

## ОЦЕНКА АНАЛИТИЧЕСКОЙ НАДЕЖНОСТИ БИОХИМИЧЕСКИХ МЕТОДОВ В ДИАГНОСТИКЕ НОВОЙ КОРОНАВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИИ

Трушковская Е.И.<sup>1</sup>, Золотавина М.Л.<sup>1</sup>, Братова А.В.<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Кубанский государственный университет

ул. Ставропольская, 149, г. Краснодар, 350058, РФ

<sup>2</sup> Научно-исследовательский институт – Краевая клиническая больница №1

ул. 1 Мая, 167, г. Краснодар, 350086, РФ; e-mail: trushkovskaya.evgeniya@mail.ru

Поступила в редакцию: 09.07.2021

**Аннотация.** В ходе работы был проведен расчет основных критериев аналитической надежности, таких как – точность, специфичность, чувствительность, по которым оценивают биохимические методы диагностики новой коронавирусной инфекции. Большее предпочтение в клинической диагностике COVID-19 отдавали методу ПЦР, который признан «золотым стандартом», потому что тестовые наборы для данного метода имели высокие показатели чувствительности и специфичности в определении вируса SARS-CoV-2, что говорит о возможности применения его на ранних стадиях диагностики инфекции и использования как основного метода для обнаружения COVID-19. Из серологических методов исследования сыворотки крови, именно метод ИФА является наиболее эффективным методом, в определении иммунного ответа на перенесенную инфекцию COVID-19. Высокие показатели чувствительности и точности метода позволяют распознать искомое вещество, даже если его концентрация в образце невысока, а высокая специфичность метода говорит о безошибочности диагностики, если тест на определение антител показал «положительный» результат это говорит о том, что найдены именно те антитела или антигены к коронавирусу в крови, что в настоящее время является важным критерием в определении новой коронавирусной инфекции.

**Ключевые слова:** ПЦР, ИФА, чувствительность, специфичность, точность, коронавирусная инфекция.

В настоящее время, биохимические методы клинических лабораторных исследований очень разнообразны и используются для определения новой коронавирусной инфекции. Важной составляющей качества исследований является аналитическая надежность метода, которая характеризует степень точности лабораторных данных по исследуемому анализу и тем самым определяет возможность их использования при принятии клинических решений: для установления диагноза, назначения необходимых терапевтических средств, меры, оценивающие степень тяжести заболевания и эффективность лечения.

Существуют определенные критерии аналитической надежности лабораторных результатов, соблюдение которых позволяет снизить процент недостоверной лабораторной информации [1]: чувствительность метода – это вероятность положительного результата диагностического теста в присутствии заболевания; специфичность – это вероятность отрицательного результата в отсутствии болезни; точность – характеризует достоверность метода в определении точного значения концентрации вещества.

Метод ПЦР, который признан «золотым стандартом» в клинической-лабораторной диагностике, для обнаружения вирусов имеет высокие показатели чувствительности и специфичности, что говорит о возможности применения его на ранних стадиях диагностики инфекции и использования как основного метода для обнаружения COVID-19.

Метод ИФА также имеет ряд преимуществ в диагностике коронавирусной инфекции, а именно возможность выявления пациентов с высоким уровнем иммунного ответа. Высокие показатели чувствительности метода позволяют распознать искомое вещество, даже если его концентрация в образце невысока, а высокая специфичность метода говорит о безошибочности диагностики, если тест на определение антител показал «положительный» результат это говорит о том, что найдены именно те антитела или антигены к коронавирусу в крови.

Значительное количество тестов было выполнено методом ПЦР, выделение РНК вируса производилось вручную и на автоматической станции производства НПО «ДНК Технологии ДТстрим». Амплификация выполнялась на аппаратах, детектирующих «ДТ-Прайм» (ДНК-Технология, Россия). В дальнейшем для определения особенностей методов в диагностике SARS-CoV-2 нами был выбран один месяц.

В таблице 1 и 2 представлены данные исследования, полученные методом ПЦР в оценке эффективности по тест-системам Covid-19 Amp (НИИ им.Пастера) и SARS-CoV-2/SARS-CoV (ДНК Технологии).

**Таблица 1.** Оценка метода ПЦР (тест-система Covid-19 Amp (НИИ им. Пастера))

Тест-система		Пациенты	
		+ (болен)	- (здоров)
Covid-19 Amp (НИИ им.Пастера)	+	194	40
	-	37	301

**Таблица 2.** Оценка метода ПЦР (тест-системе SARS-CoV-2/SARS-CoV (ДНК Технология))

Тест-система		Пациенты	
		+ (болен)	- (здоров)
SARS-CoV-2/SARS-CoV (ДНК Технология)	+	167	43
	-	89	109

По полученным результатам исследования на коронавирус SARS-CoV-2, было выяснено, что тест-система Covid-19 Amp (НИИ им.Пастера г) обладала высокой чувствительностью, которая составила 83,9 %, специфичность и точность данной тест-системы тоже были высокими и были равны 87,9 % и 86,5 %.

Из данных таблицы 2 было выяснено, что тест-система SARS-CoV-2/SARS-CoV (ДНК Технология) имеет критерии аналитической надежности меньше, чем тест-система Covid-19 Amp (НИИ им. Пастера).

Чувствительность данной тест-системы составила 65,2 %, а специфичность и точность были равны 71,7 % и 67,6%, это может быть связано с тем, что чувствительность тест-системы SARS-CoV-2/SARS-CoV (ДНК Технология) составляла 500 копий/мл образца, в то время как значительная часть разрешенных для лабораторной диагностики COVID-19 наборов реагентов имеют аналитическую чувствительность  $10^3$  копий/мл.

В своей статье А. С. Лобанова [2] утверждала, что в основу тест-системы высокого качества закладывался так называемый праймер-шаблон, по которому производился поиск участка генома вируса, высокоспецифичный для SARS-CoV-2. К сожалению, ряд тест-систем, в том числе зарегистрированных в России, предлагали поиск по участкам генома вируса, не столь специфичных к SARS-CoV-2, что также может влиять на получение ложноотрицательного результата.

В своей статье М.А. Романова [3] утверждала, что ПЦР является более показательным анализом в условиях стационара, потому что позволяет более точно определить наличие вируса COVID-19 в организме пациента и отследить требования, которые предъявляются к преаналитическому этапу. Зачастую можно наблюдать классические клинические проявления COVID-19 (на компьютерной томографии поражение легких) и характерную динамику биохимических показателей, при этом получить отрицательный результат. Тогда на помощь приходят серологические методы, которые обладают рядом преимуществ, а именно возможностью выявления пациентов с высоким уровнем иммунного ответа [4].

Анализ сыворотки крови на антитела к вирусу SARS-CoV-2 – это исследование, которое позволяет выявить наличие антител в крови к возбудителю новой коронавирусной инфекции COVID-19. Инфекционный процесс сопровождается выработкой антител двух типов: IgM и IgG.

В данном исследовании было произведено определение антител к коронавирусу IgG и суммарных антител к SARS-CoV-2, которые позволяют быстро узнать, контактировал ли организм с возбудителем COVID-19.

В таблице 3 и 4 представлены результаты исследования новой коронавирусной инфекции, полученные методом ИФА для обнаружения оценки эффективности метода по двум тестам: антитела IgG к коронавирусу SARS-CoV-2 и суммарные антитела к SARS-CoV-2.

По полученным результатам исследования на коронавирус SARS-CoV-2, было выяснено, что критерии аналитической надежности теста на определение антител IgG к коронавирусу SARS-CoV-2 составили: чувствительность была равна 83,3 %, специфичность и точность метода были равны 78,4 % и 80,5 %.

По данным результатам исследования было выяснено, что тест на определение суммарных антител к коронавирусу SARS-CoV-2 имели критерии аналитической надежности выше, чем тест на определение антител IgG к коронавирусу SARS-CoV-2.

Чувствительность данного теста составила 92,7 %, а специфичность и точность были равны 69,4 % и 80,1 %, это может быть связано с тем, что тесты, способные распознавать только антитела класса IgG, для клиницистов и врачей приемных отделений практически бесполезны, так как они выявляют людей уже сформировавшимся иммунитетом.

**Таблица 3.** Оценка метода ИФА (тест на антитела IgG к коронавирусу SARS-CoV-2)

Тест		Пациенты	
		+ (болен)	- (здоров)
Антитела IgG к коронавирусу SARS-CoV-2	+	45	16
	-	9	58

**Таблица 4.** Оценка метода ИФА (тест на суммарные антитела к коронавирусу SARS-CoV-2)

Тест		Пациенты	
		+ (болен)	- (здоров)
Суммарные антитела к коронавирусу SARS-CoV-2	+	166	64
	-	13	145

На этапе начальной диагностики, представляет интерес одновременного определения антител обоих классов, который увеличивает чувствительность тестирования, поскольку хронологический порядок появления антител IgM и IgG индивидуален. Поэтому имеет смысл определять именно суммарные антитела высокоточными методами.

Таким образом, критерий оценки эффективности метода считался высоким, если был равен более 80%. По нашим исследованиям показатели тест-системы Covid-19 Amp (НИИ им.Пастера) соответствовали данным условиям и были равны: чувствительность 83,3 %, специфичность 87,9%, точность 86,5%, что говорило о том, что данный тестовый набор для метода ПЦР являлся весьма надежным и эффективным в определении вируса SARS-CoV-2, что являлось важным критерием.

По данным исследования методом ИФА было выяснено, что критерии оценки эффективности метода по двум тестам составили: чувствительность 90,5 %, специфичность и точность метода составляли 71,7 % и 80,2 %. Это говорило о том, что из серологических методов исследования сыворотки крови, именно метод ИФА является наиболее эффективным методом, в определении иммунного ответа на перенесенную инфекцию COVID-19.

#### **Список литературы / References:**

- ГОСТ Р 53022.2-2008. Технологии лабораторные клинические. Требования к качеству клинических лабораторных исследований. Часть 2. Оценка аналитической надежности методов исследования (точность, чувствительность, специфичность): национальный стандарт Российской Федерации: издание официальное: утвержден и введен в действие Приказом Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии от 18 декабря 2008 г. № 555-ст: введен впервые : дата введения 2010-01-01 / подготовлен Московской медицинской академией им. И.М.Сеченова Росздрава, Государственным научно-исследовательским центром профилактической медицины Росмедтехнологий. – Москва: Стандартинформ, 2009. – IV, 28 с.: табл. [GOST R 53022.2-2008. Laboratory clinical technologies. Requirements for the quality of clinical laboratory research. Part 2. Assessment of analytical reliability of research methods (accuracy, sensitivity, specificity): national standard of the Russian Federation: official edition: approved and put into effect by the Order of the Federal Agency for Technical Regulation and Metrology of December 18, 2008 No. 555-st: introduced for the first time : date of introduction 2010-01-01 / prepared by the Moscow Medical Academy. IM Sechenov, Roszdrav, State Research Center for Preventive Medicine, Rosmedtechnologies. - Moscow: Standartinform, 2009. -- IV, 28 p. : tab. (In Russ.)]
- Лобанова А.С. Диагностика вируса, вызывающего COVID-19, методом ПЦР в реальном времени. *Современная фармакоэкономика и фармакоэпидемиология*, 2020, том 13, № 1, с. 52-63. [Lobanova A.S. Diagnostics of the virus that causes COVID-19 by real-time PCR. *Modern Pharmacoeconomics and Pharmacoepidemiology*, 2020, vol. 13, no. 1, pp. 52-63. (In Russ.)]
- Романова М.А. Методы лабораторной диагностики новой коронавирусной инфекции. *Физика и радиоэлектроника в медицине и экологии*, 2020, № 3, с. 74-77. [Romanova M.A. Methods of laboratory diagnostics of new coronavirus infection. *Physics and radio electronics in medicine and ecology*, 2020, no. 3, pp. 74-77. (In Russ.)]
- Горбунов А.А., Сорокина Л.Е., Чегодарь Д.В. [и др.] Диагностика COVID-19: Современное состояние проблемы и перспективы в отрасли. *Крымский журнал экспериментальной и клинической медицины*, 2020, том 10, № 2, с. 69-77. [Diagnostics of COVID-19: Current state of the problem and prospects in the industry / A.A. Gorbunov, L.E. Sorokina, D.V. What a gift [and others] *Crimean Journal of Experimental and Clinical Medicine*, 2020, vol. 10, no. 2, pp. 69-77. (In Russ.)]

**CRITERIA FOR ASSESSING THE EFFICIENCY OF BIOCHEMICAL METHODS IN DIAGNOSTICS OF  
NEW CORONAVIRUS INFECTION****Trushkovskaya E.I., Zolotavina M.L., Bratova A.V.**

Kuban State University

*st. Stavropolskaya, 149, Krasnodar, 350058, Russia; e-mail: trushkovskaya.evgeniya@mail.ru*

**Abstract.** In the course of the work, the main criteria of analytical reliability were calculated, such as accuracy, specificity, sensitivity, by which biochemical methods for diagnosing a new coronavirus infection are assessed. More preference in the clinical diagnosis of COVID-19 was given to the PCR method, which is recognized as the "gold standard", because the test kits for this method had high sensitivity and specificity in determining the SARS-CoV-2 virus, which indicates the possibility of its use in the early stages diagnosis of infection and use as the main method for detecting COVID-19. Of the serological methods for examining blood serum, it is the ELISA method that is the most effective method in determining the immune response to the transferred COVID-19 infection. The high sensitivity and accuracy of the method make it possible to recognize the desired substance, even if its concentration in the sample is low, and the high specificity of the method indicates the error-free diagnosis, if the test for the determination of antibodies showed a "positive" result, this indicates that exactly those antibodies or antigens were found to coronavirus in the blood, which is currently an important criterion in determining a new coronavirus infection.

**Key words:** *PCR, ELISA, sensitivity, specificity, accuracy, coronavirus infection*