

ОЦЕНКА СЕРОЛОГИЧЕСКИХ ТЕСТОВ НА АНТИТЕЛА К РАЗЛИЧНЫМ АНТИГЕНАМ ВИРУСА SARS-CoV-2. СОПОСТАВЛЕНИЕ ШЕСТИ ТЕСТ-СИСТЕМ

Белякова В.В.¹, Майорова О.А.¹, Иванова Н.В.¹, Степанова И.Е.¹,
Смердова М.А.², Обрядина А.П.³, Топтыгина А.П.^{4,5}

¹ ГБУЗ «Центр крови имени О.К. Гаврилова Департамента здравоохранения города Москвы», Москва, Россия

² ЗАО «Вектор-Бест-Европа», Москва, Россия

³ ООО «Научно-производственное объединение «Диагностические системы», г. Нижний Новгород, Россия

⁴ ФБУН «Московский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии имени Г.Н. Габричевского» Роспотребнадзора, Москва, Россия

⁵ ФГБОУ ВО «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова», Москва, Россия

Резюме. Новый коронавирус SARS-CoV-2 явился глобальным вызовом медицине и, в частности, лабораторной диагностике. Исследование уровня антител к SARS-CoV-2 можно использовать как подтверждающий тест при диагностике заболевания, но оно приобретает первостепенное значение при оценке популяционного иммунитета, возникшего в результате заболевания или вакцинации, а также при выборе доноров плазмы реконвалесцентов. Разработанные в нашей стране и зарубежом тест-системы для выявления антител к вирусу SARS-CoV-2 различаются как по способам проведения тестирования, так и по использованным антигенам коронавируса, к которым направлены антитела. Целью настоящего исследования было сравнение диагностической чувствительности и специфичности пяти тест-систем для обнаружения антител класса IgG к вирусу SARS-CoV-2, основанных на разных методах диагностики. Исследованы образцы сыворотки крови от 137 реконвалесцентов COVID-19 и 166 доноров крови и ее компонентов. Контрольную группу составили 50 сывороток крови, собранные в начале 2019 года, и 19 сывороток, собранные в 2018 году (до появления вируса SARS-CoV-2) и хранившиеся при -70 °С. Тестирование проводили в аналитических системах: экспресс-тест COVID-19 IgM/IgG Rapid Test (Colloidal Gold) (КНП), на автоматическом иммунохимическом анализаторе Abbott Architect™ i2000 и реагентах SARS-CoV-2-IgG (Abbot, Chicago, IL США), методом хемилюминисценции с использованием автоматического анализатора серии CL и реагентов фирмы Mindray (КНП) SARS-CoV-2 IgM и SARS-CoV-2 IgG и иммуноферментным методом на наборах компаний ООО «Диагностические системы» (г. Нижний Новгород) ДС-ИФА-АНТИ-SARS-CoV-2-G, ООО «Хема» (ФГБУ «НМИЦ гематологии» Минздрава России) SARS-CoV-2-IgG-ИФА и ЗАО «Вектор-Бест» (г. Новосибирск) SARS-CoV-2-IgM-ИФА-БЕСТ и SARS-CoV-2-IgG-ИФА-БЕСТ. При сопоставлении результатов тестирования 137 образцов плазмы на тест-системах «Вектор-Бест» и Mindray для IgG-антител 127 образцов были положительными, 7 образцов – отрицательными на обеих тест-системах, несовпадение – 2,2%. При исследовании IgM-антител 32,1% были положитель-

Адрес для переписки:

Топтыгина Анна Павловна
ФБУН «Московский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии имени Г.Н. Габричевского» Роспотребнадзора
125212, Россия, Москва, ул. Адмирала Макарова, 10.
Тел.: 8 (495) 452-18-01.
E-mail: toptyginaanna@rambler.ru

Address for correspondence:

Toptygina Anna P.
G.N.Gabrichevsky Research Institute for Epidemiology and Microbiology
125212, Russian Federation, Moscow,
Admiral Makarov str., 10.
Phone: 7 (495) 452-18-01.
E-mail: toptyginaanna@rambler.ru

Образец цитирования:

В.В. Белякова, О.А. Майорова, Н.В. Иванова, И.Е. Степанова, М.А. Смердова, А.П. Обрядина, А.П. Топтыгина «Оценка серологических тестов на антитела к различным антигенам вируса SARS-CoV-2. Сопоставление шести тест-систем» // Медицинская иммунология, 2021. Т. 23, № 6. С. 1395-1404.
doi: 10.15789/1563-0625-AOS-2228

© Белякова В.В. и соавт., 2021

For citation:

V.V. Belyakova, O.A. Maiorova, N.V. Ivanova, I.E. Stepanova, M.A. Smerdova, A.P. Obryadina, A.P. Toptygina "Assessment of serological tests for antibodies to different antigens of the SARS-CoV-2 virus: comparison of six immunoassays", Medical Immunology (Russia)/Meditsinskaya Immunologiya, 2021, Vol. 23, no. 6, pp. 1395-1404.
doi: 10.15789/1563-0625-AOS-2228

DOI: 10.15789/1563-0625-AOS-2228

ными, а 52,6% – отрицательными в обеих тест-системах. Процент несовпадений составил 15,3%. Из 166 образцов отрицательной в 5 тест-системах оказалась 1 сыворотка (0,6%). На тест-системе Mindray IgG-антитела к антигенам вируса SARS-CoV-2 выявлены в 165 образцах (99,4%), на «Вектор-Бест» – в 164 сыворотках (98,8%), на «Диагностических системах» – в 151 (90,96%), на Хема – в 154 (92,8%), а на Abbott – в 155 образцах (93,4%). При этом 135 (81,33%) образцов были положительными во всех тест-системах, тогда как 30 образцов имели дискордантные результаты (18,07%), а в 9 сыворотках специфических IgG не обнаруживалось в 2 и более тест-системах. ROC-анализ выявил высокую диагностическую ценность всех исследованных тест-систем (AUC от 0,908 до 0,998), что свидетельствует о высоком качестве разделительной модели положительных и отрицательных образцов ($p < 0,001$). При заданных производителями тест-систем cut-off чувствительность и специфичность находилась в диапазоне от 82,8% и 93,3% для набора «Диагностические системы» до 99,4% и 95,8% для набора «Вектор-Бест». Рассчитанные коэффициенты корреляции были выше между тест-системами со сходным составом использованного в тест-системе антигена, поэтому наблюдение за динамикой антител лучше проводить в тест-системах одной и той же фирмы-производителя.

Ключевые слова: SARS-CoV-2, диагностика COVID-19, антитела, сопоставление тест-систем, S-белок, N-белок

ASSESSMENT OF SEROLOGICAL TESTS FOR ANTIBODIES TO DIFFERENT ANTIGENS OF THE SARS-CoV-2 VIRUS: COMPARISON OF SIX IMMUNOASSAYS

Belyakova V.V.^a, Maiorova O.A.^a, Ivanova N.V.^a, Stepanova I.E.^a, Smerdova M.A.^b, Obryadina A.P.^c, Toptygina A.P.^{d, e}

^a O. Gavrilov Blood Center, Moscow Department of Health, Moscow, Russian Federation

^b Vector-Best-Europe CJSC, Moscow, Russian Federation

^c Research and Production Company Diagnostic Systems, Ltd., Nizhny Novgorod, Russian Federation

^d G.N. Gabrichevsky Research Institute for Epidemiology and Microbiology, Moscow, Russian Federation

^e M. Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russian Federation

Abstract. The new coronavirus SARS-CoV-2 has become a global challenge to medicine and, in particular, laboratory diagnostics. The study of the antibodies' level to SARS-CoV-2 can be used as a confirmation test in the diagnosis of a disease, but it becomes of paramount importance in assessing population immunity resulting from a disease or vaccination, as well as in selection of convalescent plasma donors. The kits developed in our country and abroad for detecting antibodies to the SARS-CoV-2 virus differ both in the methods of testing and in the used coronavirus antigens to which the antibodies are directed. The aim of this study was to compare the diagnostic sensitivity and specificity of five kits for the detection of IgG antibodies to the SARS-CoV-2 virus, based on different diagnostic methods. Serum samples from 137 COVID-19 convalescents and 166 donors of blood and its components were examined. The control group consisted of 50 blood sera collected at the beginning of 2019 and 19 sera collected in 2018 (before the advent of the SARS-CoV-2 virus) and stored at -70 °C. Testing was carried out in analytical systems: rapid test "COVID-19 IgM/IgG Rapid Test (Colloidal Gold)" (China), on an automatic immunochemical analyzer Abbott Architect™ i2000 and kit "SARS-CoV-2-IgG" (Abbot, Chicago, IL USA), by the chemiluminescence method using an automatic analyzer of the CL series and kits of the "Mindray" company (China) "SARS-CoV-2 IgM" and "SARS-CoV-2 IgG" and by the enzyme immunoassay method on the kits of the companies "Diagnostic Systems" Ltd (Russia, Nizhny Novgorod) "DS-IFA-ANTI-SARS-CoV-2-G", "Xema" Ltd (Federal State Budgetary Institution "National Medical Research Center of Hematology" of the Ministry of Health of Russia) "SARS-CoV-2-IgG-IFA" and "Vector-Best" CJSC (Russia, Novosibirsk) SARS-COV-2-IgM-IFA-BEST" and "SARS-COV-2-IgG-IFA-BEST". When comparing the results of testing 137 plasma samples on the Vector-Best and Mindray kits for IgG antibodies, 127 samples were positive, 7 samples were negative on both kits, the discrepancy was 2.2%. In the study of IgM antibodies, 32.1% were positive, and 52.6% were negative in both kits. The discrepancy rate was 15.3%. Out of 166 samples, 1 serum (0.6%) was negative in 5 kits. On the Mindray kit, IgG antibodies to the antigens of the SARS-CoV-2 virus were detected in 165 samples (99.4%), on Vector-Best – in 164 sera (98.8%), on Diagnostic systems – in 151 (90.96%), on Xema – in 154 (92.8%), and on Abbott – in 155 samples

(93.4%). At the same time, 135 (81.33%) samples were positive in all kits, while 30 samples had discordant results (18.07%), and in 9 sera, specific IgG was not detected in 2 or more kits. ROC analysis revealed a high diagnostic value of all tested kits (AUC from 0.908 to 0.998), which indicates a high quality of the separation model of positive and negative samples ($p < 0.001$). With the cut-off set by the manufacturers, the sensitivity and specificity ranged from 82.8% and 93.3% for the Diagnostic Systems kit to 99.4% and 95.8% for the Vector-Best kit. The calculated correlation coefficients were higher between kits with a similar composition of the antigen used in the kits; therefore, it is better to monitor the dynamics of antibodies by diagnostic kits from the same manufacturer.

Keywords: SARS-CoV-2, COVID-19 diagnostics, antibodies, comparison of kits, S-protein, N-protein

Введение

Новый коронавирус SARS-CoV-2 явился глобальным вызовом медицине [25] и, в частности, лабораторной диагностике. Методы, основанные на полимеразной цепной реакции весьма чувствительны и специфичны, но зависимы от качества взятого материала и наличия мутаций [8, 21]. Если вирус находится в легких, его можно и не обнаружить в мазках из носоглотки [24]. С другой стороны, методы определения антител, более простые и доступные, чем молекулярные методы, не применимы на ранних стадиях заболевания, поскольку для формирования иммунного ответа требуется, по крайней мере, пара недель [12, 16]. Поэтому обнаружение антител к SARS-CoV-2 можно использовать как подтверждающий тест при диагностике заболевания, но оно приобретает первостепенное значение при оценке популяционного иммунитета, возникшего в результате заболевания или вакцинации [19, 22, 23]. Более того, одним из методов лечения тяжелых форм COVID-19 является использование плазмы крови реконвалесцентов с высоким содержанием специфических антител, для чего также нужны надежные методы диагностики [17]. Учитывая острую потребность в серодиагностике COVID-19, в нашей стране и за рубежом разработан ряд таких тест-систем. Они различаются как по способам проведения тестирования (иммуноферментный анализ, хемилюминисцентный анализ или метод хроматографии), так и по использованным антигенам коронавируса, к которым направлены антитела [5, 10, 15, 18]. Отсутствие сведений об особенностях формирования гуморального иммунного ответа на SARS-CoV-2 и указанные различия тест-систем порождают казусы с «отсутствием» антител у переболевших или «исчезновением» антител буквально в считанные недели после заболевания. В связи с вышесказанным, исследование антител к SARS-CoV-2 в сыворотках реконвалесцентов в параллельном тестировании на разных тест-системах и разными методами поможет оценить не только чувствительность и специфичность, но и возможные рамки применения тех или иных тест-систем.

Целью настоящего исследования было сравнение диагностической чувствительности и специфичности пяти тест-систем для обнаружения антител класса IgG к вирусу SARS-CoV-2, основанных на разных методах диагностики.

Материалы и методы

Материалом исследования были образцы сыворотки крови от 137 реконвалесцентов COVID-19, обратившихся в Центр крови имени О.К. Гаврилова г. Москвы с целью сдать плазму крови для лечения больных новой коронавирусной инфекцией и 166 доноров крови и ее компонентов. У всех реконвалесцентов был подтвержденный клинический диагноз COVID-19. Потенциальных доноров до донации обследовали методом экспресс-анализа. Лица, у которых были выявлены анти-SARS-CoV-2 IgM-антитела, были отведены от донации. В сравнительное исследование включены 166 образцов сыворотки доноров, у которых были выявлены IgG-антитела к вирусу SARS-CoV-2 в экспресс-тесте. ПЦР-тестирование у этих доноров не проводилось, и информация о заболевании COVID-19 отсутствовала.

Образцы сыворотки от реконвалесцентов тестировали методом хемилюминисценции с использованием автоматического анализатора серии CL и реагентов фирмы Mindray (КНР) SARS-CoV-2 IgM и SARS-CoV-2 IgG и иммуноферментным методом на наборах компании АО «Вектор-Бест» (г. Новосибирск) SARS-COV-2-IgM-ИФА-БЕСТ и SARS-CoV-2-IgG-ИФА-БЕСТ. Контрольную группу составили 50 сывороток крови от сотрудников Центра крови имени О.К. Гаврилова, собранные в начале 2019 года, и 19 сывороток от условно здоровых доноров, собранные в 2018 году (до появления вируса SARS-CoV-2) и хранившиеся при -70°C .

Образцы доноров крови и ее компонентов исследовали в 6 аналитических системах: экспресс-тест COVID-19 IgM/IgG Rapid Test (Colloidal Gold) (КНР), на автоматическом иммунохимическом анализаторе Abbott Architect™ i2000 и реагентах SARS-CoV-2-IgG (Abbot, Chicago, IL, США), методом хемилюминисценции с исполь-

ТАБЛИЦА 1. ИССЛЕДОВАННЫЕ ТЕСТ-СИСТЕМЫ ДЛЯ АНАЛИЗА АНТИТЕЛ К ВИРУСУ SARS-CoV-2

TABLE 1. INVESTIGATED IMMUNOASSAYS FOR THE ANALYSIS OF ANTIBODIES TO THE SARS-CoV-2 VIRUS

Тест-система Kit	SARS-CoV-2 антиген SARS-CoV-2 antigen	Производитель Manufacturer	Платформа Method	Интерпретация результатов Interpreting results
SARS-CoV-2- IgM-ИФА-БЕСТ SARS-CoV-2-IgM- IFA-BEST	На основе смеси N-белка и RBD (receptor binding domain, рецептор- связывающий домен) S-белка Based on a mixture of N-protein and RBD (receptor binding domain) S-protein	АО «Вектор-Бест», г. Новосибирск Vector-Best JSC, Novosibirsk	Иммуноферментный метод Enzyme linked immunoassay	КП < 0,8 отрицательный; 0,8 < 1,1 сомнительный; > 1,1 положительный Positivity coefficient (PC) < 0.8 negative, 0,8 < 1.1 equivocal, > 1.1 positive
SARS-CoV-2- IgG-ИФА-БЕСТ SARS-CoV-2-IgG- IFA-BEST	На основе полноразмерного тримера S-белка Based on full length S-protein trimer	АО «Вектор-Бест», г. Новосибирск Vector-Best JSC, Novosibirsk	Иммуноферментный метод Enzyme linked immunoassay	КП < 0,8 отрицательный; 0,8 < 1,1 сомнительный; > 1,1 положительный PC < 0.8 negative, 0,8 < 1.1 equivocal, > 1.1 positive
ДС-ИФА-АНТИ- SARS-CoV-2-G DS-IFA-ANTI- SARS-CoV-2-G	На основе нуклеокапсидного (N) и spike (S) белков Based on nucleocapsid (N) and spike (S) proteins	ООО «Диагностические системы», г. Нижний Новгород Research and Production Company Diagnostic Systems LLC, Nizhny Novgorod	Иммуноферментный метод Enzyme linked immunoassay	КП < 0,8 отрицательный; 0,8 < 1,2 сомнительный; > 1,2 положительный PC < 0.8 negative, 0,8 < 1.2 equivocal, > 1.2 positive
SARS-CoV-2- IgG-ИФА SARS-CoV-2- IgG-IFA	На основе домена RBD S-белка Based on RBD S-protein	ООО «Хема» ФГБУ «НМИЦ гематологии» Минздрава России Хема LLC National Research Center for Hematology	Иммуноферментный метод Enzyme linked immunoassay	КП < 0,9 отрицательный; 0,9 < 1,0 сомнительный; > 1,1 положительный PC < 0.9 negative, 0,9 < 1.0 equivocal, > 1.1 positive
SARS-CoV-2 IgM	На основе смеси N-белка и RBD- участка S-белка Based on a mixture of N-protein and RBD S-protein	Mindray, КНР Mindray, China	Хемилюминисцентный метод Chemiluminescent assay	Индекс S/C < 1,0 отрицательный; ≥ 1,1 положительный Index S/C < 1.0 negative, ≥ 1.1 positive
SARS-CoV-2 IgG	На основе смеси N-белка и RBD- участка S-белка Based on a mixture of N-protein and RBD S-protein	Mindray, КНР Mindray, China	Хемилюминисцентный метод Chemiluminescent assay	Индекс S/C < 10 отрицательный; ≥ 10 положительный Index S/C < 10 negative, ≥ 10 positive
SARS-CoV-2-IgG	На основе N-белка N-protein based	Abbott, США Abbott, USA	Хемилюминисцентный метод на микрочастицах Chemiluminescent microparticle immunoassay	Индекс S/C < 1,4 отрицательный; ≥ 1,4 положительный Index S/C < 1.4 negative, ≥ 1.4 positive
COVID-19 IgM/IgG Rapid Test (Colloidal Gold)	Рекомбинантный SARS-CoV-2 антиген Recombinant SARS-CoV-2 antigen	Jiangsu Well Biotech Co., Ltd, КНР Jiangsu Well Biotech Co., Ltd, China	Иммунохроматография Immunochromatographic	Окрашенные полоски Dyed stripes

зованием автоматического анализатора серии CL и реагентов фирмы Mindray (КНР) SARS-CoV-2 IgG и иммуноферментным методом на наборах компаний ООО «Диагностические системы» (г. Нижний Новгород) ДС-ИФА-АНТИ-SARS-CoV-2-G, ООО «Хема» (ФГБУ «НМИЦ Гематологии» Минздрава России) SARS-CoV-2-IgG-ИФА и компании АО «Вектор-Бест» (г. Новосибирск) SARS-CoV-2-IgG-ИФА-БЕСТ. Исследованные тест-системы различались как по методу определения, так и по использованным в них антигенам вируса SARS-CoV-2 (табл. 1). Образцы тестировали в течение одного дня партиями согласно протоколу производителя.

Для ИФА сыворотки разбавляли до конечного разведения в 100 раз в буфере для образцов и инкубировали при 37 °С в течение указанного времени в инструкции для каждой тест-системы соответственно в 96-луночном планшете с последующими циклами промывки и инкубации по каждому протоколу, включая контроли. Оптическую плотность (ОП) измеряли при 450 нм. Все исследования проводили на автоматическом анализаторе открытого типа Эволис (Bio-Rad, США). Коэффициент позитивности (КП) рассчитывали и результаты интерпретировали согласно протоколу каждого производителя.

Экспресс-тест COVID-19 IgG/IgM представляет собой иммунохроматографический анализ для качественного определения антител IgG и IgM к SARS-CoV-2 в пробах цельной крови. Во время тестирования проба реагирует с частицами, покрытыми антигеном SARS-CoV-2 в тест-кассете, учитывали результат согласно инструкции производителя:

- если проба содержит антитела IgG к SARS-CoV-2, в области тестовой линии IgG проявится цветная линия;
- если проба содержит антитела IgM к SARS-CoV-2, в области тестовой линии IgM проявится цветная линия;
- если проба не содержит антител к SARS-CoV-2, цветная линия не проявится ни в одной из областей тестовой линии, что указывает на отрицательный результат. Для контроля процедуры тестирования, в области контрольной линии всегда проявляется цветная полоска, указывающая на то, что был использован правильный объем пробы и произошло впитывание пробы мембраной.

Полученные результаты обработали методами вариационной статистики (программный пакет Microsoft Excel). Для ROC-анализа использовали пакет статистического программного обеспечения SPSS 16.0 (SPSS Inc., США). Уровень $p < 0,05$ считали значимым. Для выявления корреляций

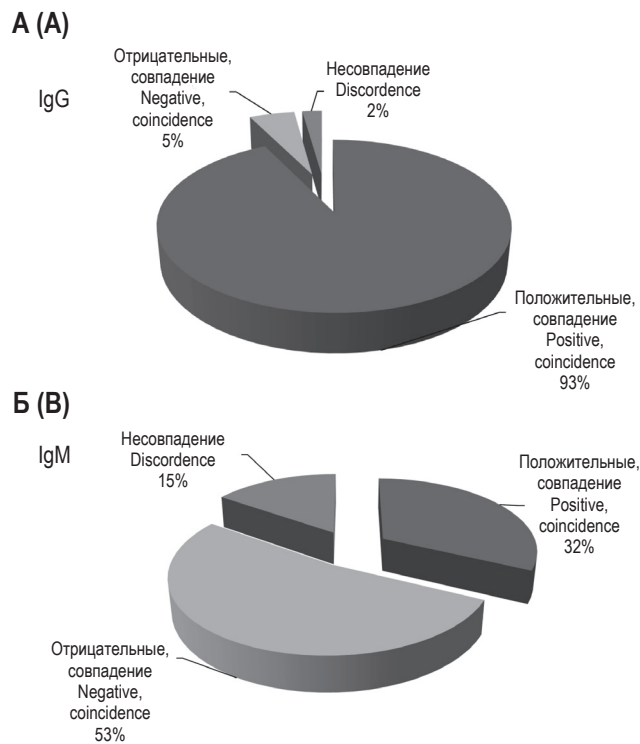


Рисунок 1. Сопоставление результатов тестирования сывороток крови на наборах фирмы Mindray и «Вектор-Бест» (группа 1)

Примечание. А – IgG-антитела. Б – IgM-антитела.

Figure 1. Comparison of serum test results using Mindray and Vector-Best kits (group 1)

Note. A, IgG antibodies. B, IgM antibodies.

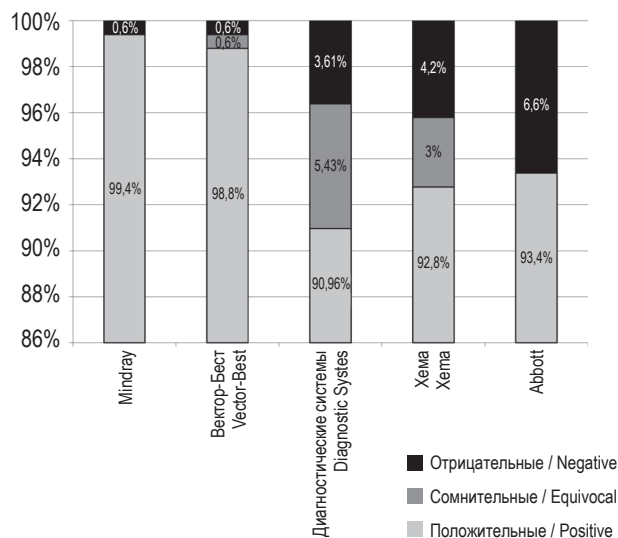


Рисунок 2. Результаты тестирования сывороток крови на наличие IgG-антител к антигенам вирусов SARS-CoV-2 на наборах исследованных фирм-производителей (группа 2)

Figure 2. Results of serum testing for the presence of IgG antibodies to the antigens of SARS-CoV-2 viruses on the kits of investigated manufacturers (group 2)

ТАБЛИЦА 2. ВЫЯВЛЯЕМОСТЬ IgG-АНТИТЕЛ К ВИРУСУ SARS-CoV-2 В СЫВОРОТКАХ ДОНОРОВ КРОВИ
TABLE 2. DETECTION OF IgG ANTIBODIES TO SARS-CoV-2 VIRUS IN SERA OF BLOOD DONORS

	Mindray	Вектор-Бест Vector-Best	Диагностические системы Diagnostic Systems	Хема Хема	Abbott
Положительные Positive	165	164	151	154	155
Сомнительные Equivocal	–	1	9	5	–
Отрицательные Negative	1	1	6	7	11

ТАБЛИЦА 3. КОРРЕЛЯЦИОННАЯ СВЯЗЬ МЕЖДУ ТЕСТ-НАБОРАМИ РАЗНЫХ ПРОИЗВОДИТЕЛЕЙ
TABLE 3. CORRELATION BETWEEN TEST KITS FROM DIFFERENT MANUFACTURERS

Тест-система Kit	Mindray	Вектор-Бест Vector-Best	Диагностические системы Diagnostic Systems	Хема Хема	Abbott
Mindray	–	0,45	0,72	0,63	0,81
Вектор-Бест Vector-Best	–	–	0,32	0,73	0,52
Диагностические системы Diagnostic Systems	–	–	–	0,48	0,57
Хема Хема	–	–	–	–	0,67

ТАБЛИЦА 4. РЕЗУЛЬТАТЫ ROC-АНАЛИЗА ВЫЯВЛЯЕМОСТИ IgG-АНТИТЕЛ К ВИРУСУ SARS-CoV-2 В СЫВОРОТКАХ ДОНОРОВ КРОВИ
TABLE 4. RESULTS OF THE ROC-ANALYSIS OF THE DETECTION OF IgG ANTIBODIES TO THE SARS-CoV-2 VIRUS IN THE SERA OF BLOOD DONORS

Тест-система Kit	Cut-off	Площадь под кривой Area under curve	Чувствительность, % Sensitivity, %	Специфичность, % Specificity, %
Abbot	1,4	0,988	97,3	92,8
Вектор-Бест Vector-Best	1,1	0,998	99,4	95,8
Диагностические системы Diagnostic Systems	1,2	0,908	82,8	93,3
Mindray	10	0,996	98,8	98,1
Хема Хема	1,1	0,952	95,5	84,6

между различными признаками использовали критерий Пирсона.

Результаты

При исследовании уровня антител в 137 образцах плазмы реконвалесцентов было установлено, что в 127 (92,7%) образцах IgG-антитела к вирусу SARS-CoV-2 были обнаружены при использовании обоих наборов, у 7 пациентов были получены отрицательные результаты на обоих наборах, еще у трех образцов результаты не совпали: 2 образца были отрицательные на наборах Mindray, но при этом положительные на наборе

«Вектор-Бест», и один образец отрицательный на наборах «Вектор-Бест», и положительный на наборе Mindray (рис. 1А). При этом надо отметить, что для образцов с дискордантными результатами значения результатов были близкими к значениям cut-off (ОП/ОП крит), т.е. имели низкие концентрации антител. На основании полученных результатов антитела IgG к SARS-CoV-2 выявлены у 93,4% реконвалесцентов на наборе Mindray, на наборе «Вектор-Бест» – у 94,1%. Процент несовпадений – 2,2%. Интересно, что при тестировании на наборе Mindray у 58,4% сывороток КП был более 5 cut-off, тогда как на наборе

«Вектор-Бест» – 92,7% сывороток имели КП более 5 cut-off. Корреляционная связь между КП, определенными в этих двух тест-системах, была расценена как слабая $r = 0,45$.

При исследовании на наличие антител к антигенам вируса SARS-CoV-2 класса IgM тех же 137 реконвалесцентов были получены следующие результаты: в обоих тестах положительными были 44 образца (32,1%), еще 15 образцов были положительными на наборе «Вектор-Бест» и отрицательными на Mindray, и 6 образцов были положительными на Mindray и отрицательными на «Вектор-Бест» (рис. 1Б). При этом, специфические антитела IgM к SARS-CoV-2 на наборе Mindray обнаружены у 36% реконвалесцентов, а на наборах «Вектор-Бест» – у 43,1%. Таким образом у 52,6% реконвалесцентов не было обнаружено специфических IgM-антител к вирусу SARS-CoV-2 в обеих тест-системах. Процент несовпадений составил 15,3%.

Во второй части исследования 166 сывороток доноров крови, имевших антитела класса IgG, выявленные с помощью экспресс-метода, протестировали еще на 5 тест-системах. Результаты представлены в таблице 2 и на рисунке 2. Из 166 образцов отрицательной в 5 тест-системах оказалась 1 сыворотка (0,6%). По-видимому, это ложноположительный результат, полученный на тест-полосках. На тест-системе Mindray IgG-антитела к антигенам вируса SARS-CoV-2 выявлены в 165 образцах (99,4%), на «Вектор-Бест» – в 164 сыворотках (98,8%), на «Диагностических системах» – в 151 (90,96%), на «Хема» – в 154 (92,8%), а на Abbott – в 155 образцах (93,4%). При этом 135 образцов были положительными во всех тест-системах (рис. 3), что составило 81,33%, тогда как 30 образцов имели дискордантные результаты (18,07%). Важно, что в 9 сыворотках специфических IgG не обнаруживалось в 2 и более тест-системах.

Были оценены корреляционные связи между КП во всех парах исследуемых нами наборов. Результаты расчетов представлены в таблице 3. Одна пара имеет сильную корреляционную связь, это Mindray и Abbott ($r = 0,81$). Корреляционную связь средней силы имеют следующие пары наборов: Mindray – Диагностические системы, Mindray – Хема, Вектор-Бест – Хема и Хема – Abbott, Вектор-Бест – Abbott, Диагностические системы – Abbott. Слабо коррелируют следующие пары наборов: Mindray – Вектор-Бест, Вектор-Бест – Диагностические системы, Диагностические системы – Хема.

Для определения диагностической чувствительности тест-систем на IgG-антитела к SARS-CoV-2 дополнительно были протестированы на наборах Mindray 50 сывороток крови от сотру-

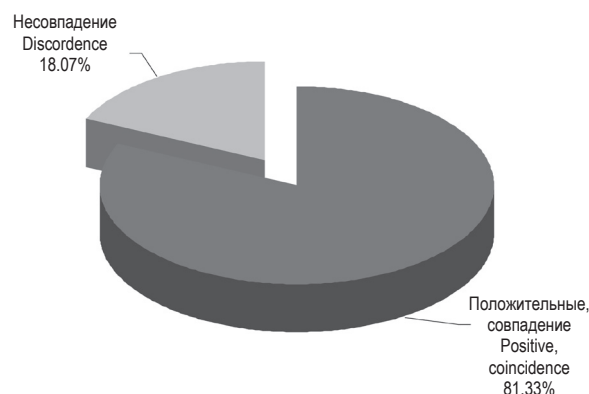


Рисунок 3. Сопоставление результатов тестирования сывороток крови на наборах пяти фирм-производителей (группа 2)

Figure 3. Comparison of serum test results using kits from five manufacturers (group 2)

ников Центра крови, собранные в начале 2019 года; на наборах «Вектор-Бест» – 19 сывороток от условно здоровых доноров, собранные в 2018 году; на наборах «Диагностические системы», Abbot и «Хема» были протестированы по 4 отрицательные сыворотки, кроме того, отрицательными считали сыворотки, чьи результаты были отрицательными в 2 и более тест-системах (9 проб). Проведенные расчеты продемонстрировали высокую диагностическую ценность всех исследованных тест-систем (табл. 4). Площади под ROC-кривой находились в диапазоне от 0,908 до 0,998, что свидетельствует о высоком качестве разделительной модели положительных и отрицательных образцов ($p < 0,001$). При заданных производителями тест-систем cut-off чувствительность и специфичность находилась в диапазоне от 82,8% и 93,3% для набора «Диагностические системы» до 99,4% и 95,8% для набора «Вектор-Бест» (табл. 4).

Обсуждение

Потребность в сопоставлении различных методов и тест-систем разных производителей для диагностики антител к антигенам вируса SARS-CoV-2, сертифицированных в РФ, связана с различиями в составе антигенов, используемых для выявления антител и наличием в крови переболевших COVID-19, спектра антител к разным белкам вируса [12]. Более того, не у всех переболевших COVID-19, имевших положительный ПЦР-анализ на SARS-CoV-2, формируются специфические антитела [23], а у разных пациентов преобладают антитела к разным белкам вируса [19, 20]. Так в наших исследованиях IgG-антитела к антигенам вируса SARS-CoV-2 в сыворотках крови реконвалесцентов были выявлены в 93,4% случаев с помощью набора Mindray и 94,1%

на наборе «Вектор-Бест». Похожие результаты были получены на наборах «Вектор-Бест», антитела у переболевших выявлялись в 68,9-95,5% случаев [1, 3]. Антитела класса IgM выявлялись реже: у 52,6% реконвалесцентов IgM-антител обнаружено не было, у 15,3% IgM-антитела определялись только в одной из тест-систем. Возможно, выявленные расхождения связаны с различиями в антигенах SARS-CoV-2, используемых в наборах Mindray и «Вектор-Бест». При исследовании иммунного ответа у перенесших COVID-19 было установлено, что у 47% пациентов более сильный IgM-ответ формируется на RBD-домен, у 50% – IgM синтезируется в одинаковой степени как к нуклеокапсиду, так и к RBD, а у 3% только на N-белок вируса [2]. В ряде исследований показано, что через неделю от появления симптомов заболевания чувствительность различных тест-систем для выявления антител крайне низкая, она повышается к 14 дню заболевания и после этого срока становится максимальной [2, 4, 9, 11]. Поскольку такая зависимость выявляется на разных тест-системах и разных методах исследования, то связана она не с особенностями тестирования, а с динамикой иммунного ответа. Следует помнить, что симптомы появляются не мгновенно, а спустя несколько дней после инфицирования, поэтому при вакцинации первые антитела резонно смотреть не ранее, чем через 3 недели после введения препарата. Рассчитанные нами чувствительность и специфичность для набора Mindray хорошо коррелирует с данными других исследователей: 100% чувствительности и 93,4% специфичности [14]. По данным фирмы разработчика, чувствительность составила 96,25%. По имеющимся в литературе данным для наборов Abbot чувствительность и специфичность колебалась в пределах 93,4-100% и 95,1-98% соответственно [6, 9]. По данным самой фирмы-производителя, чувствительность и специфичность составили 80,5% и 95,1%, что хорошо коррелирует с нашими данными. Для других наборов в доступной нам литературе не нашли информацию о чувствительности. Хема в инструкции к набору указал диагностическую чувствительность 96,96% (93,5-100%), Диагностические системы указал чувствительность для нескольких групп, например, в группе заболевших менее 1 недели 66,7% положительных, в группе 8-14 дней 85,7% , в группе 15-21 день 100%. Полученные нами значения чувствительности и специфичности вполне соответствуют данным фирм-производителей.

Рассчитанные нами корреляции между разными тест-системами отражают, по-видимому, антигенный состав белков вируса SARS-CoV-2, использованный в том или ином наборе. Так самые сильные корреляции были получены между результатами тестирования Abbot (N-белок

и Mindray (смесь N-белка и RBD-участка S-белка) – 0,81 и между Вектор-Бест (полноразмерный тример S-белка) и Хема (RBD-домен S белка) – 0,73. Другие пары демонстрировали корреляции меньшей силы. Важно, что в тех парах, у которых был использован похожий антиген (комбинация N-белка и RBD-участка S-белка или самого S-белка) коэффициент корреляции был выше, а если антиген был разный (N-белок в одной тест-системе и S-белок в другой), то коэффициент корреляции был ниже. В связи с этим динамику антител лучше смотреть на тест-системе одного производителя. Кроме того, в случае похожих, вроде бы, антигенов, различия между тест-системами могут быть связаны с посттрансляционными изменениями рекомбинантных белков, используемых в качестве антигенов, поскольку эти процессы проходят неодинаково у прокариот и эукариот. Дополнительные различия могут возникать на этапе переноса целевого анализируемого белка на твердую фазу, в результате возникающих конформационных изменений [4].

Считается, что большее количество антител вырабатывается против N-белка, который является наиболее распространенным белком среди вирусов, однако S-белок пепломера вируса SARS-CoV-2 показал высокую иммуногенность и является основной мишенью для вируснейтрализующих антител [13]. Полагают, что анти-N-антитела являются свидетелями перенесенной инфекции, а анти-S-антитела – нейтрализуют вирус. Поэтому вакцины от COVID-19 разрабатывают на основе S-белка. Существует также мнение, что уровни антител к N- и S-белкам снижаются со временем с разной скоростью. Возможно, для оценки защищенности от вируса SARS-CoV-2 следует измерять именно анти-S-антитела [7].

Таким образом, нам удалось показать, что все исследованные нами тест-системы и методы диагностики антител против вируса SARS-CoV-2 имеют высокую чувствительность и специфичность и пригодны для определения специфических антител у лиц, перенесших COVID-19. Анализируя собственные результаты и данные литературы выяснили, что различия в составе использованных в тест-системе антигенов могут приводить к несовпадению результатов, полученных на разных тест-системах, поэтому наблюдение за динамикой антител лучше проводить в тест-системах одной и той же фирмы-производителя. Тест-системы, в которых в качестве антигена использован N-белок коронавируса пригодны для раннего подтверждения перенесенного заболевания, так как эти антитела появляются первыми, следует помнить, что и исчезают из крови эти антитела прежде других. В то же время, N-белок находится внутри вириона, поэтому анти-N-

антитела не являются протективными. Для анализа продолжительности антительной защиты следует использовать тест-системы с антигеном S-белка (RBD). По нашему мнению, для оценки поствакцинального иммунитета после прививки «Спутник V» следует использовать тест-системы с антигеном S-белка (RBD), поскольку в этой

вакцине есть только S-белок коронавируса. А вот в вакцинах «ЭпиВакКорона» и «КовиВак» присутствует также и N-белок коронавируса, поэтому тест-системы с антигеном N-белка могут выявлять антитела после этих прививок, однако вируснейтрализующими свойствами обладают только анти-S-антитела.

Список литературы / References

1. Гильмутдинов Р.Г., Ишбулдина А.М., Тюкина Л.Ю., Захарова И.В., Кузнецов С.И., Жибурт Е.Б. Результаты обследования доноров-реконвалесцентов COVID-19 // Справочник заведующего КДЛ, 2020. № 10. С. 37-42. [Gilmudinov R.G., Ishbuldina A.M., Tyukina L.Yu., Zakharova I.V., Kuznetsov S.I., Zhiburt E.B. Results of the survey of COVID-19 convalescent donors. *Spravochnik zaveduyushchego KDL = Handbook of the Head of Clinical Diagnostic Laboratory*, 2020, no. 10, pp. 37-42. (In Russ.)]
2. Кувшинова И.Н., Некрасов Б.Г., Ливицкая Н.И., Молодых С.В., Рукавишников М.Ю. Чувствительность и специфичность наборов реагентов АО «Вектор-Бест» для выявления иммуноглобулинов разных классов к SARS-CoV-2 // Справочник заведующего КДЛ, 2020. № 10. С. 27-32. [Kuvshinova I.N., Nekrasov B.G., Livitskaya N.I., Molodykh S.V., Rukavishnikov M.Yu. Sensitivity and specificity of sets of reagents of JSC "Vector-Best" for the detection of immunoglobulins of different classes to SARS-CoV-2. *Spravochnik zaveduyushchego KDL = Handbook of the Head of Clinical Diagnostic Laboratory*, 2020, no. 10, pp. 27-32. (In Russ.)]
3. Кулешова С.В., Григорьева Е.В. Опыт определения антител к SARS-CoV-2-возбудителю новой коронавирусной инфекции // Справочник заведующего КДЛ, 2020. № 9. С. 9-15. [Kuleshova S.V., Grigorieva E.V. Experience in determining antibodies to SARS-CoV-2, the causative agent of a new coronavirus infection. *Spravochnik zaveduyushchego KDL = Handbook of the Head of Clinical Diagnostic Laboratory*, 2020, no. 9, pp. 9-15. (In Russ.)]
4. Bonelli F., Sarasini A., Zierold C., Calleri M., Bonetti A., Vismara C., Blocki F.A., Pallavicini L., Chinali A., Campisi D., Percivalle E., DiNapoli A.P., Perno C.F., Baldantib F. Clinical and analytical performance of an automated serological test that identifies S1/S2-neutralizing IgG in COVID-19 patients semiquantitatively. *J. Clin. Microbiol.*, 2020, Vol. 58, Iss. 9, e01224-20. doi: 10.1128/JCM.01224-20.
5. Bryan A., Pepper G., Wener M.H., Fink S.L., Morishima C., Chaudhary A., Jerome K.R., Mathias P.C., Greninger A.L. Performance characteristics of the abbot architect SARS-CoV-2 IgG assay and seroprevalence in Boise, Idaho. *J. Clin. Microbiol.*, 2020, Vol. 58, no. 8, e00941-20. doi: 10.1128/JCM.00941-20.
6. Jääskeläinen A.J., Kuivanen S., Kekäläinen E., Ahava M.J., Loginov R., Kallio-Kokko H., Vapalahti O., Jarva H., Kurkela S., Lappalainen M. Performance of six SARS-CoV-2 immunoassays in comparison with microneutralisation. *J. Clin. Virol.*, 2020, Vol. 129, 104512. doi: 10.1016/j.jcv.2020.104512.
7. Kohmer N., Westhaus S., Rüha C., Ciesek S., Rabenau H.F. Brief clinical evaluation of six high-throughput SARS-CoV-2 IgG antibody assays. *J. Clin. Virol.*, 2020, Vol. 129, pp. 104480. doi: 10.1016/j.jcv.2020.104480.
8. Loeffelholz M.J., Tang Y.-W. Laboratory diagnosis of emerging human coronavirus infections – the state of the art. *Emerg. Microbes Infect.*, 2020, Vol. 9, pp. 747-756.
9. Meschi S., Colavita F., Bordi L., Matusali G., Lapa D., Amendola A., Vairo F., Ippolito G., Capobianchi M.R., Castilletti C. Performance evaluation of Abbott ARCHITECT SARS-CoV-2 IgG immunoassay in comparison with indirect immunofluorescence and virus microneutralization test. *J. Clin. Virol.*, 2020, Vol. 129, 104539. doi: 10.1016/j.jcv.2020.104539
10. Montesinos I., Gruson D., Kabamba B., Dahma H., Van den Wijngaert S., Reza S., Carbone V., Vandenberg O., Gulbis B., Wolff F., Rodriguez-Villalobos H. Evaluation of two automated and three rapid lateral flow immunoassays for the detection of anti-SARS-CoV-2 antibodies. *J. Clin. Virol.*, 2020, Vol. 128, 104413. doi: 10.1016/j.jcv.2020.104413.
11. Nicol T., Lefevrea C., Serri O., Pivert A., Joubaud F., Dubée V., Kouatchet A., Ducancelle A., Lunel-Fabiani F., le Guillou-Guillemette H. Assessment of SARS-CoV-2 serological tests for the diagnosis of COVID-19 through the evaluation of three immunoassays: two automated immunoassays (Euroimmun and Abbott) and one rapid lateral flow immunoassay (NG Biotech). *J. Clin. Virol.*, 2020, Vol. 129, 104511. doi: 10.1016/j.jcv.2020.104511.
12. Okba N.M.A., Müller M.A., Li W., Wang C., Geurtsvan-Kessel C.H., Corman V.M., Lamers M.M., Sikkema R.S., de Bruin E., Chandler F.D., Yazdanpanah Y., Le Hingrat Q., Descamps D., Houhou-Fidouh N., Reusken C.B.E.M., Bosch B.-J., Drosten C., Koopmans M.P.G., Haagmans B.L. Severe acute respiratory syndrome coronavirus 2-specific antibody responses in coronavirus disease 2019 patients. *Emerg. Infect. Dis.*, 2020, Vol. 26, no. 7, pp. 1478-1488.
13. Ou X., Liu Y., Lei X., Li P., Mi D., Ren L., Guo L., Guo R., Chen T., Hu J., Xiang Z., Mu Z., Chen X., Chen J., Hu K., Jin Q., Wang J., Qian Z., Characterization of spike glycoprotein of SARS-CoV-2 on virus entry and its immune cross-reactivity with SARS-CoV. *Nat. Commun.*, 2020, Vol. 11, 1620. doi: 10.1038/s41467-020-15562-9.

14. Padoan A., Cosma C., Zaupa P., Plebani M. Analytical and diagnostic performances of a high-throughput immunoassay for SARS-CoV-2 IgM and IgG. *medRxiv*, 2020. Available at: <https://www.medrxiv.org/content/10.1101/2020.11.20.20235267v1.full>.
15. Pan Y., Li X., Yang G., Fan J., Tang Y., Zhao J., Long X., Guo S., Zhao Z., Liu Y., Hu H., Xue H., Li Y. Serological immunochromatographic approach in diagnosis with SARS-CoV-2 infected COVID-19 patients. *J. Infect.*, 2020, Vol. 81, no. 1, pp. e28-e32.
16. Petherick A., Developing antibody tests for SARS-CoV-2. *Lancet*, 2020, Vol. 395, pp. 1101-1102.
17. Rajendran K., Krishnasamy N., Rangarajan J., Rathinam J., Natarajan M., Ramachandran A. Convalescent plasma transfusion for the treatment of COVID-19: systematic review. *J. Med. Virol.*, 2020, Vol. 92, no. 9, pp. 1475-1483.
18. Tang M.S., Hock K.G., Logsdon N.M., Hayes J.E., Gronowski A.M., Anderson N.W., Farnsworth C.W. Clinical performance of two SARS-CoV-2 serologic assays. *Clin. Chem.*, 2020, Vol. 66, no. 8, pp. 1055-1062.
19. Tang Y.-W., Schmitz J.E., Persing D.H., Stratton C.W. The laboratory diagnosis of COVID-19 infection: current issues and challenges. *J. Clin. Microbiol.*, 2020, Vol. 58, no. 6, e00512-20. doi: 10.1128/JCM.00512-20.
20. Tay M.Z., Poh C.M., Rénia L., MacAry P.A., Ng L.F.P. The trinity of COVID-19: immunity, inflammation and intervention. *Nat. Rev. Immunol.*, 2020, Vol. 20, pp. 363-374.
21. Vashist S.K. *In vitro* diagnostic assays for COVID-19: recent advances and emerging trends. *Diagnostics*, 2020, Vol. 10, 202. doi: 10.3390/diagnostics10040202.
22. World Health Organization, Laboratory Biosafety Guidance Related to the Novel Coronavirus (2019-nCoV), 2020 (Accessed 03 March 2021). Available at: https://www.who.int/docs/default-source/coronaviruse/laboratory-biosafety-novel-coronavirus-version1-1.pdf?sfvrsn=912a9847_2.
23. Xu Y., Xiao M., Liu X., Xu S., Du T., Xu J., Yang Q., Xu Y., Han Y., Li T., Zhu H., Wang M. Significance of serology testing to assist timely diagnosis of SARS-CoV-2 infections: implication from a family cluster. *Emerg. Microbes Infect.*, 2020, Vol. 9, pp. 924-927.
24. Yang Y., Yang M., Shen C., Wang F., Yuan J., Li J., Zhang M., Wang Z., Xing L., Wei J., Peng L., Wong G., Zheng H., Liao M., Feng K., Li J., Yang Q., Zhao J., Zhang Z., Liu L., Liu Y., Evaluating the accuracy of different respiratory specimens in the laboratory diagnosis and monitoring the viral shedding of 2019-nCoV infections. *medRxiv*, 2020. Available at: <https://www.medrxiv.org/content/10.1101/2020.02.11.20021493v2>.
25. Zhu N., Zhang D., Wang W., Li X., Yang B., Song J., Zhao X., Huang B., Shi W., Lu R., Niu P., Zhan F., Ma X., Wang D., Xu W., Wu G., Gao G.F., Tan W. A novel coronavirus from patients with pneumonia in China, 2019. *N. Engl. J. Med.*, 2020, Vol. 382, pp. 727-733.

Авторы:

Белякова В.В. — к.б.н., заведующая централизованной клинико-диагностической лабораторией ГБУЗ «Центр крови имени О.К. Гаврилова Департамента здравоохранения города Москвы», Москва, Россия

Майорова О.А. — д.м.н., профессор, главный врач ГБУЗ «Центр крови имени О.К. Гаврилова Департамента здравоохранения города Москвы», Москва, Россия

Иванова Н.В. — врач клинической лабораторной диагностики ГБУЗ «Центр крови имени О.К. Гаврилова Департамента здравоохранения города Москвы», Москва, Россия

Степанова И.Е. — врач клинической лабораторной диагностики ГБУЗ «Центр крови имени О.К. Гаврилова Департамента здравоохранения города Москвы», Москва, Россия

Смердова М.А. — ведущий специалист ЗАО «Вектор-Бест-Европа», Москва, Россия

Обрядина А.П. — д.б.н., заместитель генерального директора ООО «Научно-производственное объединение «Диагностические системы», г. Нижний Новгород, Россия

Топтыгина А.П. — д.м.н., руководитель лаборатории цитокинов ФБУН «Московский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии имени Г.Н. Габричевского» Роспотребнадзора; профессор кафедры иммунологии ФГБОУ ВО «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова», Москва, Россия

Authors:

Belyakova V.V., PhD (Biology), Head, Centralized Clinical Diagnostic Laboratory, O. Gavrilov Blood Center, Moscow Department of Health, Moscow, Russian Federation

Maiorova O.A., PhD, MD (Medicine), Professor, Chief Medical Officer, O. Gavrilov Blood Center, Moscow Department of Health, Moscow, Russian Federation

Ivanova N.V., Doctor for Clinical Laboratory Diagnostics, O. Gavrilov Blood Center, Moscow Department of Health, Moscow, Russian Federation

Stepanova I.E., Doctor for Clinical Laboratory Diagnostics, O. Gavrilov Blood Center, Moscow Department of Health, Moscow, Russian Federation

Smerdova M.A., Leading Specialist, Vector-Best-Europe CJSC, Moscow, Russian Federation

Obryadina A.P., PhD, MD (Biology), Deputy General Director, Research and Production Company Diagnostic Systems, Ltd., Nizhny Novgorod, Russian Federation

Toptygina A.P., PhD, MD (Medicine), Head, Laboratory of Cytokines, G.N. Gabrichesky Research Institute for Epidemiology and Microbiology; Professor, Department of Immunology, M. Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russian Federation

Поступила 06.03.2021
Принята к печати 16.09.2021

Received 06.03.2021
Accepted 16.09.2021