

تفسیر آزمایش‌های سرولوژیک و ارزیابی پاسخ ایمنی هومورال پس از واکسیناسیون و ابتلا به بیماری کووید-۱۹

● دکتر مهناز آل یاسین
دکترای علوم آزمایشگاهی، موسس و
مسئول فنی آزمایشگاه تشخیص طبی



● دکتر شهروز همتی
دکترای علوم آزمایشگاهی، رییس انجمن دکترای علوم
آزمایشگاهی تشخیص طبی ایران، موسس و مسئول
فنی آزمایشگاه تشخیص طبی



drhemmatilab@yahoo.com



عفونت SARS-CoV-2 در حال یا گذشته را شناسایی کرده و در نتیجه به دانشمندان و متخصصان بهداشت عمومی کمک نماید تا اپیدمیولوژی SARS-CoV-2 را بهتر بشناسند. اگر چه ارتباط بین ایمنی هومورال و مصونیت در این بیماری هنوز به طور کامل شناخته نشده است، اما شواهد نشان می‌دهد که تولید آنتی بادی به دنبال عفونت احتمالاً تا حدود ۶ ماه موجب مصونیت در برابر عفونت مجدد می‌گردد. با این حال، مشخص نیست که این آنتی بادی‌ها در برابر انواع واریانت‌های ویروسی در حال ظهور تا چه حد می‌توانند محافظت کننده باشند. برخی آزمایش‌های سرولوژیک، آنتی بادی‌های تولید شده توسط واکسن‌های COVID-19 را تشخیص نمی‌دهند.

□ مقدمه

عفونت با ویروس SARS-CoV-2 باعث ایجاد واکنش ایمنی با واسطه سلولی و هومورال شده و آنتی بادی‌هایی علیه آنتی ژن‌های ویروسی مانند پروتئین نوکلئوکپسید (N) و پروتئین اسپایک (S) تولید می‌کند. آنتی بادی‌های ضد پروتئین S نیز زیر واحد پروتئین S1 سنبله (اسپایک) و دامنه اتصال گیرنده (RBD) را هدف قرار می‌دهد. آزمایش‌های سرولوژیک می‌توانند وجود این آنتی بادی‌ها را ظرف چند روز تا چند هفته پس از عفونت حاد در سرم تشخیص دهند. با این حال، این آزمایش‌ها نباید برای تشخیص عفونت حاد SARS-CoV-2 مورد استفاده قرار گیرد. آزمایش‌های سرولوژیک می‌تواند افراد مبتلا به

از آنجا که این واکنش‌ها آنتی‌بادی‌هایی را ضد پروتئین‌های ویروسی القا می‌کنند، اگر آزمایش مورد استفاده، آنتی‌بادی‌های ناشی از واکنش را تشخیص ندهد، نتایج آزمایش آنتی‌بادی پس از واکنش‌ناسیون در افرادی که سابقه عفونت قبلی ندارند ممکن است منفی گردد. همه افراد واجد شرایط باید واکنش‌ناسیون شوند، از جمله افراد واکنش‌ناسیون نشده که قبلاً مبتلا و آنتی‌بادی‌های قابل تشخیص دارند.

افراد واکنش‌ناسیون نشده، از جمله افرادی که قبلاً آزمایش آنتی‌بادی مثبت داشته‌اند، باید از توصیه‌های فعلی برای پیشگیری از عفونت SARS-CoV-2 پیروی کنند.

کلمات کلیدی: Serologic Tests، Vaccination، Antibodies، Anti-S، Anti-N، SARS-CoV-2، COVID-19
به طور کلی اصول زیر را در تفسیر نتایج آزمایش‌های سرولوژیک کووید-۱۹ بایستی مد نظر قرار داد:

۱- وجود آنتی‌بادی در سرم بیمار به معنای مصونیت صددرصد نیست. همین‌طور نبود یا کم بودن مقدار آنتی‌بادی نیز به منزله نبود ایمنی نمی‌باشد. اندازه‌گیری آنتی‌بادی‌ها در سرم اولاً نشان می‌دهد که سیستم ایمنی هومورال (آنتی‌بادی) فرد به واکنش یا ویروس پاسخ داده و دوماً میزان این پاسخ را نشان می‌دهد.

۲- در بیماری کووید-۱۹ سیستم ایمنی سلولی به موازات سیستم ایمنی هومورال علیه ویروس وارد عمل می‌شود و در ایمنی بیمار در مقابل ویروس نقش تعیین‌کننده دارد.

۳- در خصوص واکنش سیستم ایمنی و تولید آنتی‌بادی قبلاً مفصل بحث شده است. معمولاً پس از شروع علائم به طور متوسط ۷-۱۴ روز طول می‌کشد تا آنتی‌بادی‌ها در سرم بیمار قابل اندازه‌گیری باشند. قدرت و مدت پاسخ‌های ایمنی به SARS-CoV-2 کاملاً مشخص نیست و مطالعات نشان می‌دهند که با توجه به سن و شدت علائم این موضوع در بین افراد متفاوت است. داده‌های علمی موجود نشان می‌دهد که در اکثر مردم پاسخ‌های ایمنی برای حداقل ۶-۸ ماه پس از عفونت در برابر عفونت مجدد محافظ‌کننده باقی می‌مانند.

۴- در حدود ۵ تا ۱۰ درصد افراد مبتلا به کرونا یا

آنتی‌بادی تولید نکرده و یا میزان آنتی‌بادی تولید شده به قدری کم است که با کیت‌های سرولوژی قابل شناسایی نخواهند بود. مطالعات گروهی بزرگ، نشان داده‌اند که ۹۹-۹۰٪ از افراد آلوده به SARS-CoV-2 در عرض ۲-۴ هفته پس از عفونت آنتی‌بادی‌های خنثی‌کننده ایجاد می‌کنند. درصد کمی از افراد به دلایلی، بعد از عفونت SARS-CoV-2 آنتی‌بادی خنثی‌کننده ایجاد نمی‌کنند. افراد مبتلا به عفونت خفیف یا بدون علامت نسبت به افرادی که دارای بیماری شدید هستند، سطح آنتی‌بادی پایین‌تری دارند. برخی مطالعات نشان داده‌اند که در برخی افراد کاهش سطح آنتی‌بادی طی چند ماه پس از عفونت رخ می‌دهد. در بررسی وضعیت پاسخ ایمنی پس از واکنش‌ناسیون، معمولاً سه تا چهار هفته بعد از دوز دوم می‌توان آنتی‌بادی‌ها را در سرم بیماران اندازه گرفت.

کیت‌های سرولوژیک

کیت‌های سرولوژیک موجود توانایی شناسایی آنتی‌بادی علیه آنتی‌ژن‌های زیر را دارند:

آنتی‌ژن نوکلئوکپسید N: که به وفور در حین بیماری تولید می‌شود و ایمنی زایی بالایی دارد.
آنتی‌ژن Spike: که شامل ۱۲۷۳ اسید آمینه است و شامل دو زیر واحد است:

- زیر واحد S1: از اسید آمینه ۱۴ تا ۶۸۵
- ناحیه RBD: از اسید آمینه ۳۱۹ تا ۵۴۱ که به رسپتور ACE-2 متصل می‌شود و بخشی از زیر واحد S1 است.

- زیر واحد S2: از اسید آمینه ۶۸۶ تا ۱۲۷۳
بر اساس همین آنتی‌ژن‌های ویروسی کیت‌های زیر برای اندازه‌گیری سطح آنتی‌بادی‌های ضد ویروس کرونا طراحی و ساخته شده‌اند:

- a) Anti SARS-CoV-2 (Nucleocapsid) antibody (IgM & IgG)
- b) Anti SARS-CoV-2 (Nucleocapsid+spike) antibody (IgM & IgG)
- c) Anti SARS-CoV-2 (Spike) antibody (IgG)
- d) Anti SARS-CoV-2 (RBD) antibody (IgG)
- e) Anti SARS-CoV-2 (Neutralizing) antibody (Total)

آنتی‌بادی و مصونیت

بدن ما پس از عفونت‌های ویروسی SARS-CoV-2 یا



تزریق واکسن، آنتی بادی‌های متفاوتی را برای پروتئین‌های ساختاری مختلف (نوکلئوکپسید، سنبله، غشاء و پوشش) تولید می‌کند.

آنتی بادی‌های Anti-N علیه پروتئین‌های نوکلئوکپسید و ویروسی و آنتی بادی‌های Anti-S علیه آنتی ژن‌های اسپایک (در ساختار IgG, IgM, IgA) که در سطح خارجی ویروس قرار دارند تولید می‌شوند و ویروس را غیرفعال می‌کنند. در حالی که سطح بالای Anti-S از ورود ویروس به داخل سلول جلوگیری می‌کند، آنتی بادی‌های Anti-N در صورت نفوذ ویروس به داخل سلول از تکثیر ویروس جلوگیری می‌نماید. سطح بالای Anti-N به این معنی است که فرد احتمالاً قبل از واکنش‌های با ویروس تماس داشته است. با این حال، اثبات آن ممکن نیست.

چندین شکل پروتئین S-کامل (S1+S2) یا جزئی (دامنه S1 یا RBD) به عنوان آنتی ژن برای آزمایش آنتی بادی استفاده می‌شود. هدف پروتئینی واکنش متقابل و ویژگی را تعیین می‌کند زیرا N در کرونا ویروس‌ها بیشتر از S حفظ می‌شود و در RBD، بیشتر از S1 یا S کامل حفظ می‌شود. انتخاب اهداف آنتی ژنیک ممکن است به رسیدگی به جنبه‌های مختلف پاسخ ایمنی کمک کند. واکنش متفاوتی از آنتی بادی‌های اختصاصی S و N ممکن است برای کمک به تمایز عفونت قبلی از واکنش‌های واکنش متقابل مطالعات سرولوژی مورد استفاده قرار گیرد، به ویژه برای واکسن‌هایی که آنتی بادی‌ها را فقط در برابر پروتئین S تولید می‌کنند.

بنابراین باید به این نکته نیز توجه نمود که آنتی ژن اسپایک مورد استفاده در کیت‌های سرولوژی با طول کامل هستند یا جزئی. زیرا این موضوع در مقدار آنتی بادی اندازه‌گیری شده حساسیت کیت تأثیر گذار است.

از بین رفتن آنتی بادی‌های SARS-CoV-2 که قبلاً قابل تشخیص بوده، در افراد مبتلا به بیماری خفیف گزارش شده است. به نظر می‌رسد افرادی که بیماری شدیدتری دارند پاسخ آنتی بادی قوی‌تری با IgG، IgM، IgA ایجاد کنند، که همگی به تیترهای بالاتری رسیده و ماندگاری بیشتری از خود نشان می‌دهند. ماندگاری مشاهده شده آنتی بادی‌ها می‌تواند بر اساس روش استفاده شده متفاوت

باشد، برخی مطالعات نشان داده‌اند که تقریباً ۵ تا ۱۰ درصد افراد آنتی بادی‌های IgG قابل تشخیص را در پی عفونت ایجاد نمی‌کنند. اگر چه ممکن است آنتی بادی‌های خنثی کننده در بیماران مبتلا به بیماری خفیف یا بدون علامت تشخیص داده نشوند، اما به نظر می‌رسد پاسخ ایمنی هومورال حتی با کاهش آنتی بادی‌ها در طول زمان به دلیل تداوم سلول‌های B خاطره پایدار باقی بماند. آنتی بادی‌های خنثی کننده SARS-CoV-2 که مانع از تکثیر ویروس در شرایط آزمایشگاهی می‌شوند، عمدتاً RBD را هدف قرار می‌دهند. تلاش برای درک بهتر کینتیک آنتی بادی، طول عمر پاسخ‌های ایمنی هومورال، ارتباط مقدار آنتی بادی‌های متصل شونده (binding Ab) با آزمایش خنثی سازی آنتی بادی‌ها و جانشین‌های سرولوژیکی حفاظت ایمنی به در دسترس بودن وسیع‌تر آزمایش‌های آنتی بادی متصل شونده استاندارد و قابل ردیابی با استاندارد بین‌المللی وابسته است.

میزان آنتی بادی تولید شده بسته به زمان اندازه‌گیری، فرآیند عفونت و ویژگی‌های ایمنی فردی و نوع واکسن متفاوت است.

□ آنتی بادی خنثی کننده چیست؟

آنتی بادی‌هایی که عملکرد مهار ویروسی را بر عهده دارند «آنتی بادی‌های خنثی کننده (NAbs)» نامیده می‌شوند. آنتی بادی‌های خنثی کننده تولید شده علیه ویروس SARS-CoV-2 به طور عمده در برابر پروتئین Spike (S) (که شامل آنتی RBD هم می‌شود) تولید می‌شوند. روشی که برای ارزیابی عملکرد یا اثر بخشی این آنتی بادی‌ها استفاده می‌شود به عنوان «آزمایش خنثی سازی تقلیل پلاک» (PRNT) شناخته می‌شود. این آزمون نیاز به نیروی کار، هزینه زیاد و تجهیزات مناسب دارد و می‌تواند در آزمایشگاه‌های تحقیقاتی مجهز مورد مطالعه قرار گیرد. ولی به عنوان یک روش عملی برای ارزیابی واکنش‌های ایمنی نیست. آنتی بادی‌های خنثی کننده ویروس ناشی از واکسن یا ابتلا به ویروس کرونا نقش مهمی را در کنترل عفونت ویروسی ایفا می‌کنند. این آنتی بادی‌ها نواحی S1-RBD، S1-NTD یا ناحیه S2 را هدف قرار می‌دهند و اتصال

RBD ها را به گیرنده‌های مربوطه (ACE-2) مسدود کرده و با همجوشی غشایی S2 و یا ورود به سلول میزبان تداخل می‌کنند، بنابراین فرد را از ابتلا به عفونت‌های ویروسی محافظت می‌کنند. بیشتر این آنتی‌بادی‌ها آنتی‌ژن RBD و تعدادی از آن‌ها مناطق زیر واحد S2 یا محل برش پروتئولیتیک S1/S2 را هدف قرار می‌دهند.

نکته دیگری که حائز اهمیت است تفاوت آنتی‌بادی‌های خنثی‌کننده Neutralizing Antibodies با روش خنثی‌سازی Neutralizing Assay است. در برخی کیت‌ها سطح آنتی‌بادی‌های خنثی‌کننده اندازه‌گیری می‌شود که عموماً توسط کیت‌های گروه C و D سنجش می‌شوند ولی در کیت‌های خنثی‌سازی (cVNT)، قابلیت آنتی‌بادی‌های خنثی‌کننده در خنثی نمودن آنتی‌ژن‌های ویروسی (RBD) برای اتصال به گیرنده ویروسی (ACE-2) سنجش می‌گردد. (مانند کیت‌های گروه E).

□ عفونت مجدد پس از ابتلا یا واکسیناسیون

هر چه ویروس SARS-CoV-2 در جامعه بیشتر در گردش باشد، فرصت‌های بیشتری برای تغییر از طریق تکامل طبیعی در اختیار دارد. ظهور انواع واریانت‌های ویروس کرونا می‌توانند چالش‌های جدیدی را ایجاد کنند. در حال حاضر، سه نوع واریانت ویروس، B.1.351، B.1.1.7 و P.1، با افزایش قابلیت انتقال و یا تا حدودی پتانسیل فرار از مصونیت، در حال انتشار در کشورها است. شواهدی مبنی بر کاهش حساسیت آزمایش خنثی‌سازی در برخی از انواع SARS-CoV-2 به عنوان مثال P.1 و B.1.351 به آنتی‌بادی‌های خنثی‌کننده طبیعی (یا ناشی از واکسن) گزارش شده است، این موضوع این نگرانی را ایجاد می‌کند که عفونت مجدد پس از عفونت طبیعی (یا عفونت موفقیت‌آمیز پس از واکسیناسیون) ممکن است در محیط‌هایی که این واریانت‌ها به طور وسیع در گردش هستند، افزایش یابد.

□ تفسیر آزمایش‌های سرولوژیک

در فردی که هرگز واکسینه نشده است:

در این افراد آزمایش مثبت برای آنتی‌بادی ضد آنتی‌ژن‌های

S، N، یا RBD نشان دهنده عفونت طبیعی قبلی است. جهت ارزیابی پاسخ ایمنی به بیماری کووید-۱۹ در هفته دوم بیماری به دلیل تولید زیاد آنتی‌ژن نوکلئوکپسید در حین بیماری بهتر است از کیت‌های گروه a و یا b به دلیل حساسیت بالای کیت استفاده کرد.

اما همانطور که قبلاً گفته شد ممکن است که چند ماه پس از شروع بیماری سطح آنتی‌بادی‌های ضد نوکلئوکپسید در سرم بیمار کاهش پیدا نموده و ممکن است قابل اندازه‌گیری با روش‌های معمول نباشند در صورتی که در این زمان ممکن است آزمایش با کیت‌های گروه C و D و یا حتی E مثبت شود.

در افرادی که واکسن زده‌اند:

در پاسخ سیستم ایمنی هومورال نسبت به واکسن‌های mRNA (مدرنا، فایزر) واکسن‌های بر پایه وکتور ویروسی (اسپوتنیک و آسترانکا) و واکسن‌های غیر فعال شده (سینوفارم، برکت و بهارات هند) یک ماه بعد از دوز دوم از کیت‌های C و D و E می‌توان استفاده کرد و در تمام این واکسن‌ها می‌توان سطح Anti-S و Anti-RBD را اندازه‌گیری نمود.

□ استفاده از آزمایش‌های سرولوژیک در بررسی ابتلا مجدد (Reinfection) پس از واکسیناسیون

عفونت مجدد SARS-CoV-2 ثبت شده است. با این حال، مطالعات نشان می‌دهد افرادی که دارای آنتی‌بادی‌های SARS-CoV-2 هستند، کمتر از افرادی که آنتی‌بادی ندارند، دچار عفونت یا بیماری بالینی بعدی می‌شوند. به هر دلیلی که پزشک مشکوک به کرونا در افراد واکسینه شده است و یا جواب PCR بیمار منفی است ولی احتمال ابتلا به کرونا وجود دارد، می‌توان جهت بررسی ابتلا علاوه بر PCR از کیت‌های گروه a که فقط آنتی‌بادی ضد نوکلئوکپسید را سنجش می‌کنند، استفاده نمود. در کیت‌های گروه b (به دلیل وجود آنتی‌ژن S در کیت) آنتی‌بادی ضد S در سرم افراد که به واسطه تزریق واکسن یا ابتلای قبلی ایجاد شده‌اند؛ ممکن است در این افراد مثبت گردد و کاربرد کمتری در شناسایی ابتلای پس از واکسیناسیون خواهد داشت. با این حال اگر در کیت گروه b افزایش تیتراژ



آنتی بادی به فاصله یک تا دو هفته بعد از اندازه گیری اولیه انجام شود در بررسی ابتلا مجدد (Reinfection) پس از واکسیناسیون کمک کننده خواهد بود.

بنابراین در افراد واکسینه شده بررسی آنتی بادی ضد نوکلئوکپسید برای تمایز بین پاسخ ایمنی به واکسیناسیون و عفونت طبیعی مفید واقع خواهد شد.

افرادی که واکسن m-RNA و واکسن بر پایه وکتور دریافت می کنند، فقط آنتی بادی های Anti-S و Anti-RBD تولید می کنند و در سرم این افراد آنتی بادی های نوکلئوکپسید (Anti-N) قابل اندازه گیری نخواهد بود.

آنتی بادی های ضد N عموماً در حین و بعد از عفونت تولید می شوند تا واکسن. مشاهده می شود که پاسخ آنتی بادی Anti-N معمولاً پس از واکسیناسیون در واکسن های کشته شده مانند سینوفارم کم است. بنابراین آزمایش سرولوژیک با کیت های گروه a در این گونه واکسن ها کاربرد کمتری خواهد داشت.

لازم است همکاران آزمایشگاهی به دقت و به طور کامل نام آزمایش، نوع آنتی ژن به کار رفته در کیت و نوع آنتی بادی اندازه گیری شده را در قسمت مربوطه وارد نمایند تا در هنگام تفسیر و مقایسه احتمالی نتایج آزمایشگاه های مختلف توسط پزشک مورد استفاده قرار گیرد.

با این حال، تفسیر نتایج آزمایش سرولوژی پیچیده است. همان طور که می دانید در بدن ما چند کلاس و ساب کلاس آنتی بادی و در ویروس کرونا چندین شاخص آنتی ژنیک / اپی توپ وجود دارد که می توانند برای هدف قرار گرفتن توسط این آنتی بادی ها مورد استفاده قرار گیرند، نتایج ممکن است به طور اساسی متفاوت باشد. نتایج بستگی به ویژگی های کیت سنجشی مورد استفاده دارد. متداول ترین سنجش ها برای تشخیص آنتی بادی های SARS-CoV-2 آزمایش های الایزا، کمی لومینسانس و روش جریان جانبی (LFIA) سریع است.

همانطور که قبلاً بحث شد آنتی ژن S حاوی ۱۲۷۳ اسید آمینه است. اگر هر ۱۵-۱۰ اسید آمینه را یک اپی توپ فرض کنیم انتظار این است که نسبت به RBD که ۲۲۲ اسید

آمینه دارد آنتی بادی بیشتری علیه این بخش تولید شود. بنابراین نمی توان انتظار داشت که مقدار آنتی RBD از آنتی S (البته با طول کامل) بیشتر باشد یا مثلاً آنتی S منفی یا با تیترا پایین و آنتی RBD مثبت یا با تیترا بالا باشد.

همین موضوع نیز در خصوص آزمایش های آنتی S و آنتی RBD و آزمایش خنثی سازی نیز صدق می کند. یعنی اگر در فردی آنتی S و آنتی RBD مثبت باشد آزمایش خنثی سازی وی می تواند مثبت با مقادیر مختلف و یا منفی باشد.

دلیل این امر در نوع فرمت انجام آزمایش و افینیتی آنتی بادی ها در فرمت های مختلف است. در آزمایش آنتی S و آنتی RBD فقط مقدار آنتی بادی مهم است و در درجه کمتر افینیتی ولی در تست خنثی سازی علاوه بر مقدار آنتی بادی، افینیتی آن نیز مهم است. زیرا جهت اتصال با RBD کوت شده در کف چاهک با ACE2 نشاندار رقابت می کند. به طوری که در تست خنثی سازی که رقابتی است علاوه بر مقدار آنتی بادی، افینیتی آن ها نیز تأثیر دارد.

بنابراین ممکن است علیرغم وجود آنتی بادی، به دلیل افینیتی پایین آنتی بادی تست خنثی سازی منفی یا با مقدار پایین مثبت شود. ولی عکس این مطلب صادق نیست مثلاً نمی توان فرض نمود که تست خنثی سازی مثبت با تیترا بالا و آنتی S و آنتی RBD منفی باشد.

در حال حاضر کیت های موجود به جز گروه a و b که IgG و IgM را اندازه گیری می کنند بقیه کیت ها فقط IgG را اندازه گیری می نمایند. در تست خنثی سازی تمامی آنتی بادی ها GAM در واکنش شرکت دارند ولی از آن جهت که فقط آنتی بادی IgG بیشتر خاصیت خنثی کنندگی دارد فرض بر این است که خنثی سازی توسط این آنتی بادی صورت می گیرد. همانطور که می دانید آنتی بادی IgA نیز که مسئول ایمنی مخاطی است و همچنین IgM نیز بر ضد ویروس عامل کووید-۱۹ تولید می شود. بنابراین اگر این کیت ها بتوانند همزمان هر سه آنتی بادی GAM را شناسایی کنند شاید بررسی و تفسیر پاسخ ایمنی هومورال بهتر صورت گیرد. مثل کیت Anti RBD (IgA, IgG, IgM) که هر سه آنتی بادی

در واکنش شرکت داشته و کاربرد آن بیشتر در بررسی افرادی است که در طرح واکسیناسیون شرکت می‌کنند.

تفسیر آزمایش‌های سرولوژیک بر اساس وضعیت واکسیناسیون

وضعیت واکسیناسیون	Anti-N	Anti-S	تفسیر
واکسینه شده	+	+	واکسینه شده و قبلاً مبتلا شده
واکسینه نشده	-	+	واکسینه شده و قبلاً مبتلا نشده
واکسینه نشده	+	+	واکسینه نشده و قبلاً مبتلا شده
واکسینه نشده	-	-	واکسینه و مبتلا نشده
وضعیت واکسیناسیون مشخص نباشد	+	+	قبلاً مبتلا شده و ممکن است واکسینه شده یا نشده باشد
	-	+	واکسینه شده و قبلاً مبتلا نشده
	-	-	قبلاً واکسینه یا مبتلا نشده

نکته ۱: قطع‌هایی (Cut Offs) که برای تفسیر نتایج مثبت و منفی آزمایش‌های سرولوژیک در کیت‌ها آورده می‌شود (مثلاً >5) مثبت) از طریق آماری و بر اساس نتایج افراد سالم فاقد بیماری محاسبه شده است و نتایج مثبت فقط نشان می‌دهد که فرد آزمایش شده نسبت به افراد سالم فاقد بیماری، آنتی بادی بیشتری دارد ولی میزان مصونیت وی را نشان نمی‌دهد، زیرا تا کنون هیچ مقدار مشخصی از آنتی بادی برای تعیین مصونیت علیه بیماری کرونا تعیین نشده است.

نکته ۲: زمان انجام آزمایش آنتی بادی نیز در تفسیر پاسخ ایمنی هومورال پس از واکسیناسیون مؤثر است. هر چه اندازه گیری به زمان تزریق نزدیک‌تر باشد احتمالاً مقدار یا سطح آنتی بادی اندازه گیری شده بیشتر و هر چه از زمان تزریق دورتر باشد مقدار یا سطح آنتی بادی اندازه گیری شده احتمالاً کمتر خواهد بود.

نکته ۳: واحدهای موجود در گزارش آنتی بادی‌ها واحد قراردادی است نه واحد بین المللی IU زیرا

هنوز تعیین مقدار یا سطح واقعی آنتی بادی به دلیل نبودن یک استاندارد مشخص و معلوم العیار مقدر نیست.

نتایج آزمایش‌ها از نظر عددی با یکدیگر قابل مقایسه نیستند. واحدها به صورت:

$\mu\text{gr/mL}$, RU/mL, BAU/mL, S/C Ratio برای

گروه‌های a و b و c و d و e گزارش می‌شود.

در آوریل ۲۰۲۰، در یک تلاش مشترک، ائتلاف برای آمادگی نوآوری‌های اپیدمی (CEPI)، موسسه ملی استانداردها و کنترل بیولوژیکی (NIBSC) و WHO برای سازندگان واکسن و جامعه علمی یک معرف تحقیقاتی شامل آنتی بادی ضد SARS-CoV-2 را آماده نمودند. در دسترس بودن این ماده برای تسهیل توسعه روش‌های تشخیصی، توسعه واکسن‌ها و روش‌های درمانی بسیار مهم خواهد بود. این کار شامل یک مطالعه مشارکتی بود که در جولای ۲۰۲۰ بر روی نمونه‌های سرم و نمونه‌های پلاسما از بیماران در دوره نقاهت با هدف انتخاب مناسب‌ترین ماده برای استانداردهای بین المللی WHO برای ایمونوگلوبولین ضد SARS-CoV-2 انجام شد. این مطالعه شامل ۴۴ آزمایشگاه از ۱۵ کشور جهان و استفاده از روش‌های خنثی‌سازی زنده مبتنی بر شبه ویروس، ELISA، آزمایش‌های سریع و سایر روش‌ها بود. نتایج مطالعه در نوامبر ۲۰۲۰ به WHO ارائه شد و مشخص گردید زمانی که مقادیر سنجش نسبت به استاندارد بین المللی گزارش شود، تغییرات بین آزمایشگاهی برای آزمایش خنثی سازی بیش از ۵۰ بار و برای روش الایزا ۲۰۰۰ بار کاهش خواهد یافت.

استاندارد بین المللی موجب خواهد شد تا کالیبراسیون دقیق سنجش‌ها در یک واحد دلخواه انجام شود و در نتیجه تغییرات بین آزمایشگاهی را کاهش دهد. استاندارد بین المللی مبتنی بر پلاسمای انسانی جمع شده از بیماران در حال بهبود است و دارای واحد اختصاصی ۲۵۰ واحد بین المللی (IU) در میلی لیتر در هر آمپول برای فعالیت خنثی سازی و ۱۰۰۰ واحد آنتی بادی متصل کننده (BAU) در میلی لیتر برای سنجش‌های اتصال است و می‌تواند برای



نتایج ایمنی‌زایی به عنوان یک واحد استاندارد بین‌المللی گزارش گردد. (IU/ml) برای خنثی‌سازی آنتی‌بادی‌ها و (BAU/ml) برای آزمایش اتصال در فرمت‌های سنجش گزارش شود.

به این ترتیب، نتایج آزمایش‌های بالینی بیان شده در IU امکان مقایسه پاسخ‌های ایمنی پس از عفونت طبیعی و ایجاد شده توسط واکسن‌های مختلف را فراهم می‌کند. این مقایسه به ویژه برای بررسی و ارزیابی مصونیت در برابر COVID-19 اهمیت بسیاری دارد.

مقایسه سنجش‌های تشخیص کلاس ایمونوگلوبولین‌ها با ویژگی یکسان استفاده شود (به عنوان مثال، IgG ضد IgM، RBD و ضد N و غیره) ابزار اساسی برای هر گونه هماهنگ‌سازی، استفاده جهانی از یک استاندارد بین‌المللی است که به واسطه آن سنجش‌ها با استفاده از یک معرف قابل اعتماد کالیبره شوند. بنابراین بسیار مهم است که استاندارد بین‌المللی توسط همه توسعه دهندگان واکسن، آزمایشگاه‌های مرجع ملی و گروه‌های دانشگاهی در سراسر جهان به درستی مورد استفاده قرار گیرد و

References:

- 1- Yazdanpanah F, Hamblin MR, Rezaei N. The immune system and COVID-19: friend or foe? *Life Sci.* 2020; 256:117900. doi: 10.1016/j.lfs.2020.117900.
- 2- Steensels D, Pierlet N, Penders J, Mesotten D, Heylen L. Comparison of SARS-CoV-2 Antibody Response Following Vaccination With BNT162b2 and mRNA-1273. *JAMA* 2021.
- 3- Kristiansen PA, Page M, Bernasconi V, Mattiuzzo G, Dull P, Makar K, Plotkin S, Knezevic I. WHO International Standard for anti-SARS-CoV-2 immunoglobulin. *Lancet.* 2021 Apr 10; 397(10282):1347-1348.
- 4- İLGİLİ YAZILAR. Information On Antibody Production After Vaccination Which antibodies are produced against SARS-CoV-2 virus?
- 5- Lucas Bochnia-Bueno, Sergio Monteiro De Almeida, View ORCID Profile Sonia Mara Raboni, View ORCID Profile Douglas Adamoski, Ludmilla Louise Moreira Amadeu, Suzana Carsensen, Meri Bordignon Nogueira Dynamic of humoral response to SARS-CoV-2 anti Nucleocapsid and Spike proteins after CoronaVac vaccination. medRxiv preprint doi: <https://doi.org/10.1101/2021.05.20.21255825>; this version posted July 7, 2021.
- 6- Manish Sadarangani, Arnaud Marchant & Tobias R. Kollmann, Immunological mechanisms of vaccine-induced protection against COVID-19 in humans. *Nature Reviews Immunology* volume 21, pages 475–484.
- 7- COVID-19 natural immunity WHO. Scientific brief 10 May 2021.
- 8- Antibody Testing Interim Guidelines. CDC-Updated Sept. 21, 2021