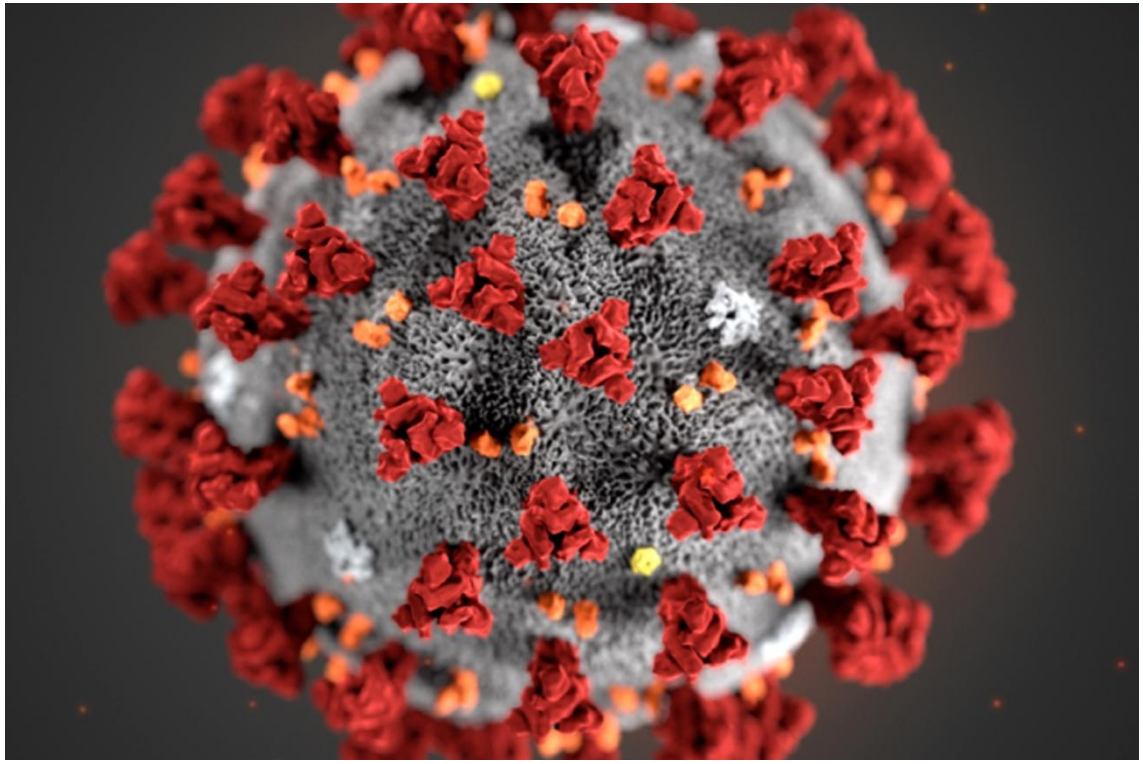
Особенности иммунного ответа к COVID-19: ИФА - тесты, определяющие и подтверждающие антитела к коронавирусной инфекции



Крылова Ольга,
руководитель направления «Инфекционная диагностика» Алкор Био

ПРОФИЛАКТИКА, ДИАГНОСТИКА И ЛЕЧЕНИЕ НОВОЙ КОРОНАВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИИ (COVID-19)

Выявление АТ к SARS-CoV-2 имеет

- вспомогательное значение для диагностики текущей инфекции
- основное для оценки иммунного ответа на текущую или перенесенную инфекцию

(Временные клинические рекомендации, Версия 9 (26.10.2020)).

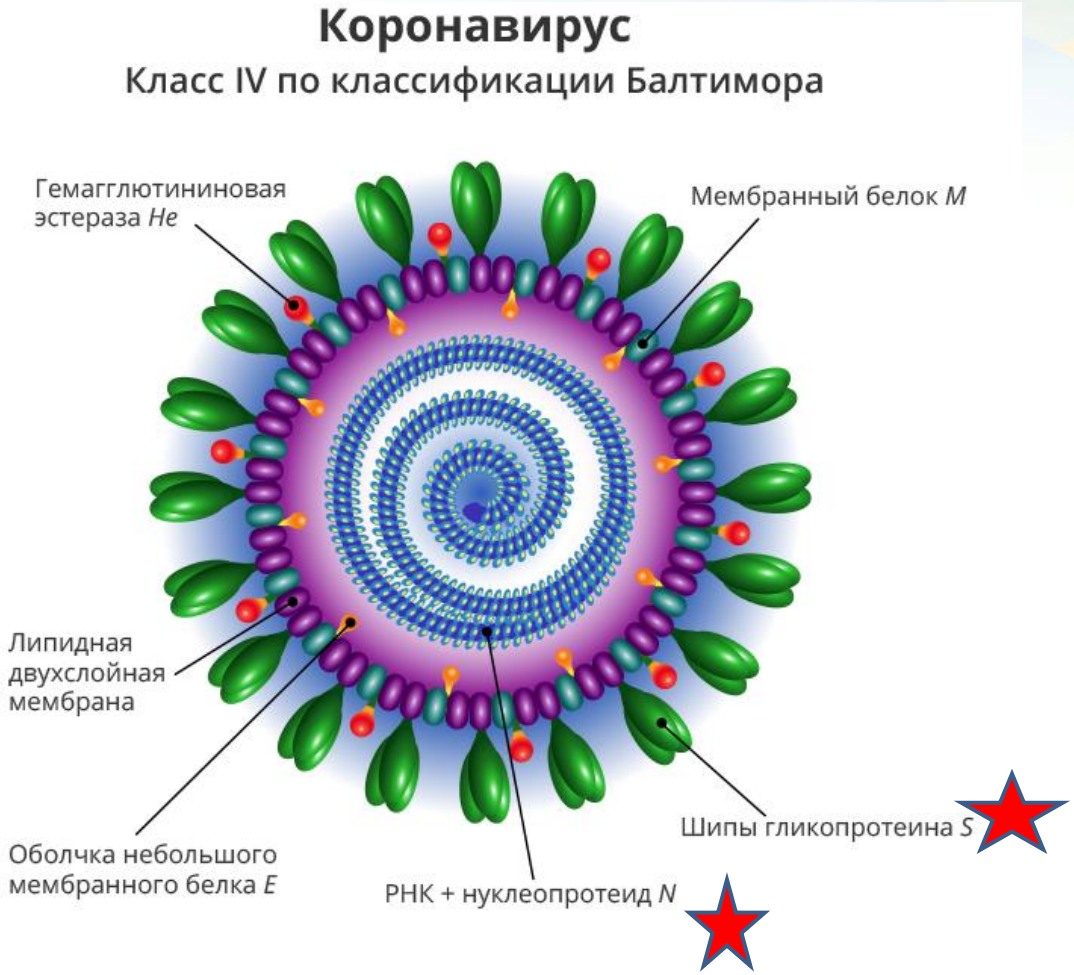
Раздельное тестирование IgM/IgA и IgG

Мониторинг появления антител в динамике (детекция сероконверсии) —повторное тестирование в неясных случаях через 5-7 дней, количественным определением титра антител IgG

Суммарные АТ(IgM+IgA +IgG) как референтная (верифицирующая ТС); Максимальная чувствительность; Максимальная специфичность

МИШЕНИ ДЛЯ ИФА-ТЕСТОВ К SARS-CoV-2

Тесты выявляют антитела к белкам SARS CoV-2 – Spike (RBD-S) и Nucleocapcid protein (N), (отмечены звездочками ★)



Выявление АТ к SARS-CoV-2 рекомендовано:

• в качестве дополнительного метода диагностики при невозможности исследования мазков методом ПЦР
•для выявления лиц с бессимптомной формой инфекции;
• для установления факта перенесенной ранее инфекции
• для оценки уровня популяционного иммунитета;
• для отбора потенциальных доноров иммунокомпетентной плазмы;
• всем медработникам, кратность обследования 1 раз в 7 дней;
• плановым пациентам при поступлении в МУ
•при оценке напряженности поствакцинального протективного иммунитета ИФА определение антител к рецептор-связывающему домену (анти-RBD-(S) антител).

Сроки формирования антител к SARS-CoV-2

IgA начинают формироваться со 2 дня от начала заболевания

IgM начинают выявляться на 7-е сутки от начала заражения

IgG определяются с 3-й недели или ранее

Особенностью при SARS-CoV-2 является небольшой временной промежуток между появлением антител IgM и IgG, а иногда и одновременное их формирование

Фазы инфекционного процесса COVID-19 и диагностические маркеры

РНК	Антиген	IgM/ IgA	IgG	Интерпретация
–	–	–	–	Отсутствие инфекции COVID-19. Ранее COVID-19 не болел
+	+	–	–	Острая фаза инфекции. Серонегативный период. Результат может предшествовать появлению симптомов COVID-19
+	+	+	–	Острая фаза инфекции, Начало развития иммунного ответа
+	+	+	+	Острая фаза инфекции, выраженный иммунный ответ на инфекцию COVID-19
–	–	+	+	Поздняя фаза заболевания или выздоровление, выраженный иммунный ответ.
–	–	–	+	Наличие инфекции COVID-19 в прошлом или период выздоровления. Сформирован иммунитет к SARSCoV-2.

Ложноположительные результаты- перекрестные реакции

- с ревматоидным фактором;
- с другими респираторными вирусами
- с другими возбудителями пневмоний

Ложноотрицательные результаты

- серонегативный этап развития инфекции
- сниженный иммунитет пациента
- низкий уровень чувствительности теста

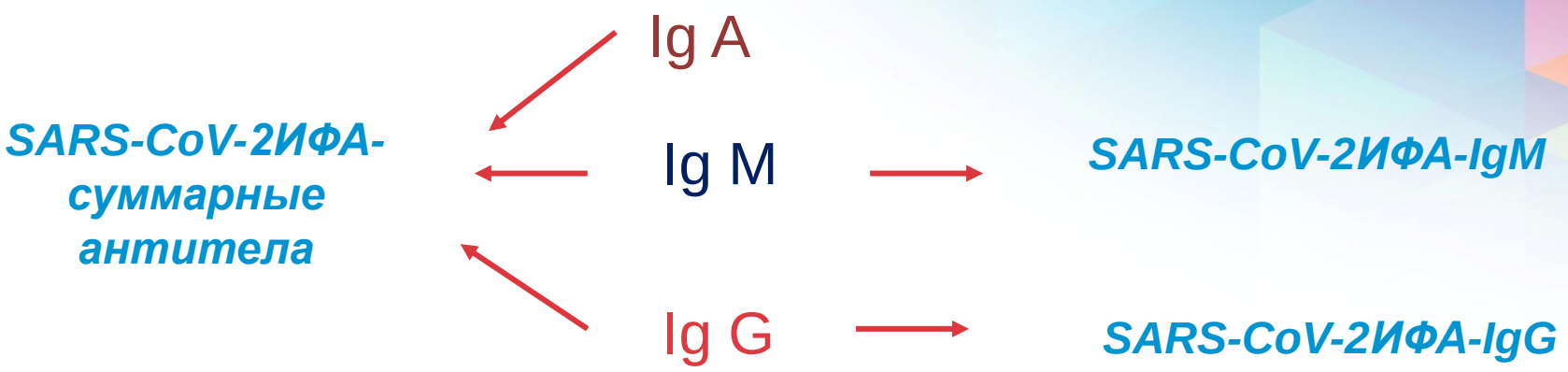
Ложноположительные и ложноотрицательные

<u>При нарушении правил проведения лабораторных исследований</u>

Рекомендован алгоритм последовательного тестирования пациентов:

- Вначале раздельное тестирование на IgG и IgM
- Затем одновременно выявлять антитела классов A, M, G
- тест-система должна обладать максимальными чувствительностью и специфичностью;

ИФА - тесты Алкор Био для выявления и подтверждения антител к коронавирусной инфекции



Тесты выявляют антитела к белкам:

- ✓ SARS CoV-2 – Spike (S)
- ✓ Nucleocapcid protein (N)

SARS-CoV-2ИФА- (96)

Цветная кодировка ряда реагентов

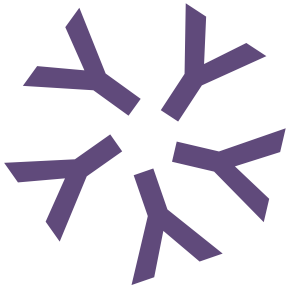
Состав набора:

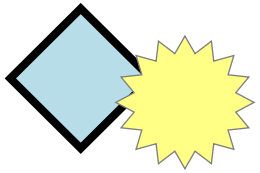
- Комплект стрипов в рамке «Стрипы с рекомбинантным антигеном SARS-CoV-2»
- Отрицательная контрольная проба (ОКП) – желтый цвет
- Положительная контрольная проба(ПКП) -красный цвет
- Аналитический водно-солевой раствор «Буфер А»-зеленый цвет
- Конъюгат Е
- Промывочный Буфер Н (20Х)
- Раствор ТМБ
- Стоп-реагент

одноразовая ванночка – 2 шт, одноразовый наконечник-16 шт, пакет закрывающийся полиэтиленовый

SARS-CoV-2ИФА-IgM

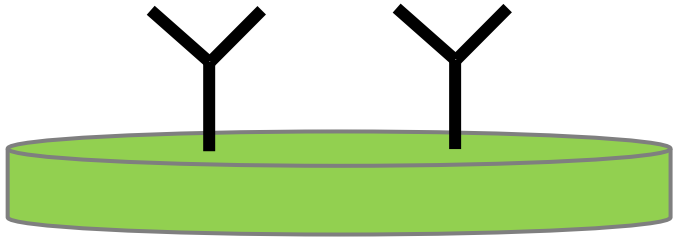
Антитела к SARS-CoV-2





Конъюгат рекомбинантного антигена с пероксидазой

«Capture»



Планшет с моноклональными антителами **к IgM человека**

Это гарантия высокой специфичности теста!

АНТИТЕЛА: сравнительные размеры различных классов

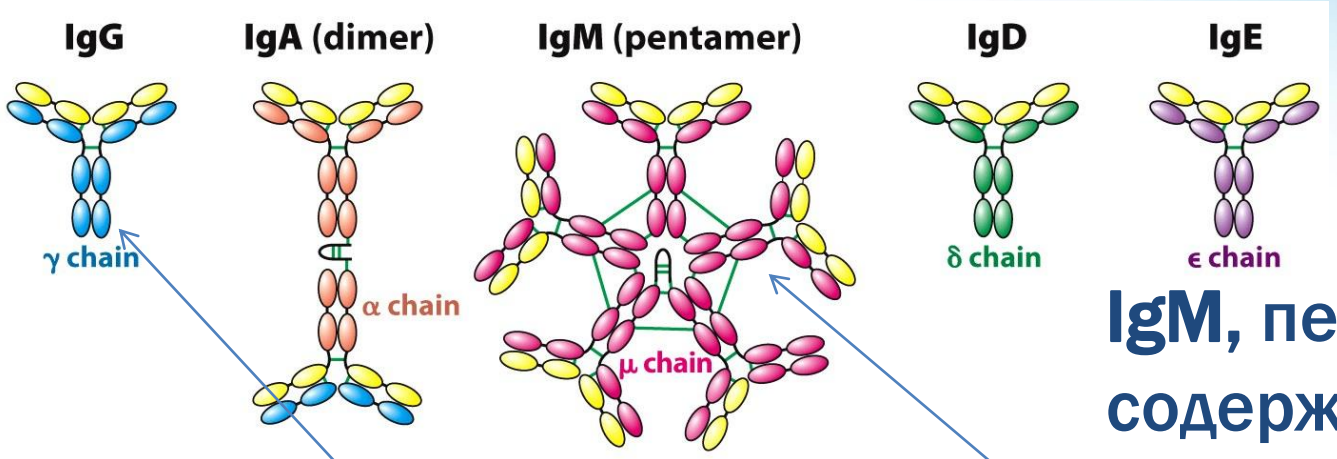
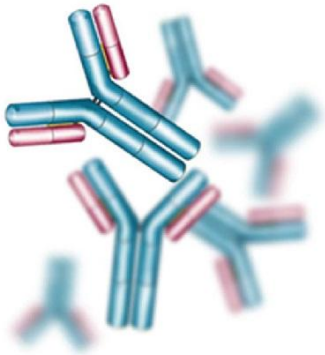


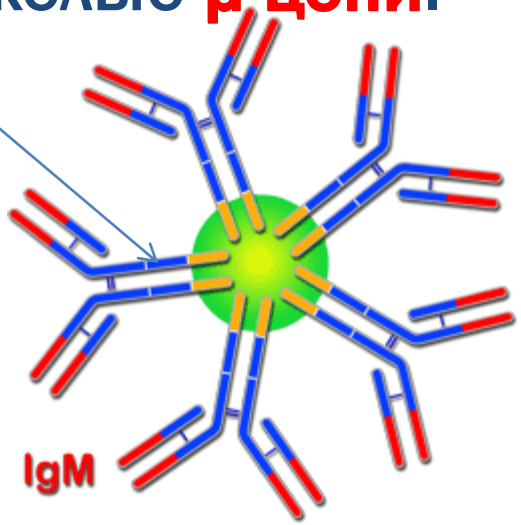
Figure 34.8
Biochemistry, Seventh Edition
© 2012 W. H. Freeman and Company

IgM, пентамер, содержит тяжелые **μ-цепи**.

Ревматоидный фактор содержит **γ-цепи**

.





SARS-CoV-2ИФА-IgM

- Для ручной постановки и для постановки на Alisei Q.S.
- Возможна постановка в монопликатах
- Без бланков, 93 определения с планшета

- Яркая индикация внесения образца - цвет буфера меняется с оливкового на **синий** (исключает пропуск образца)

- 2-х СТАДИЙНЫЙ «**capture» вариант**
- ДЛИТЕЛЬНОСТЬ ОСНОВНЫХ ИНКУБАЦИЙ 30мин+30мин (шейкер)

- Срок годности 12 мес

- Все реагенты готовы к проведению анализа и не требуют разведения

- **нет предварительного разведения сывороток**

SARS-CoV-2ИФА-IgG

Качественное и
полуколичественное
определение IgG

Полуколичественная оценка уровня IgG антител достигается титрованием

SARS-CoV-2ИФА-IgG

По каждому образцу вычисляется индекс (коэффициент) позитивности по формуле:
ИП = ОПобр/ОПкрит,
ОПобр – оптическая плотность образца;
ОПкрит – критическая оптическая плотность.

ОПкрит. = ОПокп + Ккрит.
Ккрит. указан в аналитическом паспорте

Для положительных образцов следует определить соответствие между полученным значением ИП и титром антител по таблице (уже получены значения ИП образца и соответствующий ему титр антител, без разведения и с разведением в 10 раз)

SARS-CoV-2ИФА-IgG

- Для ручной постановки и для постановки на Alisei Q.S.
- Возможна постановка в монопликатах
- Нет бланков, 93 определения с планшета

- Индикация внесения образца - цвет буфера меняется с светло-зеленого на голубой (исключает пропуск образца)

- 2-х СТАДИЙНЫЙ
- ДЛИТЕЛЬНОСТЬ ОСНОВНЫХ ИНКУБАЦИЙ 20+40 минут

- Срок годности 12 мес

- Все реагенты готовы к проведению анализа и не требуют разведения

- нет предварительного разведения сывороток

SARS-CoV-2ИФА-
суммарные антитела

Суммарность антител означает выявление любого из класса иммуноглобулинов,
что имеет большое клиническое значение

30’ – ультракороткая инкубация

ИФА-тесты Алкор Био:

Экономят время и расходники!

Сыворотки вносятся в ИФА - планшет

БЕЗ РАЗВЕДЕНИЯ

Роль предварительного разведения образцов 1:100
в формировании матричного эффекта преувеличена!

Ценность разработки тестов ИФА тестов на антитела к SARS-CoV-2
Алкор Био
состоит именно в том, что отсутствует перекрест с
- с ревматоидным фактором;
- с другими респираторными вирусами
- с другими возбудителями пневмоний

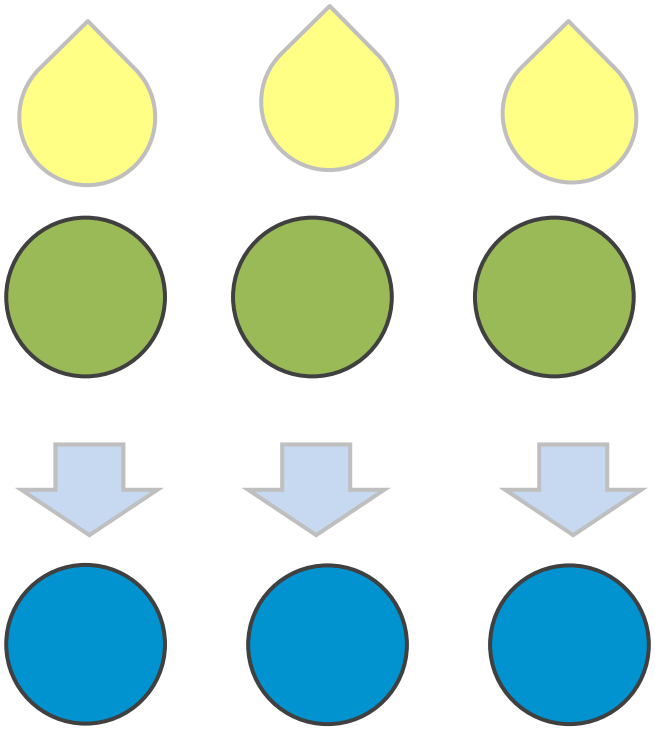
Наличие или отсутствие матрикс-эффекта в соответствии с международным руководством EP14-A Evaluation of Matrix Effects; Approved Guideline, оценивают посредством сравнения 2-х методик.

Это отличный повод сравнить результаты теста Алкор Био с тестом, которым Вы работаете!

РАЗВОДИТЬ ОБРАЗЦЫ ИЛИ НЕТ В 100 РАЗ?

ИФА-тесты Алкор Био:

Индикация внесения сыворотки



SARS-CoV-2ИФА-IgG (№ 200-72)
SARS-CoV-2ИФА-IgM (№ 200-73)
SARS-CoV-2ИФА-суммарные антитела (№ 200-74)

100% чувствительность и 100% специфичность, подтвержденная отсутствием эффекта матрикса и перекрестных реакций

•БЕЗ ПРЕДВАРИТЕЛЬНОГО РАЗВЕДЕНИЯ ОБРАЗЦОВ
АНАЛИЗ-1 час, подтверждение-30 мин
ИНДИКАЦИЯ ВНЕСЕНИЯ ОБРАЗЦА

Все реагенты готовы и не требуют дополнительного разведения

**БЕЗ РАЗВЕДЕНИЯ, БЕЗ ПЕРЕКРЕСТА-
БЫСТРО, ЯРКО, УДОБНО, ПРОСТО!**

С SARS-CoV-2 – БОРОТЬСЯ ВМЕСТЕ!

Благодарю за внимание!

С уважением,
Крылова Ольга, доп. 453
ГК АЛКОР БИО
руководитель проекта
"Инфекционная диагностика"

e-mail: okrylova@alkorbio.ru
www.alkorbio.ru

ГРУППА КОМПАНИЙ АЛКОР БИО