

Elecsys® Anti-SARS-CoV-2 S*

Иммуноанализ для количественного определения антител к S-белку SARS-CoV-2

Общая информация

SARS-CoV-2, возбудитель коронавирусной инфекции 2019 года (COVID-19), представляет собой оболочечный вирус, содержащий одноцепочечную РНК, который относится к роду бета-коронавирусы. Идентифицировано семь коронавирусов, вызывающих инфекционные заболевания у человека, проявления которых могут варьироваться от симптомов легкой ОРВИ до тяжелой дыхательной недостаточности¹.

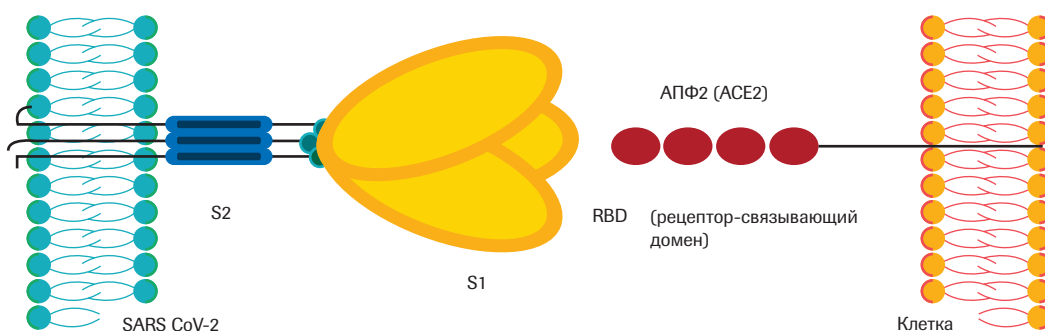
SARS-CoV-2 передается от человека к человеку преимущественно воздушно-капельным путем^{2,3}. Инкубационный период от инфицирования хозяина до обнаруживаемой вирусной нагрузки обычно составляет от 2 до 14 дней^{4,5}. Обнаружение вирусной нагрузки может сопровождаться появлением клинических симптомов, хотя у значительной части инфицированных лиц симптомы отсутствуют или слабо выражены⁶⁻⁸. Период, в течение которого человек с COVID-19 является заразным, до сих пор четко не установлен, однако описана передача вируса от людей с симптомами, без симптомов и до появления симптомов⁹⁻¹¹.

Геном коронавирусов кодирует 4 основных структурных белка: шиповидный белок (S), белок оболочки (E), мембранный белок (M) и нуклеокапсидный белок (N).

S-белок представляет собой очень большой трансмембранный белок, который собирается в тримеры, образующие характерные шипы на поверхности коронавирусов. Каждый мономер S-белка состоит из N-терминальной субъединицы S1 и мембранно-проксимальной субъединицы S2. Вирус проникает в клетку-хозяина путем связывания S-белка с играющим роль рецептора ангиотензин-превращающим ферментом 2 (АПФ2), который присутствует на поверхности клеток многих типов, включая альвеолоциты II типа в легких и эпителиальные клетки слизистой оболочки ротовой полости^{12,13}. Механистически АПФ2 взаимодействует с рецептор-связывающим доменом (RBD) субъединицы S1^{14,15}.

При инфицировании SARS-CoV-2 в организме хозяина обычно возникает иммунный ответ против вируса, включающий образование специфических антител к антигенам вируса. Антитела класса IgM и IgG к SARS-CoV-2 появляются в крови практически одновременно¹⁶. У пациентов с COVID-19 наблюдаются значительные индивидуальные различия в отношении уровней и последовательности появления антител, однако медиана времени до сероконверсии составляет около двух недель¹⁷⁻²⁰.

Структура шиповидного (S) белка SARS-CoV-2 и его связывание с рецептором клетки-хозяина



После инфицирования или вакцинации сила связывания антител с антигенами со временем увеличивается – этот процесс называют созреванием аффинности²¹. Высокоаффинные антитела могут оказывать нейтрализующее действие путем распознавания и связывания специфических эпитопов вируса^{22,23}. Обнаружены антитела к SARS-CoV-2 с высокой нейтрализующей способностью, которая особенно велика у антител, специфичных к рецептор-связывающему домену²⁴⁻²⁷. В настоящее время разрабатываются многочисленные вакцины для профилактики COVID-19, многие из которых направлены на стимуляцию иммунного ответа на рецептор-связывающий домен (RBD)²⁸⁻³⁰.

Elecsys® Anti-SARS-CoV-2 S представляет собой иммуноанализ для *in vitro* диагностики, предназначенный для количественного определения антител (включая IgG) к рецептор-связывающему домену (RBD) шиповидного (S) белка SARS-CoV-2 в сыворотке и плазме крови человека. В тесте используется рекомбинантный белок, соответствующий рецептор-связывающему домену S-антигена. Формат теста основан на принципе сэндвича с двумя антигенами, что позволяет обнаруживать высокоаффинные антитела к SARS-CoV-2. Тест предназначен для оценки адаптивного гуморального иммунного ответа на S-белок SARS-CoV-2³¹.

Структура шиповидного (S) белка SARS-CoV-2 и его связывание с рецептором клетки-хозяина

Принцип метода: Двойной антиген «сэндвич» метод (Общая продолжительность анализа: 18 минут)³¹



Этап 1 (9 минут)

20 мкл анализируемого образца инкубируется со смесью биотинилированного и рутенированного антигенов RBD. В присутствии соответствующих антител образуются иммунные сэндвич-комплексы с двумя антигенами.

Этап 2 (9 минут)

После добавления покрытых стрептавидином микрошариковых частиц сэндвич-комплексы с двумя антигенами связываются с твердой фазой в результате взаимодействия биотина и стрептавидина.

Этап 3 (измерение)

Реакционная смесь аспирируется в измерительную ячейку, где под действием магнитного поля микрошариковые частицы осаждаются на поверхности электрода. Несвязавшиеся вещества удаляются. Под воздействием приложенного напряжения индуцируется электрохемилюминесценция, которая измеряется фотоумножителем. Величина сигнала зависит от титра антител.

Характеристики теста Elecsys® Anti-SARS-CoV-2 S³¹

Анализатор	cobas e 411 модули cobas e 601 / cobas e 602
Время анализа	18 минут
Принцип теста	Одноэтапное образование сэндвич-комплекса с двумя антигенами
Прослеживаемость	Внутренний стандартный образец Roche для антител к SARS-CoV-2-S, содержащий моноклональные антитела. 1 нМ этих антител соответствует уровню антител 20 Е/мл, измеренному с помощью теста Elecsys® Anti-SARS-CoV-2 S
Диапазон линейности	От 0,4 до 250 Е/мл
Калибровка	2-точечная (отдельный набор CalSet)
Интерпретация	<0,8 Е/мл = нереактивный, ≥0,8 Е/мл = реактивный
Типы образцов	Сыворотка крови, полученная с использованием стандартных пробирок для отбора образцов; плазма крови, содержащая Li-гепарин, K2-ЭДТА, K3-ЭДТА и натрия цитрат
Объем образца	20 мкл
Стабильность на борту	14 дней
Внутрилабораторная прецизионность для положительных образцов	cobas e 411: CV* 1,9 – 2,9% cobas e 601 / cobas e 602: CV 2,7 – 3,6%

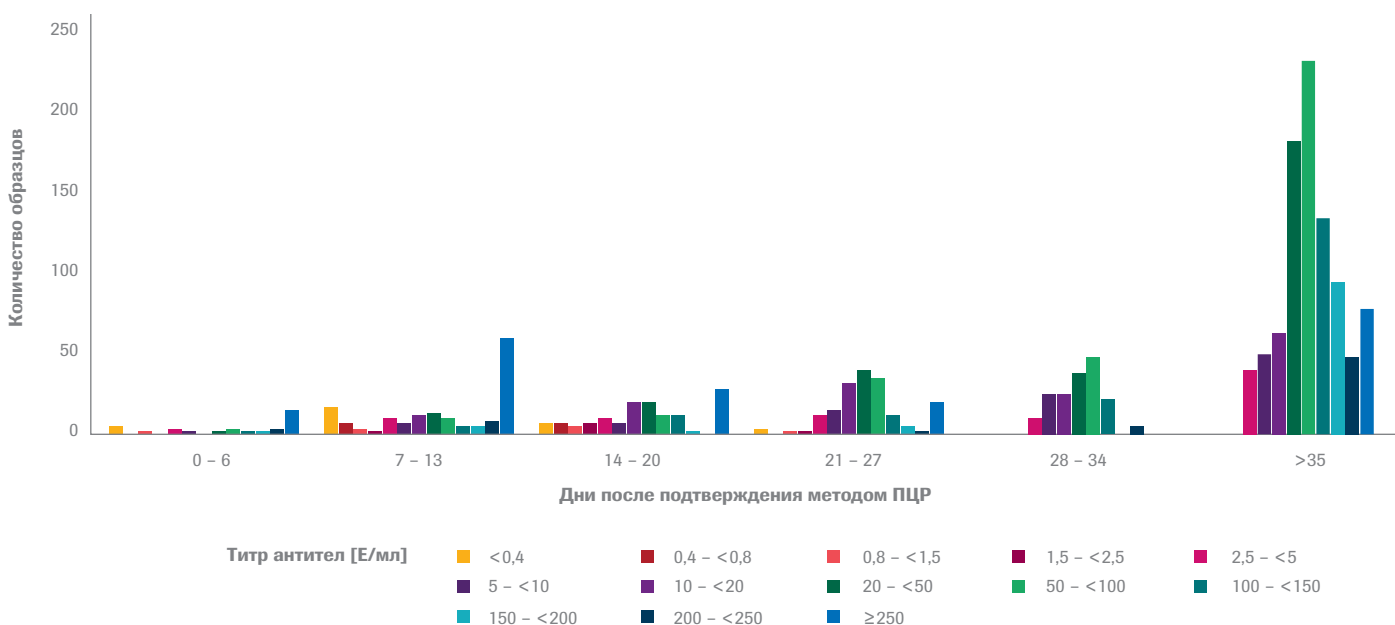
Клиническая чувствительность³¹

С использованием теста Elecsys® Anti-SARS-CoV-2 S было проанализировано 1610 образцов, отобранных у 402 пациентов с клиническими симптомами (включая 297 образцов, отобранных у 243 госпитализированных пациентов), у которых инфицирование SARS-CoV-2 было подтверждено методом ПЦР. У этих пациентов было отобрано по одному или несколько последовательных образцов в разных временных точках после подтверждения диагноза методом ПЦР.

Через 14 или более дней после диагностики методом ПЦР были отобраны 1423 образца. Из этих 1423 образцов результаты теста Elecsys® Anti-SARS-CoV-2 S составляли $\geq 0,8$ Е/мл для 1406 образцов, которые были признаны положительными, таким образом, в этой когорте образцов чувствительность составила **98,8%** (95% ДИ*: **98,1 – 99,3%**).

Дни после подтверждения методом ПЦР	N	Нереактивные образцы	Чувствительность (95% ДИ*)
0 – 6 дней	35	4	88,6% (73,3 – 96,8%)
7 – 13 дней	152	22	85,5% (78,9 – 90,7%)
14 – 20 дней	130	14	89,2% (82,6 – 94,0%)
21 – 27 дней	176	3	98,3% (95,1 – 99,7%)
28 – 34 дня	197	0	100% (98,1 – 100%)
≥ 35 дней	920	0	100% (99,6 – 100%)

* доверительный интервал



Аналитическая специфичность³¹

С использованием теста Elecsys® Anti-SARS-CoV-2 S было проанализировано 1100 образцов с потенциальной перекрестной реактивностью, которые были отобраны до октября 2019 года, включая образцы, положительные по антителам к MERS-CoV, образцы, отобранные у пациентов с симптомами ОРВИ, и образцы, которые были отобраны у лиц, инфицированных одним из четырех коронавирусов, вызывающих ОРВИ. Общая специфичность в этой когорте образцов с потенциальной перекрестной реактивностью составила **100%** (95% ДИ: **99,7 – 100%**).

Когорта	N	Реактивные образцы	Специфичность (95% ДИ)
MERS-CoV*	7	0	100% (59,0 – 100%)
Панель ОРВИ**	21	0	100% (83,4 – 100%)
Панель коронавирусов***	94	0	100% (96,2 – 100%)
Другие образцы с потенциальной перекрестной реактивностью****	978	0	100% (99,6 – 100%)
Итого	1,100	0	100% (99,7 – 100%)

* Образцы, положительные по антителам класса IgG к субъединице S1 шиповидного белка коронавируса, вызывающего ближневосточный респираторный синдром (MERS-CoV)

** 40 образцов, отобранных у пациентов с симптомами ОРВИ до октября 2019 года

*** Образцы, отобранные у лиц, ранее инфицированных коронавирусами HCoV1, NL63, 229E или OC43, что было подтверждено тестированием на антигены

**** Образцы, отобранные до пандемии по другим показаниям, при анализе которых вероятность неспецифической интерференции могла оказаться повышенной

Клиническая специфичность³¹

С использованием теста Elecsys® Anti-SARS-CoV-2 S был проанализирован 5991 образец, отобранный с целью рутинной диагностики и у доноров крови до октября 2019 года. Общая специфичность в этой когорте образцов, отобранных до пандемии, составил **99,98%** (95% CI: 99,91 – 100%).

Когорта	N	Реактивные образцы	Специфичность (95 % ДИ)
Рутинная диагностика	2,528	0	100% (99,85 – 100%)
Доноры крови из США	2,713	1	99,96% (99,79 – 100%)
Доноры крови из Африки	750	0	100% (99,51 – 100%)
Итого	5,991	1	99,98% (99,91 – 100%)

Корреляция с нейтрализующей способностью сыворотки³¹

Тест Elecsys® Anti-SARS-CoV-2 S был сопоставлен с тестом на нейтрализацию псевдовируса, полученного на основе вируса везикулярного стоматита³², с использованием 15 клинических образцов, отобранных у отдельных пациентов.

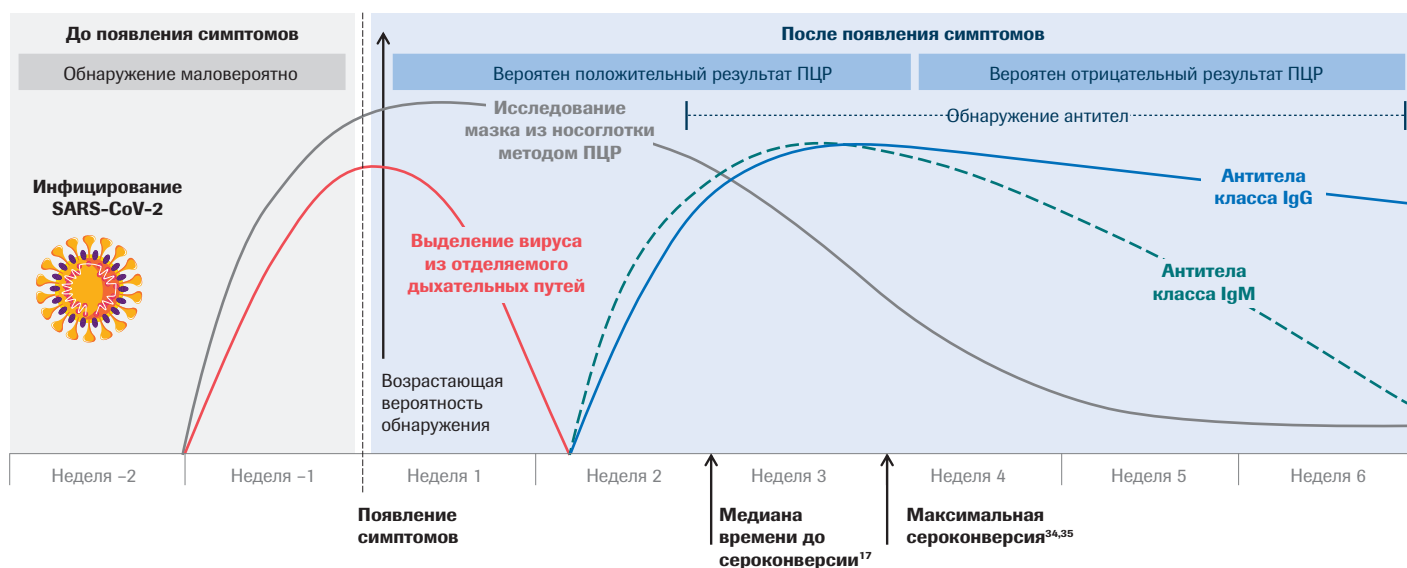
Нейтрализация псевдовируса

		Положительный	Неопределенный	Отрицательный	Итого
Elecsys® Anti-SARS-CoV-2 S	≥0,8 Е/мл	12	0	0	12
	<0,8 Е/мл	1	1	1	3
	Итого	13	1	1	15

**Доля совпадающих
положительных
результатов**

92,3% (95% ДИ 63,97 – 99,81%)

Предполагаемая динамика маркеров при инфицировании SARS-CoV-2³³



Информация для заказа

Продукт	Фасовка	Арт №
Elecsys® Anti-SARS-CoV-2 S	200 тестов	09 289 267 190
CalSet Anti-SARS-CoV-2 S**	4 × 1,0 мл	09 289 291 190
PreciControl Anti-SARS-CoV-2 S***	4 × 1,0 мл	09 289 313 190

Литература

- Ye, Z.-W. (2020). *Int J Biol Sci.* **16**(10), 1686-97.
- World Health Organization (2020). Available from: <https://www.who.int/news-room/commentaries/detail/transmission-of-sars-cov-2-implications-for-infection-prevention-precautions>.
- Zhu, N. et al. (2020). *N Engl J Med.* **20**, 382(8), 727-33.
- Chan, J.F.-W. et al. (2020). *Lancet.* **15**, 395(10223), 514-23.
- Lauer, S.A. et al. (2020). *Ann Intern Med.* **172**(9), 577-582.
- Zhou, R. et al. (2020). *Int J Inf Dis.* **96**, 288-90.
- He, X. et al. (2020). *Nat Med.* **26**(5), 672-5.
- Mizumoto, K. et al. (2020). *Euro Surveill.* **25**(10), pii=2000180.
- Gao, M. et al. (2020). *Respir Med.* **169**, 106026.
- Yu, P. et al. (2020). *J Infect Dis.* **221**(11), 1757-61.
- Liu, Z. et al. (2020). *Int J Inf Dis.* <https://doi.org/10.1016/j.ijid.2020.06.036>.
- Letko, M. et al. (2020). *Nat Microbiol.* **5**(4), 562-9.
- Xu, H. et al. (2020). *Int J Oral Sci.* **24**, 12(1), 1-5.
- Wrapp, D. et al. (2020). *Science.* **13**, 367(6483), 1260-3.
- Hoffmann, M. et al. (2020). *Cell.* **16**, 181(2), 271-280.e8.
- Centers for Disease Control and Prevention (2020). Available from: <https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/lab/resources/antibody-tests-guidelines.html>.
- Long, Q. et al. (2020). *medRxiv.* <https://doi.org/10.1101/2020.03.18.20038018>.
- Lou, B. et al. (2020). *Eur Respir J.* **19**, 2000763.
- Zhao, J. et al. *Clin Infect Dis.* **ciaa344.** <https://doi.org/10.1093/cid/ciaa344>.
- Tuaille, E. et al. (2020). *J Inf.* **81**(2), e39-e45.
- Klasse, P.J. (2016). *Expert Rev Vaccines* **15**(3), 295-311.
- Payne, S. (2017). *Viruses: Chapter 6 – Immunity and Resistance to Viruses*, Editor(s): Susan Payne, Academic Press, Pages 61-71, ISBN 9780128031094.
- Iwasaki, A. and Yang, Y. (2020). *Nat Rev Immunol.* <https://doi.org/10.1038/s41577-020-0321-6>.
- Salazar, E. et al. (2020). *bioRxiv* 2020.06.08.138990; <https://doi.org/10.1101/2020.06.08.138990>.
- Klasse, P. and Moore, J.P. (2020). *Elife.* 2020, 9:e57877. doi:10.7554/eLife.57877.
- Premkumar, L. et al. (2020). *Sci Immunol.* **11**, 5(48).
- Luchsinger, L.L. et al. (2020). *medRxiv.* <https://doi.org/10.1101/2020.06.08.20124792>
- Mukherjee, R. (2020). *J Biosci.* **45**, 68. <https://doi.org/10.1007/s12038-020-00040-7>.
- Graham, B.S. (2020). *Science.* **368**(6494), 945-6.
- Hotez, P.J. et al. (2020). *Nat Rev Immunol.* **20**(6), 347-8.
- Elecsys® Anti-SARS-CoV-2 S. Package Insert 2020-09, V1.0; Material Numbers 09289267190 and 09289275190.
- Meyer, B. et al. *medRxiv.* <https://doi.org/10.1101/2020.05.02.20080879>.
- Sethuraman, N. et al. (2020). *JAMA.* Published online May 06, 2020. doi:10.1001/jama.2020.8259.
- To, K. et al. (2020). *Lancet Infect Dis.* **20**(5), 565-74.
- Xiang, F. et al. (2020). *Clin Infect Dis.* pii: ciaa46. <https://doi.org/10.1093/cid/ciaa461>.

COBAS, COBAS E, ELECSYS являются торговыми знаками Рош.

© 2021 Рош

ООО «Рош Диагностика Рус»:

Россия, 115114, Москва, ул. Летниковская, д. 2, стр. 2,

Бизнес-центр «Вивальди Плаза»

Тел.: +7 495 229-69-99, Факс: +7 495 229-62-64

www.rochediagnostics.ru

- * Реагенты в кассете для количественного определения общих антител IgM/IgG к SARS-CoV-2 иммунохемилюминесцентным методом в сыворотке и плазме крови на анализаторах и модулях иммунохимических cobas e PU P3H 2020/13093 от 29.12.2020
- ** Набор калибраторов для количественного определения общих антител IgM/IgG к SARS-CoV-2 в сыворотке и плазме крови иммунохемилюминесцентным методом на анализаторах и модулях иммунохимических cobas e PU P3H 2020/13090 от 28.12.2020
- *** Набор контрольных сывороток для контроля качества определения общих антител IgM/IgG к SARS-CoV-2 в сыворотке и плазме крови иммунохемилюминесцентным методом для анализаторов и модулей иммунохимических cobas e PU P3H 2020/13089 от 28.12.2020