



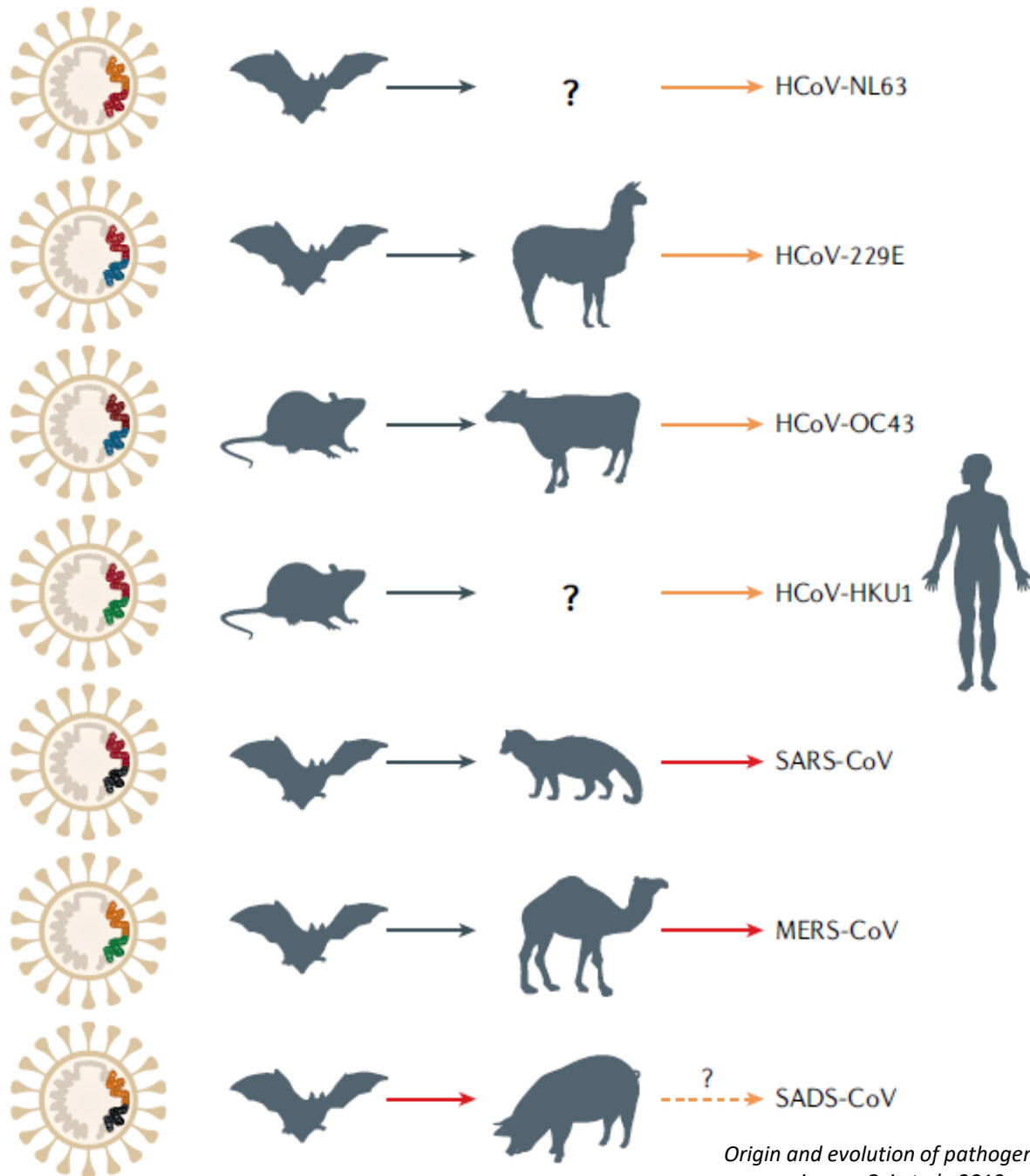
# Определение антител к SARS-CoV-2 - что нам известно сегодня.

*Profile of a killer virus. Cyranoski, 2020*

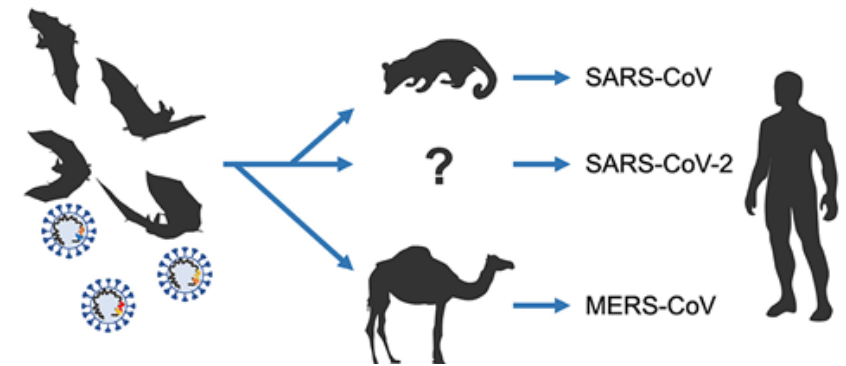
**ЗАО БиоХимМак октябрь 2020**



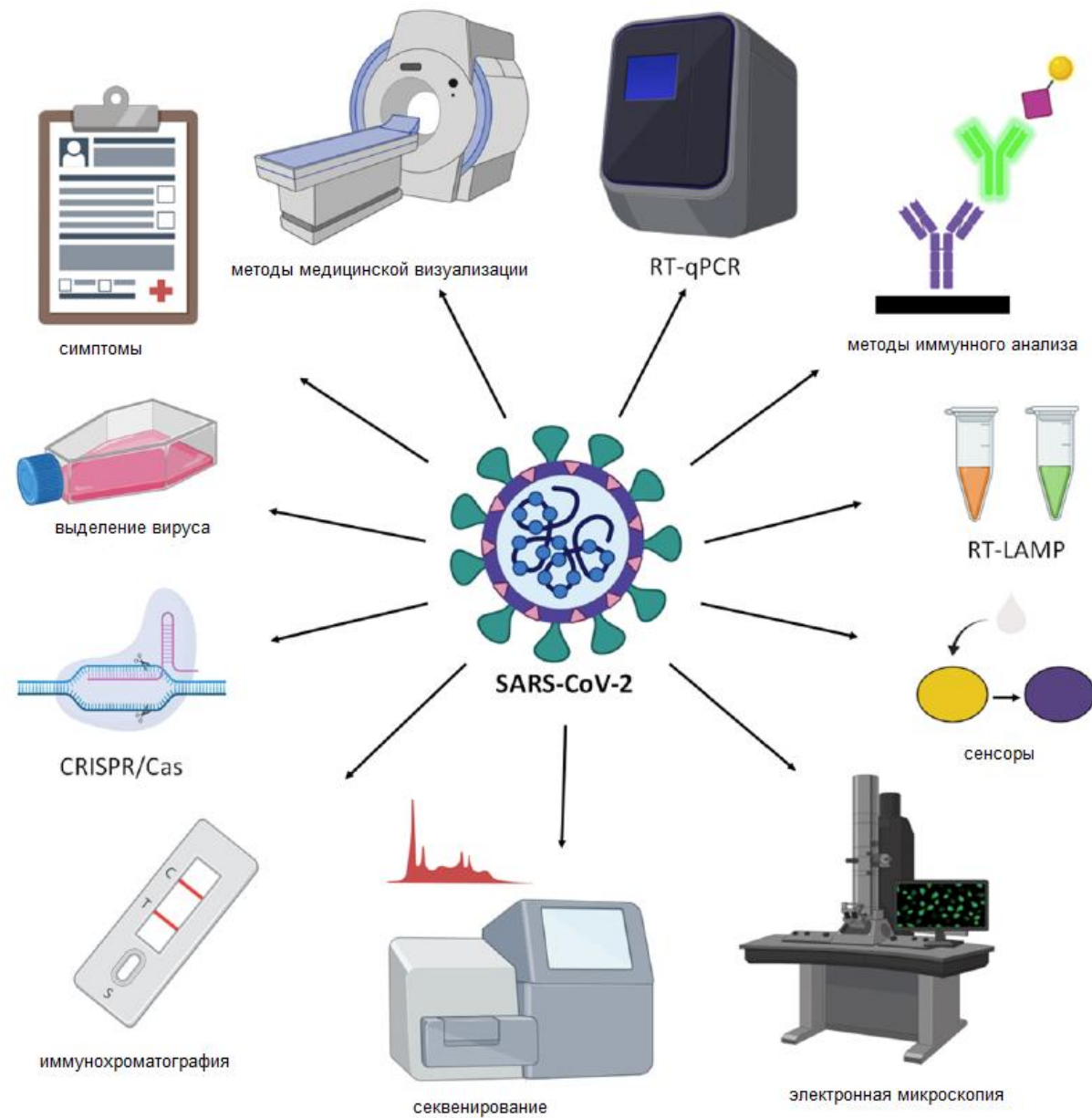
# Патогенные коронавирусы



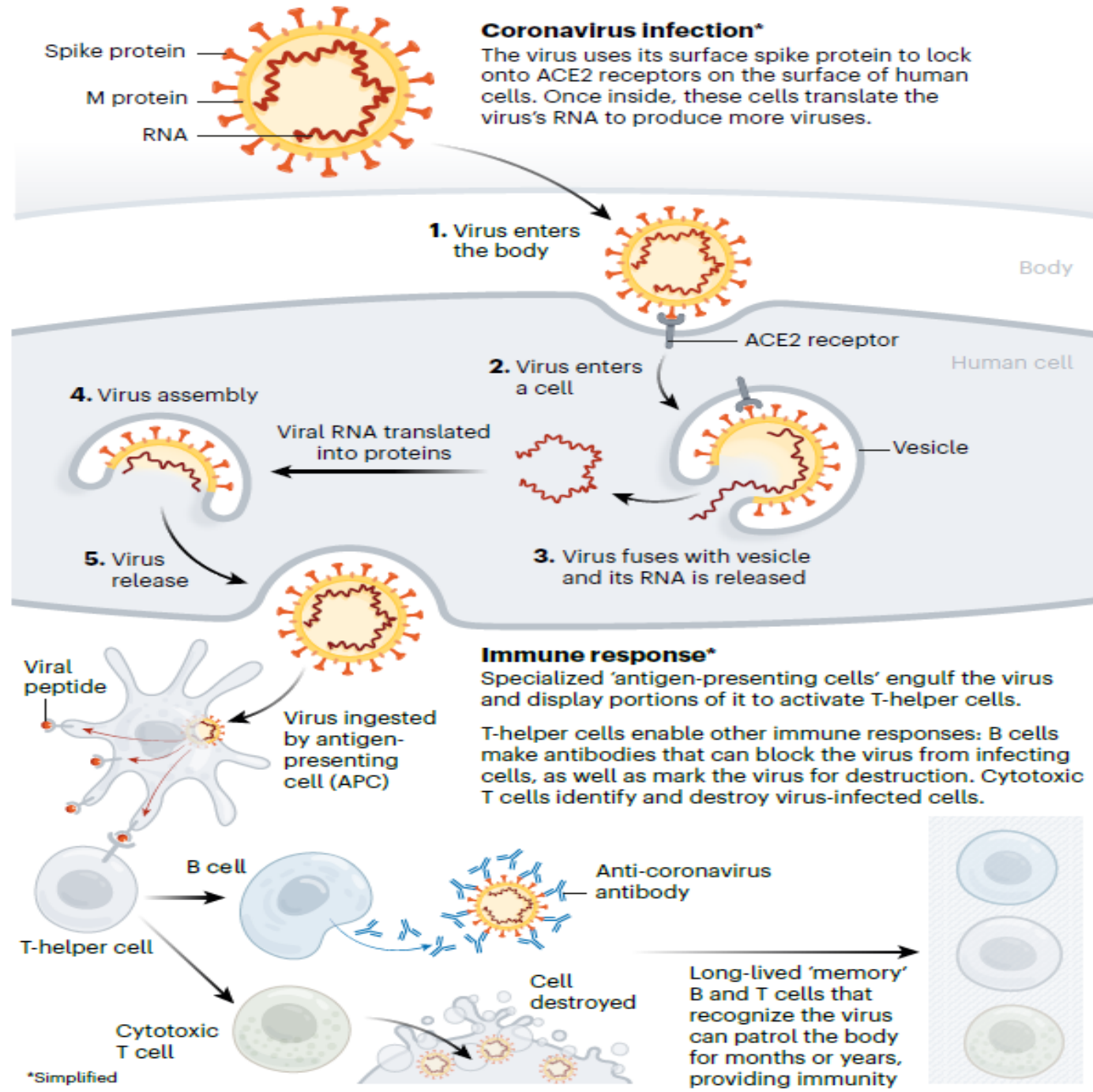
Origin and evolution of pathogenic  
coronaviruses. Cui et al., 2019



Commentary: Origin and evolution of pathogenic coronaviruses. Adachi et al., 2020



# Как развивается ответ



# Антитела

## Связывающие антитела

*Для выявления антител используются очищенные белки SARS-CoV-2. С помощью конкретных реагентов можно определять отдельные типы антител, такие как IgG, IgM и IgA (можно определять по отдельности или суммарно в разных комбинациях).*

экспресс- тесты - ИХА

лабораторные тесты - иммуноферментный анализ, иммунохемилюминесцентный анализ

## Суррогатные тесты нейтрализации (sVNT).

*Это тесты на связывающие антитела, предназначенные для выявления потенциально нейтрализующих антител, часто таких, которые предотвращают взаимодействие RBD с рецептором ACE2 на поверхности клеток.*

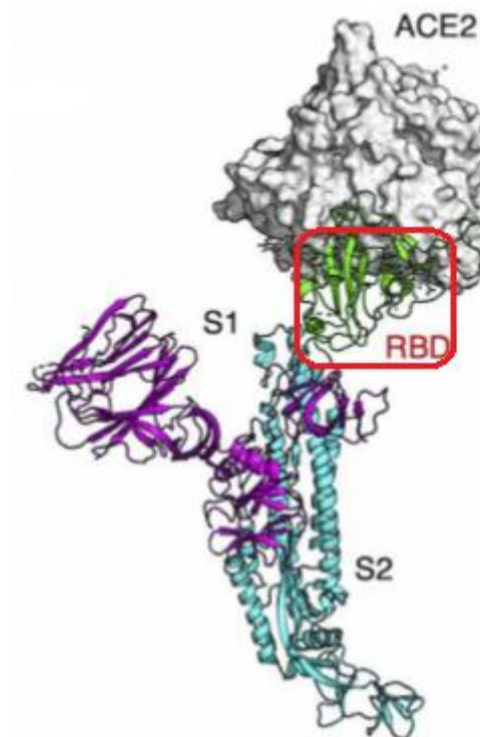
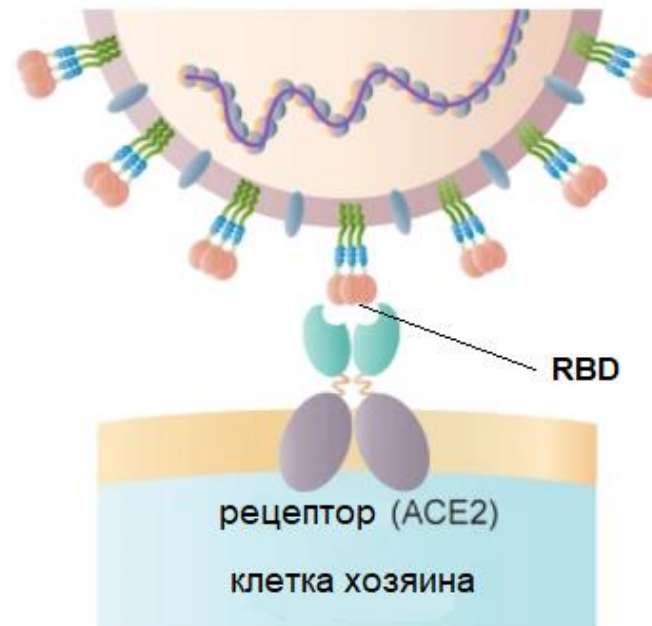
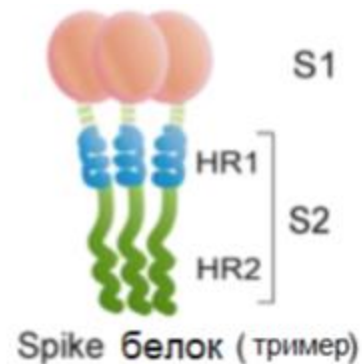
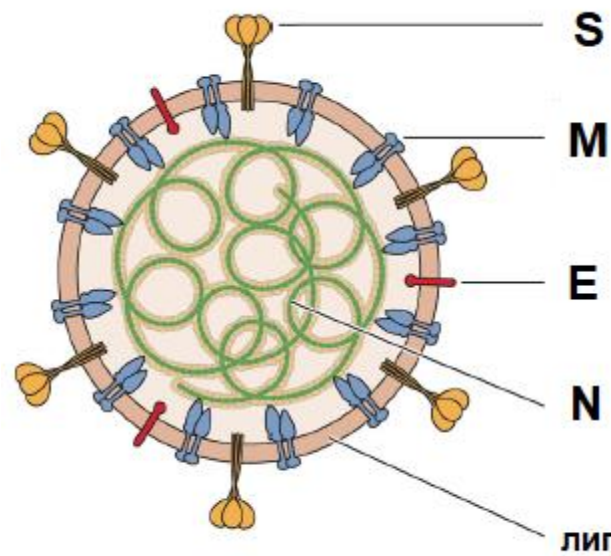
## Нейтрализующие антитела

*Тесты на нейтрализацию определяют функциональную способность антител предотвращать заражение вирусом *in vitro**

VNT - реакция нейтрализации бляшкообразования (PRNT) и микронеutralизация, используется вирус SARS-CoV-2 из клинического изолята или рекомбинантные SARS-CoV-2, экспрессирующие репортерные белки. Выполнение возможно только в специализированных лабораториях.

Тесты нейтрализации псевдовирuses (pVNT) используются рекомбинантные псевдовирuses (например, VSV), которые включают S-белок SARS-CoV-2. Выполнение возможно только в специализированных лабораториях.

# Структура SARS-CoV-2

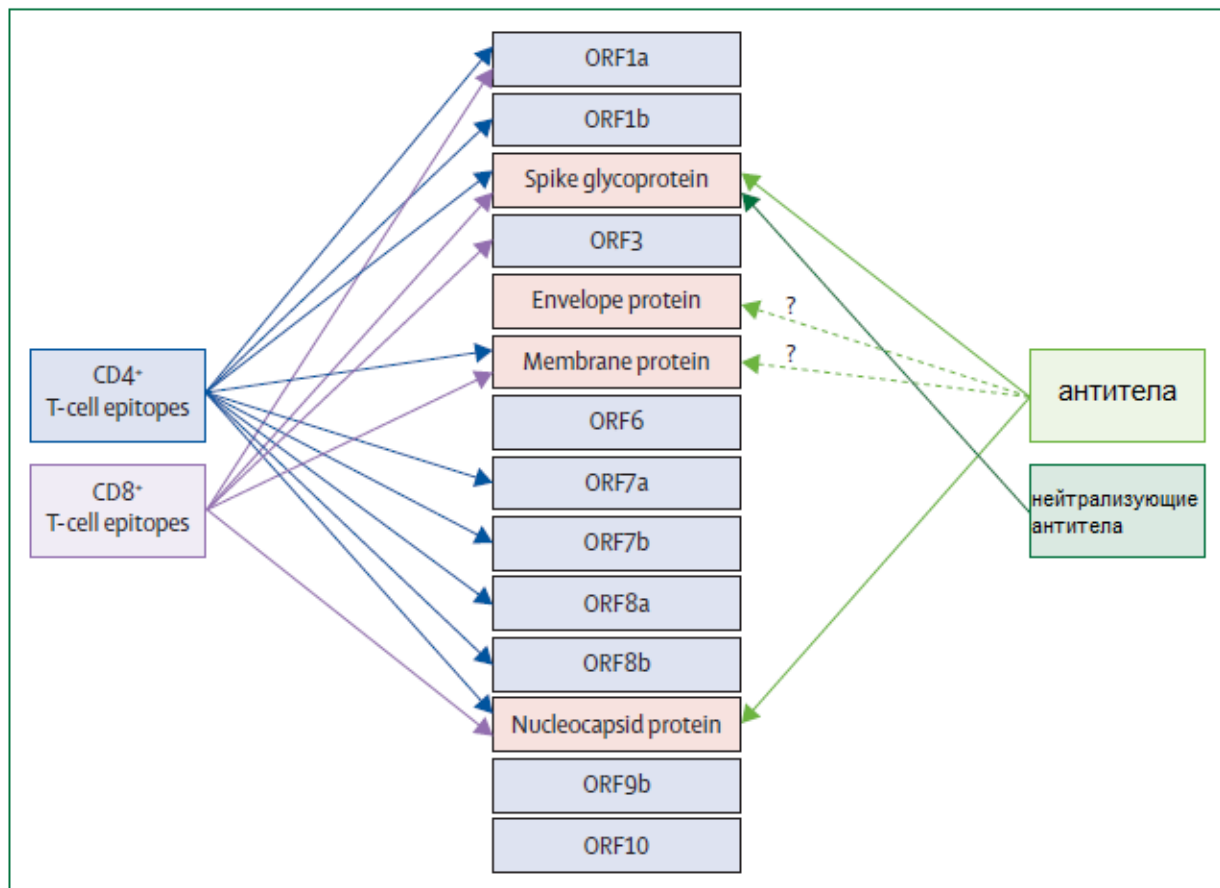


*Structural and functional properties of SARS-CoV-2 spike protein: potential antiviral drug development for COVID-19. Huang et al., 2020*

*Coronavirus Disease 2019—COVID-19. Dhama et al., 2020*

*The receptor-binding domain of the viral spike protein is an immunodominant and highly specific target of antibodies in SARS-CoV-2 patients. Premkumar et al., 2020*

# Для обнаружения антител к SARS-CoV-2 используют ряд специфических антигенов:



- Поверхностные гликопротеины - Spike протеины (**S** белки). Субъединицы **S1** и **S2** могут использоваться индивидуально или в комбинации в качестве антигенов для серологического тестирования.
- Нуклеокапсидный белок (**N**-белок)
- Рецептор связывающий домен – **RBD**, представляет собой часть субъединицы S1. Высокоспецифичный антиген, который блокируется нейтрализующими антителами.

# Корреляция Т-клеточного ответа против SARS-CoV-2 с S-, RBD- и NP-специфическими антителами.

- Ответы Т-клеток были значительно выше у пациентов с тяжелой формой COVID-19 по сравнению с больными с легкой формой COVID-19.
- Т-клетки пациентов с тяжелой формой COVID-19 распознают больше вирусных эпитопов, чем у больных с легкой формой заболевания.

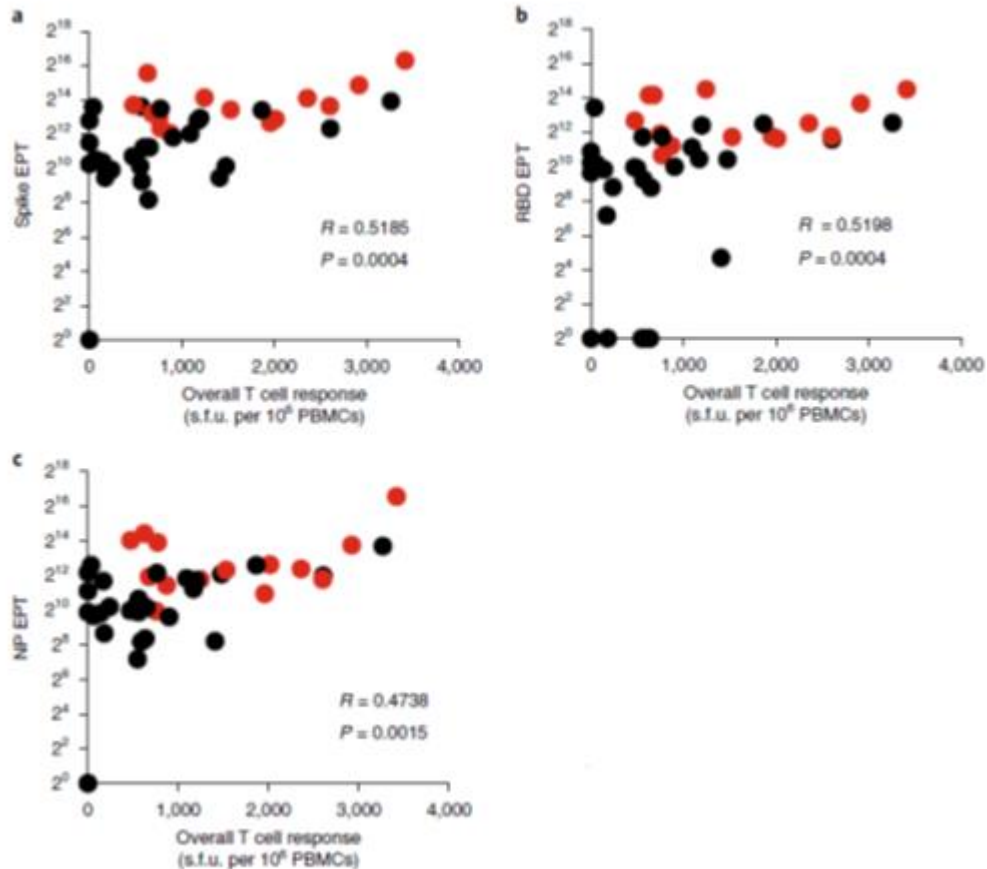
## Выявлена корреляция между:

Титрами антител к Spike-белку и общим ответом Т клеток ( $P = 0.0004$ ;  $R = 0.5185$ ) и Spike-специфическим ответом Т клеток ( $P = 0.0006$ ;  $R = 0.505$ );

Титрами антител к RBD и общим ответом Т клеток ( $P = 0.0004$ ;  $R = 0.5198$ ) и Spike-специфическим ответом Т клеток ( $P = 0.0004$ ;  $R = 0.5189$ );

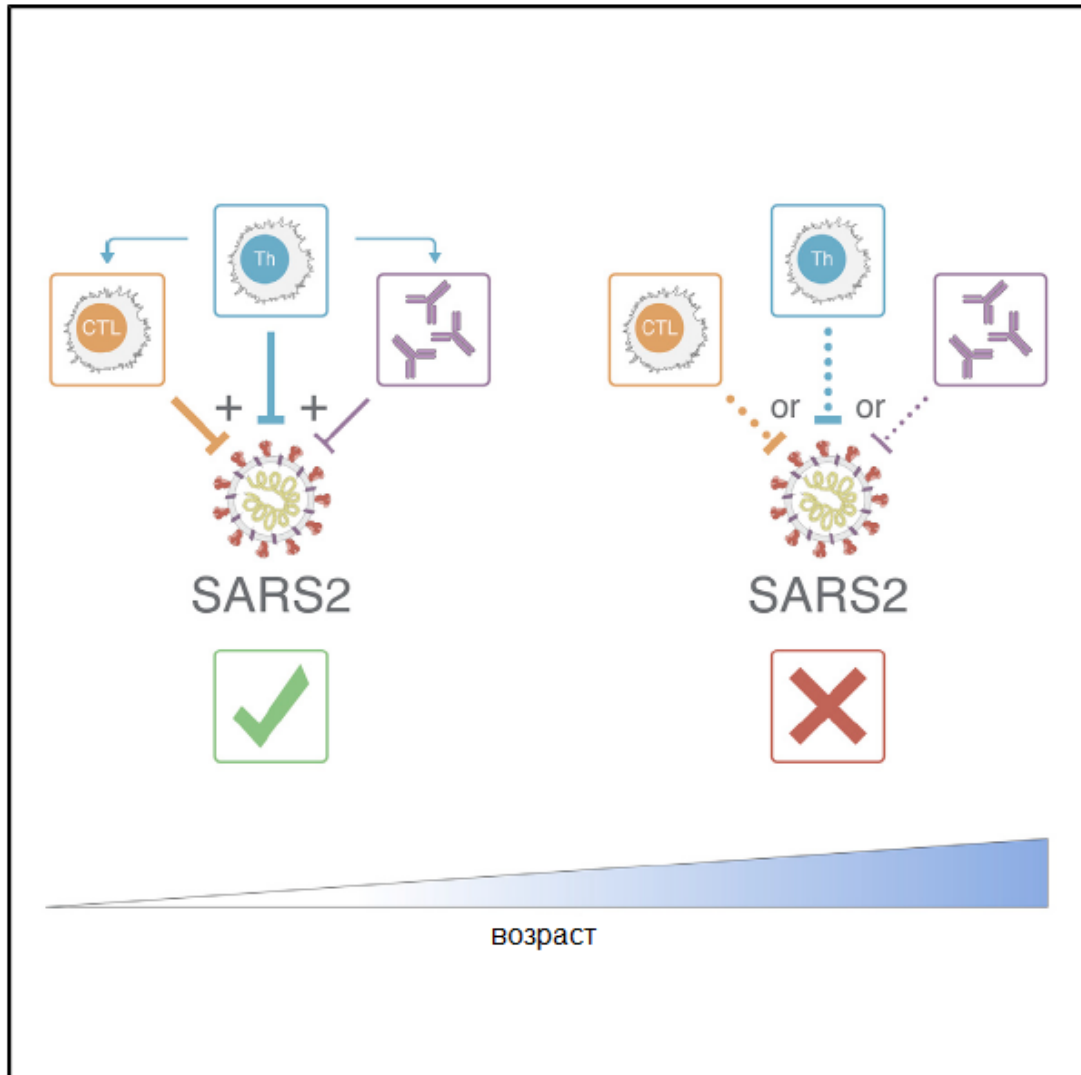
Титрами антител к NP и общим ответом Т клеток ( $P = 0.0015$ ;  $R = 0.4738$ ) и Spike-специфическим ответом Т клеток ( $P = 0.007$ ;  $R = 0.412$ ).

**Не выявлено значимой связи** между титрами антител к NP и NP-специфическим ответом Т клеток ( $P = 0.067$ ;  $R = 0.286$ )





# Адаптивный иммунитет



Три ветви адаптивного иммунитета: SARS-CoV-2-специфичные CD4 + и CD8 + Т-клетки и нейтрализующие антитела.  
Скоординированный ответ нарушен у лиц старше 65 лет.

# S vs N

- ✓ Антитела к N-белку выявлялись у приблизительно 3% здоровых.
- ✓ Антитела к S-RBD выявлялись у приблизительно 1 % здоровых.
- ✓ Приблизительно у 86%, положительных по S-RBD-связывающим антителам, наблюдалась нейтрализующая способность, но только 74% с положительной реакцией на N-белок проявляли нейтрализующую способность.
- ✓ Обнаружение антител, к N-белку, не всегда коррелирует с присутствием S-RBD-нейтрализующих антител.
- ✓ Наличие антител против N-белка может указывать на предшествующий контакт с SARS-CoV-2 или родственными вирусами, но не обязательно свидетельствует о наличии нейтрализующих антител.
- ✓ Серологическое тестирование на основе только N-белка для определения потенциального иммунитета против COVID-19 сомнительно.

# Коронавирусы

60-75% детей младше 12 лет имеют антитела к одному или нескольким сезонным CoV, а 90% взрослых старше 50 лет имеют антитела ко всем четырем сезонным CoV

*Viruses and Bacteria in the Etiology of the Common Cold. Makela et al., 1998*

SARS-CoV-2 и сезонные CoV - примерно 21-34% гомологии АК

SARS-CoV-2 и SARS-CoV - 90% гомологичных АК для соответствующих N-белков и 77% для S-белков.

SARS-CoV-2 и MERS-CoV - 49% гомологичных АК для N-белков и 33% для S-белков.

**для повышения специфичности серологических тестов особую ценность имеет использование антигенов S-белков**

*COVID-19 Serology Testing Explained. <https://asm.org/Articles/2020/May/COVID-19-Serology-Testing-Explained>*

# Сезонные коронавирусы

пациент	годы		возраст		период наблюдения		инфекция				
	Start	End	Start	End	Months	Years	Total*	NL63	229E	OC43	HKU1
1	1985	2017	32	64	265	22.1	11	2	2	6	1
2	1985	2019	30	64	310	25.9	11	4	3	1	3
3	1985	2020	29	64	340	28.3	5	2	2	1	0
4	1985	2010	33	59	230	19.2	17	1	12	4	0
5	1985	2010	27	53	232	19.3	6	3	2	0	1
6	1985	1997	37	49	144	12.0	3	1	1	1	0
7	1985	2003	32	49	138	11.5	12	3	4	4	1
8	1986	2014	34	62	256	21.3	8	1	5	2	0
9	1985	2010	40	75	342	28.6	16	6	3	6	1
10	1985	2011	35	60	233	19.4	12	2	4	5	1
Total					2,473	205.6	101	25	38	30	8

Для выявления повторных инфекций определяли количество антител к карбоксильной (С) - концевой области белка нуклеокапсида (N<sub>Ct</sub>) - иммунодоминантной области структурного капсидного белка коронавируса (для каждого сезонного коронавируса).

Антитела к полному белку нуклеокапсида (N) SARS-CoV-2 обнаружены у пациентов №2 и №9  
Персистенция этих антител в последующие годы не обеспечила защиту от HCoV-NL63, HCoV-229E и HCoV-OC43.

# Анти-RBD

Антитела IgA и IgM к рецептор-связывающему домену SARS-CoV-2 (RBD) недолговечны. Среднее время до серореверсии (возврат к серонегативному статусу) составило 70,5 (95% ДИ 58,5–87,5) и 48,9 дней (95% ДИ 43,8–55,6), соответственно.

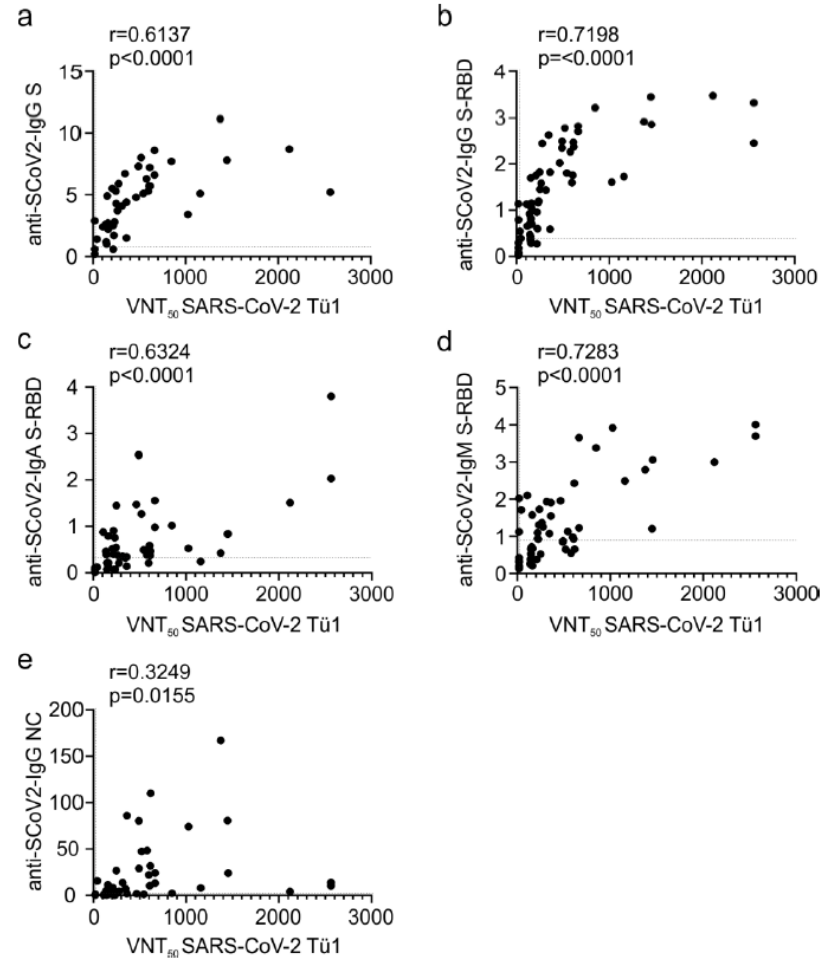
Антитела IgG к рецептор-связывающему домену SARS-CoV-2 (RBD) в среднем сохраняются, как минимум, 90 дней (серореверсия составляет 4%).

Антитела IgG к SARS-CoV-2 RBD в значительной степени коррелируют с титрами нейтрализующих антител ( $r = 0,87$ ).

Титры нейтрализующих антител практически не снижались через 75 дней после появления симптомов.

Отсутствует перекрестная реактивность антител к SARS-CoV-2 RBD с другими широко циркулирующими коронавирусами (HKU1, 229 E, OC43, NL63).

# АНТИ-RBD



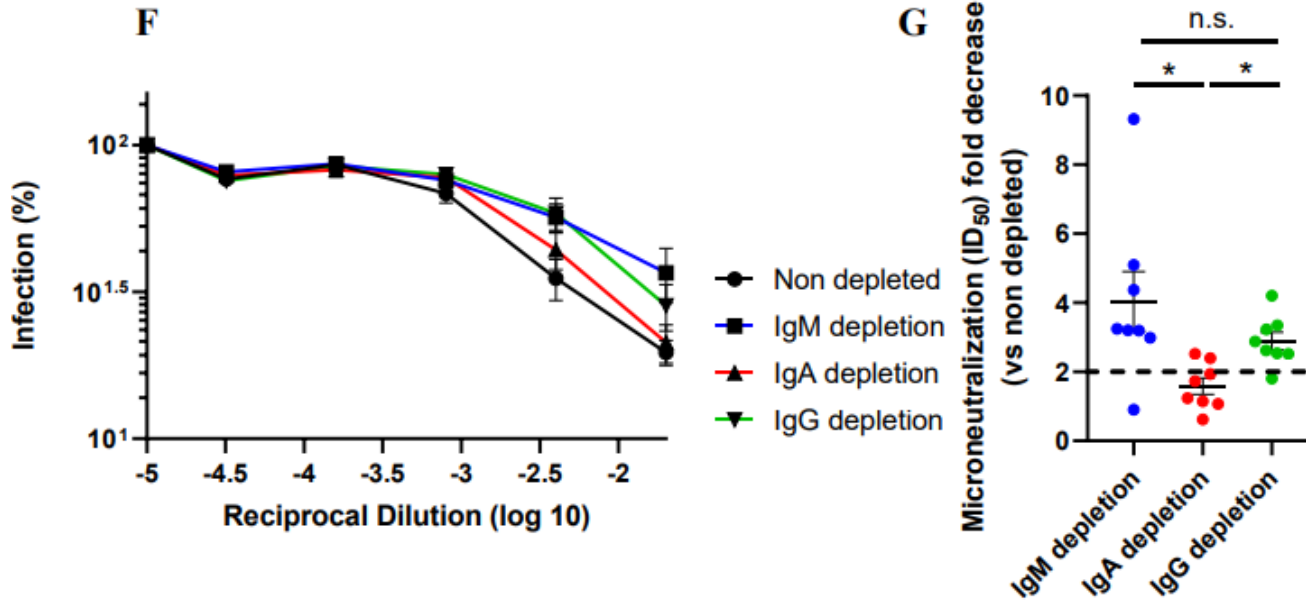
Корреляция относительного количественного значения специфических антител и VNT<sub>50</sub>:

*Neutralizing antibody response in non-hospitalized SARS-CoV-2 patients. Ruetalo, Businger et. al., 2020*

# Анти-RBD

- ✓ В-клетки памяти, специфичные к RBD, у пациентов, перенесших COVID-19, были стабильны в течение 6 месяцев, тогда как уровень антител за это время снизился.
- ✓ Частота появления SARS-CoV-2-специфичных плазмобластов В-клеток (активированных В-клеток) коррелировала с уровнями IgG к RBD.

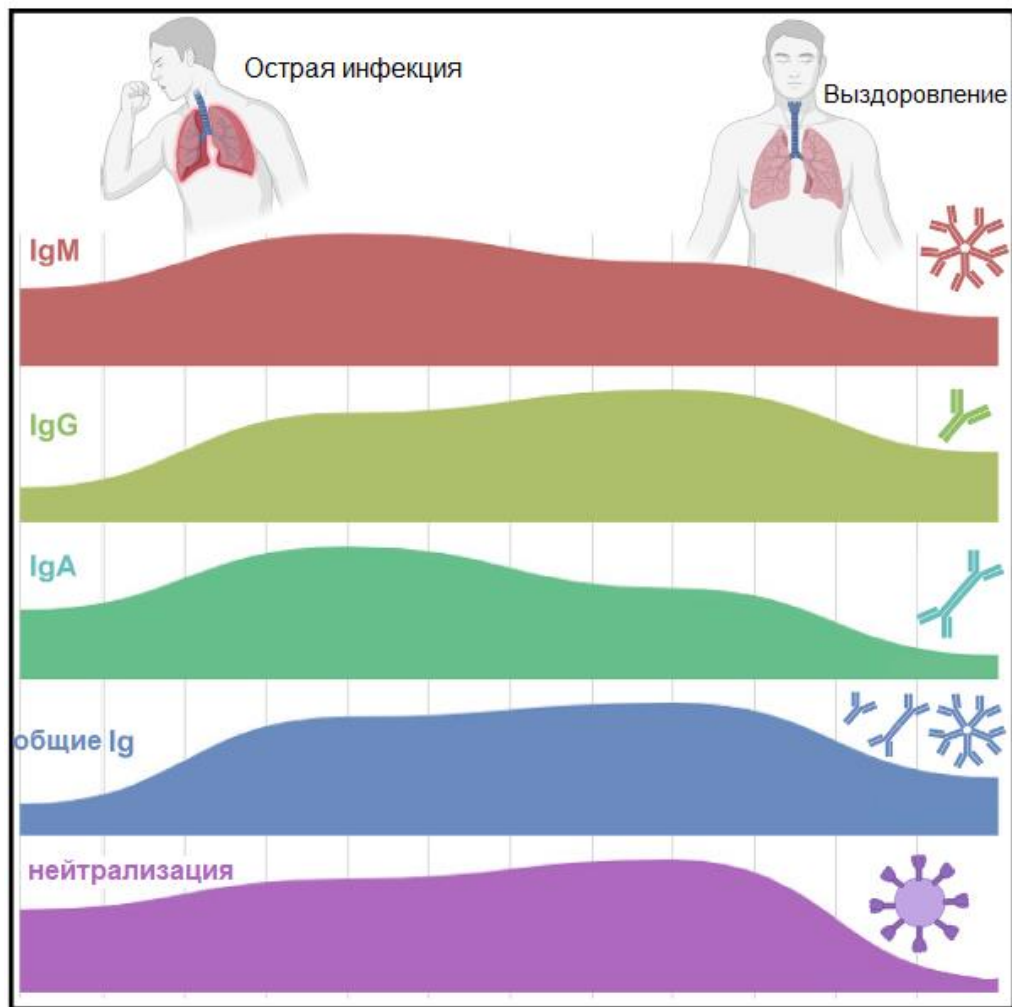
# IgM vs IgA vs IgG



Нейтрализующая способность плазмы после истощения:  
по IgM - снижение в 4 раза;  
по IgG - снижение в 2,9 раза;  
по IgA - без снижения.



# SARS-CoV-2 – сероконверсия



Антитела класса A (**IgA**) начинают формироваться и доступны для детекции примерно со 2 дня от начала заболевания, достигают пика через 2 недели и сохраняются длительное время.

Антитела класса M (**IgM**) начинают выявляться примерно на 7-е сутки от начала заражения, достигают пика через неделю и могут сохраняться в течение 2-х месяцев и более.

Примерно с 3-й недели или ранее определяются антитела класса G (**IgG**) к SARS-CoV-2.

Особенностью иммунного антительного ответа на инфекцию SARS-CoV-2 является небольшой временной промежуток между появлением антител IgM и IgG, а иногда и одновременное их формирование.

*ВРЕМЕННЫЕ МЕТОДИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ  
ПРОФИЛАКТИКА, ДИАГНОСТИКА И ЛЕЧЕНИЕ НОВОЙ КОРОНАВИРУСНОЙ  
ИНФЕКЦИИ (COVID-19) Версия 9 (26.10.2020)*

# Чувствительность и специфичность

Чувствительность может составлять от 81 до 99%, а специфичность - от 94 до 99%

*An evaluation of COVID-19 serological assays informs future diagnostics and exposure assessment. GeurtsvanKessel et al., 2020*

Метаанализ (40 статей, опубликованных с января по апрель), показано, что совокупная чувствительность ИФА для определения IgG или IgM составляет 84,3%. Суммарная специфичность варьировала от 96,6% до 99,7%. Чувствительность была выше, по крайней мере, через три недели после появления симптомов (от 69,9% до 98,9%).

*Diagnostic accuracy of serological tests for covid-19: systematic review and meta-analysis. Lisboa Bastos et al., 2020*

Метаанализ (57 статей, опубликованных по 27 апреля): для IgG, IgM, IgA, общих антител и IgG / IgM невысокая чувствительность в течение первой недели с момента появления симптомов (все менее 30,1%), увеличивается на второй неделе и достигает максимальных значений на третьей неделе. Комбинация IgG / IgM имела чувствительность 30,1% в течение от 1 до 7 дней, 72,2% в течение 8-14 дней, 91,4% в течение от 15 до 21 дня. От 21 до 35 дней объединенная чувствительность для IgG / IgM - 96,0%

Суммарная специфичность превышала 98% для всех целевых антител

*Antibody tests for identification of current and past infection with SARSCoV-2. Deeks et al., 2020*

# Другие факторы

- ✓ Иммуный ответ выше у пациентов старше 40 лет. Лица старшего (60–85 лет) и среднего возраста (40–59 лет) имели значительно более высокие титры нейтрализующих SARS-CoV-2 антител, чем у более молодых пациентов (15–39 лет).
- ✓ Уровень антител выше у госпитализированных больных. Имеется корреляция со степенью тяжести заболевания.
- ✓ Уровни антител ниже у женщин.
- ✓ Нейтрализующая способность антител выше у мужчин.
- ✓ Уровни антител ниже у курильщиков.
- ✓ Уровни антител ниже у лиц, получающих противовоспалительные препараты.
- ✓ Индекс массы тела положительно коррелирует с уровнем антител.

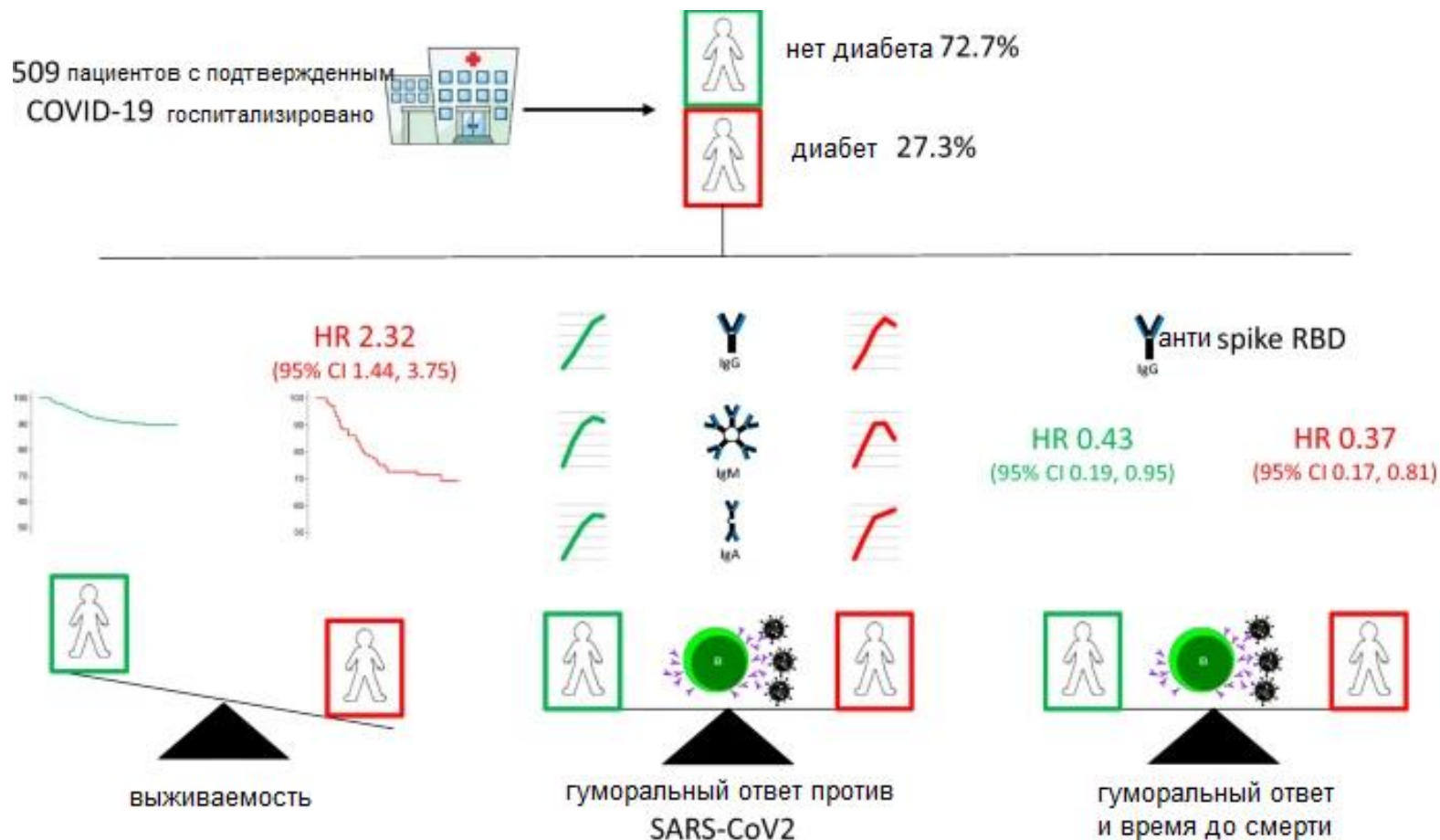
Sex differences in immune responses that underlie COVID-19 disease outcomes. Takahashi et al., 2020

Convergent antibody responses to SARS-CoV-2 in convalescent individuals. Robbani et al., 2020

*IgM responses of convalescents using a proteome microarray. Jiang et al., 2020*

*Humoral Immune Response to SARS-CoV-2 in Iceland Gudbjartsson et al. 2020*

# Другие факторы



Диабет связан с повышенным риском смерти.

Различия в гуморальном ответе SARS-CoV-2 у пациентов с диабетом и без него были незначительны.

Иммунный ответ не зависел от уровня глюкозы.

Присутствие антител IgG к RBD SARS-CoV-2 позволяет прогнозировать выживаемость пациентов с диабетом и без него.

Более тяжелое течение заболевания и смертность от COVID-19 у пациентов с диабетом, по-видимому, не связаны с нарушением выработки антител в ответ на инфекцию SARS-CoV-2.

# Другие факторы

- ✓ У большинства (8/9) пациентов с онкогематологическими заболеваниями и с подтвержденной инфекцией SARS-CoV-2 произошла сероконверсия и появились антитела к основным антигенам SARS-CoV-2 (S1 и N), при этом у большинства (6/8) выявлена нейтрализующая активность.
- ✓ Динамика выявления антител была в целом аналогична той, о которой сообщалось для общей популяции, за исключением возможной задержки сероконверсии.

# Другие факторы

~60% потенциальных доноров конвалесцентной плазмы имеют нейтрализующие антитела к SARS-CoV-2 в титре  $\geq 1:80^*$  :

Лица старшего возраста

Мужчины

Высокая температура в острую фазу заболевания

Госпитализация

Более длительный промежуток времени между положительным результатом ПЦР и выявлением антител ассоциирован с более низкими титрами нейтрализующих антител.

\* $\geq 1:80$  минимальный титр для конвалесцентной плазмы, установленный US Food and Drug Administration [FDA]

# Наличие антител и контагиозность пациента

Положительный результат тестов на антитела нельзя приравнивать к неинфекционному статусу. В частности, наличие не нейтрализующих антител не препятствует активному выделению вируса через респираторный секрет.

*Virological assessment of hospitalized patients with COVID-2019. Wölfel et al., 2020*  
*SARS-CoV-2 shedding and infectivity. Atkinson, Petersen, 2020*

Наличие антител не свидетельствует о контагиозности пациента. Появление антител (сероконверсия) сопровождается постепенным снижением вирусной нагрузки, а не резкой элиминацией вируса, т. к. наличия только сывороточных антител недостаточно для элиминации вируса.

*Временное руководство по лабораторной диагностике COVID-19 в условиях пандемии. МР №89. Москва, 2020*

Пациенты с COVID-19 и низкими титрами IgG (т. е. пиковый титр в 1-2 раза превышает cut off) имеют более высокую скорость элиминации вируса, чем пациенты с COVID-19 и высокими титрами IgG. Т.е. сильный антительный ответ может быть связан с более тяжелым течением заболевания, в то время как низкие титры антител могут быть связаны с эффективной элиминацией вируса.

*Viral kinetics and antibody responses in patients with COVID-19. Tan et al., 2020*

# Как долго сохраняются антитела? (июнь, июль 2020)

Снижение уровня IgG антител к белку N и пептиду, представляющему белок S, в течение 21-28 дней

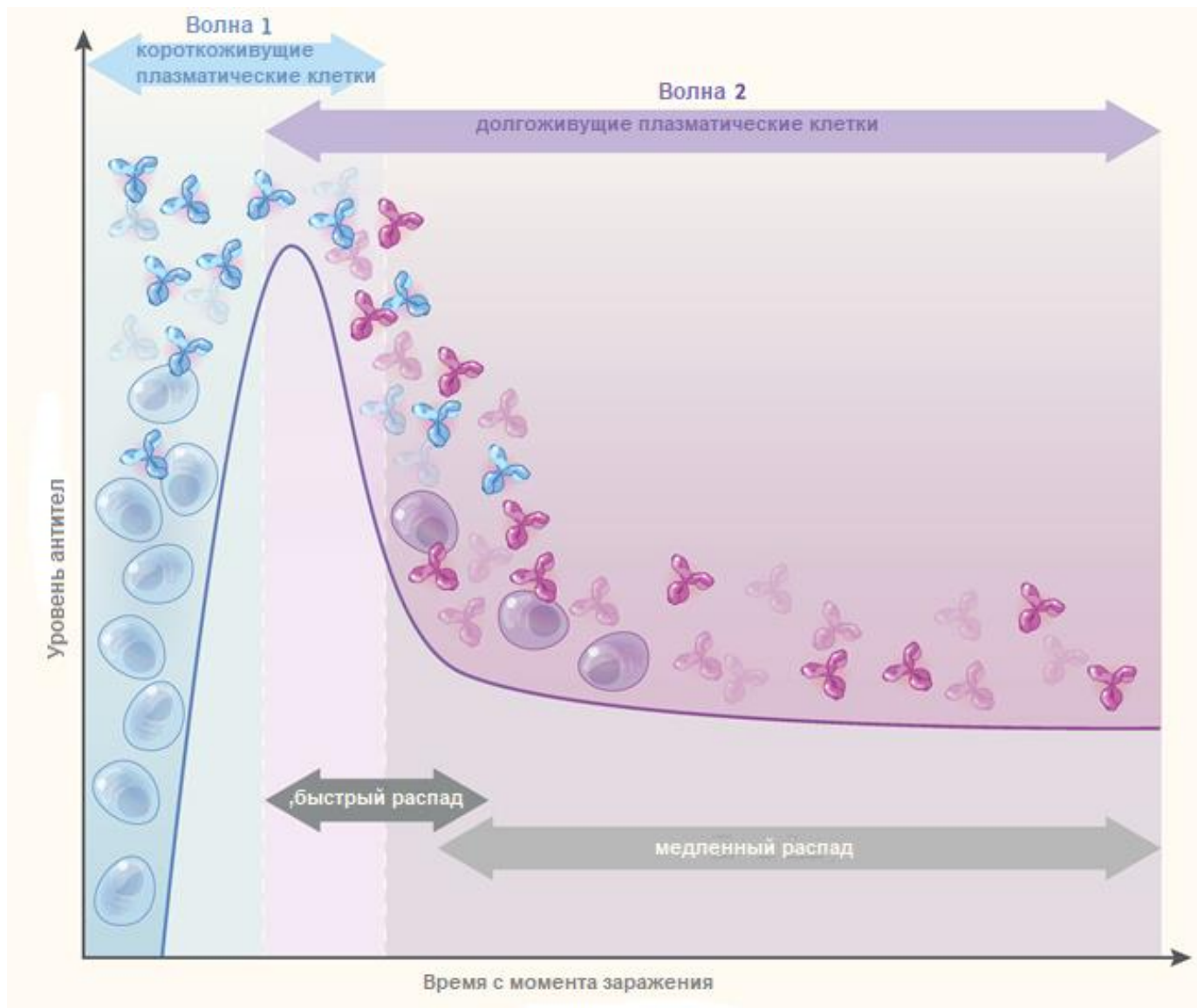
*Clinical and immunological assessment of asymptomatic SARS-CoV-2 infections. Long et al., 2020*

Снижение уровня IgG антител к тримерному белку S, в течение 56 дней

*Antibody testing for COVID-19: A report from the National COVID Scientific Advisory Panel. Adams et al., 2020*



# Как долго сохраняются антитела? (сентябрь 2020)



У 91.1% из 1,215 человек, перенесших инфекцию обнаружены антитела и к (N), и к (S1) белкам.

У 95.1% обнаружены антитела как минимум к одному белку.

Антитела против SARS-CoV-2 сохраняются в течение как минимум 4 месяцев после инфекции.

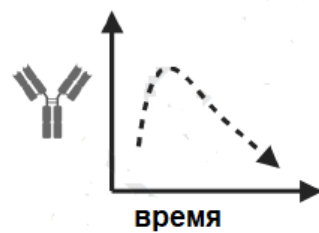
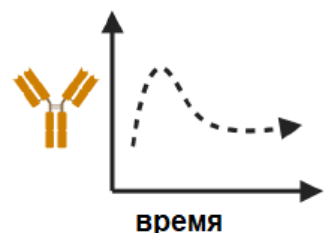
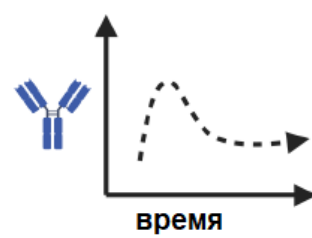
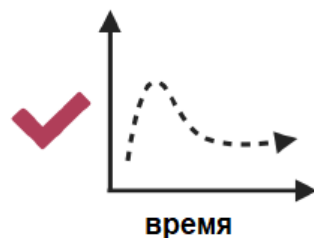
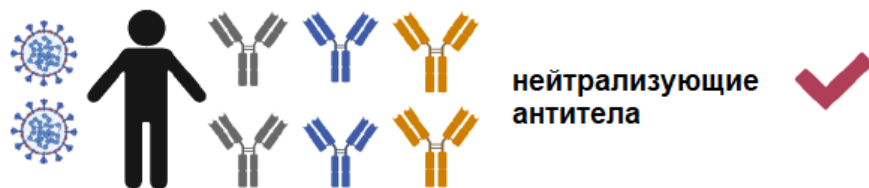
*Humoral Immune Response to SARS-CoV-2 in Iceland Gudbjartsson et al. 2020*

*The Power of Antibody-Based Surveillance. Alter, Seder, 2020*

# Как долго сохраняются антитела? (октябрь 2020)



SARS-CoV-2 инфекция



- ✓ По сравнению с легкими случаями COVID-19 у лиц с тяжелым заболеванием наблюдаются более высокие титры вирус нейтрализующих антител, а также антител против нуклеокапсида (N) и рецептор связывающего домена (RBD) S1 белка.
- ✓ Возраст и пол играли меньшую роль.
- ✓ Все случаи, в том числе бессимптомные сопровождались сероконверсией в течение 2 недель после подтверждения ПЦР.
- ✓ Анти- RBD и S2 и нейтрализующие антитела оставались определяемыми в течение 5-7 месяцев после начала заболевания, тогда как титры анти-N уменьшилось.
- ✓ Тестирование 5882 образцов выявило только 1 образец с серореактивностью как к RBD, так и к S2, но с отсутствием нейтрализующей активности.

**Нейтрализующие антитела стабильно продуцируются в течение как минимум 5-7 месяцев после заражения SARS-CoV-2.**

# Качественно или количественно?






- ✓ *Стандартного эталонного материала антигена(ов) SARS-CoV-2 или антител к SARS-CoV-2 на данный момент не существует.*
- ✓ *Защитный титр антител в настоящее время неизвестен.*
- ✓ *Результаты могут быть оценены полуколичественно/количественно, например, путем вычисления титра или индекса позитивности, или иных условных единиц, предусмотренных в рамках конкретной тест-системы, и т.п.*

«Несмотря на то, что регистрация результатов проводится в количественных показателях, в связи с отсутствием стандартизации антител к различным антигенам все существующие иммунохимические тесты на антитела к SARS-CoV-2 являются качественными (т. е. интерпретируются как «положительный» или «отрицательный»), даже если результат пропорционален количеству выявляемого анализа.»

Interim Guidelines for COVID-19 Antibody Testing in Clinical and Public Health Settings, CDC (Aug. 1, 2020), [www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/lab/resources/antibody-tests-guidelines.html](http://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/lab/resources/antibody-tests-guidelines.html)

Временное руководство по лабораторной диагностике COVID-19 в условиях пандемии: Методические рекомендации № 89. – М.: ГБУ «НИИОЗММ ДЗМ», 2020.



ТИП ВАКЦИНЫ	 <b>СУБЪЕДИНИЧНЫЕ</b>	 <b>ВЕКТОРНЫЕ</b>	 <b>ВАКЦИНЫ НА ОСНОВЕ НУКЛЕИНОВЫХ КИСЛОТ</b>	 <b>НА ОСНОВЕ ВИРУСОПОДОБНЫХ ЧАСТИЦ</b>	 <b>ЦЕЛЬНОВИРИОННЫЕ</b>
<b>РАЗНОВИДНОСТИ</b>	На основе различных антигенных компонентов, например, синтетически полученных пептидов или белков	Реплицирующиеся и нереплицирующиеся	ДНК- и РНК-вакцины		Инактивированные и живые ослабленные
<b>ПРИНЦИП ДЕЙСТВИЯ</b>	При попадании в организм вирусных антигенов происходит формирование эффективного противовирусного иммунного ответа	Генетический материал вируса доставляется в клетку с помощью вектора - другого вируса, не вызывающего заболевание у человека. При проникновении вектора в клетку происходит синтез белков вируса и вируса-вектора и формируется противовирусный иммунный ответ	Проникая в клетку, генно-инженерные конструкции на основе РНК и ДНК обеспечивают синтез нужного вирусного белка, после чего происходит формирование противовирусного иммунного ответа.	Вирусоподобные частицы имитируют структуру целевого вируса, но не содержат его генетического материала, при этом способны формировать противовирусный иммунный ответ при попадании в организм человека	Для выработки противовирусного иммунитета вводится ослабленный вирус или вирус, инактивированный термически или с применением химических агентов
<b>ПРЕИМУЩЕСТВА ОСОБЕННОСТИ И ОГРАНИЧЕНИЯ</b>	Низкая реактогенность благодаря отсутствию балластных вирусных антигенов, не участвующих в формировании протективного иммунного ответа. Для усиления иммунного ответа часто требуется использование адъювантов и проведение повторных иммунизаций	Обладают высокой иммуногенностью. Формируется иммунная реакция к вирусу-вектору, что может препятствовать формированию надлежащего иммунитета против целевого вируса	Простая и быстрая разработка. Недостаточная изученность и отсутствие других зарегистрированных вакцин для использования среди людей	Безопасность и выраженные иммуногенные свойства. Технологическая сложность производства	Классическая технология, приближенная к естественному механизму формирования иммунитета. Необходимость добавления адъювантов в случае с инактивированными вакцинами и вероятность реверсии патогенности вируса в живой вакцине

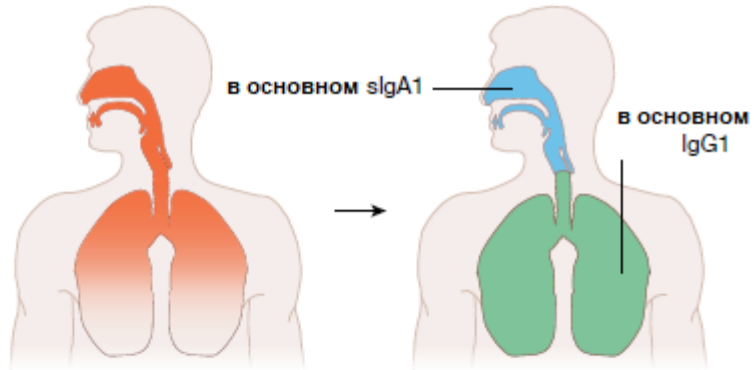
# Вакцины

- (1) Белок S является основной мишенью для нейтрализующих антител
- (2) Подавляющая часть нейтрализующих антител направлена против RBD белка S
- (3) Защитный эффект нейтрализующих антител, в том числе сформировавшихся в результате вакцинации, показан на животных (мыши, кролики и приматы)

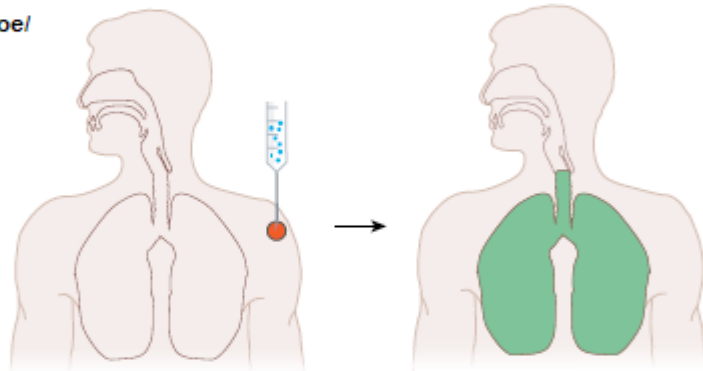
SARS-CoV-2 Vaccine Development: Current Status. Poland et al., 2020

# Вакцины

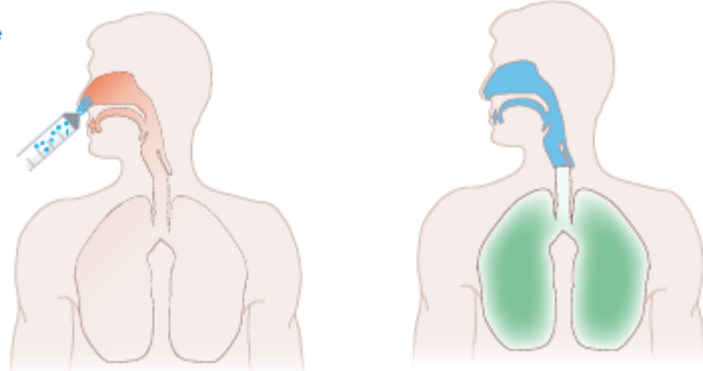
**а** натуральная инфекция



**б** внутримышечное/внутрикожное введение вакцины



**с** интраназальное введение вакцины



Подавляющее большинство из почти 180 вакцин от SARS-CoV-2, разрабатываемых сейчас, вводятся внутримышечно.



# Вакцины

I При введении rAd26-S на 14 день у 88,9% участников испытаний обнаруживались SARS-CoV-2 RBD-специфические IgG антитела.

При введении rAd5-S на 14 день у 84,2% участников испытаний обнаруживались SARS-CoV-2 RBD-специфические IgG антитела

Начиная с 21 дня у 100% участников испытаний обнаруживались SARS-CoV-2 RBD-специфические IgG антитела.

II При введении rAd26-S на 14 день у 85% участников испытаний обнаруживались SARS-CoV-2 RBD-специфические IgG антитела.

Бустинг rAd5-S привел к росту титров SARS-CoV-2 RBD-специфических IgG.

- ✓ Уровень сероконверсии составил 100% на 28 и 42 дни исследования.
- ✓ Обнаружена сильная корреляция между титрами антител к SARS-CoV-2 RBD и титрами нейтрализующих антител ( $r=0.82$ )



# Санитарно-эпидемиологические правила СП 3.1.3597-20 "Профилактика новой коронавирусной инфекции (COVID-19)"



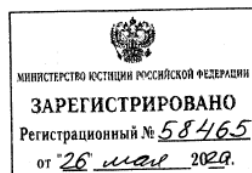
ГЛАВНЫЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ САНИТАРНЫЙ ВРАЧ  
РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ  
ПОСТАНОВЛЕНИЕ

22.05.2020

Москва

№ 15

Об утверждении санитарно-эпидемиологических правил СП 3.1.3597-20 «Профилактика новой коронавирусной инфекции (COVID-19)»



В соответствии со статьей 39 Федерального закона от 30.03.1999 № 52-ФЗ «О санитарно-эпидемиологическом благополучии населения» (Собрание законодательства Российской Федерации, 1999, № 14, ст. 1650; 2019, № 30, ст. 4134) и постановлением Правительства Российской Федерации от 24.07.2000 № 554 «Об утверждении Положения о государственной санитарно-эпидемиологической службе Российской Федерации и Положения о государственном санитарно-эпидемиологическом нормировании» (Собрание законодательства Российской Федерации, 2000, № 31, ст. 3295; 2005, № 39, ст. 3953) постановляю:

1. Утвердить санитарно-эпидемиологические правила СП 3.1.3597-20 «Профилактика новой коронавирусной инфекции (COVID-19)» (приложение).
2. Настоящее постановление действует до 1 января 2021 г.



А.Ю. Попова

3.7. Подтвержденным случаем COVID-19 считается случай с лабораторным подтверждением любым из методов с использованием диагностических препаратов и тест-систем, зарегистрированных в соответствии с законодательством Российской Федерации.

- 3.9. Материалами для лабораторных исследований на COVID-19 являются:
- респираторный материал для исследования методом полимеразной цепной реакции (мазок из носоглотки и ротоглотки и мокрота (при наличии) и/или эндотрахеальный аспират или бронхоальвеолярный лаваж);
  - сыворотка крови для серологического исследования (при использовании иммуноферментного анализа);
  - аутоптаты легких, трахеи и селезенки для посмертной диагностики.

# ВРЕМЕННЫЕ МЕТОДИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ ПРОФИЛАКТИКА, ДИАГНОСТИКА И ЛЕЧЕНИЕ НОВОЙ КОРОНАВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИИ (COVID-19) Версия 9 (26.10.2020)



## Лабораторная диагностика этиологическая:

- ✓ Выявление РНК SARS-CoV-2 с применением МАНК.
- ✓ Выявление антигена SARS-CoV-2 с применением иммунохроматографических методов.
- ✓ Выявление иммуноглобулинов классов А, М, G (IgA, IgM и IgG) к SARS-CoV-2 (в том числе к рецептор-связывающему домену поверхностного гликопротеина S).

## Подтвержденный случай COVID-19

1. Положительный результат лабораторного исследования на наличие РНК SARS-CoV-2 с применением методов амплификации нуклеиновых кислот (МАНК) или антигена SARS-CoV-2 с применением иммунохроматографического анализа вне зависимости от клинических проявлений.
2. Положительный результат на антитела класса IgA, IgM и/или IgG у пациентов с клинически подтвержденной инфекцией COVID-19.



# Тестирование на антитела к вирусу SARS-Cov-2 рекомендуется использовать в следующих случаях:

- – в качестве дополнительного метода диагностики острой инфекции (с учетом серонегативного периода) или при невозможности исследования мазков методом амплификации нуклеиновых кислот, в том числе при госпитализации в стационар по поводу соматической патологии;
- – для выявления лиц с бессимптомной формой инфекции;
- – для установления факта перенесенной ранее инфекции при обследовании групп риска и проведении массового обследования населения для оценки уровня популяционного иммунитета;
- – для отбора потенциальных доноров иммунокомпетентной плазмы.
  
- Лабораторное обследование на IgA, IgM и/или IgG (в отдельных исследованиях или суммарно) к SARS-CoV-2 рекомендуется проводить всем медработникам, которым не проводилось такое исследование ранее или если был получен отрицательный результат. Кратность обследования 1 раз в 7 дней.
- Рекомендуется проводить тестирование всех пациентов, поступающих в медицинские организации для оказания плановой медицинской помощи, на наличие IgA, IgM и/или IgG (в отдельных исследованиях или суммарно) к SARS-CoV-2 с помощью иммунохимических методов диагностики (иммуноферментный анализ, иммунохемилюминесцентный анализа, иммунохроматографический анализ).
- При оценке напряженности поствакцинального протективного иммунитета методом иммуноферментного анализа рекомендуется определение антител к рецептор-связывающему домену (анти-RBD антител).

## ВРЕМЕННОЕ РУКОВОДСТВО ПО ЛАБОРАТОРНОЙ ДИАГНОСТИКЕ COVID-19 В УСЛОВИЯХ ПАНДЕМИИ

Методические рекомендации № 89

### 3.9. Специфическая диагностика сывороточных антител IgM, IgA и IgG к SARS-CoV-2

Серологические исследования целесообразны:

- с диагностическими целями: если ПЦР-исследование не проводилось или дало отрицательный либо неопределенный результат, при сохраняющемся подозрении на COVID-19 (определение IgM, IgG, IgA);
- для оценки уровня антител к вирусу у медицинского персонала, работающего с больными COVID-19 (определение IgM, IgG, IgA);
- в эпидемиологических исследованиях: для обследования популяции с целью определения доли переболевших, перенесших инфекцию без симптомов, не контактировавших с возбудителем (определение IgG);
- при разработке, испытаниях и контроле эффективности вакцин (определение IgG);
- результаты серологических тестов помогают идентифицировать потенциальных доноров реконвалесцентной плазмы (один из методов лечения тяжелых больных COVID-19)

# ВРЕМЕННЫЕ МЕТОДИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ ПРОФИЛАКТИКА, ДИАГНОСТИКА И ЛЕЧЕНИЕ НОВОЙ КОРОНАВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИИ (COVID-19) Версия 9 (26.10.2020)

Определение уровня антител в диагностике COVID-19 позволяет определить различные фазы инфекционного процесса:

- активная фаза — при определении диагностически значимого уровня **IgA** или **IgM** в единственном образце или значимым нарастанием уровня **IgG** в парных сыворотках, взятых с интервалом в 2-4 недели;
- фаза сероконверсии — антитела могут не выявляться в первичном образце и выявляются во взятых через несколько дней образцах;
- фаза реконвалесценции — концентрация **IgA** и **IgM** существенно снижается (падение титра в 2-4 раза) во время выздоровления, при сохраняющихся **IgG** через 2 недели после курса лечения и позднее;
- перенесенная инфекция — персистенция **IgG** без роста его уровня в парных сыворотках и отсутствие **IgA** и **IgM**.

Определение уровня **IgG** в высоких титрах через 4 недели после вакцинации позволяет подтвердить наличие поствакцинального иммунитета.

# ВРЕМЕННЫЕ МЕТОДИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ ПРОФИЛАКТИКА, ДИАГНОСТИКА И ЛЕЧЕНИЕ НОВОЙ КОРОНАВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИИ (COVID-19) Версия 9 (26.10.2020)

## Интерпретация результатов исследований методами амплификации нуклеиновых кислот и определения антител к SARS-CoV-2

Результаты исследования SARS-CoV-2				Интерпретация
РНК	Антиген	IgM/IgA	IgG	
-	-	-	-	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 SARS-CoV-2.

Интерпретация результатов иммунохимических исследований должна проводиться с учетом анамнеза и клинических данных, а также результатов других лабораторных и инструментальных исследований.

# Тестирование на наличие IgA и IgM, а также использование комбинаций различных вирусных антигенов увеличивают прогностическую ценность серологического исследования.



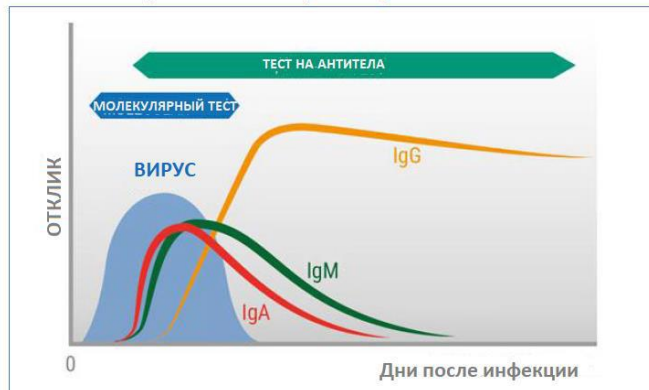
## Алгоритм лабораторного обследования на COVID-19

- 5.1. Алгоритм лабораторного обследования для легких случаев COVID-19 (амбулаторное лечение):
- 5.2. Алгоритм лабораторного обследования для случаев средней тяжести COVID-19 (госпитализация):
- 5.3. Алгоритм лабораторного обследования для тяжелых случаев COVID-19 (госпитализация в ОПИТ):
- 5.4. Алгоритм лабораторного обследования для крайне тяжелых случаев COVID-19:

Серологическое исследование на специфические антитела IgM, IgG, IgA либо суммарные в различных комбинациях к SARS-CoV-2 (тест-система, ориентированная не меньше чем на два белка вируса) (в острую фазу болезни + через 2 недели после острой фазы);

Набор реагентов для определения IgM+IgA антител к SARS-CoV-2 в сыворотке/плазме крови человека методом иммуноферментного анализа "COVID-19 ELISA IgM+IgA", Производитель Vircell, Испания. РЗН 2020/11341 от 16.07.2020.

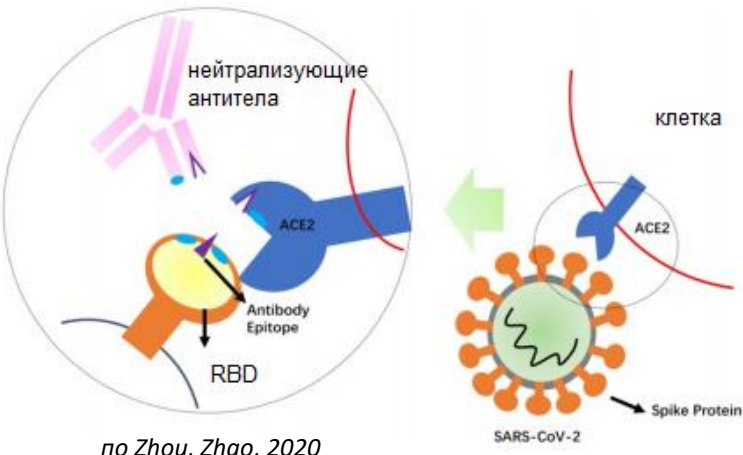
Набор предназначен для совместного определения специфических IgA и IgM антител к поверхностному гликопротеину S (spike) и белку нуклеокапсида (N) SARS-CoV-2.



# Антитела к рецептор-связывающему домену (RBD) S-белка SARS-CoV-2

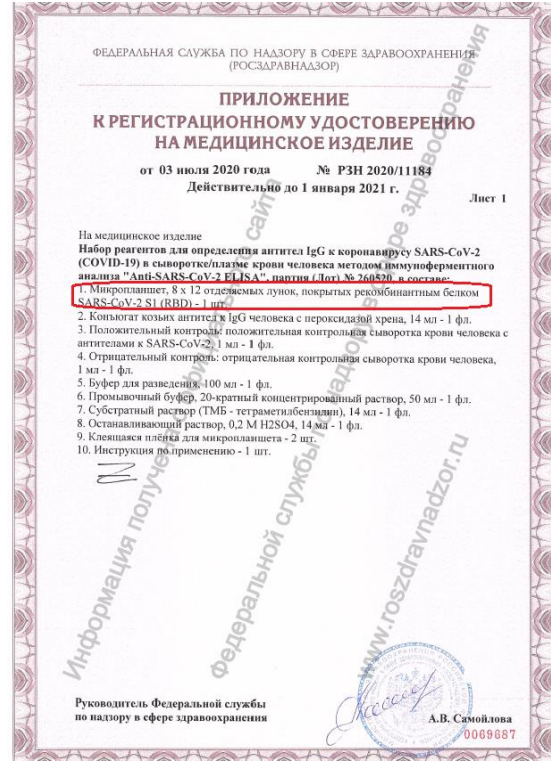
“В многочисленных исследованиях показано, что более 80% вируснейтрализующих антител направлены к рецептор-связывающему домену (RBD) S-белка SARS-CoV-2. При оценке напряженности поствакцинального протективного иммунитета методом иммуноферментного анализа рекомендуется определение антител к рецептор-связывающему домену (анти-RBD антител).”

**ВРЕМЕННЫЕ МЕТОДИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ ПРОФИЛАКТИКА, ДИАГНОСТИКА И ЛЕЧЕНИЕ НОВОЙ КОРОНАВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИИ (COVID-19) Версия 9 (26.10.2020)**



по Zhou, Zhao, 2020

Набор реагентов для определения антител IgG к коронавирусу SARS-CoV-2 (COVID-19) в сыворотке/плазме крови человека методом иммуноферментного анализа «Anti-SARS-CoV-2 ELISA», предназначенный для определения антител IgG к рецептор-связывающему домену белка SARS-CoV-2-S1 (RBD)  
 Производитель Mediagnost, Германия РУ РЗН 2020/11184 от 03.07.2020.  
 Кат.№ E111-IVD  
**Антиген: SARS-CoV-2-S1 рецептор связывающий домен (RBD), полученный в эукариотической системе экспрессии**



# Экспресс-тесты



Экспресс - тест на антитела к SARS-CoV-2 Innovita  
Иммунохроматографический экспресс-тест  
предназначен для качественного определения  
антител IgM и IgG

- Образцы для исследования  
сыворотка, плазма, цельная кровь
  - Время исследования до 15 минут
  - Специфичность -95%
  - Отсутствует перекрестная реакция с  
другими возбудителями ОРЗ
- \*только для использования в медицинских  
учреждениях

«Экспресс-тесты» (иммунохроматографические) нашли широкое применение в местах оказания медицинской помощи, используются в диагностике COVID-19 для качественного выявления антител и указывают только на наличие или отсутствие антител IgM и IgG против SARS-CoV-2. Портативность тест-кассеты и быстрота исполнения (результат в течение нескольких минут) делают эти тесты привлекательными для использования в point-of-care, начиная с 3-го дня появления симптомов заболевания.

Результаты иммунохроматографического теста не должны использоваться в качестве единственного критерия для диагностики инфекции COVID-19

*Временное руководство по лабораторной диагностике COVID-19 в условиях пандемии. МР №89.  
Москва, 2020*

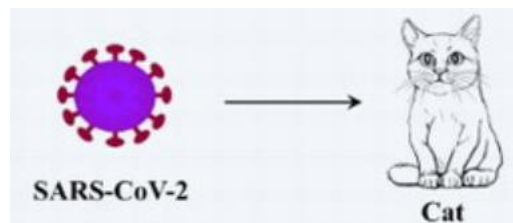
Рекомендуется проводить тестирование всех пациентов, поступающих в медицинские организации для оказания плановой медицинской помощи, на наличие IgA, IgM и/или IgG (в отдельных исследованиях или суммарно) к SARS-CoV-2 с помощью иммунохимических методов диагностики (иммуноферментный анализ, иммунохемилюминесцентный анализа, иммунохроматографический анализ).

# Домашние животные?

- ✓ SARS-CoV-2 плохо реплицируются у собак, свиней, кур и уток, но хорьки и кошки восприимчивы к инфекции.
- ✓ Экспериментально подтверждено - кошки восприимчивы к воздушно-капельному заражению.

*Susceptibility of ferrets, cats, dogs, and other domesticated animals to SARS–coronavirus 2. Shi et al., 2020*

- ✓ У 15/102 кошек (14.7%) обнаружены антитела SARS-CoV-2, у 11/102 (10.8%) обнаружены нейтрализующие антитела
- ✓ Ни в одном из 15 положительных образцов не обнаружено перекрестных реакций с I или II типом вируса кошачьего инфекционного перитонита FIPV (коронавирус кошек).
- ✓ В образцах от 39 кошек, собранные в 2019 году антитела к SARS-CoV-2 отсутствовали.
- ✓ 3 кошки с максимальным уровнем антител к SARS-CoV-2 S (RBD) проживали с хозяевами, больными COVID-19;
- ✓ Уровень антител снижался до неопределяемого в течение 110 дней (так же как и нейтрализующих антител).



*A serological survey of SARS-CoV-2 in cats. Zhang et al., 2020*





2020

# Сезон гриппа и острых респираторных вирусных инфекций

Согласно Постановлению Главного государственного санитарного врача Российской Федерации от 13.07.2020 № 20 "О мероприятиях по профилактике гриппа и острых респираторных вирусных инфекций, в том числе новой коронавирусной инфекции (COVID-19) в эпидемическом сезоне 2020-2021 годов необходимо

- Организовать своевременную и оперативную диагностику заболеваний гриппом, другими острыми респираторными вирусными инфекциями, новой коронавирусной инфекцией (COVID-19), внебольничными пневмониями, определение маршрутизации и объемов оказания медицинской помощи таким больным.
- Организовать проведение мониторинга заболеваемости гриппом и острыми респираторными вирусными инфекциями, внебольничными пневмониями, расшифровку этиологии указанных заболеваний с применением методов быстрой лабораторной диагностики.

*Выявление специфических антител в сыворотках крови выполняют с использованием РТГА, ИФА и РСК. Достоверность результата увеличивается в случае выявления 4-кратного и более нарастания титра специфических антител в парных сыворотках с соблюдением сроков исследования.*

ЗАО БиоХимМак предлагает бесприборный экспресс-тест для качественного выявления антигенов вируса гриппа типа А (включая субтипы H1N1, H2N2, H5N1, H3N3, H3N2...) и типа В в носоглоточных образцах (мазки, смывы, аспираты) и мазках из горла. Производитель Vircell, Испания. № ФСЗ 2010/06375.

- Чувствительность >99%.
- Специфичность >99%.
- Используются мышинные моноклональные антитела.
- Отсутствуют перекрестные реакции с респираторными патогенами, организмами и веществами, встречающимися в носоглоточных образцах (респираторно-синцитиальный вирус, аденовирус).
- Каждый набор содержит положительный контрольный материал (тампон с положительным контролем).

## Информация для заказа

### Наборы для ИХА

256AB VegaI Грипп А + В, антигены в назофарингеальных образцах, 25опр.

256RS VegaI Респираторно-синцитиальный вирус, антиген в назофарингеальных образцах, 25опр.

256AR VegaI Аденовирус, антиген в назофарингеальных образцах, 25опр.

41209 Savyon Респираторно-синцитиальный вирус, антиген в назофарингеальных образцах, 25опр.

256VA VegaI RSV - Аденовирус, антигены в назофарингеальных образцах, 25опр.

256LN VegaI Легионелла (*Legionella pneumophila*), антиген в моче, 25опр.

256SN VegaI Стрептококк *S. pneumoniae* (антиген в моче), 25опр.

### Наборы для ИФА

G/M1007 Vircell IgG/IgM-антитела к вирусу гриппа А, 96опр.

G/M1008 Vircell IgG/IgM-антитела к вирусу гриппа В, 96опр.

### Наборы для иммунофлуоресценции

NSLIDEG Vircell «Pneumo-Slide IgG» (IgG к *Legionella pneumophila* серогруппа 1, *Mycoplasma pneumoniae*, *Coxiella burnetii*, *Chlamydomphila pneumoniae*, аденовирусу, респираторно-синцитиальному вирусу, вирусам гриппа А и В, вирусам парагриппа 1, 2 и 3), метод иммунофлуоресценции, 20опр.

NSLIDEM Vircell «Pneumo-Slide IgM» (IgM к *Legionella pneumophila* серогруппа 1, *Mycoplasma pneumoniae*, *Coxiella burnetii*, *Chlamydomphila pneumoniae*, аденовирусу, респираторно-синцитиальному вирусу, вирусам гриппа А и В, вирусам парагриппа 1, 2 и 3), метод иммунофлуоресценции, 10опр.



ЗАО БиоХимМак  
119992, Москва, Ленинские горы,  
МГУ им. Ломоносова,  
тел. (495) 647-27-40  
www.biochemmack.ru  
e-mail express@biochemmack.ru



# Спасибо за внимание



*Dom McKenzie/The Observer*

**+7 (495) 647-27-40**  
**info@biochemmack.ru**

