

Серодиагностика эпидемически значимых для Российской Федерации инфекционных заболеваний

А.А.Горбатов, П.В.Соловьев, Е.В.Баранова, С.Г.Игнатов, С.Ф.Бикетов

ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора, Оболенск, Московская область, Российская Федерация

Постоянные вспышки и эпидемии вирусных заболеваний являются одними из главных проблем здравоохранения как в мире, так и в Российской Федерации. Метод полимеразной цепной реакции, который является золотым стандартом при постановке диагноза при вирусном заболевании, по ряду причин может давать ложноотрицательные результаты. Для повышения эффективности клинической диагностики как дополнительные средства широко применяются серологические скрининги. Использование иммунологических методов дает ряд преимуществ, таких как низкая стоимость анализа, более короткое время постановки, простота проведения анализа, возможность применения в лабораториях с минимальным оснащением, в том числе полевых и передвижных. В обзоре рассматриваются современные высокочувствительные и высокоспецифичные методы серодиагностики: иммуноферментный, иммунохроматографический, хемилюминесцентный и иммунофлуоресцентный анализы.

Ключевые слова: серодиагностика инфекционных заболеваний, иммуноферментный, иммунохроматографический, хемилюминесцентный и иммунофлуоресцентный анализы

Для цитирования: Горбатов А.А., Соловьев П.В., Баранова Е.В., Игнатов С.Г., Бикетов С.Ф. Серодиагностика эпидемически значимых для Российской Федерации инфекционных заболеваний. Бактериология. 2021; 6(4): 56–61. DOI: 10.20953/2500-1027-2021-4-56-61

Serodiagnostics of infectious diseases epidemically significant for the Russian Federation

A.A.Gorbatov, P.V.Soloviev, E.V.Baranova, S.G.Ignatov, S.F.Biketov

State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology, Obolensk, Moscow Region, Russian Federation

Constant outbreaks and epidemics of viral diseases are one of the main health problems both in the world and in the Russian Federation. The PCR method, which is the «gold standard» for the diagnosis of a viral disease, can give false negative results for a number of reasons. To increase the efficiency of clinical diagnostics, serological screenings are widely used as additional means. The use of immunological methods combines several advantages, such as low cost of analysis, shorter staging time, ease of analysis, it can be used in laboratories with minimal equipment, including field and mobile conditions. The review examines modern highly sensitive and highly specific serodiagnostic methods: enzyme-linked immunosorbent assay, lateral flow immunoassay, chemiluminescence immunoassay and immunofluorescence immunoassay.

Key words: serodiagnosis of infectious diseases, enzyme immunoassay, immunochromatographic, chemiluminescent and immunofluorescent analyzes

For citation: Gorbatov A.A., Soloviev P.V., Baranova E.V., Ignatov S.G., Biketov S.F. Serodiagnostics of infectious diseases epidemically significant for the Russian Federation. Bacteriology. 2021; 6(4): 56–61. (In Russian). DOI: 10.20953/2500-1027-2021-4-56-61

Изменение окружающей среды, потепление климата, увеличение плотности населения и другие факторы провоцируют появление эпидемически значимых для Российской Федерации (РФ) инфекционных заболеваний. Для успешной борьбы и быстрой детекции иммунного ответа к таким заболеваниям необходимы быстрые и чувстви-

тельные тесты. Серодиагностические методы являются удобными, быстрыми, высокочувствительными и высокоспецифичными, часто не требующими специального дорогого оборудования. Большинство серологических методов основаны на принципе специфического связывания антигена с антителом. Основные из них: иммуноферментный анализ

Для корреспонденции:

Горбатов Алексей Александрович, кандидат медицинских наук, научный сотрудник отдела иммунобиохимии патогенных микроорганизмов ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора

Адрес: 142279, Московская обл., г.о. Серпухов, р.п. Оболенск, Территория «Квартал А», 24
Телефон: (4967) 36-0065
E-mail: gorbatov1986@mail.ru

Статья поступила 06.12.2021 г., принята к печати 27.12.2021 г.

For correspondence:

Aleksey A. Gorbatov, MD, PhD, Researcher, Department of Immunobiology of Pathogenic Microorganisms, State Research Center of Applied Microbiology and Biotechnology of the Rosпотребнадзор

Address: SRCAMB Bld. 24, "Quarter A" Territory, 142279, Obolensk, City District Serpukhov, Moscow Region, Russian Federation
Phone: (4967) 36-0065
E-mail: gorbatov1986@mail.ru

The article was received 06.12.2021, accepted for publication 27.12.2021

(ИФА), иммунохроматографический анализ (ИХА), хемилюминесцентный анализ (ХЛА) и иммунофлуоресцентный анализ (МФА) [1]. Все эти методы имеют свои преимущества и недостатки, связанные с эффективностью обнаружения, стоимостью анализа, удобством эксплуатации и ограничениями при диагностике [2].

Иммуноферментный анализ. ИФА является наиболее часто используемым классическим серологическим тестом со временем проведения от 2 до 8 ч [3]. Он был изобретен в 1960-х гг. и широко используется по настоящее время [4]. В зависимости от целей и задач ИФА можно разделить на сэндвич-ИФА, непрямой ИФА, ИФА с двойным антителом, конкурентный ИФА, блокирующий ИФА и другие различные типы [5].

Хемилюминесцентный анализ. Принцип ХЛА аналогичен принципу ИФА, использующему преимущества высокого сродства к связыванию между вирусными антигенами и антителами хозяина, но разница в том, что ХЛА использует химическую реакцию для получения светящегося химического зонда для обнаружения положительного сигнала [6]. Как правило, результаты ХЛА получаются за 0,5–2 ч [7]. В настоящее время точность теста ХЛА часто выше, чем у других методов.

Иммунохроматографический анализ. ИХА – это недорогой, простой, быстрый и портативный тест. Для получения результата анализа этим быстрым методом диагностики требуется всего от 5 до 30 мин, а также небольшое количество исследуемого образца, не требуется дополнительного оборудования, можно использовать как в лабораториях медицинских учреждений, так и самостоятельно в домашних условиях [8]. Для анализа в формате ИХА можно использовать различные биологические жидкости (сыворотку, плазму, цельную кровь, мочу, слюну, слезы) [9].

Иммунофлуоресцентный анализ. МФА и ИФА имеют схожие способы обнаружения, за исключением того, что результаты теста МФА показаны с помощью флуоресцентной микроскопии. Более того, для МФА требуется, чтобы люди наблюдали за интенсивностью флуоресценции клеток под микроскопом, что делает результаты в определенной степени субъективными [10]. Из-за этих недостатков тест МФА не получил широкого применения в серологической диагностике.

Было проведено сравнение диагностических показателей (чувствительность и специфичность) различных серологических методов. Показано, что ИФА был менее чувствительным, чем ХЛА, но более чувствительным, чем ИХА, при диагностике COVID-19 [11], что означает, что тест ХЛА более эффективен для диагностики ранних инфицированных пациентов с низкой концентрацией антител. Специфичность ХЛА и ИХА была аналогичной, но общая специфичность ХЛА была немного выше, чем у двух других методов.

Основные эпидемиологически значимые вирусные заболевания

На сегодняшний день медицинской науке известны механизмы возникновения новых вирусных инфекций, изучены клинико-эпидемиологические особенности «птичьего» гриппа H5N1 (2007 г.), «свиного» гриппа A/H1N1/pdm (2009), тяжелого острого респираторного синдрома (SARS-nCoV, 2002 г.), ближневосточного коронавирального синдрома

(MERS-CoV, 2015 г.), крупнейшей вспышки болезни Эбола в Западной Африке (2014–2015 гг.), вспышки лихорадки Зика (2016 г.).

Грипп – одно из наиболее агрессивных и непредсказуемых заболеваний, стоящее особняком в ряду известных острых респираторных вирусных инфекций. Первая пандемия гриппа XXI века была объявлена Всемирной организацией здравоохранения (ВОЗ) в июне 2009 г. и завершилась в августе 2010 г. По оценкам ВОЗ, в 2009 г. от вируса гриппа скончалось 18 449 человек. В это число вошли только случаи лабораторно подтвержденных заражений вирусом H1N1.

Пандемия, вызванная новым коронавирусом SARS-CoV-2, приводит к драматическим медицинским, социальным и экономическим последствиям во всем мире. Несмотря на множество стратегий общественного здравоохранения, включая изоляцию, социальное дистанцирование, широкое использование масок и гигиену рук, эпидемиологическая ситуация в мире остается напряженной. На ноябрь 2021 г. число заболевших во всем мире составило более 200 млн человек, в России зарегистрировано более 9,5 млн подтвержденных случаев COVID-19.

Человечество сталкивается с коронавирусами зоонозной природы уже в третий раз. В 2002 г. в китайской провинции Гуандун впервые была зарегистрирована атипичная пневмония, вызванная вирусом SARS-CoV, что привело в 2003 г. к глобальной пандемии с 10%-й летальностью [12]. Это заболевание с 2004 г. у людей не регистрируется. В 2012 г. в Саудовской Аравии был зарегистрирован другой коронавирус – MERS-CoV, который продолжает заражать людей с ограниченной передачей инфекции от человека к человеку и встречается примерно в 27 странах. Природным резервуаром обоих коронавирусов являются летучие мыши, которые передают возбудителя промежуточным хозяевам (пальмовым цветкам для SARS-CoV и верблюдам-дромадерам для MERS-CoV), что, в свою очередь, приводит к заражению людей [13].

В отличие от SARS-CoV и MERS-CoV SARS-CoV-2, зарегистрированный в Ухане (Китай) в декабре 2019 г., характеризуется быстрым распространением и вирулентной передачей от человека к человеку [13], что привело к глобальной пандемии при летальности в среднем около 4% [14], не завершившейся до настоящего времени. SARS-CoV-2 также является зоонозным вирусом с летучими мышами в качестве его естественного резервуара [13], но промежуточные хозяева не идентифицированы [15].

Диагностика возбудителей вирусных заболеваний

Рассмотрим серологическую диагностику на примере новой коронавирусной инфекции. Согласно временным методическим рекомендациям Министерства здравоохранения РФ «Профилактика, диагностика и лечение новой коронавирусной инфекции (COVID-19)» (версия 9 от 26.10.2020), методы тестирования на антитела к вирусу SARS-CoV-2 рекомендуются использовать в следующих случаях:

- в качестве дополнительного метода диагностики острой инфекции (с учетом серонегативного периода) или при невозможности исследования мазков методом амплификации нуклеиновых кислот, в том числе при госпитализации в стационар по поводу соматической патологии;

- для выявления лиц с бессимптомной формой инфекции;
- для установления факта перенесенной ранее инфекции при обследовании групп риска и проведении массового обследования населения для оценки уровня популяционного иммунитета;
- для отбора потенциальных доноров иммунокомпетентной плазмы.

В связи с ростом массовой вакцинации населения определение уровня антител можно использовать для оценки напряженности поствакцинального иммунитета. Определение антител к разным антигенам возбудителя позволит дифференцировать иммунный ответ после вакцинации и перенесенной инфекции [16].

Метод непрямого ИФА чаще всего используется в серологических исследованиях при обнаружении антител к возбудителю новой коронавирусной инфекции. Основным процессом этого метода заключается в нанесении вирусного белка (N, S), субъединицы белка S (S1) или домена белка (RBD) на твердофазный носитель, который связывается с антителами сыворотки и антителами, связанными с ферментами, для получения хромогенной реакции [17]. В настоящее время на рынке существует множество коммерческих наборов для обнаружения SARS-CoV-2, нацеленных на различные типы антигенов и антител [18]. На территории РФ зарегистрировано более 10 тест-систем в данном формате. Поскольку процесс проведения ИФА относительно сложен [19], некоторые разработчики пытаются применить другие форматы тестов, чтобы сократить время анализа и повысить чувствительность [20].

Основным процессом обнаружения методом МФА заключается в фиксации инфицированных SARS-CoV-2 клеток животных (таких как клетки Vero), инкубированных с сывороткой пациента на предметном стекле. Для реакции требуется живой вирус SARS-CoV-2 в клетках, следовательно, повышается потенциальный риск заражения.

Высокий уровень и стабильность передачи острых респираторных вирусных инфекций, тяжесть заболевания в группах высокого риска – все это способствует пандемии, которая бросает вызов многим системам здравоохранения. Следовательно, понимание и внедрение эффективного тестирования, основанного на фактических данных, является краеугольным камнем для правильного выявления случаев, прогнозирования клинических исходов и разработки стратегий лечения.

Анализ полимеразной цепной реакции с обратной транскрипцией (ОТ-ПЦР), используемые для выявления наличия вирусного генетического материала, стали золотым стандартом диагностики. Однако было продемонстрировано, что методы экстракции РНК, «короткое окно» чувствительности к ОТ-ПЦР после появления симптомов и переменные уровни вирусной нагрузки приводят к ложноотрицательным результатам [21, 22]. Поэтому внедрение иммунологического анализа на антитела представляет значительный интерес как возможность повысить точность диагностики в различных случаях. В современной литературе описано более 200 иммунологических анализов, доступных по всему миру [23–25]. Понимание сильных и слабых сторон этих анализов в различных клинических и исследовательских сценариях имеет решающее значение для дальнейшего использования серологического тестирования на эпидемиологически значимые вирусные инфекции.

Иммунодоминантные антигены вируса SARS-CoV2, используемые в серологических тестах

У большинства людей после контакта с SARS-CoV-2 развивается специфический иммунный ответ. Выделяют четыре основных иммуногенных белка SARS-CoV-2, которые используются при разработке большинства коммерческих тестов для обнаружения антител к SARS-CoV-2.

Нуклеокапсидный (NC) антиген. Является самым распространенным вирусным фосфопротеином, синтезируемым и выделяемым при инфицировании новым коронавирусом. Он участвует в репликации вирусного генома, сборке вирусных частиц и играет важную роль в синтезе вирусной РНК. N-антиген обладает сильной иммуногенностью в раннем периоде заболевания [26].

Спайковый (S) антиген. Представляет собой крупный гликопротеин, состоящий из двух субъединиц (S1 и S2), образующих протеиновый тример на мембране вируса. S1-субъединица формирует головку S-белка, и в ее С-концевой области располагается рецептор-связывающий домен, а в S2-субъединице – пептид слияния, к которому прилегают трансмембранный и цитоплазматический домены [26].

Рецептор-связывающий домен (RBD). RBD используется вирусом для проникновения в клетки хозяина путем связывания с рецептором ангиотензинпревращающего фермента 2 на клетке человека. Обнаружение антител против S-белка, а особенно выявление антител к RBD-антигену, дает информацию об эффективном гуморальном ответе. Большинство вируснейтрализующих антител направлены против RBD SARS-CoV-2, а обнаружение иммуноглобулинов против RBD при COVID-19 имеет высокую корреляцию со способностью плазмы нейтрализовать вирус [27].

Влияние антигенов SARS-CoV-2 на уровень антител к данному возбудителю

Показано, что чувствительность тестов, базирующихся на антителах к N-антигену (51%), выше по сравнению с возможностью обнаружения антител к S-антигену (43%) в раннем периоде сероконверсии (до 14-го дня от появления симптомов) COVID-19 [28]. Есть версия, что у иммунокомпromетированных пациентов вероятность обнаружения антител к N-белку может быть выше, чем возможность получить положительные результаты на анти-S-тестах [29]. В своей работе J.Van Elslande et al. проводили сравнение времени появления положительного результата на антитела при COVID-19 в период до 3 нед. от момента появления симптомов заболевания. Было установлено, что иммуноглобулины к N-антигену становятся доступными для выявления в среднем на 2 дня раньше, чем иммуноглобулины к S-белку [30]. Аналогичная закономерность была установлена у пациентов с SARS в 2003 г., когда было обнаружено, что сероконверсия иммуноглобулинов к N-белкам наступала раньше, чем выявлялись антитела к S-белку [31]. Вне зависимости от антигенной мишени чувствительность тестов на антитела к SARS-CoV-2 достигает максимальных значений к 15–21-му дню появления симптомов заболевания. В крупных исследованиях частота сероконверсии колеблется от 91 до 99% [32].

Оценка долговечности титров циркулирующих антител проводилась в группе пациентов с подтвержденными случая-

ми COVID-19. Исследуемая когорта была составлена из пациентов с бессимптомным, легким, умеренным и тяжелым течением COVID-19, наблюдение продолжалось с 6-го по 240-й день после появления симптомов заболевания. Титры анти-S-антител к SARS-CoV-2 были относительно стабильны от 20-го до 240-го дня, период их полувыведения составил 140 дней (95% ДИ: 89–325), в то время как кинетика иммуноглобулинов к N-антигену SARS-CoV-2 в течение 8 мес. обнаружила более короткий период полувыведения – 68 дней (95% ДИ: 50–106). Для титров антител к RBD SARS-CoV-2 расчетный период полувыведения составил 83 дня (95% ДИ: 62–126) [33].

Также были проведены исследования по анализу иммуноглобулинов А, М, G. Клиническое значение IgA при SARS-CoV-2 установлено недостаточно. Было показано, что появление IgM как раннего маркера инфицирования не обязательно. Во множестве исследований было показано, что особенностью иммунологического ответа на новую коронавирусную инфекцию является небольшой временной промежуток между появлением антител IgM и IgG, а иногда и одновременное их формирование [34]. Иммуноглобулины IgM элиминируются быстрее, чем IgG [35]. Показано, что уровень общего IgM относительно низкий в 1-ю неделю, постепенно увеличивается к 5-й неделе, после чего следует непрерывное снижение до исходного уровня в течение 12 нед. (предел наблюдения). Уровень общего IgG выше, чем IgM в течение 1-й недели и непрерывно увеличивается до 5-й недели, сохраняя плато до 7-й недели, а затем постепенно наблюдалось снижение с 8-й недели, но в конце 12-й недели уровень все еще был значительно повышен [36]. Динамика антител у отдельных пациентов индивидуальна, описаны случаи, когда у пациентов с COVID-19 иммунный ответ реализовался только с участием IgM без синтеза IgG [35]. Поэтому можно сделать вывод, что тесты, которые определяют как IgM, так и IgG, выглядят более чувствительными, чем тесты для отдельных иммуноглобулинов [37].

При изучении иммунитета к возбудителям эпидемически значимых вирусных инфекций для РФ серодиагностика данных заболеваний играет ключевую роль. До сих пор остается неясным, являются ли высокие уровни антител надежной защитой от последующего реинфицирования. Весьма интересным остается вопрос времени сероконверсии и длительности промежутка между появлением клинических симптомов и выработкой антител. Необходимо продолжать исследования по мониторингу напряженности гуморального иммунитета к вирусным инфекциям для более глубокого понимания динамики иммунного ответа, усовершенствования вакцин и профилактики. Поэтому разработка отечественных качественных, высокочувствительных и высокоспецифичных серологических тест-систем является актуальным вопросом диагностики.

Информация о финансировании

Работа выполнена в рамках государственного задания по НИОКР 1.1.17.

Funding information

The publication was carried out within the framework of the state assignment for R&D 1.1.17.

Конфликт интересов

Автор заявляет об отсутствии конфликта интересов, требующего раскрытия в данной статье.

Conflict of interest

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

Литература

- Ejazi SA, Ghosh S, Ali N. Antibody detection assays for COVID-19 diagnosis: an early overview. *Immunol Cell Biol.* 2021 Jan;99(1):21-33. DOI: 10.1111/imcb.12397
- Kubina R, Dziedzic A. Molecular and Serological Tests for COVID-19 a Comparative Review of SARS-CoV-2 Coronavirus Laboratory and Point-of-Care Diagnostics. *Diagnostics (Basel).* 2020 Jun 26;10(6):434. DOI: 10.3390/diagnostics10060434
- Mekonnen D, Mengist HM, Derbie A, Nibret E, Munshea A, He H, Li B, Jin T. Diagnostic accuracy of serological tests and kinetics of severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 antibody: A systematic review and meta-analysis. *Rev Med Virol.* 2021 May;31(3):e2181. DOI: 10.1002/rmv.2181
- Lequin RM. Enzyme immunoassay (EIA)/enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). *Clin Chem.* 2005 Dec;51(12):2415-8. DOI: 10.1373/clinchem.2005.051532
- Butler JE. Enzyme-linked immunosorbent assay. *J Immunoassay.* 2000 May-Aug;21(2-3):165-209. DOI: 10.1080/01971520009349533
- Lin SB, Zheng ZX, Zhang R. [Application and Evaluation of Chemiluminescence Immunoassay in Blood Screening]. *Zhongguo Shi Yan Xue Ye Xue Za Zhi.* 2019 Apr;27(2):569-572. Chinese. DOI: 10.19746/j.cnki.issn.1009-2137.2019.02.042
- Vashist SK. *In Vitro* Diagnostic Assays for COVID-19: Recent Advances and Emerging Trends. *Diagnostics (Basel).* 2020 Apr 5;10(4):202. DOI: 10.3390/diagnostics10040202
- Ang SH, Rambeli M, Thevarajah TM, Alias YB, Khor SM. Quantitative, single-step dual measurement of hemoglobin A1c and total hemoglobin in human whole blood using a gold sandwich immunochromatographic assay for personalized medicine. *Biosens Bioelectron.* 2016 Apr 15;78:187-193. DOI: 10.1016/j.bios.2015.11.045
- Bever CS, Adams CA, Hnasko RM, Cheng LW, Stanker LH. Lateral flow immunoassay (LFIA) for the detection of lethal amatoxins from mushrooms. *PLoS One.* 2020 Apr 17;15(4):e0231781. DOI: 10.1371/journal.pone.0231781
- Goudouris ES. Laboratory diagnosis of COVID-19. *J Pediatr (Rio J).* 2021 Jan-Feb;97(1):7-12. DOI: 10.1016/j.jpeds.2020.08.001
- Gong F, Wei HX, Li Q, Liu L, Li B. Evaluation and Comparison of Serological Methods for COVID-19 Diagnosis. *Front Mol Biosci.* 2021 Jul 23;8:682405. DOI: 10.3389/fmolb.2021.682405
- Du L, He Y, Zhou Y, Liu S, Zheng BJ, Jiang S. The spike protein of SARS-CoV – a target for vaccine and therapeutic development. *Nat Rev Microbiol.* 2009 Mar;7(3):226-36. DOI: 10.1038/nrmicro2090
- Du L, Yang Y, Zhou Y, Lu L, Li F, Jiang S. MERS-CoV spike protein: a key target for antivirals. *Expert Opin Ther Targets.* 2017 Feb;21(2):131-143. DOI: 10.1080/14728222.2017.1271415
- Jiang S, Du L, Shi Z. An emerging coronavirus causing pneumonia outbreak in Wuhan, China: calling for developing therapeutic and prophylactic strategies. *Emerg Microbes Infect.* 2020 Jan 31;9(1):275-277. DOI: 10.1080/22221751.2020.1723441. Erratum in: *Emerg Microbes Infect.* 2020 Dec;9(1):539.
- Ou X, Liu Y, Lei X, Li P, Mi D, Ren L, et al. Characterization of spike glycoprotein of SARS-CoV-2 on virus entry and its immune cross-reactivity with SARS-CoV. *Nat Commun.* 2020 Mar 27;11(1):1620. DOI: 10.1038/s41467-020-15562-9. Erratum in: *Nat Commun.* 2021 Apr 1;12(1):2144.
- Rémi Vernet, Emily Charrier, Julien Grogg and Nicolas Quantitative ELISA Protocol for Detection of Specific Human IgG against the SARS-CoV-2 Spike Protein Mach, MDPI, Vaccines, 9 July 2021, 9, 770.
- Lin AV. Indirect ELISA. *Methods Mol Biol.* 2015;1318:51-9. DOI: 10.1007/978-1-4939-2742-5_5

18. Whitman JD, Hiatt J, Mowery CT, Shy BR, Yu R, Yamamoto TN, et al. Test Performance Evaluation of SARS-CoV-2 Serological Assays. medRxiv. 2020. DOI: 10.1101/2020.04.25.20074856
19. Sidiq Z, Hanif M, Dwivedi KK, Chopra KK. Benefits and limitations of serological assays in COVID-19 infection. Indian J Tuberc. 2020 Dec;67(4S):S163-S166. DOI: 10.1016/j.ijtb.2020.07.034
20. Manalac J, Yee J, Calayag K, Nguyen L, Patel PM, Zhou D, Shi RZ. Evaluation of Abbott anti-SARS-CoV-2 CMIA IgG and Euroimmun ELISA IgG/IgA assays in a clinical lab. Clin Chim Acta. 2020 Nov;510:687-690. DOI: 10.1016/j.cca.2020.09.002
21. Li Y, Yao L, Li J, Chen L, Song Y, Cai Z, Yang C. Stability issues of RT-PCR testing of SARS-CoV-2 for hospitalized patients clinically diagnosed with COVID-19. J Med Virol. 2020 Jul;92(7):903-908. DOI: 10.1002/jmv.25786
22. Xiang F, Wang X, He X, Peng Z, Yang B, Zhang J, et al. Antibody detection and dynamic characteristics in patients with COVID-19. Clin Infect Dis. 2020. ciaa461. DOI: 10.1093/cid/ciaa461
23. Lee CY, Lin RTP, Renia L, Ng LFP. Serological Approaches for COVID-19: Epidemiologic Perspective on Surveillance and Control. Front Immunol. 2020 Apr 24;11:879. DOI: 10.3389/fimmu.2020.00879
24. Cheng MP, Papenburg J, Desjardins M, Kanjilal S, Quach C, Libman M, et al. Diagnostic Testing for Severe Acute Respiratory Syndrome-Related Coronavirus 2: A Narrative Review. Ann Intern Med. 2020 Jun 2;172(11):726-734. DOI: 10.7326/M20-1301
25. Villalta D, Martelli P, Moratto A, Salgarolo V, Ligato E, Conte M, et al. Diagnostic performance of an automated chemiluminescence immunoassay for SARS-CoV-2 IgG and IgM antibodies detection: A real life experience. Pract Lab Med. 2021 May;25:e00227. DOI: 10.1016/j.plabm.2021.e00227
26. Li D, Li J. Immunologic Testing for SARS-CoV-2 Infection from the Antigen Perspective. J Clin Microbiol. 2021 Apr 20;59(5):e02160-20. DOI: 10.1128/JCM.02160-20
27. Suthar MS, Zimmerman MG, Kauffman RC, Mantus G, Linderman SL, Hudson WH, et al. Rapid Generation of Neutralizing Antibody Responses in COVID-19 Patients. Cell Rep Med. 2020 Jun 23;1(3):100040. DOI: 10.1016/j.xcrm.2020.100040
28. Берестовская ВС, Вавилова ТВ, Губанова АВ, Черныш НЮ. Ключевые характеристики тестов для определения антител к SARS-CoV-2. Медицинский алфавит. 2021;13:13-17. DOI: 10.33667/2078-5631-2021-13-13-17
29. Burbelo PD, Riedo FX, Morishima C, Rawlings S, Smith D, Das S, et al. Detection of Nucleocapsid Antibody to SARS-CoV-2 is More Sensitive than Antibody to Spike Protein in COVID-19 Patients. medRxiv [Preprint]. 2020 Apr 24:2020.04.20.20071423. DOI: 10.1101/2020.04.20.20071423. Update in: J Infect Dis. 2020 May 19.
30. Van Elslande J, Decru B, Jonckheere S, Van Wijngaerden E, Houben E, Vandecandelaere P, et al. Antibody response against SARS-CoV-2 spike protein and nucleoprotein evaluated by four automated immunoassays and three ELISAs. Clin Microbiol Infect. 2020 Nov;26(11):1557.e1-1557.e7. DOI: 10.1016/j.cmi.2020.07.038
31. Woo PC, Lau SK, Wong BH, Tsoi HW, Fung AM, Kao RY, et al. Differential sensitivities of severe acute respiratory syndrome (SARS) coronavirus spike polypeptide enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) and SARS coronavirus nucleocapsid protein ELISA for serodiagnosis of SARS coronavirus pneumonia. J Clin Microbiol. 2005 Jul;43(7):3054-8. DOI: 10.1128/JCM.43.7.3054-3058.2005
32. Kaufman HW, Chen Z, Meyer WA 3rd, Wohlgemuth JG. Insights from Patterns of SARS-CoV-2 Immunoglobulin G Serology Test Results from a National Clinical Laboratory, United States, March–July 2020. Popul Health Manag. 2021 Feb;24(S1):S35-S42. DOI: 10.1089/pop.2020.0256
33. Dan JM, Mateus J, Kato Y, Hastie KM, Yu ED, Faliti CE, et al. Immunological memory to SARS-CoV-2 assessed for up to eight months after infection. Science. 2021 Feb 5;371(6529):eabf4063. DOI: 10.1126/science.abf4063
34. Sethuraman N, Jeremiah SS, Ryo A. Interpreting Diagnostic Tests for SARS-CoV-2. JAMA. 2020 Jun 9;323(22):2249-2251. DOI: 10.1001/jama.2020.8259
35. Petersen LR, Sami S, Vuong N, Pathela P, Weiss D, Morgenthau BM, et al. Lack of antibodies to SARS-CoV-2 in a large cohort of previously infected persons. Clin Infect Dis. 2021 Nov 2;73(9):e3066-e3073. DOI: 10.1093/cid/ciaa1685
36. Li K, Huang B, Wu M, Zhong A, Li L, Cai Y, et al. Dynamic changes in anti-SARS-CoV-2 antibodies during SARS-CoV-2 infection and recovery from COVID 19. Nat Commun. 2020 Nov 27;11(1):6044. DOI: 10.1038/s41467-020-19943-y
37. Колупаев ВЕ, Тарасенко ОА. Критерии выбора серологических тестов в лабораторной диагностике COVID-19. Вестник Росздравнадзора. 2020;6:53-61. DOI: 10.35576/2070-7940-2020-5-1-73-78

References

1. Ejazi SA, Ghosh S, Ali N. Antibody detection assays for COVID-19 diagnosis: an early overview. Immunol Cell Biol. 2021 Jan;99(1):21-33. DOI: 10.1111/imcb.12397
2. Kubina R, Dziedzic A. Molecular and Serological Tests for COVID-19 a Comparative Review of SARS-CoV-2 Coronavirus Laboratory and Point-of-Care Diagnostics. Diagnostics (Basel). 2020 Jun 26;10(6):434. DOI: 10.3390/diagnostics10060434
3. Mekonnen D, Mengist HM, Derbie A, Nibret E, Munsha A, He H, Li B, Jin T. Diagnostic accuracy of serological tests and kinetics of severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 antibody: A systematic review and meta-analysis. Rev Med Virol. 2021 May;31(3):e2181. DOI: 10.1002/rmv.2181
4. Lequin RM. Enzyme immunoassay (EIA)/enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). Clin Chem. 2005 Dec;51(12):2415-8. DOI: 10.1373/clinchem.2005.051532
5. Butler JE. Enzyme-linked immunosorbent assay. J Immunoassay. 2000 May-Aug;21(2-3):165-209. DOI: 10.1080/01971520009349533
6. Lin SB, Zheng ZX, Zhang R. [Application and Evaluation of Chemiluminescence Immunoassay in Blood Screening]. Zhongguo Shi Yan Xue Ye Xue Za Zhi. 2019 Apr;27(2):569-572. Chinese. DOI: 10.19746/j.cnki.issn.1009-2137.2019.02.042
7. Vashist SK. *In Vitro* Diagnostic Assays for COVID-19: Recent Advances and Emerging Trends. Diagnostics (Basel). 2020 Apr 5;10(4):202. DOI: 10.3390/diagnostics10040202
8. Ang SH, Rambeli M, Thevarajah TM, Alias YB, Khor SM. Quantitative, single-step dual measurement of hemoglobin A1c and total hemoglobin in human whole blood using a gold sandwich immunochromatographic assay for personalized medicine. Biosens Bioelectron. 2016 Apr 15;78:187-193. DOI: 10.1016/j.bios.2015.11.045
9. Bever CS, Adams CA, Hnasko RM, Cheng LW, Stanker LH. Lateral flow immunoassay (LFIA) for the detection of lethal amatoxins from mushrooms. PLoS One. 2020 Apr 17;15(4):e0231781. DOI: 10.1371/journal.pone.0231781
10. Goudouris ES. Laboratory diagnosis of COVID-19. J Pediatr (Rio J). 2021 Jan-Feb;97(1):7-12. DOI: 10.1016/j.jpeds.2020.08.001
11. Gong F, Wei HX, Li Q, Liu L, Li B. Evaluation and Comparison of Serological Methods for COVID-19 Diagnosis. Front Mol Biosci. 2021 Jul 23;8:682405. DOI: 10.3389/fmolb.2021.682405
12. Du L, He Y, Zhou Y, Liu S, Zheng BJ, Jiang S. The spike protein of SARS-CoV – a target for vaccine and therapeutic development. Nat Rev Microbiol. 2009 Mar;7(3):226-36. DOI: 10.1038/nrmicro2090
13. Du L, Yang Y, Zhou Y, Lu L, Li F, Jiang S. MERS-CoV spike protein: a key target for antivirals. Expert Opin Ther Targets. 2017 Feb;21(2):131-143. DOI: 10.1080/14728222.2017.1271415
14. Jiang S, Du L, Shi Z. An emerging coronavirus causing pneumonia outbreak in Wuhan, China: calling for developing therapeutic and prophylactic strategies. Emerg Microbes Infect. 2020 Jan 31;9(1):275-277. DOI: 10.1080/22221751.2020.1723441. Erratum in: Emerg Microbes Infect. 2020 Dec;9(1):539.
15. Ou X, Liu Y, Lei X, Li P, Mi D, Ren L, et al. Characterization of spike glycoprotein of SARS-CoV-2 on virus entry and its immune cross-reactivity with SARS-CoV. Nat Commun. 2020 Mar 27;11(1):1620. DOI: 10.1038/s41467-020-15562-9. Erratum in: Nat Commun. 2021 Apr 1;12(1):2144.

16. Rémi Vernet, Emily Charrier, Julien Grogg and Nicolas Quantitative ELISA Protocol for Detection of Specific Human IgG against the SARS-CoV-2 Spike Protein Mach, MDPI, Vaccines, 9 July 2021, 9, 770.
17. Lin AV. Indirect ELISA. *Methods Mol Biol.* 2015;1318:51-9. DOI: 10.1007/978-1-4939-2742-5_5
18. Whitman JD, Hiatt J, Mowery CT, Shy BR, Yu R, Yamamoto TN, et al. Test Performance Evaluation of SARS-CoV-2 Serological Assays. *medRxiv.* 2020. DOI: 10.1101/2020.04.25.20074856
19. Sidiq Z, Hanif M, Dwivedi KK, Chopra KK. Benefits and limitations of serological assays in COVID-19 infection. *Indian J Tuberc.* 2020 Dec;67(4S):S163-S166. DOI: 10.1016/j.ijtb.2020.07.034
20. Manalac J, Yee J, Calayag K, Nguyen L, Patel PM, Zhou D, Shi RZ. Evaluation of Abbott anti-SARS-CoV-2 CMIA IgG and Euroimmun ELISA IgG/IgA assays in a clinical lab. *Clin Chim Acta.* 2020 Nov;510:687-690. DOI: 10.1016/j.cca.2020.09.002
21. Li Y, Yao L, Li J, Chen L, Song Y, Cai Z, Yang C. Stability issues of RT-PCR testing of SARS-CoV-2 for hospitalized patients clinically diagnosed with COVID-19. *J Med Virol.* 2020 Jul;92(7):903-908. DOI: 10.1002/jmv.25786
22. Xiang F, Wang X, He X, Peng Z, Yang B, Zhang J, et al. Antibody detection and dynamic characteristics in patients with COVID-19. *Clin Infect Dis.* 2020. ciaa461. DOI: 10.1093/cid/ciaa461
23. Lee CY, Lin RTP, Renia L, Ng LFP. Serological Approaches for COVID-19: Epidemiologic Perspective on Surveillance and Control. *Front Immunol.* 2020 Apr 24;11:879. DOI: 10.3389/fimmu.2020.00879
24. Cheng MP, Papenburg J, Desjardins M, Kanjilal S, Quach C, Libman M, et al. Diagnostic Testing for Severe Acute Respiratory Syndrome-Related Coronavirus 2: A Narrative Review. *Ann Intern Med.* 2020 Jun 2;172(11):726-734. DOI: 10.7326/M20-1301
25. Villalta D, Martelli P, Moratto A, Salgarolo V, Ligato E, Conte M, et al. Diagnostic performance of an automated chemiluminescence immunoassay for SARS-CoV-2 IgG and IgM antibodies detection: A real life experience. *Pract Lab Med.* 2021 May;25:e00227. DOI: 10.1016/j.plabm.2021.e00227
26. Li D, Li J. Immunologic Testing for SARS-CoV-2 Infection from the Antigen Perspective. *J Clin Microbiol.* 2021 Apr 20;59(5):e02160-20. DOI: 10.1128/JCM.02160-20
27. Suthar MS, Zimmerman MG, Kauffman RC, Mantus G, Linderman SL, Hudson WH, et al. Rapid Generation of Neutralizing Antibody Responses in COVID-19 Patients. *Cell Rep Med.* 2020 Jun 23;1(3):100040. DOI: 10.1016/j.xcrm.2020.100040
28. Berestovskaya VS, Vavilova TV, Gubanova AV, Chernysh NYu. Key features of tests for detection of SARS-CoV-2 antibodies. *Medical alphabet.* 2021;(13):13-17 (In Russian).
29. Burbelo PD, Riedo FX, Morishima C, Rawlings S, Smith D, Das S, et al. Detection of Nucleocapsid Antibody to SARS-CoV-2 is More Sensitive than Antibody to Spike Protein in COVID-19 Patients. *medRxiv [Preprint].* 2020 Apr 24:2020.04.20.20071423. DOI: 10.1101/2020.04.20.20071423. Update in: *J Infect Dis.* 2020 May 19.
30. Van Elslande J, Decru B, Jonckheere S, Van Wijngaerden E, Houben E, Vandecandelaere P, et al. Antibody response against SARS-CoV-2 spike protein and nucleoprotein evaluated by four automated immunoassays and three ELISAs. *Clin Microbiol Infect.* 2020 Nov;26(11):1557.e1-1557.e7. DOI: 10.1016/j.cmi.2020.07.038
31. Woo PC, Lau SK, Wong BH, Tsoi HW, Fung AM, Kao RY, et al. Differential sensitivities of severe acute respiratory syndrome (SARS) coronavirus spike polypeptide enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) and SARS coronavirus nucleocapsid protein ELISA for serodiagnosis of SARS coronavirus pneumonia. *J Clin Microbiol.* 2005 Jul;43(7):3054-8. DOI: 10.1128/JCM.43.7.3054-3058.2005
32. Kaufman HW, Chen Z, Meyer WA 3rd, Wohlgenuth JG. Insights from Patterns of SARS-CoV-2 Immunoglobulin G Serology Test Results from a National Clinical Laboratory, United States, March–July 2020. *Popul Health Manag.* 2021 Feb;24(S1):S35-S42. DOI: 10.1089/pop.2020.0256
33. Dan JM, Mateus J, Kato Y, Hastie KM, Yu ED, Faliti CE, et al. Immunological memory to SARS-CoV-2 assessed for up to eight months after infection. *Science.* 2021 Feb 5;371(6529):eabf4063. DOI: 10.1126/science.abf4063
34. Sethuraman N, Jeremiah SS, Ryo A. Interpreting Diagnostic Tests for SARS-CoV-2. *JAMA.* 2020 Jun 9;323(22):2249-2251. DOI: 10.1001/jama.2020.8259
35. Petersen LR, Sami S, Vuong N, Pathela P, Weiss D, Morgenthau BM, et al. Lack of antibodies to SARS-CoV-2 in a large cohort of previously infected persons. *Clin Infect Dis.* 2021 Nov 2;73(9):e3066-e3073. DOI: 10.1093/cid/ciaa1685
36. Li K, Huang B, Wu M, Zhong A, Li L, Cai Y, et al. Dynamic changes in anti-SARS-CoV-2 antibodies during SARS-CoV-2 infection and recovery from COVID-19. *Nat Commun.* 2020 Nov 27;11(1):6044. DOI: 10.1038/s41467-020-19943-y
37. Kolupaev VE, Tarasenko OA. Selection criteria for serological tests in laboratory diagnostics of COVID-19. *Vestnik Roszdravnadzora.* 2020;6:53-61. DOI: 10.35576/2070-7940-2020-5-1-73-78

Информация об авторах:

Соловьев Павел Владимирович, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник отдела иммунобиохимии патогенных микроорганизмов ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора
Адрес: 142279, Московская обл., г.о. Серпухов, р.п. Оболенск, Территория «Квартал А», 24
Телефон: (4967) 360065
E-mail: solo103@mail.ru

Баранова Евгения Владимировна, кандидат медицинских наук, ведущий научный сотрудник отдела иммунобиохимии патогенных микроорганизмов ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора
Адрес: 142279, Московская обл., г.о. Серпухов, р.п. Оболенск, Территория «Квартал А», 24
Телефон: (4967) 36-0065

Игнатов Сергей Георгиевич, доктор биологических наук, главный научный сотрудник лаборатории нанобиотехнологии ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора
Адрес: 142279, Московская обл., г.о. Серпухов, р.п. Оболенск, Территория «Квартал А», 24
Телефон: (4967) 36-0773
E-mail: ignatov@obolensk.org

Бикетов Сергей Федорович, кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник отдела иммунобиохимии патогенных микроорганизмов ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора
Адрес: 142279, Московская обл., г.о. Серпухов, р.п. Оболенск, Территория «Квартал А», 24
Телефон: (4967) 36-0065
E-mail: biketov@obolensk.org

Information about authors:

Pavel V. Soloviev, MD, PhD, Senior Research Fellow, Department of Immunobiology of Pathogenic Microorganisms, State Research Center of Applied Microbiology and Biotechnology of the Rosпотребнадзор
Address: SRCAMB Bld. 24, "Quarter A" Territory, 142279, Obolensk, City District Serpukhov, Moscow Region, Russian Federation
Phone: (4967) 360065
E-mail: solo103@mail.ru

Evgeniya V. Baranova, MD, PhD, Leading Researcher, Department of Immunobiology of Pathogenic Microorganisms, State Research Center of Applied Microbiology and Biotechnology of the Rosпотребнадзор
Address: SRCAMB Bld. 24, "Quarter A" Territory, 142279, Obolensk, City District Serpukhov, Moscow Region, Russian Federation
Phone: (4967) 360065

Sergey G. Ignatov, PhD, DSc (Biological Sciences), Chief Researcher, Laboratory of Nanobiotechnology, State Research Center of Applied Microbiology and Biotechnology of the Rosпотребнадзор
Address: SRCAMB Bld. 24, "Quarter A" Territory, 142279, Obolensk, City District Serpukhov, Moscow Region, Russian Federation
Phone: (4967) 36-0773
E-mail: ignatov@obolensk.org

Sergey F. Biketov, PhD (Biological Sciences), Leading Researcher of the Department of Immunobiology of Pathogenic Microorganisms, State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology, Rosпотребнадзор
Address: SRCAMB Bld. 24, "Quarter A" Territory, 142279, Obolensk, City District Serpukhov, Moscow Region, Russian Federation
Phone: (4967) 360065
E-mail: biketov@obolensk.org