



УДК 616-097

DOI: <https://doi.org/10.17816/MAJ59240>

ОСОБЕННОСТИ РАЗРАБОТКИ И ПРИМЕНЕНИЯ ДИАГНОСТИЧЕСКИХ ИФА-СИСТЕМ ДЛЯ ВЫЯВЛЕНИЯ АНТИТЕЛ К КОРОНАВИРУСУ SARS-COV-2 В КЛИНИЧЕСКОЙ ПРАКТИКЕ

Е.И. Загоруйко¹, Д.А. Кудлай^{1,2}, М.А. Лысенко^{3,4}, Д.С. Фомина^{2,4,5}, И.В. Виноградов⁶, В.В. Богачев⁶, А.А. Старостенко⁷

¹ Акционерное общество «ГЕНЕРИУМ», Москва, Россия;

² Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова» Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет), Москва, Россия;

³ Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Москва, Россия;

⁴ Государственное бюджетное учреждение здравоохранения «Городская клиническая больница № 52 Департамента здравоохранения города Москвы», Москва, Россия;

⁵ Департамент здравоохранения города Москвы, Россия;

⁶ Общество с ограниченной ответственностью «МБС-Технология», Новосибирск, Россия;

⁷ Общество с ограниченной ответственностью «Медико-биологический союз», Новосибирск, Россия

Для цитирования: Загоруйко Е.И., Кудлай Д.А., Лысенко М.А., Фомина Д.С., Виноградов И.В., Богачев В.В., Старостенко А.А. Особенности разработки и применения диагностических ИФА-систем для выявления антител к коронавирусу SARS-CoV-2 в клинической практике // Медицинский академический журнал. 2021. Т. 21. № 1. С. 19–30. DOI: <https://doi.org/10.17816/MAJ59240>

Поступила: 25.01.2021

Одобрена: 08.02.2021

Принята: 15.03.2021

Введение. Новая коронавирусная инфекция, COVID-19, вызываемая вирусом SARS-CoV-2, приняла масштабы пандемии. Выявление антител к SARS-CoV-2 представляет собой вспомогательный метод диагностики COVID-19, а также применяется для оценки иммунного ответа на инфекцию. Поскольку COVID-19 — это новое заболевание, сероконверсии и кинетика антител к SARS-CoV-2 еще недостаточно изучены.

Цель работы — оценить сероконверсии и кинетику антител к SARS-CoV-2 (IgA, IgM, IgG и суммарных) в клинической практике с использованием тест-систем отечественного производства.

Материалы и методы. Проанализированы 327 образцов крови, полученных от пациентов с подтвержденным диагнозом COVID-19 с активной инфекцией, реконвалесцентом и здоровых доноров. Антитела к SARS-CoV-2 выявляли методом иммуноферментного анализа с помощью зарегистрированных тест-систем «Антигма-А», «Антигма-Г», «Антигма-Скрин» и незарегистрированной тест-системы для определения иммуноглобулинов класса М.

Результаты. При титровании на суммарные антитела положительные результаты получены для 50,0 % образцов в 1–7-й дни; для 89,4 % — в 8–14-й дни; для 96,2 % — в 15–45-й дни и для 93,3 % — после 46-го дня от начала болезни. Самые ранние сероконверсии отмечены на 3-й день; антитела выявлялись до 81-го дня после начала болезни.

Выводы. Частота обнаружения сероконверсий при использовании тест-систем серии «Антигма» в условиях реальной клинической практики сопоставима с данными, опубликованными в мировой научной литературе, и является достаточно высокой для того, чтобы применять эти тест-системы в комплексе диагностики COVID-19.

Ключевые слова: диагностика COVID-19; антитела; IgA; IgM; IgG; «Антигма».

FEATURES OF THE DEVELOPMENT AND APPLICATION OF DIAGNOSTIC ELISA SYSTEMS FOR THE DETECTION OF ANTIBODIES TO THE SARS-COV-2 CORONAVIRUS IN CLINICAL PRACTICE

Е.И. Загоруйко¹, Д.А. Кудлай^{1,2}, М.А. Лысенко^{3,4}, Д.С. Фомина^{2,4,5}, И.В. Виноградов⁶, В.В. Богачев⁶, А.А. Старостенко⁷

¹ GENERIUM, Moscow, Russia;

² I.M. Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University), Moscow, Russia;

³ N.I. Pirogov Medical University, Moscow, Russia;

⁴ City Clinical Hospital No. 52, Moscow, Russia;

⁵ Moscow City Health Department, Moscow, Russia;

⁶ MBU-Technology, Novosibirsk, Russia;

⁷ Medical Biological Union, Novosibirsk, Russia

Список сокращений

ФСБ — фосфатно-солевой буфер; COVID-19 — коронавирусная инфекция 2019 года (от англ. CoronaVirus Disease 2019); IgA, IgM, IgG — иммуноглобулины классов А, М, G; SARS-CoV-2 — РНК-вирус (от англ. severe acute respiratory syndrome-related coronavirus 2).

For citation: Zagoruyko EI, Kudlay DA, Lysenko MA, Fomina DS, Vinogradov IV, Bogachev VV, Starostenko AA. Features of the development and application of diagnostic ELISA systems for the detection of antibodies to the SARS-CoV-2 coronavirus in clinical practice. *Medical Academic Journal*. 2021;21(1):19–30. DOI: <https://doi.org/10.17816/MAJ59240>

Received: January 25, 2021

Revised: February 8, 2021

Accepted: March 15, 2021

Introduction. The new coronavirus infection, COVID-19, caused by SARS-CoV-2 has reached the scale of a pandemic. Detection of antibodies to SARS-CoV-2 is an aid in the diagnosis of COVID-19, and is also used to assess the immune response to the infection. Since COVID-19 is a new disease, seroconversions and kinetics of antibody to SARS-CoV-2 are not well understood.

The aim of the study is to evaluate seroconversions and kinetics of antibodies to SARS-CoV-2 (IgA, IgM, IgG and total) in real clinical practice using test systems of national production.

Materials and methods. 327 blood samples obtained from patients with a confirmed diagnosis of COVID-19 with active infection, convalescents and healthy donors were analyzed. Detection of antibodies to SARS-CoV-2 was carried out by enzyme immunoassay method using registered test systems “Antigma-A”, “Antigma-G”, “Antigma-Screen” and an unregistered test system for the detection of class M immunoglobulins.

Results. When testing for total antibodies, 50.0% of samples were positive on days 1-7; 89.4% on days 8-14; 96.2% on days 15-45; and 93.3% after the 46th day after disease onset. The earliest seroconversions occurred on the 3rd day; antibodies were detected up to 81 days after the disease onset.

Conclusions. The frequency of detecting seroconversions when using test systems of the “Antigma” series in real clinical practice is comparable to the data published in the world scientific literature and is high enough to use these test systems in the COVID-19 diagnostics.

Keywords: COVID-19 diagnostics; antibodies; IgA; IgM; IgG; “Antigma”.

Введение

Новая коронавирусная инфекция (COVID-19), вспышка которой произошла в городе Ухань Китайской Народной Республики в конце 2019 г., в марте 2020 г. приняла масштабы пандемии. Перед специалистами здравоохранения встали задачи по быстрой и точной диагностике этого заболевания для оказания своевременной и качественной медицинской помощи больным.

Возбудителем COVID-19 является SARS-CoV-2 — одноцепочечный РНК-содержащий вирус, относящийся к семейству *Coronaviridae*, роду *Betacoronavirus*. SARS-CoV-2, как и другие коронавирусы, имеет четыре структурных белка: спайковый (S), мембранный (M), малый мембранный (E) и белок нуклеокапсида (N) [1]. Белок S, формирующий «шипы» на поверхности вируса, иммунодоминантный и состоит из двух субъединиц: S1, содержащей рецептор-связывающий домен (RBD), при помощи которого вирус связывается с рецептором ангиотензинпревращающего фермента второго типа, и S2, опосредующей слияние мембран вируса и клеток хозяина. Белок N иммуногенен в меньшей степени, чем белок S, но он не подвергается гликозилированию и поэтому индуцирует образование антител раньше, чем белок S. Эта особенность белка N делает его привлекательной мишенью при разработке тестов для выявления антител к SARS-CoV-2 [2].

В настоящее время в соответствии с методическими рекомендациями Министерства здравоохранения РФ [3] основное значение для этиологической лабораторной диагностики COVID-19 имеет выявление РНК SARS-CoV-2 с помощью методов амплификации

нуклеиновых кислот (полимеразной цепной реакции и петлевой изотермической амплификации). Обнаружение антител к SARS-CoV-2 играет вспомогательную роль не столько для диагностики текущей инфекции, сколько для оценки иммунного ответа на перенесенную или текущую инфекцию.

Изучение сероконверсий и кинетики антител к SARS-CoV-2 важно для понимания диагностической значимости результатов тестирования на антитела, а также закономерностей развития гуморального иммунного ответа при COVID-19.

Целью этого исследования было оценить сероконверсии и кинетику антител к SARS-CoV-2 (IgA, IgM, IgG и суммарных) в реальной клинической практике с использованием тест-систем отечественного производства.

Материалы и методы

В ходе исследования было проанализировано 327 образцов крови, полученных: 1) от пациентов с подтвержденным диагнозом COVID-19 в активной фазе; 2) от пациентов с подтвержденным диагнозом COVID-19 после выздоровления (реконвалесценто́в) и 3) от здоровых доноров. Пациенты с подтвержденным диагнозом COVID-19 проходили лечение в больницах города Москвы (ГБУЗ «ГКБ № 15 ДЗМ», ГБУЗ «ГКБ № 52 ДЗМ», ФГБУ ФНКЦ ФМБА России). Проведение данного исследования было одобрено решением этического комитета ГБУЗ «ГКБ № 52 ДЗМ». Участники исследования давали информированное согла-

Таблица 1 / Table 1

Распределение участников исследования по возрасту, полу и степени тяжести заболевания
Distribution of study participants by age, sex and disease severity

Показатель	COVID-19		здоровые доноры (n = 20)
	пациенты с инфекцией в активной фазе (n = 181)	реконвалесценты (n = 126)	
Возраст, лет среднее (минимальное и максимальное) значение	58,3 (29–91)	53,0 (18–97)	38,4 (19–57)
Пол: женский мужской	72 (39,8 %) 109 (60,2 %)	67 (53,2 %) 59 (46,8 %)	16 (80,0 %) 4 (20,0 %)
Степень тяжести заболевания: легкая средняя тяжелая нет данных	17 (9,4 %) 92 (50,8 %) 44 (24,3 %) 28 (15,5 %)	17 (13,5 %) 75 (52,5 %) 10 (7,9 %) 24 (19,0 %)	Не применимо

Таблица 2 / Table 2

Диагностическая чувствительность и специфичность тест-систем «Антигма»
Diagnostic sensitivity and specificity of the “Antigma” test systems

Показатель	«Антигма-А»	«Антигма-Г»	«Антигма-Скрин»
Диагностическая чувствительность (95 % ДИ)	100 % (96,9–100,0 %)	100 % (97,9–100,0 %)	96,7 % (94,3–99,2 %)
Диагностическая специфичность (95 % ДИ)	99,86 % (94,9–99,9 %)	99,9 % (94,9–99,9 %)	99,7 % (94,5–99,7 %)

сие на отбор крови для проведения исследования. От каждого участника исследования был получен один образец. Распределение участников по возрасту, полу и степени тяжести заболевания представлено в табл. 1.

Образцы плазмы крови здоровых добровольцев и сыворотки крови пациентов с COVID-19 были аликвотированы и хранились при температуре не выше -20°C .

Антитела к SARS-CoV-2 выявляли методом иммуноферментного анализа (ИФА). Используются следующие тест-системы: для определения IgA — «Антигма-А»; IgG — «Антигма-Г»; суммарных антител (IgA, IgM и IgG) — «Антигма-Скрин». Тест-системы «Антигма» зарегистрированы на территории РФ и производятся группой компаний «ГЕНЕРИУМ» (Владимирская область, Россия) в партнерстве с ООО «Медико-биологический союз» (Новосибирск, Россия). Для определения IgM применяли еще не зарегистрированный набор реагентов тех же производителей.

Во всех тест-системах в качестве антигенов использованы рекомбинантные антигены белка N и субъединицы S1 белка S SARS-CoV-2.

Информация о диагностической чувствительности и специфичности тест-систем «Антигма», полученная в ходе их регистрационных клинических испытаний, представлена в табл. 2.

Основные методы разработки и производства тест-систем серии «Антигма»

Разработку диагностических тест-систем на основе метода ИФА условно можно разделить на следующие этапы:

- разработка иммуносорбентов;
- подбор концентрации антигенов;
- подбор сорбционного буферного раствора;
- подбор различных типов планшетов;
- подбор условий сорбции;
- подбор блокирующего раствора;
- разработка конъюгатов для выявления специфических антител.

Ниже представлен процесс разработки тест-систем серии «Антигма» для выявления специфических антител к SARS-CoV-2 на примере «Антигма-Г» и «Антигма-Скрин».

При разработке тест-систем в качестве анализируемых образцов были использованы образцы стандартных панелей (ООО «Медико-биологический союз», Россия).

1. Панель образцов, положительных на наличие антител IgG только к NC коронавируса COVID-19 (13 образцов).
2. Панель образцов, положительных на наличие антител IgG только к S1 коронавируса COVID-19 (8 образцов).

3. Панель образцов, положительных на наличие антител IgG одновременно к NC и S1 коронавируса COVID-19 (22 образца).
4. Панель образцов, положительных на наличие антител IgA только к NC коронавируса COVID-19 (11 образцов).
5. Панель образцов, положительных на наличие антител IgA только к S1 коронавируса COVID-19 (8 образцов).
6. Панель образцов, положительных на наличие антител IgA одновременно к NC и S1 коронавируса COVID-19 (17 образцов).
7. Панель образцов, положительных на наличие антител IgM только к NC коронавируса COVID-19 (10 образцов).
8. Панель образцов, положительных на наличие антител IgM только к S1 коронавируса COVID-19 (9 образцов).
9. Панель образцов, положительных на наличие антител IgM одновременно к NC и S1 коронавируса COVID-19 (16 образцов).
10. Панель образцов, отрицательных на наличие антител IgG, IgA и IgM к антигенам NC и S1 коронавируса COVID-19 (48 образцов).

При разработке тест-систем «Антигма-G» и «Антигма-Скрин» были использованы два рекомбинантных антигена — NC и S1. В процессе были подобраны оптимальные условия для сорбции двух антигенов одновременно.

При разработке иммуносорбентов данных тест-систем выявление каждого класса антител (IgA, IgG, IgM) проводили отдельно.

Для подбора условий и состава иммуносорбента применяли следующую схему проведения ИФА.

Стадия 1. Внесение в лунки однократно 90 мкл фосфатно-солевого буфера (ФСБ), внесение в раствор ФСБ 10 мкл анализируемых образцов. Перемешивание полученной смеси пипетированием 5 раз. Инкубация полученных смесей 30 мин при 37 °С. Промывка лунок ФСБ с твином 5 раз.

Стадия 2. Внесение в лунки 100 мкл антивидовых конъюгатов в стабилизаторе Ст(РК).

Для исследования образцов на наличие IgG, IgA, IgM к SARS-CoV-2 использовали несколько вариантов конъюгатов, титры подбирали индивидуально.

Инкубация полученных смесей 30 мин при 37 °С. Промывка лунок ФСБ с твином 5 раз.

Стадия 3. Внесение в лунки по 100 мкл смеси компонентов ТМБ и БРС. Инкубация ТМБ и БРС 10 мин при 37 °С. Внесение в лунки 50 мкл стоп-реагента.

Измерение оптической плотности в планшетах с помощью планшетного спектрофотометра при длине волны 450 нм и референс-длине волны 620 нм.

При интерпретации полученных данных за положительный результат принимали значения с оптической плотностью выше 0,250, за отрицательный — значения не выше 0,250.

Разработка иммуносорбентов тест-систем «Антигма-G» и «Антигма-Скрин»

При подборе концентрации антигенов NC и S1 было исследовано 5 концентраций, при подборе сорбционного буферного раствора — 6 вариантов различных химических составов. Были использованы планшеты с разной сорбционной емкостью. Исследовали 6 различных условий сорбции антигенов на поверхность планшетов. Заключительный этап разработки иммуносорбента для тест-систем «Антигма-G» и «Антигма-Скрин» состоял в подборе состава блокирующего раствора. На этом этапе применяли 9 вариантов блокирующего раствора.

В качестве критерия отбора оптимальных вариантов компонентов тест-систем считали выявляемость максимального количества положительных образцов стандартных панелей положительных образцов и получение минимального количества положительных результатов для образцов стандартных панелей отрицательных образцов.

В итоге были подобраны оптимальные условия производства иммуносорбента.

Разработка конъюгатов для тест-систем «Антигма-G» и «Антигма-Скрин»

Для разработки конъюгатов против разных классов человеческих антител (IgG, IgA, IgM) подбирали различные антивидовые моноклональные антитела). Для каждого из определяемого класса антител проверяли несколько вариантов антител.

Для хранения конъюгатов использовали раствор-стабилизатор Ст(РК).

Исследовали 6 вариантов концентраций моноклональных антител класса G, конъюгированных с пероксидазой хрена; 5 вариантов концентраций моноклональных антител класса A, конъюгированных с пероксидазой хрена; 5 вариантов концентраций моноклональных антител класса M, конъюгированных с пероксидазой хрена.

В отличие от тест-систем «Антигма-G» и «Антигма-Скрин», при работе с которыми использовали несколько вариантов моноклональных антител и один протокол конъюгации без отличий между моноклональными антителами, для разработки конъюгата для тест-системы «Антигма-M» применяли один тип антигена и исследовали несколько вариантов конъюгации.

Результаты и обсуждение

В табл. 3 представлена информация о частоте выявления сероконверсий при тестировании на антитела к SARS-CoV-2 в различные периоды после появления первых симптомов заболевания.

Зависимость коэффициента позитивности от времени после возникновения первых симптомов заболевания для всех типов антител представлена на рис. 1.

Четырнадцать образцов плазмы крови были получены в течение первой недели (1–7-й дни) после начала заболевания у пациентов с подтвержденным диагнозом COVID-19. В половине из этих образцов (7 — 50,0 %) были выявлены суммарные антитела и IgA, в шести (42,9 %) — IgM и IgG. Наиболее ранние сероконверсии отмечены у мужчины 45 лет с тяжелым течением COVID-19 — уже на третий день после появления первых симптомов заболевания выявлялись все перечисленные выше антитела к SARS-CoV-2.

Были получены 104 образца плазмы крови в течение второй недели (8–14-й дни) после начала заболевания у пациентов с подтвержденным диагнозом COVID-19. Суммарные антитела и IgA обнаружены в подавляющем большинстве случаев — 93 (89,4 %) и 91 (87,5 %) соответственно. Антитела IgG выявлены в 81 (77,9 %), а IgM — в 76 (73,1 %) случаях.

Были получены 159 образцов плазмы крови в 15–45-й дни после начала заболевания: 63 — от пациентов с активным заболеванием и 96 — от реконвалесцентов. У пациентов с активным заболеванием антитела выявляли

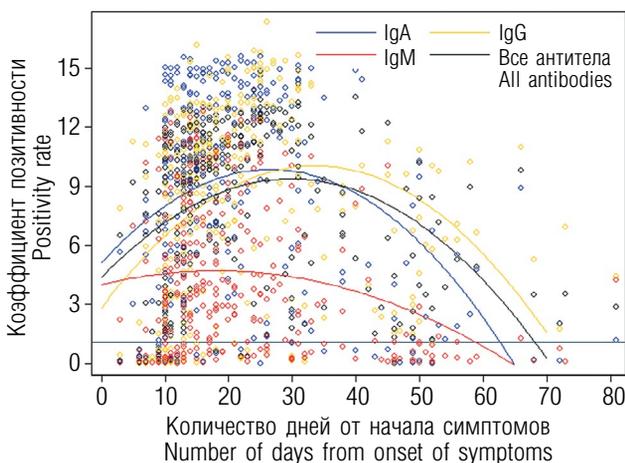


Рис. 1. Зависимость коэффициента позитивности от времени после появления первых симптомов заболевания

Fig. 1. Dependence of the positivity rate on time after the first symptoms of the disease

Таблица 3 / Table 3
Доля (%) пациентов с положительным результатом тестирования на антитела в зависимости от количества дней после появления первых симптомов COVID-19
Percentage (%) of patients with positive test for antibodies, depending on the number of days after the first symptoms of COVID-19

Время после появления первых симптомов заболевания, дни	Пациенты с заболеванием в активной фазе				Реконвалесценты				Суммарно			
	скрин-система	IgA	IgM	IgG	скрин-система	IgA	IgM	IgG	скрин-система	IgA	IgM	IgG
1–7	7/14 (50,0 %)	7/14 (50,0 %)	6/14 (42,9 %)	6/14 (42,9 %)	—	—	—	—	7/14 (50,0 %)	6/14 (42,9 %)	6/14 (42,9 %)	6/14 (42,9 %)
8–14	93/104 (89,4 %)	91/104 (87,5 %)	76/104 (73,1 %)	81/104 (77,9 %)	—	—	—	—	93/104 (89,4 %)	76/104 (73,1 %)	76/104 (73,1 %)	81/104 (77,9 %)
15–45	62/63 (98,4 %)	62/63 (98,4 %)	55/63 (87,3 %)	60/63 (95,2 %)	91/96 (94,8 %)	84/96 (87,5 %)	71/96 (74,0 %)	86/96 (89,6 %)	153/159 (96,2 %)	146/159 (91,8 %)	126/159 (79,3 %)	146/159 (91,8 %)
46 и более	—	—	—	—	28/30 (93,3 %)	18/30 (60,0 %)	5/30 (16,7 %)	27/30 (90,0 %)	28/30 (93,3 %)	18/30 (60,0 %)	5/30 (16,7 %)	27/30 (90,0 %)
Суммарно	162/181 (89,5 %)	160/181 (88,4 %)	137/181 (75,7 %)	147/181 (81,2 %)	119/126 (94,4 %)	102/126 (81,0 %)	76/126 (60,3 %)	113/126 (89,7 %)	281/307 (91,5 %)	262/307 (85,3 %)	213/307 (69,4 %)	260/307 (84,7 %)

несколько чаще, чем у реконвалесцентов. В целом в этот период наибольшее число образцов, в которых были выявлены антитела к SARS-CoV-2 — 153 (96,2 %), отмечено при тестировании на суммарные антитела; чуть меньшее, по 146 (91,8 %), при тестировании на IgA и IgG; еще меньше, 126 (79,3 %), при тестировании на IgM.

Были получены 30 образцов плазмы крови на 46-й день или позже после начала заболевания у пациентов с подтвержденным диагнозом COVID-19. Наибольшее количество образцов плазмы крови пациентов содержали суммарные антитела и IgG — 28 (93,3 %) и 27 (90,0 %) соответственно. Антитела IgA обнаружены в 18 (60,0 %) случаях. Наименьшее число образцов содержали IgM — 5 (16,7 %).

У пяти пациентов время от начала заболевания до взятия образца крови превысило два месяца и составило от 66 до 81 дня. Все эти пациенты перенесли COVID-19 в легкой или среднетяжелой форме. У двух из них результаты всех тестов были положительными; у трех — положительными были только результаты тестов на суммарные антитела и IgG.

Из 20 образцов плазмы крови, полученных от здоровых доноров, в одном образце плазмы крови были выявлены суммарные антитела и IgA; еще в одном — суммарные антитела и IgM и получен сомнительный результат при тестировании на IgA; третий образец был сомнительным при тестировании на IgA.

Данные, полученные в этом исследовании, были использованы для построения регрессионной модели с целью выявления факторов,

влияющих на показатель концентрации антител (коэффициент позитивности — КП). В качестве таких факторов (параметров регрессии) изначально были определены: пол и возраст пациентов, количество дней, прошедших после появления первых симптомов заболевания, статус пациентов (здоров, реконвалесцент, болен) и степень тяжести заболевания (здоров, легкая, средняя, тяжелая). По результатам регрессионного анализа количество дней после возникновения первых симптомов не было статистически значимым фактором, линейно ассоциированным со значением КП. При включении в анализ квадрата количества дней после появления первых симптомов оба фактора (линейный и квадратичный) оказались статистически значимыми ($p < 0,001$). Для поиска экстремумов функции (КП) относительно фактора «количество дней после первых симптомов» проведено дифференцирование уравнения по этому фактору и результат приравнен к нулю. Для показателя концентрации (КП) суммарных антител ожидаемый максимум достигался в точке 35 дней (рис. 2); IgM — 17 дней; IgA и IgG — 33 дня.

Более подробно результаты регрессионного анализа представлены в табл. 4.

В целом результаты по частоте выявления сероконверсий в различные периоды после начала заболевания, полученные в этом исследовании, сопоставимы с теми, что были опубликованы ранее в мировой научной литературе.

Так, Deeks и соавт. [4] провели метаанализ данных 57 научных публикаций по результатам различных исследований, в которых использованы 25 коммерческих и множество некоммерческих тест-систем для выявления антител к SARS-CoV-2. Результаты метаанализа по определению чувствительности тест-систем для обнаружения иммуноглобулинов класса G (IgG), M (IgM), A (IgA), суммарных антител и комбинации IgG/IgM в зависимости от времени отбора образцов крови пациентов в ходе заболевания были следующими. Образцы крови пациентов, отобранные в течение первой недели заболевания, содержали небольшое количество антител всех указанных классов. Лишь в 30,1 % образцов крови выявлены антитела к SARS-CoV-2. Образцы крови пациентов, отобранные на второй неделе заболевания, содержали большее количество антител к SARS-CoV-2. Пик количества антител SARS-CoV-2 отмечен в образцах, отобранных на третьей неделе после начала заболевания. Оценка выявляемости антител к SARS-CoV-2 в образцах крови, отобранных на 21–35-й день после начала заболевания, была основана на меньшем количестве исследований и образцов. Данных

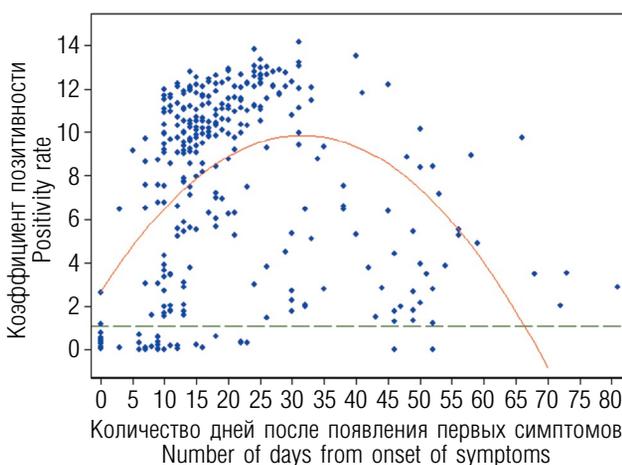


Рис. 2. Квадратичная зависимость показателя концентрации суммарных антител от количества дней после появления первых симптомов COVID-19 при математическом моделировании

Fig. 2. Squared dependence of the concentration index (CP) of total antibodies on the number of days after the first symptoms of COVID-19 in mathematical modeling

Таблица 4 / Table 4

Параметры регрессии для значения коэффициента позитивности
Regression parameters for the value of the positivity coefficient

Фактор	Скрин-система, линейный эффект длительности симптомов			Скрин-система, квадратичный эффект длительности симптомов			IgA, квадратичный эффект длительности симптомов			IgM, квадратичный эффект длительности симптомов			IgG, квадратичный эффект длительности симптомов		
	коэфф. β	p	95 % ДИ для β	коэфф. β	p	95 % ДИ для β	коэфф. β	p	95 % ДИ для β	коэфф. β	p	95 % ДИ для β	коэфф. β	p	95 % ДИ для β
Возраст, на 1 год	0,0536	<0,001	0,0246; 0,0827	0,0501	<0,001	0,0222; 0,0781	0,0730	<0,001	0,0385; 0,1076	0,0175	0,217	-0,0104; 0,0454	0,0275	0,119	-0,0071; 0,0621
Пол (жен = реф.)	0,502	0,238	-0,333; 1,336	0,584	0,153	-0,217; 1,386	0,681	0,178	-0,311; 1,672	0,227	0,576	-0,573; 1,028	0,395	0,435	-0,599; 1,388
Количество дней после появления первых симптомов, на 1-й день	-0,0385	0,136	-0,0893; 0,0122	0,367	<0,001	0,209; 0,525	0,462	<0,001	0,267; 0,657	0,059	0,460	-0,098; 0,217	0,306	0,002	0,110; 0,502
Квадрат количества дней после появления первых симптомов, на 1-й день	-	-	-	-0,0052	<0,001	-0,0072; -0,0033	-0,0069	<0,001	-0,0093; -0,0045	-0,0017	0,084	-0,0036; -0,0002	-0,0047	<0,001	-0,0071; -0,0023
Статус:															
здоров = реф.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
реконвалесцент	8,607	<0,001	6,156; 11,057	2,415	0,149	-0,870; 5,699	1,570	0,447	-2,491; 5,631	4,443	0,008	1,165; 7,722	4,302	0,038	0,232; 8,371
болеет	7,257	<0,001	5,198; 9,317	3,424	0,006	0,991; 5,857	3,622	0,018	0,613; 6,631	4,341	0,001	1,912; 6,770	3,145	0,041	0,130; 6,160
Степень тяжести:															
здоров = реф.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
легкая	-3,494	<0,001	-5,228; -1,761	-3,589	<0,001	-5,253; -1,925	-4,451	<0,001	-6,509; -2,393	-1,924	0,023	-3,585; -0,263	-2,400	0,023	-4,463; -0,338
средняя	-0,047	0,944	-1,346; 1,253	-0,811	0,213	-2,090; 0,468	-1,724	0,033	-3,306; -0,143	-0,862	0,185	-2,139; 0,415	0,423	0,600	-1,162; 2,008
тяжелая	-1,396	0,074	-2,929; 0,137	-1,821	0,016	-3,301; -0,342	-2,966	0,002	-4,796; -1,137	-1,235	0,101	-2,712; 0,242	-0,018	0,985	-1,851; -1,816
Свободный коэффициент (intercept)	-1,661	0,102	-3,653; 0,330	-1,542	0,114	-3,454; 0,370	-2,355	0,051	-4,719; 0,008	-0,480	0,621	-2,389; 1,428	-0,960	0,426	-3,329; 1,408

Таблица 5 / Table 5

Результаты метаанализа выявляемости IgG/IgM к SARS-CoV-2 в зависимости от времени отбора образцов крови пациентов в ходе течения заболевания (из (4))

Results of a IgG/IgM to SARS-CoV-2 detectability meta-analysis depending on the time of blood sampling of patients during the course of the disease (adapted from (4))

	Время после первых симптомов заболевания, дни				
	1-7	8-14	15-21	21-35	>35
Доля образцов крови с IgG/IgM, %	30,1 (95 % ДИ 21,4–40,7)	72,2 (95 % ДИ 63,5–79,5)	91,4 (95 % ДИ 87,0–94,4)	96,0 (95 % ДИ 90,6–98,3)	Недостаточно данных

для оценки обнаружения антител к SARS-CoV-2 в образцах крови, отобранных после 35-го дня, было недостаточно. Результаты метаанализа представлены в табл. 5.

Специфичность тест-систем по результатам 35 исследований превышала 98 % для всех антител с доверительным интервалом не более 2 %.

В обзоре, подготовленном O'Murchu и соавт. [5], систематизированы результаты 102 исследований иммунного ответа при COVID-19 и двух других тяжелых коронавирусных инфекциях, вызванных SARS-CoV и MERS-CoV. В целом частота сероконверсий при COVID-19 сильно варьировала в зависимости от исследования и времени после начала заболевания: для IgM она составила 11–71 % в 1–7-й дни; 36–87 % в 8–14-й дни и 56–97 % после 14-го дня; для IgG — 4–57 % в 1–7-й дни; 54–88 % в 8–14-й дни и 91–100 % после 14-го дня. Медиана времени от появления первых симптомов заболевания до сероконверсии составила 5–17 дней для IgM и 6–14 дней для IgG.

В исследовании Demeu и соавт. [6] у 22 пациентов с диагнозом COVID-19 ежедневно отбирали образцы крови, в которых при помощи четырех коммерческих тест-систем определяли IgM и IgG к SARS-CoV-2, чтобы точно установить, в какой день после начала заболевания происходит сероконверсия. На 15-й день IgM детектировали в 82–100 % образцов крови пациентов, а IgG — в 100 % образцов.

В ряде исследований изучали связь между степенью тяжести течения COVID-19 и силой гуморального ответа. В восьми исследованиях сообщено о значительно более сильном гуморальном ответе в тяжелых случаях по сравнению с легкими, тогда как в шести — об отсутствии связи или об обратной связи [5].

Одно из самых крупных исследований кинетики IgM и IgG при COVID-19 было проведено Ноу и соавт. [7]. В ретроспективное исследование были включены 338 госпитализированных пациентов с подтвержденным диагнозом

COVID-19. Пациенты были разделены на три группы: у 64 из них было легкое течение заболевания, у 199 — тяжелое и 75 находились в критическом состоянии. Уровень IgM повышался в течение первой недели после начала заболевания, достигал пика через 2 нед., а затем у большинства пациентов снижался почти до фоновых значений. IgG начинали выявляться через неделю после начала заболевания, и высокие уровни сохранялись в течение длительного времени (до 48 дней). Частота сероконверсий IgM и/или IgG существенно не различалась между группами. При тяжелом и критическом течении заболевания уровень IgM был выше, чем при легком, тогда как в критических случаях уровень IgG был ниже, чем в легких или тяжелых. Уровень IgM был несколько выше у умерших пациентов, чем у тех, кто выздоровел, при этом уровни IgG существенно не различались между этими группами. У выздоровевших пациентов уровень IgM быстро снижался, тогда как у умерших либо уровень IgM оставался высоким, либо и IgM, и IgG не определялись в течение болезни. На основании полученных данных авторы сделали вывод, что количественное определение IgM и IgG можно использовать при оценке тяжести состояния пациентов, а также для прогнозирования исходов заболевания.

Большинство из доступных в настоящее время тест-систем предназначены для обнаружения IgM и/или IgG к SARS-CoV-2, и только некоторые из них могут использоваться для выявления IgA. Вместе с тем определение IgA может существенно повысить точность диагностики.

При определении IgM к SARS-CoV-2 наблюдается высокая вариабельность результатов, которая не зависит от метода [8], поэтому необходим альтернативный, более надежный способ обнаружения ранних сероконверсий, в качестве которого рассматривают определение IgA.

Ма и соавт. [9] провели сравнительное исследование тест-систем для определения IgA, IgM и IgG к RBD SARS-CoV-2. По результатам

этого исследования чувствительность, специфичность и общая согласованность результатов комбинации IgA/IgG была выше, чем комбинации IgM/IgG (чувствительность — 96,3 и 94,9 %; специфичность — 97,9 и 92,1 %; согласованность результатов — 97,4 и 93,0 % соответственно). На 4–10-й дни после начала заболевания сероконверсия у пациентов лучше всего выявлялась при помощи тест-системы для определения IgA (в 88,2 % случаев); для IgM и IgG показатель сероконверсии составил 76,4 и 64,7 % соответственно.

Yu и соавт. [10] провели сравнительное исследование кинетики IgA, IgM и IgG к белку S SARS-CoV-2 у 37 пациентов с диагнозом COVID-19. Первая сероконверсия IgA детектирована на второй день, а IgM и IgG — на пятый день после начала заболевания. Медиана времени сероконверсий для IgA составила 13 дней, а для IgM и IgG — 14 дней. Примерно через две недели после начала заболевания отмечено значительное повышение уровней IgA и IgG, и эти уровни оставались высокими в течение последующих двух недель, тогда как уровень IgM все это время был относительно низким.

Похожие результаты были получены в исследовании Padoan и соавт. [11]: IgA выявляли очень рано, их уровень быстро нарастал и достигал пикового значения на третьей неделе после начала заболевания, был более выраженным и устойчивым, чем уровень IgM.

Вопрос, как долго могут циркулировать антитела к SARS-CoV-2, остается открытым. Ma и соавт. [12] провели исследование, в которое были включены 27 выздоровевших пациентов (реконвалесцентом). Определение IgA, IgM и IgG к RBD проводили в интервале 28–99 дней (медиана — 91 день) после выписки из стационара. У большинства пациентов уровни всех антител или значительно снизились за это время, или остались низкими, если были низкими при выписке. С помощью математического моделирования прогнозируют, что в этой группе пациентов снижение уровня IgG ниже предела определения произойдет через 273 дня (~9 мес.) после выписки (95 % ДИ 134–304); а IgM и IgA — через 150 и 108 дней соответственно. Следует отметить, что в более ранних исследованиях установлена сильная корреляция между уровнями IgG к RBD и их вирус-нейтрализующей активностью [13–15]. Исследование Ma и соавт. имеет ряд ограничений, которые затрудняют интерпретацию результатов: малый размер выборки, обнаружение антител только к одному антигену (RBD) и отсутствие данных по показателям клеточного иммунитета к SARS-CoV-2.

Полученный в данном исследовании показатель частоты сероконверсий в первую неделю (1–7-й дни) после появления симптомов заболевания при обнаружении суммарных антител и IgA (50 %) оказался довольно высоким. С одной стороны, это может быть связано с высокой чувствительностью тест-систем, в которых используются рекомбинантные антигены как белка S, так и белка N SARS-CoV-2; с другой — небольшое количество образцов, взятых в этот временной промежуток (14 дней), затрудняет интерпретацию результата.

Во всех временных промежутках частота сероконверсий, установленная при определении IgA, оказалась выше, чем при определении IgM, при этом число пациентов, в образцах крови которых обнаруживали IgM после 45-го дня от начала заболевания, значительно снизилось, что соответствует опубликованным данным о более раннем, выраженном и устойчивом ответе IgA по сравнению с ответом IgM [9–11].

Примечательно, что у выздоровевших пациентов через более чем два месяца после начала заболевания обнаружены антитела всех классов, включая IgM, который традиционно считается показателем раннего гуморального иммунного ответа. Это значит, что только на основании выявления IgM нельзя сделать вывод, болен ли пациент COVID-19 в настоящее время, или уже переболел.

Антитела всех классов выявлены до 81-го дня после начала заболевания включительно.

При проведении математического моделирования пиковые значения концентрации IgM, IgA, IgG и суммарных антител ожидалось на 17, 33, 33 и 35-й дни после начала заболевания соответственно.

Результаты тестирования, полученные у здоровых добровольцев, могут указывать на бессимптомное инфицирование добровольцев SARS-CoV-2.

Заключение

В данном исследовании в условиях реальной клинической практики показано, что частота выявления сероконверсий при использовании тест-систем серии «Антигма» сопоставима с данными, опубликованными в мировой научной литературе, и является достаточно высокой для того, чтобы применять эти тест-системы в комплексе диагностики COVID-19.

Антитела к SARS-CoV-2 целесообразно выявлять:

- для уточнения диагноза при отрицательном результате исследований на SARS-CoV-2 с помощью метода полимеразной цепной реакции или изотермической петлевой амплификации;

- для определения лиц, переболевших COVID-19, в том числе и бессимптомно, в частности при проведении эпидемиологических исследований популяционного иммунитета;
- для оценки серологического ответа на применение вакцины против COVID-19;
- для скрининга пациентов, обращающихся за медицинской помощью через более чем 7 дней после появления симптомов острой респираторной вирусной инфекции или контакта с заболевшим COVID-19.

Наибольшей диагностической чувствительностью обладает скрин-система, но для исключения возможных ложноположительных результатов исследования и уточнения типа гуморального иммунного ответа при положительном скрининговом результате рекомендовано дополнительное тестирование на IgA и IgG.

Для изучения кинетики антител при COVID-19 и связи гуморального иммунного ответа с особенностями течения и исходами заболевания необходимо проведение дополнительных исследований.

Дополнительная информация

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование. Клиническое исследование и публикация осуществлены при финансовой и организационной поддержке компании АО «ГЕНЕРИУМ».

Список литературы

1. Hu B., Guo H., Zhou P. et al. Characteristics of SARS-CoV-2 and COVID-19 // *Nat. Rev. Microbiol.* 2020. No. 6. P. 1–14. DOI: 10.1038/s41579-020-00459-7
2. Huang A.T., Garcia-Carreras B., Hitchings M.D.T. et al. A systematic review of antibody mediated immunity to coronaviruses: kinetics, correlates of protection, and association with severity // *Nat. Commun.* 2020. Vol. 11, No. 1. P. 4704. DOI: 10.1038/s41467-020-18450-4
3. Временные методические рекомендации «Профилактика, диагностика и лечение новой коронавирусной инфекции (COVID-19)» / Министерство здравоохранения Российской Федерации. Версия 9 от 26.10.2020 г. Режим доступа: https://static-0.minzdrav.gov.ru/system/attachments/attach/000/052/548/original/%D0%9C%D0%A0_COVID-19_%28v.9%29.pdf?1603730062
4. Deeks J.J., Dinnes J., Takwoingi Y. et al. Antibody tests for identification of current and past infection with SARS-CoV-2 // *Cochrane Database Syst. Rev.* 2020. Vol. 6, No. 6. P. CD013652. DOI: 10.1002/14651858.CD013652
5. Murchu E.O., Byrne P., Walsh K.A. et al. Immune response following infection with SARS-CoV-2 and other coronavi-

- ruses: a rapid review // *Rev. Med. Virol.* 2020. P. e2162. DOI: 10.1002/rmv.2162
6. Demey B., Daher N., Francois C. et al. Dynamic profile for the detection of anti-SARS-CoV-2 antibodies using four immunochromatographic assays // *J. Infect.* 2020. Vol. 81, No. 2. P. e6–e10. DOI: 10.1016/j.jinf.2020.04.033
7. Hou H., Wang T., Zhang B. et al. Detection of IgM and IgG antibodies in patients with coronavirus disease 2019 // *Clin. Transl. Immunology.* 2020. Vol. 9, No. 5. P. e01136. DOI: 10.1002/cti2.1136
8. La Rosa Fabián C., Urquiza Briceco L. Anti-SARS-CoV-2 IgA in current scenario of IgM and IgG rapid test: a new alternative for the diagnostic of COVID-19 // *SN Compr. Clin. Med.* 2020. Vol. 2. P. 2167–2169. DOI: 10.1007/s42399-020-00551-2
9. Ma H., Zeng W., He H. et al. Serum IgA, IgM, and IgG responses in COVID-19 // *Cell. Mol. Immunol.* 2020. Vol. 17, No. 7. P. 773–775. DOI: 10.1038/s41423-020-0474-z
10. Yu H.Q., Sun B.Q., Fang ZF. et al. Distinct features of SARS-CoV-2-specific IgA response in COVID-19 patients // *Eur. Respir. J.* 2020. Vol. 56, No. 2. P. 2001526. DOI: 10.1183/13993003.01526-2020
11. Padoan A., Sciacovelli L., Basso D. et al. IgA-Ab response to spike glycoprotein of SARS-CoV-2 in patients with COVID-19: A longitudinal study // *Clin. Chim. Acta.* 2020. No. 507. P. 164–166. DOI: 10.1016/j.cca.2020.04.026
12. Ma H., Zhao D., Zeng W. et al. Decline of SARS-CoV-2-specific IgG, IgM and IgA in convalescent COVID-19 patients within 100 days after hospital discharge // *Sci. China Life Sci.* 2020. P. 1–4. DOI: 10.1007/s11427-020-1805-0
13. Ni L., Ye F., Cheng M.L. et al. Detection of SARS-CoV-2-specific humoral and cellular immunity in COVID-19 convalescent individuals // *Immunity.* 2020. Vol. 52, No. 6. P. 971–977.e3. DOI: 10.1016/j.immuni.2020.04.023
14. Robbiani D.F., Gaebler C., Muecksch F. et al. Convergent antibody responses to SARS-CoV-2 infection in convalescent individuals // *bioRxiv.* 2020. No. 13. P. 092619. DOI: 10.1101/2020.05.13.092619
15. Wu F., Wang A., Liu M. 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

References

1. Hu B, Guo H, Zhou P, et al. Characteristics of SARS-CoV-2 and COVID-19. *Nat Rev Microbiol.* 2020;6:1–14. DOI: 10.1038/s41579-020-00459-7
2. Huang AT, Garcia-Carreras B, Hitchings MDT, et al. A systematic review of antibody mediated immunity to coronaviruses: kinetics, correlates of protection, and association with severity. *Nat Commun.* 2020;11(1):4704. DOI: 10.1038/s41467-020-18450-4
3. Временные методические рекомендации «Профилактика, диагностика и лечение новой коронавирусной инфекции (COVID-19)». *Министерство здравоохранения Российской Федерации*. Версия 9 от 26.10.2020 г. Available from: [Медицинский академический журнал
Medical Academic Journal](https://static-0.minzdrav.gov.ru/system/attachments/at-

</div>
<div data-bbox=)

- taches/000/052/548/original/%D0%9C%D0%A0_COVID-19_%28v.9%29.pdf?1603730062. (In Russ.)
4. Deeks JJ, Dinnes J, Takwoingi Y, et al. Antibody tests for identification of current and past infection with SARS-CoV-2. *Cochrane Database Syst Rev.* 2020;6(6):CD013652. DOI: 10.1002/14651858.CD013652
 5. Murchu EO, Byrne P, Walsh KA, et al. Immune response following infection with SARS-CoV-2 and other coronaviruses: a rapid review. *Rev Med Virol.* 2020;e2162. DOI: 10.1002/rmv.2162
 6. Demey B, Daher N, Francois C, et al. Dynamic profile for the detection of anti-SARS-CoV-2 antibodies using four immunochromatographic assays. *J Infect.* 2020;81(2):e6–e10. DOI: 10.1016/j.jinf.2020.04.033
 7. Hou H, Wang T, Zhang B, et al. Detection of IgM and IgG antibodies in patients with coronavirus disease 2019. *Clin Transl Immunology.* 2020;9(5):e01136. DOI: 10.1002/cti2.1136
 8. La Rosa Fabián C, Urquiza Briceco L. Anti-SARS-Cov-2 IgA in current scenario of IgM and IgG rapid test: a new alternative for the diagnostic of COVID-19. *SN Compr Clin Med.* 2020;2:2167–2169. DOI: 10.1007/s42399-020-00551-2
 9. Ma H, Zeng W, He H, et al. Serum IgA, IgM, and IgG responses in COVID-19. *Cell Mol Immunol.* 2020;17(7):773–775. DOI: 10.1038/s41423-020-0474-z
 10. Yu HQ, Sun BQ, Fang ZF, et al. Distinct features of SARS-CoV-2-specific IgA response in COVID-19 patients. *Eur Respir J.* 2020;56(2):2001526. DOI: 10.1183/13993003.01526-2020
 11. Padoan A, Sciacovelli L, Basso D, et al. IgA-Ab response to spike glycoprotein of SARS-CoV-2 in patients with COVID-19: A longitudinal study. *Clin Chim Acta.* 2020;507:164–166. DOI: 10.1016/j.cca.2020.04.026
 12. Ma H, Zhao D, Zeng W, et al. Decline of SARS-CoV-2-specific IgG, IgM and IgA in convalescent COVID-19 patients within 100 days after hospital discharge. *Sci China Life Sci.* 2020;1–4. DOI: 10.1007/s11427-020-1805-0
 13. Ni L, Ye F, Cheng ML, et al. Detection of SARS-CoV-2-specific humoral and cellular immunity in COVID-19 convalescent individuals. *Immunity.* 2020;52(6):971–977.e3. DOI: 10.1016/j.immuni.2020.04.023
 14. Robbiani DF, Gaebler C, Muecksch F, et al. Convergent antibody responses to SARS-CoV-2 infection in convalescent individuals. *bioRxiv.* 2020;13:092619. DOI: 10.1101/2020.05.13.092619
 15. Wu F, Wang A, Liu M, 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

Информация об авторах / Information about the authors

Елена Игоревна Загоруйко — старший менеджер проектов клинических исследований научного отдела. АО «ГЕНЕРИУМ», Москва, Россия. E-mail: eizagoruiko@generium.ru.

Дмитрий Анатольевич Кудлай — д-р мед. наук, профессор кафедры фармакологии Института Фармации. ФГАОУ ВО «Первый МГМУ им. И.М. Сеченова» Минздрава России (Сеченовский университет), Москва, Россия; вице-президент по внедрению новых медицинских технологий. АО «ГЕНЕРИУМ», Москва, Россия. E-mail: dakudlay@generium.ru.

Марьяна Анатольевна Лысенко — д-р мед. наук, профессор кафедры общей терапии факультета дополнительного профессионального образования. ФГАОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздрава России; главный врач ГБУЗ «ГКБ № 52 ДЗМ», Москва, Россия. E-mail: gkb52@zdrav.mos.ru.

Дарья Сергеевна Фомина — канд. мед. наук, доцент кафедры клинической иммунологии и аллергологии. ФГАОУ ВО «Первый МГМУ им. И.М. Сеченова» Минздрава России (Сеченовский университет); главный внештатный специалист аллерголог-иммунолог. Департамент здравоохранения города Москвы; заведующая Центром аллергологии и иммунологии. ГБУЗ «ГКБ № 52 ДЗМ», Москва, Россия; E-mail: daria_fomina@mail.ru.

Илья Викторович Виноградов — канд. биол. наук, исследователь-разработчик. ООО «МБС-Технология», Новосибирск, Россия. E-mail: vinogradov@mbu-tech.com.

Elena I. Zagoruiko — Senior Clinical Research Manager, Scientific Department. GENERIUM, Moscow, Russia. E-mail: eizagoruiko@generium.ru.

Dmitriy A. Kudlay — MD, PhD, DSc (Medicine), Professor of the Pharmacology Department, Institute of Pharmacy. I.M. Sechenov First Moscow State Medical University; Vice President, New Medical Technology Implementation. GENERIUM, Moscow, Russia. E-mail: dakudlay@generium.ru.

Maryana A. Lysenko — MD, PhD, DSc (Medicine), Professor of the General Internal Medicine Department, Faculty of Additional Professional Education. N.I. Pirogov Medical University; Head Physician. City Clinical Hospital No. 52, Moscow, Russia; E-mail: gkb52@zdrav.mos.ru.

Darya S. Fomina — MD, PhD (Medicine), Associate Professor of the Clinical Immunology and Allergology Department. I.M. Sechenov First Moscow State Medical University; Chief External Specialist in Allergology and Immunology. Moscow City Health Department; Chief of the Allergology and Immunology Center. City Clinical Hospital No. 52, Moscow, Russia. E-mail: daria_fomina@mail.ru.

Ilya V. Vinogradov — MD, PhD (Biology), R&D scientist. MBU-Technology, Novosibirsk, Russia. E-mail: vinogradov@mbu-tech.com.

Информация об авторах / Information about the authors

Владислав Викторович Богачев —
канд. биол. наук, исследователь-разработчик.
МБС-Технология, Новосибирск, Россия.
E-mail: bogachev@mbu-tech.com.

Vladislav V. Bogachev — MD, PhD (Biology),
R&D scientist. MBU-Technology, Novosibirsk, Russia.
E-mail: bogachev@mbu-tech.com.

Алена Александровна Старостенко — ведущий
специалист отдела регистрации медицинских изделий.
ООО «Медико-биологический Союз», Новосибирск,
Россия. E-mail: starostenko.alena@gmail.com.

Alena A. Starostenko — Leading Specialist of
the Medical Devices Registration Department.
Medical Biological Union, Novosibirsk, Russia.
E-mail: starostenko.alena@gmail.com.

✉ Контактное лицо / Corresponding author

Елена Игоревна Загоруйко / Elena I. Zagoruiko
E-mail: eizagoruiko@generium.ru