

پرسش و پاسخ در مورد تست های آزمایشگاهی بیماری COVID-19

می‌تواند یک تا سه هفته و گاهی خیلی بیشتر (موارد خیلی شدید بیماری) پس از شروع علائم همچنان مثبت باقی بماند. برای مثبت شدن تست PCR باید در نمونه حداقل ۱۰۰ تا ۱۰۰۰ کپی از ژنوم ویروس وجود داشته باشد. لازم به ذکر است با برانگیخته شدن سیستم ایمنی علیه ویروس و ترشح آنتی‌بادی، تا حد قابل توجهی از تعداد ویروس کاسته شده و از حساسیت تست PCR کاسته می‌شود.

۴- آیا آزمایش PCR، منفی کاذب دارد؟

بله. نتیجه آزمایش PCR می‌تواند در ۳۰ تا ۴۰ درصد موارد منفی کاذب باشد که البته به نوع نمونه، تکنیک PCR، تعداد لود ویروس و کیفیت نمونه‌برداری بستگی دارد. لذا منفی شدن آزمایش PCR لزوماً رد کننده بیماری نیست. این ویروس مانند ویروس انفلوانزا تمایل بیشتری به تکثیر در بخش‌های تحتانی دستگاه تنفس دارد. پس در موارد مشکوک توصیه می‌شود برای آزمایش PCR از نمونه BAL^۱ استفاده شود.

۵- آیا آزمایش PCR مثبت کاذب دارد؟

بله. اما در موارد نادر. دقت در انتخاب Ct^۲ مناسب می‌تواند تا حدود زیادی نتایج مثبت کاذب را کاهش دهد.

۶- آزمایش‌های سرولوژیک چه زمانی مثبت می‌شوند؟ معمولاً در اواخر هفته اول پس از شروع علائم، آزمایش‌های سرولوژیک شروع به مثبت شدن می‌کنند و اولین آنتی‌بادی که مثبت می‌شود IgM است.

۷- تغییرات تیتراژ IgM چگونه است؟

کیتیک تغییرات تیتراژ آنتی‌بادی IgM در بین افراد مختلف و نیز بسته به نوع طراحی کیت، متفاوت است. اما بطور کلی می‌توان گفت پس از ورود ویروس و ایجاد پاسخ ایمنی، تیتراژ IgM بتدریج از روز ۴ تا ۶ قابل اندازه‌گیری می‌شود. سپس در هفته اول تا دوم پس از شروع علائم به اوج خود رسیده و در صورتی که بیماری سیر طبیعی خود را طی کند، از اواخر هفته سوم روند کاهشی در پیش می‌گیرد، بطوریکه هفته پنجم و بخصوص ششم غیرقابل اندازه‌گیری می‌شود. البته در صورت عفونت مجدد ممکن است دوباره تست IgM مثبت شود.

۸- تغییرات تیتراژ IgG چگونه است؟

کیتیک تغییرات تیتراژ آنتی‌بادی IgG در بین افراد مختلف و نیز بسته به نوع طراحی کیت، متفاوت است. اما بطور کلی می‌توان گفت معمولاً تیتراژ IgG از روز دهم (اواسط هفته دوم) قابل اندازه‌گیری شده، در هفته سوم و چهارم به اوج خود می‌رسد. سپس در صورت تشدید نشدن بیماری،

ویروس SARS-CoV-2 جزء خانواده کروناویروس بوده و عامل بیماری COVID-19 است. این ویروس پوشش‌دار و دارای رشته RNA مثبت با ۳۰۰۰۰ نوکلئوتید و ۱۵ ژن است که پروتئین‌های مختلفی را کد می‌کند.

اساس تشخیص آزمایشگاهی عفونت با ویروس SARS-CoV-2 بر سه راهبرد اصلی استوار است:

۱- تجسس و اثبات وجود ویروس عفونت‌زا در بدن بخصوص دستگاه تنفس از طریق کشت ویروس. امکان انجام این آزمایش صرفاً در آزمایشگاه‌های خاصی مهیاست و در دسترس عموم نیست.

۲- تجسس و اثبات وجود اجزای ساختمانی ویروس در بدن و بخصوص دستگاه تنفس. این مهم خود از دو راه صورت می‌گیرد:

الف) نشان دادن وجود ماده ژنتیکی ویروس از طریق آزمایش RT-PCR که آزمایش اصلی متداول و اختصاصی این ویروس محسوب می‌شود.

ب) تجسس و اثبات وجود آنتی‌ژن‌های پروتئینی ویروس با استفاده از آنتی‌بادی‌های اختصاصی علیه این پروتئین‌ها. این

نوع آزمایش به دلایل گوناگون هنوز خیلی متداول نشده است.

۳- سنجش پاسخ ایمنی هومورال در مواجهه با ویروس از طریق اندازه‌گیری سرولوژیک آنتی‌بادی‌های IgA، IgM، و IgG در خون. تست‌های سرولوژیک پنجره تشخیص ویروس را گسترده‌تر کرده و از آن‌ها می‌توان برای کمک به تشخیص و حتی تایید تست PCR استفاده کرد. بعلاوه بهترین وسیله برای جمع‌آوری داده‌های اپیدمیولوژیک به منظور کنترل اپیدمی کرونا می‌باشند.

سوالات متداول

حال با توجه به این مقدمه به سوالات متداول در خصوص این بیماری و روش‌های تشخیص آزمایشگاهی آن می‌پردازیم.

۱- دوره نهفتگی بیماری چند روز است؟

بطور میانگین در بیشتر افراد ۵ روز اما می‌تواند بسته به تعداد ویروس وارد شده به بدن (لود ویروس) و کیفیت پاسخ ایمنی بین ۱ تا ۱۴ روز متغیر باشد.

۲- آیا همه افراد علائم و نشانه‌های بیماری را بروز می‌دهند؟

خیر. برخی افراد بدون آنکه خود علامتی داشته باشند می‌توانند ویروس را به دیگران انتقال دهند. معمولاً آزمایش PCR این افراد مثبت می‌شود. در اکثر آن‌ها آزمایش‌های سرولوژیک هم مثبت می‌شود اما با تیتراژهای به مراتب پایین‌تر.

۳- آزمایش PCR چه زمانی مثبت می‌شود؟

معمولاً یک روز پس از استقرار ویروس در مخاط دستگاه تنفس این تست مثبت شده و بسته به لود ویروس و شدت علائم

از هفته ۵ و ۶ پس از شروع علائم روند کاهشی خود را در پیش گرفته ولی در اکثر موارد حداقل بین ۲ تا ۳ ماه دیگر قابل اندازه‌گیری خواهد بود. بنابراین انجام تست IgG در ۱۰ روز اول بیماری صحیح نیست. در صورت عفونت مجدد ممکن است دوباره تیتراژ IgG افزایش یابد.

۱۳- آیا بین تیتراژی آنتی‌بادی با سن بیمار یا شدت بیماری، رابطه‌ای معنادار وجود دارد؟

بلی. نشان داده شده افراد مسن معمولاً به اشکال شدیدتر بیماری مبتلا می‌شوند که همراه است با پاسخ شدیدتر سیستم ایمنی هومورال و لذا تیتراژهای بالاتری از آنتی‌بادی IgM و IgG.

۱۴- در حال حاضر بهترین راهبرد برای اثبات عفونت مزمن با ویروس SARS-CoV-۲ چیست؟

انجام تست‌های سرولوژی

۱۵- بهترین راهبرد برای اثبات وجود عفونت با ویروس SARS-CoV-۲ در گذشته بیمار چیست؟

انجام تست‌های سرولوژی

۱۶- آیا علاوه بر راهبردهای اصلی سه‌گانه فوق راهبردهای دیگری برای تشخیص بیماری COVID-۱۹ وجود دارد؟

بلی. بیومارکرهای دیگری مطرح هستند که می‌توان از آنها برای کمک به تشخیص یا پیش‌بینی بیماری بهره برد، مانند شمارش لنفوسیت‌های خون، تعیین نسبت نوتروفیل به لنفوسیت (NLR^۳)، CRP، تروپونین T، LDH، D-Dimer، Procalcitonin و IL-۶ و فریتین سرم

۹- آیا ممکن است IgG و IgM همزمان مثبت باشند؟

بلی. باتوجه به آنچه که در پاسخ سوال‌های ۷ و ۸ آمد و مستند به شکل ۱، این همپوشانی بخصوص در هفته‌های دوم و سوم و گاهی چهارم بسیار محتمل است.

۱۰- آیا امکان دارد در تست‌های سرولوژیک، نتایج مثبت کاذب داشته باشیم؟

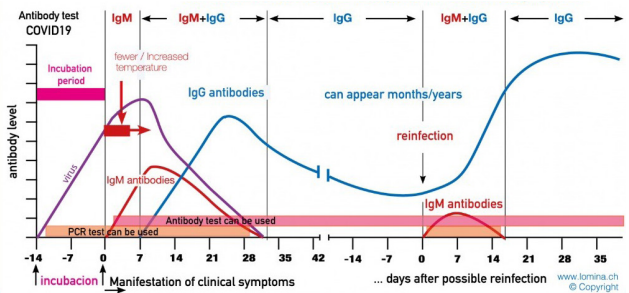
بلی اما با احتمال پایین. به لحاظ نظری واکنش متقاطع بین آنتی‌بادی‌های علیه ویروس SARS-CoV-۲ با اجزای ویروس‌های مشابه مانند SARS-CoV-۱ یا سایر اعضای خانواده کروناویروس مانند HKU1، OC43، NL۶۳، ۲۲۹E، ممکن است. این نوع واکنش‌های متقاطع که بطور نادر می‌تواند منجر به نتایج مثبت کاذب شود بخصوص در مورد IgM محتمل‌تر است. چون اساساً IgM در خط اول واکنش سیستم ایمنی هومورال قرار داشته و با توجه به تعجیل سیستم و لزوم فوریت در پاسخ، کمتر اختصاصی عمل می‌کند.

۱۱- آیا امکان دارد در تست‌های سرولوژیک، نتایج منفی کاذب داشته باشیم؟

بلی. همانطور که در سوالات قبل مطرح شد پس از شروع علائم ممکن است چند روز طول بکشد تا تیتراژ اولین آنتی‌بادی یعنی IgM بالا برده و قابل اندازه‌گیری شود. پس می‌توان گفت در چند روز اول بیماری، تست‌های سرولوژیک برای تشخیص عفونت حاد مناسب نبوده چون احتمال داشتن نتایج منفی بالاست. حتی در صورت وجود علائم و نشانه‌های بیماری و/یا تست PCR مثبت، انجام تست IgM در ۴ روز اول بیماری و تست IgG در ۸ روز اول بیماری صحیح نیست.

۱۲- آیا ممکن است در بیماری که PCR منفی است، تست‌های سرولوژیک مثبت باشد؟

بلی. همانطور که در پاسخ سوال ۴ دیدیم ممکن است به هر دلیلی تست PCR منفی کاذب باشد ولی تست‌های سرولوژی مثبت باشند. در این حالت، مثبت شدن نتیجه تست سرولوژی بخصوص اگر بیمار علائم و نشانه‌هایی دال بر وجود بیماری را داشته باشد، بسیار کمک کننده خواهد بود.



شکل ۱- نمودار تغییرات تست‌های آزمایشگاهی عفونت COVID-۱۹

Clinical interpretation of microbiological diagnostic results

Symptoms	rRT-PCR	IgM	IgG anti-S	IgG anti-N	Interpretation
+/-	+	-/+	-/+	+/-	Acute infection
+	-	+	+	+	Recent infection
+	-	+	+	+	Late onset infection
-	-	-	+	+/-	Old infection
-	-	-	-	-	Absence of infection

rRT-PCR, real-time reverse transcription polymerase chain reaction. +/-: often positive. -/+: possible to be positive.

شکل ۲- تفسیر تست‌های آزمایشگاهی عفونت COVID-۱۹

[https://www.clinicalmicrobiologyandinfection.com/article/S1198-743X\(20\)30363-3/fulltext](https://www.clinicalmicrobiologyandinfection.com/article/S1198-743X(20)30363-3/fulltext)