

Kvantitativní měření a neutralizační kapacita anti-SARS-CoV-2. Stav v srpnu 2021. Krátké sdělení.

Friedecký B.

V půli srpna 2021 bylo registrováno v Medline více než 9000 publikací na téma protilátky SARS-CoV-2 a cca 2500 na téma "neutralizační protilátky" u SARS-CoV-2. V červenci 2021 vydala ČSAKI (Česká společnost alergologie a klinické imunologie) pokyny k aplikaci stanovení anti SARS-CoV-2 [1]. Textu doporučení chybí jakýkoliv údaj o analytických a klinických vlastnostech metod stanovení. Z celého textu podle mého názoru výrazně vyniká jeho prvotní účel - zrovnoprávnění populace plně vakcinovaných jedinců s těmi, kteří COVID-19 již prodělali. Jenže dělat zásadní závěry z výsledků měření a neznat současně jeho potřebné analytické a klinické vlastnosti (preciznost, harmonizaci jednotek, validační postupy, senzitivitu, specifčnost, korelaci s neutralizačními protilátkami) je v naší době velmi zvláštní a dalo by se říci zcestné.

K vyjasnění situace informujeme o doporučení AACCC (Americká asociace klinické chemie), publikovaném v časopise *Clinical Chemistry* 2021 [2]. Zde uvedeme strukturu publikace:

- Antigenní proteiny a vazebná místa
- Třídy protilátek SARS-CoV-2
- Kinetika tvorby protilátek
- Diagnostické testy typu EUA (prozatímní certifikáty FDA)
- Možnost aplikace a limity sérologických stanovení u COVID-19
- Vztah protilátek k diagnostice COVID-19
- Protilátky u dárců plasmy
- Epidemiologie a sérokonverze
- Odpověď po vakcinaci
- Verifikace metod
- Odběr vzorků
- Zacházení s PCR pozitivními a negativními vzorky
- Analytické veličiny měření (preciznost, správnost)
- Vydávání výsledků jako poměru signál/cut-off
- Požadavky akreditace
- Analytická senzitivita a specifčnost
- Stanovení hodnot cut-off
- Kontrola kvality
- Preanalytické podmínky a požadavky
- Klinická interpretace (PPV, NPV)
- Perspektivy standardizace

Jde tedy o řadu zásadních informací, které rozhodují o možnosti popsat epidemiologickou situaci populace relevantním způsobem. Materiál je vypracován na naše poměry velmi důkladně, což není podle mého názoru na závadu, spíš jde o solidní východiska k další práci a diskusím (zejména u kulatých stolů).

Existuje řada recentních studií o korelaci stanovení anti-SARS-CoV-2 IgG s jejich neutralizačním potenciá-

lem. V současnosti je vyhodnocení této korelace možné demonstrovat například pro kity a platformy Abbott, DiaSorin, Roche, Ortho Vitros [3], SNIBE Maglumi [4], Siemens Advia [5]. 16 různých sérologických stanovení bylo vyhodnoceno v dánské práci [6] a její data uvedena v Tabulce 1.

Možnosti a limity solidní výpovědní hodnoty a smysluplné klinické interpretace výsledků měření anti-SARS-CoV-2 IgG jsou dány zejména:

- Dobrou úroveň výsledků validace analytických a klinických parametrů, tedy preciznosti, linearitu, senzitivity a specifčnosti vyhovujícím požadavkům CDC (klíčovým požadavkem je senzitivita nad 90 %, specifčnost nad 95 %)
- Korelací výsledků anti SARS-CoV-2 s neutralizačním potenciálem. Ta je u různých diagnostik různá v závislosti na principu detekce RBD (S-protein, N-protein jako cílové antigeny), na tom, co je měřeno (celkové protilátky, IgG, IgM) a na níže uvedeném problému jednotek měření
- Možnost obecného použití anti SARS IgG a celkových protilátek k odhadu neutralizační aktivity je přijímaná řadou autorů a v řadě publikací. Vyšší koncentrace anti SARS-CoV-2 znamenají vyšší neutralizační potenciál.
- Spermanův korelační koeficient mezi anti SARS-CoV-2 a PRNT 50 se u různých metod pohybuje v rozmezí cca 0,6-0,85
- Závislost korelace mezi anti SARS-CoV-2 a neutralizační aktivitou (vyjadřovanou hodnotou PRNT 50) je signifikantně závislá zejména na době nástupu symptomů chorob a na závažnosti choroby, ale ne již na pohlaví, věku a dalších faktorech, takže není nezbytné používat k výpočtu korelace multivariantních postupů.

K posouzení kvality stanovení protilátek IgG jsou svou přístupností k dispozici zejména data kontrolního programu RfB Bonn CoVimm. Úspěšnost účastníků ve všech čtyřech vzorcích, dodávaných v jednom kontrolním cyklu se v letech 2020-2021 pohybovala u stanovení anti-SARS-CoV-2 IgG a celkových protilátek v intervalu 78 – 97 %. Používá se zatím kvalitativního hodnocení vzorků nativních sér vybraných pacientů. Situace, kdy se kvalitativně hodnotí výsledky kvantitativních metod, vypovídá o stavu harmonizace jednotek měření jasně. Vyšší hodnotu úspěšnosti vykazaly cykly s větším počtem vzorků s výraznějšími klinickými symptomy COVID-19 ("oligosymptomatic samples").

Takže i podle výsledků EHK je zřejmé, že kvalita stanovení není bez problémů. Velký problém kvantifikace výsledků souvisí s neexistující harmonizací jednotek měření. Pregnantní demonstraci této disharmonické si-

tuace lze pozorovat velmi přehledně v práci, srovnávající šestnáct kitů v šestnácti laboratořích [6].

Výrazné diference v použitých cílových antigenech, v hodnotách senzitivit a specifit, obzvláště výrazné diference v jednotkách měření a podstatně rozdílné kinetiky tvorby protilátek v závislosti na čase odběru a na stupni choroby (Tabulka 1) kvantitativní výsledky silně problematizují. Numerické hodnoty cut-off vyjádřené různými výrobci v cca šesti různých jednotkách jsou o jeden řád rozdílné.

Závěrečné poznámky

Dva zásadní problémy jsou v tomto krátkém sdělení zdůrazněny. První se ptá, zda jsou současné kvantitativní měření anti-SARS-CoV-2 skutečně kvantitativní v pravém slova smyslu a zda samotné metody stanovení anti SARS-CoV-2 nevyžadují naléhavě harmonizaci. Druhý se snaží naznačit, že doporučení, postrádající náležitá data o validaci analytických a klinických parametrů stanovení nejsou dostačující a že při publikování klinických doporučení by data o validaci měla být jejich samozřejmou součástí.

Table 1. Summary of selected characteristics of 16 kits for determination of anti-SARS-CoV-2 in August 2021 [6]

Measurement	IgG,total antibodies, IgM
Target antigen	RBD S, N protein
Producer	Abbott,Siemens, DiaSorin, Roche, Euroimmun, Wantai, Snibe
Platforms	Atellica, Architect, Alinity, Liaison, Maglumi, Elecsys, Dimension Vista, iFLASH, ELISA
Measurement units	COI, S/C, S/CO, S/CON, AU/mL, kU/L

Explanation: S/C -signal/calibrator, S/CO-signal/cut-off, S/CON-signal/control, AU/mL, kU/L-quantitative units

Literatura

1. **CSAKI.** Indikace k vyšetření protilátek proti SARS-CoV-2. Dostupné z: <https://www.csaki.cz>.
2. **Zhang, V., Wiencek, J., Meng, Q. H. et al.** AACC practical recommendation for implementing and interpretation SARS-CoV-2 EUA and LDT serologic testing in clinical laboratories. *Clin. Chem.*, 2021, 67(9), s. 1188-1200.
3. **Padoan, A., Bonifate, F., Pagliari, M. et al.** Analytical and clinical performances of five immunoassays for the detection of SARS-CoV-2 antibodies in comparison with neutralization activity. *EBioMed.*, 2020, 62, 103101.
4. **Padoan, A., Bonifate, F., Cosma, C. et al.,** Analytical and clinical performances of a SARS-CoV-2 S-RBD IgG assay: comparison with neutralization titers. *Clin. Chem. Lab. Med.*, 2021, 59(8), s. 1444-1452.
5. **Irsara, C., Eggerm A. E., Prokopp, W.** Clinical validation of the Siemens quantitative SARS-CoV-2 spike IgG assay reveals improved sensitivity and good correlation with virus neutralization titers. *Clin. Chem. Lab. Med.*, 2021, 59(8), s. 1453-1462.
6. **Haratshoj, L. H., Gytel-Brask, M., Atzal, S. et al.** Comparison of 16 serological SARS-CoV-2 Immunoassays in 16 laboratories. *J Clin. Microbiol.*, 2021, 59(5), e02596-20.

Autor prohlašuje, že není ve střetu zájmů.

Do redakce došlo 13. 9. 2021

Adresa pro korespondenci
RNDr Bedřich Friedecký, Ph.D.
Praha 8
Střelnická 1680
e-mail: friedecky@sekk.cz