

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ ИММУНОХРОМАТОГРАФИЧЕСКИХ ТЕСТОВ РАЗНЫХ ФИРМ ПРИ ДИАГНОСТИКЕ КОРОНАВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИЙ

Ж.К.Кошеметов , М.С.Сейсенбаева , Н.К.Оразымбетова* ,
Б.К.Умуралиев , Ә.А.Исахан 

РГП «Научно-исследовательский институт проблем биологической безопасности» МЗ РК,
пгт. Гвардейский, Казахстан
*n.orazymbetova@biosafety.kz

Аннотация. COVID-19, ранее коронавирусная инфекция 2019-nCoV — потенциально тяжелая острая респираторная инфекция, вызываемая коронавирусом SARS-CoV-2 (2019-nCoV). Представляет собой опасное заболевание, которое может протекать как в форме острой респираторной вирусной инфекции лёгкого течения, так и в тяжёлой форме. Распространяется вирус воздушно-капельным путём через вдыхание распылённых в воздухе при кашле, чихании или разговоре капель с вирусом, а также через попадание вируса на поверхности с последующим занесением в глаза, нос или рот. К числу эффективных мер борьбы с данной опасной болезнью является своевременной, и быстрой постановка диагноза. Одним из эффективных средств диагностических методов является иммунохроматографический (ИХА) тест, которого можно использовать на местах в лабораторных и полевых условиях для постановки диагноза на COVID-19 [1-7]. В данной работе представлены результаты исследования по определению чувствительности ИХА тестов разных фирм. Опытным путем установлено, что данных методов можно использовать для диагностики COVID-19 в медицинских учреждениях.

Ключевые слова: SARS-CoV-2; COVID-19; иммунохроматографический анализ; чувствительность; антиген; диагностика.

Введение

Лабораторная диагностика различных заболеваний в медицинской практике занимает основные позиции. Это базис, который помогает устанавливать диагноз и следить за динамикой патологического процесса в ходе лечения. Исследовать биоматериал (кровь, мочу, слюну, кал и другие) на специфические вещества можно не только классическими методами, но и с помощью иммунохроматографическими тестами. Данный вид диагностики просто неocenim, особенно в период пандемии.

Для борьбы с любой эпидемией колоссальное значение имеет своевременная диагностика, и пандемия COVID-19 не является исключением. За короткие сроки постановки диагноза на COVID-19, дает возможность принять все необходимые меры для обеспечения безопасности больных и их окружения.

Первая половина наступившего 2020 года ознаменовалось важными для всего человечества событиями в области общественного здравоохранения. 30 января 2020 года на втором заседании Чрезвычайного комитета ВОЗ пандемия, вызванная коронавирусом SARS-CoV-2, была признана «чрезвычайной ситуацией, имеющей международное

значение». Пандемия привлекла к себе внимание специалистов во всем мире, так как ранее коронавирусные инфекции у людей не выходили за пределы допустимого уровня биологического риска, однако последствия произошедших мутаций этих вирусов указывают на то, что трансформации последних могут приводить к непредвиденным последствиям.

Одним из важнейших направлений стратегии борьбы с новой инфекцией стала необходимость массового лабораторного скрининга групп населения с высоким риском заражения. Своевременная и качественная лабораторная диагностика пациентов, инфицированных SARS-CoV-2, стала основным приоритетом в ликвидации пандемии и введении карантинных мер. Таким образом, на сегодняшний день все более актуальным становится вопрос о необходимости своевременной высокоточной диагностики коронавирусной инфекции. Повсеместное внедрение диагностических тестов позволит не только уточнить эпидемиологическую ситуацию, но и сформировать целостное представление об основных патогенетических звеньях заболевания, а также повысить качество проводимых лечебных и профилактических мероприятий [1-3].

Целью данной работы является определение чувствительности иммунохроматографических тестов разных фирм при диагностике коронавируса.

Материалы и методы исследования

Объектом исследования служили *ИХА-тест ESPLINE® SARS-CoV-2, производства Японии (Espline); ИХА-тест PANBIO™ COVID-19 Ag RAPID TEST DEVICE (NASAL), производства Germany; ИХА-тест CerTest SARS-CoV-2, Certest Biotec, Испания; ИХА-тест Humasis COVID-19 Ag Test, Germany; Экспресс-тест для обнаружения антигена вируса SARS-CoV-2, в мазках из носоглотки COVID-19 Ag (Казахстан), ECO Pharm KZ; Тест Covid-19 (SARS-CoV-2) Antigen Test Kit (Colloidal Gold), anhui, China; Тест SARS-CoV-2 Rapid Antigen Test, Южная Корея; Тест Cat antigen Covid Rapid Test, экспресс-тест на наличие антигена 2019-nCoV для качественной оценки наличия антигена вируса SARS-CoV-2 в образцах мазков из носоглотки, Turkiye; Sars-CoV-2- Antigen Assay Kit (Colloidal Gold method) и Тест 2019-nCoV Antigen Rapid Test (Colloidal Gold, США).*

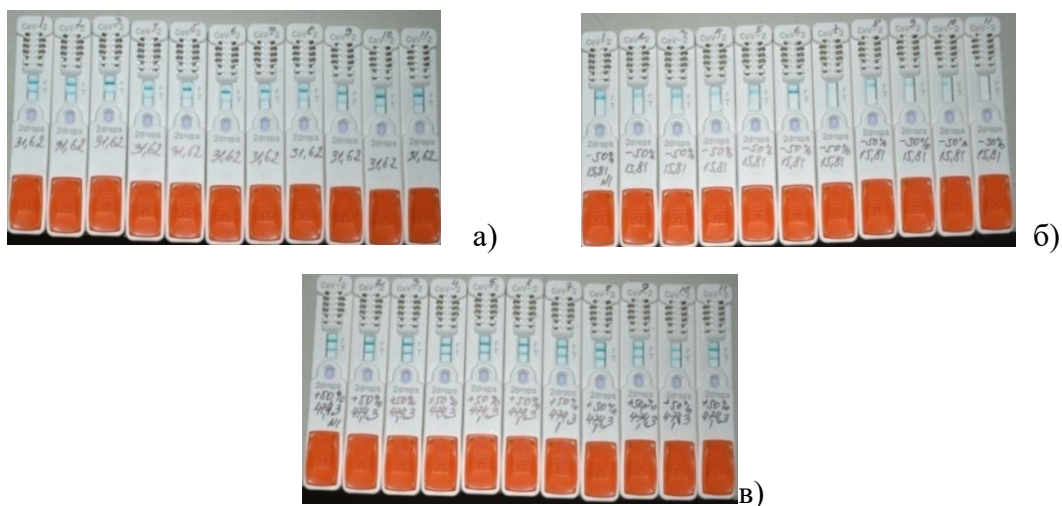
При оценке чувствительности ИХА-тестов в опытах использовали штамм «SARS-CoV-2/KZ_Almaly/04.2020» вируса коронавирусной инфекции с биологической активностью 6,50 lg TCID₅₀/мл.

Постановка тестов проводилась согласно наставлению производителя.

Результаты исследования

Определение чувствительности метода *ESPLINE® SARS-CoV-2* (Япония), проверяли в одинадцатой повторности с тремя дозами вируса.

Нанесенные на лунку пластинки исследуемых доз вируса инкубировали в течение 10-30 мин, затем производили учет результатов визуально. Результаты представлены на рисунке 1.

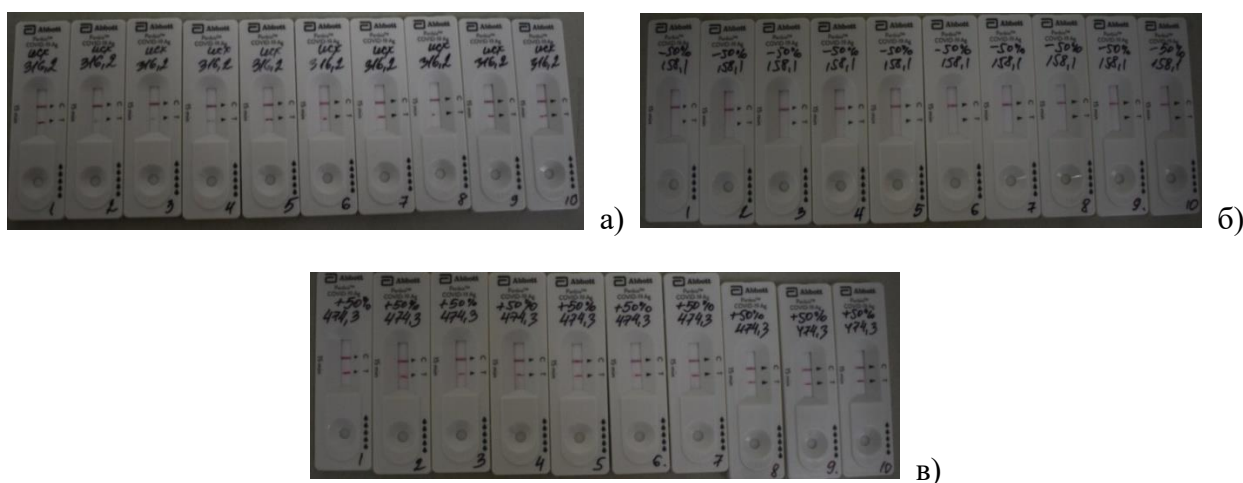


Примечание: а) доза вируса 31,62 ТЦД₅₀/см³; б) доза вируса 15,81 ТЦД₅₀/см³; в) доза вируса 47,43 ТЦД₅₀/см³

Рисунок 1 - Чувствительность метода *ESPLINE*® *SARS-CoV-2*

По результатам исследования чувствительность метода составила – 31,62 TCID₅₀/мл, однако в дозе вируса 15,81 TCID₅₀/мл получен отрицательный результат.

Следующий тест, *ИХА-тест Panbio*™ *COVID-19 Ag Rapid Test Device*. Результаты исследований по изучению чувствительности ИХА-теста представлены на рисунке 2.

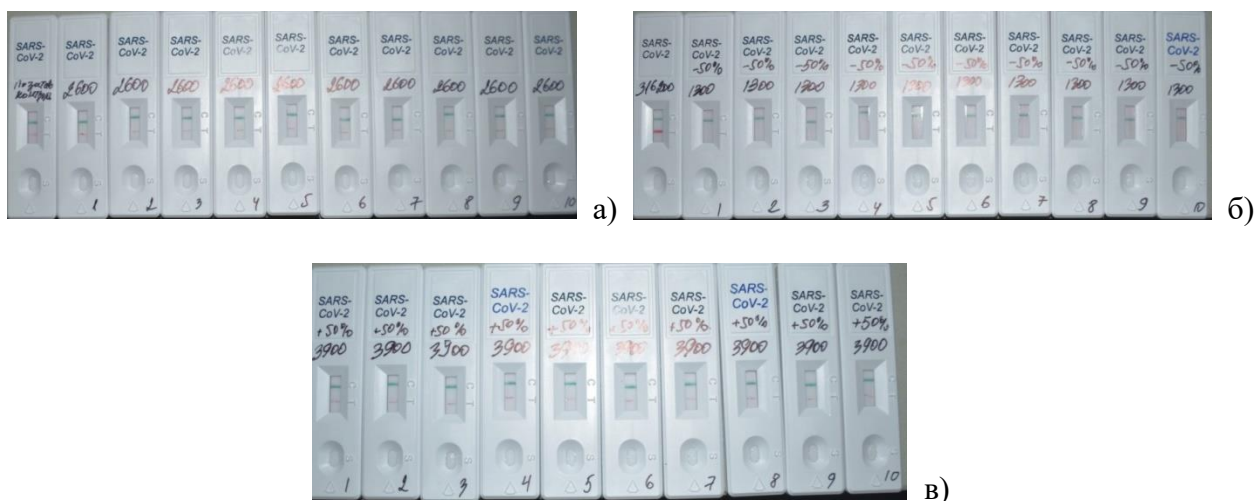


Примечание: а) доза вируса 316,2 ТЦД₅₀/см³; б) доза вируса 158,1 ТЦД₅₀/см³; в) доза вируса 474,3 ТЦД₅₀/см³

Рисунок 2 - Чувствительность метода *Panbio*™ *COVID-19 Ag Rapid Test Device* с разными дозами вируса.

Опытным путем установлено, что чувствительность метода *Panbio*™ *COVID-19 Ag Rapid Test Device* составила 316,2 TCID₅₀/мл.

Изучение чувствительности *ИХА-тест CerTest SARS-CoV-2* представлены на рисунке 3.

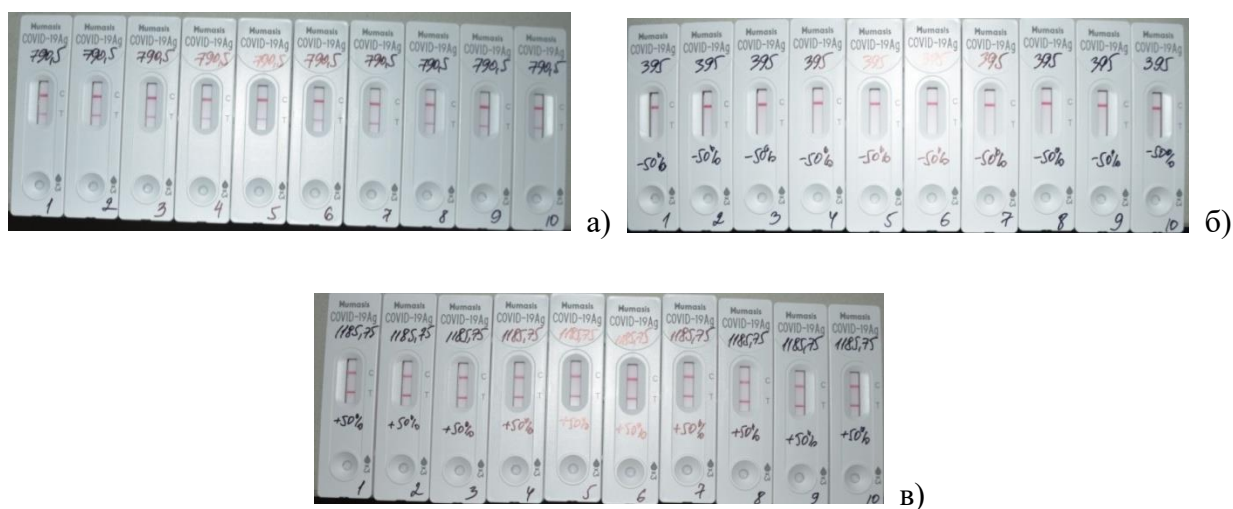


Примечание: а) доза вируса 2600 ТЦД₅₀/см³; б) доза вируса 1300 ТЦД₅₀/см³; в) доза вируса 3900 ТЦД₅₀/см³

Рисунок 3 - Чувствительность метода CerTest SARS-CoV-2

Чувствительность метода CerTest SARS-CoV-2 при обнаружении антигена вируса COVID-19 составила 2600 TCID₅₀/мл.

Результаты проверки чувствительности ИХА-тест Humasis COVID-19 Ag Test представлены на рисунке 4.

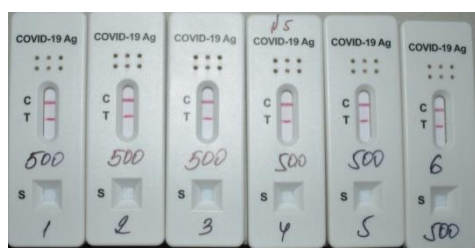


Примечание: а) доза вируса 790,5 ТЦД₅₀/см³; б) доза вируса 395 ТЦД₅₀/см³; в) доза вируса 1185,75 ТЦД₅₀/см³

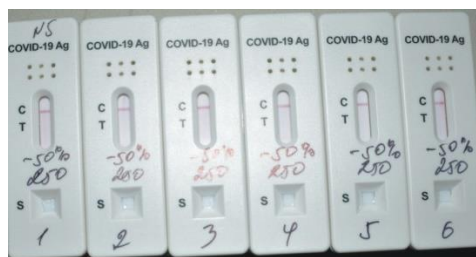
Рисунок 4 - Чувствительность метода Humasis COVID-19 Ag Test

Чувствительность метода Humasis COVID-19 Ag Test составила 790,5 TCID₅₀/мл.

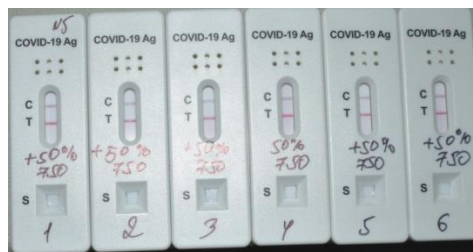
ИХА-экспресс тест для обнаружения антигена вируса SARS-CoV-2 Ag (Казахстан), ECO Pharm KZ. Результаты определения чувствительности ИХА теста представлены на рисунке 5.



а)



б)



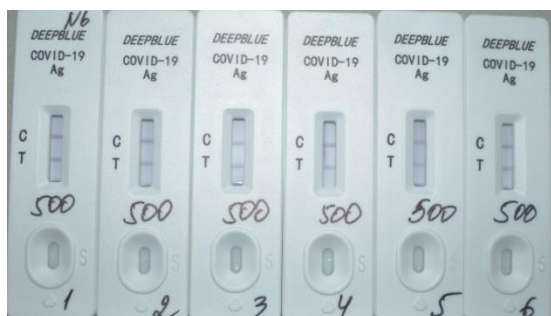
в)

Примечание: а) доза вируса 500 ТЦД₅₀/см³; б) доза вируса 250 ТЦД₅₀/см³ (-50%); в) доза вируса 750 ТЦД₅₀/см³ (+50%)

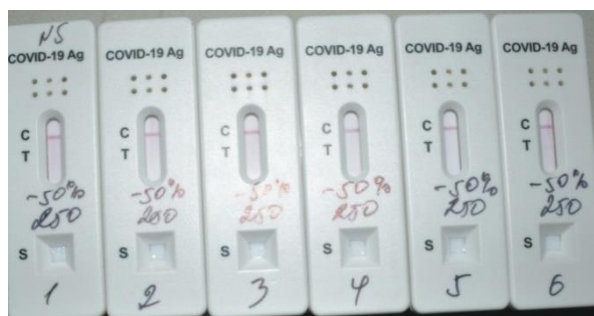
Рисунок 5 – Чувствительность ИХА-теста SARS-CoV-2 Ag (Казахстан), ECO Pharm KZ

Чувствительность данного ИХА-теста составила 500 TCID₅₀/мл.

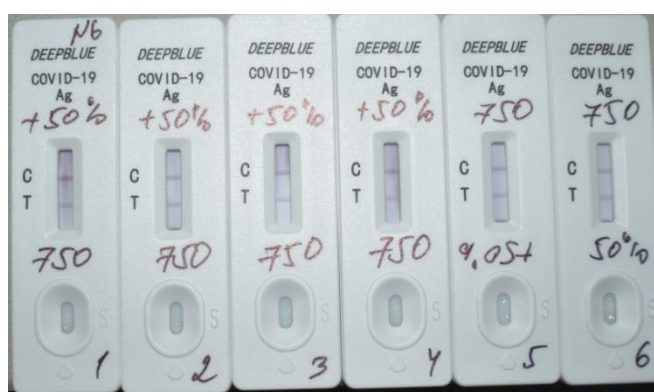
Результаты исследования чувствительности ИХА-теста COVID-19 (SARS-CoV-2) Antigen Test Kit представлены на рисунке 6.



а)



б)



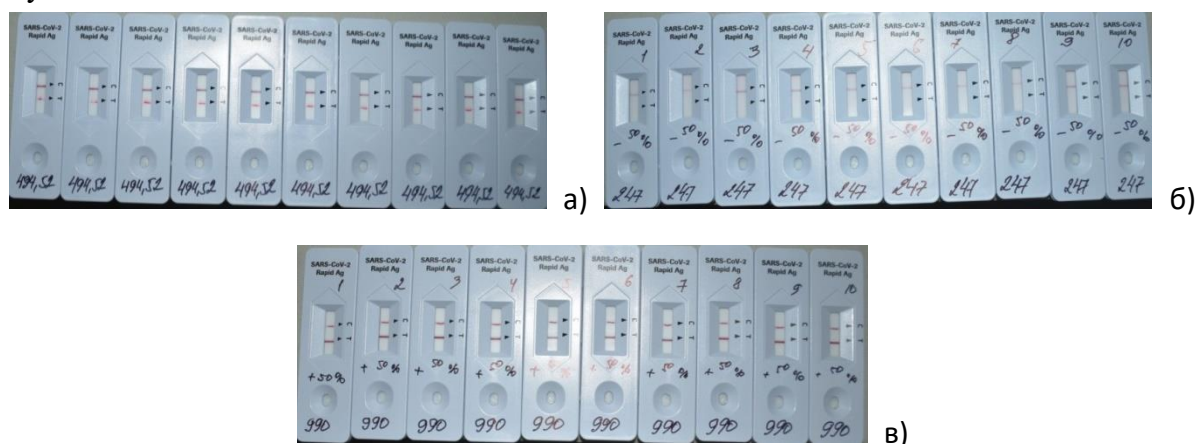
в)

Примечание: а) доза вируса 500 ТЦД₅₀/см³; б) доза вируса 250 ТЦД₅₀/см³; в) доза вируса 750 ТЦД₅₀/см³

Рисунок 6 - Чувствительность Набора Covid-19 (SARS-CoV-2) Antigen Test Kit

В результате чувствительность метода Covid-19 (SARS-CoV-2) Antigen Test Kit составила 500 TCID₅₀/мл.

Результаты чувствительности *ИХА-теста SARS-CoV-2 Rapid Antigen Test* указаны на рисунке 7.



Примечание: а) доза вируса 494,52 ТЦД₅₀/см³; б) доза вируса 247 ТЦД₅₀/см³; в) доза вируса 990 ТЦД₅₀/см³

Рисунок 7 - Чувствительность *Набора SARS-CoV-2 Rapid Antigen Test*

Чувствительность метода SARS-CoV-2 Rapid Antigen Test составляет 494,52 TCID₅₀/мл.

Чувствительность метода *Cat antigen Covid Rapid Test* при исследовании коронавируса с разными дозами представлены на рисунке 8.

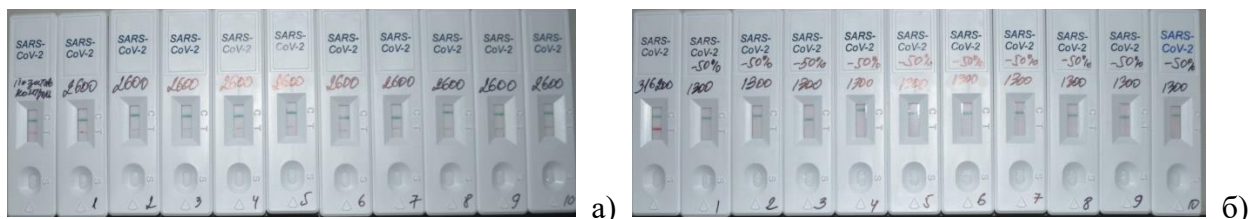


Примечание: а) доза вируса 790,5 ТЦД₅₀/см³; б) доза вируса 395,25 ТЦД₅₀/см³; в) доза вируса 1185,75 ТЦД₅₀/см³

Рисунок 8 - Чувствительность метода *Cat antigen Covid Rapid Test*

Качество *ИХА-теста Cat antigen COVID Rapid Test* вызывает сомнения, так как с помощью набора доза вируса 1185,75 TCID₅₀/мл выявлена в одной плате, а во второй плате получены отрицательный результат.

Чувствительность *ИХА-теста SARS-Cov-2 Antigen Assay Kit* представлены на рисунке 9.





б)

Примечание: а) доза вируса 2600 ТЦД₅₀/см³; б) доза вируса 1300 ТЦД₅₀/см³; в) доза вируса 3900 ТЦД₅₀/см³

Рисунок 9 - Чувствительность набора SARS-CoV-2 Antigen Assay Kit

Чувствительность данного ИХА-теста составляет 2600 TCID₅₀/мл (по наставлению чувствительность – 70 TCID₅₀/мл).

Результаты исследований чувствительности ИХА-теста 2019-nCoV Antigen Rapid Test представлены на таблице 10.



а)



б)



в)

Примечание: а) доза вируса 316,2 ТЦД₅₀/см³; б) доза вируса 158,1 ТЦД₅₀/см³; в) доза вируса 474,3 ТЦД₅₀/см³

Рисунок 10 - Чувствительность метода 2019-nCoV Antigen Rapid Test

Чувствительность метода 2019-nCoV Antigen Rapid Test составила 790,5 TCID₅₀/мл (по наставлению чувствительность – $3,84 \times 10^5$ TCID₅₀/мл).

Обсуждение

Как известно, для выявления микроорганизмов, и для качественного реагирования на вспышку нового, неизученного заболевания, центральную роль играют различные лабораторные диагностические тесты. Как только ситуация с COVID-19 приняла серьёзный оборот были оперативно разработаны методы диагностики, такие как, полимеразная цепная реакция (ПЦР) различной модификации, иммуноферментный анализ и др. Несмотря на их чувствительность, данные тесты не способны справиться с общим наплывом проб пациентов, которые будут исследованы лабораторных, самые главные полевых условиях.

Эволюция молекулярно-генетических методов лабораторной диагностики связана с развитием аналитических платформ идентификации нуклеиновых кислот, которые стали быстрыми и надёжными инструментами для прямой индикации вирусов [11-14]. В статье *Katsuhito Kashiwagi* и соавторов описано применение экспресс-иммунохроматографического теста на выявление антигена тяжелого острого респираторного коронавируса 2 (SARS-CoV-2) с использованием 16 образцов слюны, собранных у 6 госпитализированных пациентов с COVID-19, и обнаружили N-антиген в 4 из 7 положительных образцов ОТ-ПЦР [15]. Аналогичный случай описан *Sayed R.H.* и соавторами при разработке метода на основе иммуноанализа бокового свечения нанозолота (тест на антиген *LFI-COVID-19*) для обнаружения белков нуклеокапсида SARS-CoV-2. Разработанный тест *LFI-COVID-19 Ag* был проверен на предел обнаружения (LOD), перекрестную реактивность и мешающие вещества, а также эффективность. Установлено, что эффективность разработанного теста на антиген *LFI-COVID-19* при его оценке методом *RT-qPCR* составила 95, 98 и 97% по чувствительности, специфичности и точности соответственно. Это соответствует рекомендациям ВОЗ. Был сделан вывод, что разработанный тест на антиген *LFI-COVID-19* является альтернативой современным лабораторным методам, особенно *RT-qPCR*. Он обеспечивает простой, быстрый (в течение 20 минут) инструмент диагностики инфекции COVID-19 на месте [16].

В настоящее время для быстрого определения вируса COVID-19 необходима специфичная, чувствительная, универсальная тест-система, которую можно использовать в полевых условиях для постановки диагноза. Таковой является ИХА тест-система.

В наших опытах проведены сравнительные анализы по проверке чувствительности ИХА-тестов для выявления антигена COVID-19 10 наборов отечественных и зарубежных фирм.

Опытным путем установлены, что среди исследованных тестов высокочувствительными являются *ИХА-тест ESPLINE® SARS-CoV-2, производства Японии (Espline)* - 31,62 TCID₅₀/мл, *ИХА-тест Panbio™ COVID-19 Ag Rapid Test Device, производства Germany* - 316,2 TCID₅₀/мл, *ИХА-экспресс тест для обнаружения антигена вируса SARS-CoV-2 Ag (Казахстан), ECO Pharm KZ* - 500 TCID₅₀/мл, *ИХА-тест COVID-19 (SARS-CoV-2) Antigen Test Kit(Colloidal Gold), anhui, China* - 500 TCID₅₀/мл, *ИХА-тест SARS-CoV-2 Rapid Antigen Test, Южная Корея* - 494,52 TCID₅₀/мл.

Заключение

Сравнительный анализ ИХА тестов показал, что чувствительность тестов колеблется от 31,62 до 2600 TCID₅₀/мл.

По результатам можно заключить, что данных ИХА-тестов можно использовать как экспресс диагностики для выявления антигена COVID-19 в лабораторных и полевых условиях.

Благодарности: Работа выполнена в рамках НТП «Биологическая безопасность Республики Казахстан: оценка угроз, научно-технические основы их предупреждения и ликвидации» на 2021-2023 годы.

Конфликт интересов: Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов

Литература

1. Акиншина Ю.А., Марданлы С.С., Киселева В.А. Иммунохроматографический тест для дифференцированного выявления антител классов М и G к коронавирусу SARS-CoV-2 / Ю.А. Акиншина, С.С. Марданлы, В.А. Киселева // Russian clinical laboratory diagnostics. 2020. - 65 (11). - С. 688 – 692.
2. Горбунов А.А., Сорокина Л.Е., Чегодарь Д.В., Кубышкин А.В., Фомочкина Н.Н. Диагностика Covid-19: Современное состояние проблемы и перспективы в отрасли / А.А. Горбунов, Л.Е. Сорокина, Д.В. Чегодарь, А.В. Кубышкин, Н.Н. Фомочкина // Крымский журнал экспериментальной клинической медицины. 2020. - Т. 10. - № 2. - С. 69-72.
3. Андрюков Б.Г., Ляпун И.Н. Лабораторные стратегии диагностики Covid-19: современные технологии и тенденции развития (обзор литературы) / Б.Г. Андрюков, И.Н. Ляпун // Микробиология// Клиническая лабораторная диагностика. 2020. - 65 (12). - С. 757-766.
4. Novel coronavirus (2019-nCoV) (англ.). WHO/Europe. WHO (9 марта 2020). Дата обращения: 9 марта 2020. Архивировано 18 апреля 2020 года.
5. Coronavirus disease 2019 (COVID-19) - Symptoms, diagnosis and treatment | BMJ Best Practice (англ.). BMJ Best Practices. Дата обращения: 19 ноября 2021. Архивировано 19 ноября 2021 года.
6. Коронавирусная инфекция 2019-nCoV внесена в перечень опасных заболеваний // Минздрав России. — 2020. — 2 февраля. — Дата обращения: 28.11.2021.
7. David L. Heymann, Nahoko Shindo. COVID-19: what is next for public health? (англ.) / L. David Heymann, Nahoko Shindo. // The Lancet. — Elsevier, 2020. — 13 February. — ISSN 1474-547X 0140-6736, 1474-547X. — doi:10.1016/S0140-6736(20)30374-3.
8. Профилактика, диагностика и лечение новой коронавирусной инфекции (COVID-19). Временные методические рекомендации. Минздрав России (3 марта 2020). Дата обращения: 5 мая 2022. Архивировано 25 декабря 2021 года.
9. Clinical management of severe acute respiratory infection when novel coronavirus (2019-nCoV) infection is suspected: interim guidance, 28 January 2020 (англ.). WHO (28 января 2020). Дата обращения: 28 ноября 2021. Архивировано 25 ноября 2021 года.
10. Вопросы и ответы о COVID-19. ВОЗ. Дата обращения: 10 августа 2020. Архивировано 25 апреля 2020 года.
11. Ахмадеева Л.Р., Бредихина Н.С., Уразбахтина Ю.О. Современные диагностические тесты для выявления новой коронавирусной инфекции Covid-19 / Л.Р. Ахмадеева, Н.С. Бредихина, Ю.О. Уразбахтина // Medical & pharmaceutical JOURNAL “PULSE” 2022. - Vol. -24. №4 - С. 58-63.
12. Pfefferle S., Reucher S., Nörz D., Lütgehetmann M. Evaluation of a quantitative RT-PCR assay for the detection of the emerging coronavirus SARS-CoV-2 using a high throughput system / S. Pfefferle, S. Reucher, D. Nörz, M. Lütgehetmann // Euro Surveill. 2020. - 25(9): 2000152. Doi: 10.2807/1560-7917. ES.2020.25.9.2000152.
13. Андрюков Б.Г., Ляпун И.Н. Лабораторные стратегии диагностики Covid-19: Современные технологии и тенденции развития (обзор литературы) / Б.Г. Андрюков, И.Н. Ляпун // Клиническая лабораторная диагностика. 2020. - 65 (12).

14. Сыров А.В., Стуров Н.В., Колупаев В.Е. Диагностика COVID-19 амбулаторных условиях / А.В. Сыров, Н.В. Стуров, В.Е. Колупаев // Трудный пациент №5, 2020. – Т. 18. - С. 6-9.

15. Katsuhito Kashiwagi, Yoshikazu Ishii, Kotaro Aoki, Shintaro Yagi, Tadashi Maeda, Taito Miyazaki, Sadako Yoshizawa, Katsumi Aoyagi, Kazuhiro Tateda. Immunochromatographic test for the detection of SARS-CoV-2 in saliva / Katsuhito Kashiwagi, Yoshikazu Ishii, Kotaro Aoki, Shintaro Yagi, Tadashi Maeda, Taito Miyazaki, Sadako Yoshizawa, Katsumi Aoyagi, Kazuhiro Tateda. // National Library of Medicine. 2020. - Dec. 23. - P. 384-386.

16. Sayed RH, Abousenna MS, Elsaady SA, Soliman R, Saad MA. Development of Lateral Flow Immunochromatographic Test for Rapid Detection of SARS-CoV-2 Virus Antigens in Clinical Specimens./ RH Sayed, MS Abousenna, SA Elsaady, R Soliman, MA. Saad // National Library of Medicine. 2022. - Jul 19. -12 (14):2477.

SARS-COV-2 ВИРУСЫНА ӘРТҮРЛІ КОМПАНИЯЛАРДЫҢ ИММУНОХРОМАТОГРАФИЯЛЫҚ СЫНАҚТАРЫНЫҢ ҚАЙТАЛАНУ МҮМКІНДІГІН АНЫҚТАУ

**Ж.К.Кошеметов^{ID}, М.С.Сейсенбаева^{ID}, Н.К.Оразымбетова*^{ID},
Б.К.Умуралиев^{ID}, Ә.А.Исахан^{ID}**

ҚР ДСМ «Биологиялық қауіпсіздік проблемалары ғылыми-зерттеу институты»,
Гвардейский қтк, Қазақстан
*n.orazymbetova@biosafety.kz

Аннотация. COVID-19, бұрын 2019-ncov коронавирустық инфекциясы — SARS-CoV-2 (2019-nCoV) коронавирусынан туындаған ықтимал ауыр жедел респираторлық инфекция. Бұл қауіпті ауру, ол жедел респираторлық вирустық инфекция түрінде де, ауыр түрінде де болуы мүмкін. Вирус жөтелгенде, түшкіргенде немесе сөйлескенде ауаға шашыраған тамшыларды ингаляциялау арқылы, сондай-ақ вирус көзге, мұрынға немесе ауызға ену арқылы таралады. Осы қауіпті аурумен күресудің тиімді шараларының қатарына уақтылы және тез диагноз қою жатады. Диагностикалық әдістердің тиімді құралдарының бірі иммунохроматографиялық тесттер (ИХТ) болып табылады, оны зертханалық және дала жағдайларында диагноз қою үшін қолдануға болады [1-7]. Бұл жұмыста әртүрлі фирмалардың сынақтарының сезімталдығын анықтау бойынша зерттеу нәтижелері келтірілген. Бұл әдістерді медициналық мекемелерде COVID-19 диагностикасы үшін тиімді пайдалануға болатындығы тәжірибелік түрде анықталды.

Түйін сөздер: SARS-CoV-2; COVID-19; иммунохроматографиялық талдау; сезімталдық; антиген; балау.

DETERMINATION OF THE REPRODUCIBILITY OF IMMUNOCHROMATOGRAPHIC TESTS OF DIFFERENT COMPANIES FOR THE SARS-COV-2 VIRUS

Zh.K.Koshemetov^{ID}, M.S.Seisenbayeva^{ID}, N.K.Orazymbetova*^{ID},
B.K.Umuraliev^{ID}, A.A.Isakhan^{ID}

RSE "Research Institute of Biological Safety Problems" of the Ministry of Health of the Republic
of Kazakhstan, Gvardeysky, Kazakhstan

*n.orazymbetova@biosafety.kz

Annotation. COVID-19, formerly coronavirus infection 2019-nCoV is a potentially severe acute respiratory infection caused by the coronavirus SARS-CoV-2 (2019-nCoV). It is a dangerous disease that can occur both in the form of acute respiratory viral infection of mild course and in severe form. The virus is spread by airborne droplets through inhalation of droplets sprayed in the air when coughing, sneezing or talking with the virus, as well as through contact with the virus on the surface, followed by entry into the eyes, nose or mouth. Among the effective measures to combat this dangerous disease is timely and rapid diagnosis. One of the effective means of diagnostic methods is immunochromatographic (IHA) tests, which can be used locally in laboratory and field conditions to diagnose COVID-19 [1-7]. This paper presents the results of a study to determine the sensitivity of IHA tests of different firms. It has been experimentally established that these methods can be effectively used for the diagnosis of COVID-19 in medical institutions.

Keywords: SARS-CoV-2; COVID-19; immunochromatographic analysis; sensitivity; antigen; diagnostics.