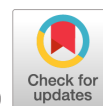


ХАРАКТЕРИСТИКА НАБОРА РЕАГЕНТОВ «N-CoV-2-IgG PS» ДЛЯ КОЛИЧЕСТВЕННОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ IgG ЧЕЛОВЕКА К НУКЛЕОКАПСИДНОМУ БЕЛКУ SARS-CoV-2



Е.В. Зуева¹, Н.Н. Беляев¹, В.Н. Вербов¹, И.В. Лихачев¹, И.А. Бачинин¹,
И.В. Хамитова¹, З.Р. Коробова^{1,2}, Н.А. Арсентьева¹, А.А. Тотолян^{1,2}

¹ ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, Санкт-Петербург, Россия

² ГБОУ ВПО Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика Павлова
Министерства здравоохранения РФ, Санкт-Петербург, Россия

Резюме. Подтверждение наличия антител, специфичных к коронавирусу SARS-CoV-2, важно для выявления иммунного ответа у лиц, переболевших COVID-19, а также для проведения популяционных исследований путем скрининга антител на предмет определения частоты заражения COVID-19. Санкт-Петербургский НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера первым в России разработал иммуноферментный набор реагентов «N-CoV-2-IgG PS» для количественного определения IgG человека к нуклеокапсидному белку SARS-CoV-2. Оценка количества антител осуществлялась в условных единицах (УЕ/мл). В связи с созданием Первого Международного стандарта для количественного определения иммуноглобулинов к SARS-CoV-2, нами был проведен пересчет единиц УЕ/мл в международные единицы ВАУ/мл. Сопоставление калибровочных проб набора с калибровочной кривой Международного стандарта показало полную связь между ними ($r = 0,999$, $R^2 = 0,997$), при этом коэффициент пересчета определен как 1 ВАУ/мл = 5,97 УЕ/мл. Цель данного сообщения — представить характеристики количественного набора реагентов «N-CoV-2-IgG PS», провести сравнение результатов количественного ИФА с качественным ИФА, оценить корреляционную связь между N-антиген-связывающими антителами с SARS-CoV-2-нейтрализующими антителами. Данные корреляционного анализа показали статистически значимую связь между количественными значениями антител и титрами антител ($r = 0,8436$, $R^2 = 0,7802$) и существенное различие между концентрациями антител и значениями индекса позитивности качественного набора ($r = 0,6648$, $R^2 = 0,3307$) при параллельном исследовании 83 образцов плазмы крови пациентов, переболевших COVID-19. Сравнение значений концентраций связывающих антител с титрами нейтрализующих антител показало статистически значимую сопоставимость результатов количественного теста и теста микронейтрализации вируса ($r = 0,7310$, $R^2 = 0,6527$) при параллельном исследовании 80 образцов плазмы крови реконвалесцентов и больных COVID-19. Значение AUC под ROC кривой составило 0,71 ($P < 0,0001$), что свидетельствует о приемлемой информативности набора «N-CoV-2-IgG PS» по отношению его к тесту микронейтрализации. Эффективность разработанного набора составила 95%, а положительная и отрицательная прогностические ценности составили 97 и 87%. Результаты исследования подтвердили наличие корреляции N-белок-связывающих

Адрес для переписки:

Зуева Елена Викторовна
197101, Россия, Санкт-Петербург, ул. Мира, 14,
ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера.
Тел.: 8 921 382-50-07 (моб.).
E-mail: elenazueva9@gmail.com

Contacts:

Elena V. Zueva
197101, Russian Federation, St. Petersburg, Mira str., 14,
St.Petersburg Pasteur Institute.
Phone: +7 921 382-50-07 (mobile).
E-mail: elenazueva9@gmail.com

Для цитирования:

Зуева Е.В., Беляев Н.Н., Вербов В.Н., Лихачев И.В., Бачинин И.А.,
Хамитова И.В., Коробова З.Р., Арсентьева Н.А., Тотолян А.А.
Характеристика набора реагентов «N-CoV-2-IgG PS» для
количественного определения IgG человека к нуклеокапсидному белку
SARS-CoV-2 // Инфекция и иммунитет. 2022. Т. 12, № 4. С. 771–778.
doi: 10.15789/2220-7619-CAN-1904

Citation:

Zueva E.V., Belyaev N.N., Verbov V.N., Likhachev I.V., Bachinin I.A.,
Khamitova I.V., Korobova Z.R., Arsentieva N.A., Totolian A.A. Characterizing
a "N-CoV-2-IgG PS" diagnostic kit to quantify SARS-CoV-2 nucleocapsid
protein-specific human IgG antibodies // Russian Journal of Infection
and Immunity = Infektsiya i immunitet, 2022, vol. 12, no. 4, pp. 771–778.
doi: 10.15789/2220-7619-CAN-1904

антител с титрами нейтрализующих антител. Проверка межтестовой согласованности свидетельствовала о приемлемости показателей информативности и эффективности набора «N-CoV-2-IgG PS», что подтвердило возможность использования его для скрининга IgG-антител и оценки серопревалентности в разных группах населения.

Ключевые слова: COVID-19, ИФА-наборы, N-белок SARS-CoV-2, единицы BAU/мл, N-белок-связывающие антитела, нейтрализующие антитела, анализ антител.

CHARACTERIZING A “N-CoV-2-IgG PS” DIAGNOSTIC KIT TO QUANTIFY SARS-CoV-2 NUCLEOCAPSID PROTEIN-SPECIFIC HUMAN IgG ANTIBODIES

Zueva E.V.^a, Belyaev N.N.^a, Verbov V.N.^a, Likhachev I.V.^a, Bachinin I.A.^a, Khamitova I.V.^a, Korobova Z.R.^{a,b}, Arsentieva N.A.^a, Totolian A.A.^{a,b}

^a St. Petersburg Pasteur Institute, St. Petersburg, Russian Federation

^b Pavlov First St. Petersburg State Medical University, St. Petersburg, Russian Federation

Abstract. Confirming detected SARS-CoV-2-specific antibodies is necessary to reveal immune response in COVID-19 convalescent subjects as well as to conduct population studies by screening for specific antibodies to assess rate of COVID-19 prevalence. With this purpose St. Petersburg Pasteur Institute was the first in Russia to develop the ELISA kit for the quantitative determination of human IgG to the SARS-CoV-2 nucleocapsid (N-CoV-2-IgG PS). Arbitrary units (AU/ml) were used to assess the level of antibodies. The data shown in AU/ml were recalculated later to the international units (BAU/ml) in accordance with established the First WHO International Standard for anti-SARS-CoV-2 human Immunoglobulin. Comparing the data of the N-CoV-2-IgG PS calibration curve with those of the First WHO International Standard for anti-SARS-CoV-2 human Immunoglobulin revealed a complete inter-assay association ($r = 0.999$, $R^2 = 0.997$) allowing to find that 1BAU/ml = 5.97 AU/ml. The aim of the study was to characterize the “SARS-CoV-2 protein N Human IgG Quantitative ELISA Kit” (N-CoV-2-IgG PS), compare quantitative and qualitative data of ELISA kits, assess a correlation between the binding antibodies to SARS-CoV-2 N proteins and the neutralizing antibodies against SARS-CoV-2. The data of correlation analysis of the 83 COVID-19 convalescent blood plasma samples a significant relationship between the antibodies quantitative values and titers SARS-CoV-2-specific antibody ($r = 0.8436$, $R^2 = 0.7802$) as well as a moderate relationship between antibody concentration and positivity index ($r = 0.6648$, $R^2 = 0.3307$), assessed by Chaddock scale. Comparing concentration of N-protein binding antibodies with neutralizing antibody titers level uncovered data consistency obtained by quantitative and virus microneutralization assays ($r = 0.7310$, $R^2 = 0.6527$) used in parallel to analyze 80 blood plasma samples obtained from COVID-19 patients and convalescents. AUC under the ROC curve comprised 0.701 ($P < 0.0001$) evidencing about a satisfactory informative value for “N-CoV-2-IgG PS” compared with microneutralization assay. In addition, the efficacy of the “N-CoV-2-IgG PS” was 95%, while the positive and negative prognostic value was 97% and 87%, respectively. The data obtained confirmed a correlation between N-protein binding antibody level and neutralizing antibody titer. Checking inter-assay agreement evidenced about acceptance for informativeness and efficacy of using “N-CoV-2-IgG PS”, thereby confirming an opportunity to apply the Kit to screen for SARS-CoV-2 N protein-specific IgG antibody level and assess seroprevalence in diverse population cohorts.

Key words: COVID-19, ELISA kit, SARS-CoV-2 N-protein, BAU/ml, N-protein binding antibodies, neutralizing antibodies, antibody assays.

Введение

11 марта 2020 г. Всемирная организация здравоохранения объявила вспышку заболеваемости вирусом SARS-CoV-2 пандемией [11]. Распространение вируса и рост заболеваемости COVID-19 по всему миру потребовали быстрого внедрения в клиническую практику вновь разработанных диагностических инструментов, в том числе и серологических тестов. Обнаружение антител к SARS-CoV-2 стало необходимостью для установления заражения, воздействия вируса на тяжесть течения заболевания COVID-19 и развития иммунитета у лиц после перенесения заболевания или вакцина-

ции, а также для проведения сероэпидемиологических исследований. Уже к июню 2020 г. в разных странах были разработаны и зарегистрированы ИФА-наборы и тест-системы, определяющие иммуноглобулины классов М, А и G к белкам SARS-CoV-2. Первые наборы были разработаны на основе качественного анализа, и результаты анализов определялись по коэффициентам позитивности или титрам. Вслед за ними, чуть позже, к концу 2020 г., были разработаны количественные ИФА-наборы, которые позволяли определять концентрацию антител по калибровочной кривой с оценкой в условных единицах. Специалисты ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера

первыми в России разработали набор реагентов «N-CoV-2-IgG PS» для количественного определения IgG человека к белку N SARS-CoV-2 (временное РУ Росздравнадзора № РЗН 2021/1485). Количественное значение антител, определяемых данным набором, оценивалось в условных единицах (УЕ/мл). В 2021 г. ВОЗ сообщила о создании Первого Международного стандарта для количественного определения иммуноглобулинов человека к SARS-CoV-2 [3, 4] в международных антитело-связывающих единицах ВАУ/мл (binding antibody units). Таким образом, использование в лабораторной практике Международного стандарта как надежного инструмента построения калибровочных кривых способствовало гармонизации получаемых результатов количественного определения SARS-CoV-2 антиген-связывающих и нейтрализующих антител на глобальном уровне. В связи с этим нами была проведена работа по переводу значений калибратора из единиц УЕ/мл в ВАУ/мл путем определения коэффициента перерасчета и по повторной регистрации набора (РУ № РЗН 2022/16633 бессрочно).

В настоящее время в России разработано и зарегистрировано восемь ИФА-наборов для количественного определения IgG-антител в международных единицах ВАУ/мл, семь из которых направлены на определение IgG-антител к поверхностному гликопротеину S (Spike) или к участку RBD (рецептор-связывающий домен) S-белка SARS-CoV-2. Представленный нами набор «N-CoV-2-IgG PS» отличается тем, что предназначен для определения количества антител к N-белку как у клинически переболевших COVID-19, так и у лиц с бессимптомным течением заболевания, а также для проведения скрининга антител с целью определения ис-

тинной частоты заражения COVID-19 в разных популяциях. Для подтверждения такого предназначения набора была проведена валидация функциональных характеристик и проверка согласованности между ИФА «N-CoV-2-IgG PS» и тестом микронейтрализации вируса SARS-CoV-2 с оценкой показателей информативности и эффективности.

Цель данного сообщения — представить характеристики количественного набора реагентов «N-CoV-2-IgG PS», провести сравнение результатов количественного ИФА с качественным ИФА, оценить корреляционную связь между N-антиген-связывающими антителами с SARS-CoV-2-нейтрализующими антителами.

Материалы и методы

Образцы плазмы крови больных COVID-19 ($n = 57$) на сроках 0–24 дней после получения положительных результатов ПЦР-тестов, доноров-реконвалесцентов ($n = 22$) на сроках 31–56 дней после инфицирования были получены в Отделении переливания крови Первого Санкт-Петербургского государственного медицинского университета имени академика И.П. Павлова (ПСПбГМУ им. Павлова) и переданы в Центральную клиническую диагностическую лабораторию (ЦКДЛ) Медицинского центра ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера (НИИ им. Пастера) для дальнейшего исследования в рамках договора о научном сотрудничестве. Образцы плазмы крови ($n = 83$) были получены от лиц, переболевших COVID-19. Взятие крови проводили в ЦКДЛ на сроках 30–100 дней после инфицирования. Критериями включения были: возраст пациентов старше 18 лет, положитель-

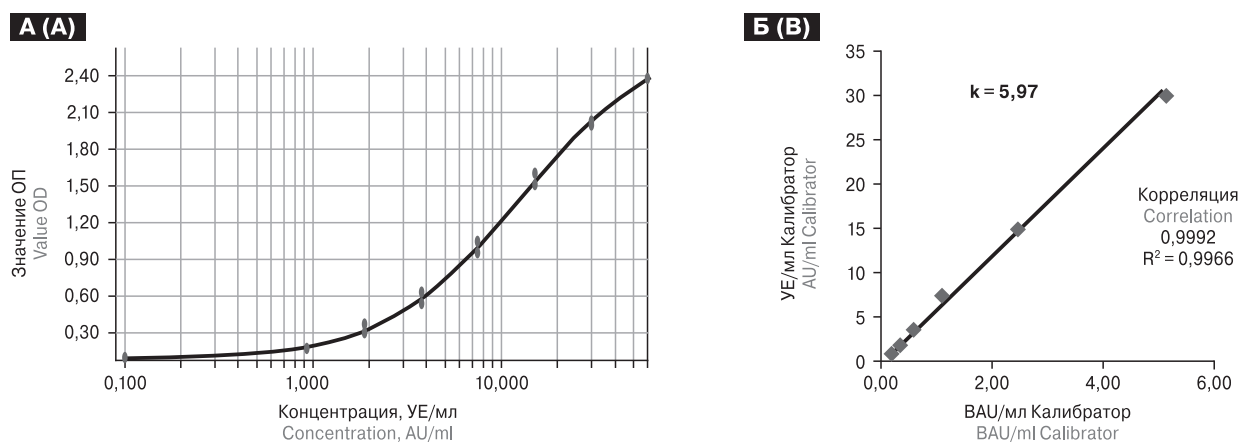


Рисунок 1. А. Калибровочная кривая 4-параметрической логистической регрессии. Б. График взаимосвязи между УЕ/мл и ВАУ/мл Калибратора

Figure 1. A. 4-Parameter Logistic Regression Calibration Curve. B. The correlation plot between AU/ml and BAU/ml of the Calibrator

ный мазок на SARS-CoV-2, наличие согласия на участие в исследовании. Исследование проводилось по одобрению этического комитета НИИ им. Пастера. Все образцы плазмы хранились в морозильной камере при -80°C .

Диагностика с помощью набора реагентов «N-CoV-2-IgG PS» для количественного определения специфических IgG антител к нуклеокапсидному белку (N-антиген) коронавируса SARS-CoV-2 основана на взаимодействии антител с N-антигеном, сорбированным в 96-луночные микропланшеты (High Binding Corning Incorporated), с последующим образованием иммунного комплекса с пероксидазным конъюгатом моноклональных антител к тяжелой цепи иммуноглобулинов G человека (ООО «Полигност», Россия). Рекомбинантный полноразмерный (419 аминокислоты) нуклеокапсидный белок SARS-CoV-2 (His-tag M.m. = 48,9 kDa) был приобретен в ООО «Иннова плюс» (Россия). В качестве калибратора использовали пул плазмы крови доноров, переболевших COVID-19. Нулевая калибровочная проба K0 представляла собой разведенный 1:100 пул образцов плазмы крови здоровых доноров от 2018 г.

Коэффициент перерасчета условных единиц количества IgG-антител на международные единицы был определен путем сравнения калибровочной кривой, построенной по средним значениям оптической плотности (ОП) полученных от трех образцов калибратора (рис. 1А), с Международным стандартом. Перерасчет

осуществляли двухшаговым анализом: первоначально определяли значения калибровочных проб в BAU/мл по Международному стандарту, затем проводили сопоставление количественных значений калибровочных проб в УЕ/мл с полученными на первом этапе значениями BAU/ml (рис. 2Б).

Функциональные характеристики набора определяли в соответствии с рекомендациями ГОСТ Р 51352-2013 [1]. Порог серопозитивности набора «N-CoV-2-IgG PS» определяли методом линейной регрессии калибровочной кривой по формуле $\text{LoQ} = 10 \times (\text{Sy}/\text{S})$, где Sy — стандартное отклонение для средних значений точки калибровочной пробы K7, находящейся на уровне аппроксимации предела обнаружения антител, S — наклон линии регрессии logit-log калибровочной кривой [11].

Количественное содержание антител в исследуемых образцах рассчитывали по калибровочной кривой, построенной по семи калибровочным пробам (K1–K7), и нулевой пробой K0. Полученные концентрации исследуемых образцов сывороток/плазмы выражали в международных единицах (Binding Antibody Units) BAU/мл. Учет результатов анализа осуществляли умножением количественных значений на коэффициент 100 в соответствии с разведением исследуемых образцов 1:100.

Сравнение результатов определения IgG антител, полученных при параллельном исследовании 83 образцов плазмы на двух набо-

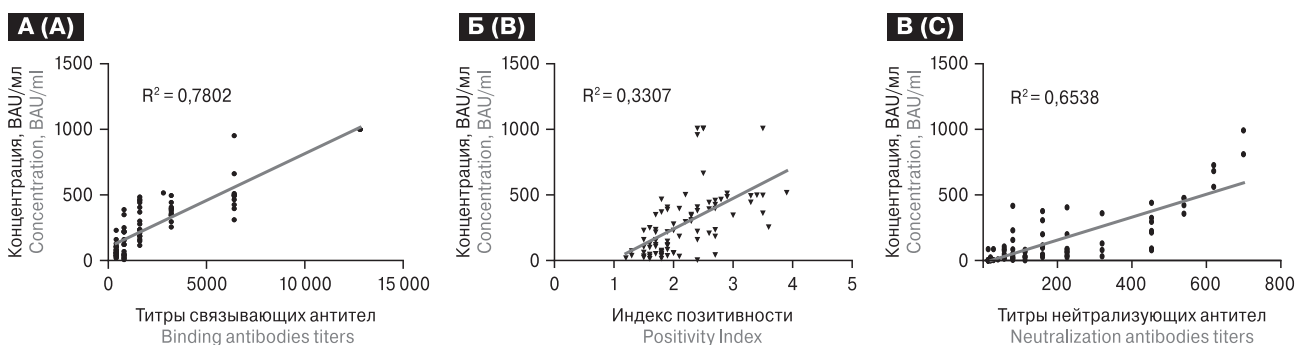


Рисунок 2. Корреляция значений концентрации N-белок-связывающих антител (BAU/мл), измеренных с использованием ИФА-набора «N-CoV-2-IgG PS» и А) титров N-белок-связывающих антител, измеренных с использованием качественного ИФА набора, Б) значений индексов позитивности, измеренных с использованием качественного ИФА-набора, В) титров нейтрализующих антител, полученных методом микронейтрализации вируса SARS-CoV-2

Figure 2. Correlation between binding antibody concentration (BAU/ml) measured by «N-CoV-2-IgG PS» ELISA Kit and A) antibody titer magnitude evaluated by “SARS-CoV-2 Human IgG Qualitative ELISA Kit”, B) positivity index magnitude assessed by qualitative ELISA kit, C) neutralizing antibody titers analyzed by the SARS-CoV-2 virus microneutralization

Примечание. Коэффициенты корреляции Спирмена с 95% доверительными интервалами для каждого анализа были: А) $r = 0,8424$ (0,7632–0,8967) $p < 0,0001$; Б) $r = 0,6648$ (0,5196–0,7727) $p < 0,0001$; В) $r = 0,7410$ (0,6177–0,8288) $p < 0,0001$. Note. Spearman’s correlation coefficients with 95% confidence intervals for each analysis were: A) $r = 0.8424$ (0.7632–0.8967) $p < 0.0001$; B) $r = 0.6648$ (0.5196–0.7727) $p < 0.0001$; C) $r = 0.7410$ (0.6177–0.8288) $p < 0.0001$.

рах — количественном наборе «N-CoV-2-IgG PS» и качественном наборе «ИФА анти-SARS-CoV-2 IgG» (РУ № РД-38069/98980), а также при параллельном сравнении значений количественных IgG-антител и титров нейтрализующих антител 79 образцов, осуществляли с помощью корреляционного анализа Спирмена. Коэффициент ранговой корреляции Спирмена оценивали по шкале Чеддека: 1 — полная связь; 0,99–0,71 — сильная связь; 0,7–0,3 — средняя связь; 0,3–0,1 — слабая, 0 — нет связи. Оценку качественного наличия антител осуществляли по индексу серопозитивности, который рассчитывали как 3-кратное среднее значение оптической плотности отрицательного контрольного образца. Результаты ниже порога отсечения 0,9 считались отрицательными. За значение титра связывающих антител принимали наибольшее разведение образца, оптическая плотность которого была выше порога отсечения. Определение нейтрализующей активности образцов плазмы крови больных и реконвалесцентов с помощью теста микронейтрализации вируса SARS-CoV-2 (МНВ) с использованием клеток VeroE6 было осуществлено в ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор». За значение титра нейтрализующих антител принимали наибольшее разведение образца плазмы, полностью защищающее клетки от цитопатического эффекта в половине дублированных лунок микропланшета. Титр теста МНВ ≤ 40 считался отрицательным.

Анализ ROC-кривых проводили по вычислению значений площадей под кривыми (AUC) и по определению пороговых отсечений концентраций связывающих антител, при которых имелся баланс между чувствительностью и специфичностью. Определение согласия между положительными и отрицательными результатами количественного теста и теста МНВ было осуществлено с помощью четырехпольных таблиц сопряженности 2 x 2 бинарных величин с вычислением критерия χ^2 с поправкой Йейтса. При этом положительные и отрицательные результаты теста МНВ были приняты за истинные. Коэффициент взаимной сопряженности Пирсона рассчитывали по формуле $C = \sqrt{\chi^2 / (\chi^2 + n)}$, где $n = 79$ — число образцов плазмы крови больных пациентов и реконвалесцентов.

Статистический анализ и графические рисунки выполняли с использованием пакета Microsoft Office Excel 2010 (Microsoft Corporation, Seattle, USA) и программного обеспечения GraphPad Prism 6.0 (GraphPad Software Inc).

Результаты и обсуждение

Перерасчет значений условных единиц в международно признанные единицы, проведенный путем сопоставления калибровочной кривой,

построенной по значениям УЕ/мл, с калибровочной кривой, рассчитанной по Международному стандарту ВОЗ в единицах ВАУ/мл, показал их полную корреляцию и связь между значениями $1\text{ ВАУ/мл} = 5,97\text{ УЕ/мл}$ (рис. 1Б).

Набор «N-CoV-2-IgG PS» имел следующие функциональные характеристики: аналитическая чувствительность с учетом разведения 1:100 составила 3 ВАУ/мл, концентрации IgG антител в трех образцах сывороток крови при их пропорциональном разведении холостыми образцами имели линейный характер в диапазоне 837–17 ВАУ/ml, точность измерения составила 90–110%, предел количественного определения составил 16,0 ВАУ/мл.

Проведено сравнение набора «N-CoV-2-IgG PS» и набора «ИФА анти-SARS-CoV-2 IgG» при параллельном исследовании 83 образцов плазмы крови пациентов, переболевших COVID-19, для определения наличия корреляции между значениями концентраций антител и значениями титров антител (рис. 2А) и индексов позитивности (рис. 2Б). Коэффициент корреляции Спирмена $r = 0,8436$ ($p < 0,0001$) свидетельствовал о значительной связи значений концентраций антител со значениями титров антител, при этом коэффициент линейной регрессии $R^2 = 0,7802$ подтвердил наличие их статистически значимой связи. В то же время корреляционная связь ($r = 0,6648$) между значениями концентраций антител и значениями индексов позитивности антител была средней плотности, а значение коэффициента линейной регрессии $R^2 = 0,3307$ свидетельствовало о существенном различии между количественным и качественным тестами. Такое различие в сопоставлении количественного набора с двумя разными вариантами анализа и расчета одного и того же качественного набора ИФА могут свидетельствовать о несовпадении результатов определения антител по коэффициенту позитивности с результатами определения титров антител. В данном случае коэффициент позитивности не мог служить критерием диагностики COVID-19. При этом применение трудоемкого метода титрования образцов в качественном тесте, по-видимому, позволяет получать диагностически значимые результаты определения антител. Кроме того, была осуществлена оценка соответствия разработанного набора с тестом МНВ при параллельном исследовании 79 образцов плазмы крови реконвалесцентов и больных COVID-19 (рис. 2В). Сопоставление значений концентраций связывающих антител к белку нуклеокапсида с титрами нейтрализующих антител ($r = 0,7410$) показало значительную корреляционную связь между ними. Коэффициент линейной регрессии $R^2 = 0,6538$ подтвердил наличие статистически значимой сопоставимости количественного ИФА «N-CoV-2-IgG PS» и теста МНВ.

Для оценки информативности был проведен анализ характеристических кривых (ROC-анализ) количественного «N-CoV-2-IgG PS» набора относительно теста МНВ, а также метода титрования образцов качественного набора «ИФА анти-SARS-CoV-2 IgG» относительно количественного набора «N-CoV-2-IgG PS» (рис. 3). Значение коэффициента площади под ROC-кривой (AUC), построенной по титрам антител относительно концентрациям антител (рис. 3А), свидетельствовало об очень слабой информативности качественного набора «ИФА анти-SARS-CoV-2 IgG». Визуальная оценка показала совпадение ROC-кривой с линией диагонали, а расположение кривой над диагональной линией, находящейся выше значения порога отсека титров антител (cut off < 3148 титр связывающих антител), доказало низкое значение информативности — 32,53%.

Данные AUC ROC-кривой, построенной по концентрациям связывающих антител относительно титров нейтрализующих антител, свидетельствовали о приемлемой информативности количественного набора «N-CoV-2-IgG PS» относительно теста МНВ. На рис. 3Б видно, что ROC-кривая находилась над диагональной линией, а значение баланса чувствительности и специфичности в точке порога отсека (cut off < 16,33 BAU/ml) показало 83,55% информативности.

Эффективность разработанного набора оценивали относительно теста МНВ путем расчета чувствительности и специфичности по числам ложноположительных и истинно положи-

тельных образцов плазмы крови болеющих пациентов и реконвалесцентов (n = 79), при этом образцы с отрицательными значениями нейтрализующих антител (n = 14), полученные от пациентов на первой неделе заболеваемости, были приняты за истинно отрицательные. Серопревалентность нейтрализующих антител была 82,28%. Коэффициент сопряженности Пирсона С = 0,6542 превышал значение 0,5, что свидетельствовало о достоверной взаимозависимости между положительными и отрицательными результатами количественного ИФА и теста МНВ. Чувствительность и специфичность разработанного набора относительно теста МНВ составили 97,01% (ДИ95% 89,63–99,64) и 87,50% (ДИ95% 6165,57–98,45) с высокой положительной прогностической ценностью. Более низкое значение специфичности объясняется, по-видимому, тем, что у некоторых пациентов на первой неделе заболевания, связывающие антитела могли образовываться раньше нейтрализующих антител, что и привело к получению ложноположительных результатов.

Тест микронеutralизации аутентичного вируса является «золотым стандартом» выявления защитных антител [5]. Данные опубликованных исследований [3, 4, 7, 13, 15], проведенных на различных ИФА-тестах и коммерческих тест-системах, определяющих антитела как к S-белкам, так и N-белкам SARS-CoV-2, показали, что результаты ИФА могут иметь хорошую корреляцию антител с результатами теста нейтрализации аутентичного вируса. Такое

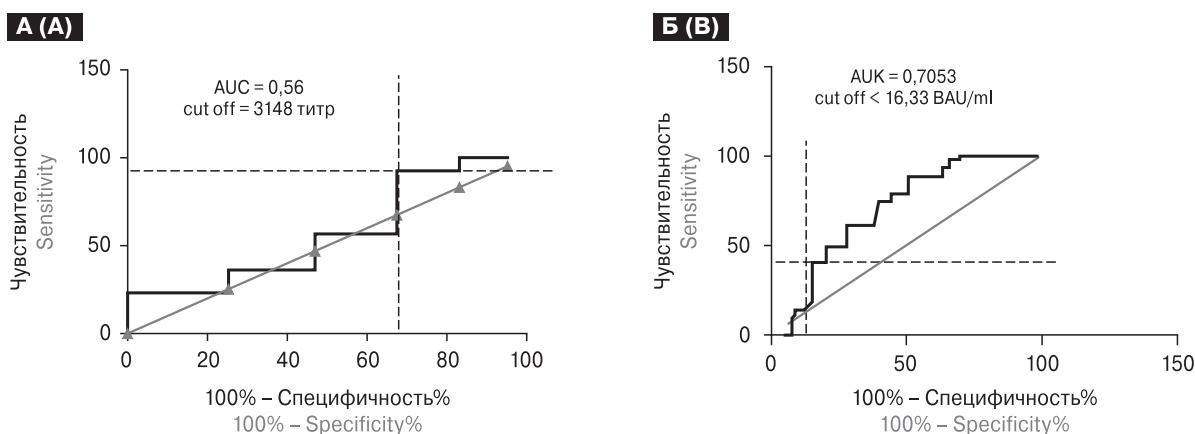


Рисунок 3. ROC-кривые А) титров антител качественного набора «ИФА анти-SARS-CoV-2 IgG» относительно концентраций антител количественного набора «N-CoV-2-IgG PS» и Б) концентрации антител количественного набора «N-CoV-2-IgG PS» относительно титров нейтрализующих антител

Figure 3. ROC-curves for A) antibody titers evaluated in “SARS-CoV-2 Human IgG Qualitative ELISA Kit” relative to antibody concentration assessed by quantitative kit “N-CoV-2-IgG PS” and B) the antibodies concentration of the quantitative kit “N-CoV-2-IgG PS” relative to neutralizing antibody titers

Примечание. Пересечение пунктирных линий соответствует значения порога отсека.
Note. The dotted line intersection corresponds to the cut off level.

тестовое сопоставление важно для подтверждения правильности определения положительных и отрицательных результатов ИФА при проведении скрининга антител.

Таким образом, результаты проведенного исследования продемонстрировали наличие хорошей корреляционной связи между N-белок-связывающими антителами и сопоставимости разработанного нами набора с тестом нейтра-

лизации вируса SARS-CoV-2. Проверка между тестовой согласованностью свидетельствовала об информативности и эффективности разработанного набора, что подтвердило его потенциал для проведения скрининга IgG антител у лиц, переболевших COVID-19, и для использования его в масштабных популяционных исследованиях [2, 10, 12] для оценки серопревалентности к COVID-19 в разных группах населения.

Список литературы/References

- ГОСТ Р 51352-2013. Медицинские изделия для диагностики *in vitro*. Методы испытаний. Дата введения 2015-01-01. [GOST R 51352-2013 *In vitro* diagnostic medical devices. Test methods. Date of introduction 2015-01-01. (In Russ.)] URL: <https://docs.cntd.ru/document/1200108445>
- Попова А.Ю., Тарасенко А.А., Смоленский В.Ю., Егорова С.А., Смирнов В.С., Дашкевич А.М., Светогор Т.Н., Глинская И.Н., Скуранович А.Л., Миличкина А.М., Дронина А.М., Самойлович Э.О., Хамитова И.В., Семейко Г.В., Амвросьева Т.В., Шмелева Н.П., Рубаник Л.В., Есманчик О.П., Карабан И.А., Дробышевская В.Г., Садовникова Г.В., Шилович М.В., Подушкина Е.А., Кирейчук В.В., Петрова О.А., Бондаренко С.В., Салажкова И.Ф., Ткач Л.М., Шепелевич Л.П., Автухова Н.Л., Иванов В.А., Бабило А.С., Навышная М.В., Беляев Н.Н., Зуева Е.В., Волосарь Л.А., Вербов В.Н., Лихачев И.В., Загорская Т.О., Морозова Н.Ф., Коробова З.Р., Губанова А.В., Тотолян Арег А. Коллективный иммунитет к SARS-CoV-2 населения Республики Беларусь в условиях пандемии COVID-19 // *Инфекция и иммунитет*. 2021. Т. 11, № 5. С. 887–904. [Popova A.Yu., Tarasenko A.A., Smolenskiy V.Yu., Egorova S.A., Smirnov V.S., Dashkevich A.M., Svetogor T.N., Glinskaya I.N., Skuranovich A.L., Milichkina A.M., Dronina A.M., Samoilovich E.O., Khamitova I.V., Semeiko G.V., Amvrosyeva T.V., Shmeleva N.P., Rubanik L.V., Esmanchik O.P., Karaban I.A., Drobyshevskaya V.G., Sadovnikova G.V., Shilovich M.V., Podushkina E.A., Kireichuk V.V., Petrova O.A., Bondarenko S.V., Salazhkova I.F., Tkach L.M., Shepelevich L.P., Avtukhova N.L., Ivanov V.A., Babilo A.S., Navyshnaya M.V., Belyaev N.N., Zueva E.V., Volosar L.A., Verbov V.N., Likhachev I.V., Zagorskaya T.O., Morozova N.F., Korobova Z.R., Gubanov A.V., Totolian Areg A. Herd immunity to SARS-CoV-2 among the population of the Republic of Belarus amid the COVID-19 pandemic. *Infektsiya i immunitet = Russian Journal of Infection and Immunity*, 2021, vol. 11, no. 5, pp. 887–904. (In Russ.)] doi: 10.15789/2220-7619-HIT-1798
- Jääskeläinen A.J., Kuivainen S., Kekäläinen E., Ahava M.J., Loginov R., Kallio-Kokko H., Vapalahti O., Jarva H., Kurkela S., Lappalainen M. Performance of six SARS-CoV-2 immunoassays in comparison with microneutralisation. *J. Clin. Virol.*, 2020, vol. 129: 104512. doi: 10.1016/j.jcv.2020.104512
- James J., Rhodes S., Ross C.S., Skinner P., Smith S.P., Shipley R., Warren C.J., Goharriz H., McElhinney L.M., Temperton N., Wright E., Fooks A.R., Clark T.W., Brookes S.M., Brown I.H., Banyard A.C. Comparison of serological assays for the detection of SARS-CoV-2 antibodies. *Viruses*, 2021, vol. 13, no. 4: 713. doi: 10.3390/v13040713
- Klasse P.J. Neutralization of virus infectivity by antibodies: old problems in new perspectives. *Adv. Biol.*, 2014, vol. 2014: 157895. doi: 10.1155/2014/157895
- Kristiansen P.A., Page M., Bernasconi V., Mattiuzzo G., Dull P., Makar K., Plotkin S., Knezevic I. WHO International Standard for anti-SARS-CoV-2 immunoglobulin. *Lancet*, 2021, vol. 397, no. 10282, pp. 1347–1348. doi: 10.1016/S0140-6736(21)00527-4
- McAndrews K.M., Dowlatshahi D.P., Dai J., Becker L.M., Hensel J., Snowden L.M., Leveille J.M., Brunner M.R., Holden K.W., Hopkins N.S., Harris A.M., Kumpati J., Whitt M.A., Lee J.J., Ostrosky-Zeichner L.L., Papanna R., LeBleu V.S., Allison J.P., Kalluri R. Heterogeneous antibodies against SARS-CoV-2 spike receptor binding domain and nucleocapsid with implications for COVID-19 immunity. *JCI Insight*, 2020, vol. 5, no. 18: e142386. doi: 10.1172/jci.insight.142386
- NIBSC. Medicines and Healthcare products Regulatory Agency. WHO International Standard. First WHO International Standard for anti-SARS-CoV-2 immunoglobulin. 2021. URL: <https://www.nibsc.org/documents/ifu/20-136.pdf>
- NIBSC. Medicines and Healthcare products Regulatory Agency. Working Standard. Working reagent for anti-SARS-CoV-2 immunoglobulin NIBSC code: 21/234 (Version 2.0, Dated 20/08/2021). URL: <https://www.nibsc.org/documents/ifu/21-234.pdf>
- Popova A.Yu., Kasymov O.T., Smolenski V.Y., Smirnov V.S., Egorova S.A., Nurmatov Z.S., Milichkina A.M., Suranbaeva G.S., Kuchuk T.E., Khamitova I.V., Zueva E.V., Ivanov V.A., Nuridinova Z.N., Derkenbaeva A.A., Drobyshevskaya V.G., Sattarova G.Z., Kaliev M.T., Gubanov A.V., Zhimbaeva O.B., Razumovskaya A.P., Verbov V.N., Likhachev I.V., Krasnov A.V., Totolian A.A. SARS-CoV-2 herd immunity of the Kyrgyz population in 2021. *Med. Microbiol. Immunol.*, 2022, vol. 211, no. 4, pp. 195–210. doi: 10.1007/s00430-022-00744-7
- Shrivastava A., Gupta V.B. Methods for the determination of limit of detection and limit of quantitation of the analytical methods. *Chron. Young Sci.*, 2011, vol. 2, iss. 1, pp. 21–25. doi: 10.4103/2229-5186.79345
- Smirnov V.S., Lyalina L.V., Milichkina A.M., Khamitova I.V., Zueva E.V., Ivanov V.A., Zaguzov V.S., Totolian A.A. Longitudinal randomized cohort study of SARS-CoV-2 antibody seroprevalence in the St. Petersburg population. *Viruses*, 2022, vol. 14, no. 5: 913. doi: 10.3390/v14050913
- Walker G.J., Naing Z., Ospina Stella A., Yeang M., Caguicla J., Ramachandran V., Isaacs S.R., Agapiou D., Bull R.A., Stelzer-Braid S., Daly J., Gosbell I.B., Hoad V.C., Irving D.O., Pink J.M., Turville S., Kelleher A.D., Rawlinson W.D. SARS coronavirus-2 microneutralisation and commercial serological assays correlated closely for some but not all enzyme immunoassays. *Viruses*, 2021, vol. 13, no. 2: 247. doi: 10.1016/j.jcv.2020.104512

14. WHO Director — General's opening remarks at the media briefing on COVID-19 — 11 March 2020. URL: <https://www.who.int/director-general/speeches/detail/who-director-general-s-opening-remarks-at-the-media-briefing-on-covid-19---11-march-2020>
15. Wohlgenuth N., Whitt K., Cherry S., Kirkpatrick Roubidoux E., Lin C.Y., Allison K.J., Gowen A., Freiden P., Allen E.K.; St. Jude Investigative Team, Gaur A.H., Estep J.H., Tang L., Mori T., Hijano D.R., Hakim H., McGargill M.A., Krammer F., Whitt M.A., Wolf J., Thomas P.G., Schultz-Cherry S. An assessment of serological assays for SARS-CoV-2 as surrogates for authentic virus neutralization. *Microbiol. Spectr.*, 2021, vol. 9, no. 2: e0105921. doi: 10.1128/Spectrum.01059-21

Авторы:

Зуева Е.В., к.б.н., старший научный сотрудник лаборатории молекулярной иммунологии ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, Санкт-Петербург, Россия;
Беляев Н.Н., д.б.н., старший научный сотрудник отдела новых технологий ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, Санкт-Петербург, Россия;
Вербов В.Н., к.х.н., зав. лабораторией биопрепаратов, зав. отделом новых технологий ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, Санкт-Петербург, Россия;
Лихачев И.В., младший научный сотрудник лаборатории биопрепаратов ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, Санкт-Петербург, Россия;
Бачинин И.А., технолог опытно-промышленного производства ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, Санкт-Петербург, Россия;
Хамитова И.В., к.б.н., зав. центральной клинической диагностической лабораторией ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, Санкт-Петербург, Россия;
Коробова З.Р., лаборант-исследователь лаборатории молекулярной иммунологии ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, Санкт-Петербург, Россия; старший лаборант кафедры иммунологии ГБОУ ВПО Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика Павлова Министерства здравоохранения РФ, Санкт-Петербург, Россия;
Арсентьева Н.А., к.б.н., старший научный сотрудник лаборатории молекулярной иммунологии ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, Санкт-Петербург, Россия;
Тотolian А.А., академик РАН, д.м.н., профессор, директор ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, Санкт-Петербург, Россия; зав. кафедрой иммунологии ГБОУ ВПО Первый Санкт-Петербургский Государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова МЗ РФ, Санкт-Петербург, Россия.

Authors:

Zueva E.V., PhD (Biology), Senior Researcher, Laboratory of Molecular Immunology, St. Petersburg Pasteur Institute, St. Petersburg, Russian Federation;
Belyaev N.N., PhD, MD (Biology), Senior Researcher, Department of New Technologies, St. Petersburg Pasteur Institute, St. Petersburg, Russian Federation;
Verbov V.N., PhD (Chemistry), Head of the Laboratory of Biological Products, Head of the Department of New Technologies, St. Petersburg Pasteur Institute, St. Petersburg, Russian Federation;
Likhachev I.V., Junior Researcher, Laboratory of Biological Products, St. Petersburg Pasteur Institute, St. Petersburg, Russian Federation;
Bachinin I.A., Pilot Industrial Production Technologist, St. Petersburg Pasteur Institute, St. Petersburg, Russian Federation;
Khamitova I.V., PhD (Biology), Head of the Central Clinical Diagnostic Laboratory, St. Petersburg Pasteur Institute, St. Petersburg, Russian Federation;
Korobova Z.R., Investigator (Biologist), Laboratory of Molecular Immunology, St. Petersburg Pasteur Institute, St. Petersburg, Russian Federation; Senior Laboratory Assistant, Department of Immunology, Pavlov First Saint Petersburg State Medical University, St. Petersburg, Russian Federation;
Arsentieva N.A., PhD (Biology), Senior Researcher, Laboratory of Molecular Immunology, St. Petersburg Pasteur Institute, St. Petersburg, Russian Federation;
Totolian A.A., RAS Full Member, PhD, MD (Medicine), Professor, Director, St. Petersburg Pasteur Institute, St. Petersburg, Russian Federation; Head of the Department of Immunology, Pavlov First St. Petersburg State Medical University, St. Petersburg, Russian Federation.

Поступила в редакцию 03.06.2022
 Отправлена на доработку 06.04.2022
 Принята к печати 28.07.2022

Received 03.06.2022
 Revision received 06.04.2022
 Accepted 28.07.2022