

ИММУНОЛОГИЯ

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2020

Марданлы С. Г.^{1,2,3}, Авдонина А. С.¹, Мамедова С. Г.⁴

РАЗРАБОТКА ИММУНОФЕРМЕНТНОЙ ТЕСТ-СИСТЕМЫ ДЛЯ ВЫЯВЛЕНИЯ АНТИТЕЛ КЛАССА IGG К ВОЗБУДИТЕЛЮ COVID-19 В СЫВОРОТКЕ (ПЛАЗМЕ) КРОВИ ЧЕЛОВЕКА

¹ЗАО «ЭКОлаб», 142530, г. Электрогорск Московской обл., Россия;

²ГОУ ВО МО ГГТУ, 142600, г. Орехово-Зуево Московская обл., Россия;

³ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава РФ, 119991, Москва, Россия;

⁴Российский университет Дружбы народов, 117198, Москва, Россия

Разработан новый оригинальный отечественный набор реагентов для выявления антител класса IgG к возбудителю COVID-19 – коронавирусу SARS-CoV-2 методом иммуноферментного анализа на твёрдофазном носителе «ИФА-SARS-CoV-2-AT-G». В сравнительных испытаниях с аналогичными тест-системами «Vitrotest® SARS-CoV-2 IgG» (фирма «Vitrotest», Украина) и «Anti-SARS-Cov-2 ELISA (IgG)» (фирма «EUROIMMUN AG», Германия) показана высокая диагностическая эффективность новой тест-системы.

Ключевые слова: возбудитель COVID-19 – вирус SARS-CoV-2; иммуноферментный анализ; антитела класса IgG.

Для цитирования: Марданлы С. Г., Авдонина А. С., Мамедова С. Г. Разработка иммуноферментной тест-системы для выявления антител класса IgG к возбудителю COVID-19 в сыворотке (плазме) крови человека. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2020; 65 (11): 683-687. DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0869-2084-2020-65-11-683-687>

Mardanly S. G.^{1,2}, Avdonina A. S.¹, Mamedova S. G.³

DEVELOPMENT OF AN ENZYME-LINKED IMMUNOSORBENT ASSAY FOR THE DETECTION OF IGG-ANTIBODIES TO THE CAUSATIVE AGENT OF COVID-19 IN HUMAN SERUM (PLASMA)

¹The closed corporation «EKOLab», Elektrogorsk, Moscow region, Russia;

²The state educational institution of higher education «The state humanitarian technological university», Orekhovo-Zuyevo of the Moscow region, Russia;

³I.M. Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University), Moscow, Russia;

⁴RUDN University, Moscow, Russia

A new original Russian test kit for the detection of IgG-antibodies to the causative agent of COVID-19 – coronavirus SARS-CoV-2 by the method of enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) on a solid-phase «ELISA-SARS-CoV-2-AT-G» has been developed. In comparative tests with similar test systems «Vitrotest® SARS-CoV-2 IgG» (Vitrotest, Ukraine) and «Anti-SARS-Cov-2 ELISA (IgG)» (EUROIMMUN AG, Germany) high diagnostic efficiency of the new test system was shown.

Key words: the causative agent of COVID-19 – SARS-CoV-2; enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA); IgG-antibodies.

For citation: Mardanly S.G., Avdonina A.S., Mamedova S.G. Development of an enzyme-linked immunosorbent assay for the detection of IgG-antibodies to the causative agent of COVID-19 in human serum (plasma). *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika (Russian Clinical Laboratory Diagnostics)*. 2020; 65 (11): 683-687 (in Russ.). DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0869-2084-2020-65-11-683-687>

For correspondence: Mardanly S.G., doctor of medical sciences, academician of the Russian academy of medical technical sciences, professor of the chair of pharmacology and pharmaceutical disciplines of the state educational institution of higher education «The state humanitarian technological university»; e-mail: ekolab-president@mail.ru

Information about authors:

Mardanly S.G., <https://orcid.org/0000-0002-4556-135X>;

Avdonina A.S., <https://orcid.org/0000-0002-2990-4930>;

Mamedova S.G., <https://orcid.org/0000-0001-8639-4714>.

Acknowledgments. *The study had no sponsor support.*

Conflict of interests. *The authors declare absence of conflict of interests.*

Received 13.08.2020

Accepted 20.08.2020

Введение. Пандемия новой коронавирусной инфекции, COVID-19 (Coronavirus disease 2019), поразившей население Земли в конце 2019 – начале 2020 г., поста-

вила перед мировой и, соответственно, российской медициной ряд проблем, от решения которых напрямую зависит эффективность борьбы с ней.

Для корреспонденции: Марданлы Сейфаддин Гашимович, д-р мед. наук, проф. каф. фармакологии и фармацевтических дисциплин ГГТУ; e-mail: ekolab-president@mail.ru

Одной из таких проблем является проблема оперативного выявления всех инфицированных, т. е. проблема этиологической диагностики COVID-19, поскольку, с одной стороны, клинические проявления её манифестных форм, хотя и имеют некоторое сходство с уже привычными респираторными вирусными инфекциями, все же могут быть недостаточными для уверенной диагностики, а с другой, у значительной доли инфицированных COVID-19 протекает бессимптомно, что не исключает возможность заражения от них других лиц.

С этой целью могут быть использованы как прямые методы этиологической диагностики – выявление в исследуемых образцах РНК или антигенов вируса, так и косвенные – выявление в крови пациентов антител к нему [1].

Возбудитель COVID-19 – коронавирус SARS-CoV-2 (Severe acute respiratory syndrome-related coronavirus 2) – одноцепочный (+) РНК-вирус, покрытый капсидом, с вирионами круглой формы диаметром примерно от 80 до 120 нм.

В структуру вириона входят четыре основных белка (антигена): гликопротеин шипа (Spike-белок), гликопротеин оболочки (Envelope-белок), гликопротеин мембраны (Membrane-белок), белок нуклеокапсида (Nucleocapsid-белок), и несколько вспомогательных белков [2].

Spike-белок представляет собой трансмембранный гликопротеин с молекулярной массой около 150 кД. Он отвечает за связывание вируса с клеткой-мишенью и включает две субъединицы: S1 и S2. Субъединица S1 несёт рецептор-связывающий домен (RBD – receptor binding domain) и определяет клеточный тропизм. Функция субъединицы S2 заключается в непосредственном слиянии вируса с клеткой-мишенью [3-5].

Nucleocapsid-белок структурно связан с материалом нуклеиновой кислоты вируса и благодаря этому участвует в процессах, связанных с вирусным геномом, циклом репликации вируса и клеточным ответом клеток-мишеней на инфицирование [6, 7].

Membrane-белок играет роль в определении формы оболочки вируса. Он может связываться со всеми другими структурными белками. Связывание с мембранным белком помогает стабилизировать нуклеокапсидный белок и способствует завершению сборки вируса.

Envelope-белок является самым маленьким белком SARS-CoV-2 и играет роль в воспроизводстве и созревании вируса [6].

На сегодняшний день наибольшее внимание исследователей привлекают прямые методы диагностики, связанные с выявлением вирусной РНК. На 30 апреля 2020 г. только в РФ разработано и зарегистрировано 16 тест-систем такого типа, а к 30 июня их число увеличилось до 24 [8].

К прямым методам этиологической диагностики COVID-19 относятся методы выявления антигенов возбудителя в исследуемых образцах, но, если судить по материалам, приводимым Федерацией лабораторной медицины РФ [8], а также по данным Европейской Комиссии [9], на 30 апреля 2020 г. перечень тестов, основанных на этих методах и уже используемых на практике, существенно уступает тестам на основе определения РНК вируса.

Тесты, основанные на выявлении антител к возбудителю COVID-19, в плане оперативности диагностики инфекции несколько уступают прямым методам, поскольку диагностические титры антител появляются все

же только на 5-10 день после инфицирования [10]. Однако такие тесты необходимы для оценки, как иммунологического статуса пациента, так и уровня иммунологической перестройки соответствующих групп населения. Наиболее эффективно использование для этой цели иммуноферментного анализа (ИФА) [11, 12].

Учитывая масштабы необходимых исследований иммунологического статуса населения РФ, разработка новых иммуноферментных тест-систем (ИФТС) такого рода при наличии у разработчика соответствующей производственной базы актуальна.

Цель исследования – разработка и предварительные испытания диагностической эффективности нового набора реагентов для выявления антител класса IgG к возбудителю COVID-19. Выполнена на основе опыта аналогичных исследований, накопленного в ЗАО «ЭКОлаб» при создании и производстве аналогичных тест-систем для диагностики ряда бактериальных и вирусных инфекций [13-17].

Материал и методы. При разработке набора реагентов «ИФА-SARS-CoV-2-AT-G», предназначенного для выявления антител класса IgG к коронавирусу SARS-CoV-2, применён метод непрямого иммуноферментного анализа на твёрдофазном носителе.

Для получения иммуносорбента использованы рекомбинантные очищенные антигены SARS-CoV-2, полученные из *E. coli*: нуклеокапсидный антиген, оболочечный антиген и spike-антиген, несущий рецептор-связывающий домен. Антигены по отдельности в концентрациях от 0,5 до 2 мкг/мл в 0,5 М карбонат-бикарбонатном буфере (pH=9,6) вносили в лунки полистиролового планшета с поверхностью MaxiSorp (фирма «Nunc», Дания), инкубировали в течение 18-22 ч при температуре 4° С. Затем в лунки планшетов вносили блокирующий раствор с целью предотвращения неспецифических реакций со свободными от антигена участками пластика. Планшеты с блокирующим раствором выдерживали в течение 1 ч при комнатной температуре, затем отмывали деионизированной водой и высушивали при температуре 25-27° С и относительной влажности не более 60% в течение 3 часов. Затем планшеты с влагопоглотителем упаковывали под вакуумом в фольгированные пакеты.

При проведении ИФА для разведения исследуемых образцов использован фосфатный буфер, содержащий казеинат натрия. В качестве конъюгата использованы моноклональные мышинные антитела к IgG человека, меченные пероксидазой хрена, разведенные в стабилизирующем растворе. На первой стадии ИФА антитела класса IgG к SARS-CoV-2 при их наличии в исследуемых образцах взаимодействовали с рекомбинантным антигеном, иммобилизованным в лунке планшета. На второй стадии антивидовой конъюгат связывался с образовавшимися комплексами «антиген-антитело», в результате чего формировались комплексы «антиген иммуносорбента – IgG к SARS-CoV-2 образца – анти-IgG конъюгата», которые далее выявлялись в цветной реакции с индикаторным раствором, содержащим 3,3',5,5'-тетраметилбензидин. Интенсивность окрашивания реакционной смеси прямо пропорциональна концентрации IgG к SARS-CoV-2 в образце. Результаты ИФА регистрировали спектрофотометрически, измеряя оптическую плотность содержимого лунок планшета при двух длинах волн (450 нм и 620 нм).

Исследуемые образцы. В исследовании использованы 56 образцов сыворотки крови пациентов с поло-

Результаты исследования образцов пациентов (PHK⁺ SARS-CoV-2), на наличие IgG к разным антигенам SARS-CoV-2 в ИФА

№ образца	Клинические проявления	Результаты ИФА (ОП* образцов)		
		Nucleocapsid-антиген (ОПкр = 0,25)	Spike-антиген (ОПкр = 0,25)	Envelope-антиген (ОПкр = 0,25)
1.	Лёгкое течение. Субфебрилитет. Вирусовыделение более 1 мес	3,801	2,987	3,235
2.	Тяжёлое течение. Фебрильная лихорадка. Вирусовыделение более 1 мес	3,767	2,954	2,811
3.	Бессимптомное течение	0,003	0,007	0,009
4.	Тяжёлое течение. Пневмония	3,726	2,845	1,015
5.	Средне-тяжёлое течение. Фебрильная лихорадка. Вирусовыделение более 1 мес	2,73	2,698	1,215
6.	Тяжёлое течение. Пневмония	3,915	2,996	2,314
7.	Лёгкое течение. Потеря обоняния. Вирусовыделение более 1 мес	1,881	1,516	1,114
8.	Тяжёлое течение, фебрильная лихорадка более 8 суток	0,352	0,015	0,005
9.	Лёгкое течение. Субфебрилитет	3,797	2,814	2,304
10.	Лёгкое течение. Субфебрилитет. Вирусовыделение более 1 мес	2,891	2,817	1,013
11.	Тяжёлое течение. Пневмония. Вирусовыделение более 1 мес	3,829	3,765	2,489
12.	Тяжёлое течение. Фебрильная лихорадка	3,754	2,897	1,108
13.	Тяжёлое течение. Пневмония	3,844	2,989	2,581
14.	Бессимптомное течение	1,288	0,511	0,014
15.	Потеря обоняния	2,711	2,055	0,518
16.	Без симптомов	1,881	1,003	0,002
17.	Без симптомов	0,011	0,005	0,008
18.	Тяжёлое течение. Пневмония	3,602	3,011	1,298
19.	Субфебрилитет	1,25	1,614	0,019
20.	Тяжёлое течение. Фебрильная лихорадка	2,759	2,914	1,674
21.	Тяжёлое течение. Пневмония	3,886	2,961	2,518
22.	Без симптомов	0,44	1,301	0,001
23.	Без симптомов	3,758	2,199	0,01
24.	Лёгкое течение. Потеря обоняния	0,006	0,008	0,004
25.	Без симптомов	0,001	0,003	0,001
26.	Средне-тяжелое течение. Фебрильная лихорадка	0,008	0,003	0,013
27.	Лёгкое течение. Потеря обоняния	2,578	2,874	1,305
28.	Без симптомов	0,04	0,01	0,008
29.	Тяжёлое течение. Пневмония	0,949	1,004	0,015
30.	Тяжёлое течение. Фебрильная лихорадка	3,765	3,412	2,360
31.	Без симптомов	2,936	2,678	0,514
32.	Лёгкое течение. Потеря обоняния	2,224	2,519	0,611
33.	Без симптомов	3,631	3,369	1,258
34.	Без симптомов	0,006	0,003	0,001
35.	Без симптомов	0,003	0,004	0,006
36.	Тяжёлое течение. Пневмония	3,726	3,914	2,159
37.	Без симптомов	0,828	1,147	0,02
38.	Без симптомов	0,008	0,004	0,012
39.	Без симптомов	2,901	2,932	1,357
40.	Без симптомов	0,485	0,963	0,007
41.	Лёгкое течение. Субфебрилитет	3,652	3,123	1,654
42.	Лёгкое течение. Кожные проявления	3,603	3,489	1,023
43.	Лёгкое течение. Субфебрилитет	3,653	3,657	2,036
44.	Без симптомов	0,017	0,007	0,013
45.	Тяжёлое течение. Фебрильная лихорадка	0,851	0,412	1,321
46.	Без симптомов	0,004	0,003	0,002
47.	Без симптомов	3,804	3,698	1,314
48.	Лёгкое течение. Субфебрилитет	0,863	0,58	0,003
49.	Тяжёлое течение. Пневмония	3,106	2,654	1,641
50.	Без симптомов	0,009	0,005	0,06
51.	Без симптомов	3,717	3,145	1,105
52.	Без симптомов	0,011	0,005	0,007
53.	Лёгкое течение. Субфебрилитет	0,008	0,005	0,006
54.	Лёгкое течение. Субфебрилитет	3,89	3,650	2,014
55.	Лёгкое течение. Потеря обоняния	1,165	1,023	0,632
56.	Без симптомов	0,001	0,001	0,004

Примечание. * – ОП – оптическая плотность; ** – ОПкр – оптическая плотность критическая.

Таблица 2

Результаты исследования образцов пациентов (PHK+ SARS-CoV-2), в различных ИФТС

№ образца	Индекс позитивности при исследовании в ИФТС производства фирмы		
	Vitrotest	ЭКОлаб	EUROIMMUN AG
1.	11,30	25,34	8,00
2.	11,30	25,11	6,39
3.	0,09	0,06	0,06
4.	11,12	24,84	5,88
5.	10,57	18,20	5,59
6.	11,79	15,66	7,46
7.	9,59	12,54	6,63
8.	1,71	2,35	0,06
9.	11,47	25,31	5,86
10.	11,26	19,27	4,98
11.	11,41	25,53	6,69
12.	11,51	25,03	7,40
13.	11,33	25,63	8,93
14.	2,71	8,59	0,09
15.	10,70	18,07	2,96
16.	6,85	12,54	1,56
17.	0,13	0,07	0,05
18.	11,18	24,01	4,02
19.	0,88	1,67	1,51
20.	10,23	18,39	7,70
21.	11,24	25,91	7,23
22.	0,50	1,76	2,02
23.	11,12	25,05	1,81
24.	0,77	0,04	0,20
25.	0,12	0,01	0,08
26.	0,07	0,05	0,10
27.	10,11	17,19	6,64
28.	0,51	0,27	0,03
29.	9,10	6,33	0,93
30.	11,24	25,10	6,88
31.	8,49	19,57	3,04
32.	10,58	14,83	5,07
33.	11,25	24,21	3,24
34.	0,26	0,04	0,38
35.	0,17	0,03	0,04
36.	11,08	24,84	8,26
37.	2,38	5,52	2,61
38.	0,21	0,05	0,10
39.	10,93	11,6	5,58
40.	1,58	2,34	0,78
41.	11,44	24,35	3,82
42.	11,33	24,02	3,39
43.	11,32	24,35	8,05
44.	0,25	0,11	0,14
45.	1,03	5,67	4,72
46.	0,28	0,03	0,07
47.	11,40	25,36	6,06
48.	3,33	5,75	3,08
49.	10,79	20,71	5,60
50.	0,13	0,06	0,07
51.	11,48	24,78	4,98
52.	0,44	0,07	0,18
53.	0,23	0,05	0,13
54.	11,52	25,93	7,38
55.	5,57	7,77	5,22
56.	1,00	0,01	0,05

жительным результатом ПЦР на наличие РНК SARS-CoV-2, предоставленные диагностическим центром «El Clinic»(г. Электрогорск).

В качестве отрицательных образцов исследованы 90 образцов сыворотки здоровых доноров (донации 2018 г.), предоставленные ГБУЗ «Областная станция переливания крови» (г. Владимир). Данные образцы хранились при минус 70° С и до исследования не подвергались размораживанию.

Результаты и обсуждение. Начальным этапом разработки традиционно стал выбор антигена для получения иммуносорбента. С этой целью приготовлены иммуносорбенты с использованием нуклеокапсидного антигена, оболочечного антигена и spike-антигена SARS-CoV-2.

Остальные специфические и неспецифические компоненты набора выбраны на основе опыта конструирования аналогичных тест-систем.

Чувствительность полученных иммуносорбентов протестирована в ИФА при исследовании сывороток пациентов с положительным результатом ПЦР на наличие РНК SARS-CoV-2. Результаты данного исследования приведены в табл. 1.

Данные, приведенные в табл. 1, свидетельствуют о том, что у некоторых пациентов с положительным результатом ПЦР отсутствуют IgG к SARS-CoV-2. Это может быть связано с лёгким течением заболевания или ранней стадией инфекционного процесса. В тех же образцах, в которых обнаружены IgG, главными иммуногенами выступают нуклеокапсидный и spike-антиген. При этом наилучшую активность проявил нуклеокапсидный антиген: выявил на один положительный образец больше и показал большую оптическую плотность по положительным образцам.

Специфичность полученных иммуносорбентов протестирована в ИФА при исследовании 90 сывороток здоровых доноров 2018 г. Все образцы показали отрицательный результат по наличию IgG к разным антигенам SARS-CoV-2.

Поскольку специфичность полученных иммуносорбентов сопоставима, то по результатам анализа данных, приведенных в табл. 1, в качестве наиболее иммуногенного антигена для конструирования тест-системы выбран нуклеокапсидный антиген.

Получена тест-система «ИФА-SARS-CoV-2-AT-G», в состав которой входят:

- иммуносорбент – рекомбинатный очищенный нуклеокапсидный антиген SARS-CoV-2, сорбированный в лунках 96-луночного разборного полистиролового планшета для иммунологических реакций с плоским дном;
- контрольный положительный образец;
- контрольный отрицательный образец;
- конъюгат (антитела моноклональные мышинные против IgG человека, меченные пероксидазой хрена), готовый к применению или его 10-кратный концентрат;
- раствор для разведения конъюгата (при комплекта-ции концентратом конъюгата);
- раствор для разведения образцов;
- 25-кратный концентрат фосфатно-солевого буферного раствора с твином;
- раствор индикаторный;
- стоп-реагент.

Диагностическая эффективность полученной ИФТС оценена при сравнительных испытаниях в сравнении с аналогичными ИФТС производства фирм «Vitrotest» (Украина) и «EUROIMMUN AG» (Германия).

Результаты сравнительного исследования представлены в табл. 2.

Приведенные в табл. 2 данные демонстрируют высокую корреляцию оценок наличия IgG к SARS-CoV-2 всеми тремя использованными тест-системами (коэффициенты корреляции оценок, полученных в тест-системе «ИФА-SARS-CoV-2-AT-G», с оценками в тест-системах фирм «Vitrotest» и «EUROIMMUN AG» составили 0,97 и 0,87, соответственно, а коэффициент корреляции оценок, полученных в двух последних тест-системах, составил 0,86), что свидетельствует о высокой диагностической эффективности новой тест-системы и о возможности её представления для государственной регистрации.

Заключение. Разработана новая тест-система для выявления специфических антител класса IgG к возбудителю COVID-19. Показана её высокая диагностическая эффективность, которая обеспечивает возможность её использования для оценки наличия гуморального ответа организма обследованного на инфицирование SARS-CoV-2.

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА (пп. 2 – 7, 9,10 см. REFERENCES)

1. Временные методические рекомендации «Профилактика, диагностика и лечение новой коронавирусной инфекции (COVID-19)». Версия 7 (03.06.2020) (утв. Министерством здравоохранения РФ) 03.06.2020 URL: https://static-0.rosminzdrav.ru/system/attachments/attaches/000/050/584/original/03062020_%D0%9C%D0%9A%D0%9A_COVID-19_v7.pdf
8. Полный перечень диагностических тестов для выявления коронавируса в России на 3 августа URL: https://fedlab.ru/komitety/meditsinskie-izdelia/?ELEMENT_ID=230575
11. Девяткин А. В., Девяткин А. А. Новая коронавирусная инфекция – COVID-19. Вопросы происхождения, тропности возбудителя, путей передачи инфекции, лабораторной диагностики и специфической терапии. *Кремлевская медицина. Клинический вестник.* 2020; 2: 5-13.
12. Романенко М. Тестирование на коронавирус SARS-CoV-2: тест-системы и достоверность результатов URL: <https://pharmznanie.ru/article/coronavirus/testirovanie-na-koronavirus-sars-cov-2-test-sistemy-i-dostovernost-rezultatov>
13. Марданлы С. Г. Разработка и испытания новых иммуноферментных тест систем для диагностики токсоплазмоза. *Клиническая лабораторная диагностика.* 2009; 2: 35-7.
14. Марданлы С. Г. Эпидемиологический надзор за инфекциями TORCH группы на основе современных технологий лабораторной диагностики. Дисс..... д-ра мед. наук. Москва; 2016.
15. Марданлы С. Г., Симонов В. В., Авдоница А. С. Производство наборов реагентов для клинической лабораторной диагностики иммунохимическими методами. Орехово-Зуево: ГГТУ; 2017.
16. Марданлы С. Г., Симонова Е. Г., Симонов В. В. *Инфекции TORCH-группы: клиническая лабораторная диагностика, эпидемиологический надзор и контроль.* Москва:Транзит-ИКС; 2018.
17. Марданлы С. Г., Симонова Е. Г., Симонов В. В. *Герпесвирусные инфекции: этиология и патогенез, клиника и лабораторная диагностика, эпидемиология и профилактика.* Орехово-Зуево: ГГТУ; 2020.

REFERENCES

1. Temporary guidelines “Prevention, diagnosis and treatment of new coronavirus infection (COVID-19)”. [Vremennye metodicheskie rekomendatsii “Prevention, diagnosis and treatment of new coronavirus infection (COVID-19)”]. Versiya 7 (03.06.2020) (utv. Ministerstvom zdavoohraneniya RF) 03.06.2020 URL: https://static-0.rosminzdrav.ru/system/attachments/attaches/000/050/584/original/03062020_%D0%9C%D0%9A_COVID-19_v7.pdf. (in Russian)
2. Jiang S., Hillyer C., Du L. Neutralizing antibodies against SARS-CoV-2 and other human Coronaviruses. *Trends Immunol.* 2020; 41 (5): 355-9.
3. Guo Y.R., Cao Q.D., Hong Z.S., Tan Y.Y., Chen S.D., Jin H.J. et al. The origin, transmission and clinical therapies on coronavirus disease 2019 (COVID-19) outbreak update on the status. *Military Med. Res.* 2020; 7: 1-10.
4. Fehr A.R., Perlman S. Coronaviruses: an overview of their replication and pathogenesis. *Methods Mol. Biol.* 2015; 1282: 1-23.
5. Walls A.C., Park Y.J., Tortorici M.A., Wall A., McGuire A.T., Veesler D. Structure, function, and antigenicity of the SARS-CoV-2 spike glycoprotein. *Cell.* 2020; 181 (2): 281-92.
6. Schoeman D., Fielding B.C. Coronavirus envelope protein: current knowledge. *Virology.* 2019; 16: 69.
7. Tai W., He L., Zhang X., Pu J., Voronin D., Jiang S. et al. Characterization of the receptor-binding domain (RBD) of 2019 novel coronavirus: implication for development of RBD protein as a viral attachment inhibitor and vaccine. *Cell Mol. Immunol.* 2020; 17: 613-20.
8. Full list of diagnostic tests for detecting coronavirus in Russia as of August 3 [Polnyy perechen' diagnosticheskikh testov dlya vyyavleniya koronavirusa v Rossii na 3 avgusta]. URL: https://fedlab.ru/komitety/meditsinskie-izdelia/?ELEMENT_ID=230575. (in Russian)
9. COVID-19 In Vitro Diagnostic Devices and Test Methods Database URL: https://covid-19_diagnostics.jrc.ec.europa.eu/devices?orderBy=CE_Marking&invertedOrder=#form_content
10. Sethuraman N., Jeremiah S.S., Ryo A. Interpreting Diagnostic Tests for SARS-CoV-2. *JAMA.* 2020; 323 (22): 2249-51.
11. Devyatkin A.V., Devyatkin A.A. New coronavirus infection-COVID-19. Questions of origin, affinity of the causative agent, ways of transmission, laboratory diagnosis and specific therapy. *Kremlevskaya meditsina. Klinicheskiy vestnik.* 2020; 2: 5-13. (in Russian).
12. Romanenko M. *Testing for the coronavirus SARS-CoV-2: test system and the reliability of the results.* URL: <https://pharmznanie.ru/article/coronavirus/testirovanie-na-koronavirus-sars-cov-2-test-sistemy-i-dostovernost-rezultatov>. (in Russian)
13. Mardanly S.G. Development and testing of new enzyme immunoassay systems for the diagnosis of toxoplasmosis. *Klinicheskaya laboratornaya diagnostika.* 2009; 2: 35-7. (in Russian)
14. Mardanly S.G. Epidemiological surveillance of TORCH group infections based on modern laboratory diagnostics technologies. Diss. Moscow; 2016. (in Russian)
15. Mardanly S.G., Simonov V.V., Avdonina A.S. Production of reagent kits for clinical laboratory diagnostics using immunochemical methods. Orekhovo-Zuevo: GGTU; 2017. (in Russian)
16. Mardanly S.G., Simonova E.G., Simonov V.V. Torch-group infections: clinical laboratory diagnostics, epidemiological surveillance and control. Moscow: Tranzit-IKS; 2018. (in Russian)
17. Mardanly S.G., Simonova E.G., Simonov V.V. Herpesvirus infections: etiology and pathogenesis, clinic and laboratory diagnostics, epidemiology and prevention. Orekhovo-Zuevo: GGTU; 2020. (in Russian)

Поступила 13.08.20
Принята к печати 20.08.20