

NGHIÊN CỨU ĐÁNH GIÁ ĐÁP ỨNG MIỄN DỊCH SAU TIÊM VẮC XIN PHÒNG COVID-19 CỦA OXFORD-ASTRAZENECA BẰNG HAI PHƯƠNG PHÁP XÉT NGHIỆM PHÁT HIỆN KHÁNG THỂ IgG KHÁNG PROTEIN S CỦA SARS-COV-2 VÀ KHÁNG THỂ TRUNG HÒA VI RÚT

ĐẶNG THỊ VIỆT HƯƠNG ⁽¹⁾, VÕ VIỆT CƯỜNG ⁽¹⁾, NGUYỄN NGỌC TÂN ⁽¹⁾,
LÊ THỊ LAN ANH ⁽¹⁾, LÊ VĂN QUANG ⁽¹⁾, BUI THỊ LAN ANH ⁽¹⁾

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Từ khi bắt đầu đại dịch do vi rút corona 2019 (COVID-19) đến nay trên thế giới có hơn 550 triệu người bị nhiễm bệnh và hơn 6,5 triệu người đã chết [1]. Đại dịch là gánh nặng lên toàn thể người dân trên thế giới, cả về thể chất và tinh thần [2, 3]. Tác nhân gây bệnh COVID-19 đã xâm nhập vào hệ thống miễn dịch của con người và gây bệnh từ nhẹ, không triệu chứng đến nặng và tử vong nghiêm trọng trên quy mô toàn cầu. Tuy nhiên, các nhà khoa học trên khắp thế giới đã có những hành động phối hợp nhanh chóng, chưa từng có tiền lệ để phát triển vắc xin và các chất kháng vi rút nhằm chấm dứt đại dịch này. Bước tiến quan trọng trong việc chống lại đại dịch COVID-19 là chiến dịch tiêm vắc xin phòng COVID-19 rộng rãi trên toàn thế giới. Cho đến nay, hàng tỷ người đã được chủng ngừa các loại vắc xin COVID-19 khác nhau, bao gồm các loại vi rút bất hoạt, mRNA và vectơ adenovirus rút. Tất cả các loại vắc xin này đều có hiệu quả trong việc ngăn ngừa tử vong và nhập viện liên quan đến COVID-19. Hiệu quả của vắc xin ước tính là 60% -80% trong việc ngăn ngừa nhập viện và bệnh nặng [4] và hơn 80% trong việc ngăn ngừa tử vong do COVID-19 [5]. Tuy nhiên, đối với việc ngăn ngừa nhiễm bệnh, hiệu quả của vắc xin thay đổi ở các thời điểm khác nhau sau khi tiêm chủng [6]. Điều này có thể liên quan đến sự suy giảm liên tục của các kháng thể trung hòa (NAb) theo thời gian, làm suy yếu hiệu quả của vắc xin bởi lẽ các kháng thể trung hòa (NAb) đóng một vai trò quan trọng trong việc kiểm soát nhiễm vi rút và được coi là một yếu tố quan trọng trong việc quyết định tiêm bổ sung vắc xin các liều tiếp theo hay không.

Với mục tiêu đánh giá đáp ứng miễn dịch sau khi tiêm vắc xin COVID-19, chúng tôi đã tiến hành xét nghiệm định lượng kháng thể IgG kháng protein S của SARS-CoV-2 và kháng thể trung hòa (NAb) của các đối tượng tình nguyện tham gia nghiên cứu tại các thời điểm trước khi tiêm mũi một, 28 ngày sau tiêm mũi một, trước khi tiêm mũi hai (mũi tiêm 1 và 2 cách nhau khoảng 8 tuần), 28 ngày và sáu tháng sau khi tiêm mũi hai. Nghiên cứu được trình bày trong bài báo này của chúng tôi mới chỉ tiến hành đánh giá trên nhóm đối tượng tiêm vắc xin phòng COVID-19 của Oxford-AstraZeneca. Đây là 1 trong 3 loại vắc xin ngừa vi rút SARS-CoV-2 được Tổ chức Y tế Thế giới (WHO) chấp thuận sử dụng trong trường hợp khẩn cấp từ ngày 15/2/2021. Vắc xin phòng COVID-19 của Oxford-AstraZeneca sử dụng vector là vi rút adeno đã suy yếu (vi rút cúm gây bệnh ở tinh tinh), có mang đoạn gen mã hóa protein S (Spike- protein gai bề mặt của vi rút - thành phần mở đường cho vi rút SARS-CoV-2 xâm nhập cơ thể con người). Sau khi tiêm vắc xin, protein S được tạo ra ngay trong cơ thể người được tiêm sẽ kích hoạt các tế bào miễn dịch sản xuất kháng thể đặc hiệu bao gồm kháng thể IgG và kháng thể trung hòa (NAb) giúp phá hủy cấu trúc của vi rút hoặc cản trở quá trình bám dính của vi rút vào các tế bào.

Hệ thống miễn dịch sau đó tiếp tục tạo ra các tế bào trí nhớ. Những tế bào trí nhớ này có thể phát hiện ra vi rút trong những lần xâm nhập sau bằng cách nhận ra protein S trên bề mặt của vi rút [7]. Các protein này kích hoạt sản xuất các kháng thể có tác dụng trung hòa vi rút SARS-CoV-2. Kháng thể trung hòa NAb đã được phát hiện ở các đối tượng tham gia nghiên cứu COVID-19 có triệu chứng; và hiệu lực của chúng dường như có liên quan đến lượng kháng thể cao [8, 9, 10].

2. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đạo đức nghiên cứu

Nghiên cứu đã được Hội đồng Đạo đức trong nghiên cứu Y sinh học của Trung tâm Nhiệt đới Việt- Nga thông qua với mã số 35/2021/VREC.

Thời gian nghiên cứu: Từ tháng 09/2021 đến tháng 09/2022.

2.2. Đối tượng nghiên cứu

50 người tình nguyện tham gia nghiên cứu được lấy mẫu máu, xét nghiệm định lượng kháng thể IgG kháng protein S của SARS-CoV-2 và kháng thể trung hòa vi rút tại các thời điểm trước khi tiêm, 28 ngày sau khi tiêm mũi 1, trước khi tiêm mũi 2, 28 ngày và 6 tháng sau khi tiêm mũi 2.

2.3. Phương pháp nghiên cứu

2.3.1. Thu thập mẫu

Ống BD Vacutainer CAT không chứa chất chống đông được sử dụng để thu thập 3ml máu tĩnh mạch ngoại vi. Ống đựng máu để tại nhiệt độ phòng 30 phút sau khi thu thập, ly tâm 2500 rpm trong vòng 10 phút, tách huyết thanh. Huyết thanh bảo quản ở 4°C (không quá 2 ngày) hoặc bảo quản ở -80°C.

2.3.2. Xét nghiệm định lượng kháng thể IgG kháng protein S của SARS-CoV-2

Để xét nghiệm định lượng kháng thể IgG kháng protein S của SARS-CoV-2 nhóm nghiên cứu sử dụng bộ sinh phẩm ImmunoDiagnostics SARS-CoV-2 S1 IgG ELISA Kit (41A234) với giới hạn phát hiện 5 - 270 IU/ml theo hướng dẫn của nhà sản xuất. Protein S1 tái tổ hợp của SARS-CoV-2 được phủ sẵn tại đáy đĩa, phản ứng với kháng thể kháng S1 trong mẫu huyết thanh. Phức hợp HRP- anti-human IgG với IgG trong huyết thanh gắn với protein S1 trên đáy đĩa có màu vàng khi kết thúc phản ứng. Đọc kết quả tại bước sóng 450nm. Cường độ màu tỷ lệ với số lượng kháng thể kháng S1RBP bắt được bên trong giếng. Kết quả xét nghiệm được coi là âm tính khi nồng độ cuối của IgG kháng S1 trong mẫu ≤ 5 IU/mL.

2.3.3. Xét nghiệm định lượng kháng thể trung hòa vi rút

Để xét nghiệm định lượng kháng thể trung hòa vi rút bộ kit Wantai Sars - CoV-2 NAbS Elisa (Belgium) đã được sử dụng. Bộ kit dựa trên kỹ thuật ELISA cạnh tranh phát hiện các kháng thể trung hòa vi rút SARS-CoV-2 trong quy trình ủ

hai bước. Các dải vi phẩn được phủ các kháng nguyên tái tổ hợp di truyền của protein đột biến SARS-CoV-2. Trong bước ủ đầu tiên, 100 μ l mẫu huyết thanh mẫu được thêm vào mỗi giếng và đĩa được ủ ở 37°C trong 60 phút, các kháng thể trung hòa đặc hiệu SARS-CoV-2 (nếu có), sẽ liên kết với các kháng nguyên được phủ trên vi phẩn. Protein huyết thanh không liên kết được rửa để loại bỏ và sau đó bổ sung 100 μ L kháng thể Spike-RBD liên hợp với HRP vào mỗi giếng. Trong bước ủ thứ hai, các kháng thể liên hợp với HRP này cạnh tranh với các kháng thể trung hòa để liên kết với các kháng nguyên được phủ. Thêm dung dịch hiện màu và đọc kết quả tại bước sóng 450 nm và bước sóng tham chiếu là 620 nm. Mẫu được kết luận dương tính khi tỷ lệ ức chế liên kết $\geq 50\%$.

2.3.4. Phân tích số liệu

Sử dụng phần mềm Excel 2013 (Microsoft) với các hàm thống kê y sinh học để tính toán giá trị trung bình, độ lệch chuẩn, giá trị p từ số liệu thu được, $p < 0,05$ được coi là có ý nghĩa thống kê.

3. KẾT QUẢ VÀ BÀN LUẬN

3.1. Đặc điểm nhóm đối tượng nghiên cứu

Đối tượng tham gia nghiên cứu gồm 50 người tình nguyện, có độ tuổi từ 18 đến 69 tuổi sinh sống tại Hà Nội, chưa từng mắc Covid-19 tại thời điểm tham gia. Độ tuổi trung bình của các đối tượng nghiên cứu là 38 ± 15 tuổi, nam giới chiếm 54%, nữ giới chiếm 46%. Trong đó độ tuổi ≥ 45 tuổi chiếm 26%, dưới 45 tuổi chiếm 74% (bảng 1).

Bảng 1. Đặc điểm nhóm nghiên cứu

	Đối tượng nghiên cứu	Độ tuổi trung bình	Số lượng nam giới	Số lượng nữ giới	Độ tuổi ≥ 45	Độ tuổi < 45
Số lượng	50	38 ± 15	27 (54%)	23 (46%)	13 (26%)	37 (74%)

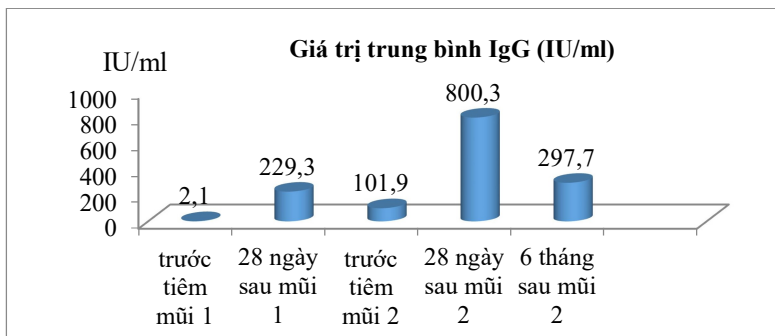
Nhóm nghiên cứu tiến hành thu thập mẫu máu xét nghiệm phát hiện kháng thể IgG và kháng thể trung hòa (NAbs) tại 5 thời điểm gồm 1 ngày trước tiêm mũi một, 28 ngày sau tiêm mũi một, khoảng 60 ngày sau tiêm mũi 1 (tương đương một ngày trước tiêm mũi hai), 28 ngày và 6 tháng sau tiêm mũi hai.

Toàn bộ nhóm đối tượng tham gia nghiên cứu tuân thủ theo các quy định nghiên cứu, không có các trường hợp bỏ tham gia nghiên cứu.

3.2. Kết quả xác định kháng thể IgG tại các thời điểm sau tiêm vắc xin

Nồng độ kháng thể IgG trước tiêm đạt giá trị trung bình $2,15 \pm 1,71$ IU/ml, kết luận các mẫu âm tính theo hướng dẫn của bộ sinh phẩm (nồng độ IgG ≤ 5 IU/ml, mẫu âm tính). Như vậy, 50 đối tượng tham gia nghiên cứu đều được xác định âm tính với kháng thể IgG kháng protein S của SARS-CoV-2.

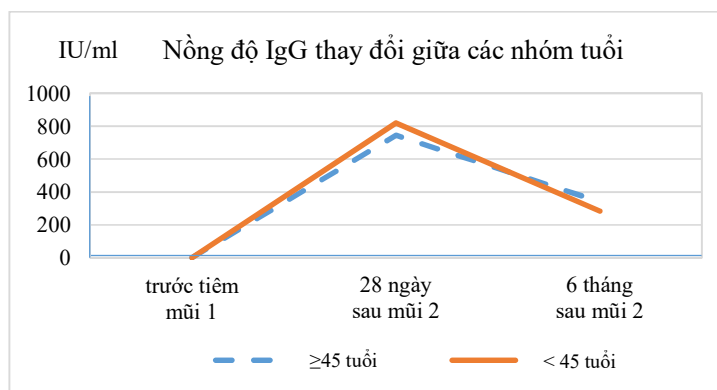
Tại các thời điểm sau khi tiêm vắc xin, nồng độ IgG của nhóm nghiên cứu xuất hiện, tỉ lệ giá trị IgG >5 IU/ml đạt 98% dương tính. Kết quả này tương đồng với công bố của nhà sản xuất là 95% [11]. Trong nghiên cứu này đã phát hiện 01 trường hợp (2%) cho kết quả IgG âm tính sau cả 2 lần tiêm vắc xin phòng COVID-19 của Oxford-AstraZeneca và trong suốt quá trình nghiên cứu.



Hình 1. Giá trị trung bình IgG tại các thời điểm nghiên cứu

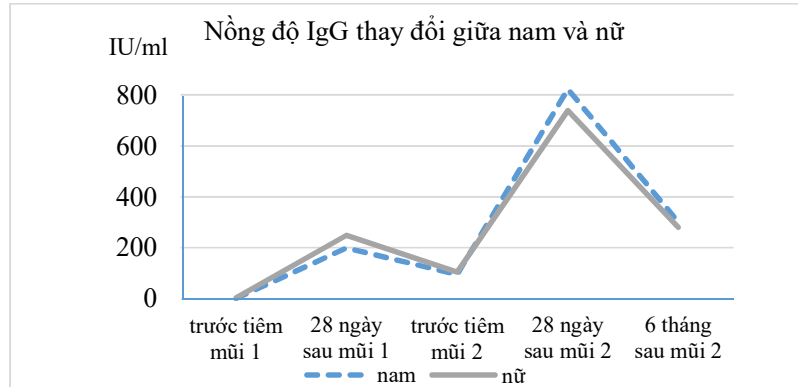
So sánh nồng độ IgG trung bình tại các thời điểm tiêm vắc xin, nhận thấy 28 ngày sau tiêm mũi 1, nồng độ IgG trung bình xuất hiện và đạt $229,3 \pm 155,9$ IU/ml. Nồng độ IgG đạt giá trị cao nhất khoảng $800,3 \pm 991,3$ IU/ml sau 28 ngày sau tiêm mũi 2. Tại thời điểm 6 tháng sau tiêm mũi 2, nồng độ IgG trung bình đạt $297,7 \pm 299,2$ IU/ml (hình 1). Như vậy sau 6 tháng tiêm vắc xin mũi hai, nồng độ kháng thể IgG vẫn duy trì ở mức cao như thời điểm 28 ngày sau tiêm mũi một, phản ánh tiềm năng bảo vệ cơ thể trước khả năng gây bệnh của SARS-CoV-2.

Kết quả cũng cho thấy có xu hướng khác biệt về nồng độ kháng thể IgG theo nhóm tuổi <45 tuổi và ≥ 45 tuổi. Các đối tượng <45 tuổi, có nồng độ kháng thể IgG trung bình 28 ngày và 6 tháng sau tiêm mũi 2 lần lượt là $818,6 \pm 1057,7$ và $283,8 \pm 286,5$ IU/mL cao hơn nhóm những người ≥ 45 tuổi, có nồng độ kháng thể IgG trung bình là $743,9 \pm 789,1$ và $340,7 \pm 301,8$ IU/mL, tuy nhiên giá trị này không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$) (hình 2).



Hình 2. Nồng độ IgG giữa hai nhóm tuổi ≥ 45 tuổi và < 45 tuổi

Tương tự không có khác biệt đáng kể về nồng độ IgG trung bình tại các thời điểm thiết kế nghiên cứu giữa nam và nữ (hình 3).

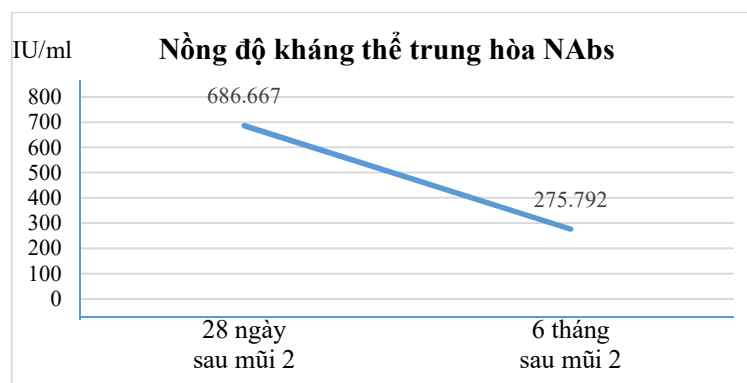


Hình 3. Nồng độ IgG giữa nam và nữ

Từ kết quả trên nhận thấy nồng độ kháng thể IgG tuy có giảm theo thời gian sau khi tiêm chủng, nhưng vẫn có thể phát hiện được ở thời điểm 6 tháng sau mũi tiêm chủng thứ hai. Kết quả này tương đồng với các nghiên cứu của Louise J. Robertson và cộng sự 2022 [12]. Không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa nhóm ≥ 45 tuổi và < 45 tuổi cũng như giữa nam và nữ. Kết quả trên có thể giải thích bởi hạn chế về cỡ mẫu nghiên cứu và sự tương đồng cao trong nhóm đối tượng nghiên cứu về địa bàn cư trú (tại Hà Nội), yếu tố nghề nghiệp (viên chức).

3.3. Kết quả xác định kháng thể trung hòa vi rút NAb

Định lượng nồng độ kháng thể trung hòa (NAbs) tại hai thời điểm 28 ngày và 6 tháng sau khi tiêm mũi hai cho thấy có sự suy giảm về nồng độ từ $686,7 \pm 466,9$ IU/ml xuống $275,8 \pm 245,2$ IU/ml. Tuy nhiên, nồng độ kháng thể trung hòa sau 6 tháng tiêm mũi hai trung bình là $275,8 \pm 245,2$ IU/ml vẫn là một giá trị ở mức cao. Sáu tháng sau khi tiêm, trung bình nồng độ IgG và kháng thể trung hòa (NAbs) đạt 297,7 IU/ml và 275,8 IU/ml (hình 1 và hình 4).



Hình 4. Nồng độ kháng thể trung hòa NAb

Đánh giá sự thay đổi nồng độ kháng thể trung hòa giữa các nhóm tuổi và giới tính nhận thấy kháng thể trung hòa (Nabs) ở nam có xu hướng cao hơn nữ (không có ý nghĩa thống kê). Kết quả tương tự ở nhóm <45 tuổi và ≥45 tuổi (bảng 2).

Bảng 2. Nồng độ kháng thể trung hòa trung bình NAbs (IU/ml)

	Nồng độ NAbs (IU/ml) giữa các nhóm			
	Nam	Nữ	Nhóm <45 tuổi	Nhóm ≥45 tuổi
28 ngày sau mũi 2	716,8 ± 430,5	652,6 ± 522,1	682,4 ± 413,6	695,6 ± 640,9
6 tháng sau mũi 2	291,9 ± 262,7	257,5 ± 234,1	260,5 ± 244,3	318,9 ± 263,8

Đánh giá khả năng sinh miễn dịch của vắc xin phòng COVID-19 của Oxford-AstraZeneca trên nhóm đối tượng 50 người cư trú tại Hà Nội cho thấy vắc xin phòng COVID-19 của Oxford-AstraZeneca có khả năng sinh miễn dịch cao. Kháng thể trung hòa cao nhất ở thời điểm 28 ngày sau mũi hai. Vào tháng thứ 6 sau tiêm mũi hai, mức kháng thể trung hòa giảm, nhưng giá trị trung bình vẫn duy trì ở mức cao. Kết quả nghiên cứu trên tương đồng với nghiên cứu của Nguyen Van Vinh Chau và cộng sự 2022 [13]. Kết quả của chúng tôi cung cấp bằng chứng chắc chắn về hiệu quả của chiến lược tiêm chủng vắc xin tại Việt Nam, dữ liệu cũng nhấn mạnh tầm quan trọng của liều thứ hai.

Những kết quả trong nghiên cứu này còn nhiều hạn chế do số lượng mẫu nghiên cứu nhỏ, chưa có nhóm người lớn hơn 60 tuổi và nhỏ hơn 18 tuổi và chỉ tại một địa điểm do vậy cần có các nghiên cứu rộng hơn về đối tượng và địa điểm để có hiểu biết toàn diện hơn về đáp ứng miễn dịch sau tiêm vắc xin COVID-19.

4. KẾT LUẬN

Nghiên cứu cho thấy vắc xin phòng COVID-19 của Oxford-AstraZeneca có khả năng sinh miễn dịch cao (98 %) ở nhóm người trưởng thành. Nồng độ kháng thể IgG và kháng thể trung hòa cao nhất 28 ngày sau tiêm mũi hai. Sau 6 tháng sau tiêm mũi hai, nồng độ kháng thể IgG và kháng thể trung hòa giảm, tuy nhiên vẫn duy trì ở mức cao.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. World Health Organization, *Coronavirus disease (COVID-19) dashboard*, 2022; <https://covid19.who.int>.
2. World Trade Organization. *Coronavirus disease (COVID-19) Weekly epidemiological update and weekly operational update*, 2021, Available online at: <https://www.who.int/emergencies/diseases/novel-coronavirus-2019/situation-reports>.

3. Eibagoury M., Tolba M. M., Nasser H. A., Jabbar A., Elagouz A. M., Aktham Y., Amy Hutchinson, *The find of COVID-19 vaccine: challenges and opportunities.*, J. Infect. Public Health, 2021, **14**:389-416.
4. Moghadas S. M., Vilches T. N., Zhang K., Wells C. R., Shoukat A., Singer B. H., Meyers L. A., Neuzil K. M., Langley J. M., Fitzpatrick M. C., Galvani A. P., *The impact of vaccination on coronavirus disease 2019 (COVID-19) outbreaks in the United States*, Clinical Infectious Diseases, 2021, **73**(12):2257-2264.
5. Ali Roghani, *The relationship between macro-socioeconomics determinants and COVID-19 vaccine distribution*, AIMS Public Health, 2021, **8**(4):655-664.
6. Noa Dagan M. D., Noam Barda M. D., Eldad Kepten Ph. D., Oren Miron M. A., Shay Perchik M. A., Mark A., Katz M. D., Miguel A., Hernán M. D., Marc Lipsitch D., Phil., Ben Reis Ph. D., Ran D., Balicer M. D., *BNT162b2 mrna COVID-19 vaccine in a nationwide mass vaccination setting*, The New England Journal Medicine, 2021, **384**:1412-23.
7. WHO-2019-nCoV-vaccines-sage-recommendation-azd1222-2021.3-eng.pdf.
8. Ling Ni, et al., *Detection of SARS-CoV-2-specific humoral and cellular immunity in COVID-19 convalescent individuals*, Immunity, 2020, **52**(6):971-977.
9. Jiang S., Hillyer C., Du L., *Neutralizing antibodies against SARS-CoV-2 and other human coronaviruses*, Trends Immunol., 2020, **41**(5):355-359.
10. Grzelak L., Temmam S., Planchais C., Demeret C., Tondeur L., Huon C., Guivel-Benhassine F., Staropoli I., Chazal M., Dufloo J., et al., *A comparison of four serological assays for detecting anti-SARS-CoV-2 antibodies in human serum samples from different populations*, Science Translational Medicine, 2020, **12**(59):1-13.
11. https://assets.publishing.service.gov.uk/government/uploads/system/uploads/attachment_data/file/1003840/cma_ukpar_COVID_19_vaccine_astrazeneca_par_16.07.2021.pdf.
12. Louise J., Robertson M., Andrew Nesbitt James A. D., McLaughlin, *IgG antibody production and persistence to 6 months following SARS-CoV-2 vaccination: A Northern Ireland observational study*, ScienceDirect, 2022 **40**(18):2535-2539.
13. Nguyen Van Vinh Chau, et al., *Immunogenicity of oxford-astrazeneca covid-19 vaccine in vietnamese health-care workers*, The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene, 2022, **106**(2):556-561.

SUMMARY

STUDY TO EVALUATE THE IMMUNE RESPONSE AFTER VACCINATION AGAINST COVID-19 OF OXFORD-ASTRAZENECA BY TWO METHODS TO DETECT IgG ANTIBODIES AGAINST PROTEIN S OF SARS-COV-2 AND NEUTRALIZING ANTIBODIES

SARS-CoV-2 is a dangerous pandemic affecting humanity from 2019 to the present. Currently, there is no specific treatment for the disease caused by SARS-CoV-2 virus. Therefore, vaccines are an effective method to control and prevent diseases. To assess the immune response following vaccination against COVID-19, Anti-SARS-CoV-2 IgG antibody and neutralizing antibodies levels were measured in 50 volunteers aged 18 to 69, at the time before vaccination including; 28 days after the first dose, 28 days and 6 months after the 2nd dose of Oxford-AstraZeneca vaccine. In this analysis, IgG antibody was detected in all samples at 28 days after the first dose of vaccine, the geometric mean IgG levels were 229.3 ± 155.9 IU/ml. The anti-spike IgG level peaked 28 days of the second dose vaccination: the mean IgG levels were 800.3 ± 991.3 IU/ml. After 6 months from the day of the second injection, IgG level was 297.7 ± 299.2 IU/ml. The highest level of neutralizing antibodies (NABs) was also at 28 days after the second injection with the average value 686.7 ± 466.8 IU/ml. After 6 months of the second injection, the NABs level remained 275.8 ± 246.2 IU/ml. Thus, after receiving two doses of the vaccine, 98% of the study participants produced antibodies specific to SARS-CoV-2 and maintained antibodies after 6 months.

Keywords: COVID-19, IgG antibodies, neutralizing antibodies, vaccine, immunogenicity, kháng thể IgG, kháng thể trung hòa, đáp ứng miễn dịch.

Nhận bài ngày 04 tháng 8 năm 2022

Phản biện xong ngày 19 tháng 10 năm 2022

Hoàn thiện ngày 14 tháng 11 năm 2022

⁽¹⁾ Viện Y sinh Nhiệt đới, Trung tâm Nhiệt đới Việt - Nga

Liên hệ: Đặng Thị Việt Hương

Viện Y sinh Nhiệt đới, Trung tâm Nhiệt đới Việt - Nga

Số 63 Nguyễn Văn Huyền, Nghĩa Đô, Cầu Giấy, Hà Nội

Điện thoại: 0383079588; Email: viethuongk61@gmail.com