

Sérologie COVID-19 a neutralizační potenciál protilátek. Informace o současném stavu

B. Friedecký, J. Kratochvíla

O metodách

Kvantitativní metody stanovení protilátek proti SARS-CoV-2 jsou založeny na imunoanalytickém stanovení s detekcí vzniklého imunokomplexu stanovené protilátky s reagenční protilátkou použitím chemiluminiscenčního, elektroluminiscenčního principu pomocí rutinních, v laboratořích běžně používaných přístrojových platform. Jinou možností je použití metody ELISA.

Kvalitativní průkazy jsou obvykle založeny na vizuální detekci (typu „lateral flow“) vzniklého imunokomplexu s koloidním zlatem.

Základní parametry kvantitativních imunoanalytických měření protilátek proti SARS-CoV-2 (anti-SARS-CoV-2), jsou shrnuty v tabulce 1

Tabulka 1. Shrnutí parametrů detekce a stanovení anti-SARS-CoV-2

Stanovované protilátky	IgG, IgM, IgA, celkové protilátky (TAb)
Vazebné domény	S-protein (spike), N-protein (nucleocapsid)
Kvantitativní jednotky	AU/ml, COI (cut-off index), neharmonizované
Interpretace	Poměr signál/ cut off (signál je výsledek měření v AU/ml nebo COI, cut-off je údaj výrobce)

Tabulka 2 shrnuje diagnostickou roli, pro kterou mohou být sérologická stanovení anti-SARS-CoV-2 využita. Data tabulky jsou převzata z nově publikovaného doporučení AACC pro sérologické testování v rutinních klinických laboratořích (1).

Tabulka 2. Možné použití sérologických vyšetření při diagnóze COVID-19

Podpora diagnostiky COVID 19
Potenciál dárců plasmy k použití pro rekonvalescenci pacientů při léčbě COVID-19
Posouzení epidemiologické situace populace/regionu
Hodnocení imunitní odpovědi po vakcinaci
Hodnocení neutralizační kapacity protilátek pacientů

Při hodnocení sérologických stanovení protilátek u subjektů s negativními a pozitivními testy na COVID-19 byla opakovaně zjišťována vysoká specifčnost, blízká hodnotě 100 %, nižší hodnoty senzitivity (85-90 %), závislost senzitivity na době od nástupu symptomů choroby s minimem potřebné doby cca 20 dní a také znatelné rozdíly mezi použitými metodami a testovanými protilátkami. Shrnutí lze nalézt v práci (2). Geograficky nejbližší program externího hodnocení kvality RfB Německo má název CoVimm a je k dispozici ve formátu 4 vzorky 4x ročně. Kontrolními materiály jsou směsné vzorky krví pacientů s pozitivním nebo negativním výsledkem PCR a taky směsi krví příznakových a asymptomatických pacientů. Vysoká shoda s výsledky PCR je vykazována při detekci IgG nebo celkových protilátek (TAb), u výsledků IgA a IgM je míra shody nižší. Metody stanovení anti-SARS-CoV-2 jsou velmi snadno dostupné v rutinních laboratořích klinické biochemie, neboť se provádějí metodami na běžných a obecně používaných přístrojových platformách (Architect Abbott, Siemens Atellica, Roche Elecsys, Dia Sorin Liaison a další). Kvalitativní proužkové nebo kazetové (lateral flow) metody s vizuální detekcí koloidním zlatem velmi rychle zastaraly a jejich použití je obsoletní.

Anti-SARS-CoV-2 a neutralizační protilátky

Jen část podílu celkových protilátek anti-SARS-CoV-2 má schopnost inaktivovat SARS-CoV-2. Označují se jako neutralizační. Samotná hladina neutralizačních protilátek se stanovuje titračním virus neutralizačním testem (VNT), náročným na provedení a čas. Celkové protilátky však mohou sloužit jako orientační ukazatel stavu neutralizačních protilátek. Podmínkou je výhradní použití kvantitativních metod stanovení (ELISA, chemiluminiscence, elektrochemiluminiscence). Kvalitativní „rychlotečty“ nejsou pro tento účel použitelné. Shoda výsledků anti-SARS-CoV-2 s VNT není ideální a liší se při použití různých metod měření. Na druhé straně jsou téměř všechny rutinní laboratoře klinické biochemie schopny bez problémů hodnoty anti-SARS-CoV-2 na kvantitativní úrovni provádět.

Recentní práce (3, 4, 5, 6, 7) se korelacemi mezi anti-SARS-CoV-2, vakcinací a neutralizačním potenciálem protilátek při použití rutinních metod měření poměrně intenzivně zabývají. V tabulce 3 shrnujeme jejich závěry, pro rutinní laboratoře zásadní. Výše uvedené studie (3-7) testovaly korelace kitů Abbott IgG Architect, DiaSorin

IgG Liason, Roche TAB ElecSys, Siemens Attelica TAB, Siemens Dimension TAB, Euroimun ELISA. IgG, Orion IgG.. Další práce (8) se soustředila na srovnání odhadů neutralizačních potenciálů metod, používajících S-proteinů (DiaSorin, Siemens) a N-proteinů (Roche, Abbott) u pacientů s COVID-19 nepožadujícího hospitalizaci. Závěry autorů jsou v tabulce 3.

Tabulka 3. Zásady použití kvantitativních stanovení anti-SARS-CoV-2 v klinické laboratoři

Přednost mají automatizované kvantitativní metody, na které jsou rutinní laboratoře přístrojově dobře vybaveny
Naprostá nevhodnost kvalitativních rychlometod
Preference metod s certifikátem EUA-FDA
Orientační význam- korelační koeficienty s hodnotami VNP jsou uváděny v intervalu cca $r=0,4-0,75$ a velikosti PPV (pozitivních prediktivních hodnot) dosahují maximálně hodnot těsně pod 80 %
Efektivita odhadu neutralizačního potenciálu je lepší při použití S-proteinu, než N-proteinu

Literatura

1. V. Zhang, J. Wiencek, OH Mang a spol. Recommendation for Implementing SARS-CoV-2 EUA and LTD Serologic Testing in Clinical Laboratories. Clin Chem 2021 <https://doi.org/10.1093/clinchem/hvab051>
2. Bořecká J, Jamriková V, Sojka P a spol. Klin Biochem Metab 2021,29:19-24
3. Dembaji AA, Rajar D, Haymond A. JALM 2021 <https://doi.org/10.1093/jalm/fabo18/616856>
4. Ward MD, Mullins KE, Pickett E a spol. JALM 2021 <https://doi.org/jalm/fabo14/616655>
5. Muller T. Clin Chim Acta 2021 <https://doi.org/10.1016/j.cca/2021.03.007>
6. Subandyvata RT, Hoffman MA, Huang M a spol. Clin Chem 2021,67:404-414
7. Padoan A, Bonfante F, Paglieri M a spol. EBIO Medicine 2020,92:103101
8. Muecksch F, Wise H, Batchelor B a spol. medRxiv 2021 <https://doi.org/10.1101/2020.08.05.20169128>