

SARS-CoV-2 serologinių tyrimų naudojimo rekomendacijos

Sudaryta gegužės 29 d. 2020

Versija Nr. 1

Rekomendacijas rengė:

Gyd. Tumas Beinortas, Prof. Laimonas Griškevičius, Prof. Auksė Mickienė, Prof. Ligita Jančorienė

PRINCIPAI

- Rekomendacijos galioja validuotiems AMP IgM/IgG Rapid Test ir Euroimmun IgG ELISA tyrimams. Jeigu nepriklausomai validuoto kito serologinio testo tikslumo duomenys yra panašūs į pateiktuosius ar geresni (specifiškumas >99,4 proc., jautrumas >92,0 proc.), ši rekomendacija gali būti taikoma ir jų naudojimui.
- Kokybiniam atsakymo vertinimui (susidarė antikūnai ar ne) gali būti naudojami greitieji AMP IgM/IgG Rapid Test arba ELISA IgG testai. Kiekybinio atsakymo vertinimui (susidariusi antikūnų koncentracija) gali būti naudojami tik ELISA IgG testai.
- Jeigu iš anksto žinoma, kad asmens tikimybė sirgti COVID-19 buvo maža, ir gaunamas teigiamas vien serologinio tyrimo rezultatas, teigiamam rezultatui patvirtinti tikslinga atlikti kito tipo serologinį testą.
- Testo interpretacija priklauso nuo ligos paplitimo arba tikimybės, kad asmuo sirgo COVID-19 (lentelė Nr. 2)

Serologinių tyrimų rezultatai parodo:

- Ar asmuo yra anksčiau susidūręs su SARS-CoV-2
- Ar SARS-CoV-2 užsikrėtusiam asmeniui susidarė antikūnai (t. y. įvyko serokonversija)
- ELISA tipo testai gali būti naudojami specifinių antikūnų prieš SARS-CoV-2 kraujyje kiekiui nustatyti

Serologinių tyrimų rezultatai neparodo:

- Ar asmuo yra šiuo metu užsikrėtęs SARS-CoV-2
- Ar asmuo yra apsaugotas nuo pakartotinės infekcijos
- Kiek laiko asmuo jau turi ar turės antikūnus
- Ar asmuo gali saugiai grįžti į darbą ir nesilaikyti asmens apsaugos priemonių

Testų tikslumas

Praėjus 14 ir daugiau dienų nuo simptomų pradžios Euroimmun ELISA IgG ir AMP IgM/IgG Rapid Test jautrumas ir specifiškumas yra identiški¹:

- Jautrumas 92,0 proc. (95 proc. pasikliautinis intervalas 81,2-96,9 proc.)
- Specifiškumas 99,4 proc. (95 proc. PI 96,6 – 99,9 proc.)

Praėjus mažiau nei 14 dienų nuo simptomų pradžios abiejų testų jautrumas yra 20-30 proc..

Serologinių tyrimų naudojimas buvusiam SARS-CoV-2 užsikrėtimui nustatyti, serpkonversijai patvirtinti ir diagnozei pavirtinti

1. Asmeniui, kuris turėjo peršalimo arba virusinės infekcijos simptomus (kad ir švelnius) arba tiesioginį kontaktą su patvirtintu COVID-19 atveju prieš 14 ir daugiau dienų, teigiamas serologinio testo atsakymas reiškia didelę buvusios SARS-CoV-2 infekcijos tikimybę, tačiau neatmeta ir esamos infekcijos tikimybės.
2. Asmeniui, neturėjusiam simptomų arba žinomos ekspozicijos COVID-19 atveju, teigiamo serologinio testo rezultato interpretacija labai priklauso nuo ligos paplitimo (žr. lentelę Nr. 2). Siekiant sumažinti klaidingai teigiamų atsakymų dažnį, teigiamą serologinio testo atsakymą rekomenduojama patvirtinti kitos rūšies serologiniu tyrimu.
3. Serologinis testas gali būti naudojamas serokonversijai patvirtinti asmenims su teigiamu SARS-CoV-2 PGR testu (pvz. konvalescentinės plazmos donorams)
4. Situacijose, kuomet kliniškai įtariama COVID-19 infekcija, bet pakartotini SARS-CoV-2 PGR testai neigiami, serologiniai tyrimai gali patikslinti diagnozę.

Interpretuojant serologinių testų rezultatus, vadovautis lentelėmis Nr. 1 ir Nr. 2.

2020 m. gegužės mėn. tyrimų duomenimis, tikėtina, kad COVID-19 infekcija Lietuvoje persirgo ne daugiau 3 proc. gyventojų.

1 lentelė. ELISA IgG arba AMP greitojo SARS-CoV-2 IgM/IgG antikūnų testo interpretacija.

Klinikinė būklė	Serologinio testo atsakymas	Klinikinė interpretacija*	
		< 14 dienų nuo simptomų pradžios	≥14 dienų nuo simptomų pradžios
Asmuo su COVID-19 simptomais	Neigiamas	Be SARS-CoV-2 PGR rezultatų testas nevertintinas. Atlikti SARS-CoV-2 PGR	Tikėtina, kad pacientas neserga ir nesirgo COVID-19.** Galimas klaidingai neigiamas atsakymas, ypač imunosupresuotiems asmenims
	Teigiamas	Pacientas yra persirgęs arba serga COVID-19. Maža klaidingai teigiamo tyrimo atsakymo tikimybė.	
Asmuo be COVID-19 simptomų	Neigiamas	Asmuo neužsikrėtęs SARS-CoV-2 prieš daugiau nei 14 dienų [žr. 2 lentelę]. Neigiamas rezultatas neatmeta dabartinio užsikrėtimo SARS-CoV-2.	
	Teigiamas	COVID-19 paplitimas <10 proc.: asmuo buvo užsikrėtęs SARS-CoV-2, kai kitos rūšies serologinis tyrimas taip pat teigiamas. COVID-19 paplitimas >10 proc.: asmuo buvo užsikrėtęs SARS-CoV-2. [žr. 2 lentelę].	

*Ūminės infekcijos diagnostikos metu indikuotinas SARS-CoV-2 PGR tyrimas.

**Jeigu serologinis testas naudojamas serokonversijai patvirtinti arba diagnozei patikslinti, gavus neigiamą serologinio tyrimo atsakymą, tyrimą rekomenduojame kartoti po 7 ar daugiau dienų.

2 lentelė. COVID-19 infekcijos tikimybė pagal ligos paplitimą, naudojant validuotus Euroimmun ELISA IgG ar AMP IgM/IgG Rapid Test (naudoti atvejams, kai asmuo simptomų neturėjo)

COVID-19 paplitimas ARBA klinikinė COVID-19 infekcijos tikimybė	Jeigu testas teigiamas, tikimybė kad pacientas sirgo COVID-19 (teigiama prognostinė vertė)	Jeigu testas neigiamas, tikimybė, kad pacientas sirgo COVID-19 (neigiama prognostinė vertė)
0,1 proc.	11,40 proc.	99,99 proc.
0,5 proc.	27,90 proc.	99,97 proc.
1 proc.	39,25 proc.	99,95 proc.
3 proc.	56,50 proc.	99,90 proc.
5 proc.	79,91 proc.	99,69 proc.
10 proc.	87,12 proc.	99,47 proc.
20 proc.	93,46 proc.	98,89 proc.
30 proc.	96,98 proc.	97,54 proc.
50 proc.	98,22 proc.	95,86 proc.

Serologinių testų naudojimas seroepidemiologiniams tyrimams

- Tiek AMP IgM/IgG Rapid Test, tiek Euroimmun IgG testų specifiškumas validacijos tyrime buvo 99,4 proc. (95 proc. PI 96,6 – 99,9 proc.), t.y. iki 3,4 proc. su COVID-19 infekcija nesusidūrusių neturėjusių pacientų serologinio tyrimo atsakymai gali būti klaidingai teigiami.
- Seroepidemiologinių tyrimų paplitimo rezultatams turi būti taikoma testo specifiškumo ir jautrumo korekcija.
- Jeigu tiriamosios populiacijos tikrasis persirgimas COVID-19 infekcija yra mažesnis negu klaidingai teigiamų serologinio tyrimo atsakymų dažnis, tyrimas gali neatskleisti tikrojo paplitimo arba jį pervertinti.
- Esant mažam ligos paplitimui tiriamojoje populiacijoje, atliekamo serologinio tyrimo teigiama prognostinė vertė (TPV) yra žema (Žr. 2 lentelę). Pavyzdžiui, jeigu tikrasis persirgimo COVID-19 infekcija paplitimas tiriamojoje populiacijoje yra 0,5 proc., teigiamo testo atveju yra 28 proc. tikimybė, jog asmuo buvo išties susidūręs su SARS-CoV-2. Jeigu ligos paplitimas 30 proc. - teigiamo atsakymo atveju yra 97 proc. tikimybė, jog asmuo išties susidūrė su SARS-CoV-2.
- Siekiant padidinti serologinio tyrimo TPV ir maksimaliai sumažinti klaidingai teigiamų atsakymų dažnį rekomenduojame (t. p. žr. 1 lentelę „Asmuo be COVID-19 simptomų“):
 - Seroepidemiologinius tyrimus prioritetine tvarka atlikti populiacijose turinčiose didelę prieštestinę susidūrimo su COVID-19 infekcija tikimybę IR/ARBA
 - Teigiamą atvejį patvirtinti kito tipo serologiniu testu. Tokiu būdu būtų sumažinamas klaidingai teigiamų atvejų skaičius.

Dabartinės imuninio atsako į SARS-CoV-2 mokslinės žinios Informacija atnaujinta gegužės 29 d.

- Žmogui, užsikrėtus SARS-CoV-2, vidutinis laiko tarpas nuo užsikrėtimo iki simptomų pasireiškimo pradžios yra 5 dienos.²
- Virulentiškas virusas, galintis sukelti COVID-19 infekciją, labiausiai platinamas likus 2 dienom iki simptomų pradžios ir iki 7-10 dienų po simptomų pradžios.³⁻⁵
- Kinijoje visiems hospitalizuotiems COVID-19 infekcija užsikrėtusiems ir simptomų turintiems pacientams IgM arba IgG antikūniai buvo aptikti praėjus 19 dienų po simptomų pradžios. Praėjus 13 dienų nuo simptomų pradžios, tik 50 proc. pacientų buvo susidarę IgM arba IgG antikūniai.⁶
- Ankstyvoje serokonversijos fazėje sunkesne ligos forma sergantiems asmenims susiformuoja aukštesni IgG antikūnų titrai negu sergantiems švelnesne forma. Vėlesnėje serokonversijos fazėje antikūnų titrai tarp šių grupių supanašėja.⁶
- SARS-CoV-2 IgG antikūnai dažniausiai susidaro anksčiau negu IgM antikūniai, o kartais pastarieji išvis nėra aptinkami.^{6,7}
- Nuo 18 iki 75 proc. SARS-CoV-2 užsikrėtusių asmenų simptomai nepasireiškia.⁸⁻¹⁰
- Antikūnų atsakas gali susiformuoti ir niekada COVID-19 infekcijos simptomų neturėjusiems asmenims, tačiau lieka neaišku, kokiai besimptomų asmenų daliai tai įvyksta.¹¹
- Kinijoje tik 1 iš 5 teigiamą SARS-CoV-2 PGR testą turėjusiam besimptomiam pacientui ilgainiui buvo aptikta serokonversija.¹² Tuo tarpu, serokonversija įvyko ir buvo aptikta visiems simptomus turėjusiems asmenims.¹²
- Laboratorinėmis sąlygomis, susidariusių antikūnių titras prieš SARS-CoV-2 S baltymą tiesiogiai koreliuoja su *in vitro* viruso neutralizacija.¹³⁻¹⁵
- Šiuo metu nėra klinikinių duomenų pagrindžiančių, jog antikūnų aptikimas serologiniu testu arba tam tikras antikūnų kiekis apsaugo nuo pakartotinės SARS-CoV-2 infekcijos. Taip pat nėra klinikinių duomenų, kurie įrodytų, jog aptinkami antikūnai neapsaugojo nuo pakartotinės infekcijos.
- Antikūnai prieš S2 spyglio domeną ir nukleokapsidės (N) baltymą susidaro ir sezoninių žmogaus koronaviruso infekcijų atvejais bei gali duoti kryžminį reaktyvumą šiuos antigenus turinčiuose SARS-CoV-2 serologiniuose tyrimuose (t.y. sumažina šių tyrimų specifiškumą).¹⁶ Antikūnai prieš spyglio RBD domeną yra labai specifiški.¹⁶
- Užsikrėtus sezoniniu koronavirusu susidarę anti-N ir anti-S1 antikūnai laboratorinėmis sąlygomis panašiai efektyviai neutralizuoja SARS-CoV-2 viruso prototipą kaip ir COVID-19 infekciją turėjusių asmenų plazma.¹⁶
- Šiuo metu nežinoma ilgalaikė aptinkamų anti-SARS-CoV-2 antikūnų dinamika.

1. D Naumovas, I Kučinskaitė-Kodžė, A Sližienė, M Paulauskas, V Jaraminė, R Petraitytė-Burneikienė, A Žvirblienė. Greitųjų serologinių testų patikimumo tyrimas. Gegužės 20 d. 2020
2. Stephen A. Lauer, Kyra H. Grantz, Qifang Bi, Forrest K. Jones, Qulu Zheng, Hannah R. Meredith, Andrew S. Azman, Nicholas G. Reich, and Justin Lessler. The Incubation Period of Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) From Publicly Reported Confirmed Cases: Estimation and Application *Annals of Internal Medicine* 2020 172:9, 577-582
3. Wölfel, R., Corman, V.M., Guggemos, W. *et al.* Virological assessment of hospitalized patients with COVID-2019. *Nature* (2020). <https://doi.org/10.1038/s41586-020-2196-x>
4. He, X., Lau, E.H.Y., Wu, P. *et al.* Temporal dynamics in viral shedding and transmissibility of COVID-19. *Nat Med* 26, 672–675 (2020). <https://doi.org/10.1038/s41591-020-0869-5>
5. Position Statement from the National Centre for Infectious Diseases and the Chapter of Infectious Disease Physicians, Academy of Medicine, Singapore (Gegužės 23 d., 2020). Internetinė prieiga: [https://www.ams.edu.sg/view-pdf.aspx?file=media proc.5c5556_fi_331.pdf&ofile=Period+of+Infectivity+Position+Statement+\(final\)+23-5-20+\(logos\).pdf](https://www.ams.edu.sg/view-pdf.aspx?file=media%20proc.5c5556_fi_331.pdf&ofile=Period+of+Infectivity+Position+Statement+(final)+23-5-20+(logos).pdf) [Profesinis pareiškimas paremtas dar mokslinio straipsnio pavidalu nepublikuotais duomenimis]
6. Long, Q., Liu, B., Deng, H. *et al.* Antibody responses to SARS-CoV-2 in patients with COVID-19. *Nat Med* (2020). <https://doi.org/10.1038/s41591-020-0897-1>
7. KK-W To, OT-Y Tsang, W-S Leung, *et al.* Temporal profiles of viral load in posterior oropharyngeal saliva samples and serum antibody responses during infection by SARS-CoV-2: an observational cohort study. *Lancet Infect Dis* (2020). [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(20\)30196-1](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(20)30196-1)
8. MizumotoK, KagayaK, ZarebskiA, ChowellG. Estimating the asymptomatic proportion of coronavirus disease 2019 (COVID-19) cases on board the Diamond Princess cruise ship, Yokohama, Japan, 2020. *Eurosurveillance*, 25, 2000180 (2020). Internetinė prieiga: <https://doi.org/10.2807/1560-7917.ES.2020.25.10.2000180>
9. Gudbjartsson DF, Helgason A, Jonsson H, *et al.* Spread of SARS-CoV-2 in the Icelandic Population. *N Engl J Med*. 2020 Apr 14. doi: 10.1056/NEJMoa2006100
10. Day Michael. Covid-19: identifying and isolating asymptomatic people helped eliminate virus in Italian village *BMJ* 2020; 368 :m1165
11. Hains DS, Schwaderer AL, Carroll AE, *et al.* Asymptomatic Seroconversion of Immunoglobulins to SARS-CoV-2 in a Pediatric Dialysis Unit. *JAMA*. Published online May 14, 2020. doi:10.1001/jama.2020.8438
12. Zhang Yongchen, Han Shen, Xinning Wang, Xudong Shi, Yang Li, Jiawei Yan, Yuxin Chen & Bing Gu (2020) Different longitudinal patterns of nucleic acid and serology testing results based on disease severity of COVID-19 patients, *Emerging Microbes & Infections*, 9:1, 833-836, DOI: 10.1080/22221751.2020.1756699
13. Position Statement from the National Centre for Infectious Diseases and the Chapter of Infectious Disease Physicians, Academy of Medicine, Singapore (Gegužės 23 d., 2020). Internetinė prieiga: [https://www.ams.edu.sg/view-pdf.aspx?file=media proc.5c5556_fi_331.pdf&ofile=Period+of+Infectivity+Position+Statement+\(final\)+23-5-20+\(logos\).pdf](https://www.ams.edu.sg/view-pdf.aspx?file=media%20proc.5c5556_fi_331.pdf&ofile=Period+of+Infectivity+Position+Statement+(final)+23-5-20+(logos).pdf) [Profesinis pareiškimas paremtas dar mokslinio straipsnio pavidalu nepublikuotais duomenimis]
14. Amanat, F., Stadlbauer, D., Strohmeier, S. *et al.* A serological assay to detect SARS-CoV-2 seroconversion in humans. *Nat Med* (2020). <https://doi.org/10.1038/s41591-020-0913-5>
15. KK-W To, OT-Y Tsang, W-S Leung, *et al.* Temporal profiles of viral load in posterior oropharyngeal saliva samples and serum antibody responses during infection by SARS-CoV-2: an observational cohort study. *Lancet Infect Dis* (2020). [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(20\)30196-1](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(20)30196-1)
16. Kevin Ng, Nikhil Faulkner, Georgina Cornish *et al.* Pre-existing and de novo humoral immunity to SARS-CoV-2 in humans. *bioRxiv* 2020.05.14.095414; doi: <https://doi.org/10.1101/2020.05.14.095414> [Nerecenzuotas straipsnis]
17. Centres for Disease Control and Prevention. COVID-19 Serology Surveillance Strategy (gegužės 17 d. 2020). Internetinė prieiga: <https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/covid-data/serology-surveillance/index.html>