



ČESKÁ LÉKAŘSKÁ SPOLEČNOST J. E. PURKYNĚ

Společnost pro lékařskou mikrobiologii

Komentáře k mikrobiologické diagnostice onemocnění COVID-19, vypracované jako **odborné stanovisko Společnosti pro lékařskou mikrobiologii**, jejímž jedním z hlavních cílů je dbát na správnou laboratorní praxi ve vztahu k diagnostice infekčních onemocnění:

Jak lze diagnostikovat akutní respirační onemocnění COVID-19 způsobené SARS-CoV-2?

Diagnostika je v akutním stádiu onemocnění obdobně jako v případě jiných respiračních infekcí virového původu (např. chřipky A a B či infekce způsobené respiračním syncytiálním virem) založena na přímém průkazu viru (tj. celých virových částic nebo jejich součástí). Díky rozvoji exaktních metod molekulární genetiky převládá v dnešní době varianta založená na detekci části virů, a to jejich nukleové kyseliny. Laboratorní metodou volby je metoda PCR, lépe řečeno jako u jiných RNA virů PCR s reverzní transkripcí (RT-PCR). Uvádí se, že u minimálně 70 % pacientů jsou vzorky dýchacích cest v prvním týdnu onemocnění pozitivní metodou PCR. Pozitivita může dokonce být zaznamenatelná v rozmezí 0 až 3 dny před rozvojem klinických příznaků. Pokud je výsledek PCR u pacienta s vysokou mírou podezření na COVID-19 negativní, pak je doporučen odběr nového vzorku a opakování testu (ref. 3).

Lze diagnostikovat akutní fázi respiračního onemocnění COVID-19 pomocí detekce protilátek?

Detekce protilátek, které imunitní systém tvoří na základě jeho setkání s virovými antigeny, se řadí mezi metody nepřímého průkazu viru. Tvorba protilátek třídy IgM, tzv. časných protilátek, je obecně detekovatelná až po uplynutí 1 až 2 týdnů od chvíle, kdy je imunitní systém vystaven virové infekci; přesmyk ve smyslu tvorby protilátek třídy IgG, které zůstávají v lidském těle dlouhodobě a mohou sloužit jako ochranné protilátky pro případ nové nákazy, pak nastává s ještě delším časovým odstupem. Z toho vyplývá, že detekce protilátek nemůže sloužit jako časný diagnostický test pro infekce s inkubační dobou v řádu dnů až 2 týdnů. Uvádí se, že v případě nemoci COVID-19 se IgM protilátky objevují nejdříve za 3 až 5 dní od nástupu klinických příznaků (ref. 1); jiné prameny uvádějí detekovatelnost dokonce až za 10 dní (ref. 2). K přesmyku tvorby protilátek IgG dochází 2. až 4. týden po nástupu klinických příznaků. Tzv. "rychlometry" principiálně nemohou zachytit onemocnění v jeho akutní fázi a nemohou tak suplovat časnou diagnostiku, založenou na přímém průkazu viru. Detekce specifických protilátek IgM a sérokonverze či nárůst titru specifických IgG je pro diagnostické účely prospěšná až v pozdější fázi onemocnění (ref. 1).

Jaký klinický materiál je vhodný pro diagnostiku COVID-19 za použití metody přímého průkazu?

Vzhledem k tomu, že se respirační viry množí v epiteliálních buňkách dýchacích cest, je žádoucí provést výtěr z nosohltanu (přístupný přes nosní dutinu), kde se nachází epitel s řasinkovými buňkami (ref. 4). Jako doplňující materiál k výtěru z nosohltanu lze přidat výtěr ze střední části hltanu (přístupný přes ústní dutinu), kde lze předpokládat přítomnost virových partikulí díky proudění vydechaného vzduchu. Oba odebrané výtěry lze zanořit do společné zkumavky s tekutým virovým transportním médiem. Materiál je do doby zpracování nutné uchovávat při



ČESKÁ LÉKAŘSKÁ SPOLEČNOST J. E. PURKYNĚ

Společnost pro lékařskou mikrobiologii

chladničkové teplotě. Dalším vhodným materiálem k vyšetření je při příznacích postižení dolních cest dýchacích sputum, endotracheální aspirát a bronchoalveolární laváž. Odběr dalších klinických vzorků (např. stolice, moč, krev) u hospitalizovaných pacientů může být prospěšný z hlediska sledování dynamiky vylučování viru ve fázi rekonvalescence.

Jaká je vhodná odběrová souprava pro výtěr z nosohltanu (a hltanu), který slouží k diagnostice metodou PCR?

Požadovány jsou výtěrky na plastové tyčince zakončené jemným kartáčkem ze syntetického materiálu jako např. nylon, dacron, polyester či rayon. Nelze využít vatu ani výtěrovou soupravu na špejli. Dřevo i vata jsou známými inhibitory reakce PCR (ref. 7).

Jaké jsou požadavky na zacházení se vzorky určené na vyšetřování COVID-19 v mikrobiologické laboratoři?

Se vzorky je třeba zacházet dle pravidel pro možnou vzdušnou a kontaktní nákazu, a to zejména při manipulaci s primárním vzorkem před jeho inaktivací, kdy je nutné pracovat v biohazardním boxu třídy II a používat dostatečné osobní ochranné pomůcky k ochraně dýchacích cest, očí a rukou (tzv. lokální režim BSL-3). Při dalších manipulacích s již inaktivovaným materiálem je nutné dodržovat postupy odpovídající režimu BSL-2.

Je užitečné vyšetřit metodou PCR bezpříznakového jedince s podezřením na COVID-19?

Podezření na COVID-19 u daného jedince vyplývá z jeho nedávné epidemiologické anamnézy, tedy pokud se dotýčným v posledních 14 dnech nacházel v užším kontaktu s osobou, prokázaně nemocnou COVID-19. Za takový případ lze považovat i kontakt zdravotníků s nemocným bez použití odpovídajících osobních ochranných pomůcek. Bezpříznakového jedince lze otestovat v době trvání inkubační doby, která je pro COVID-19 stanovena na 1 až 14 dní, s vědomím, že výsledek testu odráží pouze okamžitý zdravotní stav v době odběru materiálu (ref. 3). Bereme-li v potaz medián inkubační doby, který je 5 až 6 dní od nákazy (ref. 3), pak se jako první vhodný den k vyšetření jedince bez příznaků nabízí 4. až 5. den; negativní výsledek však nelze interpretovat jako důvod pro předčasné ukončení karantény. Jedince lze teoreticky testovat opakovaně s frekvencí každý druhý den, ovšem vzhledem k omezeným kapacitám testovacích míst i laboratorních pomůcek nelze tento přístup považovat za univerzální a plošně aplikovatelný.

Na základě jakých laboratorních kritérií je pacient s COVID-19 považován za uzdraveného?

Doposud je za jedinou validní hodnotu považován výsledek PCR z výtěru z nosohltanu, který musí být 2x negativní v odstupu minimálně 24 hodin (ref. 1, 5). První kontrolní náběr u pacientů s příznaky je vhodné provést po odeznění příznaků v minimálním odstupu 7 dní od jejich začátku anebo v minimálním odstupu 3 dní od vymizení horečky. U bezpříznakových jedinců se doporučuje provést první kontrolní náběr s odstupem 14 dní od prvního pozitivního testu (ref. 6).



ČESKÁ LÉKAŘSKÁ SPOLEČNOST J. E. PURKYNĚ

Společnost pro lékařskou mikrobiologii

Vypracovali:

Prof. MUDr. Pavel Dřevínek, PhD.
Předseda Společnosti pro lékařskou mikrobiologii ČLS JEP
Ústav lékařské mikrobiologie 2. LF UK a FN Motol

MUDr. Barbora Macková
vedoucí Centra epidemiologie a mikrobiologie, SZÚ

MUDr. Petr Hubáček, Ph.D.
Ústav lékařské mikrobiologie 2. LF UK a FN Motol

Schváleno Výborem SLM ČLS JEP dne 25. března 2020

Reference:

- 1/ Chinese Clinical Guidance for COVID-19 Pneumonia diagnosis and Treatment (7th Edition). March 4, 2020
- 2/ Handbook of COVID-19 Prevention and Treatment. Zhejiang University School of Medicine.
- 3/ Laboratory testing for COVID-19 in suspected human cases. WHO guidance. March 19, 2020
- 4/ Interim Guidelines for Collecting, Handling, and Testing Clinical Specimens from Persons for COVID-19. Centres for Disease Control and Prevention. March 21, 2020
- 5/ Laboratory support for COVID-19 in the EU/EAA. European Centre for Disease Prevention and Control.
- 6/ Discharge criteria for confirmed COVID-19 cases. European Centre for Disease Prevention and Control.
- 7/ Sidstedt et al. PCR inhibition in qPCR, dPCR and MPS-mechanisms and solutions. Analytical nad Bioanalytical Chemistry. 2020.

Prof. MUDr. Pavel Dřevínek, Ph.D.
2. LF UK a Fakultní nemocnice v Motole
Ústav lékařské mikrobiologie
V Úvalu 84, 150 06 Praha 5
tel: +420 224435390
e-mail: pavel.drevinek@lfmotol.cuni.cz

Prof. MUDr. Milan Kolář, Ph.D.
Lékařská fakulta UP v Olomouci a Fakultní nemocnice Olomouc
Hněvotínská 3, 775 15 Olomouc
tel: +420 585 63 2407 (2402),
fax: +420 585 63 2417
e-mail: kolar@fnol.cz