

SARS-Cov-2....máme se bát?



Miroslav Průcha
Kroměříž 18.06.2020

Laboratorní diagnostika

- „Zlatý standard“ – PCR diagnostika
- PCR s přímým průkazem - SPECIFICKÝM koronaviru – provedení výtěru z nosohltanu

Laboratorní diagnostika při příjmu pacienta

- KO + diferenciál
- Lymfopenie pod 1000 lymfocytů je nespecifickým diagnostickým parametrem a současně nepříznivým prognostickým parametrem
- Počet leukocytů u akutně přijatých pacientů zpravidla není vyšší jak 10 000

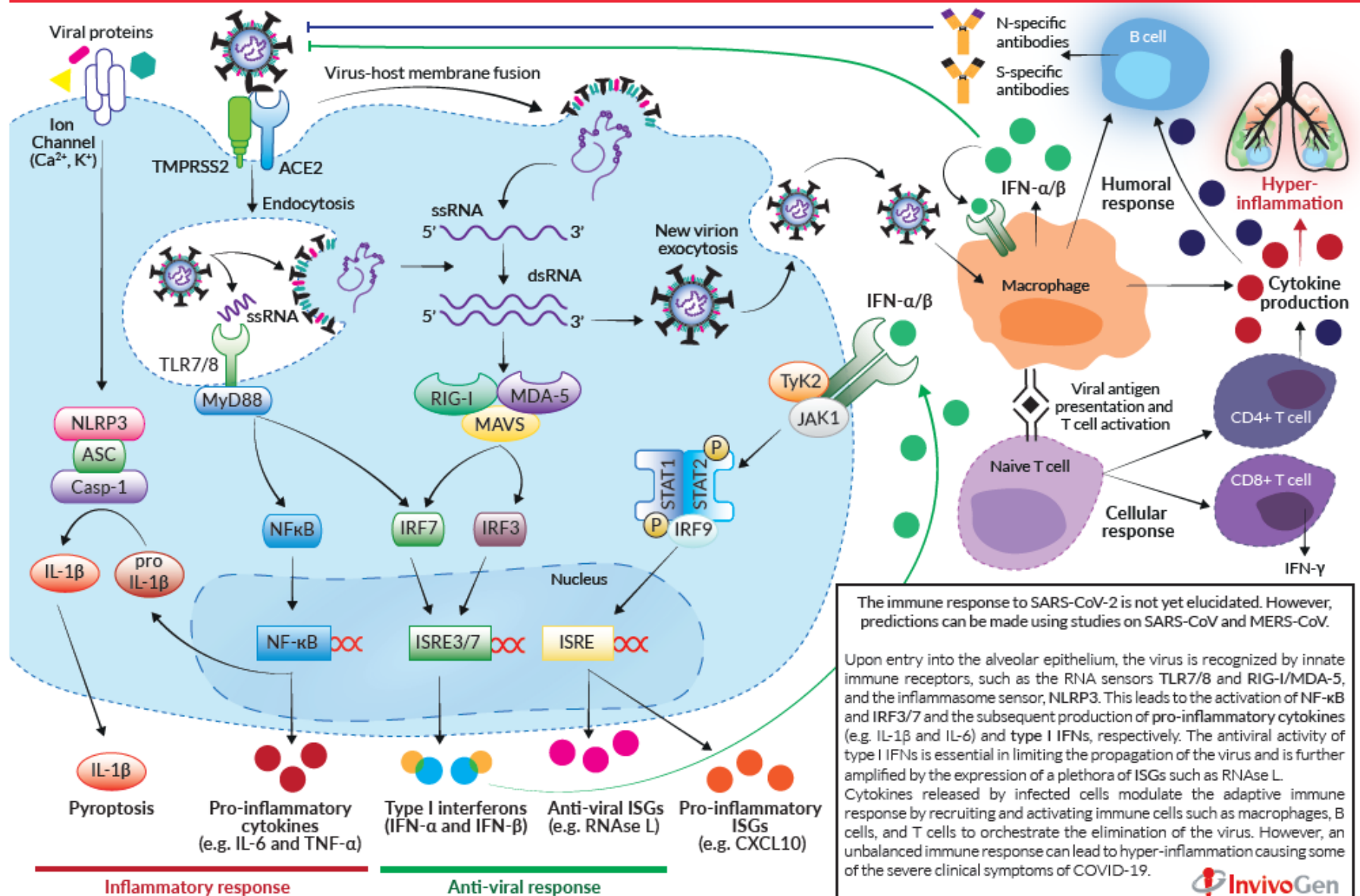
Diagnostické parametry – reaktanty akutní fáze

- CRP a PCT – standardní diagnostické parametry, které využíváme stejně jako u pacientů se sepsí (PCT je v tomto případě nízké)
- IL-6 (biochemická žádanka) vhodný k monitorování aktivity a průběhu onemocnění

Imunologické parametry ke zjištění stavu imunokompetence

- Vhodné u pacientů hospitalizovaných
- Vhodné u pacientů imunokompromitovaných (imunosupresivní léčba, biologická léčba)
- Panel sepse – imunologická průvodka s následnou interpretací klinického imunologa
- IgG v séru – imunologická průvodka

Predicted host immune responses to SARS-CoV-2



Imunitní odpověď

- Protilátková odpověď - dny , ale ne u všech
- Malé studie – těžký průběh koreloval s vysokým titrem protilátek
- Ale vysoký titr protilátek nebyl vždy spojen se zlepšením klinického průběhu
- Rychlotesty – špatné, ELISA – IgG + IgM nebo IgA

Persistence viru + humorální odpověď

- Persistence virové RNA ve dnech až týdnech v koncentracích blízko detekčnímu limitu nepředstavuje bezpečnostní riziko zvláště u pacientů bez klin. symptomatologie
- Virus neutralizační protilátky – v případě SARS-Cov2 byla dokázána persistence více jak 40 dnů
- Využití v léčbě rekonvalescentní plasmou – 1:320

Humorální odpověď

- U SARSu – vysoké VNA po dobu 4-5 měsíců, následně pozvolný pokles v průběhu 2-3 let
- MERS – persistence 34 měsíců
- PŘÍTOMNOST IgG NEBO VNA není SYNONYMEM IMUNITY

Buněčná imunita

- Cytotoxické lymfocyty zde hrají stejnou roli jako u jiných virových infekcí

Reinfekce

- 1 malá studie s primáty – reinfekce neprokázána po rechallenge 28 dnů po 1. inokulaci
- Aktuálně nebyl prokázána reinfekce se SARS-Cov-2 u lidí

Diagnostika PCR limity

- V den expozice – 0!!!! Sensitivita, 2-3 den 30%!!!!
- Záleží na diagnostice – 1-2-3 geny.....
- SARS-Cov- RNA byla detekována v hrdle nebo nasopharyngeálním výtěru více než 20 dnů po neg. výsledku

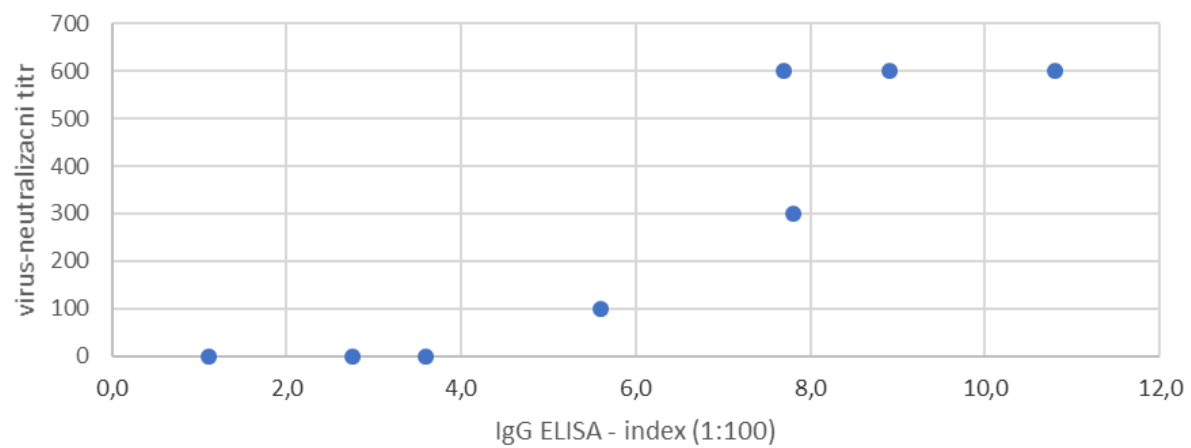
Diagnostika PCR vlastní zkušenosti

- Provedeno více než 4000 testů, prevalence 1,2 promile
- Máme k dispozici pozit. referenční ko, která nám umožňuje stanovit velikost virové nálože
- Korelace s dalšími parametry

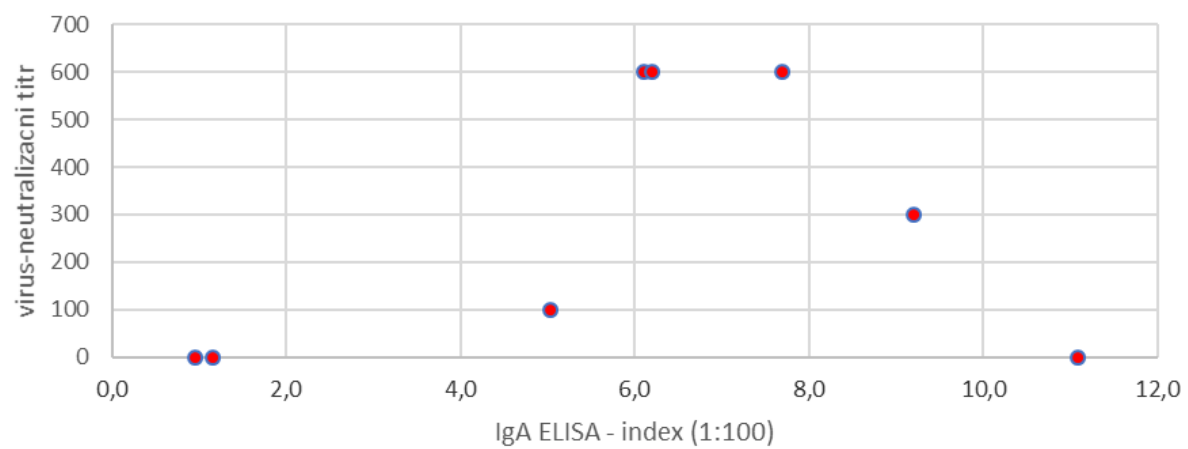
Sérologie - vlastní zkušenosti

- Rychlotesty - špatné
- Provedeno vyšetření u části personálu, který se staral o pacienty – serologická pozitivita mezi 5 a 10%
- Pacienti + dárce rekonvalescentní plasmy
- U všech byla prokázána séropozitivita
- Korelace VNP a IgG, nikoli IgA

anti-SARS-CoV-2 protilátky - korelace IgG/VNT



anti-SARS-CoV-2 protilátky - korelace IgA/VNT



Buněčná imunita – vlastní zkušenosti

- Lymfopenie a neutrofilie
- PCT jako výborný indikátor bakteriální superinfekce
- CD64 – dtto
- Nepřítomnost imunoparalýzy

Reálná statistika – SARS-CoV-2

- https://www.idnes.cz/technet/veda/koronavirus-v-cr.A200521_094935_veda_mla

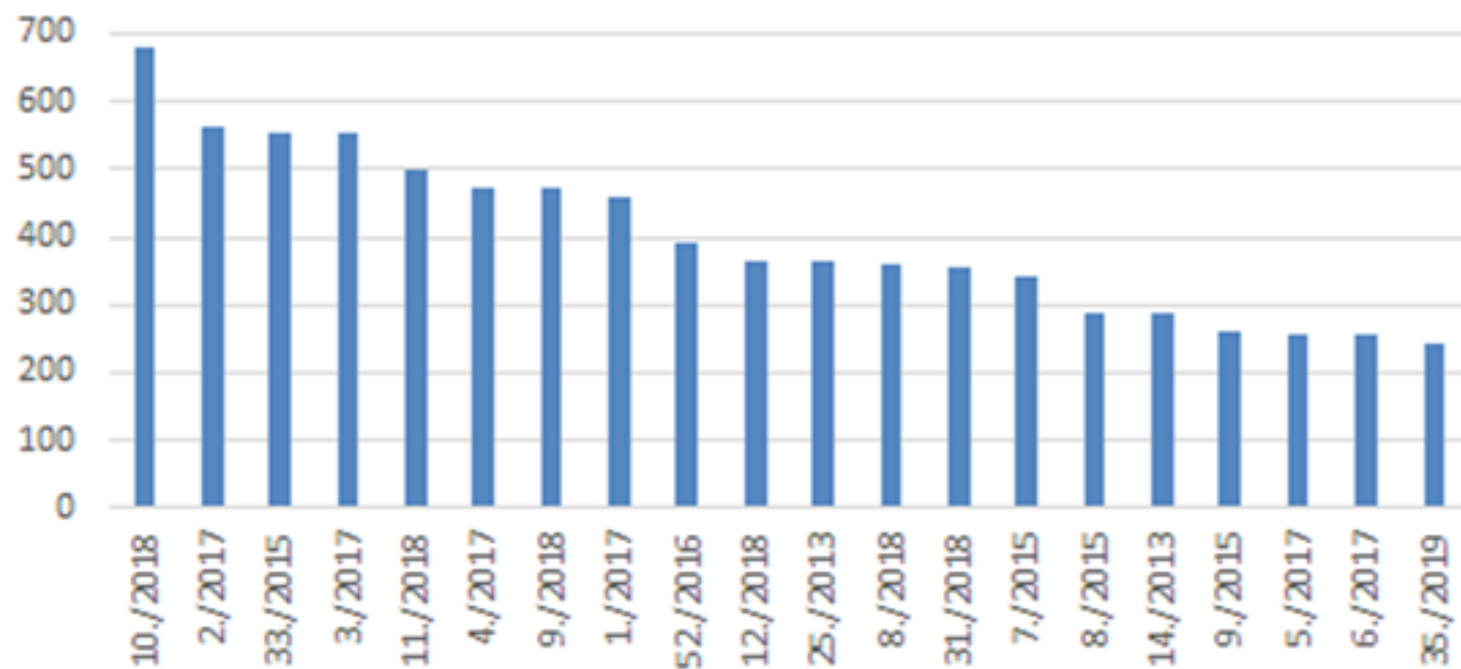
Začněme srovnáním. Kritérium určující, kdy se začne mluvit například o chřipkové epidemii, je relativně jednoznačné: pokud počet nemocných na sto tisíc obyvatel překročí hranici 1 600 až 1 800. V přepočtu na počet obyvatel České republiky jde o hranici zhruba 160 000 až 180 000 nemocných. Pokud počet nemocných překročí tuto hranici, jde o epidemii chřipky. Pokud počet nemocných poklesne pod tuto hranici, epidemie chřipky skončila

Zdroj: https://www.idnes.cz/technet/veda/koronavirus-v-cr.A200521_094935_veda_mla

Takové epidemie v předchozích letech byly. Silné epidemie, které byly nebezpečné především pro osoby v seniorním věku, postihly Českou republiku zejména v letech 2017 a 2018, které byly nebezpečné především pro lidi v seniorním věku. Například ve Středočeském kraji v roce 2018 „většina lidí, kteří prodělali závažné onemocnění s komplikacemi, popř. s následným úmrtím, byli lidé s rizikovými faktory, tj. trpěli zpravidla chronickým onemocněním kardiovaskulárního systému, plic, ledvin, cukrovkou, byli obézní a patřili mezi kuřáky. Nejvíce zemřelých bylo ve věkové skupině nad 70 let, dále ve skupině 60 až 70 let, uvádí se v hodnocení tehdejší chřipkové sezony.

Zdroj: https://www.idnes.cz/technet/veda/koronavirus-v-cr.A200521_094935_veda_mla

Týdny v letech 2011-2019 s nejvyššími počty nadprůměrných úmrtí



Data k	Vytíženost JIP lůžek (ARO a JIP pro dospělé)	Vytíženost JIP lůžek (ARO a JIP pro dospělé, pacienti s Covid- 19)	Využití ventilátorů	Využití ventilátorů (pacienti s Covid-19; přibližně)
22.3.	63%	-	39%	1%
30.3.	65%	-	-	-
14.4.	48%	18%	31%	4%
16.4.	52%	-	33%	4%
17.4.	53%	-	33%	4%
18.4.	53%	-	33%	4%
19.4.	53%	-	33%	4%
20.4.	55%	-	33%	4%
21.4.	56%	-	33%	4%
22.4.	57%	16%	33%	4%
29.4.	59%	14%	34%	3%

Co nesledovat

Zpráv a údajů o šíření nákazy je tolik, že je nestačí většina z nás vůbec sledovat. V řadě případů je to dobře, protože jde o údaje a ukazatele nesmyslné. Rád bych také ubezpečil čtenáře, že jsem na tyto aspekty upozorňoval (bez úspěchu) např. Českou televizi mnohokrát po dobu zhruba jednoho měsíce od 15. března.

Mapka krajů/okresů ČR zachycující počet potvrzených případů na 100 000 obyvatel

Jedná se o velmi nebezpečný grafický statistický nástroj. Nebezpečný je proto, že budí zcela mylný dojem, že lze na základě takovéto mapky porovnávat míru rozšíření nákazy v jednotlivých krajích/okresech. Nelze. Pro takové porovnání bychom museli mít počet osob s potvrzeným onemocněním přepočítán na počet provedených testů. Prostorové porovnání na základě přepočtu na 100 000 obyvatel by bylo možné pouze v případě, že by počet provedených testů (např. v jednotlivých krajích) proporcionálně odpovídal počtu obyvatel.

Zdroj: https://www.idnes.cz/technet/veda/koronavirus-v-cr.A200521_094935_veda_mla

Denní změna (%) celkového počtu osob s prokázanou nákazou covid-19
Jedná se (z hlediska sledování časového vývoje nákazy) o nesmyslný ukazatel, protože z matematicko-logického hlediska bylo zřejmé již v době, kdy byl poprvé publikován, že se bude rychle blížit k nule (neustále se zvyšuje jmenovatel). Tento ukazatel by byl v čase konstantní, v případě, že by celkový počet osob s prokázaným onemocněním exponenciálně (to znamená velmi rychle) rostl.

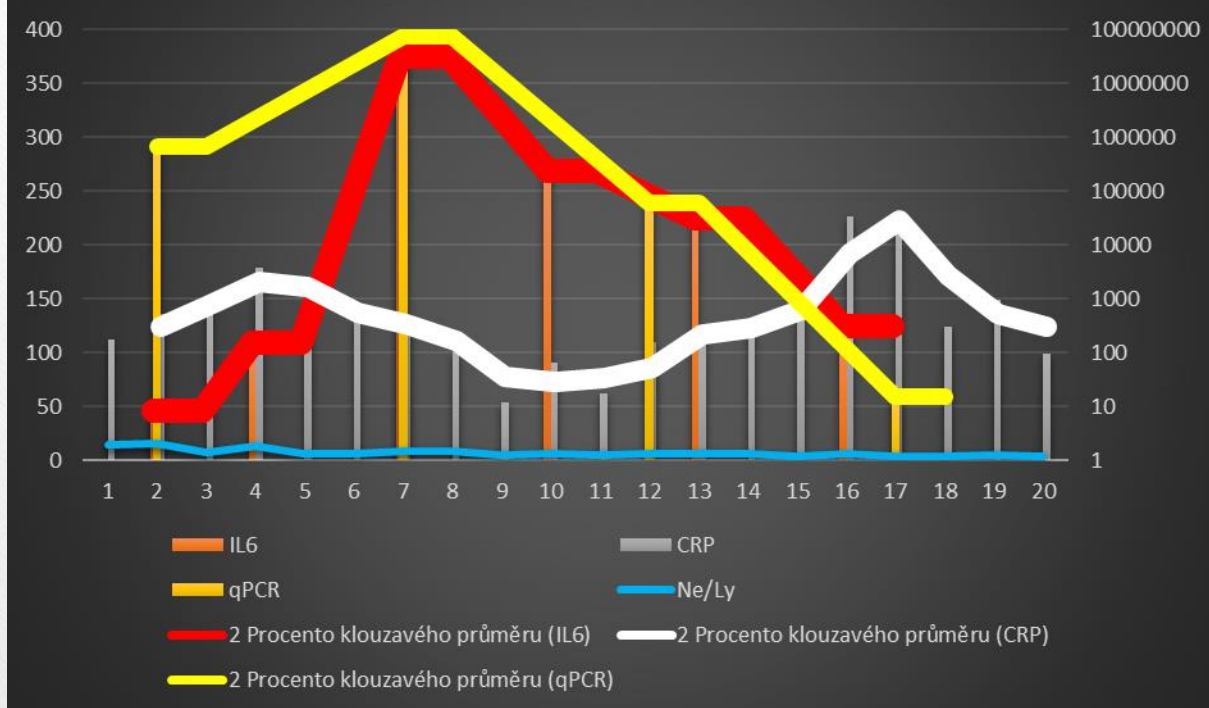
Podíl pozitivních záchytů z celkového počtu provedených testů
Jedná se (z hlediska sledování časového vývoje nákazy) o nesmyslný ukazatel, protože by klesal jen velmi pomalu, i kdyby byl denní počet/podíl osob s prokázaným onemocněním nulový.

Zdroj: https://www.idnes.cz/technet/veda/koronavirus-v-cr.A200521_094935_veda_mla

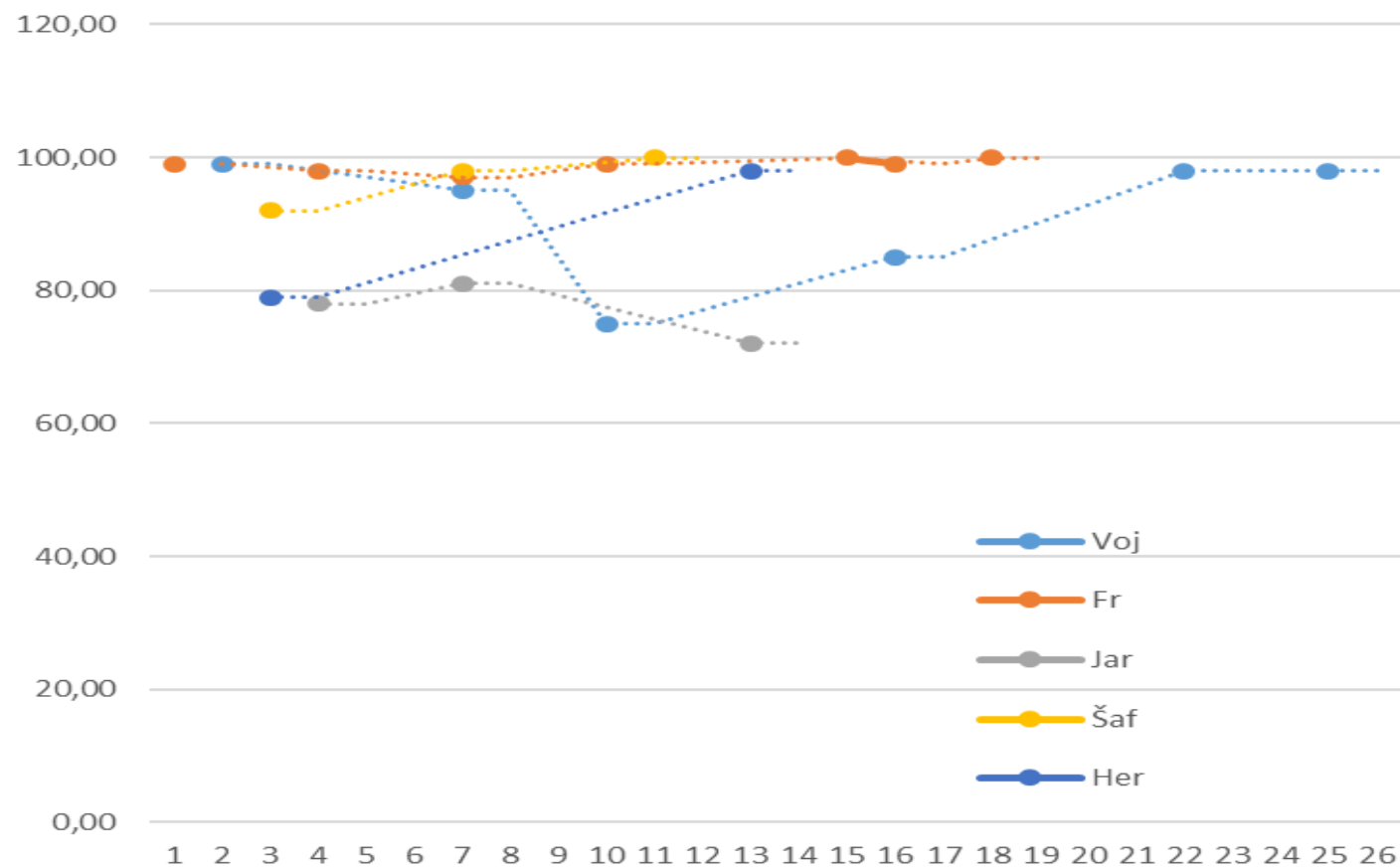
COVID 19 – vlastní zkušenosti

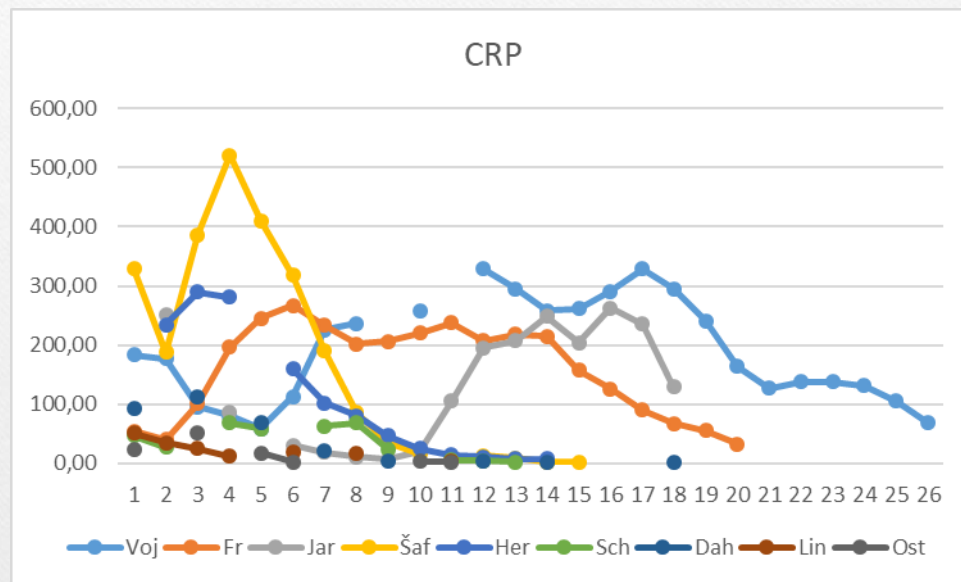
- 11 pacientů s UPV
- 6 pacientů s oxygenoterapií
- 2 pacienti zemřeli

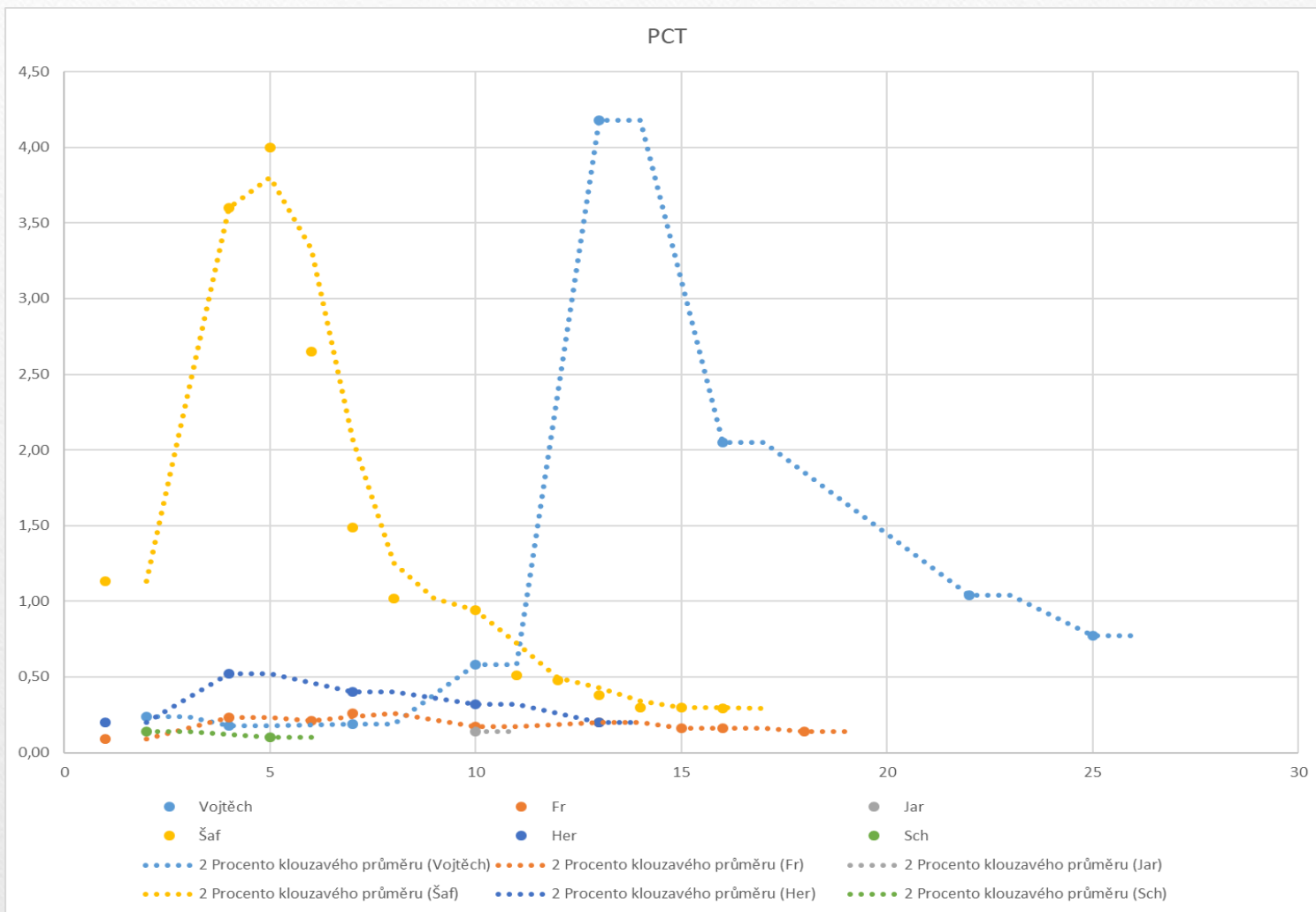
trendy vývoje CRP/IL6/qPCR/NeLy



CD14/HLA-DR







SOUHRN

- Lymfopenie je dobrým prognostickým parametrem u pacientů s Covid 19
- PCT lépe než CRP monitoruje bakteriální superinfekci
- IL-6 je vhodným parametrem pro monitorování průběhu onemocnění

SOUHRN

- U pacientů s COVID 19 jsme nezaznamenali výskyt imunoparalýzy a to ani u pacientů s nepříznivým outcome
- CD64 je velmi dobrým parametrem pro monitorování komplikací – bakteriální superinfekce

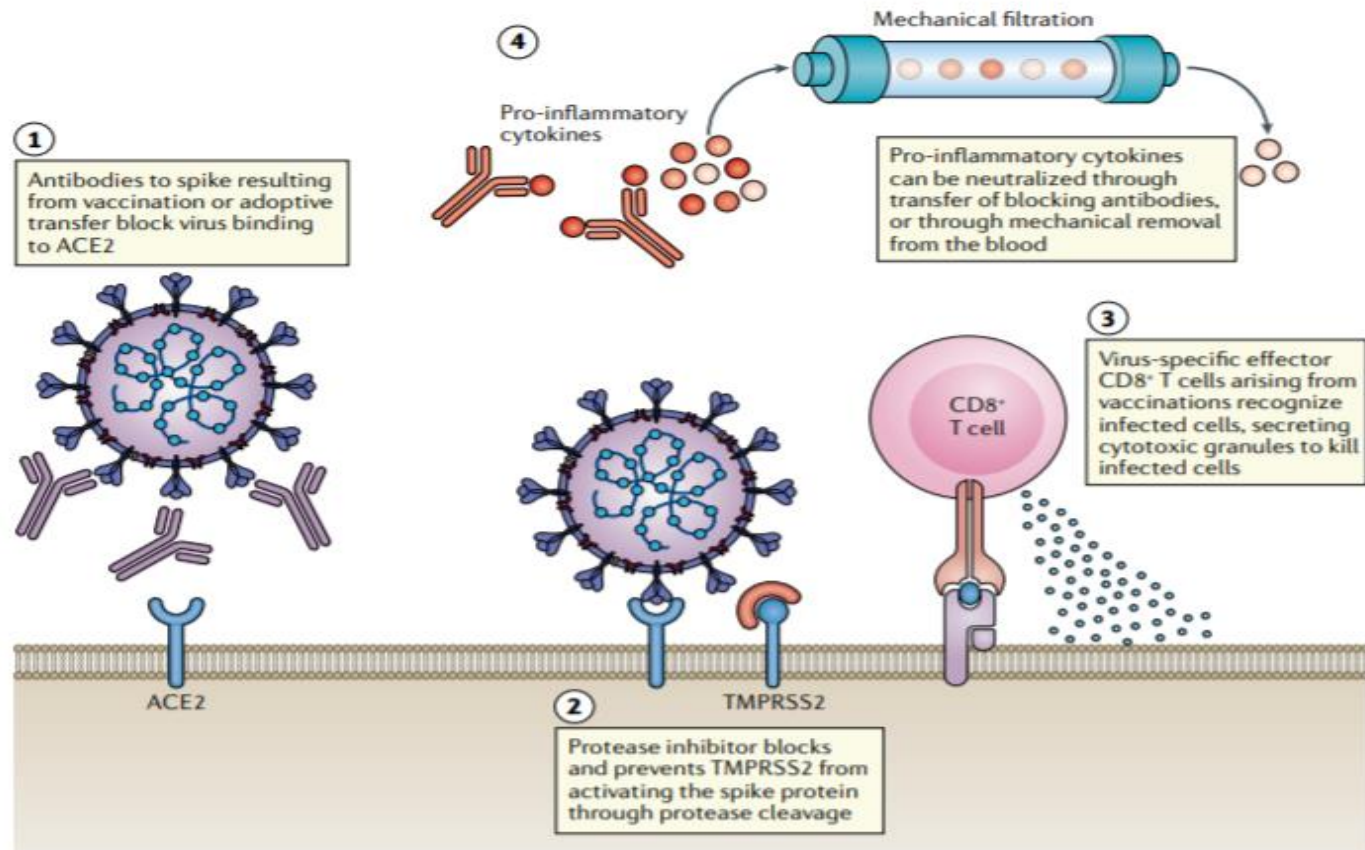


Fig. 3 | Potential therapeutic approaches against SARS-CoV-2. (1) Antibodies against the spike protein (raised through vaccination or by adoptive transfer) could block severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2) from interacting with the angiotensin-converting enzyme 2 (ACE2) receptor on host cells. (2) Protease inhibitors against the serine protease TMPRSS2 can prevent spike protein cleavage, which is necessary for viral fusion into the host cell. Blocking either ACE2 interaction or viral fusion could prevent the virus from infecting the host cell. (3) Virus-specific memory CD8⁺ T cells from a previous vaccination or infection can differentiate into effector cells during rechallenge. When they identify infected cells presenting virus-specific epitopes, they degranulate and kill infected cells before they can produce mature virions. (4) In a novel treatment method that targets the cytokine storm symptoms, the blood of patients with coronavirus disease 2019 (COVID-19) can be passed through customized columns that are specially designed to trap pro-inflammatory cytokines, before the purified blood is passed back into patients.

Table 1 | **Summary of approved interventional clinical trials for COVID-19 as of March 2020**

Clinical trial no.	Location	Title and scope of clinical study
<i>Clinical trials aimed at repairing damage to infected airways</i>		
NCT04273646	Union Hospital, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan, Hubei, China	Title: Clinical Study of Human Umbilical Cord Mesenchymal Stem Cells in the Treatment of Severe COVID-19 Scope: use of infused umbilical cord mesenchymal stem cells to repair tissue damage in patients with pneumonia
NCT04288102	Multiple sites in China	Title: Treatment with Mesenchymal Stem Cells for Severe Corona Virus Disease 2019 (COVID-19) Scope: use of infused mesenchymal stem cells to repair tissue damage in patients with pneumonia
NCT04285190	Tasly Pharmaceuticals Inc., China	Title: A Clinical Study to Investigate the Effect of T89 on Improving Oxygen Saturation and Clinical Symptoms in Patients with Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) Scope: use of T89 (Dantonic) in patients with COVID-19
NCT04287686	The First Affiliated Hospital of Guangzhou Medical University	Title: Recombinant Human Angiotensin-Converting Enzyme 2 (rhACE2) as a Treatment for Patients with COVID-19 Scope: delivery of rhACE2 to regulate damage mediated by its downregulation by SARS-CoV-2 infection
NCT04275414	Qilu Hospital of Shandong University Jinan, Shandong, China	Title: Bevacizumab in Severe or Critical Patients with COVID-19 Pneumonia Scope: use of bevacizumab (Avastin) in patients with COVID-19

Clinical trials aimed at blocking SARS-CoV-2 infectivity

NCT04273763	The Second Affiliated Hospital of Wenzhou Medical University, Wenzhou, Zhejiang, China	Title: Evaluating the Efficacy and Safety of Bromhexine Hydrochloride Tablets Combined with Standard Treatment in Patients with Suspected and Mild Novel Coronavirus Pneumonia (COVID-19) Scope: treatment of patients with COVID-19 with bromhexine hydrochloride, umifenovir hydrochloride, recombinant human interferon-α2b and favipiravir
NCT04280705	USA	Title: Adaptive COVID-19 Treatment Trial Scope: remdesivir treatment of patients with COVID-19
ChiCTR2000030039	Affiliated Hospital of Xuzhou Medical University	Title: Clinical Study for Infusing Convalescent Plasma to Treat Patients with New Coronavirus Pneumonia (COVID-19) Scope: infusion of polyclonal antibodies derived from immune plasma from convalescent patients with COVID-19
NCT04286503	Multiple sites in China	Title: The Efficacy and Safety of Carrimycin Treatment in Patients with Novel Coronavirus Infectious Disease (COVID-19): A Multicenter, Randomized, Open Label Controlled Study Scope: a multicentre, randomized (1:1), open-controlled (one of lopinavir/ritonavir tablets or umifenovir or chloroquine phosphate) study
ChiCTR2000030000	Nanchang Ninth Hospital	Title: An Open, Controlled Clinical Trial for Evaluation of Ganovo Combined with Ritonavir and Integrated Traditional Chinese and Western Medicine in the Treatment of Novel Coronavirus Infection (COVID-19) Scope: use of danoprevir (Ganovo), a macrocyclic peptidomimetic inhibitor of HCV protease, in patients with COVID-19
ChiCTR2000029740	The First Hospital of Peking University	Title: Efficacy of Therapeutic Effects of Hydroxychloroquine in Novel Coronavirus Pneumonia (COVID-19) Patients. Randomized Open-Label Controlled Clinical Trial Scope: use of hydroxychloroquine to test its antiviral and anti-inflammatory effects in patients with COVID-19
ChiCTR2000029559	Renmin Hospital of Wuhan University	Title: Therapeutic Effect of Hydroxychloroquine on Novel Coronavirus Pneumonia (COVID-19) Scope: use of hydroxychloroquine to test its antiviral and anti-inflammatory effects in patients with COVID-19

Table 1 (cont.) | Summary of approved interventional clinical trials for COVID-19 as of March 2020

Clinical trial no.	Location	Title and scope of clinical study
<i>Clinical trials aimed at reducing inflammatory disease</i>		
NCT04273321	Multiple sites in China	Title: Efficacy and Safety of Corticosteroids in COVID-19 Scope: multicentre study analysing the effect of methylprednisolone at a dosage of 1 mg kg ⁻¹ per day for 7 days in patients with COVID-19
NCT04280588	First Affiliated Hospital of Fujian Medical University	Title: Fingolimod in COVID-19 Scope: use of fingolimod, a sphingosine 1-phosphate receptor modulator, in patients with COVID-19
NCT04273581	First Affiliated Hospital of Wenzhou Medical University	Title: The Efficacy and Safety of Thalidomide Combined with Low-Dose Hormones in the Treatment of Severe COVID-19 Scope: testing the anti-inflammatory effects of thalidomide in combination with methylprednisolone in patients with COVID-19-induced pneumonia
NCT04288713	Hudson Medical	Title: Eculizumab (Soliris) in Covid-19 Infected Patients Scope: testing the efficacy of the complement C5 inhibitor eculizumab in patients with COVID-19
NCT04291053	Tongji Hospital	Title: The Efficacy and Safety of Huaier in the Adjuvant Treatment of COVID-19 Scope: testing the anti-inflammatory effects of an extract of <i>Trametes robiniophila</i> Murr (Huaier) in patients with COVID-19
ChiCTR2000030388	Jingzhou First People's Hospital	Title: Efficacy and Safety of Xue-Bi-Jing Injection in the Treatment of Severe Cases of Novel Coronavirus Pneumonia (COVID-19) Scope: analysing the anti-inflammatory effects of an extract from <i>Salvia miltiorrhiza</i> (Chinese red sage) on patients with COVID-19
ChiCTR2000029954	Hubei Hospital of Traditional Chinese Medicine	Title: Efficacy and Safety of Honeysuckle Oral Liquid in the Treatment of Novel Coronavirus Pneumonia (COVID-19) Scope: a multicentre, randomized, controlled, open clinical trial aimed at analysing the impact of honeysuckle oral liquid on boosting immunity against COVID-19
ChiCTR2000029855	The First Affiliated Hospital of Medical College of Zhejiang University	Title: A Randomized, Open and Controlled Clinical Trial for Traditional Chinese Medicine in the Treatment of Novel Coronavirus Pneumonia (COVID-19) Scope: no information available

Data from ClinicalTrials.gov¹⁴⁹. COVID-19, coronavirus disease 2019; HCV, hepatitis C virus; rhACE2, recombinant human angiotensin-converting enzyme 2; SARS-CoV-2, severe acute respiratory syndrome coronavirus 2.

SOUHRN

- SEROLOGIE – 2 STUPŇOVÁ DIAGNOSTIKA
- PCR – EMERGENCY ROOM – ROCHE
- VAKCINA
- DALŠÍ TERAPEUTICKÉ PŘÍSTUPY
- ADEKVÁTNÍ – ROZUMNÁ
PROTIEPIDEMICKÁ OPATŘENÍ