

УДК 616.98-079.3

DOI: <https://doi.org/10.22141/2312-413X.9.1.2021.228823>

Кисельова Г.Л., Воронова К.В., Ісаєв В.М.

Медична лабораторія «Діла», м. Київ, Україна

## Діагностична значимість виявлення нейтралізуючих антитіл до SARS-CoV-2

**Резюме.** Коронавірусна хвороба (COVID-19) — інфекційне захворювання, яке викликає нещодавно виявлений коронавірус, названий SARS-CoV-2. Коронавірусна хвороба, викликана вірусом SARS-CoV-2, продовжує залишатися найбільшим глобальним викликом для всього світу як щодо пошуку методів лікування і профілактики, так і щодо розробки нових діагностичних напрямків. Одним з нових напрямків серологічної діагностики стала можливість визначення нейтралізуючих антитіл до SARS-CoV-2. Це повністю автоматизований високочутливий тест для визначення нейтралізуючих антитіл до RBD-ділянки S1, який виконується методом імунохемілюмінесцентного аналізу й дозволяє одночасно виявляти сумарні нейтралізуючі антитіла (IgM + IgG), що збільшує чутливість тестування, оскільки порядок появи антитіл IgM та IgG індивідуальний.

**Ключові слова:** коронавірусна хвороба; SARS-CoV-2; шипоподібний S-білок; нейтралізуючі антитіла; COVID-19; імунна відповідь

Коронавірусна хвороба (COVID-19) — інфекційне захворювання, яке викликає нещодавно виявлений коронавірус, названий SARS-CoV-2. Більшість людей, інфікованих цим збудником, відчувають легкі й помірні симптоми респіраторного захворювання й одужують без необхідності спеціального лікування [2]. На сьогодні у світі зареєстровано понад 115 млн випадків коронавірусної хвороби, викликаної вірусом SARS-CoV-2, більше ніж 2,5 млн осіб померло, одужали понад 90 млн [1]. В Україні зареєстровано 1,36 млн підтверджених випадків захворювання на COVID-19 [5]. Нова коронавірусна хвороба вже рік після реєстрації перших випадків продовжує залишатися найбільшим глобальним викликом для всього світу як щодо пошуку методів лікування і профілактики, так і щодо розробки нових діагностичних напрямків. Одним з нових напрямків серологічної діагностики стала можливість визначення нейтралізуючих антитіл до SARS-CoV-2.

У SARS-CoV-2 структурними є 4 білки: спайковий (S), мембранний (M), малий мембранний (E) і нуклеокапсид (N) [3]. Серологічна діагностика на сьогодні спрямована на виявлення антитіл, що виробляються до двох структурних білків коронавірусу: білка N (нуклеокапсидний) і білка S (спайковий, або шипоподібний). Спайкові білки коронавірусів відіграють важливу роль у проникненні вірусів у клітини-мішені людини. Білок

S складається з двох субодиниць — S1 і S2: S1 містить рецептор-зв'язуючий домен (RBD) для зв'язування з рецептором клітини-мішені (ACE2 — рецептор для ангіотензинперетворюючого ферменту) [4], а S2 — для злиття з мембраною клітини-мішені. Структурний аналіз виявив високу 3D-подібність між білками-шипками двох вірусів — SARS-CoV і SARS-CoV-2: обидва взаємодіють з ACE2 через домени RBD. Первинні амінокислотні послідовності спайкових білків мають 76 % ідентичності амінокислотних послідовностей у всіх повних кодуючих ділянках із 79,59% схожістю й 74% ідентичністю в доменах RBD. Однак домен RBD SARS-CoV-2 має більш високу афінність до рецептора ACE2, що визначає більш високу контагіозність SARS-CoV-2. Ділянка S1, особливо RBD, направляє вірусну частку на поверхню людської клітини шляхом взаємодії з рецепторним білком, яка перевертає фермент ангіотензин I, потім запускається процес інфузії, опосередкований ділянкою S2 шипоподібного білка [27].

Саме антитіла, вироблені до домену RBD білка S1 SARS-CoV-2, вважаються нейтралізуючими, завдання яких, на відміну від зв'язуючих, — не допустити проникнення вірусу всередину клітини-мішені, запобігти не тільки захворюванню, але й інфікуванню [4, 20]. Нейтралізуючі антитіла в цілому специфічні для вірусних поверхневих епітопів, що сприяють проникненню

вірусу в клітину господаря [6]. У SARS-CoV-2 ці епітопи в основному розташовані в рецептор-зв'язуючому домені шипоподібного білка S.

Наявність нейтралізуючих антитіл є показником захисного імунітету для більшості вірусних інфекцій. Як продемонструвало нещодавнє дослідження, проведене в Таїланді серед перехворілих пацієнтів, це твердження може бути справедливим і для інфекції SARS-CoV-2 [7]. Навіть при низькому рівні антитіл класу M і G була виражена сильна нейтралізуюча активність антитіл, вироблених на рецептор-зв'язуючій домен RBD. Дані досліджень, проведених у США за участю понад 30 000 пацієнтів з коронавірусною хворобою, дозволили зробити висновок, що титри нейтралізуючих антитіл проти шипоподібного білка SARS-CoV-2 зберігаються як мінімум протягом 5 місяців після зараження [18]. Результати дослідження в Нідерландах, у свою чергу, підтвердили більш тривалу циркуляцію нейтралізуючих антитіл порівняно зі зв'язуючими. У даному дослідженні визначення антитіл пацієнтам проводилося через 2–4 місяці після зараження за рівнем вмісту імуноглобулінів IgG і IgM, а повторне тестування — ще через 2–3 місяці. Після цього зразки, отримані в тих же пацієнтів, тестувалися на наявність нейтралізуючих антитіл. У 90 % випадків рівні зв'язуючих антитіл значно знизилися з плином часу, тоді як рівень функціональних (нейтралізуючих) антитіл залишався стабільним у 70 % випробовуваних [18].

Нейтралізуючі антитіла запобігають вірусній інфекції, блокуючи ранню стадію інфікування, проникнення вірусу, перешкоджаючи зв'язуванню віріонів з рецептором мішеней. Нейтралізуючі антитіла можна оцінити *in vitro* в тестах нейтралізації, і їх присутність часто корелює із захисним імунітетом [20]. На сьогодні чітко не визначено, які повинні бути титри антитіл, щоб забезпечувати захист від інфікування, і поки мало відомо, як довго зберігаються ці антитіла. Є дані, що імунний захист проти інших коронавірусів людини (HCoV) не є тривалим. Низка досліджень показують швидке зниження титру антитіл уже з 11-го тижня й практично повне — до першого року [6, 20–23].

У той же час є дані про те, що антитіла від коронавірусу тяжкого гострого респіраторного синдрому (SARS-CoV) [6, 20] зберігаються роками й виявляють потужну нейтралізуючу активність навіть за відсутності визначеного імуноглобуліну G, направлено проти нуклеокапсидного білка SARS-CoV (N) [20]. Можливо, є зв'язок з тяжкістю перебігу хвороби, оскільки, на відміну від інфекції SARS-CoV-2, інфекція SARS-CoV зазвичай викликала більш тяжке захворювання, а безсимптомні випадки й легкого ступеня тяжкості зустрічалися значно рідше [23]. Кількість нейтралізуючих антитіл після зараження SARS-CoV у когорті госпіталізованих пацієнтів досягала піку приблизно на 30-й день хвороби [21], і зменшення зв'язуючих IgG і нейтралізуючих антитіл відзначалося протягом 3-річного спостереження [21].

Отже, серологічний аналіз, що дозволяє безпосередньо визначати нейтралізуючі антитіла, буде більш показовим для серологічних тестів, що визначають

антитіла. Цей тест корисний для визначення тривалості потенційного імунітету як в окремих осіб, так і в населення в цілому.

Важливо відзначити, що дія наявних на сьогодні вакцин проти коронавірусу SARS-CoV-2, як векторних, так і РНК, спрямована на стимуляцію вироблення антитіл саме до S- (шипоподібного) білка коронавірусу SARS-CoV-2 для отримання надійної нейтралізуючої відповіді. У зв'язку з чим можна припустити, що тест на визначення наявності нейтралізуючих антитіл до нового вірусу SARS-CoV-2 стане основним тестом для контролю імунної відповіді після проведення вакцинації. Уже на сьогодні визначені кроки майбутніх дій у цьому напрямку, що включають послідовне тестування ПЛР і серологічний аналіз у людей, які отримали вакцину. І саме ці тестування і їх результати будуть мати вирішальне значення для розуміння здатності нейтралізуючих антитіл захищати людей від повторного зараження [24].

Досі більшість серологічних досліджень були зосереджені на госпіталізованих пацієнтах, що не дає можливості оцінити імунну відповідь у тих, хто переніс інфекцію в легкій формі або перехворів безсимптомно, включно з медпрацівниками [8–11]. У проведених дослідженнях, присвячених цій конкретній групі населення, вивчалася тільки частота сероконверсії, без урахування стійкості індукованих антитіл SARS-CoV-2 з плином часу [13–15]. Серед 200 медпрацівників Лондона, які надавали допомогу пацієнтам з COVID-19, у 25 % уже була сероконверсія на момент включення в дослідження, що говорить про перенесену раніше інфекцію, у більшості випадків — безсимптомно. Інфікованість медпрацівників більше ніж в 2 рази перевищувала інфікованість загального населення центральної частини Лондона, де проводилося дослідження [15]. Дослідження, проведене в Китаї серед співробітників медичних клінік, які контактували з пацієнтами з коронавірусною хворобою, дозволило зробити висновок, що серологічне тестування корисне для виявлення безсимптомної або субклінічної інфекції SARS-CoV-2 у тих випадках, коли має місце тісний контакт з пацієнтами з COVID-19 [16]. Тут знову ж таки важливим є визначення саме нейтралізуючих антитіл як таких, що потенційно захищають від повторного зараження, а також проведення регулярного й послідовного моніторингу тривалості такого захисту.

Тести на визначення нейтралізуючих антитіл отримали своє схвалення FDA (Управління із санітарного нагляду за якістю харчових продуктів і медикаментів США) як нова можливість отримання додаткової інформації та уявлення про те, що може означати існування даного виду антитіл для пацієнта, оскільки ми все ще продовжуємо боротьбу з COVID-19 [20]. Усе більш актуальною серологічна діагностика стає і в спробах зрозуміти масштаби поширення COVID-19 серед населення, виявити осіб з імунною відповіддю (які мають антитіла) до нового коронавірусу.

На сьогодні державні й приватні лабораторії здебільшого використовують тест-системи, що визначають антитіла до нуклеокапсидного (N) білка коронавірусу, який виробляється в тих, хто перехворів на COVID-19.

МЛ «Діла» однією з перших в Україні впровадила тест для визначення нейтралізуючих антитіл до SARS-CoV-2 «Коронавірус (SARS-CoV-2), COVID-19, антитіла сумарні IgM/IgG, напівкількісні». Це повністю автоматизований високочутливий тест для визначення нейтралізуючих антитіл до RBD-ділянки S1, який виконується методом імунохемілюмінесцентного аналізу і дозволяє одночасно виявляти сумарні нейтралізуючі антитіла (IgM + IgG), що збільшує чутливість тестування, оскільки порядок появи антитіл IgM та IgG індивідуальний. Сумарні нейтралізуючі антитіла мають більш високу діагностичну цінність за рахунок більшого часового діапазону виявлення. Завдяки дослідженню на сумарні нейтралізуючі антитіла вдається перекрити можливі періоди сероконверсії для IgM та IgG, терміни яких індивідуальні для кожної людини, тому важко прогнозовані. Це мінімізує ризики отримання хибнонегативного результату.

В Україні тільки набирає оберти кампанія з вакцинації населення, спрямована на формування колективного імунітету й захист населення від нового небезпечного штаму коронавірусу. Тож є бачення того, що наступним і дуже важливим діагностичним етапом буде визначення імунної відповіді на вакцинацію й тривалості захисту від SARS-CoV-2 для формування й удосконалення стратегій спротиву епідемії, а саме визначення наявності, кількості й тривалості циркулюючих нейтралізуючих антитіл.

**Конфлікт інтересів.** Не заявлений.

## Список літератури

1. [https://www.worldometers.info/coronavirus/?utm\\_campaign=homeAdUOA?Si](https://www.worldometers.info/coronavirus/?utm_campaign=homeAdUOA?Si).
2. [https://www.who.int/ru/health-topics/coronavirus/coronavirus#tab=tab\\_1](https://www.who.int/ru/health-topics/coronavirus/coronavirus#tab=tab_1).
3. Харченко Е.П. Коронавірус SARS-Cov-2: особенности структурных белков, контагиозность и возможные иммунные коллизии. *Эпидемиология и вакцинопрофилактика*. 2020. 19(2). 13-30. <https://doi.org/10.31631/2073-3046-2020-19-2-13-30>.
4. Robson B. COVID-19 Coronavirus spike protein analysis for synthetic vaccines, a peptidomimetic antagonist, and therapeutic drugs, and analysis of a proposed achilles' heel conserved region to minimize probability of escape mutations and drug resistance. *Comput. Biol. Med.* 2020 Jun. 121. 103749. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7151553>. doi: 10.1016/j.compbiomed.2020.103749.
5. <https://phc.org.ua/>
6. Seow J., Graham C., Doores K.J. et al. Longitudinal observation and decline of neutralizing antibody responses in the three months following SARS-CoV-2 infection in humans. *Nature Microbiology*. 2020. Vol. 5. P. 1598-1607. <https://www.nature.com/articles/s41564-020-00813-8>.
7. Zhou G., Zhao Q. Perspectives on therapeutic neutralizing antibodies against the Novel Coronavirus SARS-CoV-2. *Int. J. Biol. Sci.* 2020. 16(10). 1718-23. Epub 2020/04/01. PMID: 32226289; PubMed Central PMCID: PMC7098029.
8. French M.A., Moodley Y. The role of SARS-CoV-2 antibodies in COVID-19: Healing in most, harm at times. *Respirology*. 2020. 25(7). 680-2. Epub 2020/05/22. PMID: 32436320; PubMed Central PMCID: PMC7280731.
9. Addetia A., Crawford K.H.D., Dingens A. et al. Neutralizing antibodies correlate with protection from SARS-1 CoV-2 in humans during a 2-fishery vessel outbreak with high attack rate. *medRxiv preprint*. 2020. <https://doi.org/10.1101/2020.08.13.20173161>.
10. Guo L. et al. Profiling early humoral response to diagnose novel coronavirus disease (COVID-19). *Clin. Infect. Dis.* 2020. <https://doi.org/10.1093/cid/ciaa310>.
11. Ni L. et al. Detection of SARS-CoV-2-specific humoral and cellular immunity in COVID-19 convalescent individuals. *Immunity*. 2020. <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2020.04.023>.
12. Yu H. et al. Distinct features of SARS-CoV-2-specific IgA response in COVID-19 patients. *Eur. Respir. J.* 2020. <https://doi.org/10.1183/13993003.01526-2020>.
13. Suthar M.S. et al. Rapid Generation of Neutralizing Antibody Responses in COVID-19 Patients. *Cell Reports Medicine*. 2020. 1. 100040.
14. Robbiani D.F. et al. Convergent antibody responses to SARS-CoV-2 in convalescent individuals. *Nature*. 2020. 584. 437-442.
15. Houlihan C.F. et al. Pandemic peak SARS-CoV-2 infection and seroconversion rates in London frontline health-care workers. *Lancet Lond. Engl.* 2020. 396. e6-e7.
16. Chen Y. et al. High SARS-CoV-2 antibody prevalence among healthcare workers exposed to COVID-19 patients. *J. Infect.* 2020. 81. 420-426.
17. Rudberg A.-S. et al. SARS-CoV-2 exposure, symptoms and seroprevalence in healthcare workers in Sweden. *Nat. Commun.* 2020. 11. 5064.
18. Wajnberg A., Amanat F., Firpo A. Robust neutralizing antibodies to SARS-CoV-2 infection persist for months. *Science*. 4 Dec 2020. Vol. 370. Issue 6521. P. 1227-123. DOI: 10.1126/science.abd7728 <https://science.sciencemag.org/content/370/6521/1227>.
19. <https://www.innatoss.com/en>.
20. <https://www.fda.gov/news-events/press-announcements/coronavirus-covid-19-update-fda-authorizes-first-test-detects-neutralizing-antibodies-recent-or#:~:text=Today%2C%20the%20U.S.%20Food%20and,%20viral%20infection%20of%20cells>.
21. Moore J.P., Klasse P.J., Silvestri G. COVID-19 Vaccines: "Warp Speed" Needs Mind Melds, Not Warped Minds / Editor American Society for Microbiology. DOI: 10.1128/JVI.01083-20.
22. Kellam P., Barclay W. The dynamics of humoral immune responses following SARS-CoV-2 infection and the potential for reinfection. *Journal of General Virology*. 2020. Vol. 101. Issue 8. <https://doi.org/10.1099/jgv.0.001439>.
23. Mo H., Zeng G., Ren X. et al. Longitudinal profile of antibodies against SARS-coronavirus in SARS patients and their clinical significance. PMID: 16423201. PMCID: PMC7192223. DOI: 10.1111/j.1440-1843.2006.00783.x. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16423201>.
24. Petersen K.M. et al. Comparing SARS-CoV-2 with SARS-CoV and influenza pandemics. *Lancet Infect.* 2020. 20. e238-e244.
25. Callow K.A., Parry H.F., Sergeant M., Tyrrell D.A. The time course of the immune response to experimental coronavirus infection of man. *Epidemiol. Infect.* 1990. 105. 435-446.
26. Wang M. et al. Antibody dynamics of 2009 influenza A (H1N1) virus in infected patients and vaccinated people in China. *PLoS ONE*. 2011. 6. e16809.
27. Wrapp D., Wang N., Corbett K.S. et al. Cryo-EM structure of the 2019-nCoV spike in the prefusion conformation. *Science*. 13 Mar 2020. Vol. 367. Issue 6483. P. 1260-1263.

Отримано/Received 15.02.2021

Рецензовано/Revised 26.02.2021

Прийнято до друку/Accepted 05.03.2021 ■

H.L. Kyseliova, K.V. Voronova, V.M. Isaiev  
Dila Medical Laboratory, Kyiv, Ukraine

### Diagnostic significance of detecting neutralizing antibodies to SARS-CoV-2

**Abstract.** Coronavirus disease is an infectious disease caused by a recently discovered coronavirus called SARS-CoV-2. Coronavirus disease caused by the SARS-CoV-2 continues to be the world's greatest global challenge, both in terms of searching for treatment and prevention methods, and developing new diagnostic directions. One of the new directions of serological diagnosis is the possibility of determining neutralizing antibodies to SARS-CoV-2. This is a fully

automated highly sensitive test for detecting neutralizing antibodies to RBD domain in S1, which is performed by immunochemiluminescent analysis and allows the simultaneous detection of total neutralizing antibodies (IgM + IgG) that increases the sensitivity of testing because the order of IgM and IgG antibodies is individual.

**Keywords:** coronavirus disease; SARS-CoV-2; spike S protein; neutralizing antibodies; COVID-19; immune response

---

Киселева Г.Л., Воронова К.В., Исаев В.М.  
Медицинская лаборатория «Дила», г. Киев, Украина

### Диагностическая значимость выявления нейтрализующих антител к SARS-CoV-2

**Резюме.** Коронавирусная болезнь (COVID-19) — инфекционное заболевание, которое вызывает недавно обнаруженный коронавирус, названный SARS-CoV-2. Коронавирусная болезнь, вызванная вирусом SARS-CoV-2, продолжает оставаться крупнейшим глобальным вызовом для всего мира как по поиску методов лечения и профилактики, так и по разработке новых диагностических направлений. Одним из новых направлений серологической диагностики стала возможность определения нейтрализующих антител к SARS-CoV-2. Это полностью автоматизированный высо-

кочувствительный тест для определения нейтрализующих антител к RBD-участку S1, выполняющийся методом иммунохемилюминесцентного анализа и позволяющий одновременно выявлять суммарные нейтрализующие антитела (IgM + IgG), что увеличивает чувствительность тестирования, поскольку порядок появления антител IgM и IgG индивидуален.

**Ключевые слова:** коронавирусная болезнь; SARS-CoV-2; шиповидный S-белок; нейтрализующие антитела; COVID-19; иммунный ответ

---