

Snabbtest för covid-19-antikroppar bör utföras av utbildad personal

KAN ANVÄNDAS I STOR SKALA, MEN VIKTIGT ATT FÖRSTÅ TESTENS BEGRÄNSNINGAR OCH KUNNA TOLKA RESULTATEN KORREKT

Otto Stackelberg, med dr, affilierad forskare, ST-läkare i kärnkirurgi, Södersjukhuset; Karolinska institutet, Stockholm
 ● otto.stackelberg@sil.se

Mouna Esmaeilzadeh, med dr, affilierad forskare, leg läkare, Uppsala universitet

Björn Olsen, professor, överläkare, Infektionsmedicin, institutionen för medicinska vetenskaper, Uppsala universitet; Akademiska sjukhuset, Uppsala

Åke Lundkvist, professor, institutionen för medicinsk biokemi och mikrobiologi, Zoonosis Science Center (ZSC), Uppsala universitet

På den svenska marknaden kommer det ut allt fler patientnära snabbtest för att upptäcka antikroppar mot sars-cov-2 som ett tecken på genomgången covid-19. För att kunna tolka testen adekvat krävs kunskap om immunförsvaret mot sjukdomen, vad förekomst av antikroppar säger om eventuellt skydd vid återinsjuknande samt hur testens prestanda påverkar risken för falska resultat.

Som del av immunförsvaret bildar våra B-celler olika antikroppsklasser, så kallade immunglobuliner. Immunglobulin M (IgM) ingår i vårt primära immunförsvaret som svar på ett infekterande antigen. Om IgM binder till ett antigen prolifererar B-cellen och antikropparna kan ombildas till immunglobulin G (IgG), vår vanligaste antikropp. Det finns övertygande data om att vi utvecklar antikroppar mot sars-cov-2 efter genomgången covid-19. Till skillnad från många andra virussjukdomar verkar dock inte uppmätbara titrar av IgG alltid föregås av IgM, då man även observerat det omvända förhållandet samt synkron konvertering av de två [1]. Vid symptomatisk sjukdom har man detekterat specifika antikroppar efter 4–5 dagar, och dag 11–24 förefaller > 90 procent testa positivt för någon av de två antikroppstyperna. IgM har setts hos 70 procent av symptomatiska patienter dag 8–14 efter symptomdebut och hos 94 procent efter ca 3 veckor. IgG-reaktivitet verkar uppnås hos > 98 procent efter ett par till flera veckor [1–8].

Hur länge antikropparna mot sars-cov-2 kvarstår är inte känt, och kunskapen bygger främst på extrapolering från tidigare coronavirusinfektioner. I studier av överlevare från sars-epidemierna har förekomst av antikroppar påvisats i 2–17 år efter exponering [9–11]. Efter mers (Mellanöstern-respiratoriskt syndrom) och andra coronavirusinfektioner verkar nivåerna avta inom 1–3 år [12, 13].

För immunitet mot ny infektion med samma virus förutsätts dessutom att antikropparna är neutraliserande, det vill säga kan hindra viruset från att ta sig in i värdcellen. Även icke-neutraliserande antikroppar kan dock spela en viktig roll för att rekrytera andra immunförsvarsceller och leda till lindrigare symptom vid en eventuell reinfektion [13]. Att antikropparna mot sars-cov-2 är neutraliserande har bekräftats i djurförsök [14], och man identifierade nyligen en human monoklonal IgG-antikropp som neutraliserar viruset [15].

I en studie av 175 tillfrisknade covid-19-patienter observerades att samtliga patienter utvecklade neutraliserande antikroppar [16]. Sammantaget är det

sannolikt att en individ har helt eller partiellt skydd vid återinfektion i covid-19, men hur länge skyddet kvarstår är än så länge okänt [17].

Antikropsanalyser

Den mest pålitliga antikroppstestningen genomförs med enzymkopplad immunoabsorberande analys (ELISA) eller Luminex-baserad teknologi. Analyserna görs ofta på laboratorier och kan både detektera och kvantifiera antikroppar eller antigener. Antikroppar kan också detekteras med laterala flödesprov, vilka används brett inom olika typer av patientnära analyser såsom urinantigentest för pneumokocker eller test för grupp A-streptokocker. För antikroppar fungerar testen principiellt på samma sätt som ELISA. De innehåller ett eller flera antigener kopplade till ett konjugat, och om provmaterialet innehåller antikroppar mot antigenet bildar dessa tillsammans ett komplex som med hjälp av konjugatet färgar testlinjerna. Vid serologiska snabbtest har man ofta en testlinje för IgM- och en för IgG-antikroppar. Då bildandet av antikroppar är tidsberoende är diagnostiken begränsad till patienter med längre sjukdomsduration. Inom 7 dagar från symptomdebut har RT-PCR (PCR med omvänd transkription) högre sensitivitet än antikroppstest [3, 18, 19], och efter 8 dagar råder det motsatta [3, 18].

Sensitivitet och specificitet

Med ett tests prestanda åsyftas främst dess sensitivitet och specificitet. Sensitivitet är sannolikheten för positivt resultat när man har antikroppar. Låg sensitivitet innebär alltså risk för falskt negativa resultat, vilket kan innebära karantän vid förkylningssymtom trots att den testade har skydd mot sjukdomen. Vid sensitivitet < 100 procent kommer andelen negativa resultat som är falska att vara högre ju vanligare sjukdomen är i den population man testar.

Specificitet är sannolikheten för negativt resultat

HUVUDBUDSKAP

- Antikroppstestning efter genomgången covid-19 verkar ha högre sensitivitet än RT-PCR (PCR med omvänd transkription) från ca 8 dagar efter symptomdebut.
- Kommersiella snabbtest kan användas i stor skala, men endast av utbildad personal som förstår testets begränsningar och kan tolka resultatet. Man bör försäkra sig om testets prestanda, som är tillverkarberoende, före användning.

när man inte utvecklat antikroppar. Låg specificitet innebär alltså risk för falskt positiva resultat, vilket kan innebära att testpersonen blir felaktigt diagnostiserad med antikroppar och därmed kan få en falsk säkerhet av att vara immun [4, 20]. Detta skulle kunna förklaras av korsreaktivitet med humana coronavirus, som beräknas vara den näst vanligaste förkylningspatogena [21]. Vid en specificitet < 100 procent kommer andelen positiva resultat som är falska att vara lägre ju vanligare sjukdomen är i den population man testar. Det är alltså högre risk för ett falskt positivt resultat hos en individ med liten sannolikhet för att ha haft covid-19 (till exempel någon som varit mycket strikt i sociala kontakter och inte haft några symtom) jämfört med en individ som med stor sannolikhet har haft sjukdomen (till exempel vid typiska symtom och hög exponering för viruset). Ytterligare analys med ELISA eller Luminex-baserad teknik kan vara ett bra komplement vid misstanke om falskt positivt resultat.

Snabbtestens prestanda

Statens Serum Institut i Danmark och Norsk kvalitetsförbedring av laboratorieundersökningar (NOKLUS) har utvärderat snabbtest från 5 respektive 11 olika fabrikanter i Kina och fann att prestandan var tillverkarberoende [6, 22]. Jämfört med ELISA hade testen från tre av tillverkarna en sensitivitet > 90 procent och en specificitet på 100 procent [6]. Flera tillverkares test uppvisade oacceptabelt låg specificitet (67-87 procent) för testning av covid-19 givet de konsekvenser ett falskt positivt svar kan innebära [6, 22]. I Uppsala har man jämfört test från ytterligare en tillverkare med RT-PCR. Sensitiviteten var 69 procent för IgM och 93,1 procent för IgG, och specificiteten var 100 procent för IgM och 99,2 procent för IgG [23]. Samma test har även jämförts med ELISA, och där observerades en sensitivitet på 89,4 procent för IgM och 91,6 procent för IgG (100 procent sammanlagt om symtom > 14 dagar) och en specificitet på 100 procent för både IgM och IgG

[24]. Resultaten från valideringsstudier bör tolkas med viss försiktighet givet de relativt små patientunderlagen. På Folkhälsomyndighetens webbplats finns tillgång till löpande sammanställning av produkter avsedda att påvisa antikroppar vid covid-19 [17].

Sammanfattningsvis förefaller antikroppstestning för covid-19 vara bättre än RT-PCR från 8 dagar efter symptomdebut och framåt [3, 18]. Nyligen genomgången infektion innebär sannolikt helt eller delvis skydd mot återinfektion på grund av förekomst av antikroppar. Antikroppstest bör därmed ha en plats i framtida riskstratifiering av covid-19, främst för att underlätta planering och resurssättning på arbetsplatser men även för att stilla den enskilda individens oro för att drabbas av sjukdomen. Till dess att antikropparnas neutraliserande kapacitet och varaktighet är närmare kartlagd bör vetskap om det individuella provsvaret inte ersätta de skyddsåtgärder som tillämpas för att minska smitta generellt i samhället.

Det finns tillgängliga snabbtest med goda prestanda som förefaller vara ett fullgott komplement till laboratoriebundna serologiska test. Som vårdgivare bör man förvissa sig om det enskilda testets prestanda före användning och förstå hur prestandan samt sjukdomsprevalensen i testad population påverkar tolkningen. Låg specificitet innebär risk för falska positiva svar och riskerar att inge den testade falsk förhoppning om immunitet. Låg sensitivitet innebär att man kommer att missa patienter som har utvecklat antikroppar, vilket försvagar indikationen att ens testade patienten. Snabbtest för covid-19 bör inte genomföras tidigare än två veckor efter symptomdebut och bör enbart utföras av utbildad personal som förstår testets begränsningar och kan tolka resultatet på ett adekvat sätt. ○

● Potentiella bindningar eller jävsförhållanden: Otto Stackelberg och Mouna Esmailzadeh är medicinska rådgivare för Noviral Sweden.

Citera som: *Läkartidningen*. 2020;117:20078

REFERENSER

- Long QX, Liu BZ, Deng HJ, et al. Antibody responses to SARS-CoV-2 in patients with COVID-19. *Nat Med*. Epub 29 apr 2020. doi: 10.1038/s41591-020-0897-1.
- Zhang W, Du RH, Li B, et al. Molecular and serological investigation of 2019-nCoV infected patients: implication of multiple shedding routes. *Emerg Microbes Infect*. 2020;9(1):386-9.
- Zhao J, Yuan Q, Wang H, et al. Antibody responses to SARS-CoV-2 in patients of novel coronavirus disease 2019. *Clin Infect Dis*. Epub 28 mar 2020. doi: 10.1093/cid/ciaa344.
- Li Z, Yi Y, Luo X, et al. Development and clinical application of a rapid IgM-IgG combined antibody test for SARS-CoV-2 infection diagnosis. *J Med Virol*. Epub 27 feb 2020. doi: 10.1002/jmv.25727.
- To KK, Tsang OT, Leung WS, et al. 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;20(5):565-74.
- Lassaunière R, Frische A, Harboe ZB, et al. Evaluation of nine commercial SARS-CoV-2 immunoassays. *Medrxiv*. Epub 10 apr 2020. doi:10.1101/2020.04.09.20056325.
- Haveri A, Smura T, Kuivaniemi S, et al. Serological and molecular findings during SARS-CoV-2 infection: the first case study in Finland, January to February 2020. *Euro Surveill*. 2020;25(11).
- Sethuraman N, Jeremiah SS, Ryo A. Interpreting diagnostic tests for SARS-CoV-2. *JAMA*. Epub 6 maj 2020. doi: 10.1001/jama.2020.8259.
- Wu LP, Wang NC, Chang YH, et al. Duration of antibody responses after severe acute respiratory syndrome. *Emerg Infect Dis*. 2007;13(10):1562-4.
- Poh CM, Carissimo G, Wang B, et al. Potent neutralizing antibodies in the sera of convalescent COVID-19 patients are directed against conserved linear epitopes on the SARS-CoV-2 spike protein. *Biorxiv*. Epub 13 mar 2020. doi: 10.1101/2020.03.30.015461.
- Mo H, Zeng G, Ren X, et al. Longitudinal profile of antibodies against SARS-coronavirus in SARS patients and their clinical significance. *Respirology*. 2006;11(1):49-53.
- Payne DC, Iblan I, Rha B, et al. Persistence of antibodies against Middle East respiratory syndrome coronavirus. *Emerg Infect Dis*. 2016;22(10):1824-6.
- Callow KA, Parry HF, Sergeant M, et al. The time course of the immune response to experimental coronavirus infection of man. *Epidemiol Infect*. 1990;105(2):435-46.
- Bao L, Deng W, Gao H, et al. Reinfection could not occur in SARS-CoV-2 infected rhesus macaques. *Biorxiv*. Epub 14 mar 2020. doi: 10.1101/2020.03.13.990226.
- Wang C, Li W, Drabek D, et al. A human monoclonal antibody blocking SARS-CoV-2 infection. *Biorxiv*. Epub 12 mar 2020. doi: 10.1101/2020.03.11.987958.
- Wu F, Wang A, Liu M, et al. Neutralizing antibody responses to SARS-CoV-2 in a COVID-19 recovered patient cohort and their implications. *Medrxiv*. Epub 20 apr 2020. doi: 10.1101/2020.03.30.20047365.
- Nationell strategi för utökad prövtagning och laboratorieanalys av covid-19. Version 3, 2020-05-05. Solna/Östersund: Folkhälsomyndigheten; 2020. Artikelnr 20057.
- Guo L, Ren L, Yang S, et al. Profiling early humoral response to diagnose novel coronavirus disease (COVID-19). *Clin Infect Dis*. Epub 21 mar 2020. doi: 10.1093/cid/ciaa310.
- Cassaniti I, Novazzi F, Giardina F, et al; Members of the San Matteo Pavia COVID-19 Task Force. Performance of VivaDiag COVID-19 IgM/IgG Rapid Test is inadequate for diagnosis of COVID-19 in acute patients referring to emergency room department. *J Med Virol*. Epub 30 mar 2020. doi: 10.1002/jmv.25800.
- Okba NMA, Müller MA, Li WT, et al. SARS-CoV-2 specific antibody responses in COVID-19 patients. *Medrxiv*. Epub 20 mar 2020. doi: 10.1101/2020.03.18.20038059.
- Mäkelä MJ, Puhakka T, Ruuskanen O, et al. in the etiology of the common cold. *J Clin Microbiol*. 1998;36(2):539-42.
- Tollånes MC, Bakken Kran AM, Abildsnes E, et al. Evaluation of eleven rapid tests for detection of antibodies against SARS-CoV-2. Bergen: Norwegian Organization for Quality Improvement of Laboratory Examinations (Noklus); 2020.
- Hoffman T, Nissen K, Krambrich J, et al. Evaluation of a COVID-19 IgM and IgG rapid test; an efficient tool for assessment of past exposure to SARS-CoV-2. *Infect Ecol Epidemiol*. 2020;10(1):1754538.
- GeurtsvanKessel CH, Okba NMA, Igloi Z, et al. Towards the next phase: evaluation of serological assays for diagnostics and exposure assessment. *Medrxiv*. Epub 5 maj 2020. doi: 10.1101/2020.04.23.20077156.

SUMMARY

Rapid point-of-care serology testing for sars-cov-2

Increasing evidence indicates immunity against severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (sars-cov-2) after covid-19, but it remains unclear for how long the protection remains. Serology testing seems to have a higher sensitivity than molecular diagnostics from 8 days after onset of symptoms, and should be part of risk assessment and epidemiological studies of COVID-19. The performance of commercial serological point-of-care (POC) lateral flow tests are highly manufacturer-dependant. Low sensitivity increases the risk of false negative results and could result in unnecessary quarantine of test persons with developed antibodies. Low specificity increases the risk of false positive results and could lead to false assumptions of immunity. Carefully selected serological POC tests for sars-cov-2 can be used in large scale testing but should only be used by licensed medical staff able to understand their limitations and interpret the results.