Ocena przydatności szybkich, kasetkowych testów immunochromatograficznych w serologicznej diagnostyce COVID-19

Evaluation of rapid, cassette immunochromatographic tests in the serological diagnosis of COVID-19

Waldemar Rastawicki, Klaudia Plaza, Adam Pietrusiński

¹Zakład Bakteriologii i Zwalczania Skażeń Biologicznych, Narodowy Instytut Zdrowia Publicznego PZH – Państwowy Instytut Badawczy w Warszawie

Oceniono przydatność siedmiu kasetkowych testów immunochromatograficznych w serodiagnostyce COVID-19. Do badań wykorzystano 107 próbek surowicy uzyskanych od 74 osób z aktualnym zakażeniem wirusem SARS-CoV-2 potwierdzonym badaniem metodą RT-PCR. Największy odsetek wyników dodatnich uzyskano podczas poszukiwania przeciwciał klasy IgG zestawem NOVAtest (40,6%) oraz DIAGNOSIS (39,2%). Wykrywalność w przypadku zastosowania zestawu VAZYME wynosiła 36,4%, zestawu BIOSENSOR - 35,0%, zestawu ACCU-TELL - 31,3%, zestawu INGEZIM (IgA/G/M) - 30,0% oraz zestawu firmy PCL - 25,5%. Wykrywalność przeciwciał klasy IgM we wszystkich zestawach była znacznie niższa niż przeciwciał klasy IgG. Najwyższą czułością w klasie IgG, w stosunku do zestawu ELISA firmy Euroimmun, charakteryzował się zestaw firmy DIAGNOSIS (64,5%), najniższą zaś zestaw firmy PCL (38,7%). Swoistość wszystkich testów immunochromatograficznych była bardzo wysoka.

Słowa kluczowe: *testy immunochromatograficzne, SARS-CoV-2, COVID-19, serodiagnostyka, przeciwciała*

ABSTRACT

Introduction: Lateral flow assays (LFIA) are the technology behind low-cost, simple, rapid and portable detection devices popular in biomedicine. Lately, they are very common used in serodiagnosis of SARS-CoV-2 infections. The aim of the presented study was to assess the usefulness of selected LFIA in serological diagnosis of COVID-19.

Methods: The usefulness of seven lateral flow assays in the serodiagnosis of COVID-19 was evaluated (VAZYME, DIAGNOSIS, PCL, INGEZIM, BIOSENSOR, ACCU-TELL,

NOVAtest). The study used 107 serum samples obtained from 74 individuals with current SARS-CoV-2 infection confirmed by RT-PCR. The ELISA-IgG (Euroimmun) was used as the reference assay for sensitivity and specificity testing.

Results: The highest percentage of positive results was obtained when searching for IgG antibodies with the NOVAtest (40.6%) and DIAGNOSIS (39.2%) sets and the lowest detection for the PCL set - 25.5%. In the case of searching for IgM antibodies in all sets, significantly lower percentages of positive results compared to the IgG class were recorded. In general, all lateral flow assays showed low sensitivity in relation to the Euroimmun ELISA-IgG. The DIAGNOSIS kit (64.5%) was characterized by the highest sensitivity, and the PCL kit was the lowest (38.7%). On the other hand, the specificity of all kits was very high, almost 100% in almost all cases.

Conclusions: Lateral flow assays due to their low sensitivity are not suitable for quick diagnosis of the current SARS-CoV-2 infections and cannot be an alternative to genetic or even antigen tests. They may be used only to retrospectively test the presence of IgG antibodies. However, a negative results of LFIA in suspected disease or after vaccination should be confirmed by more sensitive serological tests.

Key words: *Lateral-Flow Immunochromatographic Assay, SARS-CoV-2, COVID-19, serodiagnosis, antibodies*

WSTĘP

W serodiagnostyce COVID-19 można wykorzystywać różne metody diagnostyczne, pozwalające na wykrycie swoistych przeciwciał wytworzonych przez organizm człowieka po kontakcie z antygenami wirusa (4,7,10). Przydatność testów serologicznych wykrywających przeciwciała w diagnostyce COVID-19 uwarunkowana jest jednak dynamiką pojawiania się odpowiedzi humoralnej. Wykrycie diagnostycznego poziomu swoistych przeciwciał anty-SARS-CoV-2 klasy IgM jest możliwe najwcześniej po około 7-10 dniach od momentu wystąpienia pierwszych objawów klinicznych zakażenia, natomiast przeciwciał klasy IgG jeszcze później (9,11). Dodatkowo, trzeba pamiętać także o dużych różnicach osobniczych, związanych z intensywnością przebiegu choroby oraz stanem układu immunologicznego, a także o ograniczonej swoistości testów serologicznych (1).

Wiele spośród dostępnych na rynku komercyjnych testów służących do serodiagnostyki COVID-19 to tzw. szybkie testy „kasetkowe” oparte na technice immunochromatografii z przepływem bocznym (lateral-flow, LFIA). Zasada działania tych testów polega na reakcji obecnych w próbce surowicy, osocza bądź pełnej krwi przeciwciał ze znakowanymi, np. cząsteczkami złota, antygenami wirusa. Powstały kompleks migruje przez membranę nitrocelulozową pod wpływem działania sił kapilarnych i jest ostatecznie wychwytywany przez przyczepione na membranie przeciwciała dla ludzkich immunoglobulin, tworząc czerwoną linię. Zaletą tych testów jest prostota wykonania (nie są potrzebne żadne dodatkowe odczynniki czy też wyposażenie do odczytu wyniku) oraz bardzo krótki czas uzyskania wyniku (zazwyczaj 10-15 minut). O wyniku dodatnim świadczy pojawienie się linii testowych oraz linii kontrolnej. W przypadku braku linii kontrolnej badanie należy powtórzyć (12,13). Badania te mogą być wykonane w każdym ambulator-

rium szpitalnym czy nawet w warunkach terenowych. Ze względu na dostępność, prostotę wykonania i szybkość uzyskania wyniku testy kasetkowe cieszą się dużą popularnością. Nie mniej jednak, w przypadku niektórych testów, dostępne są jedynie dane producenta, określające zazwyczaj na bardzo wysokim poziomie, czułość i swoistość diagnostyczną wyprodukowanych zestawów. Tak więc, szybkie testy, przed wprowadzeniem do rutynowej diagnostyki w danym kraju, powinny zostać wcześniej zwalidowane (9).

Celem prezentowanej pracy była ocena przydatności wybranych kasetkowych testów immunochromatograficznych w serologicznej diagnostyce COVID-19

MATERIAŁ I METODY

1. Badane próbki surowicy. Próbkę surowicy uzyskano od 74 osób z COVID-19 z zakażeniem wirusem SARS-CoV-2 potwierdzonym badaniem metodą RT-PCR. Od 33 osób uzyskano po dwie próbki surowicy w odstępie kilku-kilkunastu dni. Łącznie do badań wykorzystano 107 próbek surowicy, z tym, że liczba badanych próbek w poszczególnych zestawach była różna (Tabela 1.). Dodatkowo, w celu oceny swoistości zestawu firmy VAZYME, wykorzystano 69 próbek surowicy uzyskanych przed epidemią SARS-CoV-2 od osób z mykopłazmozą, krztuścem, legionellozą, jersiniozą i chlamydiazą.
2. Szybkie kasetkowe testy immunochromatograficzne. Wszystkie badania wykonywano zgodnie z instrukcjami producentów odczytując wynik po 10-15 minutach. W przeciwieństwie jednak do podanych instrukcji, w których we wszystkich zestawach przyjęto dwustopniową skalę oceny (brak prążka = wynik ujemny, obecność prążka = wynik dodatni) na potrzeby niniejszego badania rozszerzono skalę subiektywnej oceny intensywności prążka do czterech stopni („-” brak prążka = wynik ujemny, „+/-” = wynik wątpliwy, „+” = wynik słabo dodatni, „++” = wynik silnie dodatni). Na rycinie 1 przedstawiono przykładowe wyniki uzyskane w różnych testach kasetkowych.

Ryc.1. Przykładowe wyniki uzyskane w różnych, kasetkowych testach immunochromatograficznych.

W badaniach wykorzystano siedem testów immunochromatograficznych różnych producentów:

- 2.1. Test VAZYME - 2019-Novel Coronavirus (2019-nCoV) IgG/IgM Detection Kit (Colloidal Gold-Based), Version3.0, nr kat. C6603C.
- 2.2. Test DIAGNOSIS – COVID-19 (SARS-CoV-2) IgM/IgG Antibody Test Kit, nr kat. SA-2-D.
- 2.3. Test PCL – PCL COVID19 IgG/IgM Rapid Gold, nr kat. COV03.
- 2.4. Test INGEZIM® COVID 19 CROM nr kat. 50.CoV.K41 firmy Ingenasa. Test wykrywa łącznie przeciwciała klasy IgA, IgG i IgM.
- 2.5. Test BIOSENSOR Standard Q COVID-19 IgM/IgG Duo nr ref. Q-NCOV-01D.
- 2.6. Test ACCU-TELL® COVID-19 IgG/IgM Cassette nr kat. ABT-IDT-B352 firmy AccuBiotech Co., Ltd.
- 2.7. Test NOVAtest® COVID-19 IgM/IgG Antibody test (Colloidal Gold) nr kat. nCov-497.
3. Test immunoenzymatyczny ELISA. Jako test referencyjny do oceny czułości i swoistości testów kasetkowych zastosowano zestaw ELISA IgG firmy Euroimmun nr kat. EI 2606-9601. W zestawie producent jako antygen zastosował białko S1 wirusa SARS-CoV-2.

WYNIKI I DYSKUSJA

W tabeli I przedstawiono wyniki oznaczania szybkimi, kasetkowymi testami immunochromatograficznymi obecności przeciwciał dla wirusa SARS-CoV-2 w próbkach surowicy osób z COVID-19. Największy odsetek wyników dodatnich (ocenionych na + lub na ++) uzyskano podczas poszukiwania przeciwciał klasy IgG zestawem NOVAtest (40,6%) oraz DIAGNOSIS (39,2%). Wykrywalność przeciwciał klasy IgG w pozostałych testach była nieco niższa i wynosiła odpowiednio: w przypadku zastosowania zestawu VAZYME - 36,4%, zestawu BIOSENSOR - 35,0%, zestawu ACCU-TELL - 31,3%, zestawu INGEZIM (IgA/G/M) - 30,0% oraz zestawu firmy PCL - 25,5%. Na szczególną uwagę zasługuje fakt, że w przypadku poszukiwania przeciwciał klasy IgM we wszystkich zestawach zanotowano zdecydowanie niższe odsetki wyników dodatnich w porównaniu do klasy IgG. Najwyższy odsetek wyników dodatnich w klasie IgM występował podczas stosowania zestawu firmy NOVAtest (34,4%), najniższy zaś zestawu firmy BIOSENSOR (2,5%) oraz PCL (7,8%).

Trzeba mieć na uwadze, że w tabeli I przedstawiono tylko ogólną proporcję wyników ocenionych w czterostopniowej skali w poszczególnych zestawach. Na wynik badania serologicznego duży wpływ ma okres choroby w którym pobrano do badania próbkę surowicy. Swoiste przeciwciała pojawiają się zazwyczaj około 10 dni od wystąpienia pierwszych objawów klinicznych COVID-19. Tak więc, zbyt wczesne pobranie krwi do badań serologicznych może skutkować fałszywie ujemnym wynikiem badania, zwłaszcza w klasie IgG. Z drugiej strony, w miarę upływu czasu, najszybciej obniża się poziom przeciwciał klasy IgM oraz IgA a w surowicy możemy wykryć jedynie przeciwciała klasy IgG. W prezentowanej pracy wykorzystano do badania próbki surowicy uzyskane od kilku do kilkunastu dni od początku objawów klinicznych COVID-19. Co więcej, nie we wszystkich ocenianych zestawach immunochromatograficznych do badania obecności

Tabela I. Wyniki oznaczania szybkimi, kasetkowymi testami immunochromatograficznymi obecności przeciwciał dla wirusa SARS-CoV-2 w próbkach surowicy osób z COVID-19.

Test	Liczba próbek	Klasa Ig	Liczba (odsetek) próbek z wynikiem:			
			++	+	+/-	-
VAZYME	107	IgG	6 (5,6%)	33 (30,8%)	12 (11,2%)	56 (52,3%)
		IgM	2 (1,9%)	10 (9,3%)	5 (4,7%)	90 (84,1%)
DIAGNOSIS	51	IgG	11 (21,6%)	9 (17,6%)	6 (11,8%)	25 (49,0%)
		IgM	2 (3,9%)	12 (23,5%)	13 (25,5%)	24 (47,1%)
PCL	51	IgG	3 (5,9%)	10 (19,6%)	4 (7,8%)	34 (66,7%)
		IgM	1 (2,0)	3 (5,9%)	6 (11,8%)	41 (80,4%)
ACCU-TELL	32	IgG	5 (15,6%)	5 (15,6%)	3 (9,4%)	19 (59,4%)
		IgM	-	3 (9,4%)	11 (34,4%)	18 (56,3%)
NOVATEST	32	IgG	1 (3,1%)	12 (37,5%)	5 (15,6%)	14 (43,8%)
		IgM	1 (3,1%)	10 (31,3%)	5 (15,6%)	16 (50,0%)
BIOSENSOR	40	IgG	5 (12,5%)	9 (22,5%)	6 (15,0%)	20 (50,0%)
		IgM	-	1 (2,5%)	11 (27,5%)	28 (70,0%)
INGEZIM	30	IgA/G/M	4 (13,3%)	5 (16,7%)	6 (20,0%)	15 (50,0%)

przeciwciał dla wirusa SARS-CoV-2 wykorzystano dokładnie taką samą liczbę próbek surowicy uzyskanych od tych samych chorych. W takim układzie nie można porównywać wprost czułości diagnostycznej poszczególnych zestawów. Mając jednak na uwadze fakt, że jednym z najważniejszych parametrów testów diagnostycznych określających ich przydatność do rutynowych badań jest czułość i swoistość postanowiono porównać wyniki uzyskane w każdym zestawie immunochromatograficznym z wynikami odczytu ELISA firmy Euroimmun. Zestaw ELISA, oparty na białku S1 wirusa SARS-CoV-2, charakteryzujący się wysoką czułością i swoistością, potraktowano jako test odniesienia (test referencyjny). Ze względu na fakt, że wykrywalność przeciwciał klasy IgG w testach kasetkowych była dużo wyższa niż przeciwciał klasy IgM postanowiono określić czułość i swoistość wyłącznie dla tej klasy immunoglobulin.

Przeprowadzone badania wykazały niską czułość w stosunku do zestawu ELISA firmy Euroimmun wszystkich zestawów immunochromatograficznych (Tabela II). Najwyższą czułością charakteryzował się zestaw firmy DIAGNOSIS (64,5%), najniższą zaś zestaw firmy PCL (38,7%). Z drugiej strony swoistość wszystkich zestawów była bardzo wysoka, wynosząca w prawie wszystkich przypadkach 100%.

Wzajemne relacje wyników uzyskanych w poszczególnych zestawach immunochromatograficznych, osobno w klasie IgG i IgM, przedstawiono w tabelach III-IV. Przykładowo, warto zwrócić uwagę na porównanie wyników uzyskanych zestawem firmy DIAGNOSIS z wynikami uzyskanymi pozostałymi zestawami. W przypadku poszukiwania przeciwciał klasy IgG zestawem VAZYME uzyskano 82,4% wyników zgodnych, zestawem firmy PCL 78,4%, zestawem firmy ACCU-TELL 84,4%, zestawem firmy NOVAtest 75,0%, zestawem firmy BIOSENSOR 80,0% i zestawem firmy INGEZIM 86,7% wyników zgodnych z zestawem DIAGNOSIS (Tabela III). W przypadku poszukiwania przeciwciał klasy IgM zestawem VAZYME uzyskano 72,5% wyników zgodnych, zesta-

Tabela II. Porównanie wyników oznaczania szybkimi, kasetkowymi testami immunochromatograficznymi oraz testem ELISA firmy Euroimmun (test referencyjny) obecności przeciwciał klasy IgG dla wirusa SARS-CoV-2 w próbkach surowicy osób z COVID-19 (test INGEZIM klasy IgA/G/M).

Test kasetkowy	Klasa IgG	Odczyn ELISA Euroimmun IgG		Liczba (odsetek) wyników zgodnych	Czułość	Swoistość
		+	-			
VAZYME	+	35	1	68 (70,8%)	56,5%	97,1%
	-	27	33			
DIAGNOSIS	+	20	-	37 (77,1%)	64,5%	100%
	-	11	17			
PCL	+	12	-	30 (61,2%)	38,7%	100%
	-	19	18			
ACCU-TELL	+	10	-	19 (63,3%)	47,6%	100%
	-	11	9			
NOVATEST	+	12	-	21 (70,0%)	57,1%	100%
	-	9	9			
BIOSENSOR	+	13	-	26 (68,4%)	52,0%	100%
	-	12	13			
INGEZIM (IgA/IgM)	+	9	-	21 (75,0%)	56,3%	100%
	-	7	12			

wem firmy PCL 70,6%, zestawem firmy ACCU-TELL 71,9%, zestawem firmy NOVAtest 78,1%, zestawem firmy BIOSENSOR 80% i zestawem firmy INGEZIM 83,3% wyników zgodnych z zestawem DIAGNOSIS (Tabela IV).

W tabeli V przedstawiono wybrane wyniki uzyskane w poszczególnych zestawach immunochromatograficznych podczas badania próbek surowicy uzyskanych dwukrotnie od szpitalnych pacjentów chorych na COVID-19. W większości przypadków, badając pierwszą próbkę surowicy, uzyskaną zazwyczaj w ciągu kilku pierwszych dni od początku objawów klinicznych, uzyskano wynik ujemny zarówno w klasie IgG jak i IgM. W drugiej próbce surowicy, uzyskanej po 6 dniach od pierwszej, widać wyraźnie przyrost poziomu przeciwciał klasy IgG objawiający się w zestawach immunochromatograficznych jako prążek oceniany na plus (+) lub nawet dwa plusy (++). Na uwagę zasługuje fakt słabej wykrywalności w badanych próbkach surowicy przeciwciał klasy IgM. Najlepiej pod tym względem wypadły zestawy firmy NOVAtest oraz DIAGNOSIS, w których wykryto przeciwciała klasy IgM odpowiednio w 7 i 6 próbkach na 20 badanych. W pozostałych zestawach przeciwciała klasy IgM wykrywano sporadycznie. Częściej wynik interpretowany był jako wątpliwy, oceniany na +/- . Ciekawie wyglądają wyniki uzyskane podczas badania próbek surowicy uzyskanych od pacjenta z nr 10. W pierwszej próbce surowicy wynik dodatni, oceniony co więcej na dwa plusy, uzyskano tylko w zestawie firmy INGEZIM, wykrywającym wszystkie trzy klasy przeciwciał IgA, IgG i IgM. Jak

Tabela III. Porównanie wyników oznaczania szybkimi, kasetkowymi testami immunochromatograficznymi obecności przeciwciał klasy IgG dla wirusa SARS-CoV-2 w próbkach surowicy osób z COVID-19 (test INGEZIM klasy IgA/G/M).

Test	Klasa IgM	VAZYME		DIAGNOSIS		PCL		ACCU-TELL		NOVATEST		BIOSENSOR		INGEZIM	
		+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-
VAZYME	+	X	X	14	3	11	6	7	5	11	2	8	2	8	3
	-	X	X	6	28	2	32	3	17	1	18	1	24	1	18
DIAGNOSIS	+	14	6	X	X	11	9	10	5	10	5	8	6	8	3
	-	3	28	X	X	2	29	-	17	3	14	1	20	1	18
PCL	+	11	2	11	2	X	X	6	2	7	1	6	1	6	2
	-	6	32	9	29	X	X	4	18	6	18	3	25	3	19
ACCU-TELL	+	7	3	10	-	6	4	X	X	6	4	5	5	5	3
	-	5	17	5	17	2	18	X	X	7	15	4	15	4	12
NOVATEST	+	11	2	10	3	7	6	6	7	X	X	9	2	8	3
	-	1	18	5	14	1	18	4	15	X	X	-	18	1	12
BIOSENSOR	+	8	1	8	1	6	3	5	4	9	-	X	X	7	1
	-	2	24	6	20	1	25	5	15	2	18	X	X	1	18
INGEZIM	+	8	1	8	1	6	3	5	4	8	1	7	1	X	X
	-	3	18	3	18	2	19	12	3	3	12	1	18	X	X

wykazały dalsze badania przeprowadzone odczynem ELISA, za wynik dodatni w zestawie INZGEZIM, odpowiedzialne były przeciwciała klasy IgA, obecne na wysokim poziomie w obydwu próbkach surowicy.

Ważnych informacji dostarczyła również analiza częstości występowania wyników dodatnich w zależności od okresu choroby pacjentów z COVID-19, w którym uzyskano próbki surowicy do badania (Tabela VI). Przeciwciała klasy IgG znacząco częściej wykrywano, wszystkimi ocenianymi testami, w próbkach surowicy uzyskanych po co najmniej tygodniu od początku objawów klinicznych. Co ciekawe, w przypadku poszukiwania przeciwciał klasy IgM, uznawanej za pierwsze indukowane immunoglobuliny w przebiegu zakażenia, tylko w zestawie VAZYME wykrywano je częściej w próbkach surowicy uzyskanych w ostrej fazie choroby. W pozostałych testach, przeciwciała klasy IgM wyraźnie częściej wykrywano w próbkach surowicy uzyskanych po kolejnych kilku czy kilkunastu dniach trwania choroby.

Badanie swoistości diagnostycznej przy użyciu próbek surowicy uzyskanych od osób z grupy kontrolnej przeprowadzono tylko w przypadku zestawu immunochromatograficznego firmy VAZYME. Do tego celu wykorzystano łącznie 69 próbek surowicy osób z mykoplazmozą, krztuścem, legionellozą, jersiniozą czy też z chlamydia. Przeprowadzone badania wykazały obecność przeciwciał klasy IgM dla wirusa SARS-CoV-2 tylko w jednej próbce, natomiast przeciwciał klasy IgG w ani jednej próbce surowicy (odpowiednio swoistość 98,6% oraz 100%).

W dostępnym piśmiennictwie jest dużo opracowań dotyczących przydatności testów immunochromatograficznych w serodiagnostyce COVID-19. Poniżej przedstawiono tylko kilka wybranych.

Krone i wsp. (5) porównali wyniki uzyskane w trzech immunochromatograficznych testach serologicznych (Abbott PanBio COVID-19 IgG/IgM, Nadal COVID-19 IgG/IgM, Cleartest Corona 2019-nCoV IgG/IgM) z wynikami testu neutralizacji (PRNT50), który przyjęli za test odniesienia (złoty standard). Generalnie czułość wszystkich trzech testów była znacznie wyższa przy poszukiwaniu przeciwciał klasy IgG niż klasy IgM i wynosiła w przypadku testu Abbott odpowiednio 84,2% i 7,0%, w przypadku testu Nadal 86,0% i 66,7% oraz w przypadku testu Cleartest 89,5% i 21,1%. Swoistość testów Abbott i Nadal wynosiła 100%, natomiast testu Cleartest powyżej 90%. W badaniach autorów testy immunoenzymatyczne ELISA były czulsze niż szybkie testy kasetkowe.

de Almeida i wsp. (3) ocenili przydatność w serodiagnostyce COVID-19 czterech różnych testów immunochromatograficznych: MedTest IgG/IgM (MedLevensohn, Brazil), ECO Test IgG/IgM (Ecodiagnóstica, Brazil), Camtech Test IgM/IgG (Camtech Diagnostics Pte Ltd, Singapore) oraz Wondfo IgA/G/M (Biotech Co., China). Najwyższą czułością i swoistością w stosunku do testu RT-PCR charakteryzował się test Wondfo (odpowiednio 86,59% oraz 100%), najniższą zaś ECO Test (odpowiednio 81,71% oraz 78,38%). Według autorów szybkie testy immunochromatograficzne nie mogą zastąpić testów genetycznych, ale mogą być przydatne w diagnostyce zakażeń SARS-CoV-2.

W badaniach prowadzonych przez *Villarreal* i wsp. (12) wartość PPA (Positive Percent Agreement) testu immunochromatograficznego z testem RT-PCR podczas badania hospitalizowanych osób chorych na COVID-19 zależna była od czasu jaki upłynął od początku objawów klinicznych. Przypadku próbek uzyskanych w ciągu pierwszych 7 dni zgodność wynosiła 36,4%, w ciągu 8-14 dni 76,2% i powyżej 14 dni aż 87%.

Tabela IV. Porównanie wyników oznaczania szybkimi, kasetkowymi testami immunochromatograficznymi obecności przeciwciał klasy IgM dla wirusa SARS-CoV-2 w próbkach surowicy osób z COVID-19 (test INGEZIM klasy IgA/G/M).

Test	Klasa IgM	VAZYME		DIAGNOSIS		PCL		ACCU-TELL		NOVATEST		BIOSENSOR		INGEZIM	
		+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-
VAZYME	+	X	X	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	-	X	X	14	37	5	32	1	18	2	16	1	34	7	19
DIAGNOSIS	+	-	14	X	X	4	10	2	8	7	3	1	7	6	2
	-	-	37	X	X	5	32	1	21	4	18	-	27	3	19
PCL	+	-	5	4	5	X	X	-	2	1	1	-	2	1	1
	-	-	32	10	32	X	X	3	29	10	18	1	33	3	17
ACCU-TELL	+	-	1	2	1	-	3	X	X	1	2	2	1	2	1
	-	-	18	8	21	2	29	X	X	5	19	1	25	5	14
NOVATEST	+	-	2	7	4	1	10	1	5	X	X	1	-	6	3
	-	-	16	3	18	1	18	2	19	X	X	8	20	3	12
BIOSENSOR	+	-	1	1	-	-	1	2	1	1	-	X	X	1	1
	-	-	34	7	27	2	33	1	25	8	20	X	X	8	19
INGEZIM	+	-	7	6	3	1	3	2	5	6	3	1	8	X	X
	-	-	19	2	19	1	17	1	14	3	12	-	19	X	X

Tabela V. Wyniki oznaczania szybkimi, kasetkowymi testami immunochromatograficznymi obecności przeciwciał dla wirusa SARS-CoV-2 w próbkach surowicy uzyskanych dwukrotnie w odstępie 6 dni od 10 pacjentów szpitalnych chorych na COVID-19.

Pacjent	Próbka	VAZYME			DIAGNOSIS			PCL		ACCUTELL		NOVATEST		BIOSENSOR		INGEZIM
		IgG	IgM		IgG	IgM		IgG	IgM	IgG	IgM	IgG	IgM	IgG	IgM	
Nr1	1	+	-	-	-	+/-		+	-	-	-	+	+	++	+/-	-
	2	+	-	+	+	+		+	-	+/-	+/-	+	+	++	+/-	+
Nr2	1	-	-	-	-	-		-	-	+/-	+	-	-	-	-	-
	2	+	-	++	+	+		++	-	++	+/-	+	+	++	+	++
Nr3	1	-	-	-	-	-		-	-	-	-	-	-	-	-	-
	2	+	+/-	+	+	+		+/-	+	-	+/-	+	+	+/-	+/-	++
Nr4	1	-	-	-	-	-		-	-	-	-	-	-	-	-	BD
	2	+/-	-	+	+	+/-		+/-	+/-	-	-	+	+	+	-	BD
Nr5	1	-	-	-	-	+/-		-	-	-	-	-	-	-	-	-
	2	+/-	-	-	-	++		-	++	-	+/-	-	+/-	-	-	+/-
Nr6	1	-	-	-	-	-		-	-	-	-	-	-	-	-	-
	2	+	-	+	+	-		-	-	+	-	+/-	+	+/-	+/-	-
Nr7	1	+	-	+	+	+		+	-	++	+/-	+	+	+	-	+
	2	+	-	++	+	+		++	+/-	++	+	+	+	+	-	+
Nr8	1	-	-	-	-	-		-	-	-	-	-	-	-	-	-
	2	-	-	++	-	-		+	-	+	-	-	-	-	+/-	+/-
Nr9	1	-	-	-	-	+/-		-	-	-	-	+/-	-	-	-	-
	2	+/-	-	+/-	+	+/-		-	-	-	-	+	+/-	+/-	+/-	+/-
Nr10	1	-	-	-	-	-		-	-	-	-	+	+	++	+/-	++
	2	+	-	+	+	+/-		-	-	-	-	+	+	++	+/-	++

Tabela VI. Wyniki oznaczania szybkimi, kasetkowymi testami immunochromatograficznymi obecności przeciwciał dla wirusa SARS-CoV-2 w próbkach surowicy uzyskanych w różnych okresach choroby od osób z COVID-19

Test	Liczba dni od początku objawów	Liczba próbek surowicy	Liczba (odsetek) próbek z wynikiem dodatnim	
			IgG	IgM
VAZYME	<7 dni	72	20 (27,8%)	10 (13,9%)
	>7 dni	35	19 (54,3%)	2 (5,7%)
DIAGNOSIS	<7 dni	25	5 (20,0%)	3 (12,0%)
	>7 dni	26	15 (57,7%)	11 (42,3%)
PCL	<7 dni	25	5 (20,0%)	-
	>7 dni	26	8 (30,8%)	4 (15,4%)
ACCU-TELL	<7 dni	16	3 (18,8%)	1 (6,3%)
	>7 dni	16	7 (43,8%)	2 (12,5%)
NOVATEST	<7 dni	16	3 (18,8%)	3 (18,8%)
	>7 dni	16	10 (62,5%)	8 (50,0%)
BIOSENSOR	<7 dni	19	4 (21,1%)	-
	>7 dni	22	11 (50,0%)	1 (4,5%)
INGEZIM	<7 dni	15	3 (20,0%)	
	>7 dni	15	6 (40,0%)	

Pecoraro i wsp. (8) w swoich badaniach wykorzystali dwa testy immunochromatograficzne: COVID-19 IgG/IgM Rapid Test Prima Lab SA oraz Techno Genetics KHB Group—Shangai. Czułość testów u objawowych pacjentów z COVID-19 wynosiła odpowiednio 85,4% i 78,6%, a swoistość odpowiednio 89% i 94%. Autorzy konkludują, że można poszukiwać przy użyciu testów kasetkowych przeciwciał klasy IgG już 6 dni od początku objawów klinicznych. Czułość testów w przypadku poszukiwania przeciwciał klasy IgM był niska.

Kuna i wsp. (6) ocenili przydatność ośmiu różnych testów serologicznych, w tym trzech testów immunochromatograficznych, w serodiagnostyce COVID-19. Wykazali wysoką zgodność uzyskanych wyników pomiędzy różnymi testami tylko w przypadku poszukiwania przeciwciał klasy IgG. Czułość ocenianych testów immunochromatograficznych wynosiła ponad 85%, ale zależna była w dużej mierze od okresu choroby. Przykładowo, czułość testu Encode COVID-19 IgM/IgG podczas badania próbek uzyskanych 1-3 dni od początku objawów klinicznych wynosiła w klasie IgM i IgG 16%, podczas badania próbek uzyskanych w ciągu 4-7 dni odpowiednio 87% i 92,8% i podczas badania próbek uzyskanych powyżej 8 dni 90%.

Podsumowując uzyskane w prezentowanej pracy rezultaty, należy zwrócić uwagę na duże rozbieżności pomiędzy wynikami testów genetycznych RT-PCR i szybkich, kasetkowych testów immunochromatograficznych. Jest to w głównej mierze związane z kinetyką odpowiedzi humoralnej w przebiegu zakażenia wirusem SARS-CoV-2, co ogranicza

przydatność testów wykrywających przeciwciała do badania wyłącznie próbek uzyskanych w późniejszej fazie choroby. Poważnym ograniczeniem stosowania testów serologicznych do diagnostyki COVID-19 jest również słaba stymulacja przeciwciał u osób, którzy przebyli zakażenie bezobjawowo lub z bardzo słabo wyrażonymi objawami klinicznymi. Co więcej, jak wykazały badania własne i innych autorów, testy kasetkowe odbiegają dodatkowo czułością od testów immunoenzymatycznych ELISA czy też testów CLIA. Istotne są również spore różnice pomiędzy przydatnością testów immunochromatograficznych różnych producentów do rutynowej diagnostyki. Osobnym problemem jest także generalnie bardzo niska czułość testów kasetkowych w przypadku poszukiwania przeciwciał klasy IgM. Z powyższych względów testy kasetkowe nie nadają się szybkiej diagnostyki aktualnie trwającego zakażenia wirusem SARS-CoV-2 i nie mogą być alternatywą dla testów genetycznych czy nawet antygenowych. Ze względu na dostępność, prostotę wykonania i szybkość uzyskania wyniku testy kasetkowe mogą być jednak wykorzystane do retrospektywnego badania obecności przeciwciał klasy IgG u osób, które przeszły chorobę bądź zostały zaszczepione przeciwko COVID-19. Z powodu wysokiej swoistości, uzyskanie wyniku dodatniego świadczy o kontakcie układu immunologicznego z antygenami wirusa. Ujemny wynik testu kasetkowego, w przypadku podejrzenia przebiecia choroby lub po szczepieniu, powinien być jednak potwierdzony bardziej czułymi testami serologicznymi.

PIŚMIENNICTWO

1. Cheng MP, Papenburg J, Desjardins M i inni. Diagnostic Testing for Severe Acute Respiratory Syndrome–Related Coronavirus-2: A Narrative Review. *Ann. Intern. Med.* 2020. DOI: 10.7326/ M20-1301.
2. CliniSciences SARS-CoV-2 (Covid-19): Diagnosis by IgG/IgM Rapid Test. <https://www.clinisciences.com/it/read/newsletter-26/sars-cov2-covid-19-diagnosis-by-2264.html>.
3. de Almeida SM, Spalanzani RN, Nogueira MB i inni. Rapid Serological Tests for SARS-CoV-2: Diagnostic Performance of 4 Commercial Assays. *Med Princ Pract* 2021; DOI: 10.1159/000516776
4. Johns Hopkins Center for Health Security. Serology testing for COVID-19; <https://www.centerforhealthsecurity.org/resources/COVID-19/COVID-19-fact-sheets/200228-Serology-testingCOVID.pdf>
5. Krone M, Güttling J, Wagener J i inni. Performance of Three SARS-CoV-2 Immunoassays, Three Rapid Lateral Flow Tests, and a Novel Bead-Based Affinity Surrogate Test for the Detection of SARS-CoV-2 Antibodies in Human Serum. *J Clin Microbiol* 2021; 59: 319-21.
6. Kuna AT, Milena Hanžek M, Ines Vukasović I i inni. Comparison of diagnostic accuracy for eight SARS-CoV-2 serological assays. *Biochem Med* 2021; 31: 010708 doi: 10.11613/BM.2021.010708.
7. Patel R, Babady E, Theel ES i inni. Report from the American Society for Microbiology COVID-19 International Summit, 23 March 2020: Value of Diagnostic Testing for SARS-CoV-2/COVID-19

8. Pecoraro V, Cassetti T, Meacci M i inni. Accuracy of the serological detection of IgG and IgM to SARS-Cov-2: a prospective, cross-sectional study. *Eur J Clin Microbiol & Infect Dis* 2021; <https://doi.org/10.1007/s10096-021-04224-3>
9. Rastawicki W, Rokosz-Chudziak N. Charakterystyka oraz ocena przydatności serologicznych testów w diagnostyce zakażeń wywołanych przez koronawirus SARS-CoV-2 na podstawie dostępnych danych producentów i przeglądu piśmiennictwa. *Przegl Epidemiol* 2020; 74: 113-32.
10. To KK, Tsang OT, Leung WS i inni. 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)
11. Vashist SK. In Vitro Diagnostic Assays for COVID-19: Recent Advances and Emerging Trends. *Diagnostics* 2020, 10, 202; doi:10.3390/diagnostics10040202.
12. Villarreal A, Rangel G, Xu Zhang X i inni. Performance of a Point of Care Test for Detecting IgM and IgG Antibodies Against SARS-CoV-2 and Seroprevalence in Blood Donors and Health Care Workers in Panama 2021 *Front Med* 2021; 8: 616106
13. Zhengtu Li, Yongxiang Yi, Xiaomei Luo i inni. Development and clinical application of a rapid IgM-IgG combined antibody test for SARS-CoV-2 infection diagnosis. *J Med Virol* 2020.

Otrzymano: 23 VIII 2021

Adres Autora: 00-791 Warszawa, ul. Chocimska 24, Zakład Bakteriologii i zwalczania Skażeń Biologicznych, Narodowy Instytut Zdrowia Publicznego PZH – Państwowy Instytut Badawczy.