

ОЦЕНКА АВИДНОСТИ ЛОКАЛЬНЫХ IgA-АНТИТЕЛ У ЛЮДЕЙ, ПРИВИТЫХ ЖИВОЙ ГРИППОЗНОЙ ВАКЦИНОЙ

Донина С.А., Кореньков Д.А., Руденко Л.Г., Найхин А.Н.

ГУ НИИ экспериментальной медицины РАМН, отдел вирусологии им. акад. А.А. Смородинцева, Санкт-Петербург

Резюме. В настоящее время оценка иммуногенности гриппозных вакцин осуществляется по показателям количественного накопления сывороточных антител. Однако показано, что степень защищенности людей от гриппа в большей степени коррелирует с их качественной характеристикой — авидностью (функциональной активностью). Обоснована ведущая роль в протекции от гриппа локального иммунитета, опосредованного IgA-антителами слизистой дыхательного тракта. В то же время вопрос об авидности локальных антител до сих пор оставался открытым.

В настоящей работе предпринята попытка оценить у людей поствакцинальную локальную иммунологическую память к вирусу гриппа А по авидности IgA-антител секретов верхних дыхательных путей. Использовали два метода оценки авидности антител, ранее применявшихся для изучения этого феномена в отношении сывороточных иммуноглобулинов — динамический тест (измеряет авидитет с позиции скорости реагирования антитела с антигеном) и тест с хаотропным агентом — мочевиной (оценивает авидитет с точки зрения прочности соединения антигена с антителом). Было обследовано 202 человека 18-20 лет.

В обоих тестах наблюдали довольно широкий диапазон колебаний индивидуальных показателей авидности антител. У значительной части лиц (до 30%), привитых живой гриппозной вакциной, накопление секреторных IgA-антител после иммунизации сопровождалось повышением до высоких значений обоих параметров авидности этих иммуноглобулинов. Зафиксировано существование обратной зависимости между уровнем авидности этих антител перед вакцинацией и возрастанием данного показателя в поствакцинальный период. Полученные данные убедительно демонстрируют феномен специфического «обновления» локальной гуморальной иммунологической памяти под влиянием иммунизации живой гриппозной вакциной. Обоснована необходимость параллельного использования двух тестов при изучении авидитета секреторных IgA-антител.

Ключевые слова: секреторные антитела, авидность, противогриппозная вакцинация.

Donina S.A., Koren'kov D.A., Rudenko L.G., Naikhin A.N.

AVIDITY EVALUATION OF LOCAL IgA ANTIBODIES IN PERSONS IMMUNIZED WITH LIVE INFLUENZA VACCINE

At present, immunogenicity evaluation of influenza vaccines is performed by quantitative assessment of increased serum antibodies. It was, however, shown that the degree of human defense against influenza is mostly related to their qualitative characteristics, i.e., avidity (functional activity). Leading role of local immunity is demonstrated in protection against influenza. Such immunity is mediated by IgA antibodies from mucosal airways. Meanwhile, the avidity issues for local antibodies still remain open.

Адрес для переписки:

Донина Светлана Александровна
197376, Санкт-Петербург, ул. Акад. Павлова, 12,
ГУ НИИЭМ РАМН,
отдел вирусологии им. акад. А.А. Смородинцева.
Тел.: (812) 234-68-60, 234-42-92.
Факс: (812) 234-94-89.
E-mail: vaccine@mail.ru

In present study, an attempt was undertaken to evaluate post-vaccination local immunological memory for influenza A virus, according to IgA antibodies from upper respiratory secretions. Two techniques were used to evaluate antibody avidity, that were previously applied for studying this phenomenon with serum immunoglobulins, i.e., a dynamic test (measurement of antigen-antibody reaction rates), and a test with urea, a chaotropic agent (avidity

is determined as a strength of antigen-antibody complex). A total of 202 persons (18 to 20 years old) were enrolled into the study.

With both tests, a broad range of individual avidity values was observed for the antibodies. A significant cohort (up to 30 per cent) of persons immunized with live influenza vaccine, showed sharply increased avidity of secretory IgA antibodies by both methods, along with accumulation of these immunoglobulins after vaccination. A reverse relationship is revealed between avidity levels of these antibodies before vaccination, and increase of this parameter post-immunization. The data present convincing arguments for specific renewal of local humoral immunological memory, as induced by live influenza vaccine. The study substantiates a necessity for application of the both tests in parallel, when determining avidity of secretory IgA antibodies. (*Med. Immunol.*, vol. 10, N 4-5, pp 423-430)

В настоящее время оценка иммуногенности гриппозных вакцин осуществляется по показателям количественного накопления сывороточных антител [2]. Однако степень защищенности людей от гриппа в большей степени коррелирует с их качественной характеристикой — функциональной активностью, измеренной по критерию авидитета циркулирующих иммуноглобулинов [1, 4]. Обоснована ведущая роль в протекции от гриппа локального иммунитета, опосредованного IgA-антителами слизистой дыхательного тракта [3-6]. На базе разработанной методики определения в иммуноферментном анализе (ИФА) титров противовирусных секреторных антител класса А охарактеризованы особенности формирования у людей постинфекционного и поствакцинального локального иммунитета к вирусам гриппа [6, 7]. В то же время вопрос об авидности локальных антител оставался открытым.

Авидность антител отражает скорость, интенсивность и прочность их связывания с антигеном [8, 15]. Эти параметры характеризуют состояние гуморального звена иммунологической памяти, поскольку, в отличие от первичного, при вторичном и, вероятно, последующих контактах людей с возбудителями острых инфекций преобладают высокоавидные антитела [8, 13].

Для определения авидности сывороточных антител разработан и апробирован в многочисленных исследованиях метод, основанный на динамическом измерении их титров по мере увеличения времени контакта этих иммуноглобулинов с гриппозным антигеном [5]. Тестирование авидности циркулирующих антител осуществляется и в другой методике — с помощью обработки исследуемых сывороток крови хаотропными агентами (чаще всего мочевиной), разрушающими слабоавидные связи антител с антигеном [14]. Оценка авидности антител успешно используется для диагностики у людей ряда вирусных инфекций, таких как краснуха [12], герпес [19], гепатит С [18], корь [17], цитомегаловирусная инфекция [11, 14], лихорадка Денге [10].

В настоящей работе впервые в мировой практике предпринята попытка оценить у людей поствакцинальную локальную иммунологическую

память к вирусу гриппа по авидности IgA-антител секретов верхних дыхательных путей (СВДП).

Материалы и методы

Волонтеры и вакцинация. СВДП отобраны от 202 условно здоровых молодых людей 18-20 лет: 56 человек, иммунизированных однократно коммерческой холодоадаптированной реассортантной тривалентной живой гриппозной вакциной — ЖГВ (ФГУ «Микроген», Иркутское предприятие по производству иммунобиологических препаратов) и 48 волонтеров того же возраста, которым вводили препарат плацебо (лиофилизированная аллантоисная жидкость незараженных куриных эмбрионов) и 98 невакцинированных лиц. Вакцину и препарат плацебо вводили интраназально по 0,25 мл в каждый носовой ход. В состав ЖГВ входили аттенуированные реассортантные штаммы А/17Калифорния/04/6 (H3N2), А/17/Новая Каледония/99/45 (H1N1) и В/60/Джилин/01/1.

Сорбция антигена в планшетах для определения в ИФА титров и авидности. В качестве антигена для ИФА использовали вирус гриппа А/17/Новая Каледония/20/99 (H1N1), накопленный в куриных эмбрионах и очищенный изопикническим ультрацентрифугированием в градиенте плотности сахарозы (30-60%). Антиген сорбировали в дозе 16 ГАЕ/лунка в плоскодонных 96-луночных полистироловых планшетах (Медполимер, Россия) при +4°C в течение 18 часов. Далее после трехкратной промывки лунок планшета 200 мкл фосфатно-солевым буфером (ФСБ) с 0,05% Твином-20 (ФСБ-Т) добавляли блокирующий раствор 1% бычьего сывороточного альбумина (БСА — фракция V) и повторяли промывку. В качестве конъюгата использовали кроличьи аффинно-очищенные антитела к IgA человека, связанные с пероксидазой хрена («Kikegend and Kerry Laboratories», США).

Титры секреторных IgA-антител определяли в непрямом варианте ИФА по ранее разработанной методике [6, 7]. За титр антител принимали последнее разведение образца, оптическая плотность (ОП) которого превышала в 2 и более раз среднее арифметическое значение ОП контрольных лунок (все компоненты кроме образцов СВДП).

Определение авидности секреторных IgA-антител в тесте с мочевиной. Тест выполняли по методике [14], модифицированной в части, касающейся его адаптации для исследования СВДП.

В 6 лунок с сорбированным антигеном вносили по 50 мкл исследуемых образцов СВДП, разведенных 1 : 8 в ФСБ. Далее образцы инкубировали в течение 1 часа при комнатной температуре и трехкратно промывали раствором ФСБ-Т. Затем в 3 лунки вносили по 50 мкл 5 М раствора мочевины в ФСБ, в три контрольные лунки — по 50 мкл ФСБ. Планшеты инкубировали в течение 10 минут при комнатной температуре, после чего их промывали и добавляли в каждую лунку по 50 мкл конъюгата в рабочем разведении на ФСБ 1 : 1000. Реагенты инкубировали 1 час при комнатной температуре, после чего планшеты отмывали трехкратно ФСБ-Т. На последнем этапе в лунки вносили по 50 мкл субстрата ОФД в цитратно-фосфатном буфере (ЦФБ), инкубировали 20 минут при комнатной температуре и добавляли по 20 мкл стоп-раствора (2Н H₂SO₄). ОП определяли на микропланшетном фотометре ELx800 («Bio-Tek Instruments Inc.», США). Расчет индекса авидности (ИА) осуществляли по общепринятой формуле: $ИА = (\text{среднее арифметическое ОП в лунках, обработанных мочевиной} / \text{среднее арифметическое ОП в контрольных лунках}) \times 100\%$.

Определение индекса авидности секреторных IgA в динамическом тесте. Использовали ранее разработанную методику, основанную на определении скорости и интенсивности образования комплекса антиген-антитело [5].

Каждый исследуемый образец СВДП (50 мкл) раститровывался в ФСБ (50 мкл) параллельно в трех рядах с разведения 1 : 8 до 1 : 512. Последний ряд лунок (восьмой) служил контролем — присутствие только 50 мкл ФСБ. В первом ряду образцы СВДП контактировали с антигеном при комнатной температуре 15 минут, во втором — 30 минут, в третьем — 60 минут. После завершения инкубации лунки промывались трехкратно ФСБ-Т. Внесение конъюгата и хромогенная реакция с субстратом проводилась так же, как для определения авидности антител в тесте с мочевиной. ИА рассчитывали по формуле: $ИА = (T_1 : T_{0,25}) + (T_1 : T_{0,5}) / t_{\max}$, где T_1 , $T_{0,5}$, $T_{0,25}$ — обратные величины титров антител соответственно после инкубации СВДП в течение 1 часа, 0,5 часа и 0,25 часа; t_{\max} — время достижения максимального титра, то есть или через 1 час, или через 0,5 часа или через 0,25 часа контакта СВДП с антигеном.

Статистические методы. Статистическую достоверность полученных результатов оценивали с помощью критерия χ^2 в программе «Statistica 6.0».

Результаты

Для отработки способа тестирования авидности секреторных IgA-антител в динамическом варианте мы проанализировали характер изменения их титров к вирусу гриппа А в зависимости от времени контакта исследуемых образцов СВДП с антигеном: 0,25; 0,5; 1; 2 и 4 часа. Обследовано 98 невакцинированных молодых людей. СГТ антител при контакте реагентов в этих временных интервалах составил соответственно 25,7; 43,1; 60,1; 80,3 и 128,9. Таким образом, наблюдалось четкое повышение усредненных показателей концентрации секреторных IgA-антител по мере возрастания времени реагирования СВДП с антигеном. При этом у 71 добровольца (72,4%) величины титров антител возрастали, а у остальных 27 человек (27,6%) они остались без изменения.

Далее необходимо было выбрать оптимальный вариант в отношении расчета ИА антител в динамическом тесте по разным временным интервалам контакта IgA-антител с антигеном. Результаты исследования СВДП тех же 98 человек свидетельствовали о практически полном совпадении средних значений ИА антител, рассчитанных в трех вариантах: 1) контакт 0,25; 0,5 и 1 час; 2) контакт 0,25; 0,5, 1 и 2 часа и 3) контакт 0,25; 0,5, 1, 2 и 4 часа. Поэтому в дальнейшем, как наиболее простой и экономичный, применяли первый вариант.

Данные, приведенные в таблице 1, отражают, с одной стороны, широту диапазона индивидуальных показателей авидности секреторных IgA-антител, с другой — связь этой качественной характеристики антител с их титрами. У обследованных невакцинированных добровольцев, по данным теста с мочевиной и динамического теста, значения ИА секреторных антител колебались соответственно от 39 до 98% и от 1 до 36.

Таким образом, наблюдался довольно широкий диапазон колебаний индивидуальных показателей авидности антител в обоих тестах. На основании анализа этих результатов волонтеры по величинам ИА в тесте с мочевиной и в динамическом тесте были разделены на три группы: с низкими ИА (соответственно 39-60% и 1-3), средними ИА (соответственно 61-80% и 4-7) и высокими ИА (соответственно 81-98% и 8-36).

У обследованных волонтеров в обоих тестах по мере увеличения обнаруживаемых у них титров антител наблюдалось возрастание доли лиц с высокими показателями ИА этих иммуноглобулинов и, соответственно, снижение доли людей с низкими ИА ($p < 0,05$ и $< 0,01$). Однако обращает на себя внимание тот факт, что среди добровольцев с низкими титрами антител 1 : 8 — 1 : 32

ТАБЛИЦА 1. ИНДЕКСЫ АВИДНОСТИ (ИА) СЕКРЕТОРНЫХ IgA-АНТИТЕЛ К ВИРУСУ ГРИППА А (H1N1) В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ИХ КОНЦЕНТРАЦИИ

Концентрации антител (обратные величины титров)	Число лиц	Из них с ИА антител						
		Тест с мочевойной			Динамический тест			
		Среднее арифметическое значение ИА	Диапазон величин ИА		Среднее арифметическое значение ИА	Диапазон величин ИА		
			39-60%	61-80%	81-98%	1-3	4-7	8-36
8-32	28	60,1%	13 (46,4%)	12 (42,9%)	3 (10,7%)	4,2	19 (67,9%)	1 (3,5%) 8 (28,6%)
64-128	38	67,3%	12 (31,6%)	20 (52,6%)	6 (15,8%)	8,2	0	15 (39,5%) 23 (60,5%)
256-512	24	73,6%	4 (16,7%)	12 (50,0%)	8 (33,3%)	10,3	0	5 (20,8%) 19 (79,1%)
8-512	90	67,0%	29 (32,2%)	44 (48,9%)	17 (18,9%)	7,6	19 (21,1%)	21 (23,3%) 50 (55,61%)

ТАБЛИЦА 2. ИНДЕКСЫ АВИДНОСТИ (ИА) СЕКРЕТОРНЫХ IgA-АНТИТЕЛ К ВИРУСУ ГРИППА А (H1N1) У ПРИВИТЫХ ЖГВ ЛЮДЕЙ

Группа	Наличие (+) или отсутствие (-) достоверного прироста титров антител в ИФА	Число лиц	Из них с высокими* показателями ИА антител						
			Тест с мочевойной			Динамический тест			
			До иммунизации	После иммунизации	Кратность изменения	До иммунизации	После иммунизации	Кратность изменения	
Привитые ЖГВ	(+)	28	12 (42,9%)	20 (71,4%)	1,7	6 (21,4%)	12 (42,9%)	2,0	
	(-)	28	18 (64,3%)	18 (64,3%)	1,0	8 (28,6%)	10 (35,7%)	1,2	
Получившие препарат плацебо	(-)	42	22 (52,4%)	18 (42,9%)	0,8	4 (19,1%)	2 (9,5%)	0,5	

Примечание. * – для теста с мочевойной – ИА 81-98%, для динамического теста – ИА 8-36.

ТАБЛИЦА 3. ДИАПАЗОН ИЗМЕНЕНИЯ ИНДЕКСОВ АВИДНОСТИ (ИА) СЕКРЕТОРНЫХ IgA-АНТИТЕЛ К ВИРУСУ ГРИППА А (H1N1)

Группа	Число лиц	Из них с измененными величинами ИА антител после вакцинации по отношению к предвакцинальному периоду						
		Тест с мочевойной			Динамический тест – частное от деления поствакцинальных ИА антител на предвакцинальные			
		Снижение ИА на 1-12%	Увеличение ИА на		0,1-0,9	1,0-1,4	1,5-2,4	2,5-8,0
			1-9%	10-15%				
Лица, давшие достоверный прирост титров антител после прививки ЖГВ	28	4 (14,3%)	7 (25,0%)	9 (32,1%)	8 (28,6%)	4 (14,3%)	9 (32,1%)	5 (17,9%) 10 (35,7%)
Лица, получившие препарат плацебо	42	24 (57,1%)	5 (23,8%)	4 (19,1%)	0	12 (28,6%)	22 (52,4%)	4 (19,0%) 0

встречались лица с высокими показателями авидности этих иммуноглобулинов: в данных теста с мочевиной — 11% и в данных динамического теста — 29%. В целом в первом тесте смещение величин ИА антител наблюдалось в сторону низких и средних, а во втором — в сторону низких значений.

Приведенные выше результаты касались расчета ИА антител у невакцинированных людей. Между тем, при разработке любого иммунологического теста важно установить, происходит ли изменение его показателей под влиянием антигенного стимула. Это в полной мере относится и к характеристике авидитета антител. Для получения таких данных мы в сравнительном плане проследили характер изменений показателей ИА секреторных IgA-антител в до- и поствакцинальный периоды у трех групп волонтеров: 1) у привитых ЖГВ с наличием достоверного прироста локальных антител, 2) у привитых с отсутствием такого прироста и 3) у получивших препарат плацебо (табл. 2).

После иммунизации у вакцинированных волонтеров с наличием достоверной конверсии IgA-антител в СВДП доля лиц с высокими показателями ИА антител, по данным теста с мочевиной и динамического теста, увеличилась соответственно в 1,7 и в 2,0 раза ($p < 0,01$). У привитых людей без достоверного накопления антител эти показатели практически не изменились ($p > 0,05$), а у добровольцев, получивших препарат плацебо, они даже снизились.

Таким образом, по данным обоих тестов, значительное увеличение доли лиц с высокими ИА секреторных IgA-антител отмечено только в группе с фиксированным достоверным нарастанием уровня этих антител после вакцинации ЖГВ.

Далее мы попытались ответить на вопрос, в каком диапазоне находились показатели достоверного увеличения авидности секреторных IgA-антител под влиянием вакцинации (табл. 3). В тесте с мочевиной у лиц с достоверным приростом титров этих антител после введения ЖГВ, доля людей с увеличением уровня ИА антител на 16-35% составила около 30%, тогда как среди контрольной группы волонтеров не выявлено ни одного такого случая. При этом среди добровольцев из первой группы у 4 (14,3%) наблюдалось незначительное (на 1-12%) поствакцинальное снижение величин ИА антител, тогда как в контрольной группе число лиц с подобным снижением оказалось в 4 раза больше ($p < 0,01$).

Данные динамического теста в целом оказались схожими. Так, в группе привитых ЖГВ число людей с увеличением ИА в 2,5-8,0 раз составило около 36%, а в контрольной группе такие

случаи не фиксировались вообще. Те же 4 человека (14,3%) ответили на вакцинацию снижением авидитета антител, а в контрольной группе таких лиц было в 2 раза больше ($p < 0,01$).

Приведенные результаты позволили принять за достоверное возрастание ИА секреторных IgA-антител после вакцинации ЖГВ следующие варианты: 1) для теста с мочевиной — увеличение ИА не менее чем на 15%; 2) для динамического теста — увеличение ИА не менее чем в 2,5 раза.

Сведения, представленные в таблице 4, отражают широту информации, получаемой в обоих тестах измерения авидности секреторных IgA-антител. Сравнивали степень совпадения (или несовпадения) результатов в трех парных вариантах: а) титры антител — ИА антител в тесте с мочевиной; б) титры антител — ИА антител в динамическом тесте; в) ИА антител в динамическом тесте — ИА антител в тесте с мочевиной. За положительный результат считали поствакцинальное достоверное увеличение титров и ИА антител, за отрицательный результат — отсутствие подобных увеличений.

Общее совпадение результатов в этих вариантах (положительные плюс отрицательные), колебалось в пределах 55-67%. У 32-34% иммунизированных лиц фиксировали прирост титров секреторных IgA-антител без повышения их авидности. У 6 человек (10,8%) отмечено повышение авидности антител в тесте с мочевиной без увеличения их титров. Такие случаи в отношении динамического теста не наблюдались. Динамический тест по отношению к тесту с мочевиной давал дополнительную информацию в 23% случаев и, наоборот, второй тест по отношению к первому — в 14%. Всего результаты обоих тестов определения авидности антител не совпали у 21 волонтера (37,6%).

Таким образом, в диагностическом смысле два использованных теста измерения авидности локальных IgA-антител у привитых ЖГВ людей совершенно не «перекрывали» друг друга, а у небольшой части этих лиц (до 34%) наблюдали приросты этих антител без увеличения их авидности. Причину возникновения последнего феномена мы попытались проанализировать с точки зрения предвакцинального состояния авидитета секреторных антител.

Логично было предположить, что после прививки отсутствие сдвига в авидитете антител при наличии увеличения их концентрации может быть связано с высокими предвакцинальными показателями их авидности. Действительно, по данным динамического теста у этих лиц усредненный уровень ИА секреторных IgA-антител перед вакцинацией оказался в 3,5 раза выше ($p < 0,001$) по сравнению с людьми, ответивши-

ми повышением ИА на вакцинацию. Аналогичный показатель для теста с мочевиной составил 2,7 ($p < 0,001$). Это свидетельствует в пользу существования обратной зависимости между уровнями авидности секреторных IgA-антител перед иммунизацией, с одной стороны, и возрастом ИА в поствакцинальный период – с другой.

Обсуждение

Проблема формирования иммунологической памяти к вирусам, вообще, и локальной иммунологической памяти, в частности, находится лишь на начальном этапе изучения [9, 16]. Это в полной мере относится и к вакцинации мукозальными вакцинами.

Настоящая работа выполнена с целью получения информации по двум практически неисследованным вопросам: а) можно ли измерять авидитет локальных антител к вирусу гриппа; б) изменяется ли этот показатель под влиянием иммунизации живой вакциной, то есть «срабатывает» ли после введения ЖГВ локальная В-клеточная иммунологическая память, оцененная по критерию антительного авидитета, у уже праймированных по отношению к этому возбудителю лиц, поскольку абсолютное большинство населения всех возрастов (исключение – дети первых лет жизни) контактировало с вирусом гриппа в течение жизни.

Для решения первого вопроса были адаптированы два метода оценки авидности антител, ранее применявшиеся для изучения этого феномена в отношении сывороточных иммуноглобулинов. Как уже упоминалось, эти тесты неравнозначны по своей сути, поскольку динамический вариант измеряет авидитет с позиции скорости реагирования антитела с антигеном (время достижения максимального титра) и интенсивности иммунной реакции (частное от деления максимального

титра на минимальный), тогда как тест с мочевиной оценивает авидитет с точки зрения прочности соединения антигена с антителом на основании количественных данных о разрыве слабоавидных связей под воздействием мочевины.

Ранее установлено существование хорошо выраженной прямой зависимости величины титра сывороточных антител от времени их контакта с антигенами вирусов гриппа [1, 3]. Аналогичная зависимость обнаружена нами в тех же временных интервалах и в отношении секреторных IgA-антител. Эти данные явились основой для разработки динамического теста определения авидности локальных антител.

Анализ этих данных свидетельствовал о достаточности применения для расчета ИА мукозальных антител результатов их количественного измерения в диапазоне временного контакта с антигеном в пределах 0,25–1,0 часа.

Как в динамическом тесте, так и в тесте с мочевиной мы наблюдали довольно широкий диапазон разброса индивидуальных значений ИА локальных антител (табл. 1). Эти данные позволили произвести группировку величин ИА по низким, средним и высоким значениям. В обоих тестах эти величины находились в прямой зависимости от определяемых концентраций секреторных антител, то есть титров (табл. 1). Данный феномен, по-видимому, объясняется преобладанием у людей с высокими титрами IgA-антител высокоавидных иммуноглобулинов этого класса (недавний контакт с вирусом), тогда как по мере отдаленности такого контакта (низкие титры антител) уровень высокоавидных антител должен снижаться.

Может возникнуть вопрос, необходимо ли вообще измерение авидитета антител, если их титры всегда отражают эту качественную характеристику. Оказалось, что далеко не у всех людей

ТАБЛИЦА 4. СОПОСТАВЛЕНИЕ ДАННЫХ О ТИТРАХ И ИНДЕКСАХ АВИДНОСТИ (ИА) СЕКРЕТОРНЫХ IgA-АНТИТЕЛ У ПРИВИТЫХ ЖГВ ДОБРОВОЛЬЦЕВ

Число привитых	Сравниваемые тесты*	Результаты			
		% совпадения результатов		% несовпадения результатов	
		(+)/(+)**	(-)/(-)**	(+)/(-)	(-)/(+)
56	I / III	9 (16,1%)	22 (39,3%)	19 (33,9%)	6 (10,8%)
		31 (55,4%)		25 (44,6%)	
	I / II	10 (17,9%)	28 (50,1%)	18 (32,1%)	0
		38 (67,0%)		18 (32,1%)	
	II / III	5 (8,9%)	31 (55,4%)	13 (23,2%)	8 (14,3%)
		36 (64,4%)		21 (37,6%)	

Примечания. * – I – титры антител; II – ИА в динамическом тесте; III – ИА в тесте с мочевиной. ** – (+) – наличие достоверного поствакцинального увеличения – положительный результат в конкретном тесте; (–) – отсутствие такого увеличения – отрицательный результат; достоверные увеличения: I – в 4 раза и более; II – в 2,5 раза и более; III – на 15% и более.

авидность секреторных IgA совпадает с их концентрациями в СВДП (табл. 1), поскольку обнаруживались высокие титры ($\geq 1 : 64$) слабоавидных секреторных антител (до 50% случаев в тесте с мочевиной). Близкие по значению результаты получены при сопоставлении величин титров и ИА сывороточных противогриппозных антител, выявленных в динамическом тесте [3-5].

У обследованных лиц наблюдалось два типа динамических показателей концентраций IgA-антител в СВДП: первый (наиболее часто встречающийся) — титры антител возрастали по мере увеличения времени контакта антител с антигеном, второй — титры антител не изменялись в пределах исследуемых временных интервалов (плато). По-видимому, выход на плато уже через 15 минут контакта реагентов свидетельствует об очень высокой авидности секреторных иммуноглобулинов.

Сведения, приведенные в таблице 2, на наш взгляд, убедительно демонстрируют феномен специфического «обновления» локальной гуморальной иммунологической памяти под влиянием иммунизации ЖГВ, поскольку только у привитых с достоверными приростами титров IgA-антител (но не у лиц из контрольной группы) отмечено повышение авидитета этих антител. Иными словами, эти данные свидетельствуют о том, что, во-первых, полученные результаты измерения авидитета в обоих тестах высокоспецифичны, во-вторых, локальный гуморальный иммунный ответ на вакцинацию ЖГВ сопровождается увеличением как количественной характеристики секреторных антител (титров), так и их качественной характеристики (авидности). Аналогичные результаты мы наблюдали и в отношении сывороточных антител у иммунизированных ЖГВ людей [3, 5].

При измерении индивидуальной авидности антител у конкретного вакцинируемого человека важно зафиксировать не только некие изменения данного показателя под влиянием вакцинации, но и установить величины достоверности такого изменения, ибо нельзя исключить, что в каких-то пределах значения ИА антител могут быть подвержены неспецифическим колебаниям в промежутки времени между заборами до- и поствакцинальных образцов СВДП. Нами установлены подобные величины для динамического теста и теста с мочевиной (табл. 3).

И, наконец, в практическом плане данные, приведенные в таблице 4, дают представление о выборе теста для изучения авидности локальных IgA-антител к вирусу гриппа А. Поскольку два использованных нами метода отражают разные характеристики авидности секреторных антител и они далеко не равнозначны по полу-

ченным результатам, создается впечатление, что предпочтительней использовать одновременно оба приема, поскольку такой подход обеспечивал получение дополнительных сведений в одном из тестов по отношению к другому в 30-45% случаев.

Обобщая представленные материалы, можно отметить следующее:

Впервые в мировой практике осуществлено исследование авидности вирусспецифических локальных антител класса А.

Апробированы два метода оценки в ИФА авидности секреторных антител к вирусу гриппа А: по интенсивности и скорости образования иммунных комплексов (динамический тест) и по прочности соединения иммунных комплексов (тест с мочевиной).

В обоих тестах отмечено наличие широкого диапазона колебаний индивидуальных показателей авидности локальных противогриппозных иммуноглобулинов класса А у лиц 18-20 лет.

Показано, что у значительной части людей этого возраста (до 30%) количественное накопление секреторных IgA-антител после иммунизации ЖГВ сопровождается повышением до высоких значений обоих параметров авидности этих иммуноглобулинов. Зафиксировано существование обратной зависимости между уровнем авидности этих антител перед вакцинацией и возрастом данного показателя в поствакцинальный период.

В определении авидности локальных IgA-антител установлен весьма невысокий уровень «диагностической перекрываемости» динамического теста и теста с мочевиной. Параллельное использование двух тестов повышает уровень информации об авидитете этих антител до 45%.

Список литературы

1. Донина С.А., Найхин А.Н., Руденко Л.Г. Функциональная активность антител при естественной гриппозной инфекции и иммунизации гриппозными вакцинами // Аллергология и иммунология. — 2000. — № 1. — С. 114.
2. Медуницин Н.В. Вакцинология. — М.: Триада-Х, 2004. — 448 с.
3. Найхин А.Н., Артемьева С.А., Босак Л.В., Каторгина Л.Г. Значение функциональной активности антител в противогриппозном иммунитете // Вестник РАМН. — 1995. — № 9. — С. 32-36.
4. Найхин А.Н., Артемьева С.А., Выборных Е.Н., Попова Т.Л., Каторгина Л.Г., Ким Т.Н., Кустикова Ю.Г., Денисов Г.М. Роль функциональной активности антител в защищенности людей от гриппа // Вопр. вирусологии. — 1991. — № 3. — С. 194-197.
5. Найхин А.Н., Артемьева С.А., Ермаченко Т.А., Выборных Е.Н., Кустикова Ю.Г., До-

- рошенко Е.В., Каторгина Л.Г., Денисов Г.М., Ким Т.Н. Функциональная активность анти-тел при иммунизации гриппозными вакци-нами // *Вопр. вирусологии.* — 1993. — № 5. — С. 204-207.
6. Найхин А.Н., Донина С.А., Кустикова Ю.Г., Каторгина Л.Г., Ким Т.Н., Руденко Л.Г. Изучение в иммуноферментном анализе поствакциналь-ного секреторного иммунитета к вирусам гриппа А и В с помощью разработанной моноклональ-ной иммуноферментной тест-системы // *Вопр. вирусологии.* — 1997. — № 6. — С. 271-275.
7. Найхин А.Н., Донина С.А., Кустико-ва Ю.Г., Каторгина Л.Г., Руденко Л.Г. Моно-клональная иммуноферментная тест-система для оценки секреторного иммунитета к вирусам гриппа А и В // *Вопр. вирусологии.* — 1997. — № 5. — С. 212-215.
8. Ahmed R., Gray D. Immunological memory and protective immunity: understanding their rela- tion // *Science.* — 1996. — Vol. 272. — P. 54-60.
9. Dörner T., Radbruch A. Antibodies and B cell memory in viral immunity // *Immunity.* — 2007. — Vol. 27. — P. 384-392.
10. Fernandes S., Araujo E.S., Tateno A.F., Olivei- ra O.M., Oliveira R.R., Pannuti C.S. Use of an immu- noglobulin G avidity test to discriminate between pri- mary and secondary dengue virus infections // *J. Clin. Microbiol.* — 2004. — Vol. 42. — P. 1782-1784.
11. Gutierrez J., Rodriguez M., Maroto M.C., Piedrola G., Peiron J. Behaviour of IgG antibody avidity for the antigen and of IgA antibody in active cytomegalovirus, Epstein-Barr virus, herpes sim- plex virus and human herpes virus 6 infections. Ad- aptation of a commercial test // *J. Infect.* — 1997. — Vol. 35. — P. 25-30.
12. Hedman K., Rousseau S.A. Measurement of avidity of specific IgG for verification of re- cent primary rubella // *J. Med. Virol.* — 1989. — Vol. 27. — P. 288-292.
13. Klasse P.J., Sattentau Q.J. Occupancy and mechanism in antibody-mediated neutraliza- tion of animal viruses // *J. Gen. Virol.* — 2002. — Vol. 83. — P. 2091-2098.
14. Lazzarotto T., Spezzacatena P., Pradelli P., Abate D. Avidity of Immunoglobulin G directed against Human Cytomegalovirus during primary and secondary infections in immunocompetent and im- munocompromised subjects // *Clin. Diagn. Lab. Im- munol.* — 1997. — Vol. 4. — P. 469-473.
15. MacLennan I.C. Germinal centers // *Annu. Rev. Immunol.* — 1994. — Vol. 12. — P. 117-139.
16. Roulland S., Suarez F., Hermine O., Nadel B. Pathophysiological aspects of memory B-cell deve- lopment // *Trends Immunol.* — 2008. — Vol. 29. — P. 25-33.
17. Tuokko H. Detection of acute measles infec- tions by indirect and μ -capture enzyme immunoas- says for immunoglobulin M antibodies and measles immunoglobulin G antibody avidity enzyme im- munoassay // *J. Med. Virol.* — 1995. — Vol. 45. — P. 306-311.
18. Ward K.N., Dhaliwal W., Ashworth K.L., Clut- terbuck E.J., Teo C.G. Measurement of antibody avidity for hepatitis C virus distinguishes primary antibody response from passively acquired antibody // *J. Med. Virol.* — 1994. — Vol. 43. — P. 367-372.
19. Ward K.N., Gray J.J., Joslin M.E., Shel- don M.J. Avidity of IgG antibodies to human herpes- virus-6 distinguishes primary from recurrent infection in organ transplant recipients and excludes cross-re- activity with other herpesviruses // *J. Med. Virol.* — 1993. — Vol. 39. — P. 44-49.

поступила в редакцию 27.05.2008

принята к печати 31.05.2008