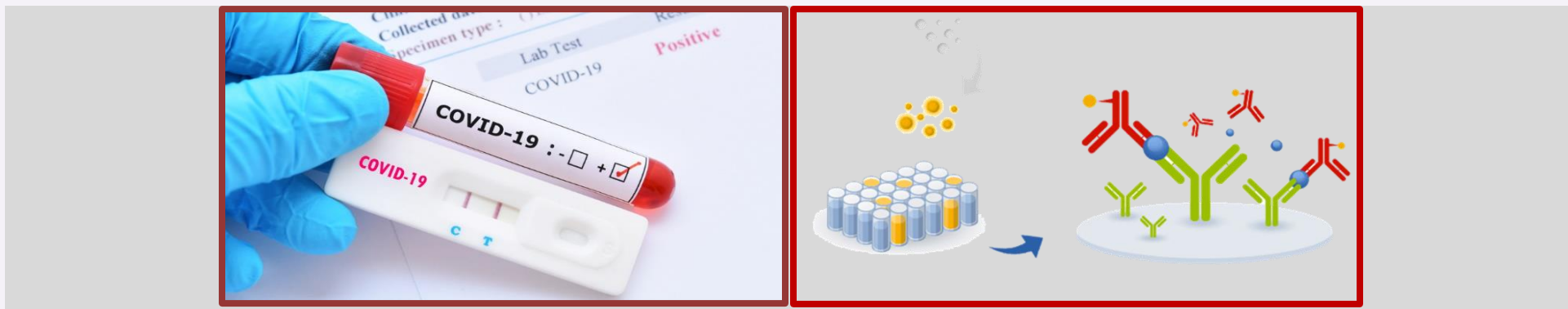


Serološko testiranje na koronavirus bolest 2019 ili COVID 19 (SARS-CoV-2)

Šta treba da znamo?



✿ ŠTA JE KORONAVIRUS BOLEST 2019 (COVID-19)?

Virusna respiratorna infekcija izazvana novim koronavirusom SARS-CoV-2.

Osobe koje imaju COVID-19 mogu imati širok spektar kliničkih manifestacija bolesti, od blagih simptoma sličnih prehladi do teške bolesti. Simptomi se pojavljuju 2-14 dana nakon izloženosti virusu i manifestuju se u vidu: povišene telesne temperature (> 38°C), groznice, bola u mišićima, suvog neproduktivnog kašlja, glavobolje, otežanog disanja, bola u grlu, gubitka čula mirisa i ukusa, kijavice i u manjem broju slučajeva mučnine, povraćanja i dijareje. Oko 14% potvrđenih slučajeva ima težak oblik pneumonije i probleme sa disanjem, 5% pacijenata razvija respiratorni sindrom, septični šok i/ili multiorganski sindrom.

Asimptomatski nosioci virusa ne razvijaju simptome bolesti, ali su inficirani virusom SARS-CoV-2 i mogu ga preneti drugim osobama.

✿ KAKO NASTAJE INFEKCIJA SARS-CoV-2 VIRUSOM?

Iako se danas dosta zna o kliničkim manifestacijama, mnogo je manje poznata patobiologija COVID-19 bolesti.

Ćelijski odgovor našeg organizma na prisustvo virusa SARS-CoV-2 takodje nije u potpunosti poznat. **Virus se sa inficirane osobe prenosi na druge osobe najčešće putem vazduha** (kapljično, kašljanjem i kihanjem), **bliskim kontaktom** (dodir i rukovanje), **dodirivanjem površina i predmeta sa virusom, a zatim usta, nosa i očiju pre pranja ruku**. Moguć je prenos vazduhom, nekapljično ili drugim putevima koji još uvek nisu poznati.

Period inkubacije je 2-14 dana. Patogeneza COVID-19 bolesti odvija se u nekoliko stadijuma:

☀ **Asimptomatska faza (prvih 1-2 dana infekcije):**

Inhalirani virus se vezuje za epitelijalne ćelije nosne šupljine preko ACE2 (angiotenzin konvertujući enzim) receptora i počinje da se umnožava.

Nastaje lokalno širenje virusa u gornjem respiratornom traktu (nazofarinks), uz ograničeni urodjeni imuni odgovor organizma. **U ovom stadijumu virus se već može detektovati u uzorku brisa nazofarinksa**. Iako je broj virusnih čestica u tom momentu nizak, zaražene osobe su infektivne i mogu prenositi virus drugim osobama u okruženju.

☀ **Reakcija gornjih i sprovodnih respiratornih puteva (narednih nekoliko dana):**

Dolazi do **pojave simptoma infekcije gornjeg respiratnog trakta**, virus se kroz sprovodne respiratorne puteve (dušnik, bronhije) širi u donji respiratorni trakt (pluća), uz pojavu izraženijeg urodjenog imunog odgovora organizma. Bolest postaje klinički manifestna. **Virus se može detektovati u uzorku brisa nazofarinksa, sputumu (ispljuvku), kao i rani markeri urodjenog imunog odgovora**.

☀ **Infiltracija plućnog tkiva, hipoksija (nedostatak kiseonika) i progresija u akutni respiratorni distres sindrom (ARDS):**

Oko 20% inficiranih osoba razvija i simptome treće faze bolesti, od toga 5% veoma težak oblik bolesti sa respiratornim distres sindromom. Virus u ovom stadijumu inficira alveolarne ćelije (tip II) plućnog tkiva, veoma veliki broj virusnih čestica se oslobadja, pri čemu nastaje ubrzana smrt ćelija koje obezbeđuju razmenu gasova u plućima (nedostatak

kiseonika). *Virus se može detektovati u uzorku brisa nazofarinksa, sputumu (ispljuvku), kao i markeri urodjenog i stečenog imunog odgovora.*

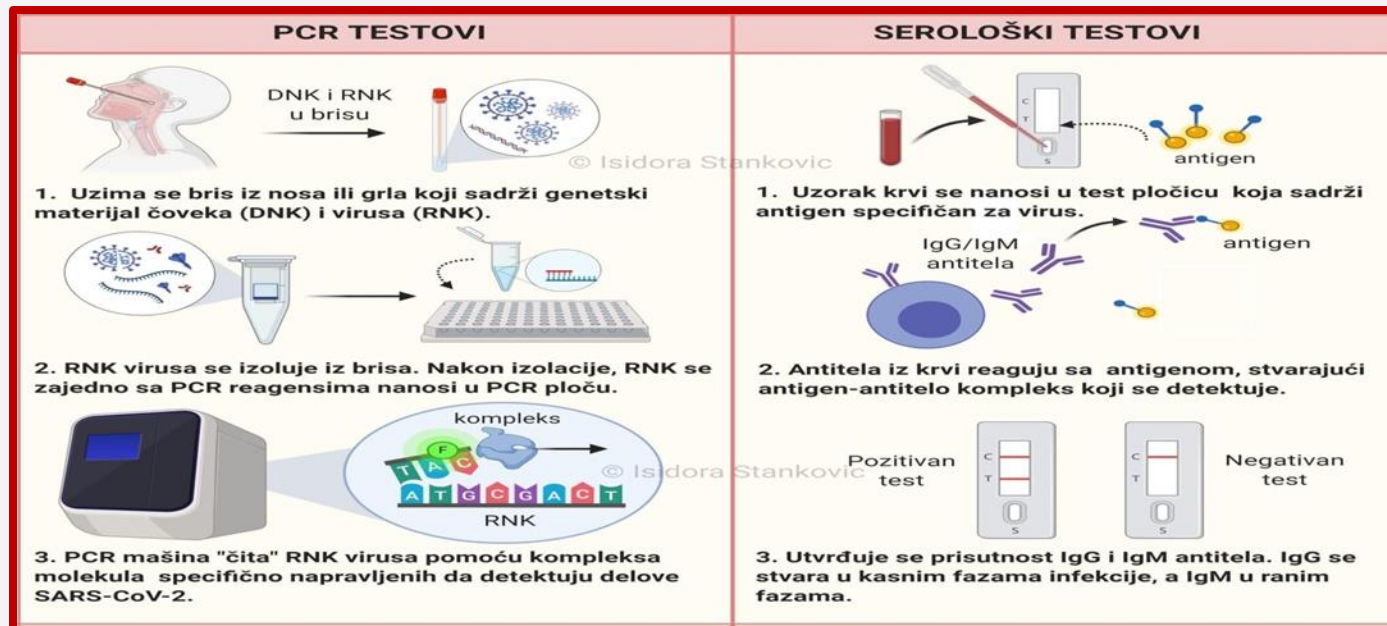
🌸 Razvoj imunog odgovora (produkcija antitela)

*Imunokompetentne osobe, kao i u drugim infekcijama, razvijaju imuni odgovor na SARS-CoV-2 infekciju. **Aktivacijom humoralnog imunog odgovora dolazi do produkcije antitela IgM i IgG klase, ali se još uvek sa sigurnošću ne zna o produkciji i prisustvu IgA klase antitela u krvi.***

Do serokonverzije IgM i IgG klase antitela (pojave detektabilnih antitela u serumu) dolazi oko 7 do 14 dana od infekcije. IgM antitela se već od 5. nedelje bolesti slabije mogu detektovati i u 6. nedelji je njihova vrednost veoma niska, dok IgG antitela perzistiraju nekoliko meseci. Nije još uvek sa sigurnošću određeno koliko dugo su ova antitela detektabilna. Razvoj antitela je u korelaciji sa padom broja virusnih čestica u respiratornom traktu, njihovo prisustvo umanjuje infektivnost pacijenta i omogućava određeni nivo zaštite od ponovne infekcije.

🌸 KOJIM TESTOM SE MOŽE POTVRDITI COVID-19?

*Dve vrste testova se koriste za dijagnostiku COVID-19 bolesti: **detekcija virusa (molekularna dijagnostika) i detekcija i/ili određivanje vrednosti antitela u krvi (serološka dijagnostika).***



* Preuzeto od: Isidore Stanković, Weill Cornell Medicine

SARS-CoV-2 poseduje **nesegmentiranu jednolančanu ribonukleinsku kiselinu (RNK)** veličine 27 do 34 kb, što predstavlja jedan od najvećih genoma među svim RNK virusima. Za ovu grupu virusa je karakterističan i visok nivo pojave mutacija tokom ciklusa replikacije.

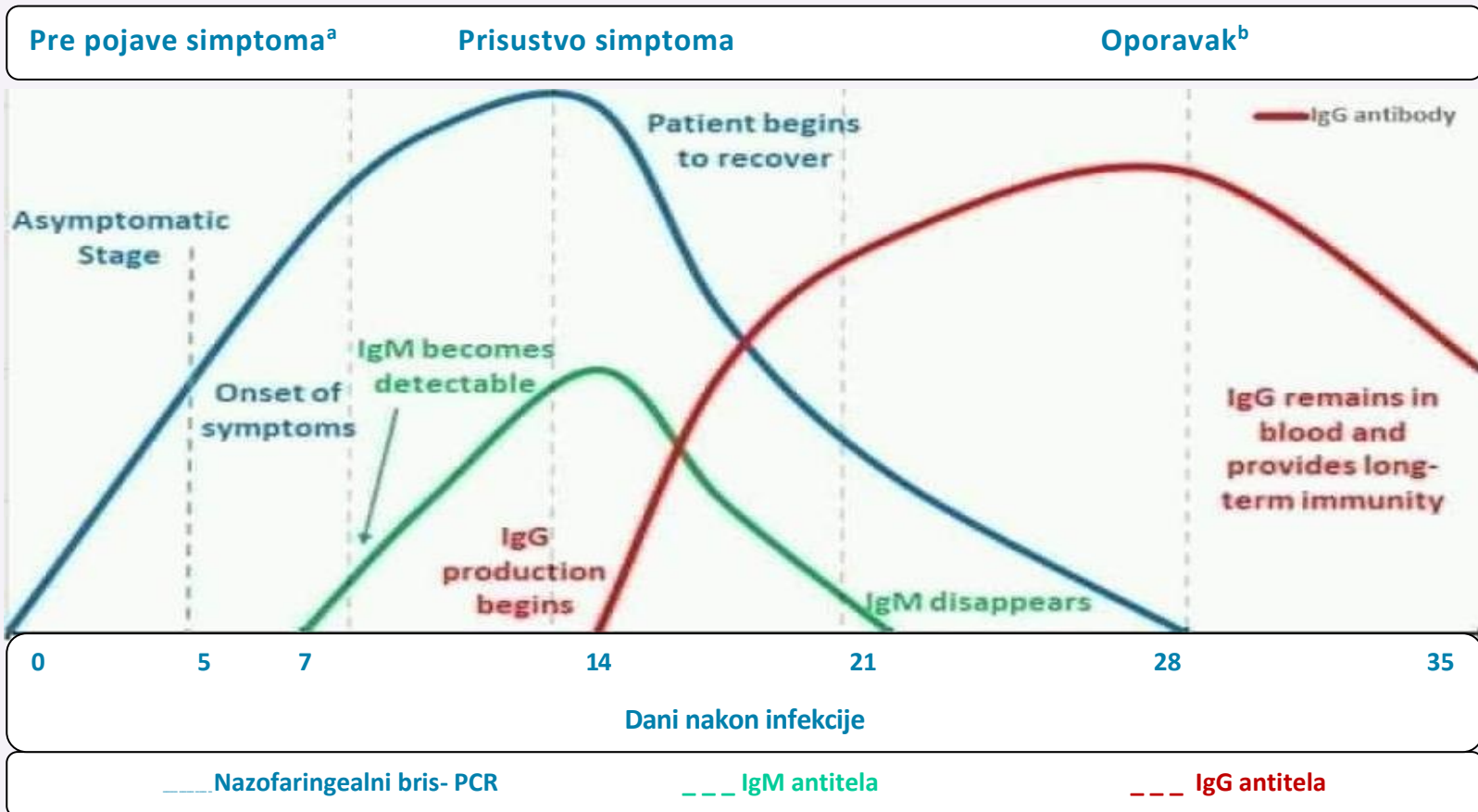
Serološka dijagnostika – detekcija i/ili određivanje vrednosti antitela u krvi

Za razliku od testova kojima se detektuje virus u sklopu akutne infekcije, **serološkim testovima se meri humoralni imuni odgovor na prisustvo virusa (produkcija antitela). Detekcijom antitela se na taj način posredno određuje da li je osoba bila inficirana čak iako nije imala manifestne simptome bolesti.** Serološki eseji za SARS-CoV-2 imaju i važnu ulogu u razumevanju **epidemiologije virusa u opštoj populaciji – "prokuženost stanovništva"**, u identifikaciji grupa sa visokim rizikom za pojavu infekcije i u identifikaciji osoba koje mogu biti **potencijalni donori krvi za proizvodnju konvalescentne plazme** za lečenje pacijenata sa teškim oblikom COVID-19.

Za određivanje ukupnih antitela i pojedinačnih klasa antitela na SARS-CoV-2 u širokoj primeni su **enzimski imuno testovi** (enzyme-linked immunosorbent assays, **ELISA**), **hemiluminiscentni imuno testovi** (chemiluminescence enzyme

immunoassays, **CLIA**) koji su visoko specifični i osetljivi (do 94%), kao i **imunohromatografski (screening, brzi testovi)**, čija se osetljivost kreće oko 86%.

🌟 **KADA RADITI TESTIRANJE NA PRISUSTVO VIRUSA A KADA NA PRISUSTVO ANTITELA?**



^a Detekcija je moguća samo ako se pacijenti aktivno prate od vremena kontakta sa zaraženom osobom

^b Veća verovatnoća registrovanja negativnog nego pozitivnog rezultata PCR testiranjem brisa nazofarinksa

🌟 **Testiranje na prisustvo virusa – PCR test**

Vrši se u referentnim i posebno ovlašćenim laboratorijama za virusološku dijagnostiku kod:

- Osoba sa simptomima i znacima koji odgovaraju bolesti COVID-19

- *Asimptomatskih osoba koje su imale skori kontakt sa poznatim ili suspektnim COVID-19 bolesnikom*
- *Osoba za potvrdu završetka infekcije ili prekid kućne izolacije*

*Virus se može detektovati već **nakon 7 dana od infekcije**, ukoliko je poznato da je ostvaren kontakt sa inficiranom osobom, odnosno **7 dana pre pojave simptoma i znaka bolesti**. Ukoliko je prošlo **manje od 7 dana od kontakta** sa poznatim ili suspektnim COVID-19 bolesnikom, **nije indikovano raditi PCR analizu**. **Najveća verovatnoća detekcije virusa je u 1. nedelji nakon pojave simptoma bolesti, pa sve do 3. nedelje kada se verovatnoća značajno smanjuje**. U sputumu i bronhoalveolarnom lavatu verovatnoća detekcije je veća u odnosu na bris nazofarinksa, čak i tokom 3. i 4. nedelje od pojave simptoma bolesti.*

☀ Testiranje na prisustvo antitela – serološki testovi

- **Samostalno nisu predviđeni za potvrdu aktivne infekcije i COVID-19 bolesti.**
- **Prisustvo ranih antitela (IgM) ukazuje sa velikom verovatnoćom na postojanje aktivne infekcije ili COVID-19 bolesti, ali je za potvrdu neophodna i detekcija virusa PCR testiranjem.**
- **Ukupna ili IgG antitela mogu se koristiti za potvrdu COVID-19 bolesti u periodu od 14. do 21. dana infekcije, kao dopuna preporučenom PCR testiranju i za povećanje senzitivnosti testiranja, jer u tom periodu opada mogućnost detekcije virusa PCR-om, a raste mogućnost detekcije antitela.**
- **Testiranje prisustva IgG antitela može pokazati da ste imali infekciju virusom SARS-CoV-2.**

*Pojava IgM detektabilnih antitela u krvi je oko 7 dana od infekcije, odnosno sa razvojem prvih simptoma bolesti. **Idealno vreme za testiranje IgM antitela je 5 do 7 dana od pojave prvih simptoma** kada je koncentracija u krvi najveća. **U slučaju da se požuri sa testiranjem, velika je mogućnost dobijanja lažno negativnog nalaza**. **Pojava detektabilnih antitela IgG klase najčešća je 15 dana od infekcije, u nekim slučajevima i istovremeno sa IgM klasom**. IgM antitela se već od 5. nedelje bolesti slabije mogu detektovati i u 6. nedelji je njihova vrednost veoma niska, dok **IgG antitela perzistiraju nekoliko meseci**. Nije još uvek sa sigurnošću određeno koliko dugo su ova antitela detektabilna, prema dosadašnjim studijama do 90 dana od infekcije organizma.*

Prisustvo IgM i IgG antitela za ispitivanje aktivne infekcije radi se enzimskim imuno testovima (ELISA, aparat Vircell) i brzim (screening) testom, imunohromatografskom metodom.

Testiranje ukupnih antitela na SARS-CoV-2 (ECLIA, aparat Roche Cobas e411) se preporučuje kod preležanih infekcija za proveru imuniteta ili za ispitivanje da li je osoba pre više od 30 dana "preležala" infekciju. Ne preporučuje se kao analiza za ispitivanje aktivne infekcije.

☀ KAKO TUMAČITI REZULTATE TESTIRANJA?

- **Pozitivan test detekcije IgM antitela:** velika je verovatnoća da imate aktivnu infekciju SARS-CoV-2 virusom ili COVID-19 bolest u slučaju prisustva tipičnih simptoma bolesti, za potvrdu je potrebno uraditi dokazivanje prisustva virusa PCR testom. Ukoliko nemate simptome bolesti preporučena je samoizolacija u trajanju od 14 dana uz poštovanje preventivnih mera zaštite članova porodice. Ukoliko imate simptome bolesti, potrebno je da obavite pregled u COVID ambulanti Doma zdravlja, gde će Vam uzeti uzorak za PCR testiranje, obaviti dodatna testiranja biohemijskih parametara iz krvi, rentgen snimanje pluća i uputiti na lečenje u odgovarajuću ustanovu ukoliko je neophodno.
- **Pozitivan test detekcije IgG antitela:** postoji verovatnoća da ste imali aktivnu infekciju SARS-CoV-2 virusom ili COVID-19 bolest u slučaju prisustva tipičnih simptoma bolesti i da ste sada u periodu rekonvalescencije. Za potvrdu je potrebno uraditi dokazivanje prisustva virusa PCR testom, ali je moguće da test bude negativan jer u tom periodu opada mogućnost detekcije virusa, a raste mogućnost detekcije antitela.
- **Negativan test detekcije antitela:** ukoliko ste testiranje radili u vremenskom periodu preporučenom za najveću verovatnoću detekcije antitela, verovatno niste bili inficirani SARS-CoV-2 virusom, niste imali COVID-19 bolest ili IgG antitela nisu više prisutna u krvi (nakon 3 meseca od pojave). U suprotnom postoji mogućnost da dobijete lažno negativan nalaz.

Pozitivni ili negativni rezultati testiranja kako prisustva virusa tako i prisustva antitela zahtevaju da se i dalje pridržavate preventivnih mera, kako biste zaštili sebe i druge ljude u okruženju – obavezno nošenje zaštilne maske u zatvorenom i otvorenom prostoru, socijalno distanciranje, higijena ruku i predmeta sa kojima dolazite u kontakt.

Reference

<http://www.batut.org.rs>

<https://covid19.rs/>

<http://www.cdc.gov>

<https://erj.ersjournals.com/>

<https://jamanetwork.com/>



Talija Lab - Ustanička 170, 11000 Beograd, +381 60 334 98 86, www.talijalab.com