

**ХАРАКТЕРИСТИКА НАБОРА РЕАГЕНТОВ «N-COV-2-IGG PS» ДЛЯ  
КОЛИЧЕСТВЕННОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ IGG ЧЕЛОВЕКА К  
НУКЛЕОКАПСИДНОМУ БЕЛКУ SARS-COV-2**

Зуева Е. В.<sup>1</sup>,

Беляев Н. Н.<sup>1</sup>,

Вербов В. Н.<sup>1</sup>,

Лихачев И. В.<sup>1</sup>,

Бачинин И. А.<sup>1</sup>,

Хамитова И. В.<sup>1</sup>,

Коробова З. Р.<sup>1,2</sup>,

Арсентьева Н. А.<sup>1</sup>,

Тотолян А. А.<sup>1,2</sup>.

<sup>1</sup>ФБУН «Научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии имени Пастера», Санкт-Петербург, Россия.

<sup>2</sup>ГБОУ ВПО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика Павлова» Министерства здравоохранения РФ, Санкт-Петербург, Россия.

**CHARACTERIZING A “N-COV-2-IGG PS” DIAGNOSTIC KIT TO  
QUANTIFY SARS-COV-2 NUCLEOCAPSID PROTEIN-SPECIFIC  
HUMAN IGG ANTIBODIES**

Zueva E. V.<sup>a</sup>,

Belyaev N. N.<sup>a</sup>

Verbov V. N.<sup>a</sup>

Lihachov I. V.<sup>a</sup>,

Bachinin I. A.<sup>a</sup>

Khamitova I. V.<sup>a</sup>

Korobova Z. R.<sup>a,b</sup>,

Arsentieva N. A.<sup>a</sup>,

Totolian A. A.<sup>a,b</sup>.

<sup>a</sup> Pasteur Research Institute of Epidemiology and Microbiology, St. Petersburg;

<sup>b</sup> Pavlov First Saint Petersburg State Medical University, St. Petersburg, Russian Federation.

## 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 которого 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  $1\text{BAU/мл}=5,97\text{ УЕ/мл}$ . 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 Covid-19 переболевших пациентов. Сравнение значений концентраций связывающих антител с титрами нейтрализующих антител показало статистически значимую сопоставимость результатов количественного теста и теста микронеutralизации вируса ( $r=0,7310$ ,  $R^2=0,6527$ ) при их параллельном исследовании 80 образцов плазмы крови реконвалесцентов и

больных COVID-19. Значение AUC под ROC кривой, составило 0,71 ( $P < 0,0001$ ), что свидетельствовало о приемлемой информативности набора «N-Cov-2-IgG PS» по отношению его к тесту микронеutralизации. Эффективность разработанного Набора составила 95%, а положительная и отрицательная прогностические ценности составили 97% и 87%. Результаты исследования подтвердили наличие корреляции N-белок связывающих антител с титрами нейтрализующих антител. Проверка между тестовой 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 ВАУ/мл; N белок-связывающие антитела; нейтрализующие антитела; анализ антител.

### **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 Research Institute of Epidemiology and Microbiology 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) in which the 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  $1\text{BAU/ml} = 5.97\text{ AU/ml}$ .

Aim: 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.

Results: 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 serum 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

1 **Введение**

2 11 марта 2020 г. Всемирная организация здравоохранения объявила  
3 вспышку заболеваемости вирусом SARS-CoV-2 пандемией [2].  
4 Распространение вируса и рост заболеваемости COVID-19 по всему миру  
5 потребовало быстрого внедрения в клиническую практику вновь  
6 разработанных диагностических инструментов, в том числе и серологических  
7 тестов. Обнаружение антител к SARS-CoV-2 стало необходимостью для  
8 установления заражения, воздействия вируса у заболевших COVID-19 и  
9 развития иммунитета у лиц после перенесения заболевания или вакцинации,  
10 а также для проведения серо-эпидемиологических исследований. Уже к  
11 июню 2020 г в разных странах были разработаны и зарегистрированы ИФА  
12 наборы и тест-системы, определяющие иммуноглобулины классов М, А и G  
13 к белкам SARS-CoV-2. Такие первые наборы были разработаны на основе  
14 качественного анализа и их результаты анализов определялись по  
15 коэффициентам позитивности или титрам. Вслед за ними, чуть позже к концу  
16 2020 г, были разработаны количественные ИФА наборы, у которых  
17 результаты антител определялись по калибровочной кривой с оценкой в  
18 условных единицах. ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени  
19 Пастера первым в России разработал Набор реагентов «N-Cov-2-IgG PS» для  
20 количественного определения IgG человека к белку N SARS-CoV-2  
21 (временное РУ Росздравнадзора № РЗН 2021/1485). Количественное значение  
22 антител у данного Набора оценивалось в условных единицах (УЕ/мл). В 2021  
23 г ВОЗ сообщила о создании Первого Международного стандарта для  
24 количественного определения иммуноглобулинов человека к SARS-CoV-2  
25 [3,4] в международных антитело-связывающих единицах BAU/мл (Binding  
26 Antibody Units). Таким образом, использование в лабораторной практике  
27 Международного Стандарта, как надежного инструмента построения  
28 калибровочных кривых, способствовало гармонизации получаемых  
29 результатов количественного определения SARS-CoV-2 антиген  
30 связывающих и нейтрализующих антител на глобальном уровне. В связи с

31 этим, нами была проведена работа по переводу значений калибратора из  
32 единиц УЕ/мл в ВАУ/мл путем определения коэффициента перерасчета и по  
33 повторной регистрации Набора (РУ № РЗН 2022/16633 бессрочно).

34 В настоящее время в России разработано и зарегистрировано восемь  
35 ИФА наборов для количественного определения IgG антител в  
36 международных единицах ВАУ/мл, семь из которых направлены на  
37 определение IgG антител к поверхностному гликопротеину S (Spike) или к  
38 участку RBD (рецептор-связывающий домен) S белка SARS-CoV-2.  
39 Представленный нами Набор «N-CoV-2-IgG PS» отличается тем, что  
40 предназначен для определения количества антител против N белка как у  
41 клинически переболевших COVID-19, так и у лиц с бессимптомным  
42 течением заболевания, а также для проведения скрининга антител с целью  
43 определения истинной частоты заражения COVID-19 в разных популяциях.  
44 Для подтверждения такого предназначения Набора была проведена  
45 валидация функциональных характеристик и проверка согласованности  
46 между ИФА «N-CoV-2-IgG PS» и тестом микронеutralизации SARS-CoV-2  
47 вируса с оценкой показателей информативности и эффективности.

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

53 Материалы и методы

54 Образцы плазмы крови больных COVID-19 (n=57) на сроках 0-24 дней  
55 после получения положительных результатов ПЦР тестов, доноров-  
56 реконвалесцентов (n=22) на сроках 31-56 дней после инфицирования были  
57 получены в Отделении переливания крови Первого Санкт-Петербургского  
58 государственного медицинского университета имени академика И.П.Павлова  
59 (ПСПбГМУ им. Павлова) и переданы в Центральную клиническую  
60 диагностическую лабораторию (ЦКДЛ) Медицинского центра ФБУН НИИ



61 эпидемиологии и микробиологии имени Пастера (НИИ им. Пастера) для  
62 дальнейшего исследования в рамках договора о научном сотрудничестве.  
63 Образцы плазмы крови (n=83) были получены от лиц, переболевших COVID-  
64 19. Взятие крови проводили в ЦКДЛ на сроках 30 - 100 дней после  
65 инфицирования. Критериями включения были возраст пациентов старше 18  
66 лет, положительный мазок на SARS-CoV-2, наличие согласия на участие.  
67 Исследование проводилось по одобрению этического комитета НИИ им.  
68 Пастера. Все образцы плазмы хранились в морозильной камере при -80° С.

69 Набор реагентов N-Cov-2-IgG PS для количественного определения  
70 специфических IgG антител к нуклеокапсидному белку (N антиген)  
71 коронавируса SARS-CoV-2 основан на взаимодействии антител с N  
72 антигеном, сорбированным в 96-луночные микропланшеты (High Binding  
73 Corning Incorporated), с последующим образованием иммунного комплекса с  
74 пероксидазным конъюгатом моноклональных антител к тяжелой цепи  
75 иммуноглобулинов G человека (ООО «Полигност» Россия). Рекомбинантный  
76 полноразмерный (419 аминокислоты) нуклеокапсидный белок SARS-CoV-2  
77 (His-tag M.м.=48,9 кДа) был приобретен в ООО «Иннова плюс» (Россия). В  
78 качестве Калибратора использовали пул плазмы крови доноров  
79 переболевших Covid-19. Нулевая калибровочная проба K<sub>0</sub> представляла  
80 собой разведенный 1:100 пул образцов плазмы крови здоровых доноров от  
81 2018 года.

82 Коэффициент перерасчета условных единиц количества IgG антител на  
83 международные единицы был определен путем сравнения калибровочной  
84 кривой, построенной по средним значениям оптической плотности (ОП)  
85 полученных от трех образцов Калибратора (Рис.1А), с Международным  
86 Стандартом. Перерасчет осуществляли двух шаговым анализом:  
87 первоначально определяли значения калибровочных проб в ВАУ/мл по  
88 Международному стандарту, затем проводили сопоставление  
89 количественных значений калибровочных проб в УЕ/мл с полученными на  
90 первом этапе значениями ВАУ/ml (Рис.2Б).

91           Функциональные характеристики Набора определяли в соответствии с  
92 рекомендациями ГОСТ Р 51352-2013 [1]. Порог серопозитивности Набора  
93 «N-Cov-2-IgG PS» определяли методом линейной регрессии калибровочной  
94 кривой по формуле  $LoQ = 10 * (Sy/S)$ , где  $Sy$  - стандартное отклонение для  
95 средних значений точки калибровочной пробы K7, находящейся на уровне  
96 аппроксимации предела обнаружения антител,  $S$  - наклон линии регрессии  
97 logit-log Калибровочной кривой [2].

98           Количественное содержание антител в исследуемых образцах  
99 рассчитывали по калибровочной кривой, построенной по семи  
100 калибровочным пробам (K1-K7) и нулевой пробой K<sub>0</sub>. Полученные  
101 концентрации исследуемых образцов сывороток/плазмы выражали в  
102 международных единицах (Binding Antibody Units) ВАУ/мл. Учет  
103 результатов анализа осуществляли умножением количественных значений,  
104 на коэффициент 100 в соответствии с разведением исследуемых образцов  
105 1:100.

106           Сравнение результатов определения IgG антител, полученных при  
107 параллельном исследовании 83 образцов плазмы на двух наборах -  
108 количественного набора «N-Cov-2-IgG PS» и качественного набора «ИФА  
109 анти-SARS-CoV-2 IgG» (РУ № РД-38069/98980), а также при параллельном  
110 сравнении значений количественных IgG антител и титров нейтрализующих  
111 антител 79 образцов осуществляли с помощью корреляционного анализа  
112 Спирмена. Коэффициент ранговой корреляции Спирмена оценивали по  
113 шкале Чеддека: 1 – полная связь; 0,99- 0,71 – сильная связь; 0,7 – 0,3 –  
114 средняя связь; 0,3 – 0,1 слабая, 0 – нет связи. Оценку качественного наличия  
115 антител осуществляли по индексу серопозитивности, который рассчитывали  
116 как 3-х кратное среднее значение оптической плотности отрицательного  
117 контрольного образца. Результаты ниже порога отсечения 0,9 считались  
118 отрицательными. За значение титра связывающих антител принимали  
119 наибольшее разведение образца, оптическая плотность которого была выше  
120 порога отсечения. Определение нейтрализующей активности образцов

121 плазмы крови больных и реконвалесцентов с помощью теста  
122 микронеutralизации вируса SARS-CoV-2 (МНВ) с использованием клеток  
123 VeroE6 было осуществлено в ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор». За значение титра  
124 нейтрализующих антител принимали наибольшее разведение образца  
125 плазмы, полностью защищающее клетки от цитопатического эффекта в  
126 половине дублированных лунок микропланшета. Титр теста МНВ  $\leq 40$   
127 считался отрицательным.

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

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

143 Результаты и обсуждение.

144 Перерасчет значений условных единиц в международно-признанные  
145 единицы, проведенный путем сопоставления калибровочной кривой,  
146 построенной по значениям УЕ/мл, с калибровочной кривой рассчитанной по  
147 по Международному Стандарту ВОЗ в единицах ВАУ/мл, показал их полную  
148 корреляцию и связь между значениями  $1 \text{ ВАУ/мл} = 5,97 \text{ УЕ/мл}$  (Рис. 1Б).

149 Набор «N-Cov-2-IgG PS» имел следующие функциональные  
150 характеристики: аналитическая чувствительность с учетом разведения 1:100

151 составила 3 ВАУ/мл, концентрации IgG антител в трех образцах сывороток  
152 крови при их пропорциональном разведении холостыми образцами имели  
153 линейный характер в диапазоне 837-17 ВАУ/ml, точность измерения  
154 составила 90-110%, предел количественного определения составил 16,0  
155 ВАУ/мл.

156 Проведено сравнение набора «N-Cov-2-IgG PS» и набора «ИФА анти-  
157 SARS-CoV-2 IgG» при параллельном исследовании 83 образцов плазмы  
158 крови Covid-19 переболевших пациентов, для определения наличия  
159 корреляции между значениями концентраций антител и значениями титров  
160 антител (Рис.2А) и индексов позитивности (Рис.2Б). Коэффициент  
161 корреляция Спирмена  $r=0,8436$  ( $P<0,0001$ ) свидетельствовал о значительной  
162 связи значений концентраций антител со значениями титров антител, при  
163 этом коэффициент линейной регрессии  $R^2=0,7802$  подтвердил наличие их  
164 статистически значимой связи. В тоже время, корреляционная связь  
165 ( $r=0,6648$ ) между значениями концентраций антител и значениями индексов  
166 позитивности антител была средней плотности, а значение коэффициента  
167 линейной регрессии  $R^2=0,3307$  свидетельствовало о существенном различии  
168 между количественным и качественным тестами. Такое различие в  
169 сопоставлении количественного набора с двумя разными вариантами анализа  
170 и расчета одного и того же качественного набора ИФА могут  
171 свидетельствовать о несовпадении результатов определения антител по  
172 коэффициенту позитивности с результатами определения титров антител. В  
173 данном случае коэффициент позитивности не мог служить критерием  
174 диагностики COVID-19. При этом, применение трудоемкого метода  
175 титрования образцов в качественном тесте, по-видимому, позволяет получать  
176 диагностически значимые результаты определения антител. Кроме того, была  
177 осуществлена оценка соответствия разработанного Набора с тестом МНВ  
178 при параллельном исследовании 79 образцов плазмы крови  
179 реконвалесцентом и больных COVID-19 (Рис.2В). Сопоставление значений  
180 концентраций связывающих антител к белку нуклеокапсида с титрами

181 нейтрализующих антител ( $r=0,7410$ ) показало значительную корреляционную  
182 связь между ними. Коэффициент линейной регрессии  $R^2=0,6538$  подтвердил  
183 наличие статистически значимой сопоставимости количественного ИФА «N-  
184 Cov-2-IgG PS» и теста МНВ.

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

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

204 Эффективность разработанного Набора оценивали относительно теста  
205 МНВ путем расчета чувствительности и специфичности по числам ложно  
206 положительных и истинно положительных образцов плазмы крови  
207 болеющих пациентов и реконвалесцентов ( $n=79$ ), при этом образцы с  
208 отрицательными значениями нейтрализующих антител ( $n=14$ ), полученные  
209 от пациентов на первой недели заболеваемости, были приняты за истинно  
210 отрицательные. Серопревалентность нейтрализующих антител была 82,28%.

211 Коэффициент сопряженности Пирсона  $C=0,6542$  превышал значение 0,5, что  
212 свидетельствовало о достоверной взаимозависимости между  
213 положительными и отрицательными результатами количественного ИФА и  
214 теста МНВ. Чувствительность и специфичность разработанного Набора  
215 относительно теста МНВ составили 97,01% (ДИ95% 89,63-99,64) и 87,50%  
216 (ДИ95% 61,65-98,45) с высокой положительной прогностической  
217 ценностью. Более низкое значение специфичности объясняется, по-  
218 видимому, тем, что у некоторых пациентов на первой недели заболевания,  
219 связывающие антитела могли образовываться раньше нейтрализующих  
220 антител, что и привело к получению ложноположительных результатов.

221 Тест микронеutralизации аутентичного вируса является «золотым  
222 стандартом» выявления защитных антител [5]. Данные опубликованных  
223 исследований [3,4,6,10,14], проведенных на различных ИФА тестах и  
224 коммерческих тест-системах, определяющих антитела как к S белкам, так и N  
225 белкам SARS-CoV-2, показали, что результаты ИФА могут иметь хорошую  
226 корреляцию антител с результатами теста нейтрализации аутентичного  
227 вируса. Такое тестовое сопоставление важно для подтверждения  
228 правильности определения положительных и отрицательных результатов  
229 ИФА при проведении скрининга антител.

230 Таким образом, результаты проведенного исследования  
231 продемонстрировали наличие хорошей корреляционной связи между N-белок  
232 связывающими антителами, и сопоставимости разработанного нами Набора с  
233 тестом нейтрализации SARS-CoV-2 вируса. Проверка между тестовой  
234 согласованности свидетельствовала об информативности и эффективности  
235 разработанного Набора, что подтвердило его потенциал для проведения  
236 скрининга IgG антител у лиц переболевших COVID-19 и для использования  
237 его в масштабных популяционных исследованиях [7,8,9] для оценки  
238 серопревалентности к COVID-19 в разных группах населения.

## РИСУНКИ

### Рисунок 1.

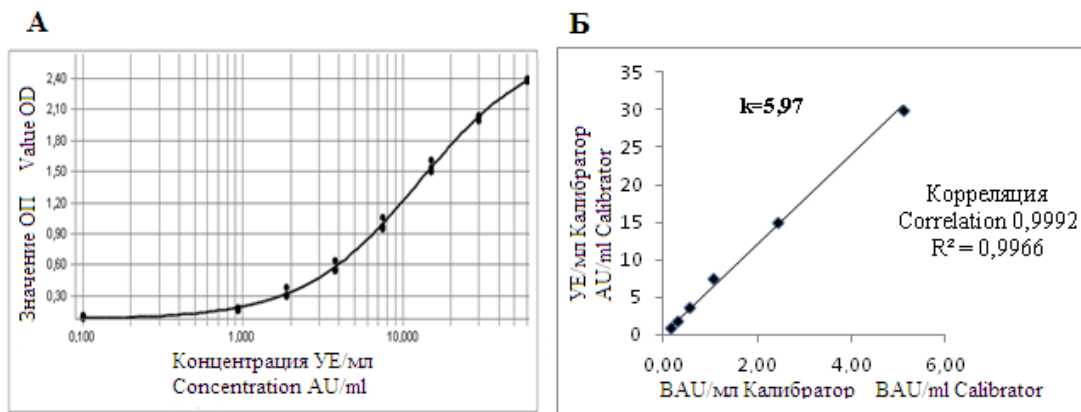
А. Калибровочная кривая 4-х параметрической логистической регрессии.

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



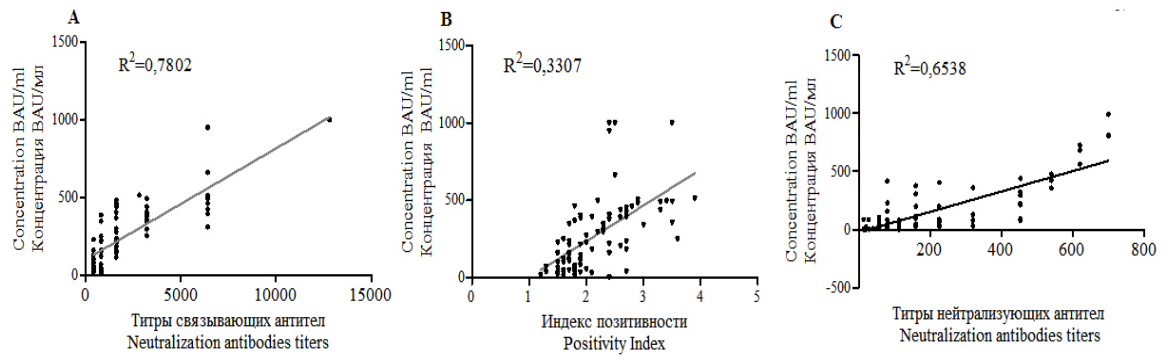
**Рисунок 2.**

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) значениями индексов позитивности измеренных с использованием качественного ИФА набора, (В) титров нейтрализующих антител полученных методом микронейтрализации SARS-CoV-2 вируса. 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)  $p<0.0001$ .

**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. 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)  $p<0.0001$ .





**Рисунок 3.**

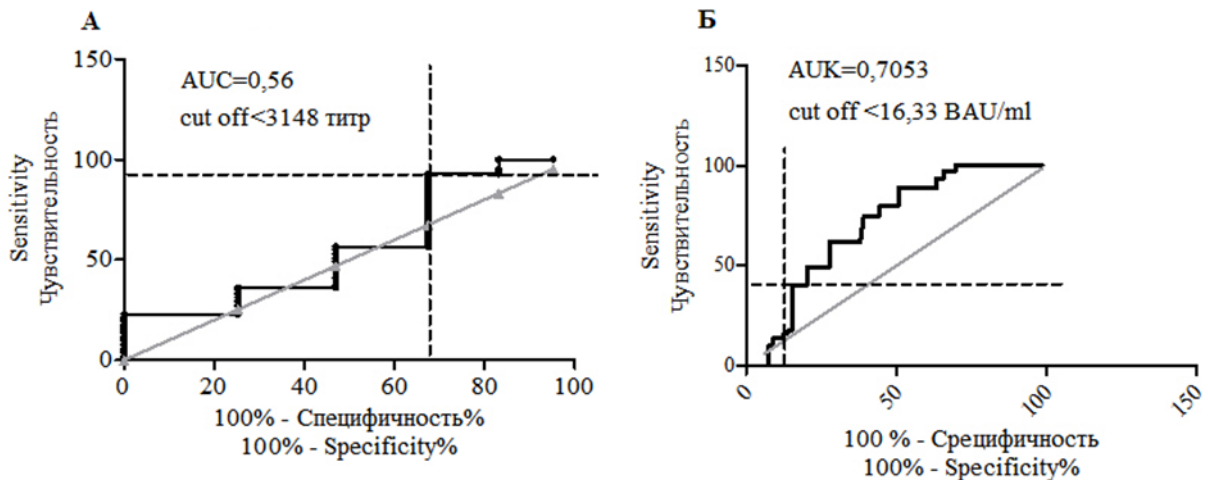
ROC-кривые (А) титры антител качественного набора «ИФА анти-SARS-CoV-2 IgG» относительно концентрациям антител количественного «N-Cov-2-IgG PS» (Б) концентрации антител количественного «N-Cov-2-IgG PS» относительно титров нейтрализующих антител.

Пересечение пунктирных линий соответствует значения порога отсечения.

**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" (B) the antibodies concentration of the quantitative kit "N-Cov-2-IgG PS" relative to neutralizing antibody titers.

The dotted line intersection corresponds to the cut-off level.



## ТИТУЛЬНЫЙ ЛИСТ\_МЕТАДААННЫЕ

### Блок 1. Информация об авторе ответственном за переписку

**Зуева Елена Викторовна**, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории молекулярной иммунологии ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера. 197101, Россия, Санкт-Петербург, ул. Мира 14

Телефон : 8-921-382-50-07. E-mail: [elenazueva9@gmail.com](mailto:elenazueva9@gmail.com)

**Zueva Elena Victorovna**, PhD (Biological Sciences), Senior Researcher, Laboratory of Molecular Immunology, Pasteur Research Institute of Epidemiology and Microbiology, St.Petersburg, Russian Federation . 197101, Russian Federation, St.Petersburg , Mira str. 14

Phone: +7-921-382-50-07. E-mail: [elenazueva9@gmail.com](mailto:elenazueva9@gmail.com)

### Блок 2. Информация об авторах

**Беляев Николай Николаевич**, доктор биологических наук, старший научный сотрудник отдела новых технологий ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера

**Belyaev Nikolai Nikolaevich**, Dr. Sc. (Biology), Senior Researcher, Department of New Technology, Pasteur Research Institute of Epidemiology and Microbiology, St. Petersburg, Russian Federation.

**Вербов Вячеслав Николаевич**, кандидат химических наук, заведующий лабораторией биопрепаратов, заведующий отделом новых технологий ФБУН «Научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии имени Пастера», Санкт-Петербург, Россия.

**Verbov Vyacheslav Nikolaevich**, PhD (Chemistry), Head, Laboratory of Biological Products, Head, Department of New Technologies, Pasteur Research Institute of Epidemiology and Microbiology, St. Petersburg, Russian Federation.

**Лихачев Иван Владимирович**, мл. научн. Сотрудник лаборатории биопрепаратов ФБУН «Научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии имени Пастера», Санкт-Петербург, Россия.

**Lihachov Ivan Vladimirovich**, Junior Researcher, Laboratory of Biological Products, Pasteur Research Institute of Epidemiology and Microbiology, St. Petersburg, Russian Federation.

**Бачинин Игорь Анатольевич**, технолог опытно-промышленного производства ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера  
**Bachinin Igor Anatolevich**, Pilot Industrial Production Technologist, Pasteur Research Institute of Epidemiology and Microbiology, St. Petersburg, Russian Federation.

**Хамитова Ирина Викторовна**, заведующая центральной клинической диагностической лабораторией ФБУН «Научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии имени Пастера», Санкт-Петербург, Россия.

**Khamitova Irina Victorovna**, PhD (Biology), Head, Central Clinical Diagnostic Laboratory, Pasteur Research Institute of Epidemiology and Microbiology, St. Petersburg, Russian Federation.

**Коробова Зоя Романовна**, лаборант-исследователь лаборатории молекулярной иммунологии ФБУН «Научно-исследовательский институт 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.

**Korobova Zoia Romanovna**, MD (Medicine), PhD student, Laboratory of Molecular Immunology, Pasteur Research Institute of Epidemiology and Microbiology, St. Petersburg; Senior Laboratory Assistant, Department of Immunology, Pavlov First Saint Petersburg State Medical University, Russian Federation.

**Арсентьева Наталья Александровна**, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории молекулярной иммунологии ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, Санкт-Петербург, Россия.

**Arsentieva Natalya Alexandrovna** – PhD (Biological Sciences), Senior Researcher, Laboratory of Molecular Immunology, Pasteur Research Institute of Epidemiology and Microbiology, St. Petersburg, Russian Federation

**Тотолян Арег Артемович**, д.м.н., профессор, академик. РАН, заведующий лабораторией молекулярной иммунологии, директор ФБУН «Научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии имени Пастера», Санкт-Петербург, Россия. Заведующий кафедрой иммунологии ГБОУ ВПО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика Павлова» Министерства здравоохранения РФ, Санкт-Петербург, Россия.

**Totolian Areg Artemovich**, PhD, MD (Medicine), Professor, Full Member, Russian Academy of Sciences, Head, Laboratory of Molecular Immunology, Director, Pasteur Research Institute of Epidemiology and Microbiology, St. Petersburg; Head, Department of Immunology, Pavlov First Saint Petersburg State Medical University, Russian Federation.

**Блок 3. Метаданные статьи**

**ХАРАКТЕРИСТИКА НАБОРА РЕАГЕНТОВ «N-COV-2-IGG PS» ДЛЯ  
КОЛИЧЕСТВЕННОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ IGG ЧЕЛОВЕКА К  
НУКЛЕОКАПСИДНОМУ БЕЛКУ SARS-COV-2**

**CHARACTERISTICS OF THE “N-COV-2-IGG PS” REAGENT KIT FOR  
THE QUANTITATIVE DETERMINATION OF HUMAN IGG ANTIBODY  
TO THE SARS-COV-2 NUCLEOCAPSID PROTEIN**

**CHARACTERIZING A “N-COV-2-IGG PS” DIAGNOSTIC KIT TO  
QUANTIFY SARS-COV-2 NUCLEOCAPSID PROTEIN-SPECIFIC  
HUMAN IGG ANTIBODIES**

Сокращенное название для верхнего колонтитула: *ИФА набор SARS-CoV-2 / SARS-CoV-2 ELISA kit.*

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

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

Краткое сообщение

Количество страниц текста – 8, количество рисунков – 3.

17.03.2022

### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Порядковый номер ссылки	Авторы, название публикации и источника, где она опубликована, выходные данные	ФИО, название публикации и источника на английском языке	Полный интернет-адрес ( URL ) цитируемой статьи
1.	ГОСТ Р 51352-2013. Медицинские изделия для диагностики ин витро.	GOST R 51352-2013 In vitro diagnostic medical devices. Test methods.	<a href="https://docs.cntd.ru/document/1200108445">https://docs.cntd.ru/document/1200108445</a>
2.	Alankar S, Vipin B. G. Methods for the determination of limit of detection and limit of quantitation of the analytical methods. Chronicles of Young Scientists, 2011, vol. 2(1), pp. 21-25		doi.10.4103/2229-5186.79345 <a href="http://www.cysonline.org">http://www.cysonline.org</a>
3	Jääskeläinen AJ, Kuivanen S, Kekäläinen E, Ahava MJ, Loginov R, Kallio-Kokko H, et al. Performance of Six SARS-CoV-2 Immunoassays in Comparison With Microneutralisation. J Clin Virol (2020) 129:104512.		doi: 10.1016/j.jcv.2020.104512 <a href="https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32563180/">https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32563180/</a>
4	James J, Rhodes S, Ross CS, Skinner P, Smith SP, Shipley R, Warren CJ, Goharriz H, McElhinney LM, Temperton N, Wright E, Fooks AR, Clark TW, Brookes SM, Brown IH, Banyard AC. Comparison of Serological Assays for the Detection of SARS-CoV-2		doi:10.3390/v13040713. <a href="https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8549747/">https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8549747/</a>

	Antibodies. Viruses. 2021 Apr 20;13(4):713.		
5	Klasse P.J. Neutralization of Virus Infectivity by Antibodies: Old Problems in New Perspectives. Adv.Biol. 2014; <b>2014</b> :157895.		doi: 10.1155/2014/157895 <a href="https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27099867/">https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27099867/</a>
6	1. 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., et al. Heterogeneous antibodies against SARS-CoV-2 spike receptor binding domain and nucleocapsid with implications for COVID-19 immunity. JCI Insight. 2020;5:e142386.		doi: 10.3390/v13020247. <a href="https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32796155/">https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32796155/</a>
7	Popova A.Yu., Kasymov O.T., Smolenski V.Y., Smirnov V.S., Egorova S.A., Nurmatov Z.S., et.al. SARS-CoV-2 Herd Immunity of the Kyrgyz Population in 2021. Preprint. 2022.		<a href="https://doi.org/10.21203/rs.3.rs-1138128/v1">https://doi.org/10.21203/rs.3.rs-1138128/v1</a>
8	Popova A.Yu., Tarasenko A.A., Smolenskiy V.Yu., Egorova S.A., Smirnov V.S., et.al. Herd immunity to SARS-CoV-2 among the population of the Republic of Belarus amid the COVID-19 pandemic. Russian Journal of		doi: 10.15789/2220-7619-HIT-1798A <a href="https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/?term=Herd+immunity+to+SARS-CoV-2+among+the+population+of+the+Rep">https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/?term=Herd+immunity+to+SARS-CoV-2+among+the+population+of+the+Rep</a>



	Infection and Immunity = Infektsiya i immunitet, 2021, vol. 11, no. 5, pp. 887–904		<u>ublic+of+Belarus+amid+the+COVID-19+pandemic.</u>
9	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. <i>Viruses</i> 2022, 14, 913.		<u>https://doi.org/10.3390/v14050913.</u>
10	Walker GJ, Naing Z, Ospina Stella A, Yeang M, Caguicla J, Ramachandran V, Isaacs SR, Agapi D, Bull RA, Stelzer-Braid S, Daly J, Gosbell IB, Hoard VC, Irving DO, Pink JM, Turville S, Kelleher AD, Rawlinson WD. SARS Coronavirus-2 Microneutralisation and Commercial Serological Assays Correlated Closely for Some but Not All Enzyme Immunoassays. <i>Viruses</i> . 2021 Feb 4;13(2):247.		doi: 10.1016/j.jcv.2020.104512 <u>https://www.ncbi.nlm.nih.gov/</u>
11	WHO Director-General's opening remarks at the media briefing on COVID-19 - 11 March 2020		<u>https://www.who.int/director-general/speeches/detail/who-director-general-s-opening-remarks-at-the-media-briefing-on-covid-19---11-march-2020</u>

12	WHO First WHO International Standard for anti-SARS-CoV-2 immunoglobulin. 2021		<a href="https://www.who.int/groups/expertcommittee-on-biological-standardization">https://www.who.int/groups/expertcommittee-on-biological-standardization</a>
13	WHO International Standard for anti-SARS-CoV-2 immunoglobulin. Lancet, 2021vol 397		<a href="https://www.thelancet.com/home">https://www.thelancet.com/home</a>
14	Wohlgemuth N., Whitt K., Cherry S., Kirkpatrick Roubidoux E., Lin C.-Y., Allison K.J., Gowen A., Freiden P., Allen E.K., Gaur A.H., et al. An Assessment of Serological Assays for SARS-CoV-2 as Surrogates for Authentic Virus Neutralization. Microbiol. Spectr. 2021;9:e0105921.		doi: 10.1128/Spectrum.01059-21. - <a href="https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34704832/">https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34704832/</a>
15	Working reagent for anti-SARS-CoV-2 immunoglobulin NIBSC code: 21/234 (Version 2.0, Dated 20/08/2021)		<a href="https://www.nibsc.org/products/brm_product_catalogue/detail_page.aspx?catid=21/234">https://www.nibsc.org/products/brm_product_catalogue/detail_page.aspx?catid=21/234</a>

**ИФА НАБОР SARS-COV-2  
ELISA KIT SARS-COV-2**

**10.15789/2220-7619-CAN-1904**