

<https://doi.org/10.31631/2073-3046-2024-23-6-61-72>

Оценка иммуногенности инактивированной цельновирионной бустерной вакцины против SARS-CoV-2 на I, II фазе клинического исследования

И. О. Стома¹, Е. В. Воропаев¹, Е. И. Михайлова¹, Е. С. Корсақ*¹, О. В. Осипкина¹,
А. В. Молчанова¹, А. А. Ковалев¹, Д. М. Лось¹, А. А. Зятков¹, А. С. Шафорост¹,
М. Н. Яцук¹, А. Ю. Брага¹, Н. В. Трофимова¹, А. М. Дронина², Е. Л. Гасич²,
В. А. Горбунов², А. Е. Гончаров³

¹ Учреждение образования «Гомельский государственный медицинский университет», Гомель, Беларусь

² НИИ гигиены, токсикологии, эпидемиологии, вирусологии и микробиологии, ГУ «Республиканский центр гигиены, эпидемиологии и общественного здоровья», Минск, Беларусь

³ ГНУ «Институт биофизики и клеточной инженерии Национальной академии наук Беларуси», Минск, Беларусь

Резюме

Актуальность. Разработка и выпуск собственной вакцины способствует лекарственной независимости страны, ее технологическому суверенитету, а также является стратегическим звеном национальной безопасности. **Цель.** Оценить иммуногенность цельновирионной вакцины против SARS-CoV-2 на I, II фазе клинических исследований (до 180 дня). **Материалы и методы.** Клиническое исследование проводилось в I–II фазах клинических испытаний вакцины против SARS-CoV-2 («БелКовидВак»). В фазу I участники исследования были разделены на две группы с однократным введением вакцины в дозе 1 и в дозе 2. В фазе II (двойная слепая рандомизированная выборка) участники исследования были распределены в три группы для иммунизации вакциной в дозах 1, 2 или плацебо в соотношении 1:1:1. Для оценки иммуногенности инактивированной цельновирионной бустер-вакцины против SARS-CoV-2 у 135 здоровых участников (18–50 лет в фазе I и 18–60 лет в фазе 2), ранее вакцинированных/переболевших COVID-19. Измерялась концентрация IgG (BAU/мл) к S-белку SARS-CoV-2 методом ИФА «SARS-CoV-2-IgG количественный-ИФА-БЕСТ», оценивалась вируснейтрализующая активность сывороток и пролиферативная активность Т-лимфоцитов, рассчитывались среднее геометрическое (СГТ) концентрации IgG и среднее геометрическое титра вируснейтрализующей активности (ВНА), по сравнению с исходным уровнем. Статистическая обработка данных проведена с помощью языка программирования R. **Результаты.** Значения кратного изменения концентрации IgG к SARS-CoV-2 на 42-й и 90-й день у участников исследования, получивших вакцину «БелКовидВак», значимо выше чем в группе плацебо ($p = 0,05$, $p = 0,02$ соответственно). Значение кратного изменения титра вируснейтрализующей активности у участников исследования, получивших вакцину «БелКовидВак» значимо выше, чем у участников, получивших плацебо ($p = 0,02$). Установлена статистически значимая положительная корреляционная связь ($\rho_{Sp} = 0,51$ $p = 0,0005$) между содержанием антигенспецифических Т-клеток и уровнем IgG через 28 дней у обследованных и между кратностью изменения титра вируснейтрализующей активности сывороток и кратностью изменения концентрации IgG ($\rho_{Sp} = 0,40$ $p < 0,001$). На 180-й день у всех участников происходит снижение концентрации антигенспецифических IgG до первоначального уровня. **Обсуждение.** В период поиска добровольцев и начала клинического исследования вакцины «БелКовидВак» в популяции уже была сформирована иммунная прослойка населения, что усложнило задачу исследователей. Но вакцина «БелКовидВак» показала свою иммуногенность, о чем свидетельствуют результаты исследования. **Выводы.** Выявлены значимое увеличение GMC IgG и СГТ вируснейтрализующей активности сывороток в группе вакцинированных «БелКовидВак» и отсутствие значимого увеличения GMC IgG и СГТ вируснейтрализующей активности сывороток в группе плацебо, что является доказательством стимуляции иммунного ответа в результате введения вакцины «БелКовидВак» и её эффективности.

Ключевые слова: COVID-19, SARS-CoV-2, вакцинация, вакцина «БелКовидВак», клинические испытания, иммуногенность, концентрация специфических IgG (BAU/мл), иммуноферментный анализ

Конфликт интересов не заявлен.

* Для переписки: Корсақ Екатерина Сергеевна, ассистент кафедры эпидемиологии и доказательной медицины УО «Гомельский государственный медицинский университет», 246050, Беларусь, Гомель, ул. Ланге 5. +375 (232) 35-97-00, katsiaryna.korsak@gsmu.by. ©Стома И. О. и др.

** For correspondence: Katsiaryna S. Korsak, Assistant of the department of epidemiology and evidence-based medicine of Gomel State Medical University, 5, st. Lange, Gomel, 246050, Belarus. +375 (232) 35-97-00, katsiaryna.korsak@gsmu.by. ©Stoma IO, et al.

Для цитирования: Стома И. О., Воропаев Е. В., Михайлова Е. И. и др. Оценка иммуногенности инактивированной цельновирионной бустерной вакцины против SARS-CoV-2 на I, II фазе клинического исследования. Эпидемиология и Вакцинопрофилактика. 2024;23(6):61-72. <https://doi.org/10.31631/2073-3046-2024-23-6-61-72>

Благодарность

Авторы выражают искреннюю благодарность за помощь в проведении исследований: врачам-исследователям Гомельского государственного медицинского университета: Божене Сергеевне Ярошевич, Ольге Сергеевне Першенковой, Марине Николаевне Мирге; врачам-исследователям Гомельской областной клинической больницы: Сергею Геннадьевичу Берднику, Ивану Александровичу Крепчуку, Дарье Игоревне Свирской, Олегу Леонидовичу Палковскому, Феликсу Владимировичу Багинскому. Отдельная благодарность заведующей лабораторией Гомельской областной клинической больницы Татьяне Станиславовне Петренко.

Evaluation of Immunogenicity of Inactivated Whole-Virion Booster Vaccine against SARS-CoV-2 in a phase I, II Clinical Trial

IO Stoma¹, EV Voropaev¹, EI Mikhailova¹, KS Korsak^{*1}, OV Osipkina¹, AV Molchanova¹, AA Kovalev¹, DM Los¹, AA Ziatskov¹, AS Shaforost¹, MN Yatsuk¹, AYu Braga¹, NV Trofimova¹, AM Dronina², EL Gasich², VA Gorbunov², AEV Hancharou³

¹ Gomel State Medical University, Gomel, Belarus

² Scientific and Organizational Department of the Research Institute of Hygiene, Toxicology, Epidemiology, Virology and Microbiology of the State Institution «Republican Center for Hygiene, Epidemiology and Public Health», Minsk, Belarus

³ Institute of Biophysics and Cell Engineering of National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Belarus

Abstract

Relevance. The development and production of own vaccine contributes to the growth of professional competencies of the scientific community, improvement and modernization of the country's industrial production. **Aims.** To evaluate the immunogenicity parameters of whole-virion vaccine against SARS-CoV-2 in a phase I, II clinical trial (up to day 180). **Materials & Methods.** The clinical study included a phase I/II trial. In Phase I, a sequential allocation of subjects (1:1) by open-label method into two groups with a single administration of vaccine at dose 1 and at dose 2 was performed. In phase II (double-blind randomized), subjects were allocated to immunization with vaccine at doses 1, 2 or placebo in a 1:1:1 ratio. To evaluate the immunogenicity of an inactivated whole-virion booster vaccine against SARS-CoV-2 («BelCovidVac») in 135 healthy subjects (18–50 years of age in phase 1 and 18–60 years of age in phase 2) previously vaccinated/recovered from COVID-19. IgG concentration (BAU/mL) to the S-protein of SARS-CoV-2 was measured by the «SARS-CoV-2-IgG quantitative-ELISA-BEST» ELISA kit, viral neutralising activity of sera and proliferative activity of T-lymphocytes were evaluated, geometric mean (GMC) of IgG concentration was calculated, geometric mean of virus neutralizing activity titer (GMT compared to baseline). Statistical processing of the data was performed using the R programming language. **Results.** The values of fold change in IgG concentration to SARS-CoV-2 on day 42 and 90 in subjects who received «BelCovidVac» vaccine were significantly higher than those of subjects who received placebo ($p=0,05$, $p=0,02$, respectively). The value of the fold change in the titer of viral neutralizing activity in the study subjects who received «BelCovidVac» vaccine was significantly higher than the values of the subjects who received placebo ($p=0,02$). A statistically significant positive correlation ($\rho_{Sp}=0,51$ $p=0,0005$) between the content of antigen-specific T-cells and the level of IgG after 28 days in the studied subjects and between the fold change in the titer of viral neutralizing activity of sera and the fold change in IgG concentration ($\rho_{Sp} = 0,40$ $p<0,001$) was established. On day 180, all groups of subjects show a decrease in antigen-specific IgG concentrations to the initial level. **Discussion.** At the time of the search for volunteers and the beginning of the clinical trial of the vaccine «BelCovidVac» the immune layer of the population had already been formed, which made the task of the researchers more difficult. But the vaccine «BelCovidVac» showed its immunogenicity, as evidenced by the results of the study. **Conclusions.** A significant increase in GMC IgG and GMT viral neutralizing activity of sera in the group vaccinated with «BelCovidVac» and no significant increase in GMC IgG and GMT viral neutralizing activity of sera in the placebo group were revealed, which is the evidence of immune response stimulation as a result of «BelCovidVac» vaccine administration and its efficacy.

Keywords: COVID-19, SARS-CoV-2, vaccination, «BelCovidVac» vaccine, clinical trials, immunogenicity, concentration of specific IgG (BAU/ml), enzyme-linked immunosorbent assay
No conflict of interest to declare.

For citation: Stoma IO, Voropaev EV, Mikhailova EI et al. Evaluation of immunogenicity of inactivated whole-virion booster vaccine against SARS-CoV-2 in a phase I, II clinical trial. Epidemiology and Vaccinal Prevention. 2024;23(6):61-72 (In Russ.). <https://doi.org/10.31631/2073-3046-2024-23-6-61-72>

Acknowledgment

The authors express their sincere gratitude for the help in conducting research: to the research doctors of Gomel State Medical University: BS Yaroshevich, OS Pershenkova, MN Mirga; to the research doctors of Gomel Regional Clinical Hospital: SG Berdnik, IA Krepchuk, DI Svirskaya, OL Palkovsky, FV Baginsky. Special thanks to TS Petrenko, Head of the laboratory at the Gomel Regional Clinical Hospital.

* For correspondence: Katsiaryna S. Korsak, Assistant of the department of epidemiology and evidence-based medicine of Gomel State Medical University, 5, st. Lange, Gomel, 246050, Belarus. +375 (232) 35-97-00, katsiaryna.korsak@gsmu.by. ©Stoma IO, et al.

Введение

Иммунизация является одним из ключевых компонентов первичной медико-санитарной помощи, а право на иммунизацию является неотъемлемым правом человека (ВОЗ) [1]. Очень важно создание собственной научной школы по проведению клинических исследований новых вакцин в Республике Беларусь, что позволит в будущем оперативно реагировать на острые инфекционные угрозы.

Во время пандемии COVID-19 многие страны, не имеющие собственного производства вакцин, столкнулись с ее недостатком, длительно находясь в листе ожидания либо получая вакцину в гораздо меньшем объеме, по сравнению с запрашиваемым количеством. Приоритет государств, производящих вакцины, был направлен, прежде всего, на обеспечение собственных граждан. Разработка и выпуск собственной вакцины, а также локализация производств иммунобиологических и лекарственных препаратов внутри страны, являются стратегическим звеном национальной безопасности. Развитие данной отрасли будет способствовать росту профессиональных компетенций научного сообщества, совершенствованию и модернизации промышленного производства. Изучение бустерных вакцин против COVID-19 продемонстрировало их вклад в формирование длительного иммунитета, а также подтвердило их эффективность и безопасность. Так, при исследовании более миллиона пациентов через 12 дней после бустерной дозы частота подтвержденной инфекции была ниже в группе ревакцинированных, по сравнению с группой пациентов, не прошедших ревакцинацию в 11,3 раза, а частота тяжелого течения COVID-19 сократилась в 19,5 раза [2]. Всего, по данным ВОЗ, только первые бустерные вакцины предотвратили 700 тысяч смертей от COVID-19. Исходя из этих данных бустерные вакцины стали необходимой контрмерой для укрепления иммунитета и реакции на антигенное разнообразие новых штаммов, особенно учитывая, что в мировой практике с точки зрения общественного здравоохранения коллективный иммунитет является конечной целью [3].

Ранее в нашей научной публикации [4], мы представили наиболее полные данные о профиле безопасности инактивированной цельновирионной бустер-вакцины против SARS-CoV-2, настоящая статья посвящена сугубо вопросам иммуногенности данной вакцины. Решение о создании белорусской вакцины от COVID-19 принято на основании Распоряжения Президента Республики Беларусь А. Г. Лукашенко №60-рп от 01.04.2021 «О создании вакцины». На момент утверждения Распоряжения преобладающим штаммом вируса SARS-CoV-2 в белорусской популяции был вариант Дельта, не терявший своей актуальности на протяжении длительного времени, который и был выбран в качестве основного активного компонента разрабатываемой вакцины [5,6].

Цель – оценить иммуногенность цельновирионной вакцины против SARS-CoV-2 на I, II фазе ран-

домизированного двойного слепого клинического исследования (до 180 дня).

Материалы и методы

Исследуемый лекарственный препарат вакцина «БелКовидВак» представляет собой цельновирионную инактивированную бустер-вакцину для профилактики коронавирусной инфекции, вызываемой вирусом SARS-CoV-2 (производитель: открытое акционерное общество «БелВитунифарм», Республика Беларусь).

Вакцина «БелКовидВак» – суспензия в дозах 0,5 и 1,0 мл активного компонента (действующее вещество) – цельновирионный антиген инактивированного вируса SARS-CoV-2, штамм SARS-CoV-2/AU.122/2107 (вариант Дельта B.1.617.2.122) в количестве 280–450 пикограмм RBD-домена S-белка вируса. Антиген получен путем культивирования вируса на чувствительной для него культуре клеток почки африканской зеленой мартышки Vero E6. Удаление клеточного дебриса осуществлялась инактивацией химическим методом (в качестве инактивирующего агента используется β-пропиолактон), концентрирование с использованием системы тангенциальной фильтрации, очистка вирусного антигена методом двухступенчатой хроматографии, сорбция вирусного антигена на адьюванте (алюминия гидроксид гидратированный). Антиген является активной фармсубстанцией вакцины «БелКовидВак», в технологическом процессе производства вакцины получается в виде очищенного вирусного концентрата.

Препарат делится на две дозы:

Состав дозы 1: действующее вещество: антиген инактивированного коронавируса SARS-CoV-2 соответствует 280–450 пикограмм RBD-домена S-белка вируса. Вспомогательные вещества: алюминия гидроксид гидратированного не более 1,2 мг, натрия хлорида 4,0 мг, калия хлорида 0,1 мг, динатрия фосфат дигидрат 0,89 мг, калия дигидрофосфат 0,12 мг, вода для инъекций до 0,5 мл.

Состав дозы 2: действующее вещество: антиген инактивированного коронавируса SARS-CoV-2 – соответствует 560–900 пикограмм RBD-домена S-белка вируса. Вспомогательные вещества: алюминия гидроксид гидратированного не более 2,40 мг, натрия хлорида 8,0 мг, калия хлорида 0,2 мг, динатрия фосфат дигидрат 1,78 мг, калия дигидрофосфат 0,24 мг, вода для инъекций до 1 мл.

Плацебо: изотонический раствор натрия хлорида 0,5 мл.

Одноцентровое проспективное рандомизированное двойное (слепое в фазе II) исследование проводилось с 9 октября 2023 г. по 7 мая 2024 г. на базе Гомельской областной клинической больницы. Протокол исследования был выполнен в соответствии с требованиями Правил надлежащей клинической практики Евразийского экономического Союза [7].

Исследование было одобрено независимым этическим комитетом Гомельской областной клини-

ческой больницы. Перед включением в исследование от каждого добровольца получено письменное информированное согласие. В исследовании участвовали 135 здоровых добровольцев: в возрасте 18–50 лет в фазе I и 18–60 лет в фазе II. С учетом возможного досрочного выбывания и отсутствия данных по оценке первичной конечной точки предусмотрено участие дублеров. Фаза I – доза-эскалирующее исследование, в котором все участники были распределены последовательно без применения рандомизации на две группы: группа 1 (12 участников) с однократным введением вакцины в дозе 1 (0,5 мл) и группа 2 (12 участников) с однократным введением вакцины в дозе 2 (1 мл). Основная цель фазы I – проверка безопасности вакцины, это обусловило возраст добровольцев – 18–50 лет и начало набора в группу 2 – через 7 дней наблюдения за безопасностью участников, получивших дозу 1 вакцины.

Фаза II была инициирована только после того, как были получены данные по безопасности после 7-дневного периода наблюдения за группой 2 участников, получивших две дозы вакцины. В фазе II приняли участие 105 добровольцев, которые были распределены с помощью рандомизации методом конвертов на три группы: группа 3 (37 участников) с однократным введением вакцины в дозе 1 (0,5 мл), группа 4 (37 участников) с однократным введением вакцины в дозе 2 (1 мл) и группа 5 (37 участников) с однократным введением плацебо (0,5 мл). Все участники должны были не ранее чем за 6 месяцев до визита скрининга вакцинированы ≥ 2 дозами любой зарегистрированной вакциной против вируса SARS-CoV-2 и/или переболеть COVID-19, за исключением серьезных или критических случаев заболевания.

Критериями невключения были: подтвержденный SARS-CoV-2 на момент скрининга с помощью ОТ-ПЦР и/или ИФА (IgM); наличие значимых инфекций и других заболеваний, включая лихорадку $>37,8$ °C; и/или наличие симптомов, свидетельствующих о COVID-19, в день рандомизации или за 3 месяца до нее; наличие в анамнезе серьезной или критической клинической картины COVID-19, входение в группы высокого риска заболеваемости COVID-19 (медицинские работники, оказывающие амбулаторную и/или стационарную помощь субъектам с подтвержденным диагнозом COVID-19, контактным лицам и лицам с подозрением на наличие заболевания).

Концентрацию иммуноглобулинов класса G к поверхностному гликопротеину S вируса SARS-CoV-2 определяли методом твердофазного иммуноферментного анализа с использованием коммерческой тест-системы «SARS-CoV-2-IgG количественный-ИФА-БЕСТ» в сыворотке крови для всех участников в дни, соответствующие расписанию процедур исследования. Анализ проводили в соответствии с инструкцией производителя на спектрофотометре Tecan Sunrise. Результаты представлены в виде концентрации в BAU/мл [8,9].

Вируснейтрализующую активность сывороток крови участников исследования, иммунизированных препаратом инактивированного вируса «Бел-КовидВак», определяли в реакции нейтрализации коронавируса SARS-CoV-2 в культуре клеток Vero E6 по цитопатическому действию – возникновению дегенеративных изменений в клеточной культуре. Для проведения реакции нейтрализации использовали штамм вируса SARS-CoV-2/AY.122/2107 (вариант Дельта B.1.617.2.122, примененный при разработке и производстве вакцины) из Специализированной коллекции вирусов и бактерий, патогенных для человека (номер РКПБА-2021-414). Штамм вируса на культуре клеток Vero E6 вызывал выраженное цитопатическое действие. Штамм выделен из назофарингеальных мазков пациентов с COVID-19. Титр сыворотки рассчитывали согласно формуле Кербера по конечной точке нейтрализации (50% нейтрализующего титра) [10]. Каждую сыворотку исследовали в реакции нейтрализации индивидуально.

Пролиферативная активность Т-лимфоцитов была определена у 45 участников в соответствии с протоколом по дозе.

Для оценки пролиферативной активности Т-лимфоцитов использовали мононуклеарные клетки периферической крови (МПК), окрашенные витальным красителем Tag-it Violet (Biolegend, Великобритания). Клетки ($1,2 \times 10^6$ клеток/мл) инкубировали в присутствии пула синтетических S-пептидов SARS-CoV-2 (MABTECH, США) в течение 5 суток. После инкубации МПК окрашивали антителами к рецептору CD3 (EXBIO, Чехия) и красителем 7-AAD (EXBIO, Чехия) для дифференцировки живых и мертвых клеток. Пролиферативную активность оценивали по изменению интенсивности флуоресценции Tag-it Violet.

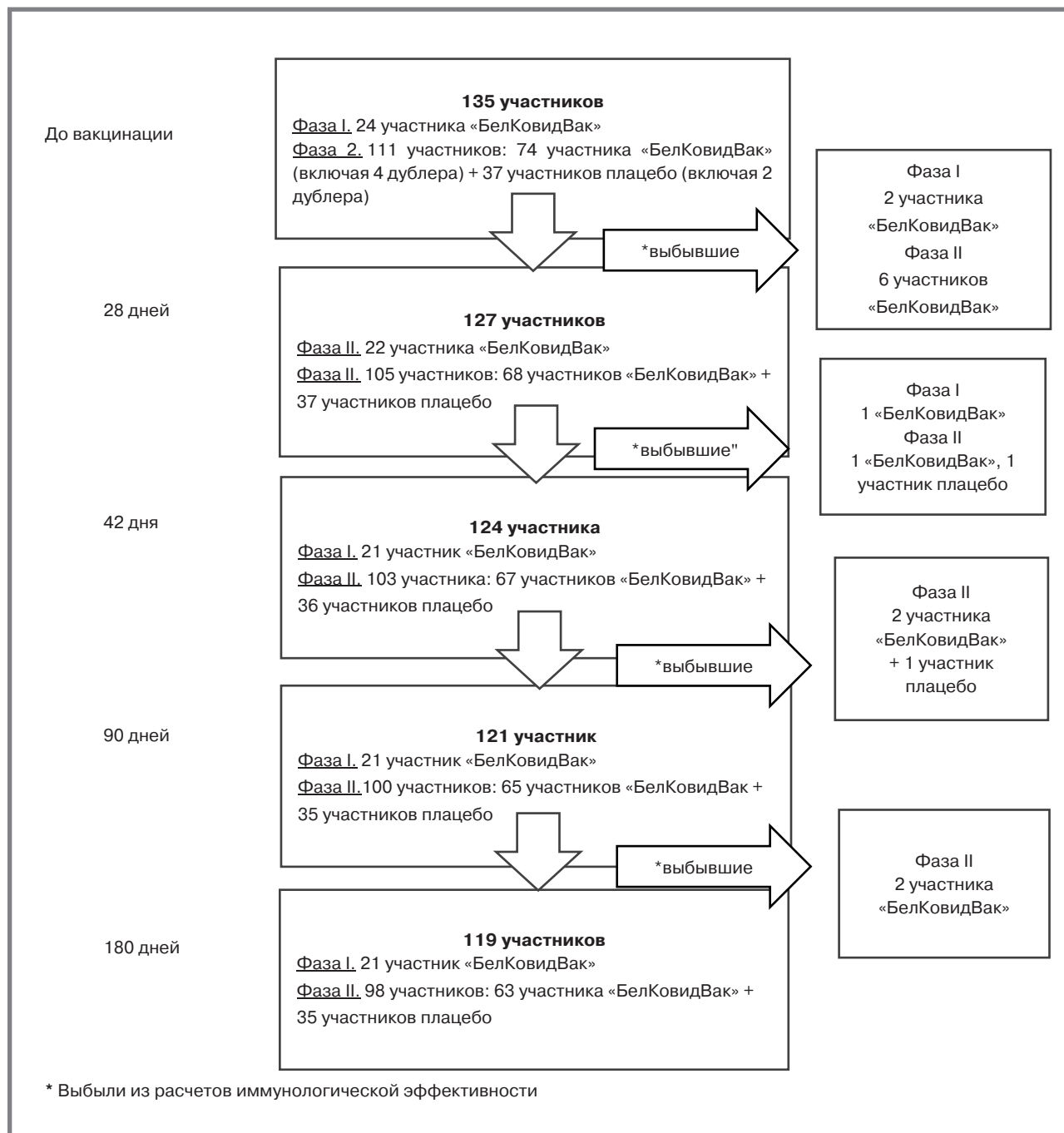
Содержание антигенспецифических Т-клеток рассчитывали по формуле:

$$X = \%S - \%K,$$

где %S – процент пролиферирующих клеток при рестимуляции пулом S-пептидов SARS-CoV-2, %K – процент пролиферирующих клеток без рестимуляции.

Статистическая обработка данных проведена с помощью языка программирования R (версия 4.3.2), пакеты tidyverse (version 1.3.2), rstatix (version 0.7.2), ggstatsplot (version 0.12.1). Описание данных представлено в виде медианы, квартилей, максимального и минимального значений. Анализ соответствия распределения значений признака модели нормального распределения выполнен с помощью критерия Шапиро-Уилка. Для категориальных и порядковых признаков описание представлено в виде абсолютного и относительного количества значений признака. Сравнение двух независимых выборок выполнено с применением t-критерия Уэлча или U-критерия Манна-

Рисунок 1. Динамика изменения состава участников на протяжении всего периода исследования
Figure 1. Dynamics of participants' number changes during the research period



Уитни. Сила связи между количественными признаками оценивалась с помощью коэффициента корреляции Спирмена (ρ_{sp}). Оценивались 95% доверительные интервалы для среднего геометрического значения концентрации IgG (СГТ), среднего геометрического значения вируснейтрализующей активности (ВНА). Уровень значимости принят равным 0,05.

Результаты

Участники исследования, получившие дозу 1 вакцины «БелКовидВак» или дозу 2 были объединены в группу «вакцинированные», что позволило увеличить размер выборки при сравнении

с участниками исследования, получившими плацебо. Данное действие не противоречит дизайну исследования.

Распределение участников в ходе исследования представлено на рисунке 1.

В фазе I (день 7, 14, 28) и в фазе II (день 28, 42, 90, 180) наряду с определением IgG к поверхностному S-белку вируса SARS-CoV-2, выявляли наличие IgM к вирусу SARS-COV-2, а также проводили тестирование на наличие вируса SARS-COV-2 методом ПЦР. Участники, у которых был обнаружен вирус SARS-COV-2 методом ПЦР, а также те участники, у которых были выявлены IgM к вирусу SARS-COV-2, впоследствии были исключены из статистических

Таблица. Описательная характеристика участников исследования
Table. Descriptive characteristics of the study participants

Параметр Parameter	Вакцина Vaccine (N=98)	Плацебо Placebo (N=37)	Всего Total (N=135)
Возраст Age Median (Mode) [Q1; Q3] [min; max]	44,50 (42,00) [38,00; 49,00] [19,00; 61,00]	42,00 (30,00) [37,00; 47,00] [20,00; 59,00]	44,00 (42,00) [38,00; 49,00] [19,00; 61,00]
Пол, абс. % Sex, abs., %			
Женский Female	47 (48,0%)	18 (48,6%)	65 (48,1%)
Мужской Male	51 (52,0%)	19 (51,4%)	70 (51,9%)

расчетов для исследования иммунологической эффективности вакцины «БелКовидВак». Исключение вышеперечисленных участников было обусловлено тем, что острая инфекция могла бы дополнительно оказать стимулирующий эффект, повысив концентрацию IgG к вирусу SARS-CoV-2, формируя «гибридный иммунитет» (вырабатывается в результате перенесенной инфекции и вакцинации, сочетая искусственный и естественный иммунитет), что сформировало бы ложное представление в сторону большей иммуногенности вакцины «БелКовидВак»,

искажив результаты исследования ее иммунологической эффективности.

Исследование предусматривало оценку кратного изменения концентрации IgG к поверхностному гликопротеину S коронавируса SARS-CoV-2, а также анализ СГТ IgG к поверхностному гликопротеину S коронавируса SARS-CoV-2 на всех точках исследования.

На рисунке 2 видно, что значение кратного изменения концентрации IgG на 42 день в группе вакцинированных «БелКовидВак» (Median [Q1; Q3]

Рисунок 2. Сопоставление кратного изменения концентрации IgG к поверхностному гликопротеину S коронавируса SARS-CoV-2 (BAU/мл) у добровольцев, получивших вакцину «БелКовидВак» или плацебо (день 1–42)

Figure 2. Comparison of fold change IgG concentration to SARS-CoV-2 coronavirus surface glycoprotein S (BAU/mL) in subjects received BelCovidVac vaccine or placebo (day 1–42)

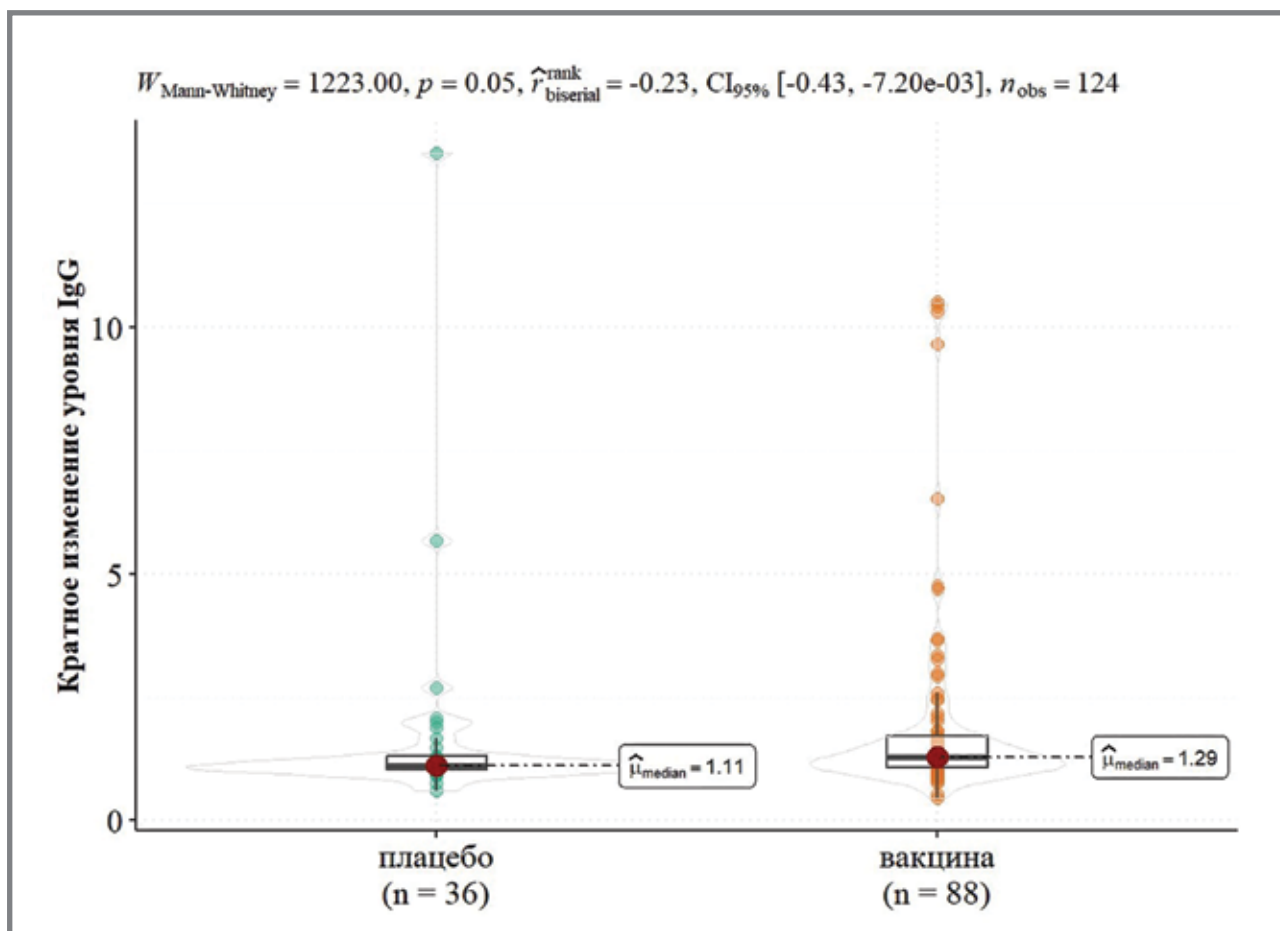
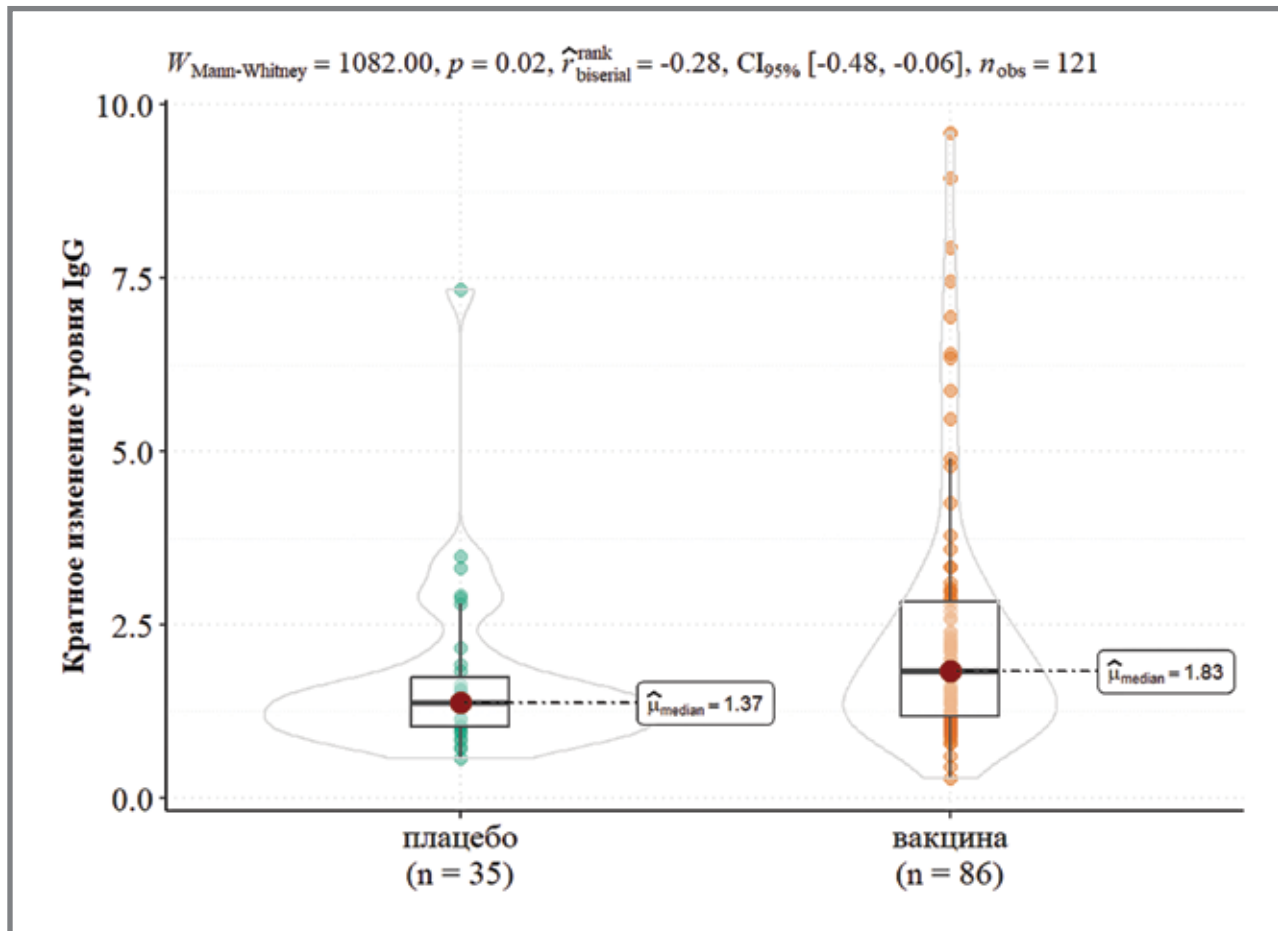


Рисунок 3. Сравнение кратного изменения концентрации IgG к поверхностному гликопротеину S коронавируса SARS-CoV-2 (BAU/мл) у добровольцев, получивших вакцину «БелКовидВак» или плацебо (1–90 день)

Figure 3. Comparison of fold change IgG concentration to SARS-CoV-2 coronavirus surface glycoprotein S (BAU/mL) in the groups of study subjects who received BelCovidVac vaccine or placebo (day 1–90)



[min; max] 1,29 [1,08; 1,71] [0,45; 10,51]; значение (SD) 1,99 (+/-2,05) значимо выше ($p = 0,05$) чем в группе плацебо (Median [Q1; Q3] [min; max] 1,11 [1,03; 1,32] [0,61; 13,53]; значение (SD) 1,70 (+/-2,20)).

На рисунке 3 можно отметить, что значение кратного изменения концентрации IgG на 90-й день в группе вакцинированных «БелКовидВак» (Median [Q1; Q3] [min; max] 1,83 [1,18; 2,84] [0,28; 9,60]; значение (SD) 2,43 (+/-1,93) значимо выше ($p = 0,02$) по сравнению с группой плацебо (Median [Q1; Q3] [min; max] 1,37 [1,03; 1,74] [0,57; 7,33]; значение (SD) 1,69 (+/-1,23)).

Сравнение значений кратного изменения концентрации IgG на 180-й день по отношению к значению до иммунизации в группах, получивших вакцину «БелКовидВак» и плацебо, показало отсутствие статистической значимости ($p = 0,10$).

На следующем этапе работы анализировали GMC, анализ которых представлен на рисунке 4.

Как видно на рисунке 4 значимое увеличение СГТ IgG ($p < 0,05$) в группе вакцинированных на 28-й, 42-й и 90-й день и отсутствие значимого увеличения СГТ в группе плацебо ($p > 0,05$) является доказательством стимуляции иммунного отве-

та в результате введения вакцины «БелКовидВак» и ее эффективности.

Сравнение на 28-й день кратности изменения \log_2 50% нейтрализующего титра антител в группах участников, получавших вакцину «БелКовидВак» или плацебо, выявило статистически значимые различия ($p = 0,02$) (рис. 5).

Данные СГТ вируснейтрализующей активности сывороток вакцинированных «БелКовидВак» и плацебо представлены на рисунке 6. Как видно на рисунке 6, несмотря на то, что на 28-й день отсутствуют значимые различия между СГТ вируснейтрализующей активности сывороток в группе вакцинированных в группе плацебо ($p > 0,05$), отмечено значимое увеличение СГТ вируснейтрализующей активности сывороток на 28-й день по сравнению с 1-м днем в группе вакцинированных «БелКовидВак» (7,74 95% ДИ [7,41; 8,08] и 8,42 95%ДИ [8,16; 8,69] день 1-й и 28-й соответственно, $p < 0,05$) и отсутствие значимого увеличения СГТ в группе плацебо (8,11 95%ДИ [7,57; 8,69] и 8,43 95%ДИ [7,86; 9,04] день 1-й и 28-й соответственно, $p > 0,05$).

Установлена статистически значимая положительная корреляционная связь между кратностью изменения титра вируснейтрализующей активно-

Рисунок 4. Средняя геометрическая концентрация IgG (BAU/мл) у добровольцев до введения на 28-й, 42-й, 90-й и 180-й день и после введения вакцины «БелКовидВак» или плацебо

Figure 4. Geometric mean concentrations IgG (BAU/mL) in the groups of study subjects before and at 28, 42, 90 and 180 days after BelCovidVac vaccine or placebo administration

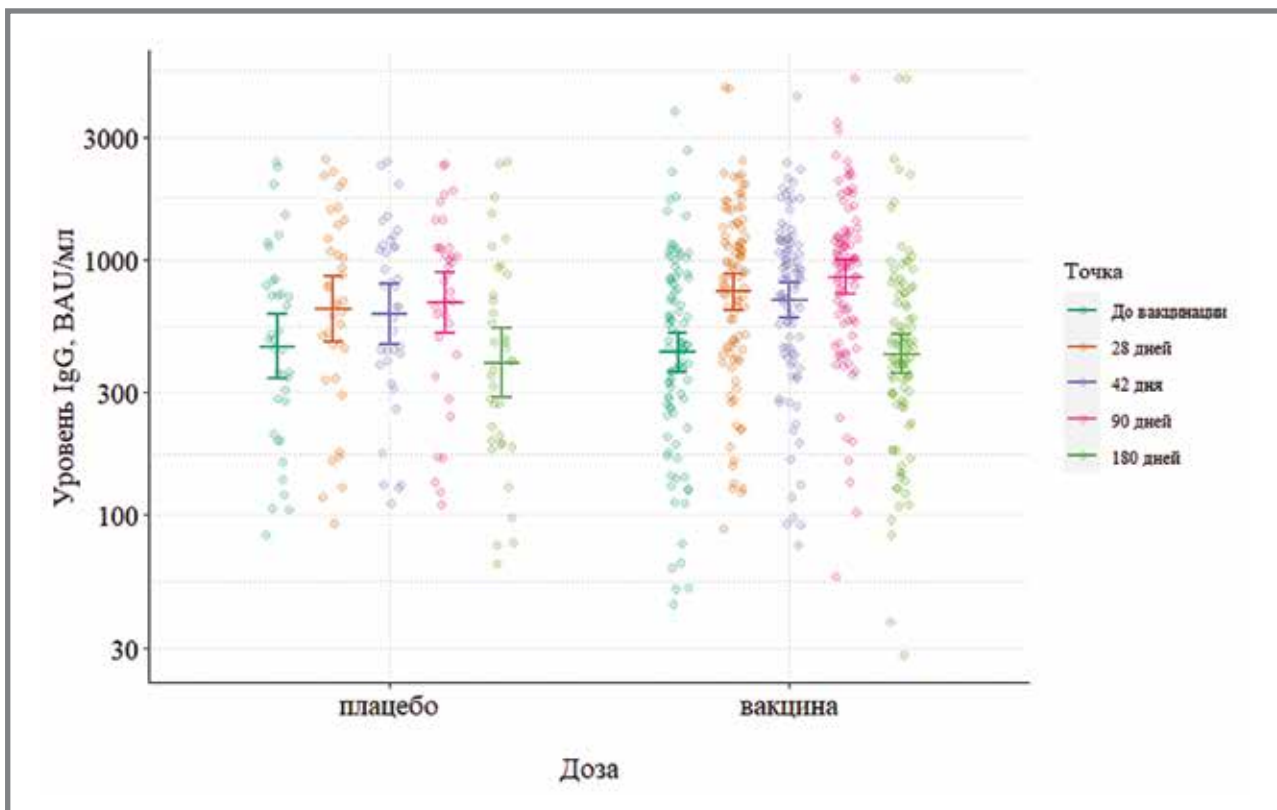


Рисунок 5. Кратное изменение титра вируснейтрализующей активности антител у добровольцев, получивших вакцину «БелКовидВак» или плацебо на «День 28», по сравнению с титром вируснейтрализующей активности у добровольцев, получивших вакцину «БелКовидВак» или плацебо до их введения

Figure 5. Fold change in the viral neutralizing activity antibodies titer of study subjects who received BelCovidVac vaccine or placebo on Day 28 compared to the viral neutralizing activity titer of study subjects who received BelCovidVac vaccine or placebo before its administration

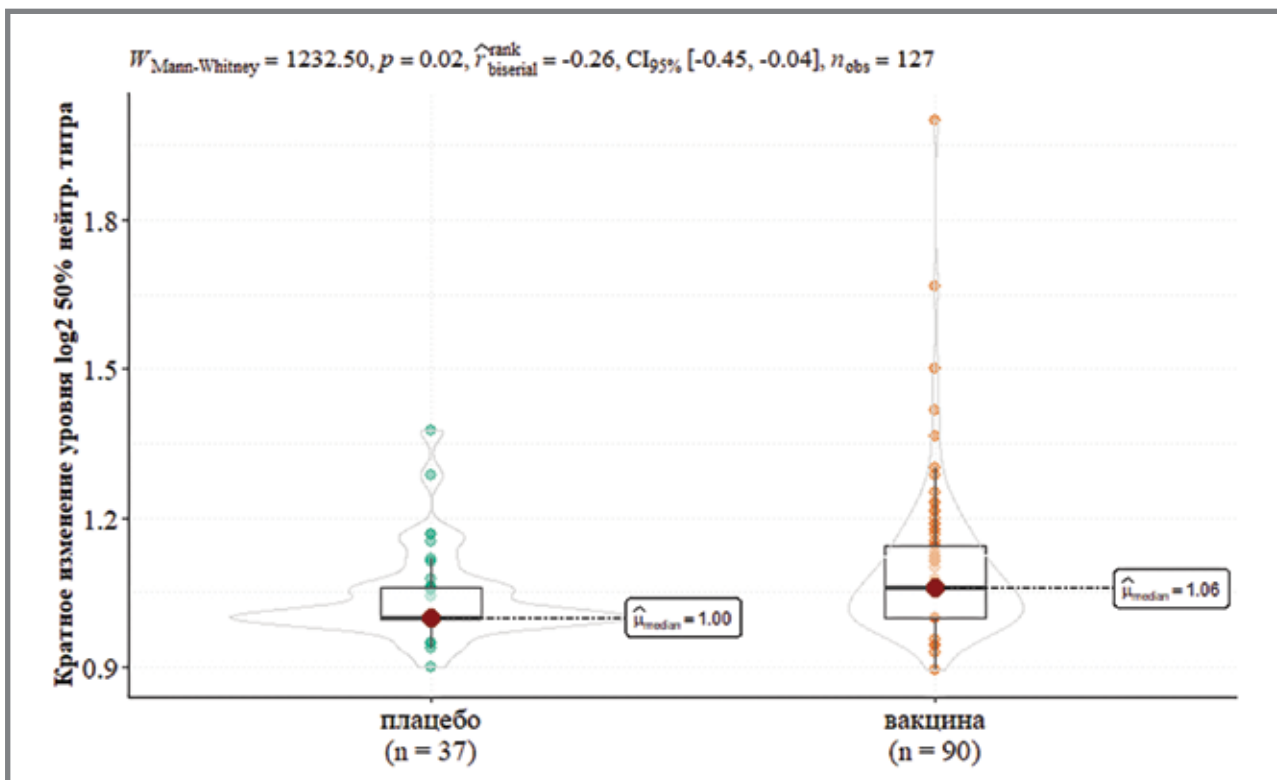


Рисунок 6. Среднее геометрическое значение титра вируснейтрализующей активности до введения вакцины «БелКовидВак» или плацебо на 28-й день после введения вакцины «БелКовидВак» или плацебо
Figure 6. Geometric mean titer of viral neutralizing activity before administration of BelCovidVac vaccine or placebo compared to geometric mean titer on day 28 after BelCovidVac vaccine or placebo administration

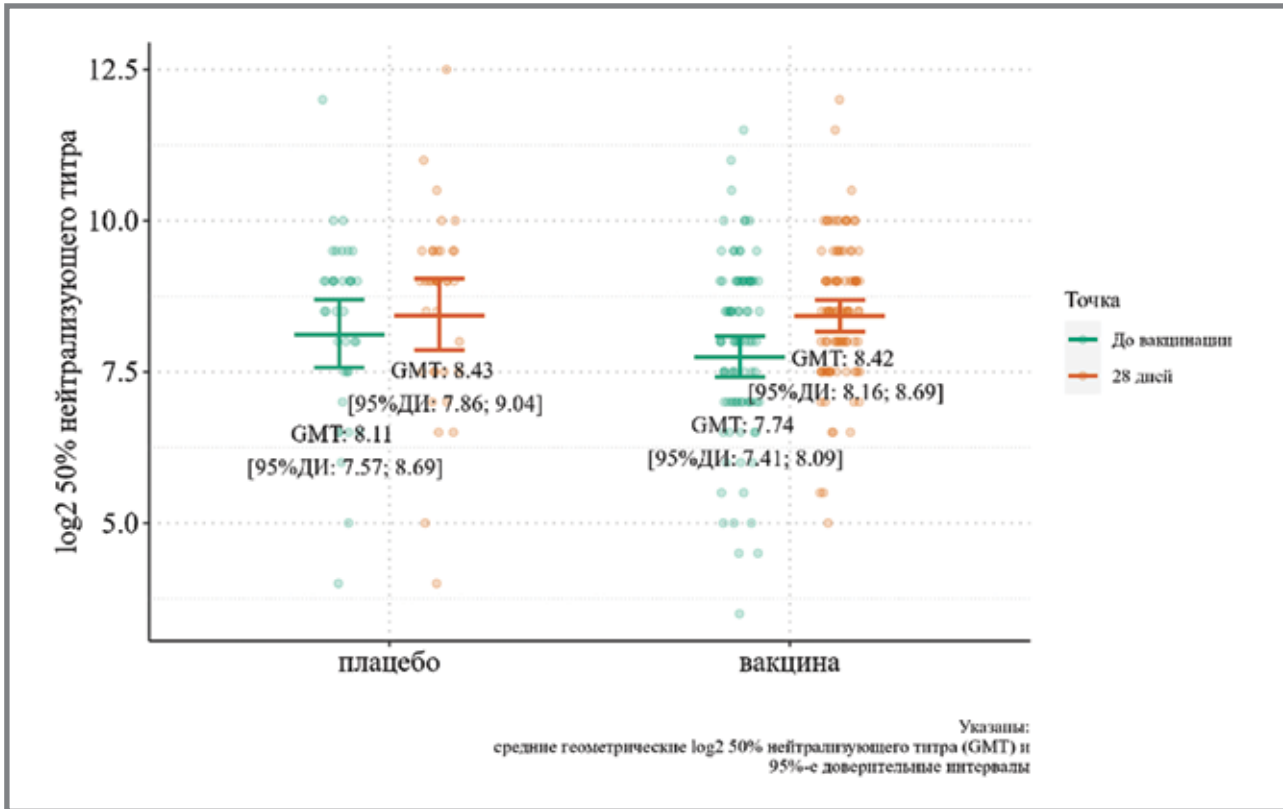


Рисунок 7. Соотношение кратного изменения вируснейтрализующей активности к кратному изменению концентрации IgG (1–28-й день) у вакцинированных
Figure 7. Correlation of the fold change of viral neutralizing activity to the fold change of IgG concentration (day 1–28) in the vaccinated

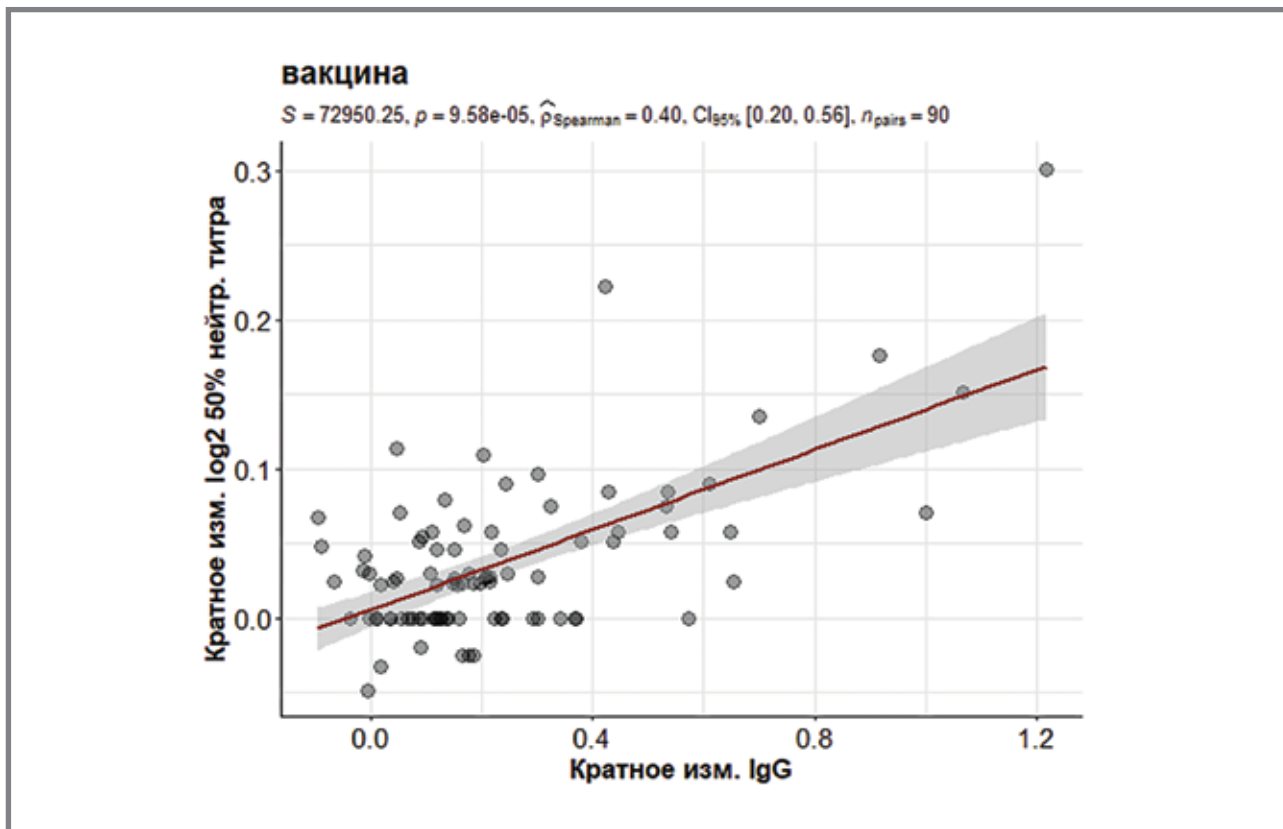
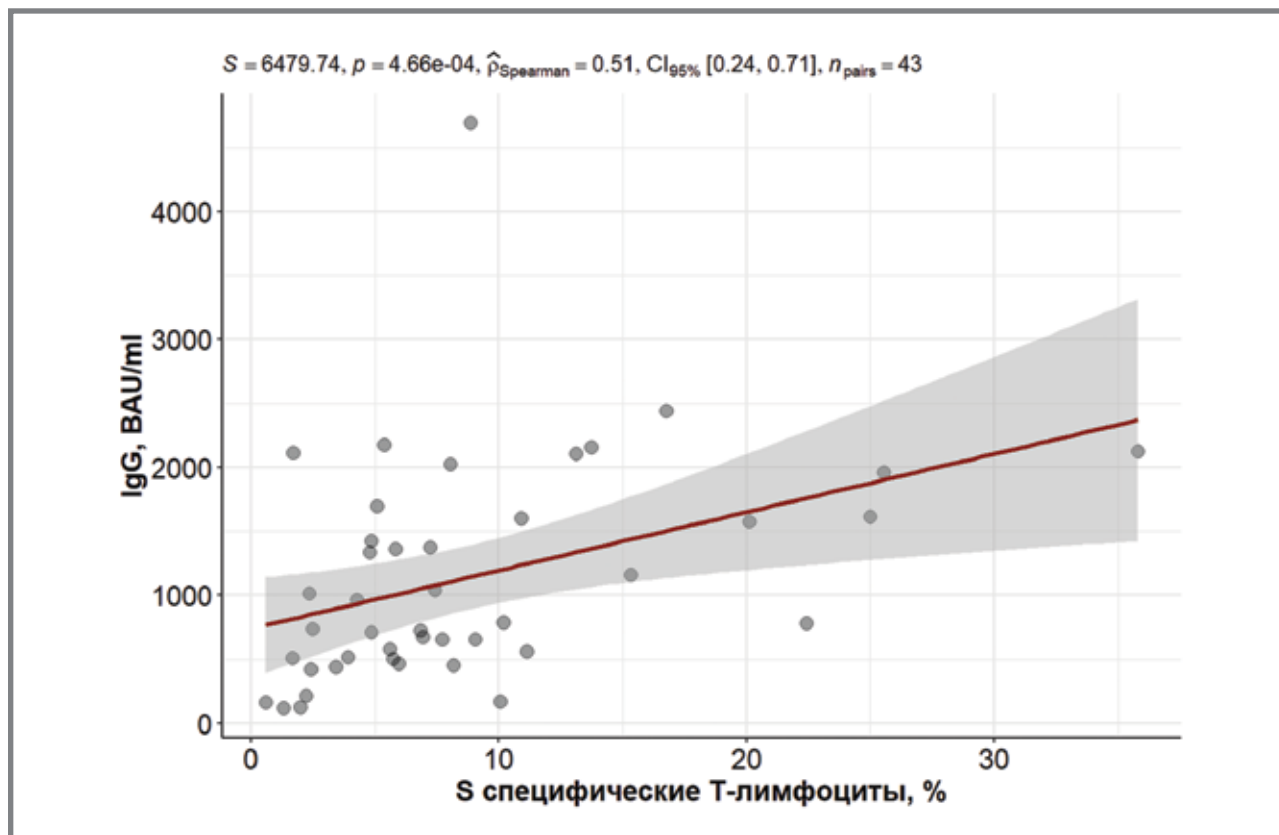


Рисунок 8. Содержание антигенспецифических Т-лимфоцитов, выявленных с помощью пролиферативного теста после рестимуляции пулом S-пептидов вируса SARS-CoV-2, в зависимости от уровня IgG (BAU/ml) на 28 день после введения вакцины «БелКовидВак» или плацебо

Figure 8. Antigen-specific T-lymphocyte content detected by proliferative test after restimulation with S-peptide pool of SARS-CoV-2 virus in relation to IgG levels (BAU/ml) on day 28 after administration of BelCovidVac vaccine or placebo



сти сывороток и кратностью изменения концентрации IgG ($\rho_{sp} = 0,40$ $p < 0,001$, рис. 7) и между содержанием антигенспецифических Т-клеток и уровнем IgG через 28 дней у обследованных ($\rho_{sp} = 0,51$ $p = 0,0005$, рис. 8).

Обсуждение

Вируснейтрализующая активность сывороток крови участников исследования оценивалась специфично к штамму вируса SARS-CoV-2/AY.122/2107 (вариант Дельта B.1.617.2.122), который входит в состав вакцины «БелКовидВак». Определение концентрации иммуноглобулинов класса G к поверхностному гликопротеину S вируса SARS-CoV-2 является менее специфичным методом, так как изучает общий иммунный ответ вирусу SARS-CoV-2 без привязки к конкретному штамму. В ходе исследования была выявлена корреляционная связь вируснейтрализующей активности сывороток с концентрацией IgG к SARS-CoV-2, а также корреляционная связь содержания антигенспецифических Т-клеток и концентрации IgG, из чего можно сделать вывод о специфичности гуморального и Т-клеточного иммунитета у добровольцев, получивших вакцину «БелКовидВак», к варианту Дельта штамма вируса SARS-CoV-2.

Стоит отметить, что в период выбора добровольцев, а также начала клинического исследова-

ния вакцины «БелКовидВак» в популяции уже была сформирована иммунная прослойка населения вследствие перенесенной инфекции, вызванной вирусом SARS-CoV-2, а также предыдущего введения вакцины от коронавирусной инфекции («гибридный иммунитет»).

Предварительно (за год до начала I этапа клинического исследования иммунобиологического препарата «БелКовидВак») нами было проведено исследование иммуногенности бустерной вакцины Soberana Plus (FINLAY-FR-1A) производства Республики Куба, в ходе которого был выявлен первоначально высокий уровень IgG у участников исследования (рукопись с результатами данного исследования на данный момент находится на стадии рецензирования).

Наличие сформированного коллективного иммунитета у населения усложнило задачу исследователей как на начальном этапе, так и при последующем анализе полученных данных. Но, несмотря на эти обстоятельства, вакцина «БелКовидВак» показала свою иммуногенность, о чем свидетельствуют результаты нашего исследования.

Выводы

1. Кратность увеличения концентрации антигенспецифических IgG значительно выше в группе вакцинированных участников исследования на 42 и 90 день

- после введения вакцины «БелКовидВак» по сравнению с плацебо ($p < 0,05$).
- Выявлено значимое увеличение СГТ антигенспецифических IgG в группе участников, получивших вакцину «БелКовидВак» на 28-й, 42-й и 90-й день после иммунизации по сравнению с данными, полученными до вакцинации ($p < 0,05$). В этих же точках исследования в группе плацебо статистически значимого увеличения СГТ не выявлено ($p > 0,05$). На 180-й день у всех участников происходило снижение концентрации антигенспецифических IgG до первоначального уровня.
 - В группе участников, получивших вакцину «БелКовидВак», отмечено значимо более высокое кратное увеличение титра вируснейтрализующей активности на 28-й день по сравнению с группой плацебо ($p < 0,05$).
 - На 28-й день после введения вакцины «БелКовидВак» отмечено значимое повышение СГТ вируснейтрализующей активности ($p < 0,05$), в группе плацебо статистически значимого увеличения СГТ не выявлено ($p > 0,05$).
 - Установлена статистически значимая положительная корреляционная связь ($\rho_{sp} = 0,51$ $p = 0,0005$) между содержанием антигенспецифических Т-клеток и уровнем IgG через 28 дней у обследованных и между кратностью изменения титра вируснейтрализующей активности сывороток и кратностью изменения концентрации IgG ($\rho_{sp} = 0,40$ $p < 0,001$).

Литература

- Вакцины и иммунизация. Доступно на: https://www.who.int/health-topics/vaccines-and-immunization#tab=tab_1. Ссылка активна на 28.10.2024.
- Bar-On Y.M., Goldberg Y., Mandel M., et al. Protection of BNT162b2 Vaccine Booster against Covid-19 in Israel // *N. Engl. J. Med.* 2021. Vol. 385, N15. P. 1393–1400.
- Fontanet A., Cauchemez S. COVID-19 herd immunity: Where are we? // *Nat. Rev. Immunol.* 2020. Vol. 20. P. 583–584.
- Стома И. О., Воропаев Е. В., Михайлова Е. И. и др. Оценка безопасности инактивированной цельновирионной бустер-вакцины против вируса SARS-CoV-2 («БелКовидВак») у иммунизированных лиц от 18 до 60 лет (28-дневный период наблюдения). *Эпидемиология и Вакцинопрофилактика.* 2024. Т. 23, №3. С. 107–119.
- Гасич Е. Л., Булда К. Ю., Дрозд А. М. и др. Применение современных технологий для молекулярно-эпидемиологического слежения за распространением возбудителя новой коронавирусной инфекции SARS-CoV-2 и прогноза развития эпидемии COVID-19. *Новости медико-биологических наук.* 2021. Т. 21, № 4. С. 76–84.
- Фельдблюм И. В., Девятков М. Ю., Репин Т. М. и др. Изменчивость вируса SARS-CoV-2 и восприимчивости населения в динамике развития эпидемического процесса. *Эпидемиология и Вакцинопрофилактика.* 2023. Т. 2, №5. С. 4–11.
- Решение Совета Евразийской экономической комиссии № 79 от 3 ноября 2016 г. «Об утверждении Правил надлежащей клинической практики Евразийского экономического союза». Доступно на: <https://pravo.by/document/?guid=3871&p0=F91600334>. Ссылка активна на 20 октября 2024.
- Kamińska D., Dęborska-Materkowska D., Kościelska-Kasprzak K., et al. Immunity after COVID-19 Recovery and Vaccination: Similarities and Differences // *Vaccines (Basel)*. 2022. Vol. 10, N7. P.1068.
- Müller L., Kannenberg J., Biemann R., et al. Comparison of the measured values of quantitative SARS-CoV-2 spike antibody assays. *J. Clin. Virol.* 2022. Vol. 155. P. 105269.
- Краско А. Г., Климович О. В., Семёнов С. Ф. и др.; Республиканский научно-практ. центр эпидемиологии и микробиологии. Метод нейтрализации вируса Sars-cov-2 на культуре перmissive клеток для диагностики Covid-19. *Инструкция по применению.* Минск, 2023. Доступно на: https://www.belriem.by/images/docs/instruction_main/054-0623_18.12.2023.pdf. Ссылка активна на 28.10.2024

References

- Vaccines and immunization. Available at: https://www.who.int/health-topics/vaccines-and-immunization#tab=tab_1. Accessed: 28 Oct 2024. (In Russ.).
- Bar-On Y.M., Goldberg Y., Mandel M., et al. Protection of BNT162b2 Vaccine Booster against Covid-19 in Israel. *N Engl J Med.* 2021;385(15):1393–1400.
- Fontanet A, Cauchemez S. COVID-19 herd immunity: Where are we? *Nat. Rev. Immunol.* 2020;20:583–584. doi: 10.1038/s41577-020-00451-5
- Стома ИО, Воропаев ЕВ, Михайлова ЕИ, et al. Safety Assessment of Inactivated Whole Virion Booster Vaccine against the SARS-CoV-2 Virus (BelCovidVac) in Immunized Study Subjects aged 18 to 60 Years (day 28). *Epidemiology and Vaccinal Prevention.* 2024;23(3):107–119. (In Russ.). doi:10.17816/PTORS5350-57.
- Gasich EL., Bulda KYu., Drozda A.M., et al. Application of modern technologies for molecular-epidemiological tracking of the distribution of the causator of new coronaviral infection SARS-CoV-2 and forecasting the development of the COVID-19 epidemic. *Novosti mediko-biologicheskikh nauk.* 2021;21(4):76–84.
- Feldblum I.V., Devyatkov M.Y., Repin T.M., et al. Variability of the SARS-CoV-2 virus and the susceptibility of the population in the dynamics of the development of the epidemic process // *Epidemiology and Vaccinal Prevention.* 2023;22(5):4–11 (In Russ.). <https://doi:10.31631/2073-3046-2023-22-5-4-11>.
- Decision of the Council of the Eurasian Economic Commission N79 of 3 November 2016 «On approval of the Rules of Good Clinical Practice of the Eurasian Economic Union». [Internet]. Available at: <https://pravo.by/document/?guid=3871&p0=F91600334>. Accessed: 20 Oct 2024 (In Russ.).
- Kamińska D, Dęborska-Materkowska D, Kościelska-Kasprzak K, et al. Immunity after COVID-19 Recovery and Vaccination: Similarities and Differences. *Vaccines (Basel)*. 2022;10(7):1068. doi: 10.3390/vaccines10071068
- Müller L, Kannenberg J, Biemann R, et al. Comparison of the measured values of quantitative SARS-CoV-2 spike antibody assays. *J Clin Virol.* 2022;155:105269. doi: 10.1016/j.jcv.2022.105269
- Krasko AG, Klimovich OV, Semenov SF, et al.; Republican Scientific and Practical Center for Epidemiology and Microbiology. Method for neutralizing the Sars-cov-2 virus on a culture of permissive cells for the diagnosis of Covid-19. *Instructions for use.* insk; 2023. Available at: https://www.belriem.by/images/docs/instruction_main/054-0623_18.12.2023.pdf. Accessed: 28 Oct 2024. (In Russ.).

Об авторах

- Игорь Олегович Стома** – д. м. н., профессор, ректор УО «Гомельский государственный медицинский университет». +375 232-35-97-00, igor.stoma@gmail.com. ORCID: 0000-0003-0483-7329.
- Евгений Викторович Воропаев** – к. м. н., доцент, проректор по научной работе УО «Гомельский государственный медицинский университет». +375 33-691-37-13, voropaev.evgenii@gmail.com. ORCID: 0000-0002-9435-6109.
- Елена Ивановна Михайлова** – д. м. н., профессор, заведующий кафедрой общей и клинической фармакологии УО «Гомельский государственный медицинский университет». +375 29-646-52-06, elena.mikhailova@tut.by. ORCID: 0000-0001-9716-4009.

About the Authors

- Igor O. Stoma** – Dr. Sci. (Med.), professor, Gomel State Medical University. +375 232-35-97-00, igor.stoma@gmail.com. ORCID: 0000-0003-0483-7329.
- Evgeny V. Voropaev** – Cand. Sci. (Med.), associate professor, vice-rector for scientific work, Gomel State Medical University. +375 33-691-37-13, voropaev.evgenii@gmail.com. ORCID: 0000-0002-9435-6109.
- Elena I. Mikhailova** – Dr. Sci. (Med.), professor, head of the department of general and clinical pharmacology, Gomel State Medical University. +375 29-646-52-06, elena.mikhailova@tut.by. ORCID: 0000-0001-9716-4009.
- Katsiaryna S. Korsak** – Assistant Lecturer at the department of Epidemiology and evidence-based medicine, Gomel State Medical University. katsiaryna.korsak@gsmu.by. ORCID: 0000-0003-3461-3246.

- **Екатерина Сергеевна Корсак** – ассистент кафедры эпидемиологии и доказательной медицины УО «Гомельский государственный медицинский университет». katsiaryna.korsak@gsmu.by. ORCID: 0000-0003-3461-3246.
- **Ольга Викторовна Осипкина** – заведующая научно-исследовательской лабораторией УО «Гомельский государственный медицинский университет». +375 44-733-52-00, olga.osipkina@mail.ru. ORCID: 0000-0002-1931-4224.
- **Алина Викторовна Молчанова** – старший преподаватель кафедры общей и клинической фармакологии УО «Гомельский государственный медицинский университет». +375 29-931-80-47, senalinusik@mail.ru. ORCID: 0000-0002-7898-6530.
- **Алексей Алексеевич Ковалев** – старший преподаватель кафедры медицинской и биологической физики УО «Гомельский государственный медицинский университет». +375 25-973-59-61, kovalev.data.analysis.gsmu@yandex.by. ORCID: 0000-0001-9148-487X.
- **Дмитрий Михайлович Лось** – начальник центра науки, медицинской информации и клинических испытаний УО «Гомельский государственный медицинский университет». +375 29-635-25-08, dimalos@list.ru. ORCID: 0000-0002-4714-4592.
- **Алексей Александрович Зятыков** – старший научный сотрудник научно-исследовательской лаборатории УО «Гомельский государственный медицинский университет». +375 29-102-43-62, ziatskovaaa@gmail.com. ORCID: 0000-0001-9542-3791.
- **Александр Сергеевич Шафорост** – старший научный сотрудник научно-исследовательской лаборатории УО «Гомельский государственный медицинский университет». +375 29-532-55-79, asofocl@mail.ru. ORCID: 0000-0002-6725-5353.
- **Марина Николаевна Яцук** – научный сотрудник научно-исследовательской лаборатории УО «Гомельский государственный медицинский университет». +375 29-735-52-77, marindanchek@yandex.ru. ORCID: 0000-0001-7759-7966.
- **Анна Юрьевна Брага** – ассистент кафедры общей и клинической фармакологии УО «Гомельский государственный медицинский университет». +375-29-399-10-96, e annabraga1996@gmail.com. ORCID: 0009-0004-1696-9702.
- **Наталья Викторовна Трофимова** – к. м. н., доцент, доцент кафедры общей и клинической фармакологии УО «Гомельский государственный медицинский университет». +375-29-371-15-71, natfgom@tut.by. ORCID: 0000-0002-1970-8274.
- **Алина Михайловна Дронина** – к. м. н., доцент, заведующий организационным отделом научно-исследовательского института гигиены, токсикологии, эпидемиологии, вирусологии и микробиологии государственного учреждения «Республиканский центр гигиены, эпидемиологии и общественного здоровья», Минск, Беларусь. +375 29-698-15-28, alinadronina@mail.ru. ORCID: 0000-0002-7020-387X.
- **Елена Леонидовна Гасич** – д. б. н., доцент, заведующая лабораторией диагностики ВИЧ и сопутствующих инфекций научно-исследовательского института гигиены, токсикологии, эпидемиологии, вирусологии и микробиологии государственного учреждения «Республиканский центр гигиены, эпидемиологии и общественного здоровья», Минск, Беларусь. elena.gasich@gmail.com. ORCID: 0000-0002-3662-3045.
- **Владимир Анатольевич Горбунов** – к. м. н., доцент, заместитель директора по научно-инновационной работе научно-исследовательского института гигиены, токсикологии, эпидемиологии, вирусологии и микробиологии государственного учреждения «Республиканский центр гигиены эпидемиологии и общественного здоровья», Минск, Беларусь. +375 44-773-73-57, gorbunov@belriem.by. ORCID: 0000-0002-4120-7863.
- **Андрей Евгеньевич Гончаров** – к. м. н., доцент, директор Государственного научного учреждения «Институт биофизики и клеточной инженерии Национальной академии наук Беларуси», Минск, Беларусь. andrei.hancharou@gmail.com. ORCID: 0000-0002-4869-9864.
- **Olga V. Osipkina** – head of the research laboratory, Gomel State Medical University. +375 44-733-52-00, olga.osipkina@mail.ru. ORCID: 0000-0002-1931-4224.
- **Alina V. Molchanova** – senior lecturer at the department of general and clinical pharmacology, Gomel State Medical University. +375 29-931-80-47, senalinusik@mail.ru. ORCID: 0000-0002-7898-6530.
- **Aleksey A. Kovalev** – senior lecturer at the department of medical and biological physics, Gomel State Medical University. +375 25-973-59-61, kovalev.data.analysis.gsmu@yandex.by. ORCID: 0000-0001-9148-487X.
- **Dmitry M. Los** – head of the center for science, medical information and clinical trials, Gomel State Medical University. +375 29-635-25-08, dimalos@list.ru. ORCID: 0000-0002-4714-4592.
- **Aliaksei A. Ziatskov** – senior researcher at the research laboratory, Gomel State Medical University. +375 29-102-43-62, ziatskovaaa@gmail.com. ORCID: 0000-0001-9542-3791.
- **Aleksandr S. Shaforost** – senior researcher at the research laboratory, Gomel State Medical University. +375 29-532-55-79, asofocl@mail.ru. ORCID: 0000-0002-6725-5353.
- Marina N. Yatsuk – researcher at the research laboratory, Gomel State Medical University. +375 29-735-52-77, marindanchek@yandex.ru. ORCID: 0000-0001-7759-7966.
- **Anna Yu. Braga** – assistant at the department of general and clinical pharmacology, Gomel State Medical University. +375 29-399-10-96, annabraga1996@gmail.com. ORCID: 0009-0004-1696-9702.
- **Natalya V. Trofimova** – Cand. Sci. (Med.), associate professor of the department of general and clinical pharmacology of the Gomel State Medical University. +375 29-371-15-71, natfgom@tut.by. ORCID: 0000-0002-1970-8274.
- **Alina M. Dronina** – Cand. Sci. (Med.), associate professor, head of the scientific and organizational department of the research institute of hygiene, toxicology, epidemiology, virology and Microbiology of the State Institution «Republican Center for Hygiene, Epidemiology and Public Health», Minsk, Belarus. +375 29-698-15, alinadronina@mail.ru. ORCID: 0000-0002-7020-387X.
- **Elena L. Gasich** – Dr. Sci. (Biol.), associate professor, head of the laboratory for the diagnostics of HIV and concomitant infections of the research institute of hygiene, toxicology, epidemiology, virology and microbiology of the State Institution «Republican center for hygiene, epidemiology and public health», Minsk, Belarus. elena.gasich@gmail.com. ORCID: 0000-0002-3662-3045.
- **Vladimir A. Gorbunov** – Cand. Sci. (Med.), associate professor, deputy director for scientific and innovation work of the research institute of hygiene, toxicology, epidemiology, virology and microbiology of the State institution «Republican center for hygiene, epidemiology and public health», Minsk, Belarus. +375 44-773-73-57, gorbunov@belriem.by. ORCID: 0000-0002-4120-7863.
- **Andrei Ev. Hancharou** – Cand. Sci. (Med.), Associate Professor, Director of the institute of biophysics and cell engineering of the National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Belarus. andrei.hancharou@gmail.com. ORCID: 0000-0002-4869-9864.

Received: 01.10.2024. Accepted: 22.11.2024.

Creative Commons Attribution CC BY 4.0.

Поступила: 01.10.2024. Принята к печати: 22.11.2024.

Контент доступен под лицензией CC BY 4.0.