



# 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