



## Выбор метода и разработка стандартного образца для количественного определения антител к SARS-CoV-2 методом ИФА в препаратах иммуноглобулинов

Т.И. Смолянова<sup>1,✉</sup>, А.М. Николаева<sup>2</sup>, Т.В. Вязникова<sup>2</sup>, А.В. Иванов<sup>2</sup>, О.В. Белякова<sup>2</sup>, Е.И. Саканян<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Акционерное общество «Нацимбио», 2-й Волконский переулок, д. 10, Москва, 127473, Российская Федерация

<sup>2</sup> Акционерное общество «Научно-производственное объединение по медицинским иммунобиологическим препаратам «Микроген», 2-й Волконский переулок, д. 10, Москва, 127473, Российская Федерация

✉ Смолянова Татьяна Ивановна; [tatianasmolyanova@gmail.com](mailto:tatianasmolyanova@gmail.com)

### Резюме

В процессе разработки препарата специфического иммуноглобулина человека против COVID-19 (КОВИД-глобулин) одной из задач являлся выбор метода определения содержания антител к SARS-CoV-2. Определение титра антител в реакции нейтрализации (РН) является трудоемким и не позволяет применять метод массово. Наиболее доступным методом для рутинного использования представляется метод иммуноферментного анализа (ИФА). В связи с отсутствием международных и отраслевых стандартных образцов (СО) возникла необходимость в получении и аттестации СО для контроля специфической активности КОВИД-глобулина. **Цель работы:** изучение возможности замены реакции нейтрализации на метод ИФА для количественного определения антител к SARS-CoV-2 в препаратах иммуноглобулинов и разработка стандартного образца количественного определения антител к SARS-CoV-2. **Материалы и методы:** в исследовании использовали коммерческие наборы реагентов для ИФА различных производителей, препарат КОВИД-глобулин (48 серий) производства АО «НПО «Микроген», образцы плазмы крови человека (1499 образцов) различных производителей. В работе применяли РН, ИФА, хемилюминесцентный иммуноанализ на микрочастицах. **Результаты:** применение наборов реагентов для ИФА производства ФГБУ «НМИЦ гематологии» Минздрава России и Euroimmun AG и валидация методики количественного определения антител к SARS-CoV-2 с помощью ИФА с использованием выбранных наборов реагентов показали возможность использования метода ИФА взамен РН (коэффициент корреляции более 0,9). Разработан и охарактеризован СО содержания антител к SARS-CoV-2 в препаратах иммуноглобулина человека. Разработанный СО аттестован в установленных нами впервые антиковидных единицах (АКЕ) и единицах связывания антител (BAU) с использованием международной референс-панели ВОЗ (код NIBSC 20/268). Специфическая активность приготовленного СО предприятия охарактеризована по нейтрализующей активности в антиковидных единицах – АКЕ (активность СО составила 320 АКЕ/мл), а также в единицах BAU, используемых ВОЗ (активность СО составила 2234,8 BAU/мл). Установлено соотношение единиц АКЕ с единицами BAU. Коэффициент пересчета составил 6,4 для набора реагентов ИФА производства ФГБУ «НМИЦ гематологии» Минздрава России и 7,0 – для набора реагентов ИФА производства Euroimmun AG. **Выводы:** метод ИФА для количественного определения антител к SARS-CoV-2 и разработанный СО содержания антител к SARS-CoV-2 могут быть использованы для определения специфической активности препаратов иммуноглобулина человека против COVID-19.

**Ключевые слова:** реакция нейтрализации; иммуноферментный анализ; стандартный образец; иммуноглобулин; антитела к SARS-CoV-2

**Для цитирования:** Смолянова Т.И., Николаева А.М., Вязникова Т.В., Иванов А.В., Белякова О.В., Саканян Е.И. Выбор метода и разработка стандартного образца для количественного определения антител к SARS-CoV-2 методом ИФА в препаратах иммуноглобулинов. *БИОпрепараты. Профилактика, диагностика, лечение*. 2022;22(4):392–404. <https://doi.org/10.30895/2221-996X-2022-22-4-392-404>

## Selection of a SARS-CoV-2 antibody quantification method and development of an antibody reference standard for ELISA to test immunoglobulin preparations

T.I. Smolyanova<sup>1,✉</sup>, A.M. Nikolaeva<sup>2</sup>, T.V. Vyaznikova<sup>2</sup>, A.V. Ivanov<sup>2</sup>, O.V. Belyakova<sup>2</sup>, E.I. Sakanyan<sup>2</sup>

<sup>1</sup> *Nacimbio, 10 2nd Volkonsky Ln., Moscow 127473, Russian Federation*

<sup>2</sup> *Microgen Scientific Industrial Company for Immunological Medicines, 10 2nd Volkonsky Ln., Moscow 127473, Russian Federation*

✉ *Tatiana I. Smolyanova; [tatianasmolyanova@gmail.com](mailto:tatianasmolyanova@gmail.com)*

### Abstract

The development of COVID-globulin, a COVID-19-specific human immunoglobulin preparation, involved choosing a method to quantify antibodies to SARS-CoV-2. Antibody titre determination by virus neutralisation (VN) is labour-intensive and unsuitable for large-scale application. To enable routine testing, it was necessary to develop a less demanding method; the enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) was the most appropriate of solutions. The lack of international and industry reference standards (RS) prompted the preparation and certification of an RS for COVID-globulin potency control. **The aim of the study** was to examine the possibility of substituting ELISA for VN and to develop an RS for SARS-CoV-2 antibody quantification in immunoglobulin preparations. **Materials and methods:** the authors used commercial ELISA kits by several manufacturers, COVID-globulin by Microgen (48 batches), and human plasma samples from multiple sources (1499 samples). The tests were performed by VN, ELISA, and chemiluminescent microparticle immunoassay. **Results:** the authors validated an ELISA method for SARS-CoV-2 antibody quantification with the selected reagent kits by the National Medical Research Center for Hematology (NMRC for Hematology) and Euroimmun AG. The authors demonstrated the possibility of using ELISA instead of VN (with a correlation coefficient of more than 0.9). They developed and characterised an in-house RS for SARS-CoV-2 antibody content in human immunoglobulin preparations. The RS was certified in newly introduced anti-COVID units (ACU) and in international binding antibody units (BAU) using the World Health Organisation (WHO) international reference panel (NIBSC code: 20/268). The RS's potency was measured in terms of its neutralising activity in ACU (320 ACU/mL) and BAU (2234.8 BAU/mL). The authors established the relationship between ACU and BAU units. For the selected ELISA reagent kits, the conversion factors were 6.4 (NMRC for Hematology) and 7.0 (Euroimmun AG). **Conclusions:** the ELISA method for SARS-CoV-2 antibody quantification and the RS for SARS-CoV-2 antibody content can be applied to determine the potency of human anti-COVID-19 immunoglobulins.

**Key words:** virus neutralisation test; ELISA; reference standard; immunoglobulin; SARS-CoV-2 antibodies

**For citation:** Smolyanova T.I., Nikolaeva A.M., Vyaznikova T.V., Ivanov A.V., Belyakova O.V., Sakanyan E.I. Selection of a SARS-CoV-2 antibody quantification method and development of an antibody reference standard for ELISA to test immunoglobulin preparations. *БИОпрепараты. Профилактика, диагностика, лечение = Biological Products. Prevention, Diagnosis, Treatment*. 2022;22(4):392–404. <https://doi.org/10.30895/2221-996X-2022-22-4-392-404>

## Введение

COVID-19 – инфекционное заболевание, вызываемое вирусом SARS-CoV-2. Одним из методов лечения является применение плазмы крови доноров, содержащей специфические антитела. В настоящее время использование антиковидной плазмы включено во временные методические рекомендации Минздрава России «Профилактика, диагностика и лечение новой коронавирусной инфекции (COVID-19)»<sup>1</sup>. В то же время переливание плазмы крови всегда сопряжено с риском посттрансфузионных осложнений различного характера, в том числе заражением гемотрансмиссивными инфекциями и тромбообразованием. В связи с этим применение препарата иммуноглобулина человека (ИГЧ), содержащего антитела к SARS-CoV-2, представляется более безопасным для пациентов.

В 2020–2021 гг. в АО «Нацимбио» был разработан препарат КОВИД-глобулин, иммуноглобулин человека против COVID-19, раствор для инфузий [1]. Действующим веществом препарата КОВИД-глобулин являются иммуноглобулины класса G (IgG), содержащие нейтрализующие SARS-CoV-2 антитела.

Высокоочищенный препарат иммуноглобулина класса G выделяют из плазмы крови доноров, содержащей антитела к SARS-CoV-2, протестированной на наличие маркеров инфекций, передающихся с кровью, и соответствующей показателям качества ФС.3.3.2.0001.18 Плазма человека для фракционирования<sup>2</sup>.

Одним из важнейших показателей, определяющих качество препаратов специфических противовирусных иммуноглобулинов, является содержание антител, нейтрализующих вирус, – показатель специфической активности. Для определения специфической активности используют ограниченный набор методов. Одним из традиционных методов определения титра нейтрализующих антител (ВНА) является реакция нейтрализации (РН) [2]. Применительно к SARS-CoV-2, использование РН является достаточно трудоемким и сложным методом, требующим наличия специальной лаборатории, обладающей соответствующей лицензией на работу с патогенами II группы и, конкретно, с вирусом SARS-CoV-2. Это не позволяет применять РН массово, поэтому целесообразно оценить возмож-

ность использования другого, более доступного метода. Наиболее подходящим для этих целей представляется метод иммуноферментного анализа (ИФА), обладающий достаточной чувствительностью и специфичностью.

В связи с этим возникла необходимость выбора унифицированного метода ИФА для количественного определения антител, характеризующегося информативностью и приемлемой корреляцией с РН, простотой, минимальными затратами времени и удовлетворительной прецизионностью. Для анализа специфической активности представляется целесообразным использование коммерчески доступных наборов реагентов для ИФА. Для обеспечения возможности сравнения результатов, полученных разными наборами реагентов, необходим стандартный образец (СО), аттестованный в обоснованных единицах в соответствии с рекомендациями Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ)<sup>3</sup>.

Для стандартизации методики определения действующего вещества лекарственных препаратов используют СО, идентичные исследуемым образцам. Согласно рекомендациям ВОЗ основной задачей получения СО является обеспечение постоянства содержания основного компонента СО в процессе хранения, транспортирования и использования, так как изменение этого показателя СО может снижать точность количественного определения IgG к SARS-CoV-2 в препаратах иммуноглобулинов человека. В настоящее время отсутствуют международные СО специфической активности для препаратов иммуноглобулина человека против COVID-19. В связи с этим очевидно, что получение и аттестация СО необходимы для стандартизации количественного определения антител к SARS-CoV-2.

ВОЗ утвердила международную референс-панель для оценки и разработки методик определения антител к SARS-CoV-2, охарактеризованную дополнительно в единицах связывания антител (binding antibody units, BAU) [3, 4]. Международные стандарты ВОЗ предназначены для калибровки диагностических тест-систем. Аттестация разработанного СО относительно международной референс-панели Национального института биологических стандартов и контроля (National Institute for Biological

<sup>1</sup> Временные методические рекомендации «Профилактика, диагностика и лечение новой коронавирусной инфекции (COVID-19). Версия 16; 18.08.2022» (утв. Министерством здравоохранения Российской Федерации).

<sup>2</sup> Фармакопейная статья 3.3.2.0001.18 Плазма человека для фракционирования. Государственная фармакопея Российской Федерации. XIV изд. Т. 4; 2018.

<sup>3</sup> Recommendation for the preparation, characterization, and establishment of international and other biological reference standards. Annex 2. WHO Technical Report Series, No. 932; 2006.

Standards and Control, NIBSC) – NIBSC 20/268<sup>4</sup> позволит изучить возможность оценки специфической активности препарата иммуноглобулина в предложенных ВОЗ единицах связывания антител – ВАУ/мл.

Цель работы – изучение возможности замены реакции нейтрализации на метод ИФА для количественного определения антител к SARS-CoV-2 в препаратах иммуноглобулинов и разработка стандартного образца количественного определения антител к SARS-CoV-2.

Основными задачами работы являлись следующие:

- изучение возможности замены метода РН на ИФА с применением коммерческих наборов реагентов для ИФА при оценке показателя специфической активности препаратов противовирусных иммуноглобулинов;
- разработка и характеристика СО содержания IgG человека к вирусу SARS-CoV-2, идентичного анализируемому материалу – препаратам иммуноглобулинов человека против COVID-19;
- аттестация разработанного СО относительно международной референс-панели NIBSC 20/268, охарактеризованной в принятых ВОЗ единицах связывания антител (ВАУ/мл);
- исследование предполагаемого срока годности СО методом «ускоренного старения».

## Материалы и методы

### Материалы

Использовали коммерчески доступные ИФА тест-системы различной специфичности к конкретной антигенной детерминанте:

- набор реагентов для иммуноферментного определения IgG антител к антигену SARS-CoV-2 в сыворотке (плазме) крови «SARS-CoV-2-IgG-ИФА», производства ФГБУ «НМИЦ гематологии» Минздрава России, Россия (ИФА «НМИЦ гематологии»); используемый в наборе антиген – рекомбинантный RBD домен S-белка SARS-CoV-2;
- набор реагентов для определения антител IgG к коронавирусу SARS-CoV-2 «Anti-SARS-Cov-2 ELISA (IgG)», производства Euroimmun AG, Германия (ИФА Euroimmun кач); используемый в наборе антиген – рекомбинантный S1 домен S-белка SARS-CoV-2;
- набор реагентов для иммуноферментного выявления иммуноглобулинов класса G к SARS-CoV-2 «SARS-CoV-2-IgG-ИФА-БЕСТ», производства АО «Вектор-Бест», Россия (ИФА «Вектор-Бест»); используемый в наборе анти-

ген – рекомбинантный S-белок SARS-CoV-2;

- набор реагентов для иммуноферментного выявления иммуноглобулинов класса G к рецептор-связывающему домену поверхностного гликопротеина S коронавируса SARS-CoV-2 «SARS-CoV-2-RBD-ИФА-Гамалеи», производства ФГБУ «НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России, Россия (ИФА «НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи»); используемый в наборе антиген – рекомбинантный RBD домен S-белка SARS-CoV-2;
- набор реагентов для иммуноферментного выявления иммуноглобулинов класса G к коронавирусу SARS-CoV-2 «SARS-CoV-2 IgG ELISA Kit», производства Creative Diagnostics, США (ИФА Creative Diagnostics); используемые в наборе антигены – рекомбинантные белки вирусной частицы SARS-CoV-2;
- набор реагентов для количественного определения антител IgG к коронавирусу SARS-CoV-2 (Anti-SARS-Cov-2 QuantiVac ELISA (IgG)), производства Euroimmun Medizinische Labordiagnostika AG, Германия (ИФА Euroimmun кол); используемый в наборе антиген – S1 домен S-белка SARS-CoV-2;
- набор реагентов для качественного и количественного определения антител класса IgG к вирусу SARS-CoV-2 иммунохемилюминесцентным методом (chemiluminescent microparticle immunoassay, CMIA) в сыворотке и плазме крови человека на иммунохимических анализаторах Architect «SARS-CoV-2 IgG II реагент для количественного анализа для Architect (Architect SARS-CoV-2 IgG II Quant Reagent Kit)», производства Abbott Laboratories, Ирландия (ИХЛ Эбботт); используемый в наборе антиген – рекомбинантный RBD домен S белка SARS-CoV-2.

В работе использовали следующие материалы:

- образцы серий препарата КОВИД-глобулин (Имуноглобулин человека против COVID-19, раствор для инфузий); АО «НПО «Микроген» – 48 серий;
- образцы плазмы крови человека – 1499 образцов: 490 образцов плазмы реконвалесцентов (150 образцов были предоставлены ФГБУ «НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России и 340 образцов были предоставлены Департаментом здравоохранения г. Москвы) и 1009 образцов плазмы здоровых доноров (образцы заготовлены организациями службы крови Российской Федерации и являлись собственностью АО «НПО «Микроген»);

<sup>4</sup> WHO Reference Panel. First WHO International Reference Panel for anti-SARS-CoV-2 immunoglobulin. NIBSC code: 20/268. <https://www.nibsc.org/documents/ifu/20-268.pdf>

– международная референс-панель NIBSC 20/268<sup>5</sup> (NIBSC 20/150 (High), NIBSC 20/148 (Mid), NIBSC 20/144 (Low S, high N), NIBSC 20/140 (Low), NIBSC 20/142 (negative human plasma)), представляющая собой пулированные образцы плазмы реконвалесцентов, содержащие антитела к вирусу SARS-CoV-2, и отрицательный контроль, полученный из плазмы крови здоровых доноров, собранной до 2019 г. (табл. 1).

### Методы

Для определения количества антител к SARS-CoV-2 в образцах плазмы крови человека и препаратах иммуноглобулинов использовали следующие методы анализа.

**Реакция нейтрализации.** Использовали постоянную дозу вируса SARS-CoV-2 (hCoV-19/Russia/Moscow\_PMV1-1/2020), полученного из Государственной коллекции вирусов ФГБУ «НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России и различные разведения тестируемого образца (плазмы крови человека и препаратов иммуноглобулинов). Готовили разведения образца в культуральной среде DMEM (Dulbecco's modified Eagle's medium, HyClone, США) с 2% инактивированной фетальной бычьей сывороткой (HyClone, США), далее вносили вирус SARS-CoV-2 (100 бляшкообразующих единиц, БОЕ), инкубировали 1 ч при 37 °С и добавляли к культуре клеток Vero E6 (клетки эпителия почки африканской зеле-

ной мартышки) в полистироловых 96-луночных планшетах. Конечные разведения образца составили 1:20–1:1280. Анализ проводили в трех повторностях. Клетки инкубировали при 37 °С и 5% CO<sub>2</sub>. Через 96 ч проводили учет развития цитопатического действия вируса на культуру клеток визуально по оценке нарушения монослоя клеток. За титр ВНА исследуемого образца принимали наибольшее его разведение, при котором происходит подавление цитопатического действия (ЦПД) вируса в двух из трех лунок [5].

**Метод иммуноферментного анализа.** Исследование взаимодействия антител к SARS-CoV-2, содержащихся в тестируемых образцах (плазме крови человека и препаратах иммуноглобулинов), с антигеном SARS-CoV-2, иммобилизованным на полистироловом планшете, проводили методом ИФА с применением коммерческих наборов реагентов для ИФА в соответствии с инструкциями фирм-производителей. Образовавшийся комплекс антиген–антитело выявляли с помощью меченных пероксидазой хрена антител против IgG человека, которые обуславливают расщепление пероксида водорода, регистрируемое по изменению окраски индикатора тетраметилбензидина. Интенсивность окраски прямо пропорциональна содержанию антител в образцах.

Количественное определение концентрации специфических антител в исследуемом образце проводили по сравнению с СО

Таблица 1. Характеристика международной референс-панели ВОЗ (NIBSC 20/268<sup>6</sup>)

Table 1. Characteristics of the First WHO International Reference Panel (NIBSC 20/268<sup>6</sup>)

Наименование антител <i>Antibodies</i>	Специфическая активность образцов референс-панели NIBSC 20/268 <i>Potency of Reference Panel samples (NIBSC 20/268)</i>					Единицы измерения <i>Units of measurement</i>
	NIBSC 20/150	NIBSC 20/148	NIBSC 20/144	NIBSC 20/140	NIBSC 20/142	
Нейтрализующие антитела <i>Neutralising antibodies</i>	1473	210	95	44	Отриц <i>Neg</i>	МЕ/мл <i>IU/mL</i>
Анти-RBD IgG <i>Anti-RBD IgG</i>	817	205	66	45	Отриц <i>Neg</i>	BAU/мл <i>BAU/mL</i>
Анти-S1 IgG <i>Anti-S1 IgG</i>	766	246	50	46	Отриц <i>Neg</i>	BAU/мл <i>BAU/mL</i>
Анти-S IgG <i>Anti-S IgG</i>	832	241	86	53	Отриц <i>Neg</i>	BAU/мл <i>BAU/mL</i>
Анти-N IgG <i>Anti-N IgG</i>	713	295	146	12	Отриц <i>Neg</i>	BAU/мл <i>BAU/mL</i>

*Примечание.* Отриц – отрицательный контроль, не содержащий антитела к вирусу SARS-CoV-2; МЕ – международные единицы; BAU – единицы связывания антител; RBD – рецепторсвязывающий домен; S – шиповидный белок; S1 – субъединица S-белка.

*Note.* Neg – negative control (no SARS-CoV-2 antibodies); IU – international units; BAU – binding antibody units; RBD – receptor-binding domain; S – spike protein; S1 – S-protein subunit.

<sup>5</sup> Там же.

<sup>6</sup> Там же.



по калибровочному графику, построенному в двойных логарифмических координатах по результатам измерения оптической плотности (ось  $Y$  –  $Ig$  оптической плотности CO, ось  $X$  –  $\log_2$  кратности разведения CO). В качестве калибратора использовали разработанный CO, который титровали от 0,4 до 0,006 в антиковидных единицах (АКЕ/мл) в буфере для образцов соответствующего набора реагентов. Постановку ИФА для полуколичественного определения и расчет индексов позитивности проводили согласно инструкциям фирм-производителей.

**Хемилюминесцентный иммуноанализ на микрочастицах.** Тест предназначен для качественного и количественного определения антител IgG к SARS-CoV-2 в образцах на анализаторе ARCHITECT (Abbott Laboratories, Ирландия). Тест проводили его в соответствии с инструкцией производителя. При постановке анализа смешивали тестируемый образец (плазма крови человека и препараты иммуноглобулинов), парамагнитные микрочастицы, покрытые антигеном SARS-CoV-2, и разбавитель для образцов теста. Далее проводили инкубацию, промывку и добавление акридин-меченого конъюгата антител к IgG человека. После цикла промывки к реакционной смеси добавляли претриггерный и триггерный растворы. Результат хемилюминесцентной реакции измеряли в относительных световых единицах (relative light unit, RLU), которые напрямую связаны с количеством детектируемых антител IgG к SARS-CoV-2, присутствующих в образце. Панель положительных контрольных образцов, входящая в состав набо-

ра реагентов, аттестована относительно первого международного СО ВОЗ для иммуноглобулинов к SARS-CoV-2 (код NIBSC 20/136)<sup>7</sup>.

**Статистический анализ** проводили с использованием программы Microsoft Excel. Для выявления взаимосвязей между результатами исследования, полученными в ИФА и РН, использовали метод корреляционного анализа по Спирмену. При оценке валидационных показателей были изучены калибровочный диапазон, прецизионность внутри и между циклами (определениями, постановками), линейность разведения, стабильность образцов, параллелизм разведений исследуемых образцов и калибратора.

## Результаты и обсуждение

На первом этапе работы были проведены исследования по изучению возможности замены метода РН на ИФА при оценке показателя специфической активности препаратов противовирусных иммуноглобулинов. Исходя из рекомендаций ВОЗ, такая замена возможна только при наличии коэффициента корреляции между сравниваемыми методами не менее 0,9. Было проанализировано на наличие специфических антител 1499 образцов плазмы крови человека в РН и с использованием наборов ИФА (ИФА «НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи», ИФА «НМИЦ гематологии», ИФА Euroimmun кач, ИФА «Вектор-Бест», ИФА Creative Diagnostics) (табл. 2).

Установлено, что значение коэффициента корреляции  $r$  Спирмена для различных тест-систем составляло 0,77–0,83. Выбранные тест-системы отличались антигенной специфичностью

**Таблица 2.** Результаты корреляционного анализа данных, полученных с применением реакции нейтрализации и метода ИФА с использованием тест-систем различных производителей

**Table 2.** Results of correlation analysis of the data obtained by virus neutralisation and ELISA using test kits by several manufacturers

Наименование показателя <i>Test name</i>	ИФА «НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи» <i>Kit A</i>	ИФА «НМИЦ гематологии» <i>Kit B</i>	ИФА Euroimmun кач <i>Kit C</i>	ИФА «Вектор-Бест» <i>Kit D</i>	ИФА Creative Diagnostics <i>Kit E</i>
КК Спирмена, $r$ <i>Spearman CC, r</i>	0,8080	0,8269	0,8204	0,7697	0,7751
95% доверительный интервал <i>95% confidence interval</i>	0,7474–0,8553	0,7957–0,8537	0,7882–0,8481	0,7297–0,8044	0,7360–0,8091
Уровень значимости, $p$ <i>Level of significance, p</i>	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001
Количество пар сравнения <i>Number of pairs compared</i>	325	490	490	490	490

*Примечание.* КК – коэффициент корреляции, ИФА – иммуноферментный анализ.

*Note.* CC—correlation coefficient, ELISA—enzyme-linked immunosorbent assay, Kit A—SARS-CoV-2-RBD-ELISA-Gamaleya by the N.F. Gamaleya National Research Centre for Epidemiology and Microbiology, Kit B—SARS-CoV-2-IgG-ELISA by the National Medical Research Center for Hematology, Kit C—Anti-SARS-Cov-2 ELISA IgG by Euroimmun AG, Kit D—SARS-CoV-2-IgG-EIA-BEST by Vector-Best AO, Kit E—SARS-CoV-2 IgG ELISA Kit by Creative Diagnostics.

<sup>7</sup> WHO International Standard. First WHO International Standard for anti-SARS-CoV-2 immunoglobulin (human). NIBSC code: 20/136. <https://www.nibsc.org/documents/ifu/20-136.pdf>

и, соответственно, специфичностью определяемых антител к SARS-CoV-2. Тест-системы, использующие полноразмерный S-белок (ИФА «Вектор-Бест») или смесь всех белков SARS-CoV-2 (ИФА Creative Diagnostics), показали более низкие результаты корреляции.

Максимально высокие коэффициенты корреляции в анализе индивидуальных образцов плазмы крови человека были получены для тест-систем ИФА «НМИЦ гематологии» и ИФА Euroimmun кач (0,83 и 0,82 соответственно), использующих в качестве антигена RBD домен и S1 субъединицу S-белка соответственно. Такой уровень значений соответствует средней корреляции, что не является достаточным для замены РН на метод ИФА.

Относительно низкая степень корреляции между результатами ИФА и РН в индивидуальных образцах плазмы крови человека может быть связана с тем, что не все антитела, специфичные к RBD домену, обладают вируснейтрализующим действием, и содержание ВНА может отличаться в индивидуальных образцах. Следует отметить, что при производстве препарата ИГЧ используют крупные пулы плазмы крови доноров, состоящие из более чем 500 образцов, в связи с чем индивидуальные различия усредняются.

При анализе корреляции между сравниваемыми методами с использованием пулов плазмы крови (смесь 10 индивидуальных образцов с одинаковым титром ВНА, определенным в РН) было установлено, что коэффициенты корреляции для методов РН и ИФА в тест-системах ИФА «НМИЦ гематологии» и ИФА Euroimmun кач составили 0,91–0,95 (табл. 3).

Уровни корреляции выше 0,9 свидетельствуют о возможности использования количественной оценки содержания антител методом ИФА с указанными тест-системами взамен реакции РН.

На следующем этапе работ был приготовлен СО содержания антител к SARS-CoV-2 в препаратах иммуноглобулина человека для количественного определения антител в препаратах иммуноглобулинов.

Основой для получения СО являлась производственная серия КОВИД-глобулина, по всем показателям качества соответствующая нормативной документации и требованиям Европейской фармакопеи на препараты внутривенных иммуноглобулинов<sup>8</sup>. Высокую стабильность физико-химических и биологических свойств СО обеспечивали следующие факторы: использование сахарозы в конечной концентрации 8%,

Таблица 3. Величины, обратные разведению, полученные с применением РН, и индексы позитивности, полученные методом ИФА с использованием тест-систем ИФА «НМИЦ гематологии» и ИФА Euroimmun кач ( $n=37$  минипулов)

Table 3. Reciprocals of sample dilutions in VN tests and positive reactivity indices obtained by ELISA with kits B and C ( $n=37$  minipools)

Величина, обратная разведению образца пула плазмы крови человека в РН <i>Reciprocals of sample dilutions in VN tests with pooled human plasma</i>	Индекс позитивности для тест-систем ИФА <i>Positive reactivity index for ELISA kits</i>	
	ИФА «НМИЦ гематологии» <i>Kit B</i>	ИФА Euroimmun кач <i>Kit C</i>
0	0,8	0,2
20	3,7	1,8
40	10,1	3,6
80	17,8	7,0
160	36,3	12,6
320	69,8	35,2
640	56,0	25,2
1280	102,4	70,4
Коэффициент корреляции ИФА с РН <i>Correlation coefficients for ELISA and VN tests</i>	0,91	0,95

Примечание. РН – реакция нейтрализации; ИФА – иммуноферментный анализ.

Note. VN – virus neutralisation; ELISA – enzyme-linked immunosorbent assay, Kit B – SARS-CoV-2-IgG-ELISA by the National Medical Research Center for Hematology, Kit C – Anti-SARS-CoV-2 ELISA by Euroimmun AG.

стерильный розлив по 0,1 мл во флаконы, лиофильное высушивание, герметизация флаконов.

Полученный СО был протестирован в РН и охарактеризован в установленных нами впервые единицах – антиковидных единицах (АКЕ). За 1 единицу АКЕ образца была принята величина, обратная его разведению, при котором в РН регистрируется ингибирование ЦПД вируса SARS-CoV-2 (100 БОЕ) на культуре клеток Vero в двух из трех лунок. Титр ВНА составил 1:320; соответственно, образцу была присвоена активность 320 АКЕ/мл.

При проведении оценки качества разработанного СО содержания антител к SARS-CoV-2 в препаратах иммуноглобулина человека (табл. 4) было установлено, что значения показателей качества разработанного СО соответствуют требованиям к соответствующим показателям качества препарата КОВИД-глобулин.

Проведена валидация методики количественного определения антител к SARS-CoV-2 методом

<sup>8</sup> Human normal immunoglobulin for intravenous administration 01/2012:0918. European Pharmacopoeia 10th ed. Vol. 2; 2022.

**Таблица 4.** Основные характеристики качества разработанного СО содержания антител к SARS-CoV-2 в препаратах иммуноглобулина человека**Table 4.** The main quality characteristics of the developed RS for SARS-CoV-2 antibody content in human immunoglobulin preparations

Наименование показателя <i>Test/parameter</i>	Требования нормативной документации <i>Acceptance criteria</i>	Результаты испытаний <i>Test result</i>
Внешний вид <i>Appearance</i>	Таблетка или аморфная масса белого цвета <i>White tablet or solid friable mass</i>	Таблетка белого цвета <i>White tablet</i>
Потеря в массе при высушивании, % <i>Loss on drying, %</i>	Не более 5 <i>No more than 5</i>	1,1
Время восстановления препарата <i>Reconstitution time</i>	Содержимое флакона должно растворяться в 0,1 мл очищенной воды в течение не более 15 мин при периодическом встряхивании <i>With periodic shaking, vial contents dissolve in 0.1 mL of water within no more than 15 min</i>	Растворяется в течение 5 мин <i>Vial contents dissolve within 5 min</i>
Прозрачность и цветность раствора <i>Clarity and degree of colouration</i>	В растворенном виде — прозрачный или слегка опалесцирующий, бесцветный или светло-желтый раствор <i>Upon reconstitution, the solution is clear or slightly opalescent and colourless or light-yellow</i>	Прозрачный бесцветный раствор <i>Clear colourless solution</i>
Подлинность: – видовая специфичность – наличие антител к SARS-CoV-2 <i>Identification:</i> – <i>species specificity</i> – <i>presence of antibodies to SARS-CoV-2</i>	– должна выявляться линия преципитации только с сывороткой против белков сыворотки крови человека – должны выявляться антитела к SARS-CoV-2 – <i>only an antiserum to human serum proteins gives a precipitation arc</i> – <i>antibodies to SARS-CoV-2 are detected</i>	– выявляется линия преципитации только с сывороткой против белков сыворотки крови человека – выявляются антитела к SARS-CoV-2 – <i>only an antiserum to human serum proteins gives a precipitation arc</i> – <i>antibodies to SARS-CoV-2 are detected</i>
Белок <i>Protein</i>	От 8,0 до 12,0% (от 80 до 120 мг/мл) <i>8.0 to 12.0% (80 to 120 mg/mL)</i>	8,45% (84,5 мг/мл) <i>8.45% (84.5 mg/mL)</i>
Электрофоретическая однородность <i>Protein composition (electrophoresis)</i>	Основная фракция IgG должна составлять не менее 95% от общего содержания белка <i>The main IgG fraction comprises at least 95% of the total protein content</i>	Основная фракция IgG составляет 97,53% от общего содержания белка <i>The main fraction of IgG comprises 97.53% of the total protein content</i>
Молекулярные параметры <i>Molecular size distribution</i>	Содержание мономера и димера IgG должно быть не менее 90,0%, полимеров и агрегатов — не более 3,0% <i>The content of IgG monomer and dimer is not less than 90.0%; the content of polymers and aggregates is not more than 3.0%</i>	Содержание мономера и димера IgG — 99,83%, полимеров и агрегатов — 0,17% <i>The content of IgG monomer and dimer is 99.83%; the content of polymers and aggregates is 0.17%</i>
Фракционный состав <i>Fractional profile</i>	Должна выявляться интенсивная линия преципитации IgG и не более четырех дополнительных линий <i>One strong IgG precipitation arc and no more than four additional arcs</i>	Выявляется интенсивная линия преципитации IgG и одна дополнительная линия <i>One strong IgG precipitation arc and one additional arc</i>
Содержание иммуноглобулина А, мг/мл <i>IgA content, mg/mL</i>	Не более 1,0 <i>No more than 1.0</i>	Менее 1,0 <i>Less than 1.0</i>
Вирусная безопасность: – поверхностный антиген вируса гепатита; – антитела к вирусу гепатита С; – антитела к вирусу иммунодефицита человека (ВИЧ-1 и ВИЧ-2) и антиген р24 ВИЧ-1 <i>Viral safety:</i> – <i>hepatitis B surface antigen (HBsAg);</i> – <i>antibodies to hepatitis C;</i> – <i>antibodies to human immunodeficiency virus (HIV-1 and HIV-2) and HIV-1 p24 antigen</i>	– препарат не должен содержать поверхностного антигена вируса гепатита В; – антитела к вирусу гепатита С должны отсутствовать; – препарат не должен содержать антител к вирусу иммунодефицита человека (ВИЧ-1 и ВИЧ-2) и антиген р24 ВИЧ-1 <i>The preparation is free from</i> – <i>hepatitis B surface antigen;</i> – <i>antibodies to hepatitis C;</i> – <i>antibodies to human immunodeficiency virus (HIV-1 and HIV-2) and HIV-1 p24 antigen</i>	– препарат не содержит поверхностного антигена вируса гепатита В; – антитела к вирусу гепатита С отсутствуют; – препарат не содержит антитела к вирусу иммунодефицита человека (ВИЧ-1 и ВИЧ-2) и антиген р24 ВИЧ-1 <i>The preparation is free from</i> – <i>hepatitis B surface antigen;</i> – <i>antibodies to hepatitis C;</i> – <i>antibodies to human immunodeficiency virus (HIV-1 and HIV-2) and HIV-1 p24 antigen</i>



Продолжение таблицы 4  
Table 4 (continued)

Наименование показателя <i>Test/parameter</i>	Требования нормативной документации <i>Acceptance criteria</i>	Результаты испытаний <i>Test result</i>
Специфическая активность, АКЕ/флакон <i>Potency, ACU/vial</i>	Содержание специфических антител во флаконе, установленное в реакции иммуноферментного анализа, должно быть не ниже 16 <i>The content of specific antibodies in a vial is not less than 16 (ELISA)</i>	Содержание специфических антител во флаконе, установленное в реакции иммуноферментного анализа, – 32 <i>The content of specific antibodies in a vial is 32 (ELISA)</i>

Примечание. СО – стандартный образец; АКЕ – антиковидные единицы.

Note. RS—reference standard; ACU—anti-COVID units.

ИФА указанными выше тест-системами (ИФА «НМИЦ гематологии» и ИФА Euroimmun кач) в соответствии с требованиями Комитета по лекарственным средствам для медицинского применения (Committee for Medicinal Products for Human Use) Европейского агентства по лекарственным средствам (European Medicines Agency)<sup>9</sup>. Работы проводились двумя операторами в течение двух дней в двух повторностях с использованием разработанного СО и трех серий препарата КО-ВИД-глобулин, Иммуноглобулин человека против COVID-19, раствор для инфузий (табл. 5).

Таким образом, установленные валидационные характеристики методики количественного определения антител к SARS-CoV-2 в препаратах иммуноглобулина методом ИФА с использованием наборов реагентов двух производителей (ИФА «НМИЦ гематологии» и ИФА Euroimmun кач) позволяют сделать заключение о том, что данную методику можно применять для количественного определения антител к SARS-CoV-2 в препаратах иммуноглобулинов.

На следующем этапе работ была проведена аттестация разработанного СО относительно международной референс-панели NIBSC 20/268, охарактеризованной в принятых ВОЗ единицах связывания антител (BAU/мл), с использованием наборов реагентов ИФА «НМИЦ гематологии» (48 проб), ИФА Euroimmun кач (48 проб), ИФА Euroimmun кол (24 пробы) – работы проводились двумя операторами в течение двух дней в двух повторностях, а также с использованием набора реагентов ИХЛ Эбботт (72 пробы) – работы проводились тремя операторами в течение двух дней в двух повторностях (табл. 6).

По результатам статической обработки специфическая активность разработанного СО, охарактеризованного по содержанию антител

к SARS-CoV-2, была принята за 2234,8 BAU/мл антител к SARS-CoV-2. Однако следует учесть, что международную референс-панель NIBSC 20/268 предлагается использовать для оценки и разработки тест-систем для обнаружения и количественного определения антител против SARS-CoV-2, панель состоит из 5 пулов плазмы (смесь 10 индивидуальных образцов), охарактеризованных в международных единицах (МЕ/мл) и единицах связывания антител (BAU/мл). Поэтому на следующем этапе работ была проведена оценка соотношения антиковидных единиц (АКЕ) и единиц связывания антител (BAU). Были использованы 48 серий препарата КОВИД-глобулин, протестированных относительно международной панели NIBSC 20/268, охарактеризованной в единицах связывания антител (BAU/мл), и разработанного СО, аттестованного в антиковидных единицах (АКЕ/мл), с использованием метода ИФА (наборы реагентов ИФА «НМИЦ гематологии» и ИФА Euroimmun кач). Средние значения полученных результатов представлены в таблице 7.

Таким образом, коэффициент пересчета антиковидных единиц (АКЕ/мл) в международные единицы связывания (BAU/мл) составил 6,4 для набора реагентов ИФА «НМИЦ гематологии» и 7,0 – для набора реагентов ИФА Euroimmun кач.

Проведено исследование предполагаемого срока годности разработанного СО методом «ускоренного старения» согласно методике, изложенной в ОФС.1.1.0009.15 Сроки годности лекарственных средств<sup>10</sup>, которая в настоящее время исключена из ГФ РФ XIV. Предполагаемый срок хранения СО составил 5,7 года. Наблюдения в режиме реального времени и реального температурного режима хранения продолжаются.

<sup>9</sup> Guideline on bioanalytical method validation (EMA/CHMP/EWP/192217/2009 Rev. 1 Corr. 2\*\*). Committee for Medicinal Products for Human Use (CHMP); 2011. [https://www.ema.europa.eu/en/documents/scientific-guideline/guideline-bioanalytical-method-validation\\_en.pdf](https://www.ema.europa.eu/en/documents/scientific-guideline/guideline-bioanalytical-method-validation_en.pdf)

<sup>10</sup> Общая фармакопейная статья ОФС.1.1.0009.15 Сроки годности лекарственных средств. Государственная фармакопея Российской Федерации. XIV изд. Т. 1; 2018.

**Таблица 5.** Основные валидационные характеристики методики количественного определения антител к SARS-CoV-2 в препаратах иммуноглобулина методом ИФА**Table 5.** The main validation characteristics of the ELISA method for anti-SARS-CoV-2 antibody quantification in immunoglobulin preparations

Валидационная характеристика <i>Validation characteristics</i>	Результаты, полученные с использованием набора реагентов <i>Results obtained using the reagent kit</i>		Критерии приемлемости <i>Acceptance criteria</i>
	ИФА «НМИЦ гематологии» <i>Kit B</i>	ИФА Euroimmun кач <i>Kit C</i>	
Определение калибровочного диапазона (14 образцов) <i>Calibration range (14 samples)<sup>a</sup></i>	Калибровочный диапазон от 0,006 до 0,4 АКЕ/мл <i>RSD от 1,9 до 19,1%</i> <i>Calibration range: 0.4–0.006 ACU/mL</i> <i>RSD: 1.9–19.1%</i>	Калибровочный диапазон от 0,006 до 0,4 АКЕ/мл <i>RSD от 3,6 до 18,3%</i> <i>Calibration range: 0.4–0.006 ACU/mL</i> <i>RSD: 3.6–18.3%</i>	<i>RSD не более 25%</i> <i>RSD is not more than 25%</i>
Прецизионность внутри цикла (48 образцов) <i>Intra-run precision (48 samples)<sup>a</sup></i>	<i>RSD от 4,2 до 13,6%</i> <i>RSD: 4.2–13.6%</i>	<i>RSD от 3,3 до 13,4%</i> <i>RSD: 3.3–13.4%</i>	<i>RSD не более 20%</i> <i>RSD is not more than 20%</i>
Прецизионность между циклами (48 образцов) <i>Inter-run precision (48 samples)<sup>a</sup></i>	<i>RSD от 5,7 до 14,7%</i> <i>RSD: 5.7–14.7%</i>	<i>RSD от 6,6 до 14,6%</i> <i>RSD: 6.6–14.6%</i>	<i>RSD не более 20%</i> <i>RSD is not more than 20%</i>
Линейность (40 образцов) <i>Linearity (40 samples)<sup>a</sup></i>	$\varepsilon$ от –9,8 до +11,5% <i>r &gt; 0,99</i> <i><math>\varepsilon</math> ranged from –9.8 to +11.5%</i>	$\varepsilon$ от –8,3 до +6,5% <i>r &gt; 0,99</i> <i><math>\varepsilon</math> ranged from –8.3 to +6.5%</i>	$\varepsilon$ не более 20% <i>r не менее 0,99</i> <i><math>\varepsilon</math> is not more than 20%</i> <i>r is not less than 0.99</i>
Стабильность (30 образцов) <i>Stability (30 samples)<sup>a</sup></i>	$\varepsilon$ от –8,1 до +10,1% <i><math>\varepsilon</math> ranged from –8.1 to +10.1%</i>	$\varepsilon$ от –13,3 до +3,7% <i><math>\varepsilon</math> ranged from –13.3 to +3.7%</i>	$\varepsilon$ не более 20% <i><math>\varepsilon</math> is not more than 20%</i>
Параллелизм (40 образцов) <i>Parallelism (40 samples)<sup>a</sup></i>	$F_{теор} = 3,1$ $F_{эксп} = 0,2$ $F_{теор} = 3,1$ $F_{эксп} = 0,2$	$F_{теор} = 3,1$ $F_{эксп} = 0,2$ $F_{теор} = 3,1$ $F_{эксп} = 0,2$	$F_{теор} > F_{эксп}$ $F_{теор} > F_{эксп}$

*Примечание.* АКЕ – антиковидные единицы; ИФА – иммуноферментный анализ; *RSD* – относительное стандартное отклонение;  $\varepsilon$  – относительная погрешность; *r* – коэффициент корреляции;  $F_{теор}$  – *F* теоретическое;  $F_{эксп}$  – *F* экспериментальное.  
<sup>a</sup> Образцы разведений препарата КОВИД-глобулин, раствор для инфузий.

*Note.* ACU – anti-COVID units; *RSD* – relative standard deviation;  $\varepsilon$  – relative error; *r* – correlation coefficient; ELISA – enzyme-linked immunosorbent assay;  $F_{теор}$  – theoretical *F* value;  $F_{эксп}$  – experimental *F* value; Kit B – SARS-CoV-2-IgG-ELISA by the National Medical Research Center for Hematology, Kit C – Anti-SARS-CoV-2 ELISA by Euroimmun AG.

<sup>a</sup> Dilutions of COVID-globulin, solution for infusion.

## Заключение

Полученные в результате выполненных исследований коэффициенты корреляции для сравниваемых методов РН и ИФА с использованием тест-систем ИФА «НМИЦ гематологии» и ИФА Euroimmun кач составили 0,91–0,95 в пулах плазмы крови человека, что свидетельствует о возможности использования метода ИФА с указанными тест-системами взамен РН.

Валидационные характеристики методики количественного определения антител к SARS-CoV-2 в препаратах иммуноглобулина методом ИФА с использованием наборов реагентов двух производителей (ИФА «НМИЦ гематологии» и ИФА Euroimmun кач), установленные в соответ-

ствии с требованиями Комитета по лекарственным средствам для медицинского применения Европейского агентства по лекарственным средствам к валидации биоаналитической методики, позволяют сделать заключение о том, что данную методику можно применять при определении антител к SARS-CoV-2.

Значения показателей качества разработанного СО содержания антител к SARS-CoV-2 в препаратах иммуноглобулина человека соответствуют требованиям к показателям качества препарата КОВИД-глобулин.

Специфическая активность разработанного СО, охарактеризованного по содержанию антител к SARS-CoV-2, была принята за 320 АКЕ/мл

**Таблица 6.** Оценка аттестованного значения специфической активности разработанного СО содержания антител к SARS-CoV-2 в препаратах иммуноглобулина человека**Table 6.** Evaluation of the certified potency of the developed RS for SARS-CoV-2 antibody content in human immunoglobulin preparations

Наименование тест-системы <i>Reagent kits</i>	Концентрация специфических антител в исследуемом образце (среднее арифметическое ± стандартное отклонение), ВАУ/мл <i>Concentration of specific antibodies in the test sample (arithmetic mean ± standard deviation), BAU/mL</i>	Среднее значение, ВАУ/мл <i>Mean value, BAU/mL</i>	Стандартное отклонение, ВАУ/мл <i>Standard deviation, BAU/mL</i>	RSD, %	Значение доверительного интервала (при P=95%, α=0,05) <i>Confidence interval value (P=95%, α=0,05)</i>
ИФА «НМИЦ гематологии» <i>Kit B</i>	2363,1±222,7	2234,8	329,5	14,7	158,8
ИФА Euroimmun кач <i>Kit C</i>	2179,3±411,1				
ИФА Euroimmun кол <i>Kit F</i>	2433,5±425,2				
ИХЛ Эбботт <i>Kit G</i>	2020,7±103,0				

*Примечание.* СО – стандартный образец; ИФА – иммуноферментный анализ; ИХЛ – иммунохемилюминесцентный анализ; ВАУ – единицы связывания антител; RSD – относительное стандартное отклонение.

*Note.* RS—reference standard; BAU—binding antibody units; RSD—relative standard deviation; Kit B—SARS-CoV-2-IgG-ELISA by the National Medical Research Center for Hematology; Kit C—Anti-SARS-CoV-2 ELISA by Euroimmun AG; Kit F—Anti-SARS-CoV-2 QuantiVac ELISA (IgG) by Euroimmun AG; Kit G—Architect SARS-CoV-2 IgG II Quant Reagent Kit by Abbott Laboratories.

**Таблица 7.** Определение специфической активности препаратов иммуноглобулинов, содержащих антитела к SARS-CoV-2 (n=48)**Table 7.** Determination of potency of anti-SARS-CoV-2 immunoglobulin preparations (n=48)

Наименование тест-системы <i>Reagent kits</i>	Специфическая активность препаратов иммуноглобулинов, определенная с использованием <i>Potency of immunoglobulin preparations determined using</i>						Коэффициент пересчета <i>Conversion factor</i>
	стандарты NIBSC <sup>a</sup> <i>NIBSC standards<sup>a</sup></i>					СО <sup>b</sup> <i>RS<sup>b</sup></i>	
	20/140	20/144	20/148	20/150	Среднее значение <i>Mean</i>		
ИФА «НМИЦ гематологии» <i>Kit B</i>	2402,9±1001,1	2722,9±1188,7	2291,8±1118,5	3186,0±1795,6	2650,9±1272,4	411,9±238,7	6,4
ИФА Euroimmun кач <i>Kit C</i>	3452,3±1793,1	3271,2±1739,7	2782,3±1513,9	2493,9±1445,9	2999,9±1622,3	428,5±244,0	7,0

*Примечание.* ИФА – иммуноферментный анализ; АКЕ – антиковидные единицы; ВАУ – единицы связывания антител; СО – стандартный образец содержания антител к SARS-CoV-2 в препаратах иммуноглобулина человека.

<sup>a</sup> Показатель специфической активности, полученный с использованием стандартов NIBSC (среднее арифметическое ± стандартное отклонение), ВАУ/мл.

<sup>b</sup> Показатель специфической активности, полученный с использованием СО (среднее арифметическое ± стандартное отклонение), АКЕ/мл.

*Note.* ACU—anti-COVID units; BAU—binding antibody units; RS—reference standard for SARS-CoV-2 antibody content in human immunoglobulin preparations; Kit B—SARS-CoV-2-IgG-ELISA by the National Medical Research Center for Hematology, Kit C—Anti-SARS-CoV-2 ELISA by Euroimmun AG.

<sup>a</sup> Potency values obtained with NIBSC standards (arithmetic mean ± standard deviation), BAU/mL.

<sup>b</sup> Potency values obtained with the RS (arithmetic mean ± standard deviation), ACU/mL.

или 2234,8 ВАУ/мл антител к SARS-CoV-2. Разработанный СО можно использовать для определения содержания антител к SARS-CoV-2 в препаратах иммуноглобулинов как в антиковидных единицах (АКЕ/мл), так и в единицах связывания антител (ВАУ/мл).

Коэффициент пересчета антиковидных единиц (АКЕ/мл) в единицы связывания (ВАУ/мл)

составил 6,4 для набора реагентов ИФА «НМИЦ гематологии» и 7,0 – для набора реагентов ИФА Euroimmun кач (по результатам определения специфической активности в 48 сериях препарата КОВИД-глобулин).

Предполагаемый срок хранения СО, установленный методом «ускоренного старения», составил 5,7 года.

## Литература/References

1. Арутюнов АГ, Авдеев СН, Батюшин ММ, Боярков АВ, Буланов АЮ, Быкова ЕА и др. Применение КОВИД-глобулина в терапии COVID-19. *Экспериментальная и клиническая фармакология*. 2022;85(3):13–20. [Arutyunov AG, Avdeev SN, Batyushin MM, Boyarkov AV, Bulahov AY, Bykova EA, et al. Using COVID-globulin in COVID-19 treatment. *Ekspierimentalnaya i klinicheskaya farmakologiya = Experimental and Clinical Pharmacology*. 2022;85(3);13–20 (In Russ.)] <https://doi.org/10.30906/0869-2092-2022-85-3-13-20>
2. Перельгина ОВ, Комаровская ЕИ. Сравнительный анализ требований к качеству гетелологичных сывороточных препаратов в фармакопеех ведущих стран – производителей лекарственных средств. *БИОпрепараты. Профилактика, диагностика, лечение*. 2017;17(1):32–40. [Perelygina OV, Komarovskaya EI. Comparative analysis of leading pharmacopoeias requirements for the quality of heterologous serum products. *Biopreparaty. Profilaktika, diagnostika, lechenie = BIOpreparations. Prevention, Diagnosis, Treatment*. 2017;17(1):32–40 (In Russ.)]
3. Knezevic I, Mattiuzzo G, Page M, Minor P, Griffiths E, Nuebling M, Moorthy V. WHO International Standard for evaluation of the antibody response to COVID-19 vaccines: call for urgent action by the scientific community. *Lancet Microbe*. 2022;3(3):e235–40. [https://doi.org/10.1016/S2666-5247\(21\)00266-4](https://doi.org/10.1016/S2666-5247(21)00266-4)
4. Infantino M, Pieri M, Nuccetelli M, Grossi V, Lari B, Tomassetti F, et al. The WHO International Standard for COVID-19 serological tests: towards harmonization of anti-spike assays. *Int Immunopharmacol*. 2021;100:108095. <https://doi.org/10.1016/j.intimp.2021.108095>
5. Logunov DY, Dolzhikova IV, Zubkova OV, Tukhvatullin AI, Shcheblyakov DV, Dzharullaeva AS, et al. Safety and immunogenicity of an rAd26 and rAd5 vector-based heterologous prime-boost COVID-19 vaccine in two formulations: two open, non-randomised phase 1/2 studies from Russia. *Lancet*. 2020;396(10255):887–97. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(20\)31866-3](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(20)31866-3)

**Вклад авторов.** **Т.И. Смолянова** – обоснование концепции исследования; разработка дизайна экспериментального исследования; сбор, анализ и систематизация экспериментальных данных; обобщение и интерпретация результатов исследования; оформление текста рукописи; **А.М. Николаева** – обоснование концепции исследования; обобщение и интерпретация результатов исследования; формулировка выводов; оформление рукописи; редактирование и переработка текста рукописи; **Т.В. Вязникова** – проведение инструментальных исследований, сбор, анализ и систематизация экспериментальных данных; обобщение и интерпретация результатов исследования; оформление текста рукописи; **А.В. Иванов, О.В. Белякова** – подготовка серий препарата для исследований; **Е.И. Саканян** – редактирование и переработка текста рукописи.

**Благодарности.** Исследование проводилось без спонсорской поддержки.

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов, требующего раскрытия в данной статье.

**Authors' contributions.** **T.I. Smolyanova**—substantiation of the study concept; development of the experimental study design; collection, analysis and systematisation of experimental data; consolidation and interpretation of the study results; formatting of the text of the manuscript; **A.M. Nikolaeva**—substantiation of the study concept; consolidation and interpretation of the study results; formulation of the conclusions; formatting, editing and revision of the text of the manuscript; **T.V. Vyaznikova**—performance of tests and investigations; collection, analysis and systematisation of experimental data; consolidation and interpretation of the study results; formatting of the text of the manuscript; **A.V. Ivanov, O.V. Belyakova**—preparation of batches of the medicinal product for the study; **E.I. Sakanyan**—editing and revision of the text of the manuscript.

**Acknowledgements.** The study was conducted without sponsorship.

**Conflict of interest.** Authors declare no conflict of interest requiring disclosure in this article.

## Об авторах / Authors

**Смолянова Татьяна Ивановна**, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2934-3002>  
[tatianasmolyanova@gmail.com](mailto:tatianasmolyanova@gmail.com)

**Николаева Алевтина Максимовна**, д-р биол. наук.  
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3160-518X>  
[a.m.nikolaeva@microgen.ru](mailto:a.m.nikolaeva@microgen.ru)

**Вязникова Татьяна Владимировна**, канд. биол. наук.  
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0497-9757>  
[t.v.vyaznikova@microgen.ru](mailto:t.v.vyaznikova@microgen.ru)

**Иванов Александр Викторович**, канд. фарм. наук.  
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7608-1914>  
[ivanoffal@yandex.ru](mailto:ivanoffal@yandex.ru)

**Белякова Ольга Валерьевна**, канд. фарм. наук.  
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6352-9380>  
[o.v.beliakova@yandex.ru](mailto:o.v.beliakova@yandex.ru)

**Саканян Елена Ивановна**, д-р фарм. наук, проф.  
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1693-2422>  
[e.i.sakanjan@microgen.ru](mailto:e.i.sakanjan@microgen.ru)

*Поступила 26.04.2022*

*После доработки 27.09.2022*

*Принята к публикации 07.12.2022*

**Tatiana I. Smolyanova**, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2934-3002>  
[tatianasmolyanova@gmail.com](mailto:tatianasmolyanova@gmail.com)

**Alevtina M. Nikolaeva**, Dr. Sci. (Biol.). ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3160-518X>  
[a.m.nikolaeva@microgen.ru](mailto:a.m.nikolaeva@microgen.ru)

**Tatyana V. Vyaznikova**, Cand. Sci. (Biol.). ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0497-9757>  
[t.v.vyaznikova@microgen.ru](mailto:t.v.vyaznikova@microgen.ru)

**Alexander V. Ivanov**, Cand. Sci. (Pharm.). ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7608-1914>  
[ivanoffal@yandex.ru](mailto:ivanoffal@yandex.ru)

**Olga V. Belyakova**, Cand. Sci. (Pharm.).  
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6352-9380>  
[o.v.beliakova@yandex.ru](mailto:o.v.beliakova@yandex.ru)

**Elena I. Sakanyan**, Dr. Sci. (Pharm.), Professor. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1693-2422>  
[e.i.sakanjan@microgen.ru](mailto:e.i.sakanjan@microgen.ru)

*Received 26 April 2022*

*Revised 27 September 2022*

*Accepted 7 December 2022*