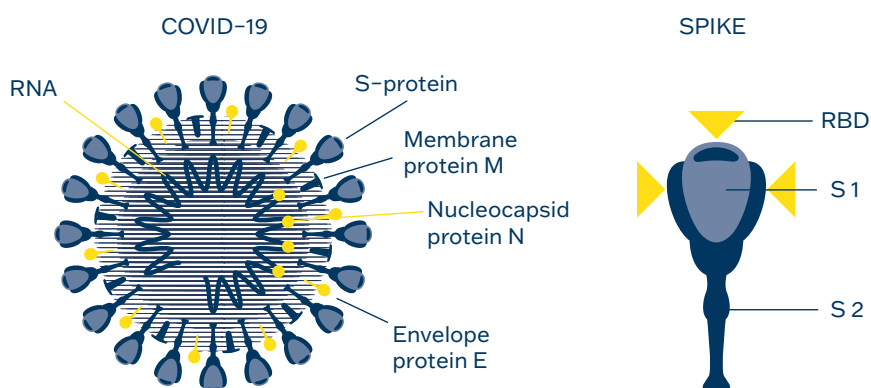


Stanovení protilátek proti SARS-CoV-2

Korelace výsledků
VNT a ELISA souprav
Návaznost na WHO
standard

Pro průkaz protilátek proti antigenům viru SARS-CoV-2 je k dispozici standardní škála metodických přístupů. Pro detekci protilátek jsou k dispozici komerční testy k průkazu IgM, IgA a IgG založené na imunoenzymatickém principu – ELISA, Imunoblot, CLIA.

Jako antigen je v testech většinou buď strukturální nukleokapsidový (NP) protein, anebo spike (S) protein (případně jeho S1 část či pouze Receptor-Binding Domain – RBD).



Pro stanovení protektivní aktivity protilátek přítomných v séru pacienta je dle nejnovější literatury nejvhodnější použít virus neutralizační test (VNT). Stanovení neutralizačních protilátek (NAbs) metodou VNT je však časově náročné (2-4 dny) a navíc vyžaduje práci s živým virem (laboratoř úrovně BSL3 ochrany). Standardní komerčně dostupné testy detekují vázající protilátky proti SARS-Cov-2 (BAbs) a nedisponují možností diferencovat mezi NAbs a BAbs.

Korelace výsledků mezi VNT a ELISA byla provedena ve srovnávací studii 100 vzorků.

K testování byly použity diagnostické soupravy TestLine EIA COVID-19 RBD, kdy byla zjištěna významná míra shody. Jak semikvantitativní vyhodnocení výsledků IgG v Indexu Pozitivity (IP), tak kvantitativní vyhodnocení v jednotkách U/ml koresponduje s vyšší titru VNT.

VNT	Elisa - TESTLINE RBD						Elisa - konkurence (DE)			VNT	Elisa - TESTLINE RBD						Elisa - konkurence (DE)		
	IgG		IgM		IgA		IgG	IgM	IgA		titr	IgG		IgM		IgA		IgG	IgM
titr	IP	U/ml	IP	U/ml	IP	U/ml	IP	IP	IP	titr	IP	U/ml	IP	U/ml	IP	U/ml	IP	IP	IP
20	3,83	97,3	0,67	15	0,72	5,57	1,29	neg.	0,93	80	2,50	59,81	0,63	14,39	3,92	204,5	1,35	1,76	1,95
20	0,48	11,02	0,35	10,04	0,55	3,03	neg.	neg.	neg.	80	3,40	84,14	0,72	15,78	1,60	50,83	1,16	0,90	2,61
20	2,82	68,18	0,45	11,56	0,78	6,55	neg.	neg.	0,94	80	8,47	238,15	0,63	14,34	3,54	177,03	1,96	neg.	3,10
20	2,57	61,7	0,54	12,91	0,35	9,82	neg.	neg.	neg.	80	3,28	80,38	0,56	13,2	1,60	50,45	1,28	neg.	1,47
20	1,26	26,81	0,64	14,51	1,67	54,16	neg.	neg.	0,94	80	8,07	226,12	1,92	63,72	9,44	320	1,46	1,48	8,97
20	1,48	47,1	0,34	9,99	1,05	21,56	1,04	neg.	0,97	80	2,88	69,9	0,85	17,75	9,44	320	1,01	neg.	2,45
20	2,45	117,27	1,59	47,85	1,33	38,22	1,35	neg.	2,84	80	3,40	84,23	0,64	14,43	3,41	167,58	1,28	2,08	2,90
40	2,58	61,86	0,33	9,8	0,85	7,73	1,20	neg.	1,09	80	9,78	277,83	0,87	17,99	1,05	21,3	2,31	neg.	5,53
40	1,48	32,8	0,22	8,11	0,69	5,18	1,35	neg.	neg.	80	8,49	238,71	1,09	24,05	2,26	85,71	1,54	0,94	1,43
40	4,96	131,53	1,30	34,45	0,92	18,83	2,71	neg.	1,05	80	3,72	93,82	1,03	21,27	0,46	1,62	1,01	2,72	neg.
40	4,11	105,57	0,43	11,23	0,39	0,4	1,51	neg.	neg.	80	10,31	293,91	0,75	16,19	6,66	320	2,37	neg.	1,91
40	4,11	105,67	0,22	7,99	1,49	44,95	1,28	neg.	1,10	80	9,44	267,67	0,44	11,43	1,54	47,76	1,75	neg.	1,61
40	4,79	126,35	0,49	12,21	1,94	67,97	0,99	neg.	1,00	80	3,40	208,56	1,24	31,33	1,62	54	1,94	neg.	1,38
40	7,86	219,53	0,56	13,28	5,80	320	2,72	neg.	3,60	80	4,22	287,25	0,43	11,36	0,64	14,48	2,24	neg.	1,00
40	1,84	42,33	0,56	13,24	0,49	2,01	neg.	neg.	neg.	80	4,62	320	0,66	14,82	1,32	37,79	3,76	0,99	1,65
40	8,74	246,24	0,39	10,61	3,11	146,71	2,35	neg.	1,92	80	4,33	297,59	0,27	8,92	0,78	16,65	3,09	2,03	1,09
40	3,39	83,76	0,52	12,66	1,34	37,4	1,47	neg.	neg.	160	11,94	320	1,61	49,02	3,14	148,85	6,16	1,98	2,72
40	4,03	103,22	0,26	8,73	1,59	50,19	1,43	1,98	-	160	11,94	320	0,88	18,11	1,88	65,03	6,38	-	-
40	3,34	82,44	0,52	12,62	0,68	5,03	neg.	neg.	neg.	160	11,42	320	0,21	7,83	2,44	99,09	5,12	-	-
40	2,57	61,61	0,50	12,34	1,84	62,73	neg.	1,27	0,92	160	9,43	267,3	1,48	42,56	1,87	64,39	3,81	1,79	2,07
40	3,81	96,74	0,51	12,5	0,84	7,53	1,47	neg.	0,99	160	5,42	145,54	1,19	29,12	2,53	104,97	1,74	neg.	1,37
40	6,17	168,38	0,32	9,51	1,45	43,16	1,80	neg.	1,78	160	9,83	279,43	0,32	9,59	2,57	108,18	3,02	1,08	3,26
40	2,39	56,77	1,64	50,41	0,83	7,42	0,95	neg.	neg.	160	12,06	320	1,22	30,64	6,51	320	5,02	0,92	7,55
40	4,57	320	0,85	17,72	2,59	125,8	2,63	1,41	2,10	160	9,86	280,46	0,61	14,1	1,51	45,97	3,21	neg.	3,59
40	3,82	248,14	1,11	25,07	0,72	15,67	1,45	neg.	1,60	160	11,76	320	0,54	12,95	3,29	159,2	3,56	neg.	2,69
80	11,25	320	0,64	14,55	1,50	45,59	4,90	-	-	160	11,55	320	0,53	12,75	1,37	38,68	3,64	neg.	1,54
80	11,38	320	0,86	17,87	4,18	222,34	4,13	-	-	160	10,23	291,65	0,68	15,16	1,09	21,61	3,35	neg.	1,69
80	6,19	168,76	2,25	79,43	0,67	4,91	2,12	neg.	0,98	160	11,41	320	0,44	11,48	1,36	38,29	3,90	neg.	2,50
80	11,79	320	0,88	18,16	2,35	92,49	5,43	neg.	3,99	160	11,08	317,32	0,92	18,81	2,18	80,36	2,39	neg.	2,07
80	4,23	109,43	0,15	7,01	3,20	152,78	1,92	neg.	7,23	160	2,23	52,59	1,22	30,52	5,98	320	0,95	neg.	3,62
80	5,78	156,44	0,47	11,93	0,76	6,2	2,56	neg.	3,38	160	9,11	257,61	0,78	16,68	1,38	39,45	2,16	neg.	1,01
80	6,69	184,18	0,92	18,73	2,78	122,99	2,73	neg.	2,47	160	12,01	320	1,06	22,79	4,17	221,63	2,68	2,89	4,97
80	4,91	129,93	0,45	11,6	1,04	18,79	1,39	neg.	1,03	160	12,04	320	0,81	17,09	1,80	60,68	4,42	neg.	1,93
80	2,80	67,61	0,36	10,2	1,93	67,72	1,35	neg.	neg.	160	11,55	320	2,40	90,06	1,44	42,39	2,39	neg.	0,95
80	5,02	133,5	0,35	10,04	0,33	9,54	2,41	neg.	neg.	160	11,69	320	0,93	18,93	3,36	320	4,34	3,43	2,47
80	4,63	121,56	0,33	9,75	1,14	27,16	1,71	neg.	0,99	160	10,83	309,89	0,68	15,08	2,57	107,83	1,61	neg.	1,90

VNT	Elisa - TESTLINE RBD						Elisa - konkurence (DE)			VNT	Elisa - TESTLINE RBD						Elisa - konkurence (DE)		
	IgG		IgM		IgA		IgG	IgM	IgA		titr	IgG		IgM		IgA		IgG	IgM
titr	IP	U/ml	IP	U/ml	IP	U/ml	IP	IP	IP	IP	U/ml	IP	U/ml	IP	U/ml	IP	IP	IP	
160	11,81	320	2,18	76,01	4,52	246,6	5,12	1,17	3,06	320	12,23	320	1,43	40,4	9,26	320	3,98	1,12	4,81
160	12,01	320	4,16	227,17	9,23	320	1,97	0,99	8,45	320	11,01	315,25	6,40		4,16	221,45	3,69	3,80	2,57
160	3,70	93,35	5,75	320	7,80	320	neg.	3,51	3,69	320	11,42	320	0,85	17,7	7,17	320	3,89	neg.	7,47
160	4,81	320	7,22	320	3,65	222,5	3,63	neg.	5,07	320	11,69	320	0,45	11,56	2,66	114,25	2,41	neg.	2,11
160	4,68	320	0,37	10,41	1,72	59,44	4,14	neg.	3,94	320	12,06	320	1,83	59,16	5,30	302,25	5,72	2,01	5,24
160	4,46	309,84	2,03	68,61	2,51	118,1	3,86	0,98	5,41	320	11,69	320	7,06	320	9,32	320	5,53	4,70	4,40
160	4,62	320	0,42	11,09	2,30	98,91	5,13	neg.	4,42	320	12,23	320	0,78	16,56	3,63	183,28	6,52	neg.	4,84
320	12,01	320	3,62	185	8,88	320	7,52	-	-	320	11,81	320	1,91	63,08	2,69	116,39	2,83	3,32	2,04
320	5,80	157,62	1,30	34,45	8,93	320	2,74	1,21	5,54	640	11,94	320	0,99	19,88	8,73	320	6,93	neg.	5,31
320	5,20	138,86	1,62	49,52	1,38	39,57	1,49	neg.	1,35	640	11,76	320	1,25	31,66	7,65	320	6,16	neg.	7,66
320	11,49	320	0,98	19,63	3,65	184,7	5,29	neg.	5,17	640	10,08	286,95	2,72	114,9	0,32	9,35	4,26	2,14	0,98
320	12,23	320	0,90	18,4	8,72	320	4,28	neg.	2,34	640	11,94	320	2,25	79,18	5,79	320	5,40	2,10	4,20
320	11,88	320	0,29	9,14	3,04	141,72	4,12	neg.	3,78	640	12,01	320	9,57	320	4,74	262,3	4,29	3,09	4,02
320	11,88	320	0,67	15	2,24	84,64	5,08	1,10	3,54	1280	11,40	320	7,93	320	9,39	320	5,36	3,30	7,51

Interpretace výsledků vyšetření ELISA

TL IP:	negativní: < 0,9	hraniční: 0,9 - 1,1	pozitivní: > 1,1
TL U/ml:	negativní: < 18	hraniční: 18 - 22	pozitivní: > 22
konkurence DE:	negativní: < 0,8	hraniční: 0,8 - 1,1	pozitivní: > 1,1

Míra korelace získaných výsledků s VNT metodikou

VNT vs EIA TESTLINE IgG

VNT		EIA	
		poz	neg
shoda	poz	99	1
	neg	0	0
		99 %	

Všechny třídy protilátek - VNT vs EIA TESTLINE

VNT		EIA	
		poz	neg
shoda	poz	99	1
	neg	0	0
		99 %	

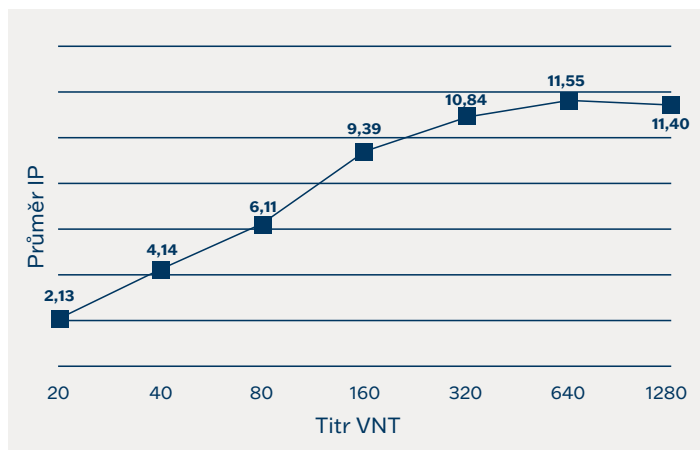
VNT vs EIA konkurence IgG (DE)

VNT		EIA	
		poz	neg
shoda	poz	92	8
	neg	0	0
		92 %	

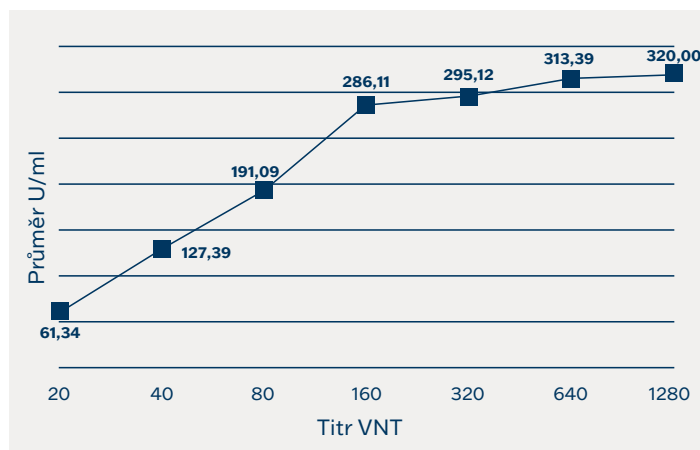
Všechny třídy protilátek - VNT vs EIA konkurence (DE)

VNT		EIA	
		poz	neg
shoda	poz	96	4
	neg	0	0
		96 %	

Průměrné hodnoty Indexu Pozitivity (IP) IgG anti-RBD protilátek (TestLine) ve vztahu k jednotlivým titrům VNT



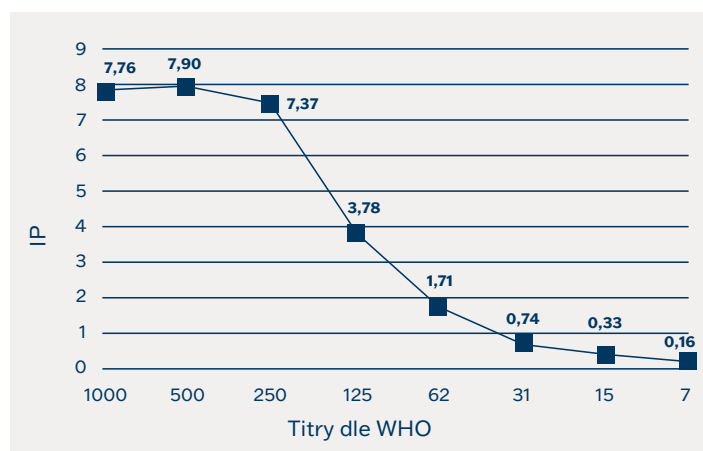
Průměrné hodnoty jednotek U/ml IgG anti-RBD protilátek (TestLine) ve vztahu k jednotlivým titrům VNT



Návaznost na WHO standard

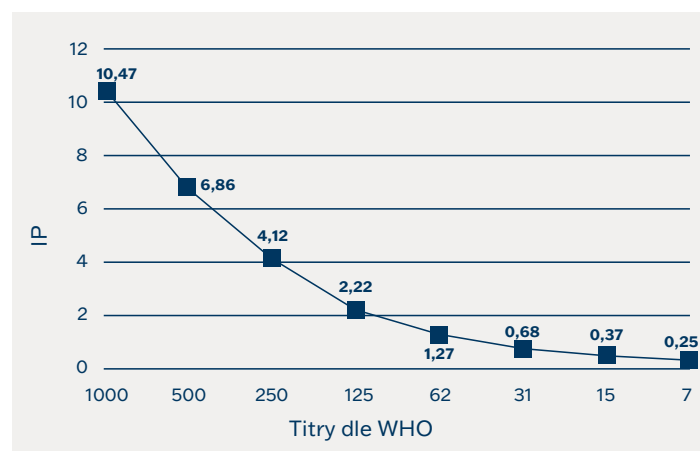
Titrace standardu WHO 20/136 IgG

Skupina rekonvalescentní plazmy od uzdravených pacientů s COVID-19, obsahující vysoké titry protilátek proti SARS-CoV-2.



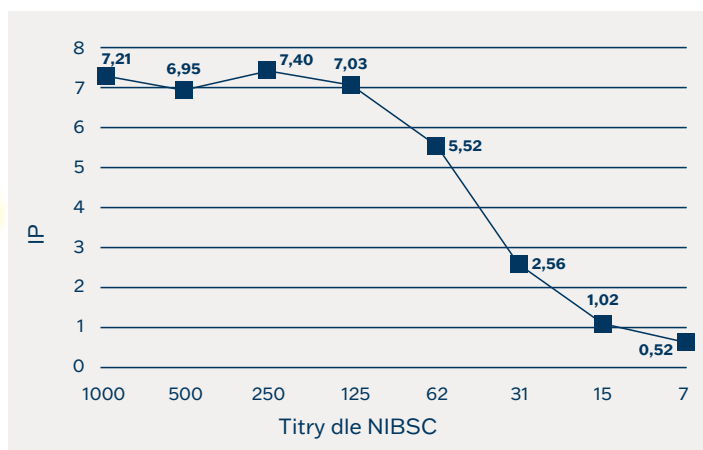
Titrace standardu WHO 20/136 IgA

Skupina rekonvalescentní plazmy od uzdravených pacientů s COVID-19, obsahující vysoké titry protilátek proti SARS-CoV-2.



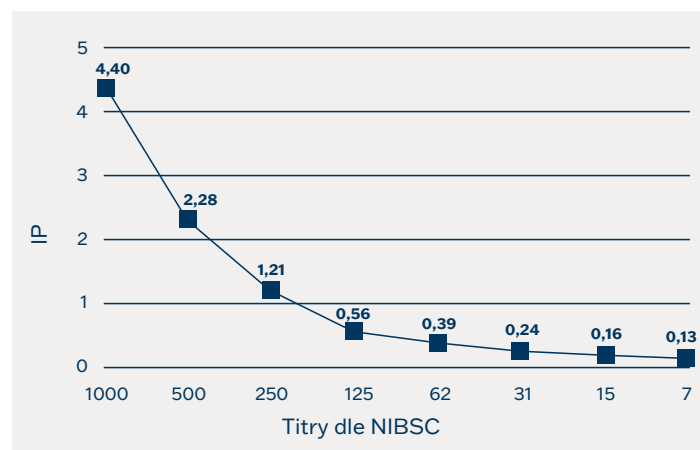
Titrace standardu NIBSC 20/162 IgG

Materiál s vysokým titrem protilátek anti-SARS-CoV-2 použitý k posouzení a porovnání relativních citlivostí pro Anti-Sars-CoV-2 stanovení protilátek ředěním v koncovém bodě.



Titrace standardu NIBSC 20/162 IgA

Materiál s vysokým titrem protilátek anti-SARS-CoV-2 použitý k posouzení a porovnání relativních citlivostí pro Anti-Sars-CoV-2 stanovení protilátek ředěním v koncovém bodě.



WHO 20/136 mezinárodní standard pro anti-SARS-CoV-2 je určen pro kalibraci a harmonizaci serologických testů detekujících anti-SARS-CoV-2 neutralizační protilátky a pro určení validované hladiny vazebných protilátek. NIBSC Anti-SARS-CoV-2 standard je kontrolní materiál pro diagnostiku, a který monitoruje sensitivitu serologických testů.

Titrací WHO 20/136 standardu TestLine reaguje na požadavek přesného stanovení hladiny protilátek po vakcinaci. Podle dosaženého titru Standardu je doporučeno následné ředění pro stanovení poklesu hladiny protilátek u silně pozitivních výsledků v čase. Senzitivita a správnost ředění silně pozitivních hladin protilátek byla ověřena titrací NIBSC 20/162 standardu.

Shrnutí

Korelační studii TestLine potvrdil vysokou úroveň shody mezi výsledky získanými pomocí virus neutralizačních testů (VNT) a soupravou TL EIA COVID-19 RBD IgG. Hladina neutralizačních protilátek odpovídá hladině anti-RBD IgG protilátek, a proto lze k určení, zda má koncentrace protilátek ochranný účinek, použít soupravy EIA vyvinuté společností TestLine. Díky harmonizaci s mezinárodními normami lze soupravy navíc použít ke sledování vývoje koncentrace protilátek po vakcinaci v čase.

Objednací údaje:

<u>Katalog. číslo</u>	<u>Název</u>	<u>Počet testů</u>
CoRA96	EIA COVID-19 RBD IgA	96
CoRG96	EIA COVID-19 RBD IgG	96
CoRM96	EIA COVID-19 RBD IgM	96
SK-CoRA96	SmartEIA COVID-19 RBD IgA	96
SK-CoRG96	SmartEIA COVID-19 RBD IgG	96
SK-CoRM96	SmartEIA COVID-19 RBD IgM	96

Soupravy SmartEIA jsou koncipovány pro automatické zpracování na přístroji Agility.

TestLine Clinical Diagnostics s.r.o.

Křižíkova 68, 612 00 Brno, Česká republika

+420 549 121 205 (209, 238)

trade@testlinecd.com

www.testlinecd.cz