

Место серологических тест-систем для выявления антител к SARS-CoV-2 в экстренной кардиохирургии

О. В. Петрова^{1,2}, Д. К. Твердохлебова¹, Д. М. Никулина², Д. Г. Тарасов^{1,2}

¹ФГБУ «Федеральный центр сердечно-сосудистой хирургии» Минздрава России, г. Астрахань

²ФГБОУ ВО «Астраханский государственный медицинский университет» Минздрава России, г. Астрахань

РЕЗЮМЕ

Статья раскрывает необходимость проведения комплексной лабораторной оценки тестирования на антитела к SARS-CoV-2. В работе обращается внимание на возможность получения ложноположительных результатов при серологическом исследовании, вызванных присутствием в сыворотке крови человека антител, перекрестно реагирующих с белками SARS-CoV-2. Сделан вывод о том, что для уменьшения доли ложноположительных результатов исследования необходимо использовать подтверждающие тесты.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: новая коронавирусная инфекция, тест-системы, иммунохроматография, иммунохемилюминесценция, антитела.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

The Place of serological test-systems for the detection of antibodies to SARS-CoV-2 in emergency cardiac surgery

O. V. Petrova, D. K. Tverdokhlebova, D. M. Nikulina, D. G. Tarasov

¹Federal Centre of Cardiovascular Surgery, Astrakhan, Russia

²Astrakhan State Medical University, Astrakhan, Russia

SUMMARY

The article reveals the need for a comprehensive laboratory assessment of testing for antibodies to SARS-CoV-2. In progress it is focused on the possible product of laboratory testing studies of false-positive results caused by the presence of human serum antibodies in that cross reacting with SARS-CoV-2 proteins. It is concluded that in order to reduce the proportion of false positive results of the study require the use of confirmatory test.

KEY WORDS: new coronavirus infection, test systems, immunochromatography, immunochemiluminescence, antibodies.

CONFLICT OF INTEREST. The authors declare no conflict of interest.

Острый коронарный синдром (ОКС) – жизнеугрожающее состояние, которое характеризуется тромбозом коронарных артерий, в результате чего происходит повреждение кардиомиоцитов [1].

Основным методом лечения данной патологии является чрезкожная коронарная реваскуляризация (ЧКР) с имплантацией стентов, раннее проведение которой (в первые 12 часов от появления первых симптомов заболевания) позволяет снизить частоту развития неблагоприятных исходов [1].

Пациенты с ОКС поступают в лечебные учреждения в экстренном порядке и без предварительного обследования. В связи со сложной эпидемиологической обстановкой, вызванной массовым распространением вируса SARS-CoV-2 (Severe Acute Respiratory Syndrome Corona Virus 2; коронавирус типа 2, вызывающий тяжелый острый респираторный синдром), поступление этих пациентов в лечебное учреждение является фактором риска развития инфекционного заболевания у персонала лечебного учреждения и пациентов, находящихся на лечении. Поэтому для снижения риска развития новой коронавирусной инфекции (Coronavirus Disease 2019, COVID-19) необходима ее своевременная и точная диагностика.

Диагностика COVID-19 осуществляется на основании клинических, инструментальных и лабораторных методов исследования [1, 2, 3].

Клинические признаки инфекции многочисленны и вариабельны. Так, показано, что лихорадка может наблю-

даться в 75 %, слабость – в 50 %, кашель – в 48 %, одышка – в 52 %, нарушение обоняния – в 68 %, энтерит – в 15 %, рвота – в 10 %, миалгия – в 40 %, артралгия – в 30 % случаев. В то же время в литературе имеются данные о малосимптомной и бессимптомной манифестации инфекции [2].

Инструментальные методы исследования (компьютерная томография органов грудной клетки) у пациентов с пневмонией позволяют выявить типичные изменения – уплотнения легочной ткани округлой формы по типу «матового стекла» с различной локализацией. В то же время COVID-19 может протекать без поражения легких [3].

Для лабораторной диагностики COVID-19 используются молекулярно-генетические и серологические методы исследования.

Молекулярно-генетические методы исследования позволяют выделить РНК вируса SARS-CoV-2 в мазках из носо-, ротоглотки с помощью метода амплификации нуклеиновых кислот (МАНК). РНК вируса в мазках носо-, ротоглотки обнаруживается в первые дни появления клинических симптомов COVID-19 и до 9–10-го дня болезни, с пиком количества копий РНК на 4-е сутки заболевания [4].

Серологические методы исследования, основанные на взаимодействии антигена и антитела, позволяют выявлять специфические антитела (АТ) к SARS-CoV-2 [4]. В 2020 году на отечественном рынке было представлено более 100 тест-систем для выявления АТ к SARS-CoV-2 с разными диагностическими характеристиками.

Цель исследования: изучить значение серологических тест-систем для выявления АТ к *SARS-CoV-2* в экстренной кардиохирургии.

Материалы и методы исследования

Исследование было проведено на базе ФГБУ «Федеральный центр сердечно-сосудистой хирургии» (г. Астрахань). С июля 2020 года по декабрь 2020 года поступило 495 пациентов с ОКС (225 мужчин, 270 женщин), из них 260 пациентов с острым инфарктом миокарда (ИМ), 235 пациентов с нестабильной стенокардией. Возраст пациентов варьировал от 40 до 88 лет, в среднем составил $61,68 \pm 2,40$ года.

При поступлении в приемное отделение стационара у каждого пациента был собран эпидемиологический анамнез; каждому были выполнены термометрия, оксиметрия, электрокардиография; у каждого больного произведено взятие биологического материала для ПЦР-исследования на COVID-19 и выявления АТ к *SARS-CoV-2*. Всем пациентам выполнена компьютерная томография (КТ) органов грудной клетки.

ПЦР исследования на COVID-19 проводились в лаборатории Роспотребнадзора АО.

Для обнаружения АТ к *SARS-CoV-2* у пациентов с ОКС использовали две тест-системы. Обе зарегистрированы

на территории Российской Федерации, в качестве антигена в них использован нуклеокапсидный белок *SARS-CoV-2*.

Первая тест-система (Core Technology, Китай), основанная на иммунохроматографическом анализе (ИХА), позволяла выявлять в крови IgM и IgG к *SARS-CoV-2*. Упаковка состояла из 25 кассет, каждая кассета заключена в индивидуальную упаковку. Определение IgM и IgG производили одновременно на одной диагностической кассете. Биологическим материалом являлась капиллярная кровь. Оценка результатов исследования проводилась визуально через 10 минут после внесения биологического материала и буфера.

Вторая тест-система, использующая иммунохемилюминесцентный анализ (ИХЛА) на автоматическом анализаторе «Cobas e411» (Roche Diagnostics, Германия), позволяла выявлять суммарные АТ к *SARS-CoV-2*. Биологическим материалом являлась сыворотка крови, для получения которой требовалась предварительная пробоподготовка – центрифугирование в течение 10 минут при 1500 об./мин. Оценка результатов исследования на АТ осуществлялась качественно: отрицательный или положительный результат.

Результаты исследования и их обсуждение

Результаты ПЦР-исследования на COVID-19, выявления АТ к *SARS-CoV-2* и примерный объем выявленных изменений легких на КТ представлены в таблице.

Таблица

Результаты ПЦР-исследования на COVID-19, выявление антител к *SARS-CoV-2* и КТ легких у пациентов с ОКС

Пациент	ПЦР-исследования на COVID-19	АТ к <i>SARS-CoV-2</i>			КТ легких, степень поражения легких
		ИХА		ИХЛА	
		Ig M	Ig G	Суммарные АТ	
1	Отрицательный	Положительный	Положительный	Положительный	КТ-1-2
2	Отрицательный	Положительный	Положительный	Положительный	КТ-1-2
3	Отрицательный	Положительный	Положительный	Положительный	КТ-1-2
4	Отрицательный	Положительный	Положительный	Положительный	КТ-2
5	Отрицательный	Положительный	Положительный	Положительный	КТ-1-2
6	Отрицательный	Положительный	Положительный	Положительный	КТ-1-2
7	Отрицательный	Положительный	Положительный	Положительный	КТ-2
8	Отрицательный	Положительный	Положительный	Положительный	КТ-1-2
9	Отрицательный	Положительный	Положительный	Положительный	КТ-1-2
10	Отрицательный	Положительный	Положительный	Положительный	КТ-1-2
11	Отрицательный	Положительный	Положительный	Положительный	КТ-2
12	Отрицательный	Положительный	Положительный	Положительный	КТ-1
13	Отрицательный	Положительный	Положительный	Положительный	КТ-1
14	Отрицательный	Положительный	Положительный	Положительный	КТ-2
15	Отрицательный	Положительный	Положительный	Положительный	КТ-1-2
16	Отрицательный	Положительный	Положительный	Положительный	КТ-1
17	Отрицательный	Положительный	Положительный	Положительный	КТ-2
18	Отрицательный	Положительный	Положительный	Положительный	КТ-1
19	Отрицательный	Положительный	Положительный	Положительный	КТ-1
20	Отрицательный	Положительный	Положительный	Положительный	КТ-2
21	Отрицательный	Положительный	Положительный	Положительный	КТ-1
22	Отрицательный	Положительный	Положительный	Положительный	КТ-1-2
23	Отрицательный	Положительный	Положительный	Положительный	КТ-2

24	Отрицательный	Положительный	Положительный	Положительный	КТ-1
25	Отрицательный	Положительный	Положительный	Положительный	КТ-2
26	Отрицательный	Положительный	Положительный	Отрицательный	Отсутствуют
27	Отрицательный	Положительный	Положительный	Отрицательный	Отсутствуют
28	Отрицательный	Положительный	Положительный	Отрицательный	Отсутствуют
29	Отрицательный	Положительный	Положительный	Отрицательный	Отсутствуют
30	Отрицательный	Положительный	Положительный	Отрицательный	Отсутствуют
31	Отрицательный	Положительный	Положительный	Отрицательный	Отсутствуют
32	Отрицательный	Положительный	Положительный	Отрицательный	Отсутствуют
33	Отрицательный	Положительный	Положительный	Отрицательный	Отсутствуют
34	Отрицательный	Положительный	Положительный	Отрицательный	Отсутствуют
35	Отрицательный	Положительный	Положительный	Отрицательный	Отсутствуют
36	Отрицательный	Положительный	Положительный	Отрицательный	Отсутствуют
37	Отрицательный	Положительный	Положительный	Отрицательный	Отсутствуют

При поступлении в стационар у пациентов с ОКС клинических признаков острого респираторного заболевания не выявлено, тяжесть состояния пациентов была обусловлена клиникой ОКС.

В приемном отделении был проведен ИХА, который позволил выявить у 37 пациентов (22 женщины, 15 мужчин) из 495 Ig M и Ig G к *SARS-CoV-2*, что составило 7,47 % случаев от общего количества больных (см. табл.).

Для минимизации доли ложноположительных результатов мы использовали описанный в литературе алгоритм двухэтапного тестирования [4]: для подтверждения наличия АТ у пациентов с ОКС использовали вторую тест-систему, основанную на ИХЛА. Результаты ИХЛА показали наличие суммарных АТ у 25 пациентов из 37 (см. табл.).

Всем пациентам с ОКС была проведена КТ. У 25 пациентов с ОКС были выявлены изменения в легких: у 10 (40 %) пациентов степень поражения легких составила КТ-1–2, у 8 (32 %) – КТ-2, у 7 (28 %) – КТ-2 (см. табл.). Обращает внимание на себя тот факт, что наличие суммарных АТ в крови коррелировало с поражением легких.

Пациентам была выполнена коронарография, на которой выявлено многососудистое поражение коронарных сосудов, с последующей ЧКР и имплантацией стентов.

Пациенты с положительными результатами на АТ к *SARS-CoV-2* после проведения ЧКР были переведены в «красную зону» до получения результатов ПЦР-исследования, которые были получены через 12–24 часа с момента взятия биологического материала, и у всех пациентов (495) результаты ПЦР были отрицательными.

На основании результатов лабораторного и инструментального обследования больных с ОКС необходимо было определить тактику ведения пациентов. В нашем случае отрицательные результаты ПЦР на COVID-19 стали причиной возникших трудностей в интерпретации результатов серологических исследований и определении тактики ведения пациентов. Учитывая корреляцию между наличием

АТ и поражением легких, 25 пациентам был поставлен диагноз «COVID-19». Пациенты для дальнейшего лечения были переведены в COVID-госпиталь.

У 12 пациентов без поражения легких результат исследования на АТ к *SARS-CoV-2* методом ИХА был оценен как ложноположительный. Повторные ПЦР-исследования на *SARS-CoV-2* были также отрицательными. Пациенты для дальнейшего лечения были переведены в кардиохирургическое отделение, в котором находились в среднем $3,50 \pm 0,86$ дня, и были выписаны в удовлетворительном состоянии.

Серологические методы исследования (ИХА, ИХЛА) позволяют выявить отдельные (IgA, Ig G, IgM или IgG/IgM) или суммарные АТ к *SARS-CoV-2*. Согласно «Временным методическим рекомендациям по профилактике, диагностике и лечению Covid-19, версия 10», исследование АТ к *SARS-CoV-2* рекомендуется проводить: в качестве дополнительного метода диагностики острой инфекции или при невозможности исследования мазков с помощью МАНК, в том числе при госпитализации в стационар по поводу соматической патологии; для выявления лиц с бессимптомной формой инфекции; для установления факта перенесенной ранее инфекции при обследовании групп риска и проведении массового обследования населения для оценки уровня популяционного иммунитета [5].

Результаты исследования, в том числе результаты выявления АТ к *SARS-CoV-2*, могут повлиять на тактику ведения пациентов. Поэтому при интерпретации результатов серологических исследований следует учитывать вероятность получения ложноположительных результатов. Ложноположительные результаты при определении АТ возможны в случае перекрестной реакции АТ в тесте на *SARS-CoV-2* с АТ к коронавирусам, которые присутствовали в популяции до возникновения COVID-19. Вероятность получения ложноположительного результата связана со специфичностью теста: чем она выше, тем меньше вероятность ложного результата [6]. Также причинами ложноположительных

результатов для любых серологических тестов могут быть заболевания соединительной ткани, эндокринной системы, герпес, новообразования, инфекции верхних дыхательных путей, иммунные антитела системы ABO [7, 8, 9, 10].

Проведенное нами исследование показывает, что для минимизации ложноположительных результатов необходимо использование подтверждающих тестов или алгоритма двухэтапного тестирования [4, 11]. В качестве подтверждающего теста мы использовали набор для определения суммарных АТ с помощью ИХЛА. На сегодняшний день показано преимущество определения суммарных АТ к SARS-CoV-2. Тестирование именно в формате суммарных АТ или IgG к SARS-CoV-2 рекомендуется проводить еженедельно всем медработникам до положительного результата, также при использовании алгоритма последовательного тестирования пациентов тест с возможностью выявления всех классов АТ определен в качестве референтной (верифицирующей) системы. Это связано с тем, что при COVID-19, в отличие от других инфекций, IgM и IgG обнаруживаются в крови практически одновременно, появление их наблюдается в среднем на 8–10-й день от начала появления первых симптомов заболевания [11]. Таким образом, для повышения информационной значимости серологических тест-систем необходимо использовать две тест-системы.

Список литературы / References

1. Грацианский Н. А. Острый коронарный синдром без подъема сегмента ST. Доктор.ру. – 2009. – № 3. – С. 16–19.
Gratsiansky N. A. Non-ST elevation acute coronary syndrome. Doctor.ru. 2009. No. 3. P. 16–19.
2. Старшинов А. А., Кушнарева Е. А., Малкова А. М., Довгалюк И. Ф., Кудлай Д. А. Новая коронавирусная инфекция: особенности клинического течения, возможности диагностики, лечения и профилактики инфекции у взрослых и детей. Вопросы современной педиатрии. 2020. № 2. С. 123–131. DOI: <https://doi.org/10.15690/vsp.v.19i2.2105>
Starshinov A. A., Kushnareva E. A., Malkova A. M., Dovgalyuk I. F., Kudlay D. A. New Coronavirus Infection: Features of Clinical Course, Capabilities of Diagnostics, Treatment and Prevention in Adults and Children. Voprosy sovremennoi pediatrii – Current Pediatrics. 2020; 19 (2): 123–131. DOI: 10.15690/vsp.v.19i2.2105.

Сведения об авторах

Петрова Ольга Владимировна, к.м.н., зав. клинико-диагностической лабораторией¹, доцент кафедры сердечно-сосудистой хирургии². E-mail: students_asma@mail.ru. ORCID: 0000-0003-3544-2266
Твердохлебова Диана Камильевна, врач клинической лабораторной диагностики¹. E-mail: tverdiana@mail.ru. ORCID: 0000-0001-6754-6348
Никулина Дина Максимовна, д.м.н., проф., зав. кафедрой биологической химии². E-mail: nikulnadina@yandex.ru. ORCID: 0000-0002-7401-8671
Тарасов Дмитрий Георгиевич, к.м.н., гл. врач¹, зав. кафедрой сердечно-сосудистой хирургии². E-mail: students_asma@mail.ru. ORCID: 0000-0002-6065-2487

¹ФГБУ «Федеральный центр сердечно-сосудистой хирургии» Минздрава России, г. Астрахань
²ФГБОУ ВО «Астраханский государственный медицинский университет» Минздрава России, г. Астрахань

Автор для переписки: Петрова Ольга Владимировна.
E-mail: students_asma@mail.ru

Для цитирования: Петрова О. В., Твердохлебова Д. К., Никулина Д. М., Тарасов Д. Г. Место серологических тест-систем для выявления антител к SARS-CoV2 в экстренной кардиохирургии. Медицинский алфавит. 2021; (13): 18–21. <https://doi.org/10.33667/2078-5631-2021-13-18-21>

3. Веселова Т. Н., Козлов С. Г., Нозадзе Д. Н. Диагностика новой коронавирусной инфекции с помощью компьютерной томографии легких у пациентов с отрицательным результатом лабораторной диагностики. Российский электронный журнал лучевой диагностики. 2020. № 10 (3). С. 8–14.
Veselova T. N., Kozlov S. G., Demchenkova A. Yu., Nozadze D. N. Chest computed tomography in diagnosis of a new coronavirus infection in a patient with a negative result of laboratory testing. REJR 2020; 10 (3): 8–14. DOI: 10.21569/2222-7415-2020-10-3-8-14.
4. Макарова М. А. Лабораторная диагностика новой коронавирусной инфекции, вызванной SARS-CoV-2. Астма и аллергия. 2020. № 2. С. 2–7.
Makarova M. A. Laboratory diagnosis of a new coronavirus infection caused by SARS-CoV-2. Asthma and allergies. 2020. No. 2. P. 2–7.
5. Временные методические рекомендации «Профилактика, диагностика и лечение новой коронавирусной инфекции (COVID-19)», версия 10 (дата обращения 08.02.2021). www.rosminzdrav.ru.
Prevention, diagnosis and treatment of new coronavirus infection (COVID 19), v. 10 (date of access 01.10.2020). www.rosminzdrav.ru. Interim guidelines.
6. Колупаев В. Е., Тарасенко О. А. Критерии выбора серологических тестов в лабораторной диагностике COVID-19. Вестник Росздравнадзора. 2020. № 6. С. 53–61. DOI: <https://doi.org/10.33576/2070-7940-2020-5-1-73-78>
Kolupaev V. E., Tarasenko O. A. Selection criteria for serological tests Laboratory diagnosis COVID-19. Roszdravnadzor Bulletin. 2020. No. 6. P. 53–61. DOI: <https://doi.org/10.33576/2070-7940-2020-5-1-73-78>
7. Петрова О. В., Твердохлебова Д. К., Мuryгина О. И., Никулина Д. М. Оценка качества иммунохимических исследований с помощью сигмометрии. Медицинский алфавит. 2020. Т. 1. № 5 (419). С. 28–29. DOI: [https://doi.org/10.33667/2078-5631-2020-1-5\(419\)-28-29](https://doi.org/10.33667/2078-5631-2020-1-5(419)-28-29)
Petrova O. V., Tverdokhlebova D. K., Murygina O. I., Nikulina D. M. Assessment of quality of markers of myocardial damage using sigmometry. Medical alphabet. 2020. V. 1. No. 5 (419). P. 28–29. DOI: [https://doi.org/10.33667/2078-5631-2020-1-5\(419\)-28-29](https://doi.org/10.33667/2078-5631-2020-1-5(419)-28-29)
8. Петрова О. В., Егорова Т. Г., Мuryгина О. И., Вавилова Т. В. Новые возможности диагностики гепарин-индуцированной тромбоцитопении у кардиохирургических больных. Медицинский алфавит. 2013. Т. 3. № 16. С. 41–44.
Petrova O. V., Egorova T. G., Murygina O. I., Vavilova T. V. Diagnostics of the heparin-induced thrombocytopenia at cardiosurgical patients. Medical alphabet. 2013. V. 3. No. 16. P. 41–44.
9. Кчибеков Э. А., Никулина Д. М., Зурнадзьянц В. А. Комплексная программа прогнозирования осложненных острых воспалительных заболеваний органов брюшной полости. Астраханский медицинский журнал. 2011. № 2. С. 182–184.
Kchibekov A. A., Nikulina D. M., Zurnadzhants V. A. The complex program of forecasting of complications of sharp inflammatory disease of organs of a belly cavity. Astrakhan Medical Journal. 2011. No. 2. P. 182–184.
10. Дабшайте К. А., Абрамович Н. Н., Абрамович А. В., Никулина Д. М. Разработка биохимического способа дифференциальной диагностики мозговых ком. Молодежная научно-практическая конференция «Инновационное предпринимательство». 2015. С. 49–50.
Dabshaite K. A., Abramovich N. N., Abramovich A. V., Nikulina D. M. Development of a biochemical method for the differential diagnosis of cerebral lumps. Youth scientific and practical conference 'Innovative Entrepreneurship'. 2015. P. 49–50.

Статья поступила / Received 14.04.2021

Получена после рецензирования / Revised 21.04.2021

Принята в печать / Accepted 23.04.2021

About authors

Petrova Olga V., PhD Med, head of Clinical Diagnostic Laboratory¹, associate prof. at Dept of Cardiovascular Surgery². E-mail: students_asma@mail.ru. ORCID: 0000-0003-3544-2266
Tverdokhlebova Diana K., MD of Clinical Laboratory Diagnostics¹. E-mail: tverdiana@mail.ru. ORCID: 0000-0001-6754-6348
Nikulina Dina M., DM Sci, prof., head of Dept of Biological Chemistry². E-mail: nikulnadina@yandex.ru. ORCID: 0000-0002-7401-8671
Tarasov Dmitry G., PhD Med, chief doctor¹, head of Dept of Cardiovascular Surgery². E-mail: students_asma@mail.ru. ORCID: 0000-0002-6065-2487

¹Federal Centre of Cardiovascular Surgery, Astrakhan, Russia

²Astrakhan State Medical University, Astrakhan, Russia

Corresponding author: Petrova Olga V. E-mail: students_asma@mail.ru

For citation: Petrova O. V., Tverdokhlebova D. K., Nikulina D. M., Tarasov D. G. Place of serological test-systems for detection of antibodies to SARS-CoV2 in emergency cardiac surgery. Medical alphabet. 2021; (13): 18–21. <https://doi.org/10.33667/2078-5631-2021-13-18-21>