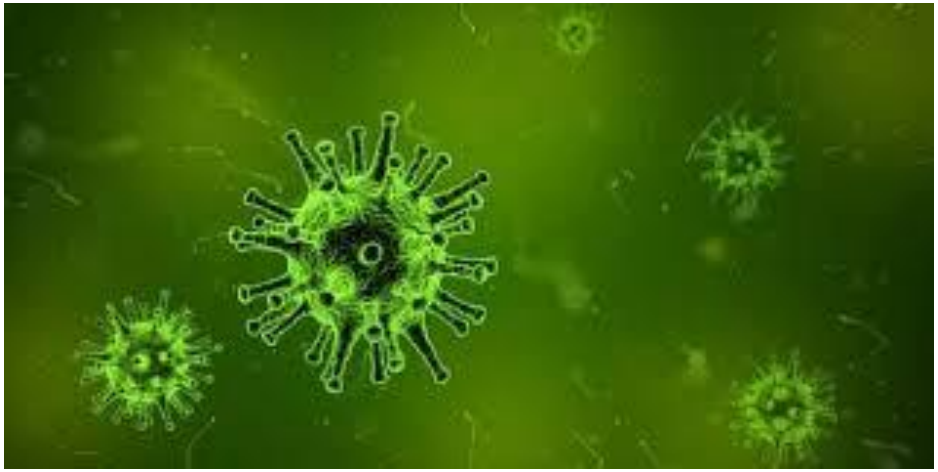
SARS-Cov-2: test, ποια και πως?



Γεώργιος Σουρβίνος

Καθηγητής Κλινικής Ιολογίας, Ιατρική Σχολή Κρήτης

Διευθυντής Εργαστηρίου Κλινικής Ιολογίας ΠΑΓΝΗ

COVID-19

31 Δεκεμβρίου 2019: εμφανίστηκε συρροή κρουσμάτων πνευμονίας

9 Ιανουαρίου 2020 οι υγειονομικές αρχές της Κίνας ανακοίνωσαν ότι πρόκειται για νέο στέλεχος κορωναϊού **2019-nCoV/SARS-Cov-2/COVID-19**

> 3.6 εκατ. κρούσματα, 250.000 θάνατοι, 187 χώρες

vaccines-08-00153-g001.webp

Κορωνοϊοί

Ανακάλυψη: 1960-σήμερα

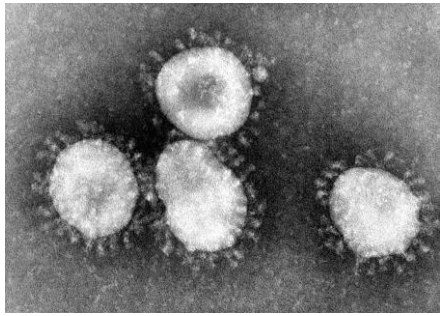
Οικογένεια: Coronoviridae

Γένη: apha-, beta-, gamma-, delta-corona viruses

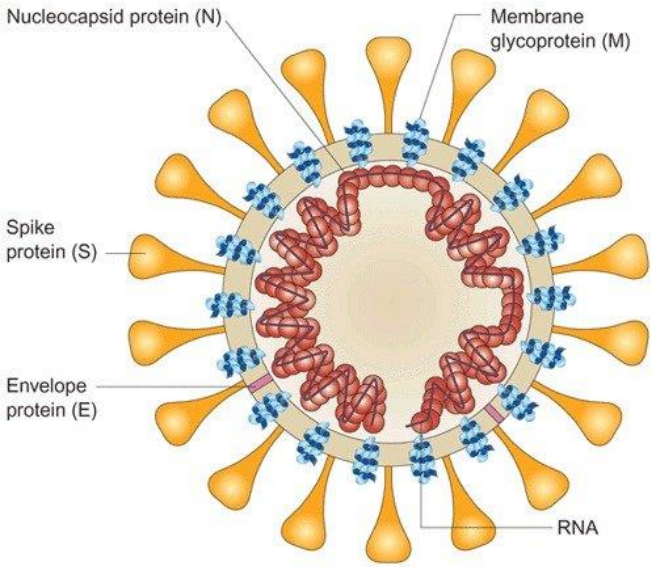
Γονιδίωμα: ssRNA+

Ιοσωμάτιο: 80-220mm

Ορότυποι: 30



Solar corona
Latin: *corona,* ελληνικά: *κορώνη*



Γονιδίωμα RNA: 29,9kb

Laboratory testing for coronavirus disease 2019 (COVID-19) in suspected human cases.

Interim guidance
2 March 2020

World Health Organization

2. Laboratory testing guiding principles for patients who meet the suspect case definition

Rapid collection and testing of appropriate specimens from patients meeting the suspect case definition for COVID-19 is a priority for clinical management and outbreak control and should be guided by a laboratory expert. Suspect cases should be screened for the virus with **nucleic acid amplification tests (NAAT), such as RT-PCR.**

Που ανιχνεύεται ο SARS-Cov-2? Μεταφορά Δείγματος

Ο ιός ανιχνεύεται στα ακόλουθα βιολογικά δείγματα:

Ανώτερο & Κατώτερο Αναπνευστικό Σύστημα

- Ρινοφαρυγγικό επίχρισμα
- Στοματοφαρυγγικό επίχρισμα
- Βρογχοκυψελιδικό έκπλυμα
- Πτύελα
- Σίελος
- Λάρυγγα

Επιπρόσθετα δείγματα

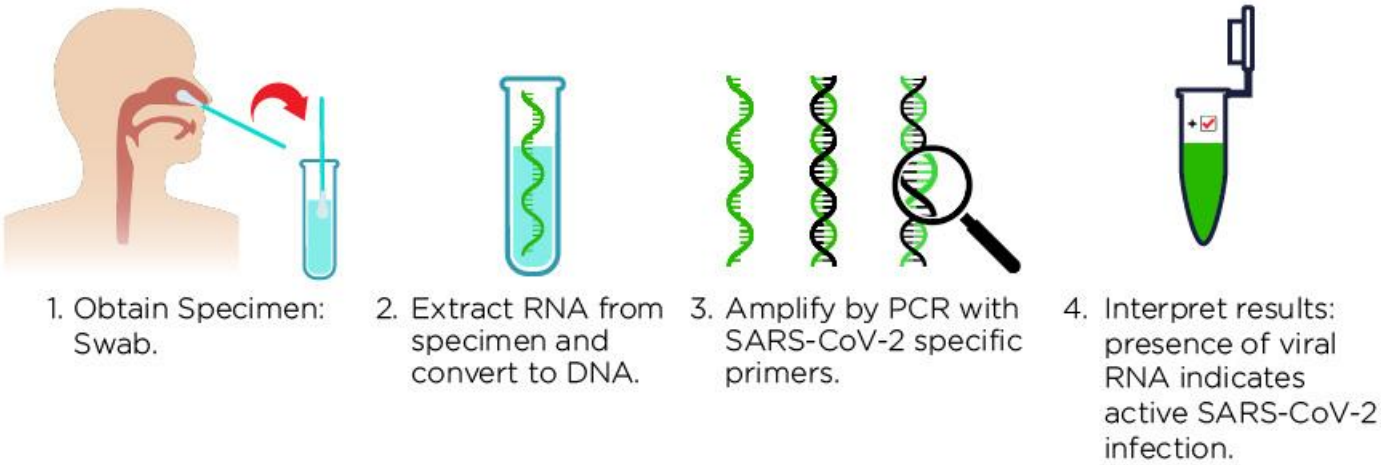
- Κόπρανα
- Αίμα
- Ούρα

Για test σε 24 ώρες, φύλαξη στους 4ºC.
Διαφορετικά, φύλαξη στους −70C

Εργαστήριο Βιοασφάλειας Τάξης ΙΙ (BSL2)

Molecular Tests (Nucleic Acid Detection)

Diagnose active SARS-CoV-2 infections



What does nucleic acid amplification testing reveal?

Nucleic acid amplification tests tell us if a patient is *actively* infected with SARS-CoV-2. They detect the presence of characteristic sequences of SARS-CoV-2 genetic material (RNA) in respiratory samples of patients. If the viral RNA is detected, it suggests that the virus might be present.

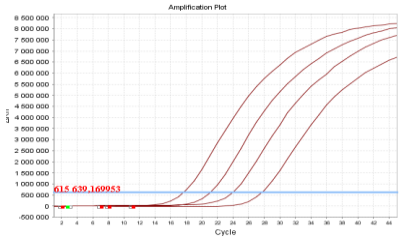
What to do with a positive nucleic acid amplification test?

If you test positive for SARS-CoV-2, you should self-isolate, call your doctor if your symptoms worsen and seek medical help immediately if your condition becomes critical.

Αξιολόγηση αποτελέσματος Real-Time PCR

RNA extraction

Real-Time PCR (amplification)



Αξιολόγηση αποτελέσματος

- QUALITATIVE assay **tested on real samples**
- **High specific detection** targeting ALL the recommended SARS-CoV-2 genes: **RdRp gene, E gene, N gene**
- Specific Interpretation for **the most accurate result**
- Wide range of Samples: alveolar lavage fluid (BAL), nasopharyngeal swabs (NPS), sputum, etc.
- Endogenous Internal control VALIDATE the entire process

RdRP	E	N	Result
+		+	SARS-CoV-2 positive
+	+		
+	+	+	
+			Repeat to confirm Positive
	+	+	

Αυτοματοποιημένες πλατφόρμες

1h

15 min

- Μεγάλος αριθμός τεστ
- Υψηλή ταχύτητα
- Πλήρης αυτοματοποίηση
- Ελαχιστοποίηση χειρισμών & λάθους

- Μεγάλος αριθμός τεστ
- Υψηλή ταχύτητα
- Πλήρης αυτοματοποίηση
- Ελαχιστοποίηση χειρισμών & λάθους

Συνδρομικά τεστ/SARS-CoV-2

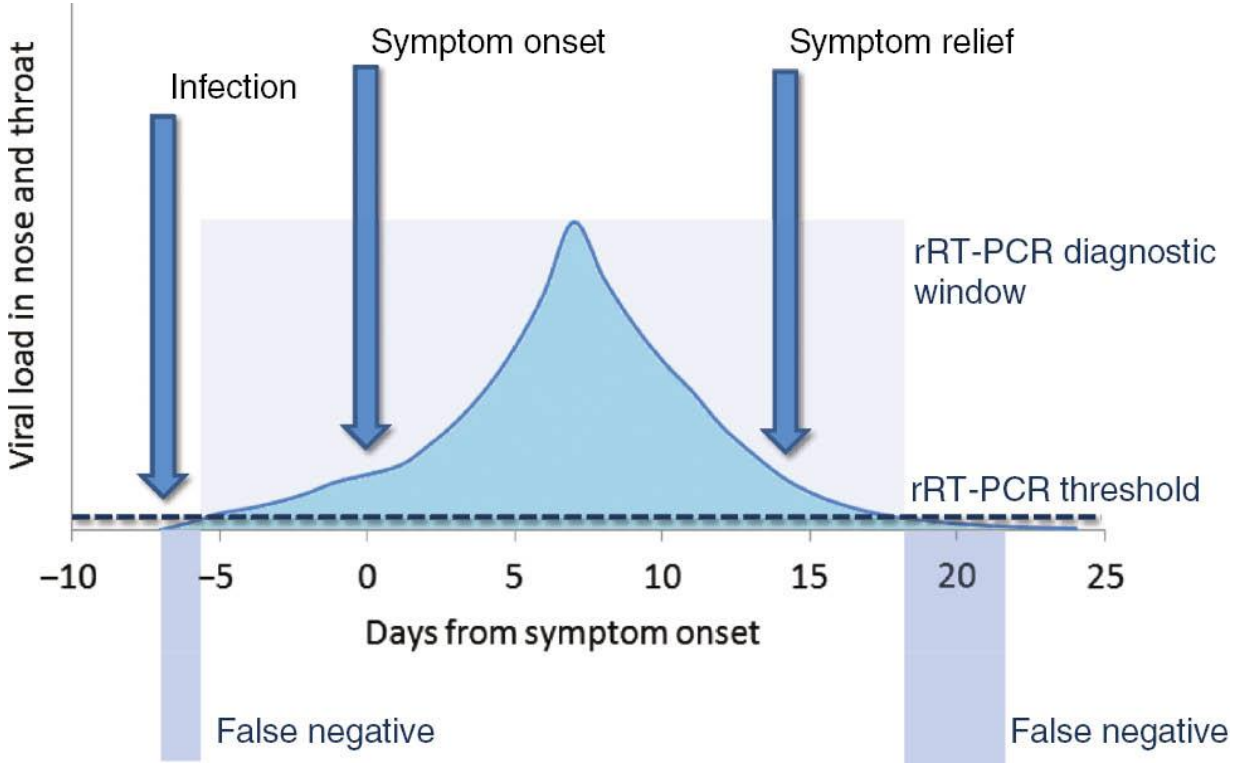
Bacterial

- *Mycoplasma pneumoniae*
- *Legionella pneumophila*
- *Bordetella pertussis*

Viral

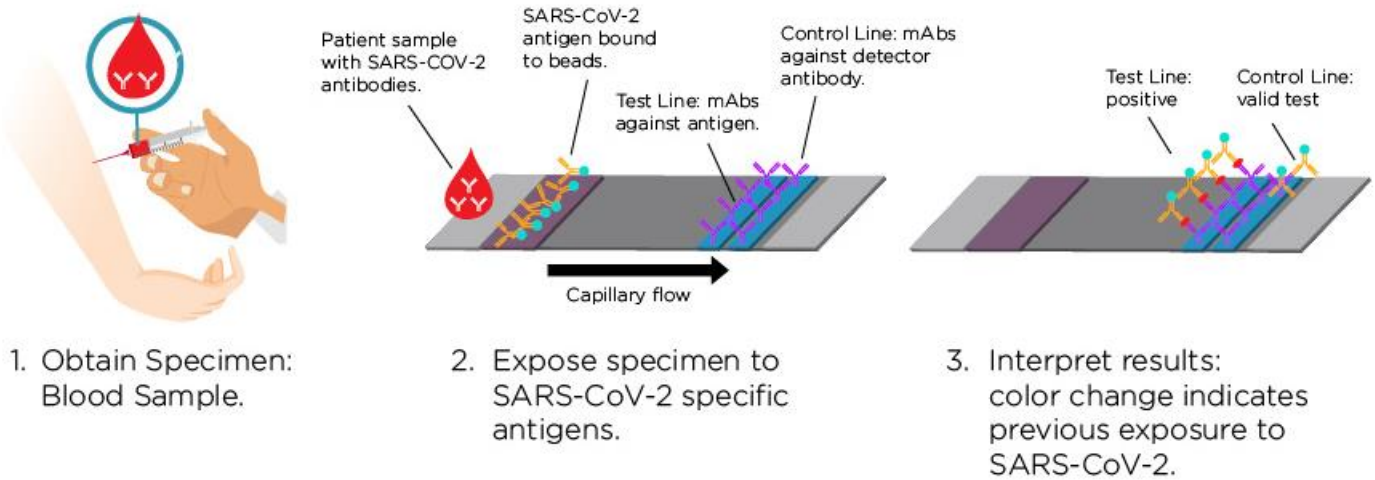
- Influenza A
- Influenza A subtype H1N1/2009
- Influenza A subtype H1
- Influenza A subtype H3
- Influenza B
- Coronavirus 229E
- Coronavirus HKU1
- Coronavirus NL63
- Coronavirus OC43
- Parainfluenza virus 1
- Parainfluenza virus 2
- Parainfluenza virus 3
- Parainfluenza virus 4
- Adenovirus
- Respiratory Syncytial virus A/B
- Human Metapneumovirus A/B
- Bocavirus
- Rhinovirus/Enterovirus
- **2019-nCoV (SARS-CoV-2)**

Correspondence between development of viral load during severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2) infection, clinical course and positivity of (real time) reverse transcription polymerase chain reaction (rRT-PCR) assays.



Antibody Tests (Serology)

Detect immune response to SARS-CoV-2 exposure

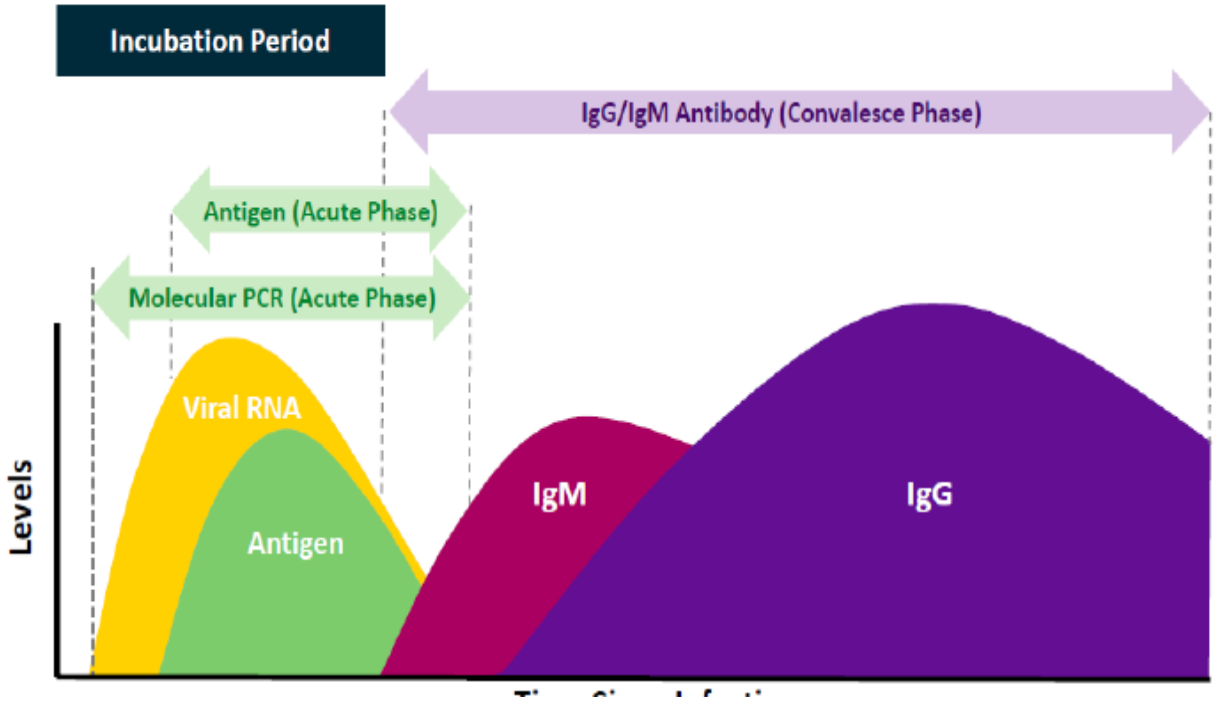


IgA/IgM: αντισώματα οξείας φάσης (ενεργή λοίμωξη)
IgG: αντισώματα παρελθούσας λοίμωξης

Διαγνωστική αξία

- Ανίχνευση ατόμων με ευαισθησία σε λοίμωξη (αρνητικοί για αντίσωμα)
- Ανίχνευση ατόμων με ανοσία (επιστροφή στην εργασία)
- Ανίχνευση ατόμων για εξουδετερωτικά αντισώματα
- Κατάλληλα για επιδημιολογική επιτήρηση και ιχνηλάτησηIgA/IgM

Time course of appearance of anaytes related to SARS-CoV-2 infection and immune response



Windows for the different IVD test methods

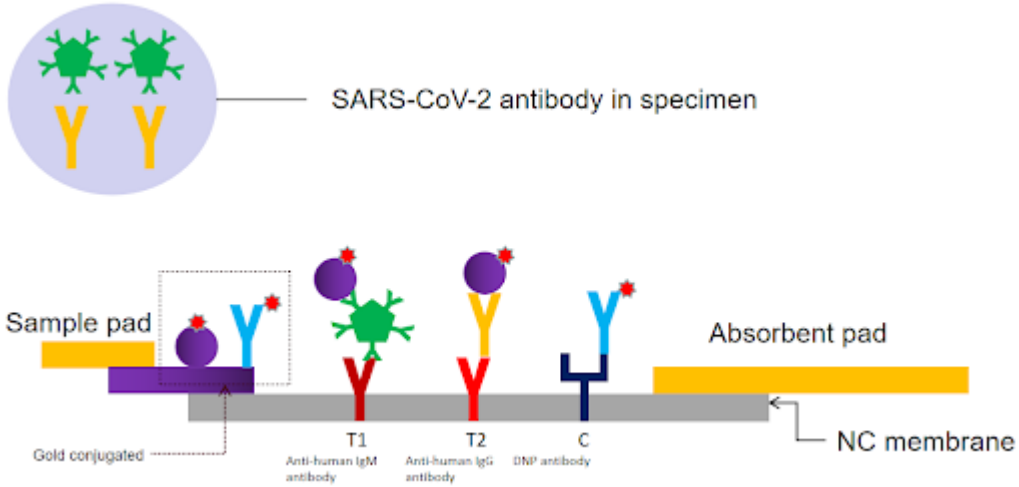
- Seroconversion from negative to positive or a 4-fold rise in antibody titer from acute to convalescent serum indicated recent infection.
- No detection of antibody after 21 days from onset of illness seemed to indicate that no infection with SARS-CoV
- Where a patient has evidence of seroconversion in at least one screening assay and confirmation by a neutralization assay in samples ideally taken at least 14 days apart

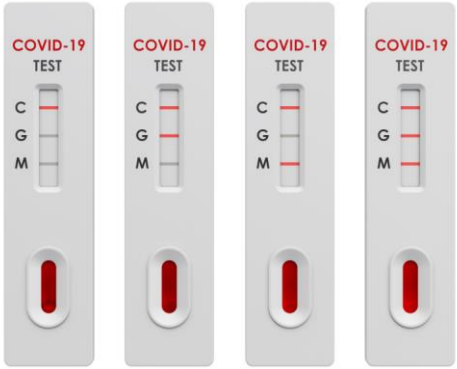
Έλεγχος αντισωμάτων SARS-CoV-2

ELISA
Χημειοφωταύγεια

Ευαισθησία/ειδικότητα
85%-96%

SARS-Cov-2 Spike Rapid Tests





https://www.finddx.org/covid-19/sarscov2-eval-immuno/

ΕΥΧΑΡΙΣΤΩ