

Минушкина Л.О.^{1,2}, Григорьева Е.В.², Мухараева А.Д.², Кулешова С.В.²

ОПЫТ ТЕСТИРОВАНИЯ ИММУНОГЛОБУЛИНОВ К ВИРУСУ SARS-COV-2 В АМБУЛАТОРНОЙ ПРАКТИКЕ

¹ФГБУ «Центральная государственная медицинская академия» Управления делами Президента Российской Федерации, 121359, г. Москва;

²ФГБУ «Поликлиника № 2» Управления делами Президента Российской Федерации, 119146, г. Москва

♦ **Цель исследования:** проанализировать результаты тестирования на наличие иммуноглобулинов инфекции SARS-CoV-2 в амбулаторной клинической практике. Проанализированы данные всех тестирований иммуноглобулинов G и M, выполненных в лаборатории Поликлиники № 2 Управления делами Президента Российской Федерации с 5 июня по 2 октября 2020 года. Всего исследования были выполнены 784 обратившимся (319 (40,7%) мужчин, 465 (59,3%) женщин), средний возраст 48,46±14,044 лет (от 18 до 89 лет). Из них 317 был поставлен клинический диагноз новой коронавирусной инфекции, 64 обследовались как контактировавшие с зараженными, 83 – больные с бронхолегочными заболеваниями, 320 – здоровые лица. Среди больных новой коронавирусной инфекцией положительный результат исследования на наличие антител IgG был получен в 87,7% случаев; среди пациентов, имевших выполненное методом полимеразной цепной реакции подтверждение и типичную рентгенологическую картину вирусной пневмонии, – в 96,3% случаев; в группе здоровых – 5%. Полученные данные позволяют судить о высокой чувствительности используемых тест систем.

Ключевые слова: иммуноглобулины; SARS-CoV-2; коронавирусная инфекция; IgM; IgG.

Для цитирования: Минушкина Л.О., Григорьева Е.В., Мухараева А.Д., Кулешова С.В. Опыт тестирования иммуноглобулинов к вирусу SARS-CoV-2 в амбулаторной практике. *Российский медицинский журнал*. 2020;26(6):359-363.

DOI: <http://doi.org/10.17816/0869-2106-2020-26-6-359-363>

Для корреспонденции: Минушкина Лариса Олеговна, доктор мед. наук, профессор кафедры терапии, кардиологии и функциональной диагностики ФГБУ ДПО «Центральная государственная медицинская академия» Управления делами Президента РФ, 121359, г. Москва; научный руководитель ФГБУ «Поликлиника № 2» Управления делами Президента РФ, 119146, г. Москва, E-mail: minushkina@mail.ru

Minushkina L.O.^{1,2}, Grigorieva E.V.², Mukharaeva A.D.², Kuleshova S.V.²

EXPERIENCES OF TESTING IMMUNOGLOBULINS TO THE SARS-COV-2 VIRUS IN OUTPATIENT PRACTICE

¹Central State Medical Academy of the Department of Presidential Affairs, 121359, Moscow, Russian Federation;

²Polyclinic No. 2 of the Department of Presidential Affairs, 119146, Moscow, Russian Federation

♦ **The study aimed to analyze the results of testing the presence of immunoglobulins of severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 infection in outpatient clinical practice. The data of all tests of immunoglobulins G and M performed in the laboratory of Polyclinic No. 2 of the Administrative Department of the President of the Russian Federation from June 5 to October 2, 2020, were analyzed. In total, the studies were conducted in 784 applicants (319 [40.7%] men and 465 [59.3%] women), with the average age of 48.46±14.044 years (18 to 89 years). Of patients, 317 were clinically diagnosed with a new coronavirus infection, 64 were examined as having contacted the infected, 83 had bronchopulmonary diseases, and 320 were healthy individuals. A positive test result for the presence of IgG antibodies was obtained in 87.7% of patients with a new coronavirus infection. Of cases, 96.3% had a typical X-ray presentation of viral pneumonia that was confirmed by the polymerase chain reaction method, and also, 5% of cases in the healthy group. The data obtained enabled us to establish high sensitivity of the test systems used.**

Keywords: immunoglobulins; SARS-CoV-2; coronavirus infection; IgM; IgG.

For citation: Minushkina L.O., Grigorieva E.V., Mukharaeva A.D., Kuleshova S.V. Experiences of testing immunoglobulins to the SARS-CoV-2 virus in outpatient practice. Experience of testing immunoglobulins to the SARS-CoV-2 virus in outpatient practice.

Rossiiskii meditsinskii zhurnal (Medical Journal of the Russian Federation, Russian Journal). 2020;26(6):359-363. (in Russ.)

DOI: <http://doi.org/10.17816/0869-2106-2020-26-6-359-363>

For correspondence: Larisa O. Minushkina, Doctor of Medical Sciences, Ph.D., Professor of the Department of Therapy, Cardiology and Functional Diagnostics, Central State Medical Academy of the President Affairs of the Russian Federation, 121359, Moscow; Scientific Advisor, Polyclinic No. 2 of the President Affairs of the Russian Federation, 119146, Moscow, Russian Federation, E-mail: minushkina@mail.ru

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Acknowledgments. The study had no sponsorship.

Received 17.11.20

Accepted 26.11.20

Актуальность

В настоящее время распространение коронавирусной инфекции нового типа поставило перед медицинскими работниками задачи по проведению широкой диагностики и скрининга заболевания. В ранние сроки заболевания наибольшее диагностическое значение имеет определение наличия вируса методом полимеразной цепной реакции (ПЦР). На 5–6-й день заболевания

концентрация вируса в отделяемом носоглотки является максимальной, а затем снижается [1]. К концу 1-й недели заболевания большее значение начинают приобретать серологические методы диагностики. В настоящее время разработано несколько отечественных тест-систем для определения в крови наличия иммуноглобулинов к вирусу SARS-CoV-2. **Цель** настоящего исследования – проанализировать результаты тестирования на наличие

иммуноглобулинов инфекции SARS-CoV-2 в амбулаторной клинической практике.

Материал и методы

Исследование выполнено на основании анализа данных медицинской информационной системы (МИС) и лабораторной информационной системы (ЛИС) ФГБУ «Поликлиника № 2» Управления делами Президента Российской Федерации. Проанализированы данные всех тестирований на наличие иммуноглобулинов G и M, выполненных в лаборатории учреждения с 5 июня по 2 октября 2020 года. Всего исследование иммуноглобулинов сыворотки крови было выполнено 784 исследования обратившимся в поликлинику лицам (переболевшим коронавирусной инфекцией и здоровым), из них — 319 (40,7%) мужчин и 465 (59,3%) женщин, средний возраст $48,46 \pm 14,044$ лет (от 18 до 89 лет). Из них 317 был поставлен клинический диагноз новой коронавирусной инфекции (как подтвержденный результатами исследования ПЦР РНК вируса SARS-CoV-2, так и установленный на основании особенностей клиники и результатов компьютерной томографии (КТ) органов грудной клетки). В этой группе больных исследование на наличие антител проводилось после выписки из стационара (или после окончания амбулаторного лечения) в рамках активного наблюдения после перенесенной болезни. Обследовали 64 человека как контактировавших с больными новой коронавирусной инфекцией, но не имевшие клинических проявлений заболевания. Тестирование на наличие антител к новой коронавирусной инфекции было проведено 83 пациентам с острыми или обострением хронических заболеваний органов системы дыхания (бронхиты, хроническая обструктивная болезнь легких (ХОБЛ), бронхиальная астма, пневмония), которые не были клинически расценены как ассоциированные с новой коронавирусной инфекцией. Также исследование было проведено 320 клинически здоровым лицам, не имевшим в анамнезе указаний на перенесенные респираторные заболевания в период с 1 марта 2020 года, в рамках скрининга.

Из всех обследованных пациентов 454 имели данные анализа ПЦР РНК вируса SARS-CoV-2 (положительный результат у 255 больных), 407 имели данные КТ (в 267 случаях КТ показала изменения, характерные для вирусных пневмоний).

Исследование наличия иммуноглобулинов проводилось на автоматическом иммуноферментном анали-

затопе Lazurite (Dynex Technologies Inc., США). Для оценки наличия антител были выбраны наборы реагентов D-5501 «SARS-CoV-2-IgG-ИФА-БЕСТ» и D-5502 «SARS-CoV-2-IgM-ИФА-БЕСТ» (АО «Вектор-Бест», РФ) для выявления антител классов IgG и IgM к коронавирусу SARS-CoV-2 в сыворотке или плазме крови человека методом твердофазного иммуноферментного анализа.

Статистическая обработка данных проводилась с использованием статистического пакета программ SPSS 23.0.

Результаты

Исследование на наличие IgG было выполнено 784 обратившимся лицам, IgM – 615. В табл. 1 представлены результаты тестирования наличия антител к новой коронавирусной инфекции по группе в целом.

В целом обращает на себя внимание сравнительно небольшое количество сомнительных результатов тестирования (0,6% для IgG и 2,6% для IgM).

Отдельно были проанализированы результаты тестирования в различных клинических группах пациентов (табл. 2).

Как видно из табл. 2, в группе больных, которым был установлен диагноз новой коронавирусной инфекции, доля пациентов с положительным результатом исследования на наличие IgG составила 87,7%. Также имела достаточно большая доля пациентов, имеющих положительный или сомнительный тест на наличие IgM (29,7% и 4,7% соответственно), хотя исследование на антитела проводилось уже у клинически здоровых пациентов. Всей группе пациентов, перенесших новую коронавирусную инфекцию, выполнялось исследование ПЦР на наличие вирусной РНК и КТ грудной клетки. Результаты ПЦР позволили подтвердить наличие РНК вируса у 255 больных. 235 больных имели КТ картину типичную для вирусной пневмонии (97 больных – КТ1, 121 больной – КТ2, 15 больных – КТ3). И положительный тест на РНК вируса, и типичные для вирусной пневмонии изменения в легких по данным КТ имелись выявлены у 187 пациентов. Среди них 7 пациентов не имели IgG и имели отрицательный тест IgM. Из этих пациентов 1 больной страдал заболеванием крови, 1 имел цирроз печени и у 1 пациента имелось онкологическое заболевание пищевода. В целом результаты тестирования иммуноглобулинов в этой группе позволяют косвенно судить о высокой чувствительности применяемого теста.

Таблица 1

Результаты тестирования антител к вирусу SARS-CoV-2

Результат	IgG		IgM	
	<i>n</i>	%	<i>n</i>	%
Отрицательный	461	58,8	501	81,2
Положительный	318	40,6	100	16,2
Сомнительный	5	0,6	16	2,6
Всего	784	100,0	617	100

Результаты тестирования у пациентов с различными показаниями к тестированию

Патология	IgG			IgM			
	отрицательный	положительный	сомнительный	отрицательный	положительный	сомнительный	не тестировали
Инфекция SARS COVID19 (n=317)	38 (12,0%)	278 (87,7%)	1 (0,3%)	163 (51,4%)	94 (29,7%)	15 (4,7%)	45 (14,2%)
Из них, больные ПЦР(+) и Rg(+) (n=187)	7 (3,7%)	180 (96,3%)	–	85 (45,5%)	62 (33,2%)	7 (3,7%)	33 (17,6%)
Контактные лица (n=64)	52 (81,3%)	10 (15,6%)	2 (3,1%)	53 (82,8%)	1 (1,6%)		10 (15,6%)
Больные с бронхолегочными заболеваниями (n=83)	69 (83,1%)	14 (16,9%)		62 (74,7%)	4 (4,8%)	1 (1,2%)	16 (19,3%)
Лица, не имевшие клинических данных, подтверждающих наличие новой коронавирусной инфекции (n=320)	302 (94,4%)	16 (5,0%)	2 (0,6%)	223 (69,8%)	1 (0,3%)		96 (30,0%)

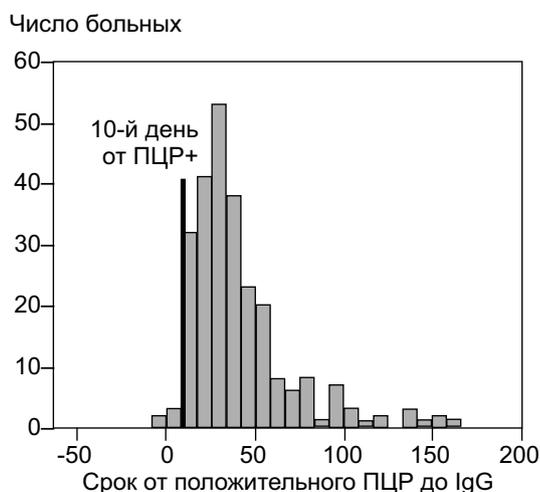


Рис. 1. Гистограмма распределения сроков от момента получения положительного результата теста, выполненного методом полимеразной цепной реакции (ПЦР), на наличие РНК SARS-CoV-2 до положительного результата теста на наличие IgG.

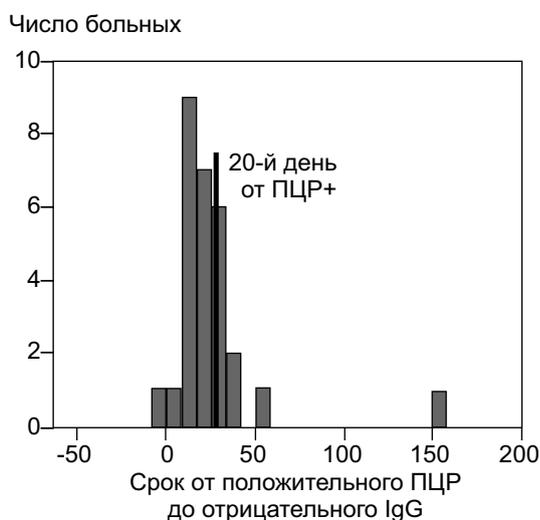


Рис. 2. Гистограмма распределения сроков от момента получения положительного результата теста, выполненного методом полимеразной цепной реакции (ПЦР), на наличие РНК SARS-CoV-2 до отрицательного результата теста на наличие IgG.

Среди переболевших новой коронавирусной инфекцией были проанализированы также сроки получения позитивных и негативных ответов на исследование иммуноглобулинов М и G. Гистограммы распределения сроков получения различных ответов на тест представлены на рис. 1–3. Средний срок до получения положительного теста IgG составлял $40,96 \pm 1,811$ дней, максимальный – 188 дней. Отрицательные результаты тестирования IgG преимущественно были получены при взятии анализа ранее 20-го дня от даты положительного тестирования на наличие РНК вируса. Положительные результаты тестирования IgM получали с 6–7-го дня от момента получения положительного результата теста методом ПЦР на вирус SARS-CoV-2. В среднем этот срок составил $30,5 \pm 13,87$ дней (см. рис. 3).

Положительные результаты тестирования на антигена IgG были получены у 15,6% контактировавших с больными новой коронавирусной инфекцией лиц. Все они были обследованы на ПЦР вируса, их тесты

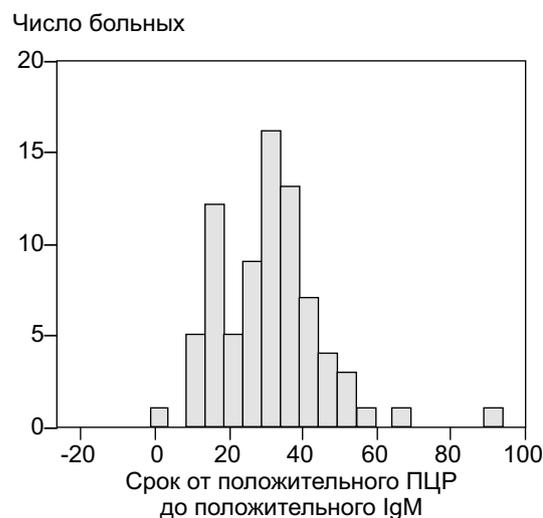


Рис. 3. Гистограмма распределения сроков от момента получения положительного результата теста, выполненного методом полимеразной цепной реакции (ПЦР), на наличие РНК SARS-CoV-2 до положительного результата теста на наличие IgM.

оказались отрицательными. Положительные результаты тестирования говорят о том, что, по-видимому, контактные лица перенесли заболевание малосимптомно или асимптомно. Похожая ситуация наблюдалась в группе больных с бронхолегочными заболеваниями, которые не были расценены как связанные с новой коронавирусной инфекцией, однако положительный тест IgG в 16,9% случаев дал положительный результат. Среди здоровых лиц, обратившихся для скрининга на наличие антител, положительные результаты тестирования были получены только у 5% обратившихся.

Обсуждение

При проведении исследования нами были использованы наборы для иммуноферментного анализа, разработанные АО «Вектор-Бест» (Новосибирск, РФ). Авторы методики опубликовали данные, согласно которым чувствительность и специфичность метода может составлять 99–100% [2]. В нашем исследовании мы не имели возможности сравнить результаты серологической диагностики с каким-либо стандартным методом диагностики серологического статуса пациента, однако возможно было сопоставить результаты тестирования с клиническим статусом пациента. Следует отметить, что в целом при обследовании больных, которым был поставлен диагноз SARS-COVID-2, доля серопозитивных больных оказалась достаточно большой (87,7%), однако она существенно отличалась от показателей чувствительности, приводимых авторами разработанной методики. Следует отметить, что только 7 из 38 серонегативных пациентов имели и подтверждение COVID-19 инфекции ПЦР РНК вируса, и типичную рентгенологическую картину заболевания. Трое из этих больных имели тяжелые сопутствующие заболевания, которые могли повлиять на их серологический статус.

Ранее мы уже получали сходные результаты по доле отрицательных результатов серологического тестирования при анализе меньшей группы больных [3]. Похожие результаты были получены при исследовании сыворотки крови больных с новой коронавирусной инфекцией, проведенном в Иркутской области. Так, в группе из 99 госпитализированных больных COVID-19 доля отрицательных тестов на IgG составила 5%. При этом использовались аналогичные наборы для проведения тестирования. В этом же исследовании авторы показали, что на 8–14-е сутки от начала болезни специфические IgG к SARS-CoV-2 выявлялись у 49,0% обследованных лиц; наличие IgM установлено у 46,7% пациентов. К 15–28-му дню доля пациентов с положительным IgM была небольшой – 22,2% [4]. Следует отметить, что в литературе есть публикации, указывающие, что у части пациентов сначала обнаруживаются IgM, у других – IgG, а спустя 17–23 дня оба типа иммуноглобулинов выявляются у 100% больных новой коронавирусной инфекцией. Через 3 нед. после появления симптомов заболевания начинается снижение титров IgM, тогда как IgG остаются высокими [5]. В первую неделю заболевания около 10% больных становятся серопозитив-

ными по IgM. Максимальные уровни IgM фиксируются через 2–3 нед. от начала заболевания, у части больных серопозитивность по IgM сохраняется в течение 7–8 нед. [6]. Исследование иммуноглобулинов IgG может давать положительный результат у 58–70% больных на 5–9-й день от получения положительного теста ПЦР, на 14–18-й день – у 93–100% больных [7]. В нашем исследовании у части пациентов IgM обнаруживались и в отдаленные сроки от начала заболевания. После 60-го дня после получения положительного теста ПЦР на РНК вируса IgM не определялись. IgG сохранялись достаточно долго, максимальный срок наблюдения, в течение которого больные оставались серопозитивными в нашем исследовании, составил около 6 мес. от начала заболевания.

Заключение

В проведенном нами исследовании доля пациентов, оказавшихся серопозитивными среди клинически здоровых лиц, была очень небольшой – около 5%. Отметим, что приведены результаты тестирования, выполненные в период после снижения весеннего подъема заболеваемости и до начала осеннего. Величина выборки не позволяет распространять полученные нами данные на всю популяцию г. Москвы, однако, по-видимому, в целом они свидетельствуют о сравнительно небольшой доле иммунизированного населения, что косвенно подтверждается последующим быстрым ростом заболеваемости в осенний период. Нужно отметить, что в работах других авторов доля иммунизированных больных в аналогичные сроки оценивалась как более высокая (26% в Санкт-Петербурге, 20% в Ленинградской области) [8, 9].

Таким образом, использованные в ходе исследования тест-системы для определения серологического статуса пациентов с новой коронавирусной инфекцией обладают достаточной чувствительностью. Позитивный серологический статус по IgG может сохраняться до полугода от перенесенного заболевания.

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА

1. 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. С. 5–13 doi: 10.26269/b9ve-xf49.
2. Кувишинова И.Н., Некрасов Б.Г., Ливицкая Н.И., Молодых С.В., Рукавишников М.Ю. Чувствительность и специфичность наборов реагентов АО «ВЕКТОР-БЕСТ» для выявления иммуноглобулинов разных классов в SARS-COV-2 // Справочник заведующего КДЛ. 2020. № 10. С. 27–32.
3. Кулешова С.В., Григорьева Е.В., Мухараева А.Д., Мишукина Л.О. Опыт определения антител к вирусу SARS-COV-2 – возбудителю новой коронавирусной инфекции // Справочник заведующего КДЛ. 2020. № 9. С. 9–15.
4. Балахонов С.В., Дубровина В.И., Чеснокова М.В., Войткова В.В., Пятибестникова А.Б., Брюхова Д.Д., и др. Изучение гуморального иммунного ответа при легкой и бессимптомной формами

- проявления COVID-19 // *Acta biomedica scientifica*. 2020. Т. 5. № 5. С. 26–30. doi: 10.29413/ABS.2020-5.5.3.
- Li Z, Yi Y, Luo X, Xiong N, Liu Y, Li S, et al. Development and clinical application of a rapid IgM-IgG combined antibody test for SARS-CoV-2 infection diagnosis // *J Med Virol*. 2020. P. 1518-1524. doi: 10.1002/jmv.25727.
 - Tré-Hardy M, Wilmet A, Beukinga I, Favresse J, Dogné J.M., Douxfils J, Blairon L. Analytical and clinical validation of an ELISA for specific SARS-CoV-2 IgG, IgA and IgM antibodies // *J Med Virol*. 2020. P. 803-811. doi: 10.1002/jmv.26303.
 - Kohmer N, Westhaus S, Rühl C, Ciesek S, Rabenau H.F. Clinical performance of different SARS-CoV-2 IgG antibody tests // *J Med Virol*. 2020. P. 2243-2247. doi: 10.1002/jmv.26145.
 - Попова А.Ю., Ежлова Е.Б., Мельникова А.А., Башкетова Н.С., Фридман Р.К., Лялина Л.В., и др. Популяционный иммунитет к SARS-CoV-2 среди населения Санкт-Петербурга в период эпидемии COVID-19 // *Проблемы особо опасных инфекций*. 2020. № 3. С. 124–130. doi: 10.21055/0370-1069-2020-3-124-130.
 - Попова А.Ю., Ежлова Е.Б., Мельникова А.А., Историк О.А., Мосевич О.С., Лялина Л.В., и др. Оценка популяционного иммунитета к SARS-CoV-2 среди населения Ленинградской области в период эпидемии COVID-19 // *Проблемы особо опасных инфекций*. 2020. № 3. С. 114–123. doi: 10.21055/0370-1069-2020-3-114-123.
- REFERENCES
- Devyatkin AV, Devyatkin AA. A novel coronavirus infection – COVID-19. Origin, tropism, transmission, routes, lab diagnostics and specific care. *Kremlevskaya meditsina. Klinicheskii vestnik*. 2020;(2):5–13. (In Russ). doi: 10.26269/b9ve-xf49.
 - Kuvshinova IN, Nekrasov BG, Livitskaya NI, Molodykh SV, Rukavishnikov MYu. Sensitivity and specificity of VEKTOR-BEST JSC reagent kits for the detection of immunoglobulins of different classes in SARS-COV-2. *Spravochnik zaveduyushchego KDL*. 2020;(10):27–32. (In Russ).
 - Kuleshova SV, Grigorieva EV, Mukharaeva AD, Minushkina LO. Experience in determining antibodies to the SARS-COV-2 virus – the causative agent of a new coronavirus infection. *Spravochnik zaveduyushchego KDL*. 2020;(9):9–15. (In Russ).
 - Balakhonov SV, Dubrovina VI, Chesnokova MV, Voitkova VV, Pyatidesyatnikova AB, Bryukhova DD, et al. Studying humoral immune response at mild and asymptomatic COVID-19 forms. *Acta biomedica scientifica*. 2020;5(5):26–30. (In Russ). doi: 10.29413/ABS.2020-5.5.3
 - Li Z, Yi Y, Luo X, Xiong N, Liu Y, Li S, Sun R, et al. Development and clinical application of a rapid IgM-IgG combined antibody test for SARS-CoV-2 infection diagnosis. *J Med Virol*. 2020:1518-1524. doi: 10.1002/jmv.25727.
 - Tré-Hardy M, Wilmet A, Beukinga I, Favresse J, Dogné JM, Douxfils J, Blairon L. Analytical and clinical validation of an ELISA for specific SARS-CoV-2 IgG, IgA and IgM antibodies. *J Med Virol*. 2020:803-811. doi: 10.1002/jmv.26303.
 - Kohmer N, Westhaus S, Rühl C, Ciesek S, Rabenau HF. Clinical performance of different SARS-CoV-2 IgG antibody tests. *J Med Virol*. 2020:2243-2247. doi: 10.1002/jmv.26145.
 - Popova AYU, Ezhlova EB, Mel'nikova AA, Bashketova NS, Fridman RK, Lyalina LV, et al. Herd immunity to SARS-CoV-2 among the population in Saint-Petersburg during the COVID-19 epidemic. *Problemy osobo opasnykh infektsii*. 2020;(3):124–130. (In Russ). doi: 10.21055/0370-1069-2020-3-124-130.
 - Popova AYU, Ezhlova EB, Mel'nikova AA, Istoric OA, Mosevich OS, Lyalina LV, et al. Assessment of the herd immunity to SARS-CoV-2 among the population of the Leningrad Region during the COVID-19 epidemic. *Problemy osobo opasnykh infektsii*. 2020;(3):114–123. (In Russ). doi: 10.21055/0370-1069-2020-3-114-123.

Поступила 17.11.20
Принята к печати 26.11.20

КОНТАКТНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Минушкина Лариса Олеговна, д. м. н., профессор [Larisa O. Minushkina, MD, PhD, DSc, Professor]; адрес: 121359, Москва, Россия [address: 119146, Moscow, Russian Federation]; E-mail: minushkina@mail.ru, ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-4203-3586>

Григорьева Елена Владимировна, к. м. н. [Elena V. Grigorieva, MD, PhD]; E-mail: gev0160@mail.ru

Мухараева Айнагуль Дмитриевна [Aynagyul D. Mukhareva]; E-mail: amukh@mail.ru

Кулешова Светлана Вячеславовна [Svetlana V. Kuleshova]; E-mail: svkul@mail.ru, ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-6743-9574>