

Сравнение диагностических наборов для определения иммуноглобулинов класса G и M к коронавирусу SARS-CoV-2 в сыворотке крови человека

Научный руководитель – Габдулхакова Аида Габдрахмановна

Ромозанова Альбина Михайловна

Аспирант

Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань, Россия

E-mail: romozanova.a@gmail.com

Определение иммунного статуса и эффективности вакцинации населения является важной задачей в условиях пандемии инфекции SARS-CoV-2. Для определения наличия и уровня антител широко используется иммуноферментный (ИФА) и иммунохроматографический (ИХА) анализы. В качестве антигенов как правило используются белок шипа коронавируса (S) или его фрагмент - RBD домен, либо нуклеокапсидный (N) белок [1].

Целью работы было сравнение диагностических наборов для определения антител к SARS-CoV-2 методами ИФА и ИХА, основанных на использовании разных антигенов. Для этого мы провели сравнение разработанных нами ИФА-набора для определения антител к S белку коронавируса, ИФА-набора для детекции антител к N белку и ИХА-набора для детекции антител к S белку, а так же коммерческих наборов.

RBD домен белка S1 SARS-CoV-2 получали путем экспрессии в суспензионной культуре клеток HEK293F. N белок экспрессировали в бактериальном штамме *E. coli* BL21(DE3)RIL. Очистка производилась с помощью аффинного сорбента Ni-Sepharose 6 FastFlow. В качестве контрольного белка были использованы очищенные антитела класса G сыворотки кроликов. Был оптимизирован протокол ИФА, в том числе методика сорбции антигена на поверхности иммунопланшета, подобраны количество антигена и разведения сыворотки. Разработан набор для ИХА - получены конъюгаты наночастиц золота (НЧЗ) с антигенами и контрольным белком, оптимизированы условия нанесения антигенов на аналитическую мембрану. Для повышения эффективности и снижения себестоимости был применен следующий подход: вместо иммобилизации антител против человеческого иммуноглобулина на аналитической мембране использовали те же антигены, что и в конъюгате с НЧЗ. При нанесении сыворотки происходило связывание антител с конъюгатом и полученный комплекс затем формировал «сендвич» на аналитической мембране.

В работе были использованы образцы сыворотки крови пациентов с ковид-19, находящихся на амбулаторном лечении. Доля положительных результатов при тестировании методом ИФА на антитела к N белку - 85%, к S белку - 82,5%, методом ИХА - 50%. Результаты ИФА на антитела к N белку и S белку совпадают на 72,5%, при сравнении трех тестов на 45%. При сравнении ИФА набора на антитела к S белку с коммерческими тест-системами (ООО НПФ «Литех», кат. №8660 и ФГБУ «НМИЦ Гематологии» МЗ РФ, кат. №K153G) результаты совпадают на 86,5%. Разночтения результатов тестов на антитела к разным антигенным белкам могут быть объяснены тем, что вследствие инфицирования и/или вакцинации организмом вырабатывается гетерогенный иммунный ответ. Наличие антител к N белку при отсутствии антител к S белку вероятно связаны с перенесенным ранее другим коронавирусом. Полученные результаты показывают, что ИФА является более чувствительным методом в сравнении с ИХА.

Источники и литература

- 1) Amanat F., Stadlbauer D., Strohmeier S., Nguyen T. H., Chromikova V., McMahon M., Jiang K., Arunkumar G. A., Jurczyszak D., Polanco J. A serological assay to detect SARS-CoV-2 seroconversion in humans // Nature medicine. - 2020. - С. 1-4.