

## **Metoda: EUROIMMUN Anti-SARS-CoV-2 QuantiVac ELISA (IgG), Anti-SARS-CoV-2 NCP ELISA (IgM)**

Patrik Zmij, Laboratorní diagnostika ve zdravotnictví, 2. ročník

Školitelé: Ing. Tomáš Vlas, Mgr. Eliška Stránská

### **Princip stanovení IgG protilátek**

„Testovací souprava obsahuje mikrotitrační stripky po 8 odlomitelných jamkách potažené rekombinační S1 doménou spikového proteinu SARS-CoV-2. V prvním reakčním kroku se vzorky pacientů inkubují v jamkách. V případě pozitivních vzorků se specifické protilátky třídy IgG (také IgA a IgM) budou vázat na antigeny. K detekci vázaných protilátek se provede druhá inkubace za použití enzymem značeného anti-lidského IgG (enzymový konjugát), který katalyzuje barevnou reakci.“<sup>1</sup>

### **Princip stanovení IgM protilátek**

„Testovací souprava obsahuje mikrotitrační stripky po 8 odlomitelných jamkách potažené modifikovaným nukleokapsidovým proteinem SARS-CoV-2. V prvním reakčním kroku se vzorky pacientů inkubují v jamkách. V případě pozitivních vzorků se specifické protilátky třídy IgM (také IgA a IgG) budou vázat na antigeny. K detekci vázaných protilátek se provede druhá inkubace za použití enzymem značeného anti-lidského IgM (enzymový konjugát), který katalyzuje barevnou reakci.“<sup>2</sup>

### **Uplatnění metody**

Enzymatický imunotest (ELISA) stanovuje kvantitativní stanovení lidských protilátek IgG proti SARS-CoV-2 a semikvantitativní stanovení lidských protilátek IgM proti SARS-CoV-2. Metody lze použít jako doplněk k přímé detekci patogenů nebo ke sběru epidemiologickým údajů. Stanovení IgG protilátek je užitečné po očkování vakcínami na principu S1/RBD. <sup>1, 2</sup>

### **Úskalí metody**

Z důvodu zatím nedostatečného prozkoumání tvorby protilátek proti koronaviru SARS-CoV-2 a žádným dlouhodobým studiím neumíme přesně nakládat s naměřenými hodnotami.

**Přístrojové vybavení:** imunologický analyzátor EUROIMMUN Analyzer I

### **Odběr a transport**

Výrobce testovací soupravy udává, že IgG a IgM protilátky proti SARS-CoV-2 lze stanovit v séru, EDTA, plazmě nebo citrátu. U IgG protilátek lze využít také heparin, citrát nebo vysušených krevních kapek (DBS). <sup>1, 2</sup>

Pacientovi se odebere krev do zkumavky s jedním ze jmenovaných protisrážlivých činidel a vzorek se transportuje do laboratoře, kde se musí zpracovat do 2 hodin. Po centrifugaci můžeme plazmu či sérum skladovat při +2°C až +8°C až 14 dní. DBS vzorky si pacient odebírá sám a odesílá do příslušné laboratoře v podobě dopisového psaní. Pacient se za pomoci lancety píchne do prstu, který následně otiskne na předem označené místo svého papíru. Vzorek lze uchovávat při pokojové teplotě až 14 dní. Těsně před stanovením se místo s kapkou vystřihne či vyrazí a zpracuje. <sup>1, 2</sup>

### **Cíl**

4. 1. 2021 jsem se nakazil onemocněním COVID-19. Rozhodl jsem se tedy o stanovení IgG protilátek proti SARS-CoV-2 1 měsíc, 2 měsíce a 3 měsíce po mém pozitivním RT-PCR testu. Chtěl jsem tak potvrdit stanovisko SZÚ, které udává, že pacientům po prodělané nákaze COVID-19 je prominuto antigenní i PCR testování po dobu právě 3 měsíců. V tomto období by lidské tělo mělo mít dostatečné množství protilátek, aby nedošlo v reinfekci.

### Naměřené hodnoty

#### RT-PCR detekce nukleových kyselin (RNA) SARS-CoV-2 ve stěru horních cest dýchacích

den 1	4. 1. 2021	RT-PCR POZITIVNÍ
		Střední průběh nemoci

#### Anti-SARS-CoV-2 QuantiVac ELISA (IgG)

	Datum stanovení	IgG [RU/ml]	Vyhodnocení	Poznámka
1 měsíc	12. 2. 2021	38,00	+	
1 a půl měsíce	5. 3. 2021	27,64	+	DBS
2 měsíce	18. 3. 2021	29,68	+	
3 měsíce	15. 3. 2021	24,38	+	

#### Referenční hodnoty

Negativní: <8 RU/ml  
Hraniční:  $\geq 8$  až <11 RU/ml  
Pozitivní:  $\geq 11$  RU/ml

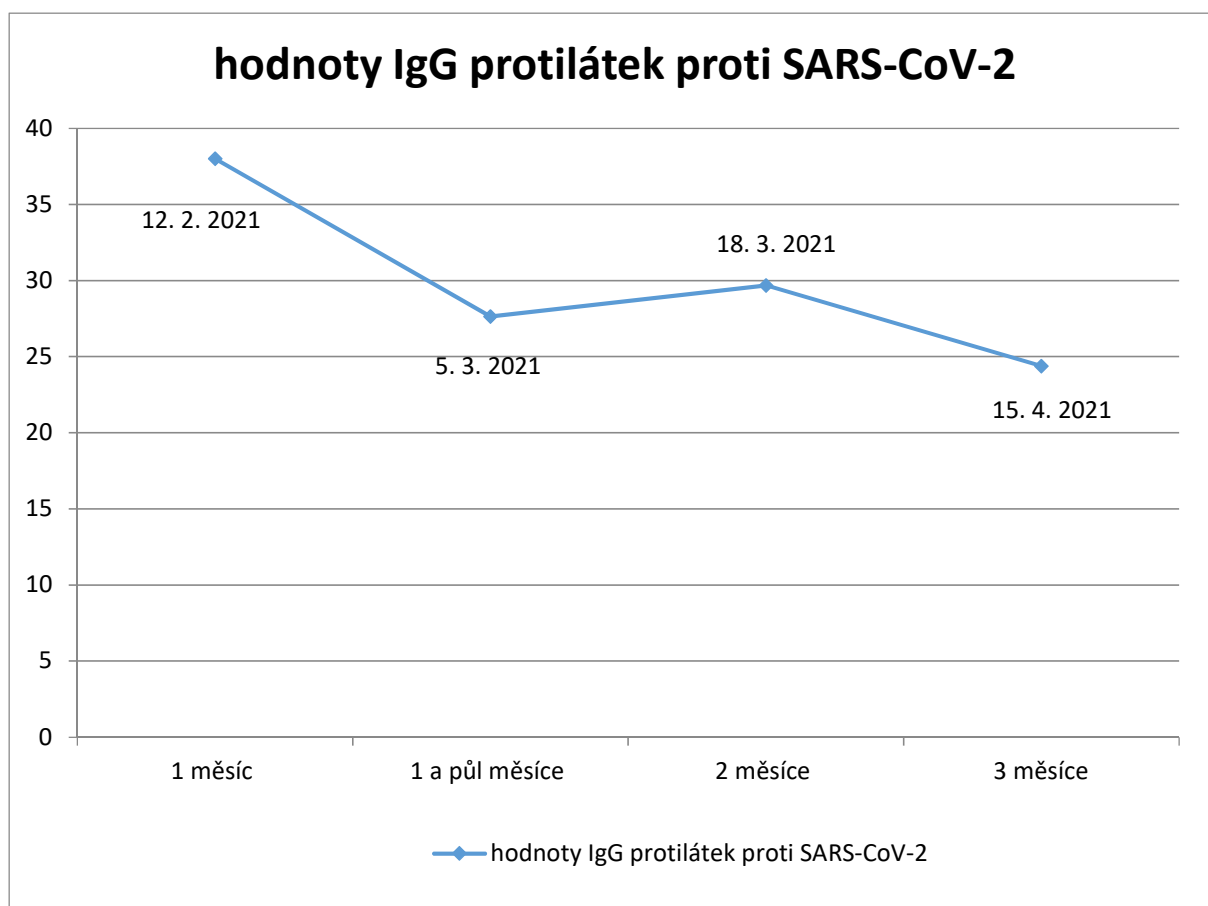
#### Anti-SARS-CoV-2 NCP ELISA (IgM)

	Datum stanovení	IgM	Vyhodnocení	Poznámka
1 měsíc	12. 2. 2021	1.22	+	

#### Referenční hodnoty

Negativní: Poměr <0,8 RU/ml  
Hraniční: Poměr  $\geq 0,8$  až <1,1 RU/ml  
Pozitivní: Poměr  $\geq 1,1$  RU/ml

Výsledek se vypočte poměrem extinkční hodnoty vzorku a extinkční hodnoty kalibrátoru. Stanovení je semikvantitativní.



#### Závěr

Stanovil jsem hodnoty lidských IgG protilátek proti SARS-CoV-2 v předem určených intervalech – 1 měsíc, 2 měsíce a 3 měsíce od mého pozitivního RT-PCR testu. Stanovení jsem provedl z krevní plazmy a po 1. měsíci jsem vyzkoušel také stanovení z vysušené krevní kapky (DBS). Veškeré naměřené hodnoty IgG protilátek vyšly pozitivně. Měření jsem doplnil stanovením IgM protilátek v 1. měsíci, u kterých jsem naměřil také pozitivní výsledek. Mohu tak prohlásit, že jsem potvrdil stanovisko SZÚ, které udává dostatečné množství IgG protilátek proti SARS-CoV-2 3 měsíce po prodělání onemocnění COVID-19.