

# Обзор отечественных тест-систем для выявления текущей или перенесенной инфекции SARS-CoV-2 методом иммуноферментного анализа

О. В. Галкина, А. О. Анпилова, Е. О. Богданова, И. М. Зубина, Е. Н. Левыкина

ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова» Минздрава России, Санкт-Петербург

## РЕЗЮМЕ

**Введение.** Своевременная и точная оценка уровня циркулирующих антител против SARS-CoV-2 остается актуальной задачей для мониторинга и предотвращения распространения COVID-19. Эпидемиологические оценки приобретают все большую значимость в связи с опасностью возникновения и увеличения распространенности новых штаммов. Метод иммуноферментного анализа (ИФА) позволяет оценивать эффективность вакцинации и необходимость ее повторного выполнения, долю переболевших и вакцинированных лиц для контроля коллективного иммунитета. В статье представлен обзор доступных отечественных тест-систем ИФА для определения уровней антител к белкам вириона SARS-CoV-2 и оценка сопоставимости результатов с сертифицированным набором «Anti-SARS-CoV-2 ELISA E 111-IVD» (Mediagnost Ltd., Ройтлинген, Германия).

**Цель исследования.** Выполнение лабораторной апробации семи отечественных наборов реагентов для определения уровня антител к белкам вириона SARS-CoV-2 методом ИФА и сравнение полученных результатов с сертифицированной тест-системой.

**Материалы и методы.** Исследование включало 80 образцов сыворотки крови условно здоровых доноров: основная группа (n=70 образцов сыворотки, собранной после 2019 года) и контрольная группа (n=10 образцов сыворотки, собранной в 2018 году). Основная группа представлена переболевшими и не переболевшими лицами, части из которых была выполнена вакцинация против COVID-19.

**Результаты и выводы.** Полученные данные свидетельствуют о высокой воспроизводимости результатов, абсолютной чувствительности (100%) и специфичности всех отечественных наборов ИФА при выявлении как переболевших (90–95%), так и вакцинированных добровольцев (100%). Основные критерии качества полученных результатов сопоставимы или превышают таковые для сертифицированной тест-системы «Anti-SARS-CoV-2 ELISA E 111-IVD» (Mediagnost Ltd., Германия). Все тестируемые наборы, детектирующие IgG к рецептор-связывающему домену (RBD) и к S-гликопротеину вируса SARS-CoV-2, эффективны для корректной оценки выработки антител в ответ на вакцинацию. Наборы для выявления антител к RBD шпиков и/или нуклеокапсида вириона в том числе позволяют выявлять не вакцинированных переболевших пациентов.

**КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА:** COVID-19; SARS-CoV-2; вакцинация; иммуноферментный анализ; иммунный статус; лабораторная апробация; импортозамещение.

**КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов. Работа выполнена без финансовой поддержки.

## Review of domestic test systems for detecting current or past SARS-CoV-2 infection using enzyme-linked immunosorbent assay

O. V. Galkina, A. O. Anpilova, E. O. Bogdanova, I. M. Zubina, E. N. Levykina

Pavlov University, Saint Petersburg, Russia

## SUMMARY

**Introduction.** Rapid and reliable assessment of circulating antibody levels to SARS-CoV-2 remains the current challenge for monitoring and preventing the spread of COVID-19. As the risk of emergence and dissemination of new viral strains continues to grow, epidemiologic research is also becoming increasingly important. The enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) is useful to assess the vaccination effectiveness and the need for revaccination, the proportion of post-disease and vaccinated individuals, and to monitor population immunity. This article provides an overview of the local ELISA kits currently available for the detection of antibodies against SARS-CoV-2 viral proteins, with a comparison to the certified kit by Mediagnost Ltd. (Germany).

**The aim.** Laboratory testing of seven domestic reagent kits for the determination of antibodies to SARS-CoV-2 viral proteins by ELISA in comparison with the certified test system "Anti-SARS-CoV-2 ELISA E 111-IVD" (Mediagnost Ltd., Reutlingen, Germany).

**Materials and methods.** The study included 80 serum samples from conditionally healthy donors: experimental group (n=70, serum samples collected after 2019) and control group (n=10, serum samples collected before 2018). The experimental group is comprised of non-infected and post-disease individuals; a proportion of those were vaccinated against COVID-19.

**Results and conclusions.** The data obtained indicate high reproducibility, sensitivity (100%), and specificity for all domestic ELISA kits in detecting both post-disease (90–95%) and vaccinated volunteers (100%). The main quality criteria of the obtained results were comparable to those for the certified test system, "Anti-SARS-CoV-2 ELISA E 111-IVD" (Mediagnost Ltd., Germany). All kits detecting IgG to the receptor-binding domain (RBD) and to the S-glycoprotein were effective for the reliable assessment of antibody production after the vaccination. Kits for the detection of antibodies to the RBD and/or viral nucleocapsid are useful for identifying unvaccinated post-disease individuals.

**KEYWORDS:** COVID-19; SARS-CoV-2; vaccination; enzyme-linked immunosorbent assay; immune status; laboratory testing; import substitution.

**CONFLICT OF INTEREST.** The authors declare no conflict of interest. The work was carried out without financial support.

## Введение

COVID-19 – высоко контагиозное инфекционное заболевание, вызываемое вирусом SARS-CoV-2, в связи с чем, его возникновение мгновенно переросло в глобальную пандемию с тяжелыми последствиями для системы общественного здравоохранения и мирового сообщества в целом. Эволюция вируса привела к снижению доли пациентов с тяжелыми симптомами, и в настоящее время в общей популяции большинство людей переносит COVID-19 как респираторное заболевание легкой или средней степени тяжести, которое может протекать бессимптомно [1, 2]. Однако, COVID-19 остается серьезной угрозой для представителей уязвимых групп населения – коморбидных пациентов и лиц пожилого возраста, подверженных распространенным в популяции болезням, таким как гипертензия, сахарный диабет, метаболический синдром, атеросклероз, хроническая болезнь почек [3].

Диагноз COVID-19 устанавливается по данным клинического обследования и лабораторных тестов, которые включают компьютерную томографию (КТ) для визуализации поражения легких и выявление вируса в отделяемом из верхних или нижних дыхательных путей методом полимеразной цепной реакции (ПЦР). Метод ПЦР может при некоторых ситуациях давать ложноположительные или ложноотрицательные результаты, поэтому его рекомендуют сочетать с иммуноферментным анализом (ИФА). Для выявления лиц с бессимптомным течением COVID-19 применяют экспресс-тесты (методы «сухой химии») и ИФА.

По мере увеличения распространенности новых штаммов, все большую значимость приобретают эпидемиологические оценки. В данном приложении метод ИФА позволяет оценивать эффективность вакцинации и необходимость ее повторного выполнения, долю переболевших и вакцинированных лиц. Подобные эпидемиологические оценки важны для анализа распространения болезни и успехов вмешательства системы общественного здравоохранения. Возможность выполнения дифференциальных эпидемиологических оценок обусловлена тем, что метод ИФА основан на выявлении антител (иммуноглобулины (Ig) классов А, М, G) к различным белкам вириона, вырабатываемых клетками иммунной системы в ответ на инфекцию.

Вирион SARS-CoV-2 состоит из структурных белков нуклеокапсида (N), мембраны (M), оболочки (E) и шипиков (S) (рис. 1).

При естественном течении инфекции к любому из белков вириона в инфицированном организме могут образовываться антитела. Целевой структурой для разработки вакцин (таких как «Спутник V») против SARS-CoV-2 стал

RBD, т.к. вакцины, сконструированные на основе RBD S-белка, в отличие от N- и S-белков способны индуцировать синтез высоких титров нейтрализующих антител (в отличие от N), не вызывая явных патогенных эффектов (в отличие от S) [4,5]. Поэтому при вакцинации вырабатываются только нейтрализующие антитела IgG к RBD S-белка (S) коронавируса.

Определение различных типов антител (А, М и G) к S-белку, RBD S-белка или к N-белку в сыворотке крови позволяет выполнять дифференциальную диагностику методом ИФА, а именно:

- 1) выявлять переболевших коронавирусной инфекцией (IgG к RBD/S-белку (+)) и пациентов с бессимптомным течением заболевания (IgA, М, G к N-белку (+)), которым необходимо самоизолироваться, чтобы предотвратить распространение инфекции;
- 2) оценивать необходимость выполнения вакцинации, анализировать ее эффективность, выявлять нуждающихся в повторной вакцинации (IgG к RBD/S-белку (-)).

**Целью исследования** являлась лабораторная апробация отечественных наборов реагентов для выявления уровня антител к белкам вириона SARS-CoV-2 методом ИФА, в сравнении с сертифицированной тест-системой «Anti-SARS-CoV-2 ELISA E 111-IVD» (Mediagnost, Ройтлинген, Германия).

## Материалы и методы

Всего было исследовано 80 образцов сыворотки крови условно здоровых доноров. Основную группу составили 70 человек, образцы сыворотки которых собраны после 2019 года (средний возраст  $45 \pm 22$  лет, 50 женщин и 20 мужчин). Группу негативного контроля составили 10 доноров, по полу и возрасту сопоставимые с основной группой, с образцами сыворотки, собранной в 2018 году. Основная группа была поделена на группы «переболевших» и «не болевших», «вакцинированных» («Спутник V») и «не вакцинированных» (рис. 2). Для оценки межгрупповых различий также ис-

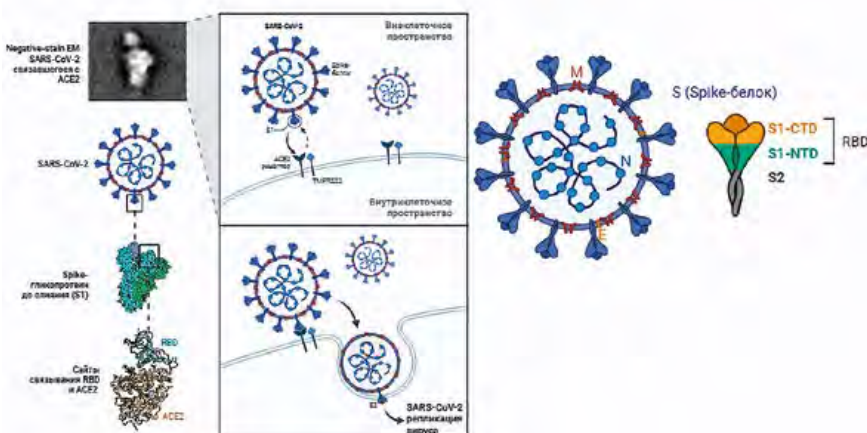
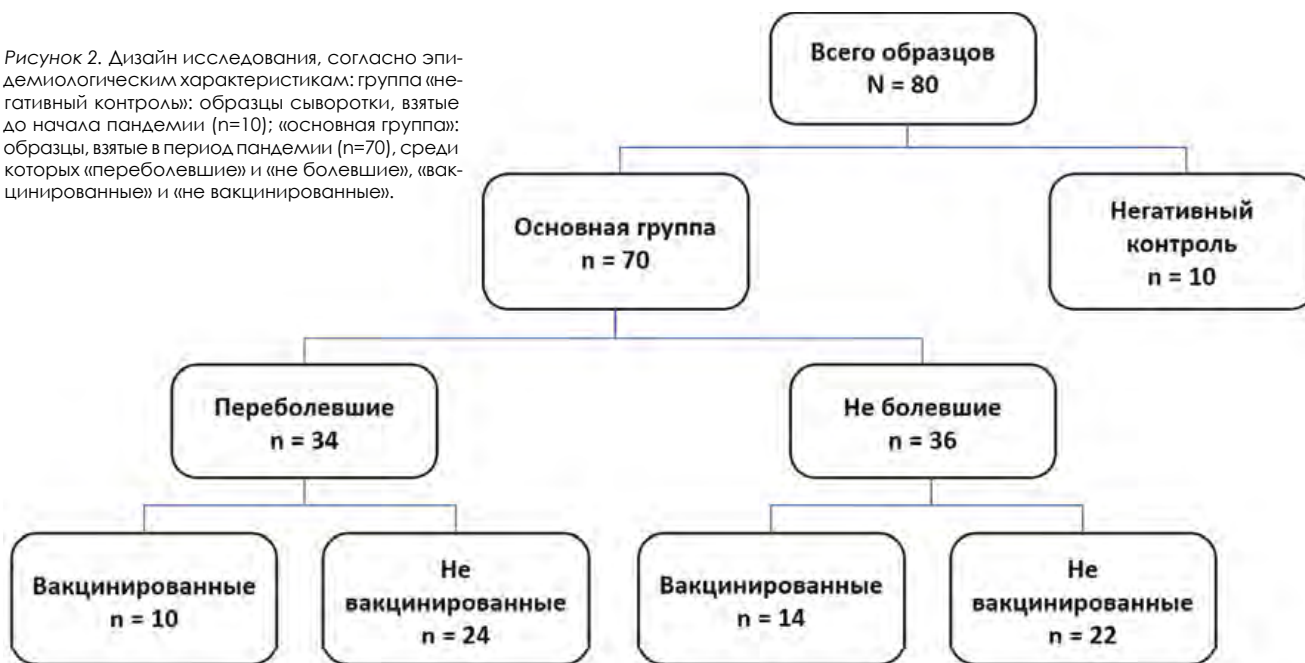


Рисунок 1. Структура вириона SARS-CoV-2 и этапы инфицирования хозяина: белок нуклеокапсида (N) связан с вирусной геномной РНК и упакован внутри вириона; в состав мембраны вириона входят структурные белки (M), белки оболочки (E) и шипиков (S, или spike-белок); Spike-белок состоит из двух нековалентно связанных субъединиц (S1 и S2), он опосредует основные этапы инфицирования: субъединица S1 в составе рецептор-связывающего домена (RBD) связывает рецептор на клетке-мишени; белки E и M способствуют сборке и почкованию вируса (рисунок создан с помощью сервиса biorender.com).

Рисунок 2. Дизайн исследования, согласно эпидемиологическим характеристикам: группа «негативный контроль»: образцы сыворотки, взятые до начала пандемии (n=10); («основная группа»: образцы, взятые в период пандемии (n=70), среди которых «переболевшие» и «не болевшие», «вакцинированные» и «не вакцинированные».



пользовали разделение на четыре подгруппы: 0 – «не болевшие, не вакцинированные», 1 – «переболевшие, не вакцинированные», 2 – «не болевшие, вакцинированные», 3 – «переболевшие, вакцинированные».

Цельную кровь центрифугировали при 1500 g в течение 10 мин. Образцы сыворотки аликвотировали на несколько порций и хранили до момента выполнения исследований не более 6 мес. при температуре –80 °С. При выполнении каждого исследования использовали свежую порцию сыворотки, избегая повторного размораживания аликвот, в том числе при выполнении тестов для оценки воспроизводимости результатов. Концентрацию иммуноглобулинов против белков вириона SARS-CoV-2 определяли в дублях для каждого образца сыворотки

крови методом ИФА с использованием восьми различных коммерческих наборов реагентов согласно инструкции производителя (табл. 1).

#### Анализ данных

Долю ложноположительных результатов рассчитывали в группе лиц «негативного контроля» (n=10) как отношение позитивных результатов ко всем результатам в группе. Долю ложноотрицательных результатов рассчитывали в группе «переболевших пациентов» (n=34) как отношение негативных результатов ко всем результатам в группе. Специфичность рассчитывали как разницу между 100% и % ложноотрицательных результатов. Чувствительность рассчитывали как разницу между 100% и % ложноположительных результатов.

Таблица 1  
Тестируемые наборы ИФА

№ п/п	Наименование набора реагентов	Иммуногенность антигена (антиген-мишень)	Производитель	Страна	Время и температура инкубаций	Учет результатов	Статус набора
1	«Anti-SARS-CoV-2 ELISA E111-IVD»	IgG к рецептор-связывающему домену (RBD)	Mediagnost Ltd.	Ройтлинген, Германия	37 °С, 2 ч 40 мин	качественный/полуколичественный	Сертифицирован для клинических исследований
2	«SARS-CoV-2 IgG RBD -количественный – ИМБИАН-ИФА»	IgG к рецептор-связывающему домену (RBD)	ООО «ИМБИАН ЛАБ»	Кольцово, Россия	37 °С, 1 ч 15 мин	качественный/количественный	Апробация набора
3	«ДС-ИФА-АНТИ-SARS-CoV-2-G-количественный»	IgG к рецептор-связывающему домену (RBD)	НПО «Диагностические системы»	Нижний Новгород, Россия	37 °С, 1 ч 50 мин	качественный/количественный	Апробация набора
4	«ДС-ИФА-АНТИ-SARS-CoV-2-нейтрализация»	IgG к рецептор-связывающему домену (RBD)	НПО «Диагностические системы»	Нижний Новгород, Россия	37 °С, 1 ч 30 мин	качественный/полуколичественный	Апробация набора
5	«IgG-SARS-CoV-2-Имаксиз (IMAXYZ)»	IgG к spike-белку	АО «Витал Девелопмент Корпорейшн»	Санкт-Петербург, Россия	37 °С, 1 ч 15 мин	качественный/полуколичественный	Апробация набора
6	«Количественный IgG-SARS-CoV-2-Имаксиз (IMAXYZ)»	IgG к spike-белку	АО «Витал Девелопмент Корпорейшн»	Санкт-Петербург, Россия	37 °С, 1 ч 30 мин	количественный	Апробация набора
7	«SARS-CoV-2 IgG spike – количественный –ИМБИАН-ИФА»	IgG к spike-белку	ООО «ИМБИАН ЛАБ»	Кольцово, Россия	37 °С, 1 ч 15 мин	качественный/количественный	Апробация набора
8	«ДС-ИФА-АНТИ-SARS-CoV-2-G-СПЕКТР»	IgA, M, G отдельно к N белку и spike-белку	НПО «Диагностические системы»	Нижний Новгород, Россия	37 °С, 1 ч 20 мин	качественный/полуколичественный	Апробация набора

Таблица 2  
Анализ чувствительности и специфичности тестируемых наборов ИФА

Наименование набора реагентов	Ложноположительные результаты (образцы 2018 г., n=10); Специфичность, %	Ложноотрицательные результаты в группе переболевших/ не вакцинированных, n=24; Чувствительность, %	Ложноотрицательные результаты в группе вакцинированных пациентов, n=24; Чувствительность, %
«Anti-SARS-CoV-2 ELISA E 111-IVD»	0 : 100	8 : 92	0 : 100
«SARS-CoV-2 IgG RBD -количественный – ИМБИАН-ИФА»	0 : 100	5 : 95	0 : 100
«ДС-ИФА-АНТИ-SARS-CoV-2-G-количественный»	0 : 100	5 : 95	0 : 100
«ДС-ИФА-АНТИ-SARS-CoV-2-нейтрализация»	0 : 100	8 : 92	0 : 100
«IgG-SARS-CoV-2-Имаксиз (IMAXYZ)»	0 : 100	10 : 90	0 : 100
«Количественный IgG-SARS-CoV-2-Имаксиз (IMAXYZ)»	0 : 100	8 : 92	0 : 100
«SARS-CoV-2 IgG spike – количественный – ИМБИАН-ИФА»	0 : 100	5 : 95	0 : 100
«ДС-ИФА-АНТИ-SARS-CoV-2-G-СПЕКТР»	0 : 100	10 : 90	NA

Примечание: NA, not applicable (не применимо).

Коэффициент вариации (CV) рассчитывали по формуле:  $CV = (SD / m) \times 100\%$ , где SD – среднеквадратичное отклонение; m – среднее значение переменной.

Для оценки воспроизводимости теста каждый образец анализировали дважды с интервалом в одну неделю. Анализ результатов выполняли с использованием метода Блэнда-Алтмана (Bland-Altman plot) и уравнения Дальберга. Для оценки ассоциации между результатами, полученными различными наборами реагентов, применяли критерии регрессионного анализа (коэффициенты корреляции Пирсона). Оценивали корреляцию уровней циркулирующих антител, измеренных с использованием сертифицированного («Anti-SARS-CoV-2 ELISA E 111-IVD») и отечественных наборов.

Таблица 4  
Оценка повторяемости результатов для каждой тест-системы ИФА с использованием метода Блэнда-Алтмана (Bland-Altman plot) и уравнения Дальберга

Наименование набора реагентов	Метода Блэнда-Алтмана, % значений в диапазоне $\pm 1,96$ SD	Уравнение Дальберга, $\rho$
«Anti-SARS-CoV-2 ELISA E 111-IVD»	100%	0,34
«SARS-CoV-2 IgG RBD -количественный – ИМБИАН-ИФА»	100%	0,29
«ДС-ИФА-АНТИ-SARS-CoV-2-G-количественный»	100%	0,54
«ДС-ИФА-АНТИ-SARS-CoV-2-нейтрализация»	100%	0,51
«IgG-SARS-CoV-2-Имаксиз (IMAXYZ)»	100%	0,36
«Количественный IgG-SARS-CoV-2-Имаксиз (IMAXYZ)»	100%	0,44
«SARS-CoV-2 IgG spike – количественный – ИМБИАН-ИФА»	98%	0,12
«ДС-ИФА-АНТИ-SARS-CoV-2-G-СПЕКТР»	na	na

Примечание: na – not applicable, анализ не выполняли.

Таблица 3  
Коэффициенты вариации значений низкого, среднего и высокого уровней для тестируемых наборов ИФА

Наименование набора реагентов	CV, %		
	Низкий уровень	Средний уровень	Высокий уровень
«Anti-SARS-CoV-2 ELISA E 111-IVD»	7,1	5,4	2,7
«SARS-CoV-2 IgG RBD – количественный – ИМБИАН-ИФА»	5,7	3,8	6,4
«ДС-ИФА-АНТИ-SARS-CoV-2-G-количественный»	3,4	6,2	4,1
«ДС-ИФА-АНТИ-SARS-CoV-2-нейтрализация»	8,1	1,6	1,7
«IgG-SARS-CoV-2-Имаксиз (IMAXYZ)»	7,1	6,3	2,3
«Количественный IgG-SARS-CoV-2-Имаксиз (IMAXYZ)»	8,1	8,0	3,5
«SARS-CoV-2 IgG spike – количественный – ИМБИАН-ИФА»	4,6	5,7	5,6

Все образцы (n=80) были разделены на группы, согласно дизайну исследования (рис. 2). Т.к. значения переменных в группах были распределены нормально, межгрупповые различия оценивали с использованием t-критерия Стьюдента.

## Результаты

### Чувствительность и специфичность тестируемых наборов реагентов для ИФА

Несмотря на то, что метод ИФА в некоторых случаях может давать ложноположительные результаты из-за перекрестного взаимодействия антител с антигенами филогенетически «близких» вирусов, расчет доли ложноположительных результатов показал высокую специфичность (100%) для всех тестируемых наборов ИФА (табл. 2).

При анализе чувствительности наборов реагентов в группе переболевших/ не вакцинированных пациентов доля ложноотрицательных результатов не превышала 10% (чувствительность 90% и более). При этом практически все наборы по чувствительности были сопоставимы или превышали показатели сертифицированной тест-системы «Anti-SARS-CoV-2 ELISA E 111-IVD» (табл. 2).

В группе вакцинированных пациентов чувствительность всех тест-систем ИФА составила 100%, за исключением «ДС-ИФА-АНТИ-SARS-CoV-2-G-СПЕКТР», где данный анализ не выполняли (табл. 2). Набор «ДС-ИФА-АНТИ-SARS-CoV-2-G-СПЕКТР» позволяет выявлять иммуноглобулины классов А, М и G к нуклеокапсиду вириона. Данный тип антител не вырабатывается при вакцинации, в связи с чем нет необходимости анализировать чувствительность теста в нецелевой группе.

### Вариабельность и воспроизводимость результатов

Коэффициенты вариации для низкого, среднего и высокого диапазонов значений всех исследуемых тест-систем не превышали 10% и были сопоставимы с таковыми для набора «Anti-SARS-CoV-2 ELISA E 111-IVD» (табл. 3).

Для всех систем детекции иммуноглобулинов класса G к RBD или S-белку оценивали повторяемость результатов (табл. 4). Все наборы реагентов характеризовались высокой воспроизводимостью результатов. Согласно методу Блэнда-Алтмана, практически во всех случаях значения

лежали в диапазоне  $\pm 1,96$  SD. При попарном сравнении повторов методом Дальберга, различия между ними не выявлены (табл. 4).

#### Корреляционный анализ

Для всех тест-систем, выявляющих IgG как к RBD, так и S-белку, получены достоверные коэффициенты корреляции различной силы ( $r=0,63-0,96$ ,  $p<0,015$ ) с результатами измерений набором «Anti-SARS-CoV-2 ELISA E 111-IVD» (табл. 5). Высокая корреляция между «Anti-SARS-CoV-2 ELISA E 111-IVD», выявляющего RBD, и системами, выявляющими S-белок, обусловлена перекрестным взаимодействием антител, так как рецептор-связывающий домен является структурным компонентом белка шипикового аппарата вириона (рис. 1). Достоверная корреляция между результатами «ДС-ИФА-АНТИ-SARS-CoV-2-G-СПЕКТР» и «Anti-SARS-CoV-2 ELISA E 111-IVD» отсутствовала в связи с тем, что системы выявляют антитела к различным белкам вириона SARS-CoV-2 (табл. 5).

#### Применение тест-систем в группах пациентов, переболевших COVID-19 или вакцинацию

Все тест-системы, направленные на определение RBD, выявляли достоверно более высокие концентрации антител в группах переболевших COVID-19 или вакцинированных лиц (рис. 3). При этом для переболевших и вакцинированных были характерны наиболее высокие значения выявляемых показателей (рис. 3).

Для группы тест-систем, выявляющих антитела к S-белку, ситуация несколько отличалась: уровни антител у переболевших пациентов и не болевших/ не привитых не различались, или, для набора «SARS-CoV-2 IgG spike-количественный-ИМБИАН-ИФА», различия находились на границе уровня значимости ( $p=0,057$ ) (рис. 4). В группе вакцинированных пациентов значения были существенно выше по сравнению с не болевшими/ не вакцинированными лицами. В группе переболевших

Таблица 5  
Корреляционный анализ уровней циркулирующих антител, измеренных с использованием сертифицированного набора «Anti-SARS-CoV-2 ELISA E 111-IVD» и отечественных наборов

	IgG к RBD домену		IgG к S-белку			
	ДС-ИФА-АНТИ-SARS-CoV-2-G-количественный	ДС-ИФА-АНТИ-SARS-CoV-2-нейтрализация	SARS-CoV-2 IgG RBD-количественный	IgG-SARS-CoV-2-Имаксиз (ИМАХYZ)	Количественный IgG-SARS-CoV-2-Имаксиз (ИМАХYZ)	SARS-CoV-2 IgG spike-количественный
Anti-SARS-CoV-2 ELISA E 111-IVD (RBD)	0,94**	0,88*	0,71*	0,95**	0,96**	0,63*

Примечание: указаны коэффициенты корреляции Пирсона, \* –  $p<0,05$ , \*\* –  $p<0,005$ .

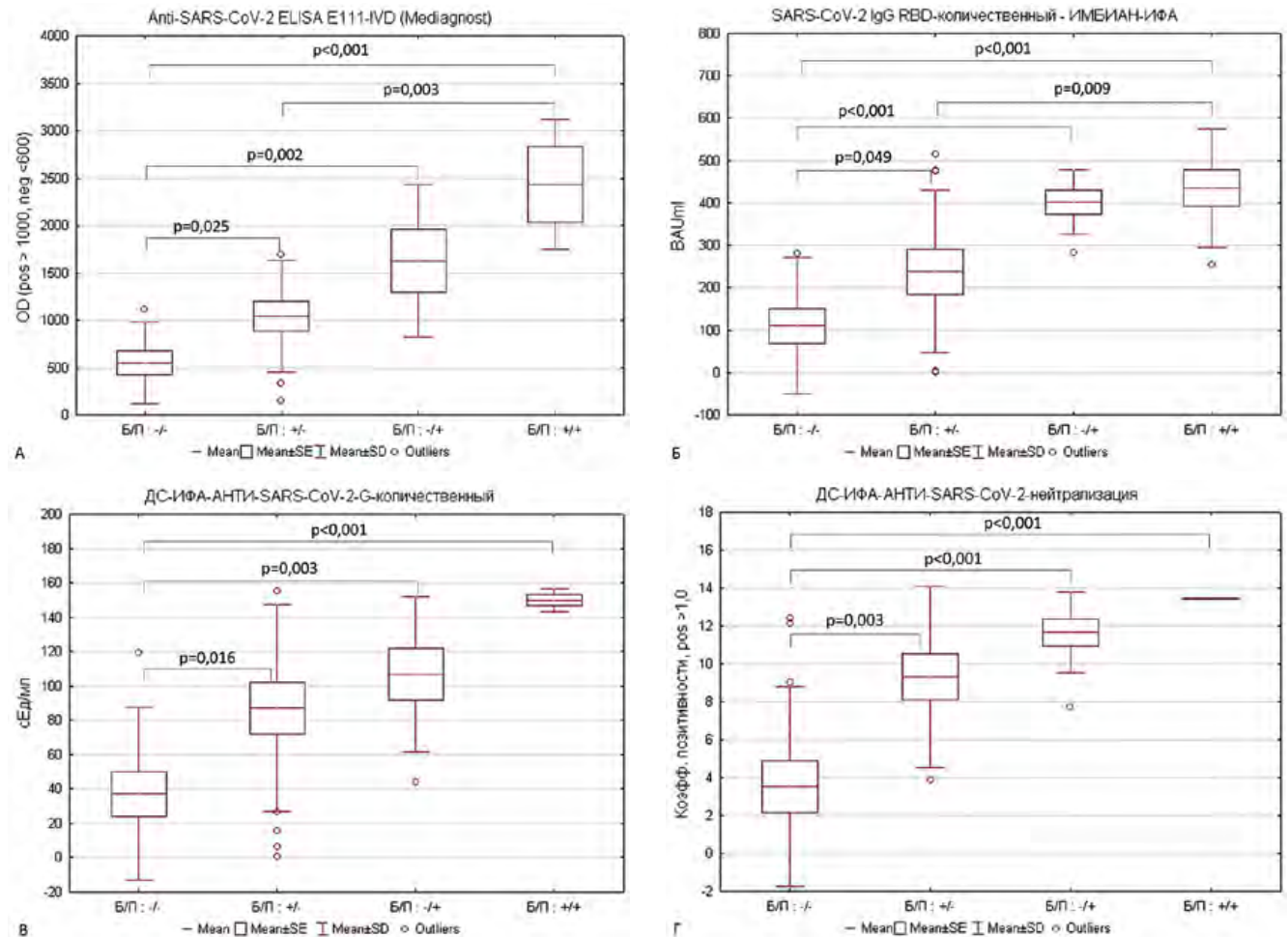


Рисунок 3. Уровни антител (IgG) к рецептор-связывающему домену вириона (RBD), измеренные с помощью тест-систем «Anti-SARS-CoV-2 ELISA E 111-IVD» (А) «SARS-CoV-2 IgG RBD-количественный-ИМБИАН-ИФА» (Б) «ДС-ИФА-АНТИ-SARS-CoV-2-G-количественный» (В) «ДС-ИФА-АНТИ-SARS-CoV-2-нейтрализация» (Г) в группах пациентов (Б/П: -/-, не болели/ не привиты; Б/П: +/-, болели/ не привиты; Б/П: -/+, не болели/ привиты; Б/П: +/+, болели/ привиты)

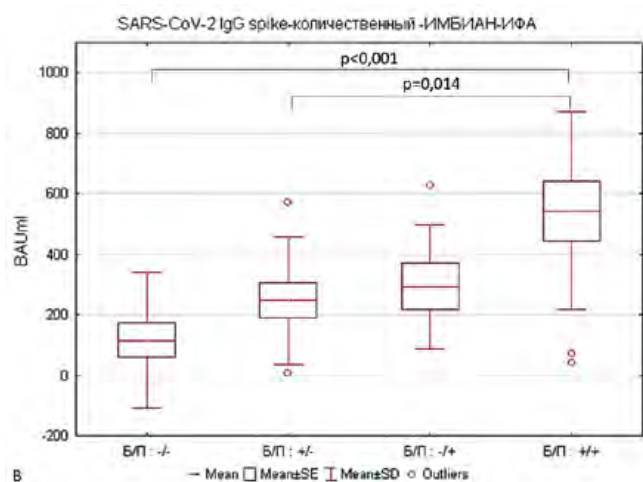
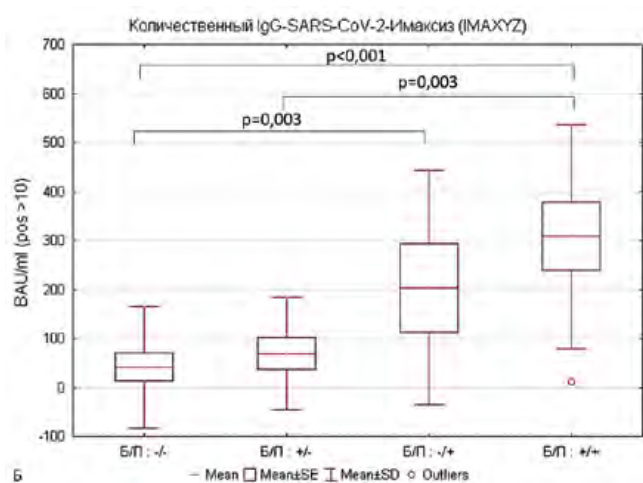
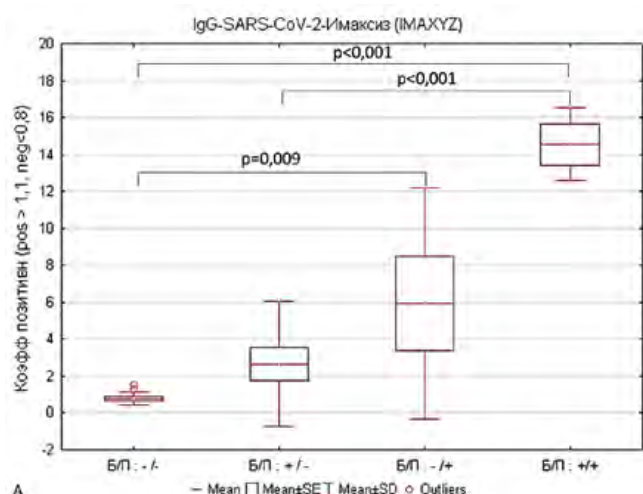


Рисунок 4. Уровни антител (IgG) к S-белку вириона, измеренные с помощью тест-систем «IgG-SARS-CoV-2-Имаксиз (IMAXYZ)» (А), «Количественный IgG-SARS-CoV-2-Имаксиз (IMAXYZ)» (Б), «SARS-CoV-2 IgG spike-количественный-ИМБИАН-ИФА» (В) в группах пациентов (Б/П: -/-, не болели/ не привиты; Б/П: +/-, болели/ не привиты; Б/П: -/+, не болели/ привиты; Б/П: +/+, болели/ привиты)

и вакцинированных значения были выше по сравнению с не вакцинированными (рис. 4).

Тест-система для определения антител к нуклеокапсиду «ДС-ИФА-АНТИ-SARS-CoV-2-G-СПЕКТР» выявляла достоверно более высокие концентрации антител в группах переболевших пациентов (рис. 5). При этом,

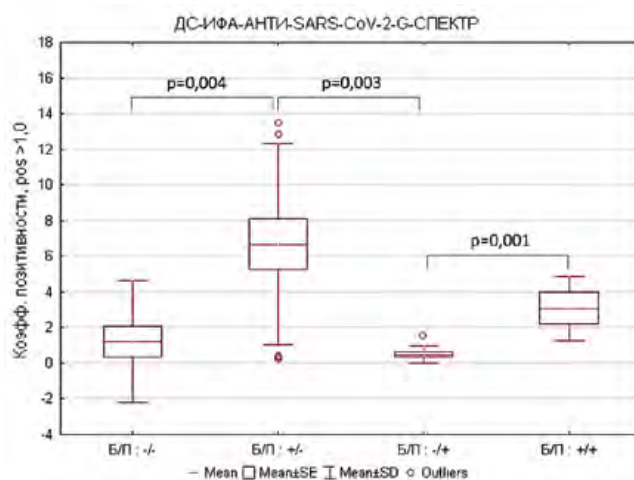


Рисунок 5. Уровни антител (IgAMG) к белку нуклеокапсид вириона (N-белку), измеренные с помощью тест-системы «ДС-ИФА-АНТИ-SARS-CoV-2-G-СПЕКТР» в группах пациентов (Б/П: -/-, не болели/ не привиты; Б/П: +/-, болели/ не привиты; Б/П: -/+, не болели/ привиты; Б/П: +/+, болели/ привиты)

значения в группе не болевших/ привитых лиц не отличались от не болевших/ не привитых (рис. 5).

### Обсуждение

Исследование показало, что все отечественные наборы ИФА по основным критериям качества сопоставимы с сертифицированной тест-системой «Anti-SARS-CoV-2 ELISA E 111-IVD» (Mediagnost Ltd., Германия), что существенно в контексте политики поддержки отечественного производства и импортозамещения.

Протестированные отечественные наборы реагентов характеризуются высокой воспроизводимостью результатов, абсолютными чувствительностью (100%) и специфичностью при выявлении вакцинированных (100%), высокой специфичностью при выявлении переболевших (90–95%).

Тестируемые наборы позволяют выполнять качественную оценку наличия или отсутствия сывороточных антител у вакцинированных или перенесших заболевание в течение последних нескольких месяцев пациентов (в т.ч., бессимптомное течение). Положительные биообразцы при необходимости могут быть исследованы количественными методами. Количественные и полуколичественные тесты позволяют определить активность иммунного ответа на вакцинацию [6, 7] и динамику уровней вырабатываемых антител при повторном тестировании [7, 8].

У пациентов после вакцинации активность выработки антител обычно выше, а их специфичность зависит от белков антигена в составе вакцины и/или индуцированных вакциной эндогенных белков [9, 10]. Проведенное исследование показало, что активность выработки антител к эпитопам шипикового аппарата в целом выше в группе вакцинированных лиц. Все тестируемые наборы реагентов, детектирующие IgG как к RBD, так и к S-гликопротеину вируса SARS-CoV-2, позволяют оценивать выработку антител в ответ на вакцинацию и могут применяться для эффективной лабораторной диагностики.

Для эпидемиологических оценок необходимо определение уровней разных классов антител, вырабатываемых к белкам вириона SARS-CoV-2 [1, 4, 7, 11]. У перенесших

инфекцию пациентов спектр вырабатываемых антител значительно шире: присутствуют антитела ко всем антигенным детерминантам вируса (антитела как к доменам S-гликопротеина, так и к N-белкам нуклеокапсида). Мы показали, что для выявления переболевших не вакцинированных пациентов больше подходят наборы, детектирующие RBD. Меньшая диагностическая эффективность наборов для выявления S-белка может быть обусловлена базовыми характеристиками тест-системы (более низкой специфичностью данных наборов, 90–92%), и наличием антител к филогенетически «близким» вирусам у лиц общей популяции. Для эпидемиологических оценок доли не вакцинированных пациентов, перенесших COVID-19, возможно применение набора для определения антител к нуклеокапсиду, который не является компонентом вакцин [1]. Данный набор также может быть использован для выявления бессимптомного течения заболевания в группе не вакцинированных пациентов.

### Основные выводы

- 1) отечественные наборы ИФА характеризуются высокими чувствительностью и специфичностью, воспроизводимостью и стабильностью результатов;
- 2) протестированные наборы российских производителей по основным критериям качества сопоставимы с сертифицированной тест-системой зарубежного производства;
- 3) все отечественные наборы, детектирующие IgG к RBD и к S-гликопротеину вируса SARS-CoV-2, позволяют корректно оценивать выработку антител в ответ на вакцинацию; результаты измерений достоверно коррелируют с таковыми для сертифицированной тест-системы;
- 4) наборы для выявления антител к RBD и/или нуклеокапсиду вириона эффективны для выявления переболевших не вакцинированных пациентов; наборы для определения антител к нуклеокапсиду применимы для эпидемиологических оценок доли не вакцинированных пациентов, перенесших COVID-19 в общей популяции.

Ограничения исследования: для тест-системы «ДС-ИФА-АНТИ-SARS-CoV-2-G-СПЕКТР» не был выполнен анализ воспроизводимости результатов.

### Список литературы / References

1. Временные методические рекомендации «Профилактика, диагностика и лечение новой коронавирусной инфекции (COVID-19)». Версия 18 (26.10.2023). Temporary guidelines "Prevention, diagnosis and treatment of new coronavirus infection (COVID-19)". Version 18 (10/26/2023). (In Russ.). Доступно по: <http://static-0.minzdrav.gov.ru>. Активна на 14.06.2024.
2. Радыгина А. В., Мочалова Л. В. Факторы, влияющие на тяжесть течения COVID-19 и развитие осложнений. *MIR J.* 2023; 10(1): 20–38. Radygina AV, Mochalova LV. Factors affecting the severity of COVID-19 and the development of complications. *MIR J.* 2023; 10(1): 20–38. (In Russ.). <https://doi.org/10.18527/2500-2236-2023-10-1-20-38.ru>
3. Шамхалова М. Ш., Мокрышева Н. Г., Шестакова М. В. COVID-19 и почки. *Сахарный диабет.* 2020; 23(3): 235–241. Shamkhalova MS, Mokrysheva NG, Shestakova MV. COVID-19 and kidneys. *Diabetes Mellitus.* 2020; 23(3): 235–241. (In Russ.). <https://doi.org/10.14341/DM12506>
4. Li YD, Chi WY, Su JH, Ferrall L, Hung CF, Wu TC. Coronavirus vaccine development: from SARS and MERS to COVID-19. *J Biomed Sci.* 2020; 27(1): 104. <https://doi.org/10.1186/1529-020-00695-2>
5. Казakov С. П., Давыдова Н. В., Путков С. Б., Решетняк Д. В., Аристархова И. В. Длительность и интенсивность гуморального иммунного ответа у медицинских работников, перенесших COVID-19. *Медицинский вестник.* 2021; 4(6): 29–37. Kazakov SP, Davydova NV, Putkov SB, Reshetnyak DV, Aristarchova IV. Analysis of the duration and intensity of the humoral immune response in medical workers after COVID-19. *Medical Bulletin.* 2021; 4(6): 29–37. (In Russ.). [https://doi.org/10.53652/2782-1730-2021-2-4\(6\)-29-37](https://doi.org/10.53652/2782-1730-2021-2-4(6)-29-37)
6. von Hünolstein C, Gomez Miguel MJ, Pezzella C, Scopetti F, Behr-Gross ME, Halder M, Hoffmann S, Levels L, van der Gun J, Hendriksen C. Evaluation of two serological methods for potency testing of whole cell pertussis vaccines. *Pharmeuropa Bio.* 2008; 2008(1): 7–18. PMID: 19220977
7. Довгань А. А., Драпкина Ю. С., Долгушина Н. В., Менжинская И. В., Инвиева Е. В., Вторушина В. В., Кречетова Л. В., Сухих Г. Т. Влияние вакцинации от COVID-19 на иммунный статус и профиль аутоантител у женщин репродуктивного возраста. *Медицинская иммунология.* 2022; 24(5): 979–992. Dovgan AA, Drapkina YuS, Dolgushina NV, Menzhinskaya IV, Inviyaeva EV, Vtorushina VV, Krechetova LV, Sukhikh GT. Effect of COVID-19 vaccination on the immune status and autoantibody profile in women of reproductive age. *Medical Immunology.* 2022; 24(5): 979–992. (In Russ.). <https://doi.org/10.15789/1563-0625-E0C-2515>
8. Mayanskiy NA, Brzhovskaya EA, Stoyanova SS, Frolkov AV, Lebedin YS. Dynamic changes in the concentration of anti-SARS-CoV-2 antibodies within 12 months after recovery from COVID-19. *Bulletin of RSMU.* 2022; (1): 11–3. <https://doi.org/10.24075/brsmu.2022.007>
9. Колесников А. В., Козырь А. В., Шемьякин И. Г., Дятлов И. А. Современные представления о механизме активации иммунного ответа конъюгированными полисахаридными вакцинами. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунологии.* 2015; (3): 97–106. Kolesnikov AV, Kozyr AV, Schemyakin IG, Dyatlov IA. Contemporary conception of immune response activation mechanism by conjugated polysaccharide vaccines. *Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology.* 2015; (3): 97–106. (In Russ.). PMID: 26259279.
10. Казakov С. П., Решетняк Д. В., Давыдова Н. В., Путков С. Б. Оценка эффективности гуморального иммунного ответа после вакцинации «КовиВак». *Медицинский алфавит.* 2022; 1(6): 18–24. Kazakov SP, Reshetnyak DV, Davydova NV, Putkov SB. Evaluation of effectiveness of humoral immune response after vaccination with "CoviVac". *Medical alphabet.* 2022; 1(6): 18–24. (In Russ.). <https://doi.org/10.33667/2078-5631-2022-6-18-24>
11. Фролова Л. В., Земский П. Ю., Митрофанов С. И., Мухин В. Е., Шпакова Т. А., Казакова П. Г., Ахмедова Ю. Н., Буланова Н. В., Голубникова Л. А., Грамматикати К. С., Жданова А. С., Мкртчян А. А., Сергеев А. П., Снигирь Е. А., Фелиз Н. В., Макаров В. В., Юдин В. С., Кескинов А. А., Краевой С. А., Юдин С. М., Скворцова В. И. Методика оценки уровня IgG-антител к различным белкам SARS-CoV-2 с помощью мультиплексного иммунофлуоресцентного анализа. *Иммунология.* 2023; 44 (1): 109–119. Frolova LV, Zemsky PJ, Mitrofanov SI, Mukhin VE, Shpakova TA, Kazakova PG, Akhme-rova YuN, Bulanova NV, Golubnikova LA, Grammatikati KS, Zhdanova AS, Mkrтчian AA, Sergeev AP, Snigir EA, Feliz NV, Makarov VV, Yudin VS, Keskinov AA, Kraevoy SA, Yudin SM, Skvortsova VI. Methodology for evaluation of the level of IgG antibodies against different SARS-CoV-2 proteins using multiplex immunofluorescence analysis. *Immunologiya.* 2023; 44 (1): 109–119. (In Russ.). <https://doi.org/10.33029/0206-4952-2023-44-1-109-119>

Статья поступила / Received 28.06.24  
Получена после рецензирования / Revised 02.07.24  
Принята в печать / Accepted 15.09.24

### Сведения об авторах

**Галкина Ольга Владимировна**, к. б. н., доцент, зав. лабораторией биохимического гомеостаза НИИ нефрологии. ORCID: 0000-0001-7265-7392

**Анпилова Анастасия Олеговна**, лаборант лаборатории биохимического гомеостаза НИИ нефрологии. ORCID: 0000-0001-8419-6909

**Богданова Евдокия Олеговна**, к. б. н., научный сотрудник лаборатории биохимического гомеостаза НИИ нефрологии. ORCID: 0000-0003-1969-1959.

**Зубина Ирина Михайловна**, к. б. н., доцент, старший научный сотрудник лаборатории биохимического гомеостаза НИИ нефрологии. ORCID: 0000-0001-8491-7016

**Левыкина Елена Николаевна**, к. б. н., научный сотрудник лаборатории биохимического гомеостаза НИИ нефрологии. ORCID: 0000-0001-8024-2904

ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И. П. Павлова» Минздрава России, Санкт-Петербург

**Автор для переписки:** Галкина Ольга Владимировна. E-mail: [ovgalkina@mail.ru](mailto:ovgalkina@mail.ru)

### About authors

**Galkina Olga V.**, PhD Bio Sci, associate professor, head of the Laboratory of Biochemical Homeostasis of the Research Institute of Nephrology. ORCID: 0000-0001-7265-7392

**Anpilova Anastasiya O.**, laboratory assistant at the Laboratory of Biochemical Homeostasis of the Research Institute of Nephrology. ORCID: 0000-0001-8419-6909

**Bogdanova Evdokia O.**, PhD Bio Sci, researcher at the Laboratory of Biochemical Homeostasis of the Research Institute of Nephrology. ORCID: 0000-0003-1969-1959

**Zubina Irina M.**, PhD Bio Sci, associate professor, senior researcher at the Laboratory of Biochemical Homeostasis of the Research Institute of Nephrology. ORCID: 0000-0001-8491-7016

**Levykina Elena N.**, PhD Bio Sci, researcher at the Laboratory of Biochemical Homeostasis of the Research Institute of Nephrology. ORCID: 0000-0001-8024-2904

Pavlov University, Saint Petersburg, Russia

**Corresponding author:** Galkina Olga V. E-mail: [ovgalkina@mail.ru](mailto:ovgalkina@mail.ru)

**Для цитирования:** Галкина О. В., Анпилова А. О., Богданова Е. О., Зубина И. М., Левыкина Е. Н. Обзор отечественных тест-систем для выявления текущей или перенесенной инфекции SARS-CoV2 методом иммуноферментного анализа. *Медицинский алфавит.* 2024; (20): 33–39. <https://doi.org/10.33667/2078-5631-2024-20-33-39>

**For citation:** Galkina O. V., Anpilova A. O., Bogdanova E. O., Zubina I. M., Levykina E. N. Review of domestic test systems for detecting current or past SARS-CoV2 infection using enzyme-linked immunosorbent assay. *Medical alphabet.* 2024; (20): 33–39. <https://doi.org/10.33667/2078-5631-2024-20-33-39>

