

Poznámky: Krátká et al 2021 - Protilátky po prodělané infekci poskytují dostatečnou a dlouhodobou ochranu proti onemocnění COVID-19

Zdroj:

<https://zuova.cz/Home/Clanek/protilatky-po-prodelane-infekci-poskytuji-dostatecnou-a-dlouhodobou-ochranu-proti-onemocneni-covid-19>

Protilátky po prodělané infekci poskytují dostatečnou a dlouhodobou ochranu proti onemocnění COVID-19

Datum: 28. 7. 2021

Zuzana Krátká ^{1,2}, Václav Fejt ^{1,3}, Radek Kučera ^{4,5}, Tomáš Fürst ^{1,6}, Hana Zelená ^{1,7,8}

¹ SMIS - Sdružení mikrobiologů, imunologů a statistiků

² Imunologická laboratoř GENNET, s.r.o., Praha

³ Oddělení společných laboratoří, Nemocnice Havlíčkův Brod

⁴ Oddělení imunochemické diagnostiky, Fakultní nemocnice, Plzeň

⁵ Ústav farmakologie a toxikologie, Karlova Univerzita, Lékařská fakulta, Plzeň

⁶ Katedra matematické analýzy a aplikací matematiky Přírodovědecké fakulty Univerzity Palackého v Olomouci

⁷ Centrum klinických laboratoří, Zdravotní ústav se sídlem v Ostravě

⁸ Lékařská fakulta, Ostravská univerzita

Abstrakt

Jedním ze základních projevů adaptivní antiinfekční imunity je tvorba specifických protilátek. Jejich výskyt můžeme detekovat v séru a slouží jednak jako jedno z diagnostických kritérií potvrzujících prodělaní virové nemoci, ale také často i k potvrzení imunity vůči danému onemocnění. S příchodem onemocnění COVID-19 jako by tato učebnicová teze přestala platit. Mezi odbornou i laickou veřejností se šíří informace, které měření protilátek a jejich význam opakovaně zpochybňují. Cílem našeho článku je shrnout aktuální informace o imunitě po prodělané infekci virem SARS-CoV-2 a předložit výsledky vyšetřování protilátek ze čtyř českých laboratoří, které se jejich stanovení věnují déle než rok. Z našich dat vyplývá, že běžně dostupné diagnostické metody spolehlivě predikují výsledky virus neutralizačního

testu, který je zlatým standardem stanovení imunity. Akceptací přirozeně získané antiinfekční imunity výrazně zvýšíme počet osob, které se podílejí společně s osobami očkovanými na kolektivní imunitě.

Klíčová slova:

SARS-CoV-2, COVID-19, protilátky, neutralizační, imunoglobulin G, reinfekce, COVID-19 vakcinace, koronavirus

Summary:

One of the basic manifestations of an adaptive anti-infective immunity is the production of specific antibodies. The presence of antibodies can be detected in serum and serves as one of the diagnostic tools used to confirm past infection. Very often it also serves as a confirmation that the body has acquired immunity to the disease. The appearance of COVID-19 has cast a shadow of doubt on these textbook examples of antibody behaviour. Information that repeatedly questions antibody measurement and its significance has been circulating among professionals and the general public.

The aim of our article is to summarize the current knowledge on the immunity acquired following a SARS-CoV-2 infection and to present the results of antibody testing from four Czech laboratories which have been measuring these antibodies for over a year. Our data suggest that commonly available diagnostic methods reliably predict the results of a virus neutralization test, which is the gold standard of immunity detection. By acknowledging those with naturally acquired anti-infective immunity, in addition to vaccinated individuals, we will significantly increase the perceived level of collective immunity.

Key words:

SARS-CoV-2, COVID-19, antibodies, neutralizing, immunoglobulin G, reinfection, COVID-19 vaccines, coronavirus

Úvod

Po infekci SARS-CoV-2 nebo po očkování se vyvíjí specifická imunitní odpověď, která by měla potlačit primární infekci a nastavit dlouhodobou ochranu proti koronaviru. Primárně se imunitní systém brání vstupu infekce přirozenou imunitou (produkci interferonů na sliznicích, aktivaci komplementu apod.). Po aktivaci specifické imunity dochází u většiny pacientů k tvorbě protilátek a aktivaci T buněčné imunity. Protilátky se vyskytují u většiny pacientů, ale existují jedinci, kteří prokazatelně infekci SARS-CoV-2 prodělali (měli klinické příznaky a pozitivní výsledek PCR nebo antigenních testů z výtěru z nosohltanu), ale protilátky v séru nemají. Mají však aktivovanou T buněčnou imunitu, kterou je možné prokázat různými typy testů. Pomocí nich se po krátkodobé kultivaci krve nebo izolovaných lymfocytů s koronavirovými antigeny sleduje buď produkce cytokinů (IFN-gama) nebo se stanovuje počet aktivovaných T lymfocytů (cytometricky či metodou ELISPOT). Specifická humorální a buněčná imunitní reakce vytvořená v reakci na první infekci se postupně přetváří v dlouhodobou imunitu. Díky ní se osoba umí lépe bránit opakovanému výskytu patogenu.

Dlouhodobou imunitní odpověď zajišťují paměťové B lymfocyty a paměťové T lymfocyty. Paměťové B buňky a plazmocyty se podílejí na produkci protilátek. Zatímco paměťové Th2 buňky podporují tvorbu protilátek, cytotoxické T lymfocyty (Tc) svým cytotoxickým účinkem zabíjejí infikované buňky. V laboratoři umíme stanovit množství cirkulujících protilátek a nebo zjistit přítomnost specifických T buněk (nebo stanovit produkci jimi tvořených cytokinů), ale diskuse se vedou o správném nastavením hranice „protektivní imunity“. ECDC za spolehlivý důkaz protektivity považuje výskyt tzv. neutralizačních protilátek proti SARS-CoV-2 (1). Neutralizační protilátky představují nejlepší indikátor ochrany proti

reinfekeci u osob po prodělaném onemocnění a ochrany před infekcí u osob vakcinovaných (1). Neutralizační protilátky se stanovují virus neutralizačním testem (VNT), tedy funkčním in vitro testem, při kterém se zjišťuje, jestli dané sérum pacienta (resp. protilátky v něm přítomné) ochrání buněčnou kulturu před virovou infekcí. Pokud jsou v séru neutralizační protilátky, pak buňky zůstanou živé, protože se virus nenamnoží. Pokud v séru neutralizační protilátky přítomné nejsou, virus buňky napadne, namnoží se v nich a buňky odumřou (2).

Podrobné informace o tom, jak protilátky vznikají a jaká je jejich kinetika, poskytuje systematický přehled 150 studií popisujících protilátkovou odpověď vůči SARS-CoV-2 (3). V průběhu infekce se (na rozdíl od očkování) netvoří jen jeden typ protilátek (tzv. monoklonální protilátky), ale hned několik typů namířených proti různým virovým antigenům (tzv. polyklonální protilátky). Nejdůležitější jsou protilátky proti spike proteinu (S, resp. S1 podjednotce), receptor binding doméně (RBD) a nukleokapsidovému proteinu (N). Spike protein je zodpovědný za vazbu na receptor pro angiotensin konvertující enzym 2 (ACE2), kterým vir vstupuje do buňky (4). N protein je intracelulární protein, který je důležitý v transkripci a replikaci virové DNA, a proto je vysoce exprimován v průběhu infekce. Nejspolehlivější ochranný efekt mají protilátky proti S1 antigenu, případně proti jeho vazebné doméně RBD, který je jeho součástí. V průběhu virové infekce se tvoří různé izotypy protilátek (IgA, IgM, IgG) a všechny se mohou na výsledku VNT podílet. Výsledek VNT nejlépe pozitivně koreluje s přítomností protilátek IgG proti S1 nebo RBD antigenům (3).

Jako první vznikají při virové infekci IgM protilátky (3). Jejich koncentrace je nejvyšší 2. až 5. týden po prvních příznacích onemocnění a potom dalších 3 až 5 týdnů klesá. K produkci IgG dochází přibližně od 10. dne a maximum IgG je detekováno mezi 3. a 7. týdnem po nástupu příznaků při první infekci. IgG jsou v séru přítomné dlouhodobě. Hladina IgA dosahuje maximálních hodnot mezi 16. až 22. dnem od příznaků (při první infekci) a také přetrvává dlouhodobě. Neutralizační protilátky jsou detekovatelné 7. až 15. den od začátku onemocnění, postupně se zvyšuje jejich koncentrace, která dosáhne maxima 14. až 22. den onemocnění. Hladina neutralizačních protilátek později mírně klesá, ale udržuje se na určitých hodnotách specifických pro daného pacienta po dlouhou dobu. Protilátky nevykazují významnou zkříženou reaktivitu a jsou specifické. Protektivita protilátek proti reinfekci byla prokázána také pomocí několika studií u laboratorních zvířat.

Kromě protilátek se aktivuje také T buněčná imunita. K maximální aktivaci T buněčné imunity dochází přibližně 10-20 dnů po nástupu příznaků (1). Aktivují se jak cytotoxické Tc lymfocyty, tak pomocné Th lymfocyty. Systematický přehled 61 studií naznačil, že zvyšující se závažnost onemocnění je spojena s robustnější T buněčnou odpovědí (5), přičemž u hospitalizovaných pacientů s vážnějším průběhem onemocnění se v akutní fázi vyskytuje méně Tc lymfocytů než u osob s mírnějším průběhem onemocnění. Paměťové Th i Tc buňky byly detekované i po 8 měsících od infekce (6). Pro ověření přítomnosti specifické imunity po infekci koronavirem použili Dan a kol. u pacientů po covid-19 pětici základních testů, které zahrnovaly stanovení protilátek IgG a IgA proti spike proteinu, detekci paměťových B lymfocytů, paměťových cytotoxických Tc a pomocných Th lymfocytů (6). Prakticky u všech pacientů se alespoň jedním vyšetřením specifická imunitní odpověď po 8 měsících potvrdila, ale mezi pacienty byly zjištěny rozdílné kombinace nálezů.

Technicky a pro rutinní praxi nejjednodušším průkazem imunity stále zůstává stanovení protilátek, které se stalo běžně dostupným testem prováděným v mnoha imunologických a mikrobiologických laboratořích. Dokument MZČR "Strategie testování onemocnění COVID-19 pro sezónu respiračních onemocnění 2020/2021" popisuje za jakých situací je vhodné protilátky stanovovat a kdy mohou být hrazené ze zdravotního pojištění (7). Mezi tyto situace patří serologická a epidemiologická diagnostika u dárců rekonvalescentní plazmy (indikuje infektolog nebo hematolog), dále stanovení vnímavosti a ověření stavu imunity u pacienta (indikuje imunolog nebo infektolog, ev. epidemiolog KHS v ohnisku nákazy) a také diferenciální diagnostika covid nebo postcovid pneumonie (indikují lékař akutní lůžkové péče a vybraných odborností - anesteziolog, internista, infektolog, pneumolog). (8). Žádné další navrhované indikace zatím přijaty nebyly, i když ČSAKI a mikrobiologická společnost připravily nový návrh indikací v dubnu 2021. Vyšetření protilátek proti koronaviru z jiných důvodů si nadále hradí pacient sám. Pro stanovení protilátek není třeba doporučení od lékaře. Mají o něj zájem zejména lidé po nemoci nebo po karanténě.

Virus neutralizační test se může provádět jen v několika virologických laboratořích. Je určen zejména pro potvrzení hladiny neutralizačních protilátek u potenciálních dárců rekonvalescentní plasmy, případně pro potvrzení přítomnosti neutralizačních protilátek u imunokompromitovaných pacientů.

Cíl studie

Cílem studie bylo zjistit, jakou hladinu IgG protilátek můžeme považovat za ochrannou, jak spolehlivým prediktorem přítomnosti ochranných protilátek je hladina IgG stanovená běžnými testy (ELISA, CLIA) a jak dlouho protilátky v této ochranné hladině přetrvávají.

Metodika

Použili jsme výsledky rutinních vyšetření hladiny protilátek a/nebo VNT u pacientů, které byly vyexportované z informačních laboratorních systémů čtyř laboratoří (virologické laboratoře Zdravotního ústavu v Ostravě, imunologické laboratoře FN v Plzni, imunologické laboratoře GENNET v Praze a laboratoře Nemocnice Havlíčkův Brod).

Stanovení virus neutralizačních protilátek

Přítomnost neutralizačních protilátek byla zjišťována na virologickém oddělení Zdravotního ústavu v Ostravě, které má tuto metodu akreditovanou (9). Na 96-ti jamkové sterilní mikrotitrační destičce se společně inkubuje suspenze živého viru SARS-CoV-2 s ředěným sérem pacienta (v ředění od 1:10 do 1:2560). Jsou-li v séru přítomny neutralizační protilátky proti SARS-CoV-2, naváží se na specifické epitopy proteinu S1 virové částice, čímž zabrání jeho vazbě na buněčné receptory a vstupu do buňky. Po inkubaci virů s protilátkami se přidá suspenze buněk opičích ledvin a vzorky se 3 dny kultivují. Po ukončení inkubace se do všech jamek přidá neutrální červeně, která obarví živé buňky, zatímco usmrcené buňky zůstanou neobarvené. To umožní makroskopické odečtení reakce - jsou-li buňky v jamce obarvené, tedy živé, pak byly v séru přítomné neutralizační protilátky, které ochránily buňky před virovou infekcí. Výsledek se uvádí jako neutralizační titr, který je převrácenou hodnotou nejvyššího ředění séra, jež ochrání před infekcí minimálně 50 % buněk v příslušné jamce. Titr 10 je považován za hraniční, titr 20 a výše za ochranný (10), titr 80 a více znamená vysokou koncentraci ochranných protilátek a možnost použít plazmu jako rekonvalescentní (9).

Stanovení protilátek proti koronaviru

Protilátky proti koronaviru byly vyšetřené metodou ELISA Euroimmun Anti SARS-CoV-2 (S1) IgG. Hodnoty udávají poměr optické denzity vzorku a optické denzity kalibrátoru, který obsahuje hraniční množství protilátek. Hodnoty pod 0,8 jsou považovány za negativní, hodnoty nad 1,1 za pozitivní. Podle výsledků nezávislých testů FDA je specifická vyšetření 100 % a senzitivita 90 % (11). Tato metoda byla použita v Praze, Ostravě a Havlíčkově Brodě. V Plzni byl vyšetřen celkový imunoglobulin proti N proteinu chemiluminiscenčně metodou ROCHE (Basel, Switzerland). V této metodě jsou za pozitivní považovány hodnoty nad 1 (COI, cut-off index). Podle výsledků nezávislých testů FDA je specifická vyšetření 99,8 % a senzitivita 100 % (11).

Výsledky

Koreluje protilátka IgG stanovená metodou ELISA s výsledkem VNT? Výsledky ostravské laboratoře.

Data z ostravské laboratoře jsme využili k ověření korelace mezi hladinou IgG a výsledkem VNT. Na Obr. 1 je zobrazeno zastoupení pacientů s negativním či pozitivním výsledkem VNT ve skupinách rozdělených podle hodnot koncentrace protilátek vyšetřených metodou ELISA. Zjistili jsme, že mezi 1869 pacienty s

pozitivním výsledkem hladiny IgG protilátek (hladina 1,1 a více, dále označeni jako IgG pozitivní) mělo negativní VNT (tedy VNT=0) pouze 8 osob. Tedy 99,6 % IgG pozitivních osob mělo neutralizační protilátky.

Naopak z 1052 osob bez IgG protilátek mělo pozitivní VNT (VNT \geq 20) 166 osob, tedy 15,8 % sér bez IgG protilátek mělo přesto schopnost neutralizovat koronavirus. To znamená, že v těchto sérech nebyly protilátky proti s proteinu, ale jiné typy ochranných protilátek, které blokovaly virus a bránily rozvoji infekce, nebo byly přítomny protilátky jiných tříd (IgM, IgA).

Pro názornost uvádíme i konkrétní počty vyšetřených osob v Tab. 2. Kategorizace u hladiny protilátek je uvedena podle hodnot OR ratio. Na základě těchto dat je možné zjistit další podmíněné pravděpodobnosti. Například můžeme spočítat, že pacient s hladinou IgG > 4 má pravděpodobnost 97,6 %, že bude mít ve VNT titr 80 a více, a tedy bude vhodný jako dárce rekonvalescentní plasmy. Z dat ZÚ Ostrava tedy plyne, že hladina cirkulujících IgG protilátek je velmi dobrým prediktorem výsledku VNT. Osoby s pozitivním výsledkem měření IgG protilátek (hladina 1,1 a výše) mají téměř jistě ochranné protilátky.

Korelují jednotlivé metody vyšetření protilátek mezi sebou? Výsledky plzeňské laboratoře.

Podobným způsobem jako výše můžeme ověřit spolehlivost jiných metod vyšetření protilátek pro predikci výsledku VNT. V práci plzeňské laboratoře Šimánek a kol. (7) porovnávali výsledky vyšetření protilátek pomocí metod stanovujících IgG proti s proteinu (Euroimmun, Diasorin, Beckman), stanovením IgG proti N proteinu (Abbott) nebo stanovením celkových protilátek proti N proteinu (Roche). u všech pacientů byl proveden VNT v ostravské laboratoři. V uvedené publikaci jsou spočítány hodnoty protilátek pro titry 80 a 160, tedy pro potřebu ověření vhodnosti potenciálních dárců rekonvalescentní plasmy. Ze stejných dat jsme nyní spočítali „protektivitu“, tedy zjistili jsme pravděpodobnost, že pacient bude mít pozitivní VNT (tedy VNT \geq 20), pokud bude mít pozitivní výsledek testu v dané metodě. Výsledky jsou uvedené v Tab. 3. i z tohoto menšího souboru pacientů lze udělat poměrně jasný závěr - průkaz specifických protilátek jakoukoliv metodou je velmi dobrým prediktorem výsledku VNT. Osoby s pozitivním výsledkem u jakékoliv testované metody mají téměř jistě ochranné protilátky.

Jak dlouho přetrvávají protilátky po nákaze koronavirem? Výsledky pražské laboratoře.

Výše jsme ukázali, že uvedené metody stanovující cirkulující IgG protilátky, jsou velmi spolehlivým prediktorem přítomnosti ochranných protilátek. Druhou významnou otázkou je, jak dlouho se vyskytují v séru protilátky po nákaze koronavirem. Výsledky opakovaných vyšetření protilátek pocházejí z laboratoří v Praze a Plzni. Datum PCR testu jsme u pacientů zjišťovali pomocí dotazníků. Obr. 2 zachycuje hladiny IgG protilátek z pražské laboratoře. Hladina protilátek u PCR pozitivních pacientů s časem klesá, pokles však není statisticky významný. Bodový odhad směrnice regresní přímky je 2×10^{-4} za den, což by odpovídalo poklesu z hodnoty 10 na hodnotu 1 až za 10 let. Lze tedy konstatovat, že tento soubor pacientů ukazuje, že hladina IgG je velmi stabilní.

Dlouhodobý výskyt protilátek u pacientů z plzeňské laboratoře

Lépe je stabilita protilátek vidět v souborech dat z opakovaných vyšetření. Obr. 3 zachycuje hladiny protilátek u 100 osob vyšetřených v laboratoři v Plzni. Jednalo se o nehospitalizované pacienty se středně těžkým průběhem onemocnění COVID-19, s jasnými klinickými příznaky a pozitivním PCR testem. Protilátky byly stanoveny v intervalech s ohledem na předpokládanou kinetiku protilátek zjištěnou z literatury. Většinou se vyšetření provedlo po 4, 6, případně 10 měsících od PCR vyšetření. Ke zhodnocení byly u pacientů k dispozici dva, někdy i tři náběry. Je zřejmé, že po počátečním nárůstu hladiny protilátek u většiny osob ve sledovaném období klesaly, ale tento pokles nebyl dramatický a i téměř po roce od infekce byly výsledky vyšetření hladiny protilátek stále pozitivní. Dekadický logaritmus hladiny protilátek (Roche, celkové protilátky) klesal rychlostí $2,8 \times 10^{-3}$ za den, což znamená, že o hodnotu 1

(tedy například z hodnoty 100 na hodnotu 10, resp. Z hodnoty 10 na hodnotu 1) klesne logaritmus přibližně za rok. Pouze u jednoho pacienta ze sledované skupiny období klesly hodnoty do pásma negativity.

Dlouhodobý výskyt protilátek u pacientů z havlíčkovobrodské laboratoře

V laboratoři v Havlíčkově Brodě byl opakovaně v průběhu loňského roku vyšetřován soubor pacientů z Domova se zvláštní péčí v Břevnici. Výsledky této studie byly již publikovány v Časopise lékařů českých (12). Hladinu protilátek jsme sledovali po celé období u 18 seniorů, kteří měli všichni pozitivní PCR test v březnu 2020. V domově byla poprvé zjištěna pozitivita dne 18.3.2020 a postupně přibývali až do 30.3.2020 další pacienti. Protilátky byly stanovené celkem pětkrát během 10 měsíců několika různými metodami. Dvakrát byl proveden VNT test v Ostravě (v září a listopadu). V Grafu 4 uvádíme hodnoty vyšetření IgG metodou ELISA Euroimmun. Výsledky jednoho pacienta jsou v grafu propojené čarou, přičemž její barva odpovídá množství neutralizačních protilátek detekovaných v listopadovém séru (tedy asi 8 měsíců po infekci). u 15 seniorů se hladina protilátek pohybovala v pásmu positivity po celé sledované období. u tří seniorů k tvorbě protilátek nedošlo vůbec. Hladiny IgG protilátek jsou konsistentní s VNT - všichni tři senioři, u nichž k tvorbě protilátek nedošlo, byli VNT negativní. Od jara 2020 do léta 2020 je patrný pokles hladiny protilátek u většiny osob. Ale v září 2020 došlo k opětovnému nárůstu. Můžeme pouze spekulovat, proč k němu došlo. Tou dobou již stoupala incidence infekce ve společnosti a také v domově se vyskytl jeden případ nemocného ošetřujícího personálu. Poslední stanovení protilátek bylo provedeno před očkováním, které proběhlo v lednu 2021. Nikdo ze seniorů nebyl ve sledovaných 10 měsících opakovaně nemocný, i když byl zaznamenán výskyt infekce u personálu v září a v lednu.

Diskuse

Onemocnění COVID-19 je respirační onemocnění, které může mít různě závažný průběh od bezpříznakového až po fatální. Nejzávažněji jsou postiženy nejstarší věkové skupiny, osoby se závažnými komorbiditami a/nebo obezitou. Celková smrtnost je uváděna jako 0,1-0,15 % (13), přestože původní odhady hovořily o výrazně vyšší mortalitě (0,5-2,8 %) (14). Mnoho nedorozumění v české literatuře bylo způsobeno zaměňováním celkové smrtnosti (Infection Fatality Rate, IFR) a smrtnosti odhalených případů (Case Fatality Rate, CFR), která je násobně vyšší a podstatně závisí na strategii testování.

Jak dlouho budou lidé, kteří infekci SARS-CoV-2 prodělali, imunní, je otázka, na kterou zatím neumíme jednoznačně odpovědět. Původně se vycházelo z výsledků zjištěných u lidí, kteří prodělali onemocnění po infekci sezónními koronaviry. Infekce příbuznými sezónními koronaviry (HCoV-NL63, HCoV-229E, HCoV-OC43 and HCoV-HKU1) bývá velmi často asymptomatická nebo mívá lehčí klinický průběh. Hladinu protilátek a výskyt reinfekcí sledovali např. Edridge a kol (ale u skupiny pacientů s HIV, tedy imunokompromitovaných) a zjistili, že k reinfekcím dochází zpravidla až po roce, jen ve vzácných případech po 6 měsících (15). Také v případě SARS-CoV-2 se předpokládala přibližně stejně dlouhá imunita a odolnost vůči reinfekci (1).

Na specifické imunitě vůči koronavirům se podílejí jak paměťové T lymfocyty, tak paměťové B lymfocyty (5,6). Např. Dan a kol. potvrdili produkci neutralizačních protilátek IgG proti s a RBD antigenu u pacientů po 8 měsících od infekce (6). Jak vysvětlují zajištění dlouhodobé produkce protilátek? Paměťové B lymfocyty se objevují přibližně 14 dní po začátku onemocnění a jejich počet v průběhu prvních tří měsíců stoupá. Většinou jde o paměťové B lymfocyty produkující IgG protilátky proti RBD a S proteinu, ale dlouhodobě detekovatelné byly i paměťové B lymfocyty produkující IgA protilátky. Folikulární pomocné Th lymfocyty, které jsou klíčové pro aktivaci paměťových B lymfocytů, se také vyskytovaly v poměrně vysokém počtu po celé sledované období. Tc buňky byly naopak detekovány ve vyšším počtu v prvních měsících po infekci, ale později jejich počet klesal. Autoři zjistili, že pacienti s významně těžším průběhem onemocnění měli vysoké hladiny protilátek a vyšší počet Th a B lymfocytů než pacienti s mírnou formou onemocnění. u osob s těžším onemocněním však bylo významně méně Tc lymfocytů.

Autoři studie v závěru uvádějí, že produkce protilátek je zcela individuální a velmi se liší v zastoupení Th, Tc a B lymfocytů.

V poslední zprávě ECDC, která hodnotila několik dlouhodobých studií, se uvádí, že předchozí infekce SARS-CoV-2 chrání 81-100 % pacientů po dobu pěti až sedmi měsíců od prodělané infekce (1), ale již nyní je zřejmé, že se tento interval bude prodlužovat. Výskyt protilátek po 12 měsících publikoval např. Wang a kol. (16). Princip dlouhodobé humorální imunity vysvětluje také práce Turner a kol. publikovaná v časopise Nature (17). Zatímco v prvních měsících produkují protilátky krátce žijící plazmoblasty, produkci v pozdějším období zajišťují dlouhodobě žijící plazmatické buňky, které jsou detekovatelné v kostní dřeni (tzv. bone marrow plasma cells, BMPC). Autoři zjistili u 15 z 19 pacientů specifické BMPC produkující IgG proti SARS-CoV-2 po 7 měsících a u 5 pacientů ještě test zopakovali po 11 měsících od infekce se stejným výsledkem. Spektrum protilátek se v čase měnilo, tvořily se protilátky s jinou strukturou vazebného místa v důsledku genetických mutací. Genetická informace pro vazebné místo protilátek se totiž modifikuje tzv. hypermutacemi. Takto vznikají různé varianty protilátek a selektují se takové buněčné klony, které tvoří nejkvalitnější neutralizační protilátky.

Naše výsledky jsou v souladu s publikovanými zjištěními. V našich souborech opakovaně testovaných osob jsme potvrdili výskyt protilátek jak u osob z loňské jarní vlny (tedy po 10-12 měsících), tak hlavně u velkého počtu osob z loňské podzimní vlny (tedy po 6 až 8 měsících po infekci). Pokud se pacient nesetkal v průběhu roku opakovaně s antigenem, protilátky u něj zpočátku zvolna klesaly, ale udržovaly se v pásmu positivity. V případě aktivace imunitního systému opakovaným kontaktem s antigenem docházelo k nárůstu protilátek. To je nejlépe vidět v nárůstu protilátek v září a v lednu v břevnickém souboru (Obr. 4).

Velká diskuse se vede o tom, jaká je protektivita protilátek. Problém je už v samotné definici tohoto termínu, protože nevíme přesně, co by měl znamenat. Poměrně exaktní možnosti ověření odolnosti vůči infekci je (v souladu se stanoviskem ECDC), ověření přítomnosti neutralizačních protilátek pomocí VNT (1). Pokud je VNT pozitivní, pak je dotyčný jedinec chráněn. Jelikož se imunita „nezapomíná“, ale spíše zlepšuje, pak by logicky mělo takové vyšetření provést jednou, případně se zopakuje s časovým odstupem. Má-li někdo opakovaně pozitivní výsledek VNT, můžeme takového pacienta považovat v dlouhodobém měřítku přibližně jednoho roku za imunního. Jelikož VNT není dostupný všem pacientům, je možné používat ke stanovení protilátek standardní laboratorní testy (viz např. Tabulka 3). Důležitým zjištěním této studie je, že pozitivita testu na IgG (jakoukoliv metodou v Tabulce 3) je prakticky dokonalým indikátorem positivity VNT prokazujícím přítomnost neutralizačních, tedy protektivních protilátek. Zda po opakovaném styku s infekcí lidé s neutralizačními protilátkami již neonemocní nebo onemocní jen lehce, závisí na mnoha faktorech. Klíčové ale je, že tito lidé již nejsou imunologicky naivní. Tedy SARS-CoV-2 pro ně nepředstavuje významné nebezpečí. Např. Lumley a kol. (18) sledovali od dubna do listopadu 2020 zdravotníky v oxfordské nemocnici, kterým byly na začátku studie stanoveny IgG protilátky proti koronaviru a sledovala se odolnost lidí s protilátkami ve srovnání s lidmi bez protilátek (1265 osob s protilátkami versus 12,5 tisíce osob bez protilátek). V průběhu studie, která trvala 31 týdnů, byl opakovaně monitorován výskyt infekcí pomocí PCR. Mezi osobami s protilátkami byly během studie odhaleny pouze tři PCR pozitivní osoby, z nichž jedna měla mírný průběh reinfekce a dvě zcela asymptomatické. Mezi osobami bez protilátek bylo zjištěno 223 pozitivních osob. Závěr studie byl, že výskyt protilátek chrání před reinfekcí po dobu 6 měsíců. Jinými slovy člověk, který má protilátky, je odolný vůči nákaze, a proto ani nemusí být v karanténě, pokud se setkal s infikovanou osobou.

V další publikaci Abu-Raddat a kol. (19) z Kataru sledovali výskyt infekce u 43 tisíc lidí s pozitivními protilátkami a u téměř 150 tisíc lidí bez protilátek po dobu 35 týdnů. Zatímco mezi osobami s protilátkami byla incidence koronavirové infekce <1 na 10 000 osobo/dní, u skupiny bez protilátek to bylo 14 na 10 000 osobo/dní. Účinnost prodělaní infekce na výskyt reinfekce byla 95 % a ani po 7 měsících nebylo zjištěno vyvanutí imunity. Také zde převažoval asymptomatický průběh nebo jen mírné klinické symptomy u osob s opakovanou infekcí. Podle doporučení CDC nemusí bezpříznakový člověk do karantény, pokud má protilátky, resp. pokud neuplynuly od provedení vyšetření protilátek více než 3 měsíce (20). Tedy v USA je člověk s protilátkami uznán za imunního.

Podíváme-li se na data o opakovaných infekcích v ČR u lidí, kteří měli v minulosti COVID-19, tak od 1. 3. 2020 do 31. 5. 2021 mělo infekci 1,65 milionů lidí a opakovaně bylo symptomatických a PCR pozitivních 1982 lidí (21). u dalších 959 osob probíhalo ověření. Za reinfekci se považuje opakovaná symptomatická infekce po 60 dnech. Medián u nahlášených případů reinfekce byl 132 dní (61-401 dní). k tomu bylo nahlášeno 3070 případů možných reinfekcí COVID-19, u kterých alespoň jedna z epizod onemocnění proběhla asymptomaticky. Frekvence reinfekcí je méně než 0,5 %. Přesto MZČR doporučuje osoby po infekci očkovat. Problém je v tom, že toto doporučení nikterak nezohledňuje možná rizika, které má očkování osob s postinfekční imunitou. Osoby, které se ještě s infekcí neseťkaly, mají reakci na očkování zpravidla mírnější. Osoby s imunitou po prodělané nemoci mohou reagovat vyšším výskytem nežádoucích účinků a zdravotních komplikací. V klinické studii Kramer a kol., ve které se porovnávaly protilátky a nežádoucí zdravotní účinky u vakcinovaných osob, bylo zjištěno, že nežádoucí účinky po očkování mělo 46 % lidí, kteří infekci neprodělali, ale 89 % lidí, kteří COVID-19 prodělali (22). Po první dávce vakcíny docházelo u lidí po infekci k výraznému navýšení hladiny protilátek, po druhé dávce vakcíny již k dalšímu nárůstu nedošlo. Autoři publikace proto doporučují pouze jednu „boostovací“ dávku očkování místo dvou. V práci Wang a kol. byli očkováni pacienti po roce od infekce, kteří měli ještě dostatečné množství protilátek a očkování u nich vedlo k jejich navýšení (16). Tedy i s delším odstupem (12 měsíců) od prodělané infekce je možné v případě potřeby stimulovat imunitní systém vakcínou, není nutné na vakcinaci spěchat.

Posledním sporným bodem je, zda protilátky získané po infekci jedním typem koronaviru budou účinné i proti jiným mutovaným variantám. Na ostravském pracovišti jsme potvrdili, že osoby po prodělaní infekce původním divokým kmenem viru i britskou variantou alfa tvoří neutralizační protilátky také proti variantám beta (jihoafrická) a delta (indická), přičemž dosažený titr VNT byl u některých vzorků nižší 2 až 8 krát, ale u jiných vzorků byl bez poklesu. Výraznější poklesy titru VNT jsou pozorovány proti variantě beta, zatímco proti variantě delta titr klesal méně a jen u některých vzorků. i přes nižší hodnoty si všechny vzorky se všemi variantami viru zachovaly pozitivní výsledek VNT. Podobné výsledky uvádí také Dupont a kol., kteří potvrdili, že neutralizační protilátky jsou účinné u různých virových mutací (23). Pokud imunita po očkování funguje proti různým mutacím, není logicky žádný důvod, proč by neměla fungovat imunita po prodělané infekci.

Podle odborníků z klinické skupiny MZČR není stanovena žádná hranice, od které protilátky poskytují ochranu před infekcí (24). Z našich dat ovšem plyne, že pozitivita na IgG protilátky je lepším indikátorem přítomnosti neutralizačních protilátek, než je pozitivita PCR testu indikátorem přítomnosti živého viru na sliznici (25).

Mezi odbornými společnostmi a MZČR jsou poměrně velké názorové rozdíly v otázce očkování. MZČR podpořená Vakcinologickou společností doporučují vakcinaci celé dospělé populace včetně dětí od 12 let a těhotných žen (26, 27). Naopak v doporučení ČSAKI je očkování těhotných žen uvedeno jako možné jen v odůvodněných případech (28). Nejvíce diskutované je doporučení MZČR očkovat osoby po prodělaném COVID-19 bezprostředně po karanténě, které sice v médiích podpořili někteří členové vakcinologické společnosti, ale není uvedeno v jejich doporučení na stránkách společnosti(27). Očkování po karanténě je součástí pouze doporučení MeSES (30) a bylo navrženo MZČR. Tento přístup popírá principy antivirové imunity, které používáme mnoho desetiletí při řešení epidemií způsobených jinými respiračními viry, jelikož stimulace imunity vakcínou probíhá bezprostředně po prodělané infekci, tedy v době, kdy se specifická imunita teprve vyvíjí a kdy přílišná aktivace imunitního systému může být pro organismus nebezpečná. Naopak v doporučení ČSAKI se navrhuje očkovat až se 6ti měsíčním odstupem, ideálně jednou dávkou, která stačí pro navození vyšší tvorby protilátek. Imunologové ve svém doporučení navrhují situace, kdy má smysl kontrolovat hladinu protilátek před očkováním (28). k tomuto stanovisku se připojila i Společnost pro lékařskou mikrobiologii (31).

Závěr

Stanovení protilátek proti koronaviru je spolehlivou metodou prokazující prodělanou infekci SARS-CoV-2. Protilátky se vyskytují v krvi po velmi dlouhou dobu (minimálně 10 měsíců) a jsou schopné nás ochránit při opakovaném kontaktu s infekcí natolik, že případná (a velmi vzácná) reinfekce bude mít ve většině

případů mírný průběh nebo proběhne asymptomaticky. Využití běžně dostupných metod pro diagnostiku protilátek zcela spolehlivě predikuje výsledky virus neutralizačního testu, který je dle ECDC zlatým standardem stanovení imunity. Domníváme se, že na základě stále většího počtu důkazů je třeba akceptovat, že přirozeně navozená imunita po prodělané infekci zajišťuje dlouhodobou ochranu a lidé po infekci mají stejně významný podíl na zajištění kolektivní imunity jako lidé očkovaní.

Seznam literatury:

1. European Centre for Disease Prevention and Control - Immune responses and immunity to SARS-CoV-2 Dostupné na: <https://www.ecdc.europa.eu/en/covid-19/latest-evidence/immune-responses>
2. Krátká Z, Fejt V, Kučera R, Zelená H. Protilátkové repetitorium - vyšetření protilátek proti koronaviru v běžné praxi. Čas Lék čes. 2021;160(2-3):52-56.
3. Post N, Eddy D, Huntley C, et al. Antibody response to SARS-CoV-2 infection in humans: a systematic review. PLoS One 2020;15(12):e0244126. doi: 10.1371/journal.pone.0244126.
4. Letko M, Marzi A, Munster V. Functional assessment of cell entry and receptor usage for SARS-CoV-2 and other lineage B betacoronaviruses. Nat Microbiol 2020;5(4):562-569. doi: 10.1038/s41564-020-0688-y.
5. Shrotri M, van Schalkwyk MCI, Post N, et al. T cell response to SARS-CoV-2 infection in humans: a systematic review. PLoS One 2021;16(1):e0245532. doi: 10.1371/journal.pone.0245532
6. Dan JM, Mateus J, Kato Y, et al. Immunological memory to SARS-CoV-2 assessed for up to 8 months after infection. Science 2021;371(6529):eabf4063. doi: 10.1126/science.abf4063.
7. Všeobecná zdravotní pojišťovna České republiky. Organizační opatření VZP ČR č. 2/2021 v souvislosti s onemocněním COVID-19 způsobeným virem SARS-CoV-2. Dostupné na: https://media.vzpzstatic.cz/media/Default/dokumenty/covid-19/organizacni-opatreni_02_2021-odberova-centra-laboratore.pdf
8. Ministerstvo zdravotnictví a Rada vlády pro zdravotní rizika. Strategie testování onemocnění COVID-19 pro sezónu respiračních onemocnění 2020/2021. Dostupné na: <https://ppo.mzcr.cz/upload/files/narodni-strategie-testovani-onemocneni-covid-19-a-ostatni-dokumenty-strategie-testovani-covid-19-v2-0-15-12-2020-6061f409a770e.pdf>
9. Šimánek V, Pecen L, Krátká Z, et al. Five Commercial Immunoassays for SARS-CoV-2 Antibody Determination and Their Comparison and Correlation with the Virus Neutralization Test. Diagnostics 2021; 11(4):593. doi: 10.3390/diagnostics11040593.
10. Valcourt EJ, Manguiat K, Robinson A, et al. Evaluation of a commercially-available surrogate virus neutralization test for severe acute respiratory syndrome coronavirus-2 (SARS-CoV-2). Diagn Microbiol Infect Dis 2021;99(4):115294. doi: 10.1016/j.diagmicrobio.2020.115294.
11. Food and Drug Administration EUA - Authorized Serology Test Performance. Dostupné na: <https://www.fda.gov/medical-devices/coronavirus-disease-2019-covid-19-emergency-use-authorizations-medical-devices/eua-authorized-serology-test-performance>
12. Fejt V, Krátká Z, Zelená H, Fürst T. Stáří není nemoc - Vývoj hladiny ochranných protilátek proti koronaviru SARS-CoV-2 u seniorů z Domova Břevnice. Čas Lék čes. 2020;159(7-8):303-311.
13. Ioannidis JPA. Reconciling estimates of global spread and infection fatality rates of COVID-19: An overview of systematic evaluations. Eur J Clin Invest 2021;51(5):e13554. doi: 10.1111/eci.13554.
14. Státní zdravotní ústav - Chřipka versus koronavirus - podobnosti a zásadní rozdíly, situace k 18.3.2020, SZÚ (szu.cz) . Dostupné na: <https://doi.org/10.1111/eci.13554>
15. Edridge AWD, Kaczorowska J, Hoste ACR, et al. Seasonal coronavirus protective immunity is short-lasting. Nat Med. 2020;26(11):1691-1693. doi: 10.1038/s41591-020-1083-1.
16. Wang Z, Muecksch F, Schaefer-Babajew D, et al. Naturally enhanced neutralizing breadth against SARS-CoV-2 one year after infection. Nature. 2021. doi: 10.1038/s41586-021-03696-9.
17. Turner JS, Kim W, Kalaidina E, et al. SARS-CoV-2 infection induces long-lived bone marrow plasma cells in humans. Nature 2021; doi: 10.1038/s41586-021-03647-4.

18. Lumley SF, O'Donnell D, Stoesser NE, et al. Oxford University Hospitals Staff Testing Group. Antibody Status and Incidence of SARS-CoV-2 Infection in Health Care Workers. *N Engl J Med*. 2021;384(6):533-540. doi: 10.1056/NEJMoa2034545.
19. Abu-Raddad LJ, Chemaitelly H, Coyle P. SARS-CoV-2 antibody-positivity protects against reinfection for at least seven months with 95% efficacy. *EClinicalMedicine*. 2021 May; 35: 100861.
20. Interim Guidelines for COVID-19 Antibody Testing - CDC (Centers for Disease Control and Prevention) Dostupné na:
https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/lab/resources/antibody-tests-guidelines.html#anchor_1616006658343
21. Státní zdravotní ústav - Absolutní počet případů reinfekcí covid-19 v ČR vzrostl, jejich frekvence výskytu ale nadále zůstává nízká. Dostupné na:
<http://www.szu.cz/tema/prevence/absolutni-pocet-pripadu-reinfekci-covid-19-v-cr-vzrostl>
22. Krammer F, Srivastava K, Alshammary H, et al. Antibody Responses in Seropositive Persons after a Single Dose of SARS-CoV-2 mRNA Vaccine. *N Engl J Med* 2021;384(14):1372-1374. doi: 10.1056/NEJMc2101667.
23. Dupont L, Snell LB, Graham C, et al. Antibody longevity and cross-neutralizing activity following SARS-CoV-2 wave 1 and B.1.1.7 infections. *medRxiv [Preprint]*. 2021;. doi: 10.1101/2021.06.07.21258351.
24. Ministerstvo zdravotnictví České republiky - Klinická skupina COVID MZ - Zápis z jednání KS COVID II ze dne 13.5.2021. Dostupné na:
<https://ppo.mzcr.cz/upload/files/zapisy-z-jednani-zapis-z-jednani-ks-covid-ii-ze-dne-13-5-2021-60a512dc3c938.pdf>
25. Watson J, Whiting PF, Brush JE. Interpreting a covid-19 test result. *BMJ* 2020; 369:m1808. doi: 10.1136/bmj.m1808. PMID: 32398230.
26. Česká vakcinologická společnost - Doporučení k očkování dětí ve věku 12-15 let a adolescentů proti nemoci COVID-19. Dostupné na: <https://www.vakcinace.eu/doporuzeni-a-stanoviska>
27. Česká vakcinologická společnost - Očkování proti onemocnění COVID-19 u těhotných a kojících. Dostupné na:
<https://koronavirus.mzcr.cz/lide-po-prodelani-onemocneni-covid-19-se-mohou-nove-ockovat-ihned-po-skonceni-izolace/>
28. Česká společnost alergologie a klinické imunologie - Doporučení pro očkování proti onemocnění COVID-19 aktuálně schválenými vakcínami. Dostupné na:
https://www.csaki.cz/dokumenty/COVIDvakciny_521.pdf
29. Ministerstvo zdravotnictví České republiky. Lidé po prodělání onemocnění covid-19 se mohou nově očkovat ihned po skončení izolace. Dostupné na:
<https://koronavirus.mzcr.cz/lide-po-prodelani-onemocneni-covid-19-se-mohou-nove-ockovat-ihned-po-skonceni-izolace/>
30. Mezioborová skupina pro epidemické situace. Stanovisko k očkování proti nemoci covid-19. MeSES, 2021. Dostupné na:
<https://www.meses.cz/stanovisko-k-ockovani-proti-nemoci-covid-19/>
31. Společnost pro lékařskou mikrobiologii. Dvě aktuální prohlášení k necílenému plošnému testování a ke skupině MeSES. SLM, 2021. Dostupné na:
https://www.splm.cz/_download/00000179-6e8f-d498-a97f-6ebfd2d60000

Seznam zkratk

ACE2

angiotensin konvertující enzym 2

BMPC

bone marrow plasma cells

CDC

Centers for Disease Control and Prevention

CFR

case fatality rate

CLIA

chemiluminescent immunoassay

DNA

deoxyribonucleic acid

ECDC

European Centre for Disease Prevention and Control

ELISA

Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay

FDA

Food and Drug Administration

HCoV-229E

human coronavirus 229E

HCoV-HKU1

human coronavirus HKU1

HCoV-NL63

human coronavirus NL63

HCoV-OC43

human coronavirus OC43

HIV

human immunodeficiency virus

IFR

infection fatality rate

IgA

imunoglobulin A

IgG

imunoglobulin G

IgM

imunoglobulin M

N

nucleocapsid protein

OR ratio

míra asociace mezi expozicí a výsledkem

PCR

Polymerase Chain Reaction

RBD

receptor-binding domain

S

spike protein

S1

spike protein podjednotka

SARS-CoV-2

Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus-2

Tc lymfocyty

cytotoxické lymfocyty

Tab. 1: Přehled pacientů a metod v jednotlivých centrech

	Praha	Ostrava	Havlíčkův Brod	Plzeň
Počet vyšetřených	407	2813	18	150
Typ pacientů	Zdravotníci, rodinní příslušníci, pacienti imunologie	Potenciální dárce plazmy, pacienti po covid-19, zdravotníci	Gerontologičtí pacienti po covid-19	Pacienti po covid-19, zdravotníci
Věk	3-81	NaN*	71-93	4-73
Mužů / žen	125/282	NaN*	3/15	55/95
Použité metody	IgG (S1) ELISA Euroimmun	IgG (S1) ELISA Euroimmun, VNT test	IgG (S1) ELISA Euroimmun	Více metod, viz Tabulka 3

* údaj není k dispozici, osobní údaje pacientů byly kódovány číslem.

Tab. 2: Korelace výsledku VNT a hladiny IgG protilátek. Ostravská laboratoř.

Na každém řádku jsou pacienti s daným množstvím protilátek (uvedeném v prvním sloupci). V každém sloupci jsou pacienti s daným výsledkem VNT (uvedeném v prvním řádku) Číslo v tabulce odpovídá počtu vyšetřených sér s tímto výsledkem. Malá část pacientů měla více odběrů v časovém odstupu vyšetřeno bylo 3044 vzorků od 2813 pacientů.

IGG/VNT	0	10	20	40	80	160	320	640	1280	2560
0	852	34	72	61	20	11	2	0	0	0
0.8-1.1	8	8	28	41	28	6	4	0	0	0
1.1-2	7	2	42	140	123	42	11	3	0	0
2-3	1	0	18	85	128	90	30	3	2	0
3-4	0	0	3	39	98	97	47	7	3	0
4-5	0	0	1	9	61	88	60	11	2	4
5-6	0	1	1	4	22	76	56	30	11	2
6-7	0	1	0	1	16	46	67	53	20	6

7-8	0	0	0	2	3	17	42	45	9	6
≥8	0	0	0	0	2	8	23	25	17	0

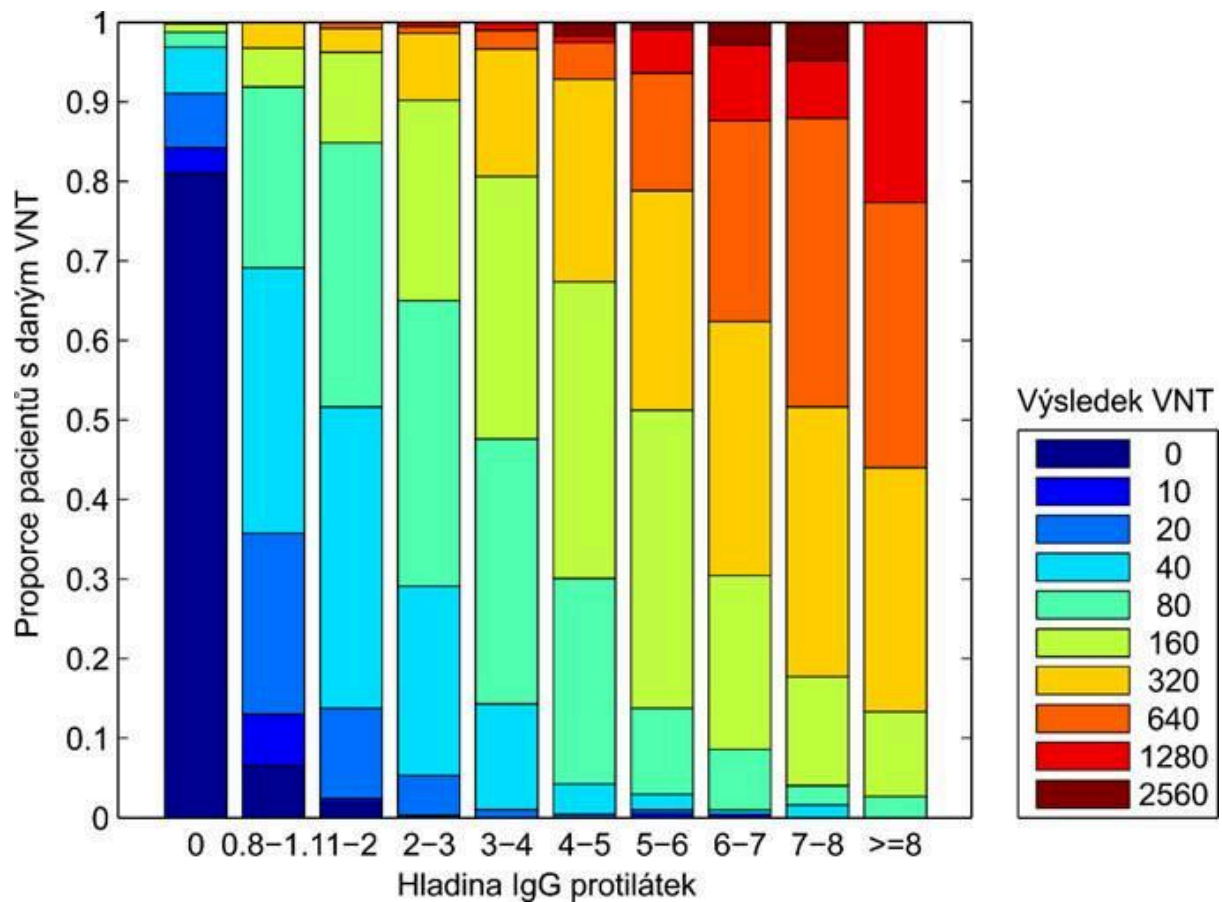
Tab. 3: Stanovení pravděpodobnosti výskytu neutralizačních protilátek u pacientů s protilátkami stanovenými metodami CLIA a ELISA. Plzeňská laboratoř.

Poslední sloupec obsahuje odhad podmíněné pravděpodobnosti, že pacient s pozitivním výsledkem daného testu protilátek (test+) bude mít pozitivní výsledek VNT (VNT+).

Metoda	Typ protilátek	Typ vyšetření	Hranice positivity	Jednotky	p(VNT+ test+)
Abbott	IgG anti-NP	CLIA	≥ 1,4	Index positivity (S/CO)	1.00
Diasorin	IgG anti-S1/S2	CLIA	≥ 15	Arbitrární jednotky (AU/mL)	1.00
Roche	Celkový Ig anti-NP	CLIA	≥ 1,0	Cut-off Index (COI)	0.99
Beckman Coulter	IgG anti-S1 RBD	CLIA	≥ 1,0	Index positivity (S/CO)	1.00
Euroimmun	IgG anti-S1	ELISA	≥ 1,1	OD ratio (S/CO)	1.00

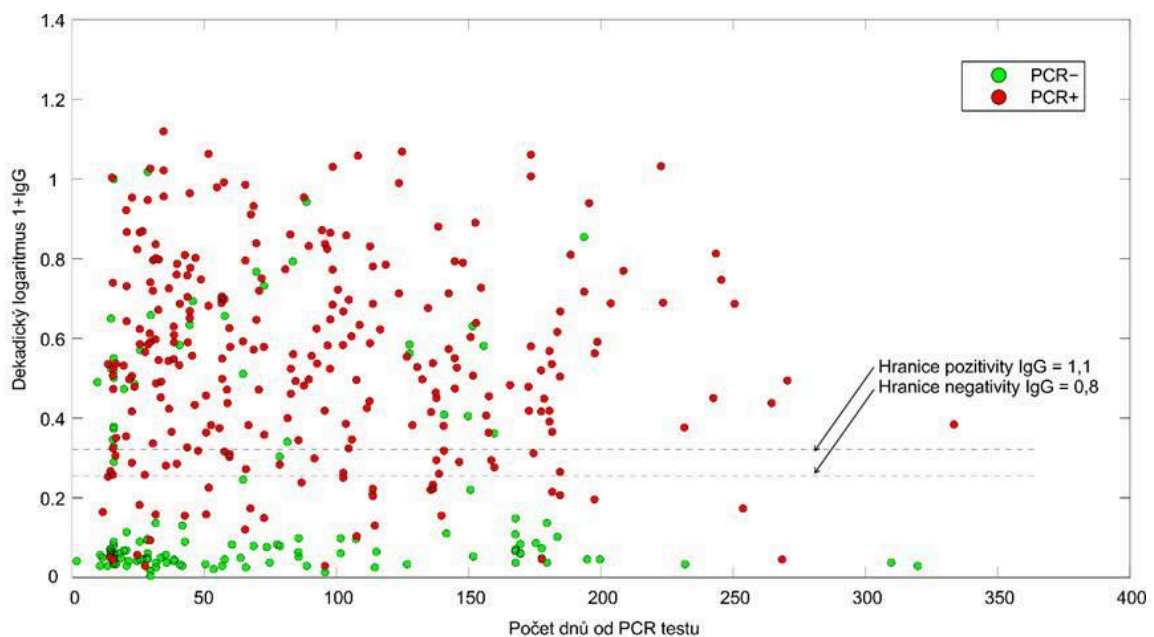
Obr. 1: Rozdělení výsledků VNT v jednotlivých skupinách pacientů s daným množstvím protilátek. Ostravská laboratoř.

Každý sloupec představuje pacienty s daným množstvím protilátek. Výsledky VNT jsou barevně kódovány od negativní (tmavě modrá) po silně pozitivní (tmavě červená).



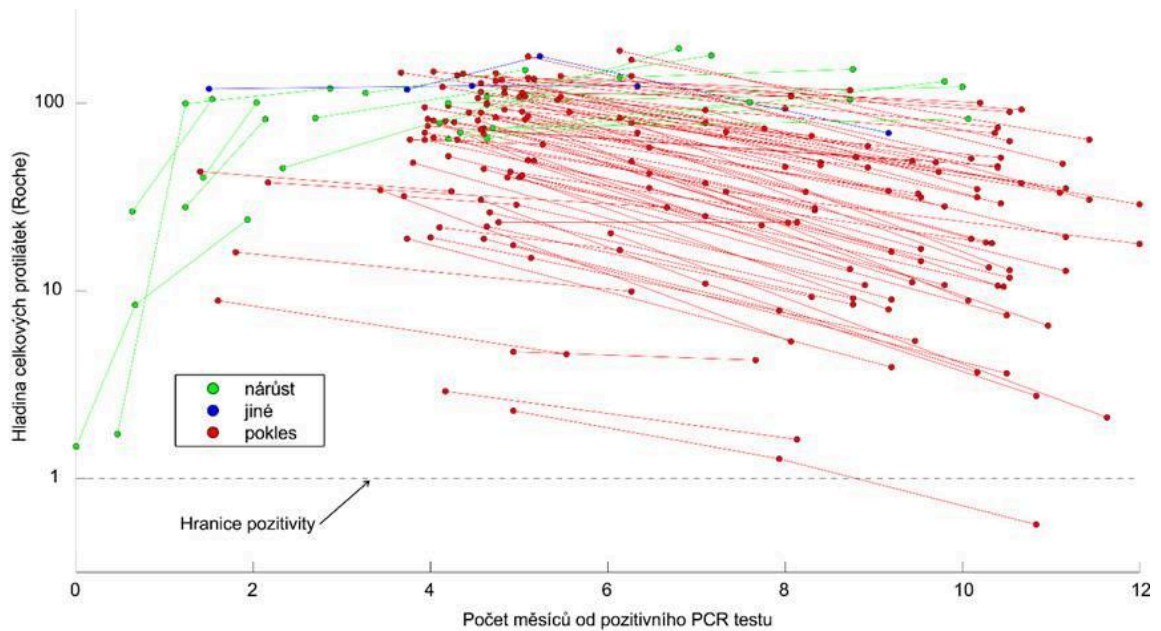
Obr. 2: Hladiny protilátek IgG proti koronaviru v závislosti na době uplynulé od data PCR testu. Pražská laboratoř.

Zobrazena je hladina protilátek u osob, které nebyly očkovány. Na ose y jsou vyneseny hodnoty dekadického logaritmu OD ratio (poměr optické density vzorku a kalibrátoru) zvýšené o jedničku. Zobrazené jsou hranice negativity (OD ratio = 0,8) a pozitivity (OD ratio = 1,1)



Obr. 3: Dlouhodobý výskyt protilátek proti koronaviru. Plzeňská laboratoř.

Vyšetření celkových protilátek proti koronaviru metodou Roche. Pro větší přehlednost jsou různé typy průběhů barevně odlišeny - nárůst je značen zeleně, pokles červeně a nemonotonní průběh modře. Na ose y jsou uvedeny hodnoty COI (cut-off index).



Obr. 4: Opakované vyšetření hladiny protilátek u seniorů z Břevnice.

Stanovení IgG protilátek anti S1 antigenu metodou ELISA Euroimmun. Každá čára odpovídá průběhu hladiny protilátek u jednoho pacienta. Čárkovaně hranice pozitivity. Na ose y jsou uvedeny hodnoty OD ratio.

