



<https://doi.org/10.34883/PI.2022.11.4.001>

УДК 616.98-022-097:578.834.15ARS-CoV-2:578.74.083:612.017(045)



Русина В.В.¹✉, Бобрукевич Д.В.², Пилютин О.Ю.³, Владыко А.С.¹, Григорьева Е.Е.¹,
Фомина Е.Г.¹

¹ Республиканский научно-практический центр эпидемиологии и микробиологии,
Минск, Беларусь

² Институт биофизики и клеточной инженерии Национальной академии наук
Беларуси, Минск, Беларусь

³ Республиканский научно-практический центр трансфузиологии и медицинских
биотехнологий, Минск, Беларусь

Характеристика иммунного ответа к спектру вирусных антигенов SARS-CoV-2 в динамике

Конфликт интересов: не заявлен.

Вклад авторов: Русина В.В. – проведение исследований, статистическая обработка данных, написание текста, литературный обзор; Бобрукевич Д.В. – сбор материала; Пилютин О.Ю. – проведение исследований; Владыко А.С. – дизайн исследования; Григорьева Е.Е. – концепция, дизайн исследования; Фомина Е.Г. – концепция, дизайн исследования, редактирование, литературный обзор.

Финансирование. Данное научное исследование реализовано при поддержке грантов Президента Республики Беларусь (распоряжение Президента Республики Беларусь от 1 марта 2022 г. № 45рп «О предоставлении грантов Президента Республики Беларусь на 2022 год»).

Подана: 12.08.2022

Принята: 14.11.2022

Контакты: violetta.rusina@mail.ru

Резюме

Введение. Пандемия COVID-19, вызванная высококонтагиозным коронавирусом SARS-CoV-2, все еще находится на пике своей активности. По мере изучения данной инфекции появляются новые и оптимизируются существующие методы диагностики. В настоящее время вопросы выработки антител против разнообразных антигенов SARS-CoV-2 интенсивно исследуются для понимания основных механизмов развития гуморального иммунитета и защитных функций антител.

Цель. Изучить динамику формирования и сохранения антител к трем основным антигенам вируса SARS-CoV-2 (S-, N-, M-белкам).

Материалы и методы. В исследовании приняло участие 75 респондентов, перенесших инфекцию COVID-19 разной степени тяжести: легкая форма – 22 человека, среднетяжелая – 26 человек, тяжелая форма течения заболевания – 20 человек. Контрольную группу составили 7 серонегативных сывороток, собранных от здоровых волонтеров. Для подтверждения наличия антител к вирусу SARS-CoV-2 использованы коммерческие тест-системы производства Вектор-БЕСТ «SARS-CoV-2-IgG-ИФА-БЕСТ» (Российская Федерация); «SARS-CoV-2-NP-ИФА-G», производитель РНПЦ эпидемиологии и микробиологии (Республика Беларусь); а также вновь разработанный иммуоферментный «home-made» лиа-тест, основу которого составляет нитроцеллюлозная мембрана с сорбированными S-, N-, M-антигенами вируса SARS-CoV-2.

Результаты. Через девять месяцев после перенесенного заболевания антитела к S-антигену сохраняются у 92,6% респондентов с легкой формой течения заболевания; по 100% – со средней и тяжелой. Серопозитивными по N-антигену остаются

48,1%, 48% и 65% пациентов, перенесших COVID-19 в легкой, средней и тяжелой форме соответственно. Положительные пробы по М-белку составляют 26%, 44% и 55% с возрастанием степени тяжести инфекции от легкой до тяжелой.

Заключение. Выработка антител к S-, N-, М-белкам вируса SARS-CoV-2 происходит с учетом индивидуальных особенностей иммунной системы. К концу 9 месяцев наблюдения у респондентов со среднетяжелой и тяжелой формами течения коронавирусной инфекции антитела к S-белку сохраняются в 100% случаев. В отношении N- и М-белков отмечается значительно меньшее количество выявленных серопозитивных респондентов (48%, 65% и 44%, 55% соответственно). Пациенты, перенесшие инфекцию в легкой форме, сохраняют антитела к S-, N-, М-антигенам в 92,6%, 48,1% и 26% случаев соответственно. Таким образом, наиболее длительно в организме человека персистируют антитела к S-белку вируса SARS-CoV-2, который, как правило, является основным антигенным компонентом коммерческих тест-систем.

Ключевые слова: SARS-CoV-2, структурные белки, иммунный ответ, лия-тест, антитела

Rusina V.¹✉, Bobrukevich D.², Piliutina O.³, Vladko A.¹, Grigorieva E.¹, Fomina E.¹

¹ Republican Research and Practical Center for Epidemiology and Microbiology, Minsk, Belarus

² Institute of Biophysics and Cell Engineering of the National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Belarus

³ Republican Scientific and Practical Center for Transfusiology and Medical Biotechnologies, Minsk, Belarus

Characteristics of the Immune Response to the Spectrum of Viral Antigens SARS-CoV-2 in Dynamics

Conflict of interest: nothing to declare.

Authors' contribution: Rusina V. – research, statistical data processing, text writing, literature review; Bobrukevich D. – collection of material; Piliutina O. – research; Vladko A. – study design; Grigorieva E. – concept, study design; Fomina E. – concept, study design, editing, literature review.

Funding. This scientific research was implemented with the support of the grants from the President of the Republic of Belarus (Decree of the President of the Republic of Belarus dated March 1, 2022 No. 45rp "On the provision of grants from the President of the Republic of Belarus for 2022").

Submitted: 12.08.2022

Accepted: 14.11.2022

Contacts: violetta.rusina@mail.ru

Abstract

Introduction. The COVID-19 pandemic caused by highly contagious SARS-CoV-2 coronavirus is still at its peak. As this infection is being studied, new diagnostic methods are emerging and existing ones are being optimized. The production of antibodies against a variety of SARS-CoV-2 antigens is being intensively studied to understand the basic mechanisms of humoral immunity and protective functions of antibodies.

Purpose. To study dynamics of formation and maintenance of antibodies to three main antigens (S, N, M) of SARS-CoV-2 virus.



Materials and methods. Seventy-five respondents with COVID-19 infection of different severity took part in the study: mild form – 22 persons, moderate form – 26 persons, severe form – 20 persons. Control group consisted of 7 seronegative sera collected from healthy volunteers. To confirm the presence of antibodies to SARS-CoV-2 virus we used commercial test-systems manufactured by Vector-BEST "SARS-CoV-2-IgG-ELISA-BEST" (Russian Federation); "SARS-CoV-2-NP-ELISA-G" produced by Republican Scientific and Practical Center of Epidemiology and Microbiology (Republic of Belarus); as well as newly developed immunoassay "home-made" lia-test (a nitrocellulose membrane with applied S, N, M antigens of SARS-CoV-2 virus).

Results. Nine months after the disease, antibodies to S antigen persisted in 92.6% of respondents with a mild form of the disease, and in 100% of those with moderate and severe forms. The N antigen remains seropositive in 48.1%, 48% and 65% of patients with mild, moderate and severe COVID-19, respectively. Positive tests for M protein are 26%, 44%, and 55% with increasing severity of infection.

Conclusion. Production of antibodies to S-, N-, and M-proteins of SARS-CoV-2 virus occurs with regard to individual characteristics of the immune system. By the end of 9 months of follow-up, the respondents with moderate and severe forms of coronavirus infection retained antibodies to S-protein in 100% of cases. For N- and M-proteins, significantly fewer seropositive respondents were detected (48%, 65%, and 44% 55%, respectively). Patients who had a mild form of infection retained antibodies to S, N, and M antigens in 92.6%, 48.1% and 26% of cases, respectively. Thus, antibodies to S-protein of SARS-CoV-2 virus, which, as a rule, is the main antigenic component of commercial test systems, persist in the human body for the longest time.

Keywords: SARS-CoV-2, structural proteins, immune response, lia-test, antibodies

■ ВВЕДЕНИЕ

В декабре 2019 г. были зарегистрированы первые случаи заражения людей вирусом SARS-CoV-2. Вирус вызывает респираторное заболевание, названное коронавирусной инфекцией COVID-19. В марте 2020 г. Всемирной организацией здравоохранения данной инфекции присвоен статус пандемии.

В настоящее время немаловажными аспектами изучения коронавирусной инфекции являются выявление антител, обеспечивающих защитный иммунитет, предотвращающий повторное инфицирование SARS-CoV-2, и определение длительности сохранения иммунной защиты после перенесенного заболевания [1]. В литературе достаточно широко представлены исследования, касающиеся изучения динамики сохранения антител к двум основным антигенам – спайковому белку (S), нуклеокапсидному белку (N). На момент написания статьи крайне мало исследований, посвященных изучению иммунного ответа на мембранный гликопротеин (M) и одновременному выявлению антител к трем вирусным антигенам (M-, N-, S-белкам).

Вирусная частица SARS-CoV-2 содержит одноцепочечную несегментированную РНК положительной полярности (+РНК). К основным антигенным элементам вируса относятся нуклеиновая кислота и структурные белки: спайковый (S), нуклеокапсидный (N), мембранный гликопротеин (M) и белок оболочки (E) [2].

Белок S представляет собой трансмембранный гомотримерный гликопротеин, размером 180 кДа, включающий 1273 аминокислотных остатка. Тримеры белка образуют так называемую корону, которая располагается вокруг вирусной частицы. Белок S состоит из субъединиц S1 и S2, при этом расщепление на границе S1/S2 сериновыми протеазами клетки-хозяина (TMPRSS2 или фурином) является обязательным для проникновения вируса в клетку и слияния мембран. Этот белок является одним из основных иммунодоминантных белков коронавирусов, индуцирующих иммунные реакции хозяина [3].

N-белок – это фосфопроtein с молекулярной массой 49,5 кДа, содержащий 419 аминокислот. Он проникает в клетку хозяина вместе с вирусной РНК, необходим для упаковки вирусного генома и образования капсида. Он также участвует в репликации РНК и транскрипции мРНК [4].

Трансмембранный гликопротеин (М-белок) включает 230 аминокислотных остатков, имеет молекулярную массу 25 кДа. Он связывается с нуклеокапсидом и участвует в сборке вируса. Белок М привлекает структурные белки (S, E и N) к месту сборки вирусных частиц и участвует в процессе почкования, тем самым способствует размножению вируса [5].

Белок E SARS-CoV-2 состоит из 75 аминокислотных остатков с молекулярной массой около 8 кДа. Он опосредует почкование и высвобождение потомков вируса; активировывает инфламмасому хозяина, а также взаимодействует с М- и N-белками, участвуя в сборке вируса и его экзоцитозе [6].

Потенциально каждый из четырех структурных белков может выступать в качестве антигена для выработки специфических антител.

В мире накоплен большой опыт по выявлению антител к вирусу SARS-CoV-2, тем не менее недостаточно представлены научные исследования, которые описывают динамику сохранения антител одновременно к различным антигенам вируса. Для диагностики перенесенной инфекции и оценки иммунологического ответа доступны различные серологические тесты [7]. Большинство из них основано на распознавании иммуноглобулинов G (IgG) и M (IgM) к нуклеопротеину (N) SARS-CoV-2, спайковому белку (S) или его рецептор-связывающему домену (RBD), в то время как крайне мало тестов, выявляющих IgG к М-антигену [8–12]. Количество исследований, касающихся серологической реактивности одновременно против трех антигенов SARS-CoV-2 в динамике, а также применения М-белка в серологических тестах, все еще крайне мало. Одним из подходов, повышающих достоверность серологических тестов, является расширение спектра тестируемых антигенов.

Учитывая серьезные медицинские, экономические и социальные последствия этой пандемии, важно определить, насколько ослабевает иммунный ответ с течением времени к различным вирусным антигенам, достаточно ли остаточного количества антител для эффективной нейтрализации вируса, а также выявить наиболее иммуногенные антигены вируса SARS-CoV-2 и «долгоживущие» антитела для разработки качественных серологических тестов и эффективных вакцин.

■ ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Изучить динамику формирования и сохранения антител к трем основным антигенам вируса SARS-CoV-2 (S-, N-, М-белкам).



■ МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В исследовании приняли участие 75 респондентов в возрасте от 18 до 60 лет, перенесшие инфекцию COVID-19 разной степени тяжести: легкая форма была у 22 человек (29,3%), среднетяжелая форма – 26 человек (34,7%), тяжелая форма – 20 человек (26,7%). Контрольную группу составили 7 серонегативных сывороток, собранных от здоровых волонтеров. Биологический материал использовался с информированного согласия пациента. Подтверждением перенесенной инфекции являлись результаты положительного ПЦР-теста назофарингеальных образцов респондентов, участвующих в исследовании. Всего за период декабрь 2020 года – сентябрь 2021 года были собраны 288 образцов крови. Сыворотка крови отделялась центрифугированием при 3000 об/мин в течение 10 мин, затем инактивировалась при 56 °C полтора часа.

Для идентификации IgG к спектру белков (S, N, M) вируса SARS-CoV-2 в сыворотке крови использовали иммуноферментный «home-made» лиа-тест (рекомбинантные белки, кодирующие вирусные антигены, наносились на нитроцеллюлозную мембрану (0,22 мкм) и инкубировались с сывороткой крови). Интерпретация полученных результатов проводилась в соответствии с наличием/отсутствием специфически окрашенных полос преципитации в области нанесения соответствующих антигенов вируса SARS-CoV-2. Внутренним контролем, оценивающим работу компонентов серологической реакции и специфичность конъюгата, служила сыворотка крови условно здорового человека, нанесенная на нитроцеллюлозную мембрану.

Для исследования сыворотка крови пациентов была разведена в соотношении 1:100.

В качестве антигенов, нанесенных на мембрану, использовались рекомбинантные белки: S-белок (BEI Resources, США, экспрессированный в клетках насекомых), M-белок (Fitzgerald, США, система экспрессии E. coli), N-белок (Thermo Fisher Scientific, США, система экспрессии HEK293).

Для подтверждения наличия антител к вирусу SARS-CoV-2 в биологических образцах были использованы коммерческие тест-системы производства Вектор-БЕСТ «SARS-CoV-2-IgG-ИФА-БЕСТ» (Российская Федерация), где в качестве антигена использовался S-белок, антигенным компонентом тест-системы «SARS-CoV-2-NP-ИФА-Г» производства РНПЦ эпидемиологии и микробиологии (Республика Беларусь) служил N-белок. Исследования проводились в соответствии с инструкциями производителя тест-систем.

■ РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

С начала развития пандемии коронавирусной инфекции разработан широкий ассортимент тест-систем для выявления антител к SARS-CoV-2. В качестве основных антигенов в этих тест-системах, как правило, используются фрагменты рекомбинантных S-, N-белков, экспрессируемых в различных системах (E. coli, клетки насекомых, дрожжи и др.). Тест-системы для выявления M-антигена коммерчески малодоступны. Малоизученными остаются вопросы, которые касаются определения наличия и сохранения с течением времени антител одновременно к трем вирусным антигенам SARS-CoV-2 (M-, N-, S-белку) у каждого отдельного пациента. Для унификации условий проведения исследования и выполнения поставленных задач был разработан и использован «home-made» лиа-тест. Данный тест основан на выявлении полос

преципитации антиген-антитело на нитроцеллюлозной мембране с предварительно нанесенными рекомбинантными вирусными белками. Тест валидировали по результатам выявления антител к S- и N-белкам с использованием иммуоферментных коммерческих тест-систем (см. «Материалы и методы»). Разработанный лиа-тест, включающий три антигена, обнаруживал специфические антитела в 100% случаев по каждому отдельно взятому антигену и позволил увеличить выявляемость антител за счет расширения спектра исследуемых антител к различным антигенам.

Наличие одновременно трех антигенов (М-, N-, S-белок) на нитроцеллюлозной мембране при исследовании сыворотки крови каждого отдельного пациента позволяет с высокой долей вероятности корректно учесть серопозитивный/серонегативный статус пациента.

В связи с индивидуальными особенностями ответа иммунной системы на вирусную инфекцию динамика появления и сохранения антител к различным антигенам отличается у исследуемых пациентов.

На рис. 1 представлены репрезентативные результаты наличия спектра антител к М-, N-, S-белку вируса SARS-CoV-2 у отдельно взятого пациента через 3, 6, 9 месяцев после перенесенной внебольничной пневмонии (А) и отсутствие антител в отрицательном образце, взятом до начала возникновения пандемии COVID-19. Учет результатов производили, убедившись в выполнении критериев приемлемости (наличие полосы преципитации АГ-АТ в области нанесения белков внутреннего контроля и отсутствие полос преципитации в области нанесения антигенов М, N, S вируса SARS-CoV-2 в отрицательном образце).

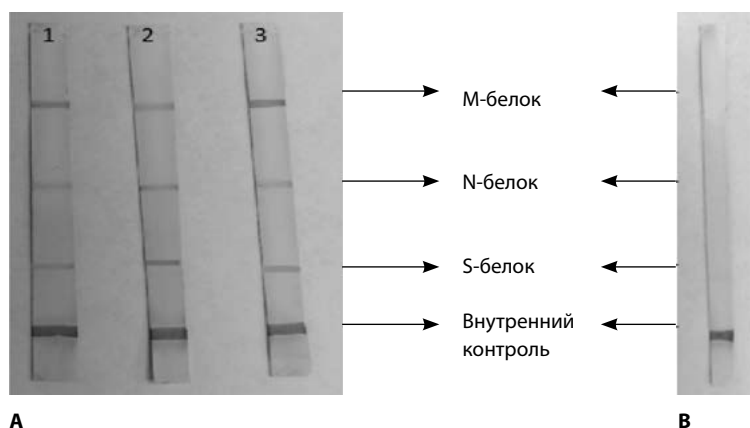


Рис. 1. Выявление антител к М-, N-, S-белку вируса SARS-CoV-2 у отдельного пациента после перенесенной коронавирусной инфекции (А) и в отрицательном образце (В)

Примечания: стрип № 1 – через 3 месяца после перенесенной коронавирусной инфекции; стрип № 2 – через 6 месяцев; стрип № 3 – через 9 месяцев.

Fig. 1. Detection of antibodies to M-, N-, and S-proteins of the SARS-CoV-2 virus in an individual patient after coronavirus infection (A) and in negative sample (B)

Notes: strip No. 1 – 3 months after the coronavirus infection; strip No. 2 – after 6 months; strip No. 3 – after 9 months.



В исследуемом образце пациента, перенесшего COVID-19 в среднетяжелой форме, в области нанесения рекомбинантных М-, N-, S-белка прослеживаются четкие полосы преципитации. Так как количество нанесенного антигена одинаково на всех стрипах, следует отметить повышение количества антител к М-белку (увеличение интенсивности окраски полосы преципитации) с течением времени. В данном образце присутствуют антитела ко всем трем антигенам одновременно.

На рис. 2 представлены результаты исследования отдельных респондентов с различными комбинациями выявляемых антител и их динамики с использованием иммуноферментного лиа-теста.

У респондента № 1 (нулевой этап исследования, ПЦР-тест отрицательный, группа контроля) на первом этапе взятия образца сыворотки крови (через 3 месяца) обнаружены антитела только к S-белку вируса, при этом на 2-м и 3-м этапе антитела обнаруживались уже к двум антигенам: S- и N-белку. Антитела к М-белку не определялись и/или имели следовые количества к 6-му и 9-му месяцу от начала исследования. Наличие антител к S- и N-антигену подтверждены с использованием коммерческих тест-систем.

Респондент № 2 отнесен к группе с легкой формой течения инфекции. Первый и второй этап – обнаружены антитела только к одному антигену (S-белок), на третьем этапе (9 месяцев с момента начала исследования) – антитела определялись ко всем трем белкам. При этом интенсивность окраски полос указывает на достаточно высокий уровень антител.

Респондент № 3 – легкая форма течения коронавирусной инфекции. Первый образец сыворотки крови серонегативен в отношении всех трех белков, в динамике

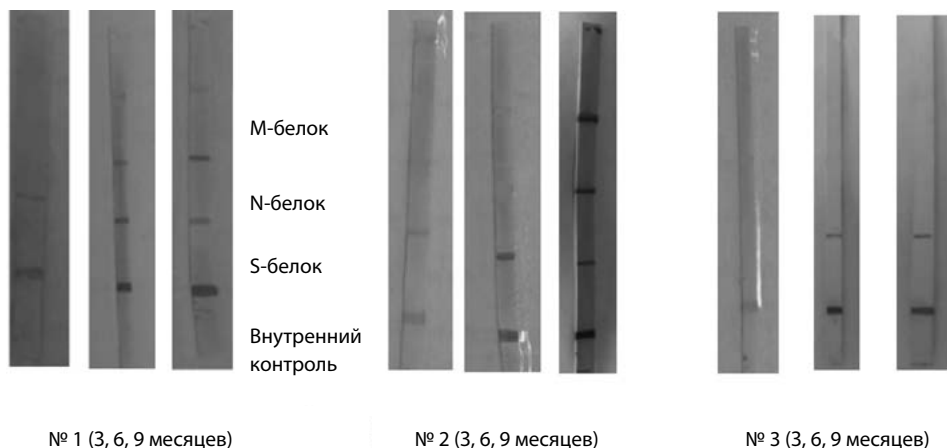


Рис. 2. Результаты выявления антител к М-, N-, S-белку (сверху вниз) вируса SARS-CoV-2 у респондента группы контроля (№ 1), респондентов с легкой формой течения инфекции (№ 2 и № 3) через 3, 6, 9 месяцев с момента начала исследования

Fig. 2. Results of detection of antibodies to M-, N-, and S-protein (from top to bottom) of SARS-CoV-2 virus in the respondent of the control group (№ 1) and respondents with mild form of infection (№ 2 and № 3) in 3, 6, and 9 months after the start of the study

через 3 месяца, на втором этапе взятия материала, обнаружены антитела только к S-белку, которые сохранялись на протяжении последующего периода наблюдения. Антитела против антигенов N и M не выявлялись на протяжении всего периода наблюдения.

Таким образом, спектр антигенов, к которым индуцируется выработка специфических антител в ходе вирусной инфекции, для каждого индивидуального организма имеет свои особенности. Тем не менее из представленных результатов можно сделать вывод, что в большинстве случаев выявляются антитела против S-вирусного антигена. Разработанный «home-made» лиа-тест с сорбированными на нитроцеллюлозной мембране рекомбинантными белками позволяет с высокой чувствительностью и специфичностью выявлять антитела одновременно к трем вирусным белкам, что дает возможность проследить динамику появления антител к различным антигенам, а также выявить особенности ответа иммунной системы каждого отдельного пациента на спектр исследуемых антигенов.

Данным методом исследованы образцы сыворотки крови 75 респондентов. На первоначальном этапе была сформирована контрольная группа в количестве 7 человек. В нее вошли респонденты, у которых в течение 1–3 месяцев до включения в испытание не было признаков ОРВИ, а ПЦР-тест на SARS-CoV-2 был отрицательным. Однако уже после первого этапа исследования у лиц данной группы выявлялись антитела по меньшей мере к одному из трех вирусных белков. В результате было принято решение отнести данных респондентов в группу легкой формы течения заболевания, а группу контроля считать условной. Таким образом, распределение испытуемых по форме течения COVID-19 было следующим: легкая форма – 29 человек (38,7%), среднетяжелая форма – 26 человек (34,7%), тяжелая форма течения заболевания – 20 человек (26,7%). Более 60,0% респондентов с легкой формой течения коронавирусной инфекции составили лица до 40 лет, в то время как в группе лиц с тяжелой формой течения заболевания более 75,0% составляли респонденты старше 50 лет. Таким образом, отмечена положительная корреляция между тяжестью заболевания и возрастом заболевших.

Появление антител у лиц контрольной группы может быть объяснено пиком подъема заболеваемости COVID-19 в январе-феврале 2021 г. в начальный период проведения исследования. Анкетирование респондентов показало, что большая часть из них перенесла заболевание в бессимптомной форме. За период наблюдения сменилась циркуляция различных вариантов вируса.

У респондентов, образцы сывороток крови которых были получены через 3 месяца после перенесенной коронавирусной инфекции, отмечается высокий процент серопозитивности в отношении S-белка. У лиц, перенесших инфекцию COVID-19 в легкой форме, процент положительных проб составил 92,6%, в случае средней и тяжелой форм течения заболевания антитела к S-белку были выявлены у 100% респондентов.

В отношении M- и N-белка наблюдается положительная корреляция между тяжестью заболевания и содержанием антител. Однако в отличие от S-белка удельный вес серопозитивных лиц в отношении N- и M-белка вируса значительно ниже и составляет 44,4% и 40,7% у пациентов с легкой, 64,0% и 60,0% – со средней и 80,0% и 65% – с тяжелой формами заболевания соответственно.



В динамике через 6 месяцев с момента начала исследования антитела к S-белку сохранялись практически у всех респондентов (96,3% лиц, перенесших коронавирусную инфекцию в легкой форме, 100% респондентов со среднетяжелой и тяжелой формами течения инфекции COVID-19). В отношении N- и M-белка стоит отметить тенденцию к снижению процента серопозитивных лиц. Так, у респондентов, перенесших коронавирусную инфекцию в легкой форме, процент выявления IgG к N-белку снизился с 44,4% через 3 месяца после выздоровления до 33,3% через 6 месяцев. Аналогичная тенденция наблюдалась и в группе респондентов со средним (64,0% через 3 месяца и 60,0% через 6 месяцев) и тяжелым (80,0% и 55,0% через 3 и 6 месяцев соответственно) течением инфекции. Процент выявляемости антител к M-белку вируса у респондентов с тяжелой формой течения коронавирусной инфекции через 3 и через 6 месяцев после перенесенной инфекции не изменился (65,0%), что свидетельствует о выраженных антигенных свойствах данного белка и способности вызывать напряженный иммунный ответ даже спустя 6 месяцев.

Третий этап исследования (9 месяцев после перенесенной коронавирусной инфекции) характеризовался стабильно высоким показателем наличия антител к S-белку вируса SARS-CoV-2 (92,6% – в группе с легким течением заболевания, и 100% респондентов со среднетяжелой и тяжелой формами). Стоит отметить возникновение тенденции к повторному росту серопозитивных образцов в отношении N-белка у пациентов с тяжелой и легкой формами заболевания, его снижению – у среднетяжелых пациентов.

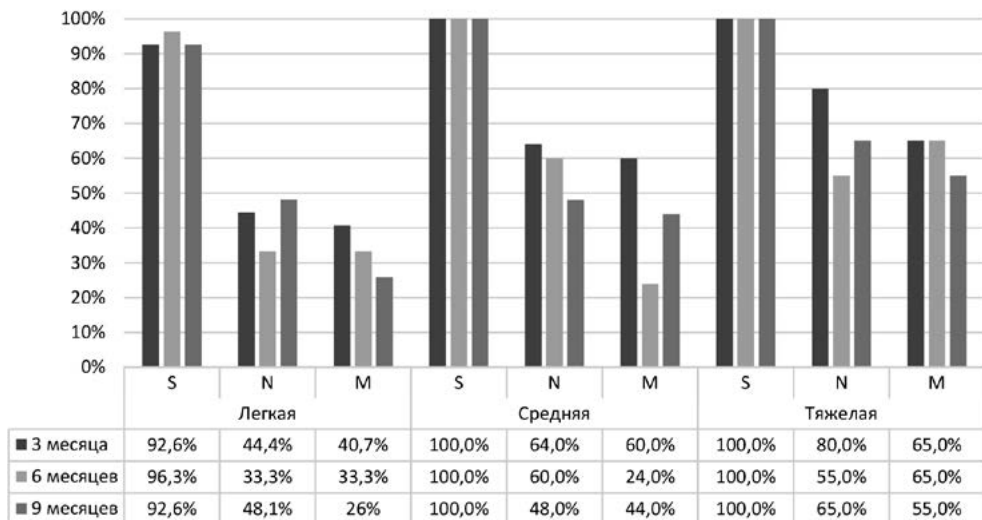


Рис. 3. Оценка динамики сохранения антител к M-, N-, S-белку вируса SARS-CoV-2 у респондентов, которые участвовали во всех трех этапах забора сыворотки крови
Fig. 3. Evaluation of the dynamics of antibody preservation to M-, N-, and S-protein of SARS-CoV-2 virus in respondents who participated in all three stages of serum sampling

В отношении М-белка отмечалось незначительное возрастание серопозитивных проб у пациентов со среднетяжелой формой течения заболевания, что по времени совпадало с новым подъемом заболеваемости COVID-19, при этом снижение количества таких проб наблюдалось у пациентов с легкой и тяжелой формами течения заболевания, что указывает на снижение напряженности иммунного ответа к М-белку у испытуемых к концу периода наблюдения (рис. 3).

■ ЗАКЛЮЧЕНИЕ

На основании полученных результатов установлено, что выработка антител к спектру вирусных антигенов (S-, N-, М-белкам) после перенесенной коронавирусной инфекции происходит с учетом индивидуальных особенностей иммунной системы. К периоду завершения наблюдений серопозитивный статус одновременно к 3 антигенам наблюдался у 40% тестируемых с тяжелой формой течения заболевания, 30,8% – со средней и 20,7% – с легкой. Стоит отметить, что вне зависимости от степени тяжести течения заболевания не было выявлено ни одного образца, содержащего антитела исключительно к М-антигену. Чаще определялись респонденты, серопозитивные в отношении S- и/или N-белков. Эти данные еще раз подтверждают обоснованность использования S- и N-белков в качестве основных антигенов для серологической диагностики COVID-19.

Изучение динамики сохранения антител осуществлялось на протяжении 9 месяцев. За этот период установлено, что у респондентов со среднетяжелой и тяжелой формами течения коронавирусной инфекции антитела к S-белку сохраняются в 100% случаев, у пациентов с легкой формой данный показатель незначительно снижается (92,6%), в отличие от пациентов, имеющих положительный статус относительно наличия N- и М-белков. В отношении данных белков изначально отмечается значительно меньшее количество выявленных серопозитивных респондентов. К 6 месяцам после перенесенной коронавирусной инфекции количество лиц, серопозитивных в отношении М- и N-белков, снижается. Однако стоит отметить, что на третьем этапе исследования (9 месяцев после перенесенной инфекции COVID-19) наблюдалась тенденция к повторному росту серопозитивных образцов относительно наличия М- и N-белков, что по времени совпадало с новым подъемом заболеваемости COVID-19. Таким образом, наиболее длительно в организме человека персистируют антитела к S-белку вируса SARS-CoV-2, которые, как правило, являются основным антигенным компонентом коммерческих тест-систем. Серопозитивность к М-белку у пациентов с тяжелой формой инфекции сохраняется на достаточно высоком уровне (55–65%) и сопоставима с уровнем положительных проб для N-белка.

■ ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Tay M.Z., Poh C.M., Rénia L. The trinity of COVID-19: immunity, inflammation and intervention. *Nat Rev Immunol.* 2020; 20(6):363–374. DOI: 10.1038/s41577-020-0311-8.
2. Su S., Wong G., Shi W. Epidemiology, Genetic Recombination, and Pathogenesis of Coronaviruses. *Trends Microbiol.* 2016; 24(6):490–502. DOI: 10.1016/j.tim.2016.03.003.
3. Felsenstein S., Herbert J.A., McNamara P.S. COVID-19: Immunology and treatment options. *Clin Immunol.* 2020; 215:108448. DOI: 10.1016/j.clim.2020.108448.
4. Hurst K.R., Koetzner C.A., Masters P.S. Identification of in vivo-interacting domains of the murine coronavirus nucleocapsid protein. *J Virol.* 2009; 83(14):7221–34. DOI: 10.1128/JVI.00440-09.



5. Zhang Y.Z., Holmes E.C. A Genomic Perspective on the Origin and Emergence of SARS-CoV-2. *Cell*. 2020; 181(2):223–227. DOI: 10.1016/j.cell.2020.03.035.
6. El Omari K., Li S., Kotecha A. The structure of a prokaryotic viral envelope protein expands the landscape of membrane fusion proteins. *Nat Commun*. 2019; 10(1):846. DOI: 10.1038/s41467-019-08728-7.
7. EUA Authorized Serology Test Performance. Food and Drug Administration 2021. Available at: <https://www.fda.gov/medical-devices/coronavirus-disease-2019-covid-19-emergency-use-authorizations-medical-devices/eua-authorized-serology-test-performance>.
8. Liu W., Liu L., Kou G. Evaluation of Nucleocapsid and Spike Protein-Based Enzyme-Linked Immunosorbent Assays for Detecting Antibodies against SARS-CoV-2. *J Clin Microbiol*. 2020; 58(6):e00461–20. DOI: 10.1128/JCM.00461-20.
9. Jääskeläinen A.J., Kuivanen S., Kekäläinen E. Performance of six SARS-CoV-2 immunoassays in comparison with microneutralisation. *J Clin Virol*. 2020; 129:104512. DOI: 10.1016/j.jcv.2020.104512.
10. Guo L., Ren L., Yang S. Profiling Early Humoral Response to Diagnose Novel Coronavirus Disease (COVID-19). *Clin Infect Dis*. 2020; 71(15):778–785. DOI: 10.1093/cid/ciaa310.
11. Long Q.X., Liu B.Z., Deng H.J. Antibody responses to SARS-CoV-2 in patients with COVID-19. *Nat Med*. 2020; 26(6):845–848. DOI: 10.1038/s41591-020-0897-1.
12. Ma H., Zeng W., He H. Serum IgA, IgM, and IgG responses in COVID-19. *Cell Mol Immunol*. 2020; 17(7):773–775. DOI: 10.1038/s41423-020-0474-z.