

# أهمية الاختبارات المصلية في عدوى SARS-CoV-2

عبد الرحمن الرامي<sup>1</sup>، إدريس بنزكري<sup>3</sup>، أحمد عزيز بوصفيحة<sup>1,2</sup>، جلييلة البكوري<sup>1,3</sup>

1. مختبر البحث في المناعة السريرية و الإلتهاب و الأرجية (LICIA) - كلية الطب والصيدلة، جامعة الحسن الثاني بالدار البيضاء، المغرب.
2. وحدة المناعة السريرية P1، مستشفى الأطفال عبد الرحيم الهاروشي، المركز الإستشفائي الجامعي ابن رشد، الدار البيضاء، المغرب.
3. مختبر المناعة المركز الإستشفائي الجامعي ابن رشد، الدار البيضاء، المغرب.

## تقديم

تُشكل الاستجابة المناعية الخَلطية (humoral) المرتكزة على إنتاج الأجسام المضادة (antibodies) أحد أهم خطوط الدفاع ضد العدوى الفيروسية، ويُمكن الكشف عن وجود الأجسام المضادة النوعية (specific) لمستضدات (antigens) أحد الفيروسات في الدم من تشخيص الإصابة الحديثة أو السابقة بعدواه. وتعتبر الاختبارات المصلية (serology) أداة أكثر استمرارية وأقل تعقيدا وتكلفة لتشخيص التعرض للفيروس على مستوى الفرد والسكان، كما أنها توفر معلومات مهمة حول معدلات الانتشار والإماتة وآليات التعرض (exposition) والإصابة وحول دور الأجسام المضادة في المناعة الوقائية وفي تتبع تطوير اللقاح.

ولا تزال الدراسات جارية للتعرف على طبيعة الاستجابة المناعية الخَلطية ضد عدوى فيروس المتلازمة التنفسية الحادة الوخيمة التاجي الثاني (SARS-CoV-2)، وخاصة مدة بقاء الأجسام المضادة النوعية للفيروس ومدى قدرتها على توفير الحماية من الإصابات اللاحقة وأهمية الكشف عنها في إدارة عدوى كوفيد-19، بما في ذلك التشخيص والعلاج. وتشير التقارير الأولية من جميع أنحاء العالم إلى وجود علاقة بين مستوى الأجسام المضادة النوعية للفيروس وشدة مرض كوفيد-19، بحيث تكون النسبة الأقل عند المرضى اللعرضيين (asymptomatic) [1-3]. وقد تم تطوير وتسويق العديد من الاختبارات المصلية لكوفيد-19 خلال فترة وجيزة، بما في ذلك الاختبارات السريعة المستخدمة في نقطة الرعاية السريرية (point-of-care)، ما يطرح تساؤلات حول دقة هذه الإختبارات وآلية عملها. وسنحاول في هذا المقال الإجابة عن الأسئلة المتعلقة بحساسية (sensitivity)

ونوعية (specificity) هذه الاختبارات المصلية وأهميتها في تشخيص عدوى SARS-CoV-2، كما سنجيب عن بعض الأسئلة المرتبطة بالاستجابة المناعية الخَلطية ضد الفيروس، خاصة مدى بقاء الأجسام المضادة النوعية له ومدى قدرتها على توفير الحماية من الإصابة بالعدوى.

## المكانة التشخيصية للأجسام المضادة النوعية لـ SARS-CoV-2

يعتمد تأكيد عدوى SARS-CoV-2 أساسا على نوعين من التحاليل المختبرية؛ وهي الاختبارات الفيروسية التي تكشف عن وجود مكونات فيروسية في مواضع معينة من الجسم، مثل اختبار تفاعل البوليميراز المتسلسل (PCR) للكشف عن وجود المادة الوراثية الفيروسية، والاختبارات المصلية، مثل فحوصات ELISA و LFIA و CLIA، التي تستكشف وجود الأجسام المضادة النوعية للفيروس في الدم (الجدول 1). وتختلف حساسية كل من هذين الاختبارين، أي القدرة على كشف الإيجابية الحقيقية، باختلاف مراحل العدوى.

تنخفض نسبة الحمض النووي الريبوزي (RNA) الفيروسي في الجسم مع تقدم العدوى [4] مما يؤثر على حساسية اختبار PCR، بحيث تفوق حساسيته 92% خلال الخمسة أيام الأولى من ظهور الأعراض، ثم تنخفض إلى أقل من 78% بعد اليوم الثامن، ثم إلى 30% بعد 21 يوما من ظهور الأعراض [5]. أما حساسية الاختبار المصلي فتزيد مع تقدم العدوى من 50% في الأسبوع الأول لظهور الأعراض إلى أكثر من 80% في الأسبوع الثاني، ثم إلى 100% بعد 21 يوما من ظهور الأعراض [5]. وبالتالي فالجمع بين الاختبارين يعطي تشخيصا

أدق للعدوى ومعلومات أكثر عن مرحلتها. ويفضل أن يشمل الاختبار المصلي الكشف على الأقل على صنفين مختلفين من الأجسام المضادة، مثل IgA و IgM و IgG، في آن واحد مما يزيد من حساسيته [6]. وعادة ما يبدأ مستوى الأجسام المضادة IgM في الزيادة بعد ستة أيام من الإصابة الأولية، بينما تظهر IgG متأخرة عن IgM (خلال 14 يوما من الإصابة) ويمكن أن تستمر لمدة 6 أشهر أو حتى لسنوات (الشكل 1). وقد تكون لسلبية اختبار PCR علاقة بفترة النافذة (window period) لهذا الأخير، والمربطة بمدة حضانة الفيروس بعد التعرض له، وقد تم تحديد متوسط هذه الفترة في خمسة أيام بعد التعرض للفيروس [7].

وترتبط النوعية (specificity)، أي القدرة على استبعاد السلبية الحقيقية عند الأشخاص الأصحاء، بنوع المستضدات (antigens) المستعملة في الاختبار المصلي للكشف عن الأجسام المضادة لها؛ ويستخدم في الغالب البروتين الغشائي S (Spike) الفيروسي أو الجزء RBD منه (receptor-binding domain) المسؤول عن الارتباط بمستقبلات الأنزيم المحول للأنجيوتنسين (ACE2 receptors) أو البروتين النووي الفيروسي (Nucleoprotein) (N). وقد يعطي استخدام البروتين النووي N نسبة تفاعلية متصالية (cross-reactivity) أكبر مقارنة باستخدام البروتين Spike، بسبب وجود تماثل في سلسلة الأحماض الأمينية للبروتين N لـ SARS-CoV-2 مع سلالات أخرى من الفيروسات التاجية [8]. وقد أظهرت إحدى الدراسات المقارنة أن استخدام الجزء RBD من البروتين الفيروسي Spike يعطي أداء أفضل فيما يخص حساسية ونوعية الاختبارات المصلية التشخيصية، خاصة اختبار الأجسام المضادة

الجدول ١ : مقارنة حساسية ونوعية أهم الاختبارات المصلية

الشركة المصنعة	المستضد (antigens)	النوعية (specificity) [9]	الحساسية (sensitivity) [9]	ما لا يمكن أن يخبرنا به	ما يخبرنا به	وقت النتائج	نوع الاختبار
Cellex	N و S	99.0%	89.0%	كمية الأجسام	وجود أو غياب (كيفي)	10-30 دقائق	اختبار التشخيص السريع (Rapid diagnostic test)
Intec	N	85.0%	90.0%	المضادة في المصل	((qualitative) الأجسام		
Healgen	N و S	88.0%	100%	أو قدرتها على منع تكاثر الفيروس.	المضادة للفيروس في المصل.		(LFIA)
Wantai Ig	RBD	99.0%	99.0%	قدرة الأجسام	وجود أو غياب (كمي)	2-5 ساعات	مقايصة الممنز المناعي المرتبط بالإنزيم (ELISA)
Wantai IgM	RBD	99.0%	90.0%	المضادة على منع تكاثر الفيروس.	((quantitative) الأجسام		
Euroimm IgG	S1	99.0%	81.0%	تكاثر الفيروس.	المضادة للفيروس في المصل.		
Euroimmun IgA	S1	94.0%	97.0%				
Liaison S2 و S1		90.0%	81.0%	قدرة الأجسام المضادة على منع تكاثر الفيروس.	وجود أو غياب (كمي) الأجسام المضادة للفيروس في المصل.	1-2 ساعات	المقايصة المناعية الكيميائية Chemiluminescent immunoassay (CLIA)

استمرار تواجدها لمدة تفوق الأربعة أشهر [11]، بعكس ما أظهرته الدراسات السابقة [3]. ويعزى هذا التعارض في النتائج إلى التحيز في أخذ العينات (sampling bias)، فعينات الدراسات السابقة أخذت في مدة تقل عن الشهر، بينما امتد أخذ العينات في الدراسة الإسلاندية لفترة فاقت أربعة أشهر.

يفسر هذا بكون الاستجابة المناعية الخلطية لبعض العدوى الفيروسية واللقاحات تتم عبر موجتين من إنتاج الأجسام المضادة، حيث تعمل خلايا بلزمية (plasma cells) قصيرة العمر على إفراز موجة أولى سريعة من الأجسام المضادة لحصر العدوى الحادة والتي تندثر بسرعة بعد ذلك، بينما تنتج الموجة الثانية من الأجسام المضادة عن خلايا بلزمية طويلة العمر، والتي بالرغم من

هدفت هذه الدراسة إلى قياس وتتبع نسبة الأجسام المضادة النوعية لفيروس SARS-CoV-2 عند 30,576 شخصا من إسلاندا، بما فيهم الأشخاص المؤكدين باختبار تفاعل البوليميراز المتسلسل (PCR) (سواء المرضى أو المتعافين) والأشخاص غير المؤكدين باختبار qPCR من مهنيي الصحة والمخالطين والأفراد في الحجر الصحي. واعتمدت الدراسة ستة اختبارات مصلية لقياس مستويات الأجسام المضادة (IgM و IgG و IgA) الموجهة ضد البروتينات الفيروسية N و S1 و RDB وهي من إنتاج أربع شركات مختلفة Wantai و Roche و EDI/Eagle و Euroimmun. وتبين أنه كان لدى 91.1% من الأشخاص المؤكدين باختبار qPCR مضادات أجسام نوعية للفيروس بعد 25 يوما من تشخيصهم، مع

الكلية (total Ig) الذي تصنعه Wantai، أما اختبار Euroimm IgG فكان الأنسب لدراسة الانتشار المصلي على مستوى الساكنة [8]، ويقدم الجدول 1 نتائج هذه المقارنة.

ويتطلب التفسير المناسب لنتائج هذه الاختبارات مراعاة مجموعة من العوامل الأخرى المتعلقة بالعدوى، مثل الوضعية الوبائية (الانتشار (prevalence)) وفترة حضانة الفيروس والمدة اللازمة لإنتاج مضادات الأجسام ومدى بقائها، والعوامل الخاصة بالحالة، مثل تاريخ التعرض وبداية ظهور الأعراض وتاريخ سحب العينات وكذلك جودتها. ورغم قلة المعطيات حول طبيعة الاستجابة المناعية الخلطية ضد SARS-CoV-2، إلا أنه يمكن العمد إلى المعلومات الحالية والمعطيات المتوفرة عن الاستجابة المناعية للفيروسات التاجية الأخرى لتفسير نتائج الاختبار المصلي ويقدم الجدول التالي تفسيراً لمختلف نتائج هذين الاختبارين حسب مراحل العدوى (الجدول 2).

## بقاء الأجسام المضادة لـ SARS-Cov-2 لمدة تفوق الأربعة أشهر

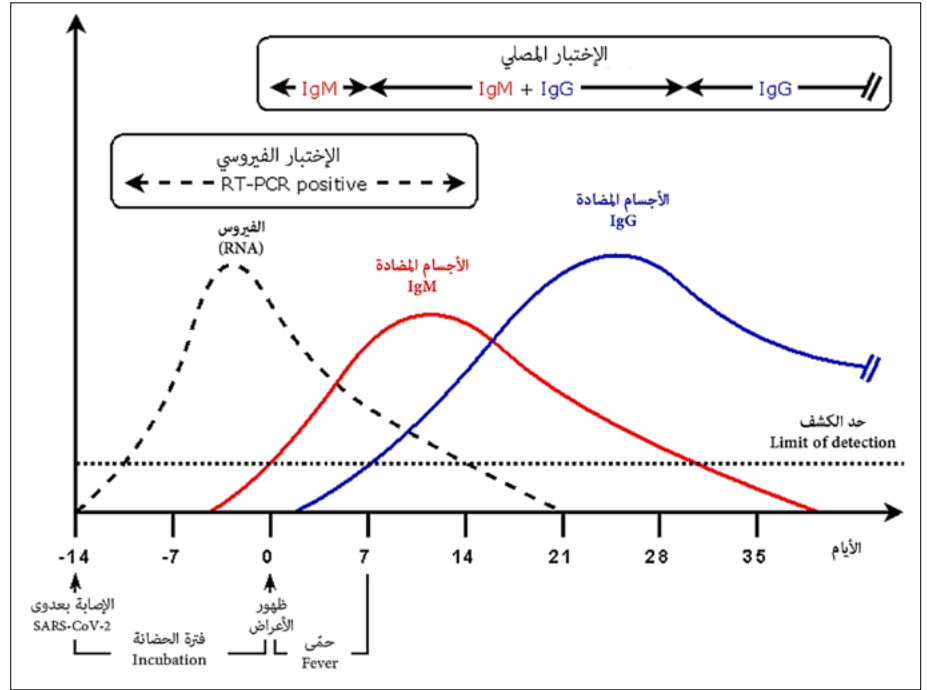
أثار احتمال تناقص مستوى الأجسام المضادة النوعية لفيروس SARS-CoV-2 في دم المرضى بعد شهر من إصابتهم [3] تخوف المجتمع العلمي وخبراء الأمراض المعدية من كون المناعة الخلطية المضادة لهذا الفيروس التاجي قد تكون قصيرة الأمد. ولكن دراسة أكبر أتت بنتائج مباشرة عن بقاء الأجسام المضادة النوعية لفيروس SARS-CoV-2 لمدة تفوق الأربعة أشهر [11].

الجدول 2 : الدلالات السريرية لنتائج التحاليل المخبرية حسب مراحل العدوى بالفيروس التاجي البشري (HCoV) \* [10].

مرحلة العدوى	نتيجة الإختبار		
	IgG	IgM	PCR
فترة النافذة (window period) للاختبار المصلي (الأسبوع الأول للعدوى)	(-)	(-)	(+)
المرحلة المبكرة من العدوى	(-)	(+)	(+)
المرحلة النشطة من العدوى	(+)	(+)	(+)
المرحلة المتأخرة أو رجوع العدوى	(+)	(-)	(+)
المرحلة المبكرة من العدوى. قد تكون سلبية PCR كاذبة، أو *	(-)	(+)	(-)
العدوى السابقة (الشفاء)، أو *	(+)	(-)	(-)
قد تكون مرحلة التعافي من العدوى، أو سلبية كاذبة لاختبار PCR، أو *	(+)	(+)	(-)
لا وجود للعدوى في غياب الأعراض الخاصة، أو فترة النافذة لاختبار PCR	(-)	(-)	(-)
* قد تسبب الفيروسات التاجية البشرية (HCoV) (مثل NL63 و OC43 و 229E و HKU1) إيجابية كاذبية لاختبار ELISA	(-) : نتيجة الإختبار سلبية (+) : نتيجة الإختبار إيجابية		

## المراجع

1. Wang, X., et al., Neutralizing Antibodies Responses to SARS-CoV-2 in COVID-19 Inpatients and Convalescent Patients. Clin Infect Dis, 2020.
2. Long, Q.X., et al., Antibody responses to SARS-CoV-2 in patients with COVID-19. Nat Med, 2020. 26(6): p. 845-848.
3. Long, Q.X., et al., Clinical and immunological assessment of asymptomatic SARS-CoV-2 infections. Nat Med, 2020. 26(8): p. 1200-1204.
4. Wolfel, R., et al., Virological assessment of hospitalized patients with COVID-2019. Nature, 2020. 581(7809): p. 465-469.
5. Miller, T.E., et al., Clinical sensitivity and interpretation of PCR and serological COVID-19 diagnostics for patients presenting to the hospital. FASEB J, 2020.
6. Li, Z., et al., Development and clinical application of a rapid IgM-IgG combined antibody test for SARS-CoV-2 infection diagnosis. J Med Virol, 2020.
7. Lauer, S.A., et al., The Incubation Period of Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) From Publicly Reported Confirmed Cases: Estimation and Application. Ann Intern Med, 2020. 172(9): p. 577-582.
8. Krammer, F. and V. Simon, Serology assays to manage COVID-19. Science, 2020. 368(6495): p. 1060-1061.
9. GeurtsvanKessel, C.H., et al., An evaluation of COVID-19 serological assays informs future diagnostics and exposure assessment. Nat Commun, 2020. 11(1): p. 3436.
10. Kubina, R. and A. Dziedzic, Molecular and Serological Tests for COVID-19 a Comparative Review of SARS-CoV-2 Coronavirus Laboratory and Point-of-Care Diagnostics. Diagnostics (Basel), 2020. 10(6).
11. Gudbjartsson, D.F., et al., Humoral Immune Response to SARS-CoV-2 in Iceland. N Engl J Med, 2020.
12. Amanna, I.J., N.E. Carlson, and M.K. Slifka, Duration of humoral immunity to common viral and vaccine antigens. N Engl J Med, 2007. 357(19): p. 1903-15.
13. Brouwer, P.J.M., et al., Potent neutralizing antibodies from COVID-19 patients define multiple targets of vulnerability. Science, 2020. 369(6504): p. 643-650.
14. Casanova, J.L. and L. Abel, The human genetic determinism of life-threatening infectious diseases: genetic heterogeneity and physiological homogeneity? Hum Genet, 2020. 139(6-7): p. 681-694.
15. أحمد عزيز بوصفيحة، عبد الرحمن الرامي، جلييلة الباكوري، فاطمة أيلال. القابلية المناعية للنوع الوبائي من كوفيد-19 عند أفراد بدون مراضة. المجلة الصحية المغربية، 27، 61-60.
16. أحمد عزيز بوصفيحة، أسماء ضلي، عبد الرحمن الرامي. أنواع لقاحات كوفيد-19: نظرة سريعة. المجلة الصحية المغربية، 27، 59-58.



الشكل 2: تطور الحمل الفيروسي (Viral load) والأجسام المضادة خلال عدوى SARS-CoV-2

3. مفيد في التحقق من الاستجابة المناعية بعد التلقيح.  
 4. يمكن من تحديد متبرعين بالبللما من أجل تقنيات العلاج بالبللما.  
 أما عن أهمية الأجسام المضادة في الوقاية من العدوى، فإنها تكمن في بقاءها لمدة أربعة أشهر على الأقل، وأيضاً في قدرتها على تحييد (neutralization) الفيروس وتوفير الحماية للمصاب حتى في التراكيز (concentrations) الصغيرة [13]، حيث أنه لم يتم تقرير سوى حالات نادرة من عودة العدوى عند الأشخاص الذين تعافوا من كوفيد-19. ومع ذلك، فإن الحاجة إلى دراسات مصلية أطول وشاملة لمختلف الساكنات والأعراق أمر ضروري لمعرفة عمر النصف (half-life) للأجسام المضادة النوعية لـ SARS-CoV-2 ونسبتها القادرة على توفير الوقاية من العدوى.

ولقد قطعت البحوث حول هذا المرض أشواطاً مهمة، خاصة في مجال تحديد جينات القابلية الوراثية للإصابة بالأنواع الوبائية من كوفيد-19 [14-15] وفي تطوير اللقاحات والاستجابة لها [16]، ومع ذلك فإن الحاجة إلى دراسات أكبر لايزال أمراً ضرورياً.

كونها قليلة العدد إلا أنها تنتج أجساماً مضادة أكثر نوعية وبقاء [12]. وبالتالي فأخذ العينات في مرحلة ما بين الموجتين يعطي نتائج غير دقيقة عن طبيعة الاستجابة المناعية الخلطية مقارنة مع أخذ عدة عينات خلال فترة أطول. وتؤكد نتائج الاختبارات المصلية في الدراسة الإسبانية صحة هذه الفرضية، حيث لوحظ هبوط سريع في نسبة الأجسام المضادة النوعية لـ SARS-CoV-2 في العينات الأولية والتي عادت لترتفع وتستقر في العينات اللاحقة من الدراسة، مع انخفاض بسيط ومحدود لهذه النسبة [11]. ويشير هذا إلى استقرار المناعة ضد SARS-CoV-2 لمدة تصل إلى أربعة أشهر على الأقل، في انتظار نتائج دراسات تمتد لفترة أطول.

## خلاصة

بخصوص الجانب التشخيصي للاختبار المصلي، يمكن أن نخلص إلى أنه:

1. يعد وسيلة مساعدة وتكميلية مهمة لاختبار PCR في تشخيص الإصابة بكوفيد-19.
2. أداة مستمرة جيدة لاحتواء وتحديد مسار انتقال العدوى على مستوى الساكنة بهدف السيطرة على انتشار الفيروس وتسهيل الدراسات الوبائية.