

# Význam stanovení protilátek proti SARS-CoV-2

Hana Zelená

Sdružení mikrobiologů, imunologů a statistiků





## Náměstkyně Vašáková: Protilátky nejsou totéž co imunita, test na ně neuznáme

## Protilátky budoucí vláda uznávat chce. Zahrne je do certifikátů

© 24. listopadu 2021 12:19



Lidé s prokázanými protilátkami mají naději na certifikát o bezinfekčnosti. Budoucí vláda chce protilátky zohledňovat. Samotné určení hladiny protilátek v krvi ale podle kandidáta na ministra zdravotnictví Vlastimila Válka neznamena, že se člověk nemůže nakazit covidem, mít těžký průběh, či dokonce zemřít.



Protilátky budoucí vláda uznávat chce. Zahrne je do certifikátů | (1:55) | video: ČTK

## Protilátky neuznáme, ale ulevíme s počtem dávek vakcín, naznačil Vojtěch

© 13. září 2021 9:06, aktualizováno 11:30



iDNES.tv



ADAM VOJTĚCH /NESTR. ZA ANO/

MINISTR ZDRAVOTNICTVÍ

## Válek smetl ze stolu uznávání protilátek, kvůli omikronu nevrátí ani uznávání PCR testů

VARIANTA OMIKRON



Jsem **PRO** očkovaná,  
mám **PROTI** látky.



*Lenka Petroušová*  
Lenka Petroušová, primářka  
Kliniky infekčního lékařství,  
Fakultní nemocnice Ostrava

Když se spojí pro a proti.

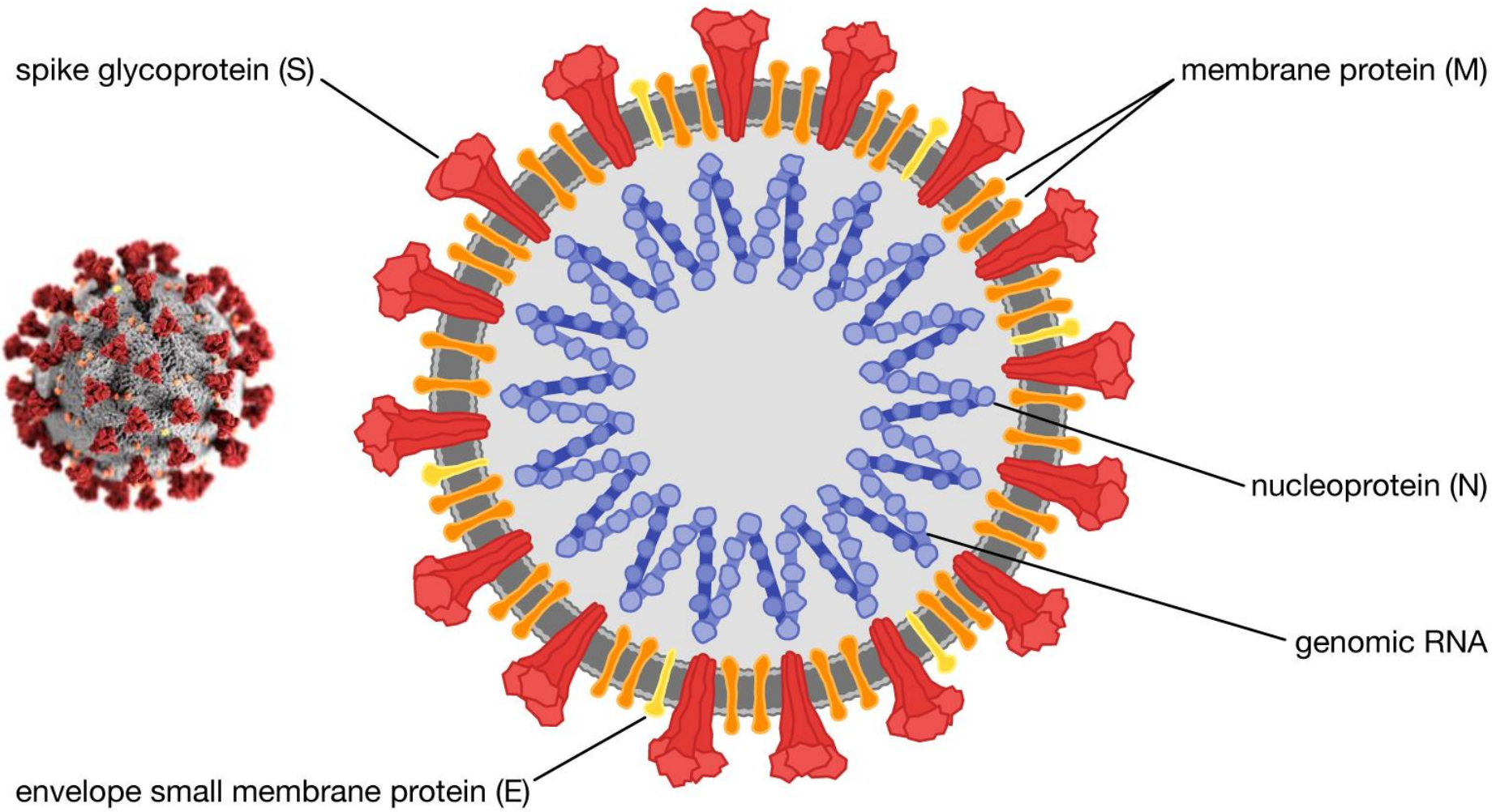
**NE** Jsem **PRO** očkovaná,  
a také mám **PROTI** látky.

Když se spojí pro a proti.

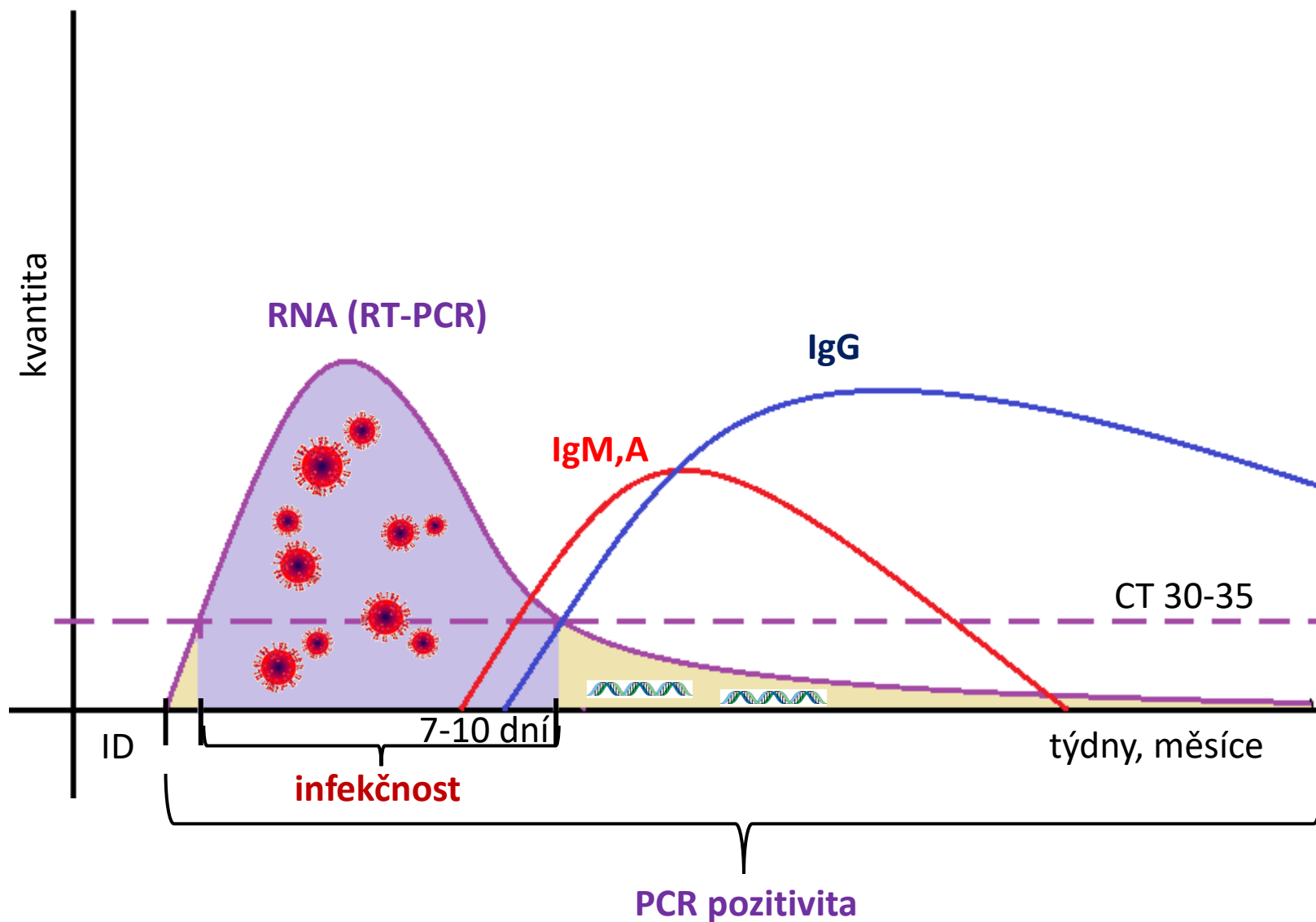




# Severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2)

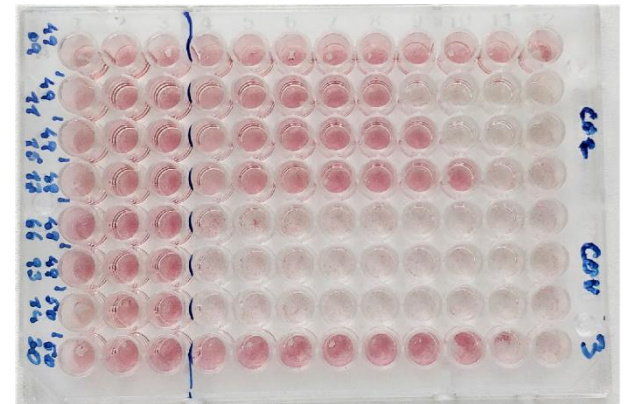


# Dynamika tvorby protilátek anti-SARS-CoV-2



# Neutralizační protilátky

- IgG, IgM, IgA
- Vážou se především na RBD/S1 protein
- Brání vazbě na receptory a vstupu viru do buňky
- Jejich přítomnost je surogátním ukazatelem buněčné imunity a imunologické paměti.
- Chrání buňky před biologickým efektem viru → zábrana CPE → protektivní účinek



**„Přítomnost neutralizačních protilátek proti SARS-CoV-2 je v současné době nejlepším dostupným ukazatelem ochrany před reinfekcí u dříve infikovaných jedinců, respektive před průlomovou infekcí u vakcinovaných.“**

<https://www.ecdc.europa.eu/en/covid-19/latest-evidence/immune-responses>

# ELISA, CLIA, CMIA

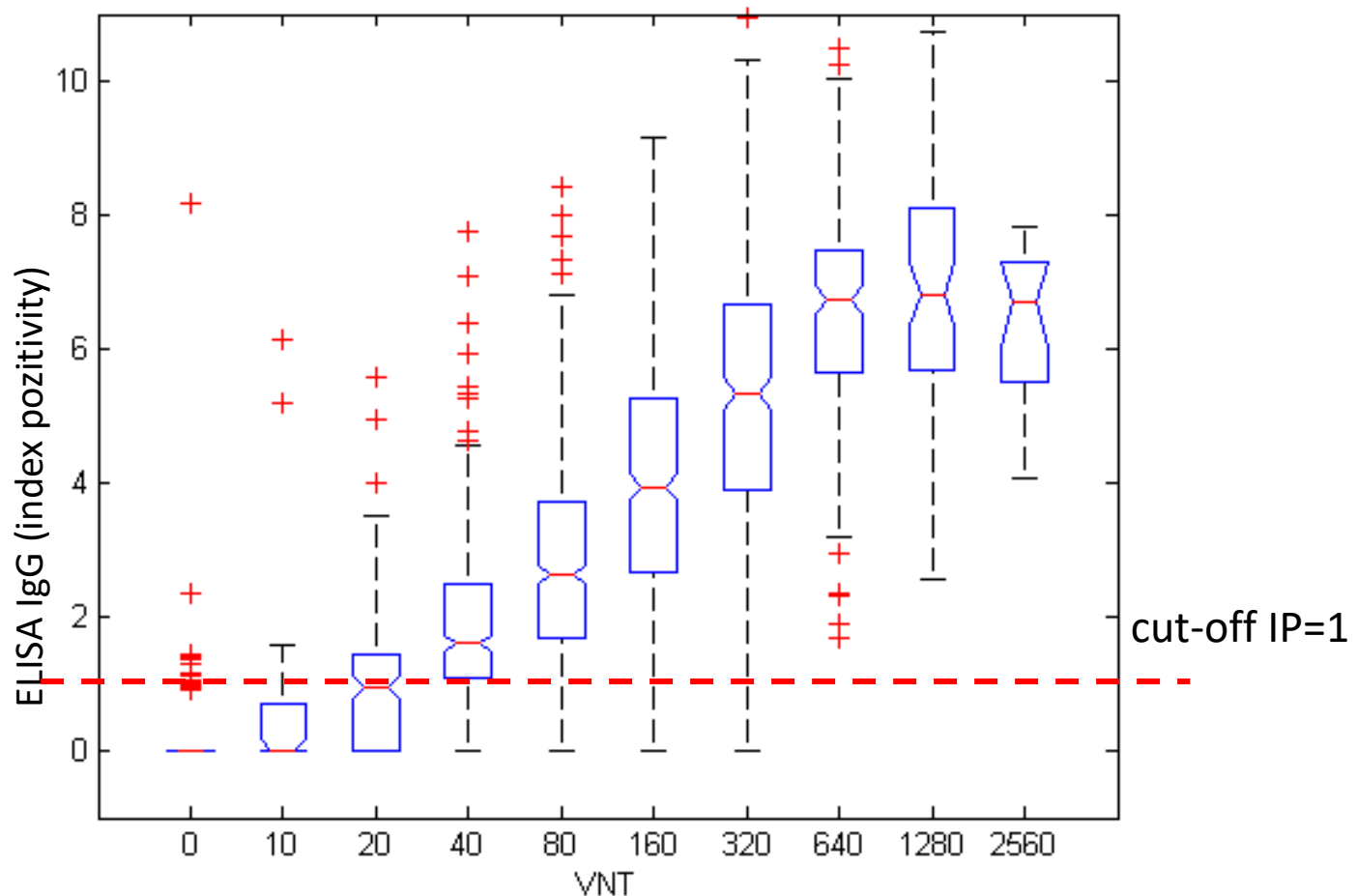
- Hodnotí se intenzita signálu změřená přístrojem.
- Cut-off = mez positivity
- Může nastat nespecifická vazba protilátek, zkřížená reakce (většinou slabá).
- Různí výrobci, různé jednotky.
- **Nejlepší korelaci s VNT mají soupravy na detekci IgG anti S, S1 nebo RBD.**



**Jde o nalezení takové hodnoty intenzity signálu, která odpovídá s vysokou pravděpodobností přítomnosti neutralizačních (ochranných) protilátek.**



## Korelace ELISA IgG anti-S1 (Euroimmun) a VNT



- Z 1925 osob pozitivních v IgG/ELISA (IP>1,1) jen 17 osob nemělo pozitivní VNT.
- Jakákoliv pozitivita IgG je tedy s 99 % pravděpodobností indikátorem nenulového VNT a tedy protektivní protilátkové imunity.
- 16 % vzorků s negativním výsledkem IgG má pozitivní VNT.

# Význam stanovení protilátek

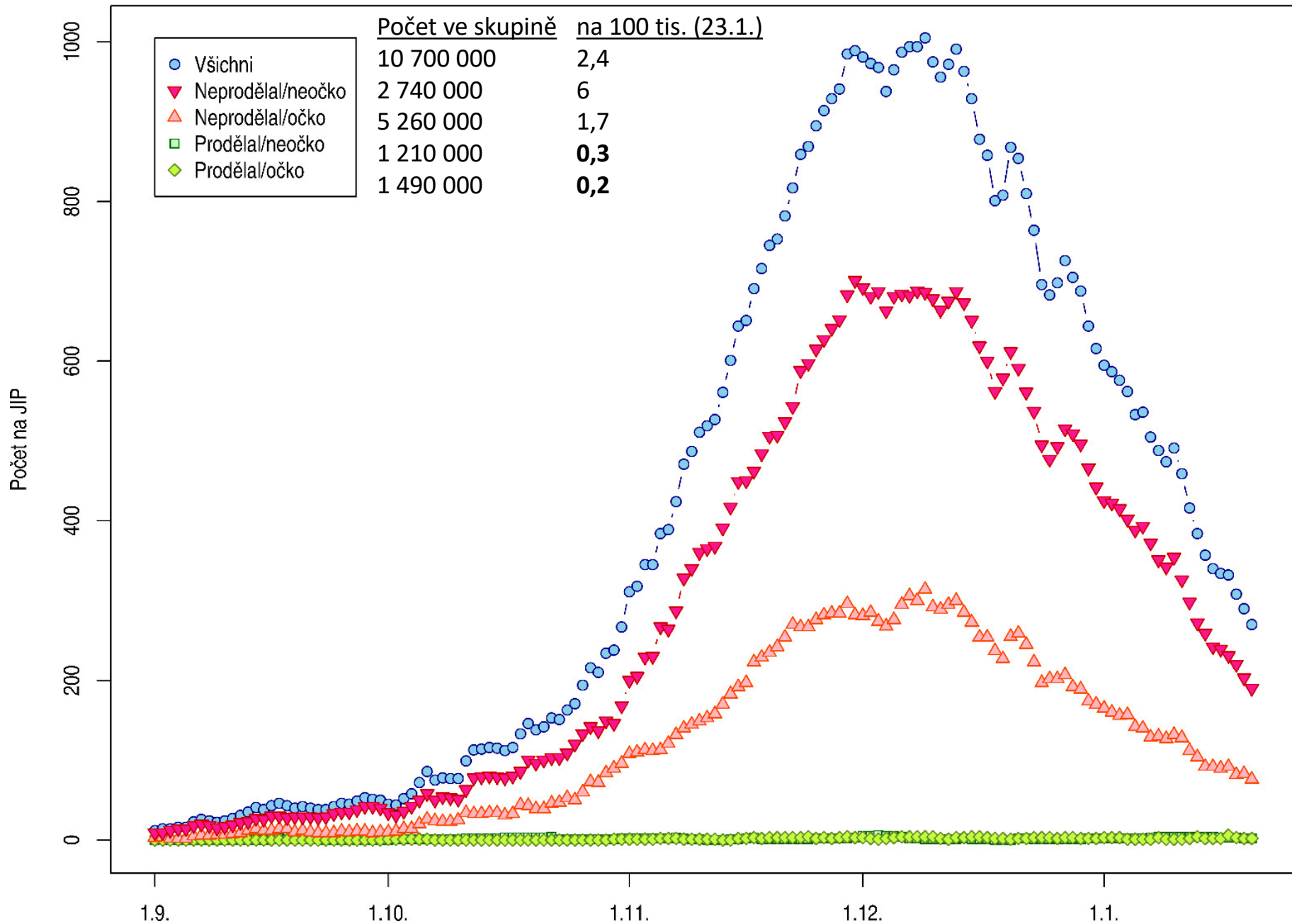
1. Protilátky jako diagnostický marker prodělané infekce
2. Protilátky jako korelát protiinfekční ochrany
3. (Vyšetření dárců rekonvalescentní plazmy)

# Diagnostický marker prodělané infekce u neočkovaných osob

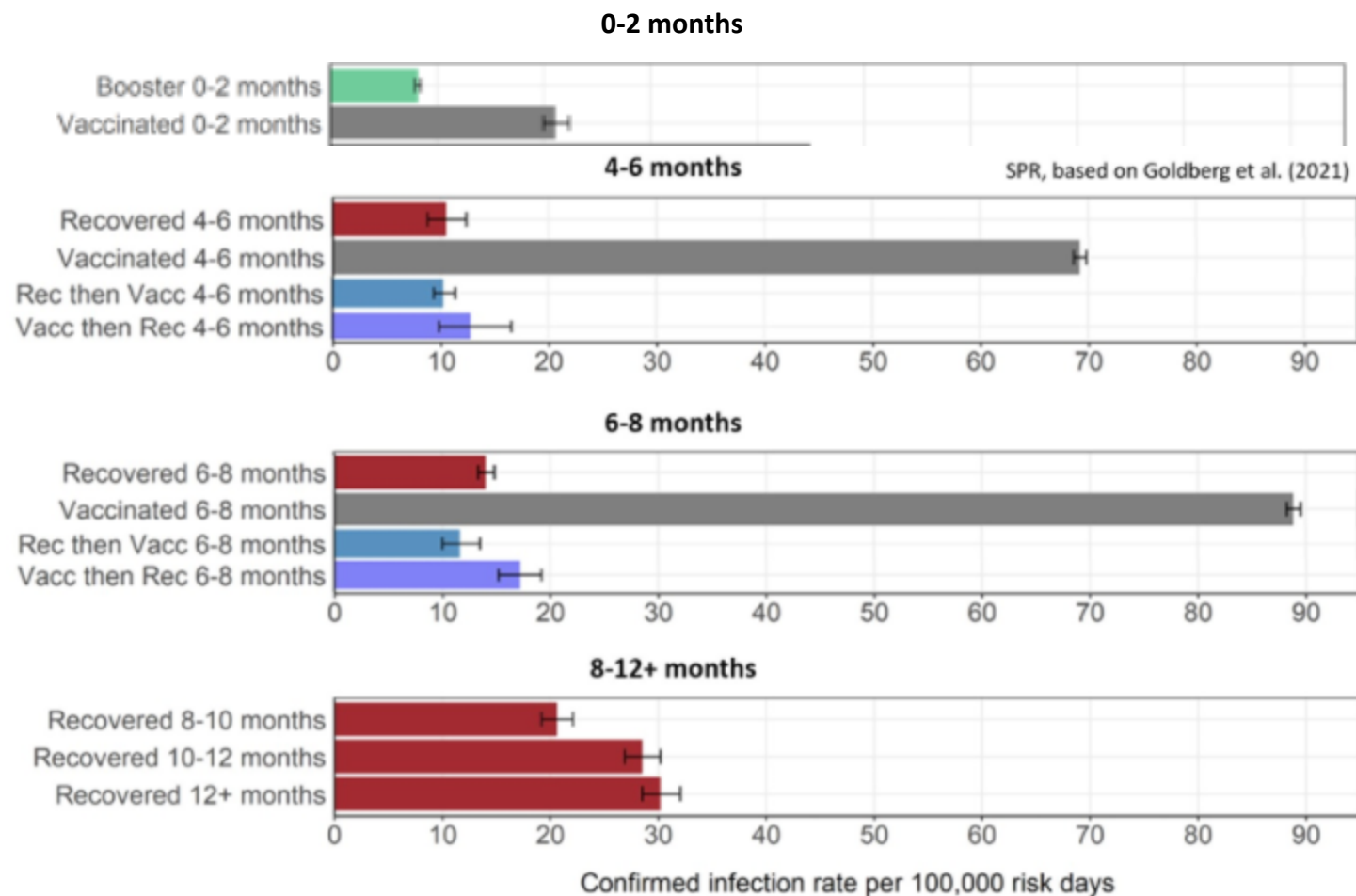
- **Pozitivita protilátek IgG anti S/RBD je důkazem o proběhlé infekci a významným prediktorem ochrany před vážným průběhem C19.**
- Protilátky jsou **spolehlivějším důkazem o proběhlé infekci a následné imunitní odpovědi než** pouhá pozitivita **PCR.**
- Je zároveň surrogátním markerem komplexní imunitní odpovědi (slizniční, buněčné).

**Není rozhodující hladina protilátek, jakékoliv naměřené množství protilátek je důkazem o proběhlé infekci.**

# COVID-19 pacienti na JIP od 1.9.2021





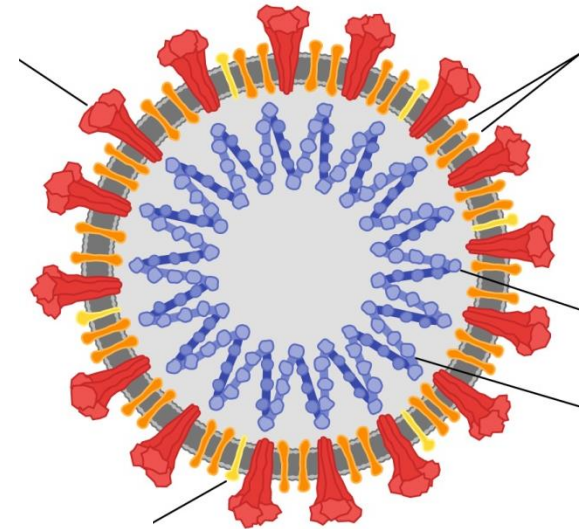


Graf 1 – Riziko infekce u osob po prodělaném covid, po vakcinaci, po covid a vakcinaci, po vakcinaci a covid – data převzatá z grafu 3 v publikaci Goldberg et al., upravil R.Straka

Figure 3: Estimated covariate-adjusted rates of confirmed infections per 100,000 at-risk days obtained from the Poisson regression analysis for the study period August 1, 2021, to September 30, 2021, stratified by sub-cohorts. Confidence intervals are not adjusted for multiplicity.

# Jak zjistit prodělání infekce u očkovaných? (nemají-li pozitivní výsledek PCR)

- **Očkování** mRNA nebo vektorovými vakcínami  
→ protilátky pouze **proti S proteinu**
- **Prodělání** infekce → protilátky **proti různým virovým antigenům**
- Protilátky **anti-NP** IgG, IgM - **jen po prodělání infekce**
  - netvoří všichni
  - dříve vymizí



Tutukina M, et al. IgG Antibodies Develop to Spike but Not to the Nucleocapsid Viral Protein in Many Asymptomatic and Light COVID-19 Cases. *Viruses*. 2021 Sep 28;13(10):1945. doi: 10.3390/v13101945. PMID: 34696374; PMCID: PMC8539461.

Gallais F et al. Evolution of antibody responses up to 13 months after SARS-CoV-2 infection and risk of reinfection. *EBioMedicine*. 2021 Sep;71:103561. doi: 10.1016/j.ebiom.2021.103561. Epub 2021 Aug 27. PMID: 34455390; PMCID: PMC8390300.

# Protilátky jako korelát protektivity

- především **u očkovaných**, kteří neprodělali infekci
- infekce → příznaky → **vážný průběh**
- pokusy o nalezení tzv. **protektivní hladiny**
- **neutralizační protilátky (VNT)**
- **nutná standardizace jednotek podle WHO standardu**
  - **1000 IU/mL** (neutralizační protilátky)
  - **1000 BAU/mL** (vazebné protilátky IgG anti S/RBD)
- míra ochrany klesá s časem a s klesající hladinou protilátek a s novými variantami

Khoury DS et al. Neutralizing antibody levels are highly predictive of immune protection from symptomatic SARS-CoV-2 infection. Nat Med. 2021 Jul;27(7):1205-1211. doi: 10.1038/s41591-021-01377-8. Epub 2021 May 17. PMID: 34002089.

### **Snížení pravděpodobnosti jakéhokoliv onemocnění o 50 %**

- 20 % průměrné hodnoty neutralizačních protilátek rekonvalescentů
- Odpovídá VNT titru 10-30
- Odpovídá 54 IU/mL (BAU)

### **Snížení pravděpodobnosti závažného onemocnění o 50 %**

- 3 % průměrné hodnoty neutralizačních protilátek rekonvalescentů
- Odpovídá VNT titru 1-4
- Odpovídá 8 IU/mL (BAU)

**Jakákoliv pozitivní hodnota protilátek představuje spolehlivou ochranu před vážným průběhem.**



Bergwerk M et al. Covid-19 Breakthrough Infections in Vaccinated Health Care Workers. N Engl J Med. 2021 Oct 14;385(16):1474-1484. doi: 10.1056/NEJMoa2109072. Epub 2021 Jul 28. PMID: 34320281; PMCID: PMC8362591.

- průlomové infekce u 39 z 1497 plně očkovaných zdravotníků, 1/3 bez příznaků, 2/3 lehké příznaky
- sledování 14 týdnů
  
- Periinfekční hladina titru neutralizačních protilátek do 1 týdne před PCR pozitivitou (GMT)
  - 193 (68-550) u průlomových infekcí
  - 534 (408-698) u kontrol
- Vrcholová hladina titru neutralizačních protilátek do měsíce po 2. dávce (GMT)
  - 152 (31-759) u průlomových infekcí
  - 1028 (762-1386) u kontrol

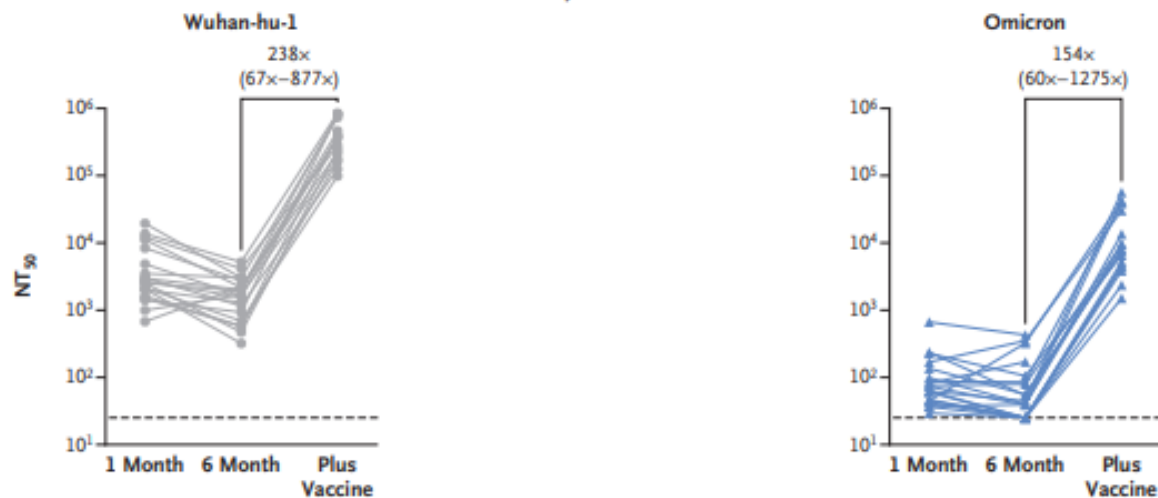
**Lepším prediktorem průlomové infekce je vrcholová hladina po 2. dávce vakcíny než hladina periinfekční.**

Lau EH et al. Long-term persistence of SARS-CoV-2 neutralizing antibody responses after infection and estimates of the duration of protection. *EClinicalMedicine*. 2021 Nov;41:101174. doi: 10.1016/j.eclinm.2021.101174. Epub 2021 Oct 30. PMID: 34746725; PMCID: PMC8556690.

- Hranici pro 50%-ní redukci rizika nákazy odpovídá neutralizační titr 25,9 (PRNT 50)

A co omikron?

**A Unvaccinated Persons Given mRNA Vaccine after Recovery from Covid-19**



**B Persons Given mRNA Vaccine and Booster**



**Figure 1. Wuhan-hu-1, PMS20, and Omicron Plasma Neutralizing Titers.**

Panel A shows the trajectories of NT<sub>50</sub> values against Wuhan-hu-1, polmutant spike protein (PMS20), and omicron pseudotypes in previously unvaccinated persons who had recovered from Covid-19, measured approximately 1 month (mean ±SD, 41±12 days) and 6 months (194±12 days) after infection and then at approximately 1 year (360±15 days) after infection, which corresponded to 41±21 days after vaccination ("plus vaccine") (see Table S2). Panel B shows the trajectories of NT<sub>50</sub> values against Wuhan-hu-1, PMS20, and omicron pseudotypes in persons who had received an mRNA vaccine, measured 1 month (42±19 days) and 5 months (165±33 days) after the second dose of an mRNA vaccine and at 30±18 days after the third dose ("boost") that was administered at least 6 months after the second dose.

Schmidt F et al. PD. Plasma Neutralization of the SARS-CoV-2 Omicron Variant. N Engl J Med. 2021 Dec 30:NEJMc2119641. doi: 10.1056/NEJMc2119641. Epub ahead of print. PMID: 35030645; PMCID: PMC8757565.

Boost – 1 měsíc



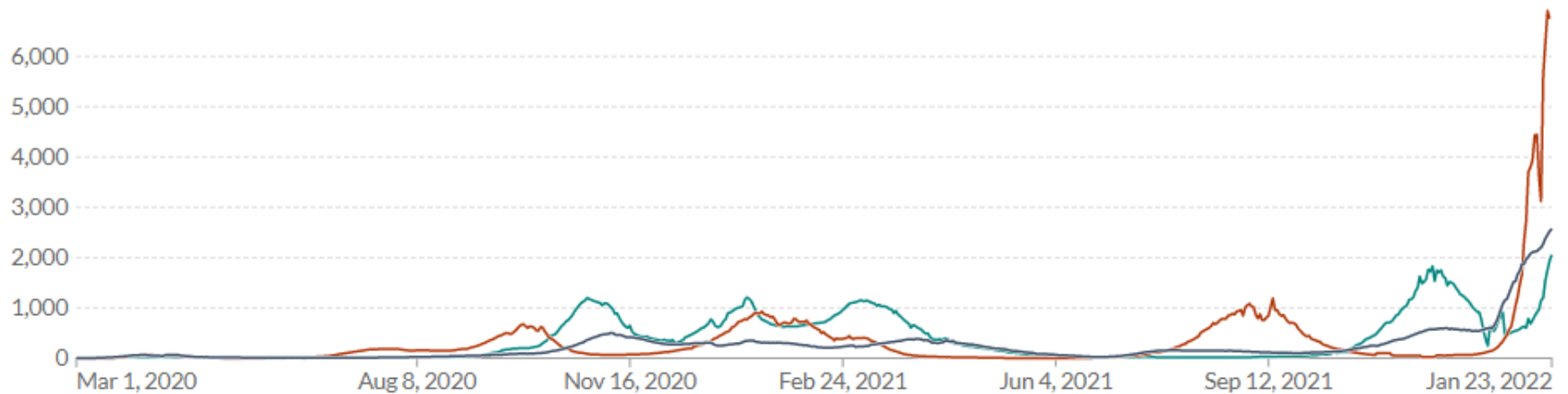
# Daily new confirmed COVID-19 cases & deaths per million people

7-day rolling average. Limited testing and challenges in the attribution of cause of death means the cases and deaths counts may not be accurate.

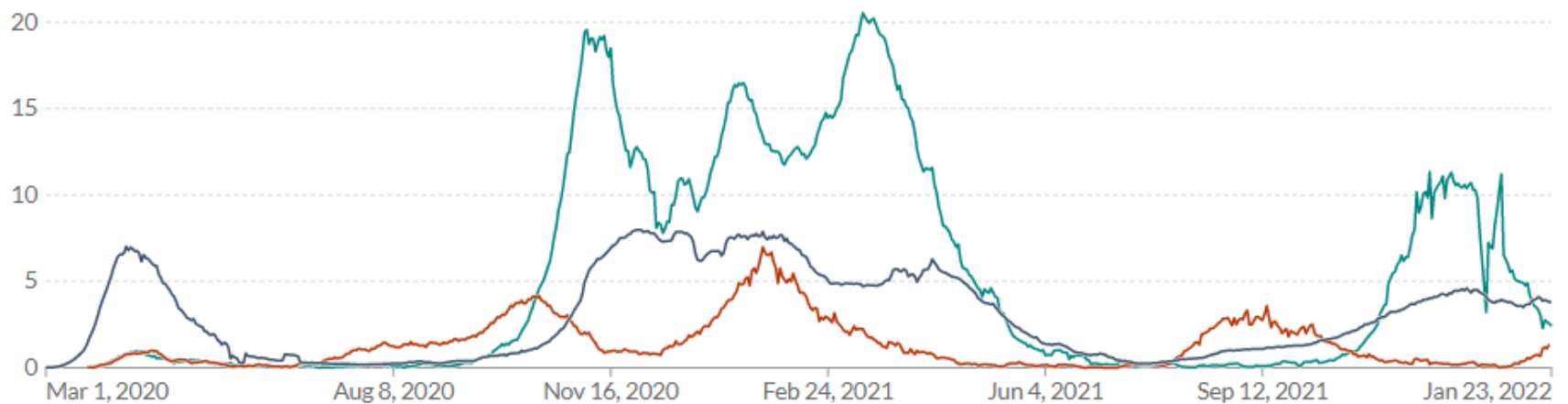
**LINEAR** LOG  Uniform y-axis

■ European Union ■ Israel ■ Czechia

## New cases (per 1M)



## New deaths (per 1M)



Source: Johns Hopkins University CSSE COVID-19 Data

CC BY

▶ Jan 29, 2020  Jan 23, 2022

CHART

TABLE

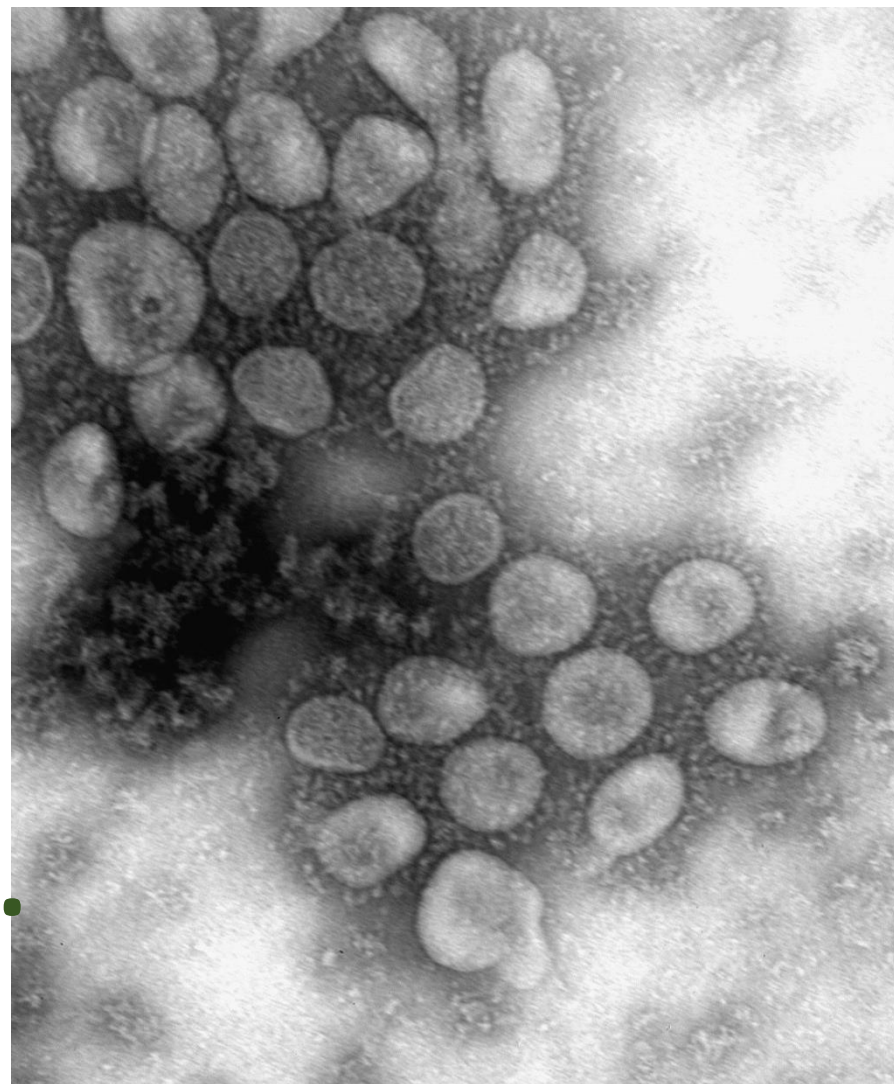
SOURCES

↓ DOWNLOAD



# Závěrem

- Otázka uznávání či neuznávání protilátek je irelevantní.
- Protilátky jsou u nevakcinovaných osob jednoznačným diagnostickým markerem prodělané infekce a vysoce spolehlivým prediktorem ochrany před vážným průběhem nemoci C19.
- U vakcinovaných osob lze prodělanou infekci prokázat pomocí protilátek anti-NP.
- Za protektivní hladinu před vážným průběhem nemoci lze považovat hodnotu VNT 20 nebo více.
- Pro ochranu před jakoukoliv symptomatickou infekcí musí být zřejmě hodnota VNT vyšší (160-320).
- Imunita navozená vakcinací nebo po prodělání starších variant nechrání před infekcí omikronem, ale zabraňuje vážnému průběhu.
- Stanovení protilátek je užitečnou informací pro pacienta či lékaře, ale nesmí sloužit jako podklad pro povolení či zákaz aktivit běžného života.



**Děkuji za pozornost.**