG Antibody Kit					
RBD ELISA (качественный)		Spike ELISA (полуколичественный)		Конечный результат	Описание
CI (Cut-off Index)	Результат	AU/ml	Результат	Отрицательный	IgG антитела к SARS-CoV-2 не обнаружены
$< 0,7$	Отрицательный	-	-		
$\geq 0,7$	Положительный. Требуется дополнительный тест Spike ELISA	$< 3,2$	Отрицательный		
		$3,2 - 125$	Положительный	Положительный	IgG антитела к SARS-CoV-2 обнаружены. Необходимо сообщить о измерении величины AU/ml
		> 125	Положительный		

Табл.3. Интерпретация результатов при использовании набора COVID-SeroKlir, Kantaro Semi-Quantitative SARS-CoV-2 IgG Antibody Kit.

Выводы.

1. Разработка вакцин против SARS-CoV-2 с использованием различных платформ происходит беспрецедентными темпами.
2. В борьбе с пандемией вакцины считаются наиболее многообещающим подходом.
3. Эпидемиологические исследования на людях показывают, что инфекция SARS-CoV-2 приводит к выработке функциональных нейтрализующих антител, которые связаны с защитой от повторного заражения. Эти наблюдения подтверждают идею о том, что вакцина, вырабатывающая нейтрализующие антитела, может также защитить от последующей инфекции. Считается, что нейтрализующие антитела очень важны для снижения риска заболевания.
4. Первичной антигенной мишенью для вакцин против SARS-CoV-2 является S-белок, который связывается с рецептором ангиотензин-превращающего фермента 2.
5. После доступности и широкого распространения вакцин против SARS-CoV-2 необходимо будет оценить вопросы эффективности, которые не были рассмотрены в клинических исследованиях, включая продолжительность защиты и потенциальную

потребность в дополнительных дозах, эффективность в субпопуляциях, не включенных в исследования и влияние на передачу инфекции в обществе.

6. Тест-системы для определения нейтрализующих антител могут быть дополнительным инструментом, который предоставит важную информацию для понимания защитного иммунитета, оценки реакции на вакцины и терапевтического лечения.

7. Возможно имеет смысл рассмотреть вопрос о внесении данных о нейтрализующих антителах в «паспорт вакцинации» против COVID-19 .

Литература

1. Wu Z, McGoogan JM. Characteristics of and Important Lessons From the Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) Outbreak in China: Summary of a Report of 72314 Cases From the Chinese Center for Disease Control and Prevention. *JAMA*. 2020.
2. Interpreting Diagnostic Tests for SARS-CoV-2, N Sethuraman, et al, *JAMA* Published online May 6, 2020.
3. Protective immunity after COVID-19 has been questioned: What can we do without SARS-CoV-2-IgG detection? J Gil Melgaço, et al, *Cellular Immunology* 353 (2020) 104114,
4. “Immunity passports” in the context of COVID-19, Scientific Brief, <https://www.who.int/news-room/commentaries/detail/immunity-passports-in-the-context-of-covid-19>
5. Protective Adaptive Immunity Against Severe Acute Respiratory Syndrome Coronaviruses 2 (SARS-CoV-2) and Implications for Vaccines, C Manners, et al, *Cureus* 12(6), 2020: e8399.
6. Finco O, Rappuoli R. Designing vaccines for the twenty-first century society. *Frontiers in Immunology*. January 2014;5:12.
7. Krammer F. SARS-CoV-2 vaccines in development. *Nature* 2020; 586:516.
8. World Health Organization. Draft landscape of COVID-19 candidate vaccines. <https://www.who.int/publications/m/item/draft-landscape-of-covid-19-candidate-vaccines> (Accessed on October 20,2020).
9. Plotkin S, Robinson JM, Cunnighman G. et al. The complexity and cost of vaccine manufacturing – An overview. *Vaccine* 2017; 35:4064.
10. Gomes PL., Robinson JM. Vaccine Manufacturing. In: Plotkin`s Vaccines, 7th, Plotkin S, Orendtein W, Offit P, Edwards K (Eds), Elsevier, 2018.p.51.
11. Zhu FC, Li YH, Guan XH, et al. Safety, tolerability, and immunogenic of a recombinant adenovirus type-5 vectorred COVID-19 vaccine: a dose-escalation, open-label, non-randomised, first-in-human trial. *Lancet* 2020; 395:1845.
12. Hodgson, S. et al. What defines an efficacious COVID-19 vaccine? A review of the challenges assessing the clinical efficacy of vaccines against SARS-CoV-2. 2020. Available at: [doi.org/10.1016/S1473-3099\(20\)30773-8](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(20)30773-8), Nov 16 2020.
13. World Health Organisation, Guidelines on clinical evaluation of vaccines: regulatory expectations. 2016. Available at: https://www.who.int/biologicals/BS2287_Clinical_guidelines_final_LINE_NOs_20_July_2016.pdf
14. Daniel Wrapp, Nianshuang Wang, Kizzmekia S. Corbett , Jory A. Goldsmith, Ching-Lin Hsieh, Olubukola Abiona , Barney S. Graham , Jason S. McLellan. Cryo-EM structure of the 2019-nCoV spike in the prefusion conformation. *Science* 367, 1260–1263 (2020).
15. M. Letko, A. Marzi, V. Munster, *Nat. Microbiol.* 16, 562–569 (2020).
16. F. Amanat, F. Krammer, *Immunity* 52, 583–589 (2020).
17. Anti-Spike, anti-Nucleocapsid and neutralizing antibodies in 1 SARS-CoV-2 hospitalized patients and asymptomatic carriers, E Brochot, et al, medRxiv preprint doi: <https://doi.org/10.1101/2020.05.12.20098236>.
18. Prevalence of IgG antibodies to SARS-CoV-2 in Wuhan – implications for the ability to produce long-lasting protective antibodies against SARS-CoV-2, et al, T Liu, et al, medRxiv preprint doi: <https://doi.org/10.1101/2020.06.13.20130252>

19. Serological Analysis of New York City COVID19 Convalescent Plasma Donors, L L Luchsinger, et al, medRxiv preprint doi: <https://doi.org/10.1101/2020.06.08.20124792>
20. Amant, F. et al. (2020). A serological assay to detect SARS-CoV-2 seroconversion in humans. *Nature Medicine*, 26 2033-1036 (2020)
21. Wajnberg, A. et al. (2020). Robust neutralizing antibodies to SARS-CoV-2 infection persist for months. *Science* 10.1126/science.abd7728 (2020)