

©КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2020

Акиншина Ю.А.<sup>1</sup>, Марданлы С.С.<sup>1</sup>, Киселева В.А.<sup>2</sup>.

## ИММУНОХРОМАТОГРАФИЧЕСКИЙ ТЕСТ ДЛЯ ДИФФЕРЕНЦИРОВАННОГО ВЫЯВЛЕНИЯ АНТИТЕЛ КЛАССОВ М И G К КОРОНАВИРУСУ SARS-COV-2

<sup>1</sup>ЗАО «ЭКОлаб», 142530., г. Электрогорск, Россия;

<sup>2</sup>Государственный гуманитарно-технологический университет «ГГТУ» ГОУВО Московской обл., 142611, г. Орехово-Зуево, Россия

*В работе представлены результаты создания и оценки диагностических характеристик иммунохроматографической тест-системы для качественного дифференцированного выявления IgM/IgG к коронавирусу SARS-CoV-2 в образцах сыворотки, плазмы или цельной крови человека «ИХА-COVID-19-IgM/IgG». Тест был апробирован на образцах, аттестованных в иммунохемилюминесцентном анализе, не содержащих антитела к вирусу SARS-CoV-2, а также содержащих оба и один вид специфических антител. Совпадение результатов с данными иммунохемилюминесцентного метода составило 87,2%. Разработанная тест-система может быть использована для экспрессного исследования клинических образцов пациентов в условиях пандемии Covid-19 и для оценки иммунного статуса реконвалесцентов.*

**Ключевые слова:** иммунохроматографический анализ; Covid-19; SARS-CoV-2; коронавирус.

**Для цитирования:** Акиншина Ю.А., Марданлы С.С., Киселева В.А. Иммунохроматографический тест для дифференцированного выявления антител классов М и G к коронавирусу SARS-CoV-2. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2020; 65 (11): 688-692. DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0869-2084-2020-65-11-688-692>

*Akinshina Yu.A.<sup>1</sup>, Mardanly S.S.<sup>1</sup>, Kiseleva V.A.<sup>2</sup>*

IMMUNOCHROMATOGRAPHIC TEST FOR DIFFERENTIATION DETECTION OF IGM AND IGG TO SARS-COV-2

<sup>1</sup>JSC «EKOlab», Elektrogorsk, Moscow Region;

<sup>2</sup>State Humanitarian and Technological University, Orekhovo-Zuevo, Moscow Region

*The study presents the results of the creation and evaluation of the diagnostic characteristics of the rapid immunochromatographic test for the qualitative detection and differentiation of IgM/IgG antibodies to SARS-CoV-2 in human serum, plasma, and whole blood "ИХА-COVID-19-IgM / IgG". Have been tested some samples without antibodies to SARS-CoV-2 and a samples with two and one type of specific antibodies. The coincidence of the results of immunochromatographic analysis with the results of the immunochemiluminescent method was 87.2%. Test kit can be use as the rapid diagnostic test in the context of the COVID-19 pandemic and to assess the immune status of convalescents.*

**Key words:** immunochromatographic analysis; LFIA; Covid-19; SARS-CoV-2; coronavirus.

**For citation:** Akinshina Yu.A., Mardanly S.S., Kiseleva V.A. Immunochromatographic test for differentiation detection of IgM and IgG to SARS-CoV-2. *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika (Russian Clinical Laboratory Diagnostics)*. 2020;65 (11): 688-692 (in Russ.). DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0869-2084-2020-65-11-688-692>

### Information about authors:

Akinshina Y.A., <https://orcid.org/0000-0002-9223-3455>;

Mardanly. S.S., <https://orcid.org/0000-0002-4440-6075>;

Kiseleva V.A., <https://orcid.org/0000-0003-3565-1981>.

**For correspondence:** Akinshina Yulia Aleksandrovna, a head of the Express diagnostic Departement; e-mail: [akinshina.opr@mail.ru](mailto:akinshina.opr@mail.ru)

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

**Acknowledgment.** The study had no sponsor support.

Received 07.09.2020

Accepted 29.09.2020

**Введение.** Для борьбы с любой эпидемией колоссальное значение имеет своевременная диагностика, и пандемия COVID-19 не является исключением. Поскольку ранние клинические проявления у инфицированных неспецифичны, необходимо в короткие сроки подтвердить диагноз и принять все необходимые меры для обеспечения безопасности больных и их окружения [1–3]. В то же время некоторые исследования показали, что у значительного числа инфицированных людей (около 44%) симптомы болезни могут отсутствовать, это создает дополнительные трудности в контроле за распространением COVID-19 в мире [2–7].

«Золотым стандартом» диагностики коронавирусной инфекции является обратная транскрипция РНК с

последующей амплификацией синтезированных фрагментов кДНК методом полимеразной цепной реакции (ОТ-ПЦР) в режиме реального времени [8,9]. Несмотря на то, что этот метод широко применяется во всем мире, ограничения этой технологии очевидны. Ложноотрицательные результаты ОТ-ПЦР в диагностике подозрительных случаев COVID-19 представляют большую угрозу для общества и усложняют эпидемиологическую обстановку в целом. При развивающейся клинической симптоматике у пациента и отрицательном результате ОТ-ПЦР незаменимым инструментом диагностики становится серологические методы исследования, направленные на обнаружение специфических антител в плазме, сыворотке или цельной крови человека.

**Для корреспонденции:** Акиншина Юлия Александровна, нач. отд-ния экспресс-диагностики; e-mail: [akinshina.opr@mail.ru](mailto:akinshina.opr@mail.ru)

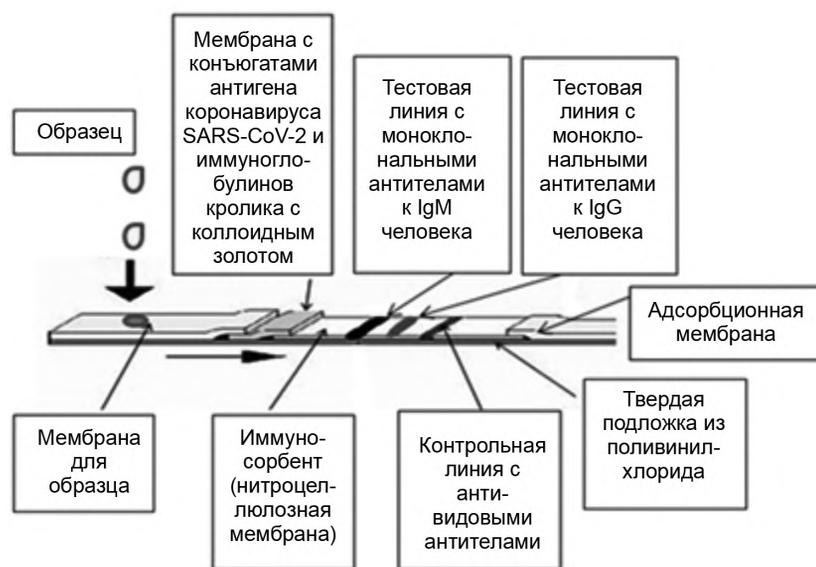
Представления о динамике антителообразования при COVID-19 до сих пор пополняются новыми данными. Первоначально, учитывая принадлежность нового вируса к семейству, для представителей которого этот вопрос уже был изучен, предполагалось, что IgM к SARS-CoV-2 могут быть обнаружены в крови пациента через 3-4 дня с начала болезни, а IgG - через 8 дней [10,11]. Однако, последние ретроспективные исследования указывают на то, что время сероконверсии для антител класса M и G к вирусу SARS-CoV-2 отличается не так значительно и присутствие ко второй неделе болезни в крови пациента относительно высокого количества антител обоих классов является клинической нормой [10–14]. Формируют ли эти нейтрализующие антитела протективный иммунитет пока не ясно. Более того, некоторые исследования обнаружили более высокие титры у пациентов с критическим состоянием [15–17]. Это дает основание предположить, что уровень антител коррелирует с тяжестью заболевания.

Серологические тесты обычно выявляют антитела к белку спайк (S) и / или нуклеопротеину (N), поскольку они являются наиболее иммуногенными белками SARS-CoV-2 [18]. Белок S, состоящий из субъединицы S2 и S1 с рецептор-связывающим доменом (RBD), образует шип оболочки и используется вирусом для соединения с рецептором клетки человека ACE-2. Поскольку антитела против S белка обладают нейтрализующим действием *in vitro*, было высказано предположение что они могут быть маркером эффективного иммунного ответа [19, 20].

С другой стороны, использование нуклеопротеина в диагностике коронавирусов человека, включая SARS-CoV-1, ранее было рекомендовано для уменьшения периода «серологического окна» [21]. Для SARS-CoV-2 на этот счет ещё остаются споры [22–26]. Кроме этого предполагается, что анализы с использованием полно-размерного белка N могут выявлять больше ложноположительных результатов, поскольку нуклеокапсидный белок имеет несколько консервативных областей с высокой (90,5%) гомологией последовательностей с другими коронавирусами человека: HCoV-229E, -NL63, -OC43 и -HKU1 24 [21]. Несмотря на это, высокая иммуногенность и стабильность нуклеопротеина позволяет использовать его при разработке вакцин в качестве мишени для нейтрализующих антител и дает основание применять его при разработке серологических тестов [27].

В связи с вышесказанным, целью настоящей работы явилась разработка новой иммунохроматографической тест-системы для качественного дифференцированного выявления антител IgM/IgG к коронавирусу SARS-CoV-2 «ИХА-COVID-19-IgM/IgG» и апробация её на клиническом материале.

**Материал и методы.** Иммунохроматографический анализ (ИХА). В работе использовались мышинные моноклональные антитела к IgM («Имтек», Москва) для тестовой зоны «IgM», мышинные моноклональные антитела к IgG человека («Имтек», Москва) - для тестовой зоны «IgG» и козы антитела к IgG мыши (ООО «Биосан», Новосибирск) - для зоны контроля, иммуноглобулины класса G мыши («Имтек», Москва) – для конъюгата с



Конструкция готового теста «ИХА-COVID-19-IgM/IgG».

наночастицами коллоидного золотом (Au). Для изготовления специфического конъюгата с НКЗ использовали рекомбинантные антиген SARS-CoV-2: полноразмерный нуклеокапсидный белок N и RBD-домен белка-шипа S (кат. №№ MBS5316490, MBS355895, MyBioSource, США). Конъюгаты готовили по методике, описанной ранее [28]. Смесь конъюгатов антигенов SARS-CoV-2 и мышинных IgG с НКЗ наносили на предварительно подготовленную стекловолоконную мембрану (PT-R7 AMD, Индия) в объёме 27 мкл на 1 см мембраны. Аналитическую зону формировали путём нанесения контрольной линии (1 мг/мл козьих антител к IgG мыши в 0,02M PBS, pH=7,4), тестовой линии «IgM» (1 мг/мл мышинных антител к IgM человека в 0,02M PBS, pH=7,4) и тестовой линии «IgG» (1 мг/мл мышинных антител к IgG человека в 0,02M PBS, pH=7,4).

Концентрации антител для тестовых линий подбирали, опираясь на опыт создания ИФА-тест-систем, основанных на формате ИФА - capture [29 - 33]. Антитела наносили в виде линий на нитроцеллюлозную мембрану CN140 (Sartorius, Германия) с помощью диспенсера HGS-510 (Autokun, Китай) в объёме 2 мкл/см (см. рисунок).

Подготовка композитов мембран проводилась как описано ранее [28]. Готовый композит нарезали на полоски шириной 3 мм, упаковывали каждую полоску (тест) в пластиковый катридж (тест-кассету) с тремя отверстиями: для внесения исследуемой пробы «S», буферного раствора «B» и окошком с аналитической зоной. Готовые тесты хранили в запаянных фольгированных пакетах с влагопоглотителем при комнатной температуре.

Иммунохроматографический анализ проводили при комнатной температуре. В отверстие тест-кассеты, промаркированное знаком «S», с помощью автоматического дозатора вносили 10 мкл исследуемого образца, затем в отверстие «B» вносили 2 капли (80 мкл) буферного раствора (0,05M трисовый буфер (pH=7,2) с 0,1% БСА). При наличии в исследуемом образце антител к коронавирусу они связываются в области внесения пробы со специфичным конъюгатом, представляющим собой рекомбинантный антиген SARS-CoV-2, конъюгированный

с коллоидным золотом. При этом формируется комплекс «антитело-антиген конъюгата», который мигрирует с током жидкости. В тестовых зонах (IgM и IgG) происходит его взаимодействие с иммобилизованными на мембране антителами против IgM и IgG человека с образованием окрашенных комплексов. Для исследования каждого образца использовали отдельную тест-кассету. Результат анализа визуально контролировали через 10 мин после внесения пробы.

Положительным считался результат исследования с образованием двух или трёх полос красного или розового цвета. Одна линия должна находиться в контрольной зоне (С), другая (или другие) - в тестовых зонах (IgM и/или IgG). Отрицательный результат анализа фиксировали при появлении одной окрашенной полосы в зоне контроля.

**Иммуноферментный анализ.** Тестирование образцов, содержащих только IgM по результатам иммунохемилюминесцентного анализа (ИХЛИА) ( $n=39$ ), дополнительно проводилось в иммуноферментном анализе, с помощью наборов реагентов «SARS-CoV-2-IgG-ИФА-БЕСТ» (ПУ № РЗН 2020/10388) и «SARS-CoV-2-IgM-ИФА-БЕСТ» (ПУ № РЗН 2020/10389) («Вектор-Бест», Новосибирск) для выявления иммуноглобулинов классов G и M к коронавирусу SARS-CoV-2 в сыворотке или плазме крови человека методом ИФА. Метод ИФА-IgM основан на двустадийном capture-варианте твердофазного иммуноферментного анализа. Метод ИФА-IgG основан на двустадийном «непрямом» варианте твердофазного иммуноферментного анализа. Регистрация результатов проводится фотометрически с дальнейшим расчётом коэффициента позитивности относительно оптической плотности (ОП) лунка с отрицательным контрольным образцом ОП(К-).

**Исследуемые образцы.** В работе использовались 220 сывороток от здоровых пациентов диагностического центра El'clinic (Электргорск, Московская область), полученные до октября 2019 г., а также 230 образцов сыворотки крови больных COVID-19, полученные из лаборатории ИНВИТРО и аттестованные в наборах реагентов для определения IgM и IgG к штамму SARS-CoV-2 коронавируса в ИХЛИА на анализаторах серии CL для диагностики *in vitro* «SARS-CoV-2 IgM» (CLIA) и «SARS-CoV-2 IgG» (CLIA) фирмы «Shenzhen Mindray Bio-Medical Electronics Co., Ltd» (Китай). Согласно инструкции производителя, концентрация SARS-CoV-2 IgG  $\geq 10$  Ед/мл означает, что образец реактивный, и указывает на наличие IgG антител к SARS-CoV-2, предполагая предыдущую или недавнюю инфекцию. Концентрация SARS-CoV-2 IgM  $\geq 1$  Ед/мл означает, что образец реактивный, и указывает на наличие IgM антител SARS-CoV-2, предполагая недавнюю инфекцию. По результатам исследований в вышеуказанных наборах реагентов все пробы были разделены по содержанию специфических антител на 4 группы:

I группа ( $n=220$ )	IgM – /IgG –
II группа ( $n=111$ )	IgM – /IgG+
III группа ( $n=49$ )	IgM +/IgG –
IV группа ( $n=70$ )	IgM +/IgG+

**Статистическая обработка результатов.** Для сопоставления диагностических параметров анализируемого метода и метода сравнения использовали следующие формулы:

$$\text{Чувствительность} = \frac{a}{a+c} \times 100\% ;$$

$$\text{Специфичность} = \frac{b}{b+d} \times 100\% ;$$

$$\text{Общее совпадение результатов двух методов} = \frac{a+b}{a+b+c+d} \times 100\% ,$$

где  $a$  – результаты, положительные по двум сравниваемым методам;  $b$  - результаты, отрицательные по двум сравниваемым методам;  $c$  – результаты, положительные по методу сравнения, но отрицательные по анализируемому методу;  $d$  - результаты, отрицательные по методу сравнения, но положительные по анализируемому методу.

**Результаты.** Мышинные антитела к IgM и IgG человека, использованные для сорбции на нитроцеллюлозную мембрану, ранее были апробированы в тест-системах ЗАО «ЭКОлаб», где для ИФА используется формат MAC-ELISA и GAC-ELISA (capture). Таким образом, для сорбции на нитроцеллюлозную мембрану были использованы оптимальные, ранее подобранные в ИФА, концентрации этих антител. При выборе антигена для конъюгации с наночастицами коллоидного золота использовали рекомбинантные антигены SARS-CoV-2: полноразмерный нуклеокапсидный белок N и RBD-домен белка S. Вышеописанным методом изготовили 2 вида конъюгата: «N-Au» и «S-Au». Третий вариант конъюгата содержал смесь конъюгатов в соотношении 1:1 «N-Au + S-Au».

Для определения состава конъюгата, входящего в состав ИХА-теста были использованы образцы, содержащие только IgM к SARS-CoV-2 ( $n=10$ ), только IgG к SARS-CoV-2 ( $n=20$ ), а также не содержащие специфических антител к этому вирусу ( $n=20$ ). Результаты тестирования этих проб с тремя вариантами ИХА-теста отражены в табл. 1. Несмотря на небольшую выборку исследуемых образцов, стало очевидно, что антиген S более специфично срабатывает с антителами к SARS-CoV-2: из 20 образцов сыворотки крови здоровых лиц не наблюдалось ни одного ложноположительного результата. Хорошую чувствительность продемонстрировал этот антиген при исследовании проб, содержащих антитела класса M (90%), однако при обследовании образцов II группы, тест с конъюгатом «S-Au» напротив показывал невысокую чувствительность (75%).

Обратную картину наблюдали при тестировании проб в тесте с конъюгатом «N-Au». По результатам исследования проб II группы была продемонстрирована 100% чувствительность, однако с сыворотками, где по результатам ИХЛИА были обнаружены только IgM, в 4 случаях из 5 наблюдалось одновременное выявление IgG, в остальных 5 случаях не было обнаружено антител к SARS-CoV-2. Среди здоровых лиц наблюдалась слабopоложительная реакция при обследовании трёх проб (15%). Несмотря на это было решено включить в состав конъюгата конечного теста этот антиген благодаря высокой чувствительности к IgG (100%). Опытным путем было подобрано соотношение двух конъюгатов для дальнейшего использования в тесте, было выбрано соотношение 1:1 (см. табл. 1).

Дальнейшая работа была направлена на апробацию новой ИХА тест-системы с использованием большей выборки аттестованных образцов. При исследовании I группы сывороток крови здоровых лиц ( $n=200$ ) отри-

Результаты исследования по выбору антигена SARS-CoV-2 для использования в составе конъюгата в тест-системе «ИХА-COVID-19-IgM/IgG»

Группы проб	N-Au		S-Au		N-Au + S-Au		Количество сывороток
	IgM+	IgG+	IgM+	IgG+	IgM+	IgG+	
I: IgM – /IgG –	-	3(15%)	-	-	-	2(10%)	20
II: IgM – /IgG +	-	20(100%)	-	15(75%)	1(5%)	18(90%)	20
III: IgM +/IgG –	5(50%)	4(40%)	9(90%)	-	9(90%)	3(30%)	10

Результаты исследования охарактеризованных образцов в ИХА тест-системе «ИХА-COVID-19-IgM/IgG» (n=400)

Группы сывороток крови пациентов	Результат исследования сывороток в тест-системе «ИХА-COVID-19-IgM/IgG»				Количество сывороток
	IgM +	IgM –	IgG +	IgG –	
I: IgM – /IgG –	11(5,5%)	189(94,5%)*	19 (9,5%)	181(90,5%)	200
II: IgM – /IgG +	6(6,6%)	85(93,4%)	83(91,2%)	8(8,8%)	91
III: IgM +/IgG –	1(2,6%)	38(97,4%)	3(7,7%)	36(92,3%)	39
IV: IgM +/IgG+	61(87,1%)	9(12,9%)	58(82,9%)	12 (17,1%)	70

Примечание. \* - серая маркировка ячейки – совпадающие с ИХЛА результаты.

Результаты сравнительного анализа результатов быстрого теста «ИХА и ИХЛА» (n=450)

Результат ИХЛА (число проб)	Число положительных (+) и отрицательных (-) результатов ИХА		Диагностические характеристики ИХА в сравнении с ИХЛА, %		
	+	-	Чувствительность	Специфичность	Общее совпадение результатов
M- (n=331)	18	313	59,7	94,6	85,3
M+ (n=119)	71	48			
G - (n=269)	27	242	87,8	90,0	89,1
G+ (n=181)	159	22			

цательный результат по IgM получили в 189 случаях (94,5%); по IgG – в 181 (90,5%). Неспецифические фоновые реакции с антителами M и G составили 11(5,5%) и 19 (9,5%) соответственно (табл. 2).

Для определения диагностической чувствительности теста исследовали образцы, содержащие антитела M и/или G к вирусу SARS-CoV-2, аттестованные в иммунохемилюминесцентном анализе (ИХЛА).

Из II группы образцов (n=91), содержащих только IgG, результаты ИХА совпали в 83 случаях (91,2%). 8 образцов, для которых был получен отрицательный результат, содержали IgG в низкой концентрации (до 15 Ед/мл по ИХЛА). 6 образцов этой группы были интерпретированы в ИХА как IgM-положительные (6,6%) (см. табл.1). Неспецифические реакции такого рода могут быть индуцированы присутствием антител к близкородственным коронавирусом, перекрестно связывающимися с высококонсервативным для всех коронавирусов нуклеокапсидным белком N в конъюгате [25].

III группу составили сыворотки, содержащие только IgM антитела по результату ИХЛА (n=39). Результаты экспресс-теста показали отсутствие IgM в 38 (97,4%) образцах. В одном случае была выявлена слабоположительная реакция на тестовой полосе IgM. В трех сыворотках были обнаружены IgG (см.табл.2). Для разрешения разночтений по результатам двух методов эти пробы были исследованы методами ИФА-IgM и ИФА-

Таблица 2 IgG. Из трёх сывороток, в которых были обнаружены IgG, результат подтвердился для 2 образцов, которые в том числе содержали и антитела класса M. В остальных случаях специфических антител в сыворотках обнаружено не было. Несмотря на то, что ИФА не относится к подтверждающим методам, мы предполагаем, что эти результаты более достоверны ввиду того, что динамика специфических антител при COVID-19 подразумевает практически одновременное появление антител обоих классов в крови больных на 2-й неделе болезни, что согласуется и с литературными данными [11,13,14].

При исследовании образцов IV группы (n=70), содержащих оба класса антител, совпадения результатов по M антителам наблюдалось при исследовании 61 пациентов (87,1%), по IgG – 58 пациентов (82,9%) (см.табл.1). Большинство проб, для которых результат в ИХА оказался отрицательным по IgG и/или по IgM имели концентрацию антител в диапазоне 10 – 15,3 Ед/мл и 1 – 2,07 Ед/мл для IgG и IgM соответственно, то есть их можно интерпретировать как слабоположительные.

Итоги сравнения результатов теста «ИХА-COVID-19-IgM/IgG» и иммунохемилюминесцентного анализа представлены в табл. 3. Недостаточная чувствительность теста по IgM была обусловлена включением в группу проб сывороток из III группы, по которым выявились явные расхождения результатов ИХА и ИХЛА. Исключение этих сывороток из сравнительного анализа позволило бы продемонстрировать чувствительность по IgM - 78% и специфичность по IgM - 96,8%.

Таким образом чувствительность ИХА для выявления специфических IgM составила 59,7%, специфичность по этому классу антител – 94,6%; чувствительность ИХА для выявления IgG составила 87,8%, специфичность – 90,0%. Общее совпадение результатов двух методов анализа на IgM – 85,3%; на IgG – 89,1%. Без разделения классов антител – 87,2%.

**Обсуждение.** Сегодня на рынке медизделий нет недостатка в тест-системах для серологической диагностики COVID-19. Производители наборов реагентов, как правило, не раскрывают природу антигена SARS-CoV-2, используемого при разработке теста, поэтому, сравнивая два метода, часто могут выявляться разночтения в результатах исследования одной и той же выборки проб. Несмотря на то, что по показателям чувствительности и специфичности иммунохроматографические тесты несколько уступают другим серологическим тестам, их несомненные преимущества (экспрессность, отсутствие

требований к дополнительному оборудованию и квалификации тестирующего) делают их полезным инструментом диагностики COVID-19 в условиях развивающейся пандемии для массового скрининга населения. Комбинация методов ОТ-ПЦР и ИХА может дать дополнительное представление о стадии заболевания и иммунном статусе пациента при коронавирусной инфекции.

**Заключение.** Тест «ИХА-COVID-19-IgM/IgG» может быть использован как в больницах, клиниках, испытательных лабораториях, так и для внелабораторной диагностики, что даёт ему возможность занять важное место в первичном звене диагностики COVID-19, столь необходимым в борьбе с этой глобальной угрозой.

**Финансирование.** Исследование не имело спонсорской поддержки.

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

#### ЛИТЕРАТУРА (пп. 1 – 7, 9 – 27 см. REFERENCES)

8. Гончарова Е.В., Донникова А. Е., Кадочникова В.В., Морозова С.А., Болдырева М. Н., Галкина И. С. и др. Диагностика вируса, вызывающего COVID-19, методом ПЦР в реальном времени. *Фармакоэкономика. Современная фармакоэкономика и фармакоэпидемиология.* 2020; 13(1): 52-63.
28. Никитина А.В., Марданлы С.Г., Помазанов В.В. Сравнительная апробация иммунохроматографической тест-системы для выявления гемоглобина в кале. *Клиническая лабораторная диагностика.* 2020; 65 (7): 439-42.
29. Марданлы С.Г. Разработка и испытания новых иммуноферментных тест-систем для диагностики токсоплазмоза. *Клиническая лабораторная диагностика.* 2009; 2: 37-8.
30. Марданлы С.Г., Дмитриев Г.А. Лабораторная диагностика сифилиса. Электрогорск-Владимир: ТРАНЗИТ- ИКС; 2011.
31. Марданлы С.Г., Кирпичникова Г.И., Неверов В.А. Цитомегаловирусная инфекция. Этиология, эпидемиология, патогенез, клиника, лабораторная диагностика, лечение. Методическое пособие. Электрогорск: ТРАНЗИТ- ИКС; 2005.
32. Марданлы С.Г. Иммуноферментные тест-системы ЗАО «ЭКОлаб» для диагностики простого герпеса. *Клиническая лабораторная диагностика.* 2008;2: 35-8.
33. Марданлы С.Г., Кирпичникова Г.И., Неверов В.А. Токсоплазмоз. Электрогорск: ТРАНЗИТ- ИКС; 2012.

#### REFERENCES

1. Huang C., Wang Y., Li X., Ren L., Zhao J., Hu Y. et al. Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China. *Lancet.* 2020; 395: 497-506.
2. Zhang J., Litvinova M., Wang W., Yan Wang, Deng X., Chen X. et al. Evolving epidemiology and transmission dynamics of coronavirus disease 2019 outside Hubei province, China: a descriptive and modelling study. *Lancet Infect. Dis.* 2020; 20: 793-802.
3. Nussbaumer-Streit B., Mayr V., Dobrescu A.I., Chapman A., Persad E., Klerings I. et al. Quarantine alone or in combination with other public health measures to control COVID-19: a rapid review. *Cochrane Database Syst Rev.* 2020; 4CD013574.
4. Wölfel R., Corman V.M., Guggemos W., Seilmaier M., Zange S., Marcel A. Mülleret al. Virological assessment of hospitalized patients with COVID-2019. *Nature.* 2020; 581: 465-9.
5. He X., Lau E.H.Y., Wu P., Deng X., Wang J., Hao X. et al. Temporal dynamics in viral shedding and transmissibility of COVID-19. *Nat. Med.* 2020; 26: 672-5.
6. Rothe C., Schunk M., Sothmann P., Bretzel G., Froeschl G., Wallrauch C. et al. Transmission of 2019-nCoV infection from an asymptomatic contact in Germany. *N. Engl. J. Med.* 2020; 382: 970-1.
7. Ferretti L., Wymant C., Kendall M., Zhao L., Nurtay A., Abeler-Dörneret L. al. Quantifying SARS-CoV-2 transmission suggests epidemic control with digital contact tracing. *Science.* 2020; 368eabb6936.
8. Goncharova E.B., Donnikova A. E., Kadochnikova V.V., Morozova S.A., Boldyreva M. N., Galkina I. S. et al. Diagnosis of the virus that causes COVID-19 using real-time PCR. *Farmakoeconomika. Sovremennaja farmakoeconomika i farmakoepidemiologija.* 2020; 13(1): 52-63. (in Russian)
9. Jin Y.H., Cai L., Cheng Z.S., Cheng H., Deng T., Fan Y.P. et al. A rapid advice guideline for the diagnosis and treatment of 2019 novel coronavirus (COVID-19) infected pneumonia (standard version). *Mil. Med. Res.* 2020; 7(1): 4.

10. Wan Z.Y., Zhang X., Yan X.G. IFA in testing specific antibody of SARS coronavirus. *South China J. Prev. Med.* 2003; 29 (3): 36-7.
11. Lou B., Li T., Zheng S., Su Y.Y., Li Z.Y., Liuet W. et al. Serology characteristics of SARS-CoV-2 infection since the exposure and post symptoms onset. *MedRxiv.* Preprint posted March 27; 2020.
12. Lee H.K., Lee B.H., Seok S.H., Baek M.W., Lee H.Y., Kim D.J. et al. Production of specific antibodies against SARS coronavirus nucleocapsid protein without cross reactivity with human coronaviruses 229E and OC43. *J. Vet. Sci.* 2010; 11 (2):165-7.
13. CDC. Laboratories. Interim Guidelines for COVID-19 Antibody Testing in Clinical and Public Health Settings. August. 1; 2020.
14. Kontou P.I., Braliou G.G., Dimou N.L., Nikolopoulos G., Bagos P.G. Antibody Tests in Detecting SARS-CoV-2 Infection: A Meta-Analysis. *Diagnostics (Basel).* 2020; 10(5): 319.
15. Zhao J., Yuan Q., Wang H., Liu W., Liao X., Su Y. et al. Antibody responses to SARS-CoV-2 in patients of novel coronavirus disease 2019. *Clin. Infect. Dis.* 2020; (published online March 28.) DOI:10.1093/cid/ciaa344.
16. Qu J., Wu C., Li X., Zhang G., Jiang Z., Li X. et al. Profile of IgG and IgM antibodies against severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2). *Clin. Infect. Dis.* 2020; (published online April 27.). DOI:10.1093/cid/ciaa489.
17. Zhang B., Zhou X., Zhu C., Feng F., Qiu Y., Feng J. et al. Immune phenotyping based on neutrophil-to-lymphocyte ratio and IgG predicts disease severity and outcome for patients with COVID-19. *MedRxiv.* 2020; (published online March 16.) (preprint). DOI: 10.1101/2020.03.12.20035048.
18. Zhang W., Du R.H., Li B., Zheng X.S., Yang L. X., Hu B. et al. Molecular and serological investigation of 2019-nCoV infected patients: implication of multiple shedding routes. *Emerg. Microbes Infect.* 2020; 9: 386-9. Doi: 10.1080/22221751.2020.1729071.
19. Perera R.A., Mok C.K., Tsang O.T., Lv H., Ko R.L., Wu N.C. et al. Serological assays for severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2). *Eurosurveillance.* 2020;25. Doi:10.2807/1560-7917.es.2020.25.16.2000421.
20. Amanat F., Stadlbauer D., Strohmeier S., Nguyen T.H.O., Chromikova V., McMahon M. et al. A serological assay to detect SARS-CoV-2 seroconversion in humans. *Nat. Med.* 2020. Doi:10.1038/s41591-020-0913-5.
21. Meyer B., Drosten C., Müller M.A. Serological assays for emerging coronaviruses: Challenges and pitfalls. *Virus Res.* 2014; 194: 175-83. Doi: 10.1016/j.virusres.2014.03.018.
22. Grzelak L., Temmam S., Planchais C., Demeret C., Huon C., Guivel F. et al. SARS-CoV-2 serological analysis of COVID-19 hospitalized patients, pauci-symptomatic individuals and blood donors. *MedRxiv.* 2020. Doi:10.1101/2020.04.21.20068858.
23. Wu F., Wang A., Liu M., Wang Q., Chen J., Xia S. et al. Neutralizing antibody responses to SARS-CoV-2 in a COVID-19 recovered patient cohort and their implications. *MedRxiv.* 2020. Doi:10.1101/2020.03.30.20047365.
24. Liu W., Liu L., Kou G., Zheng Y., Ding Y., Ni W. et al. Evaluation of Nucleocapsid and Spike Protein-based ELISAs for detecting antibodies against SARS-CoV-2. *J. Clin. Microbiol.* 2020; 58. Doi:10.1128/JCM.00461-20.
25. To K.K.W., Tsang O.T.Y., Leung W.S., Tam A.R., Wu T.C., Lung D.C. et al. Temporal profiles of viral load in posterior oropharyngeal saliva samples and serum antibody responses during infection by SARS-CoV-2: an observational cohort study. *Lancet Infect. Dis.* 2020; 20: 565-74. Doi:10.1016/s1473-3099(20)30196-1.
26. Elslande J. V., Decru B., Jonckheere S., Wijngaerden E. V., Houben E., Vandecandelaere P. Clinical Microbiology and Infection Antibody response against SARS-CoV-2 spike protein and nucleoprotein evaluated by 4 automated immunoassays and 3 ELISAs. *Clinical Microbiology and Infection.* 2020; 0(0).
27. Dutta N.K., Kaushiki M., James G T. The Nucleocapsid Protein of SARS-CoV-2: a Target for Vaccine Development. *J. Virol.* 2020; 94(13): e00647-20.
28. Nikitina A.V., Mardany S.G., Pomazanov V.V. Comparative evaluation of the immunochromatographic test for detection of hemoglobin. *Klinicheskaya laboratornaya diagnostika.* 2020; 65 (7): 439-42. (in Russian)
29. Mardany S.G. Development and testing of new enzyme-linked immunosorbent assay systems for the diagnosis of toxoplasmosis. *Klinicheskaya laboratornaya diagnostika.* 2009; 2: 37-8. (in Russian)
30. Mardany S.G., Dmitriev G.A. Laboratory diagnosis of syphilis. Methodological guide. Jeletrogorsk-Vladimir: TRANZIT- IKS; 2011. (in Russian)
31. Mardany S.G., Kirpichnikova G.I., Neverov V.A. Cytomegalovirus infection. Etiology, epidemiology, pathogenesis, clinical picture, laboratory diagnostics, treatment, prevention. Methodological guide. Jeletrogorsk: TRANZIT- IKS; 2011. (in Russian)
32. Mardany S.G. Immunoassay test kits of JSK "EKOLab" for the diagnosis of herpes simplex. *Klinicheskaya laboratornaya diagnostika.* 2008;2: 35-8. (in Russian)
33. Mardany S.G., Kirpichnikova G.I., Neverov V.A. Toxoplasmosis. Jeletrogorsk: TRANZIT- IKS; 2012. (in Russian)

Поступила 07. 09.2020

Принята к печати 29.09.2020