

Antti Hakanen

Yliääkäri, laboratoriotuotoimialueen johtaja, TYKS ja Turun yliopisto



Kaisu Rantakokko-Jalava

Osastonylilääkäri, kliinisen mikrobiologian vastualuejohtaja, TYKS ja Turun yliopisto



Matti Waris

Yliopistonlehtori ja biokemisti, Turun yliopisto ja TYKS



Tytti Vuorinen

Molekyylimikrobiologian ja virologian ylilääkäri TYKS ja Turun yliopisto



Uuden SARS-CoV-2-korona- viruksen laboratorio- diagnostiikka

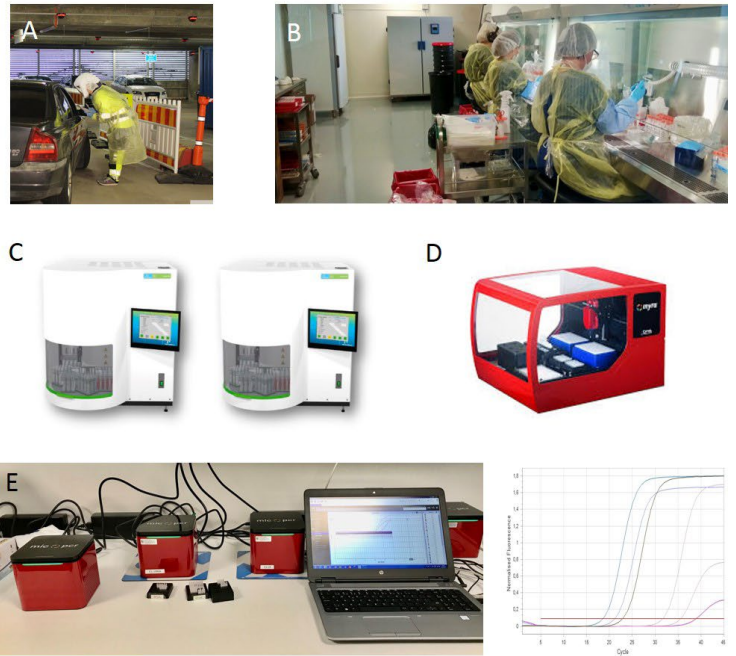
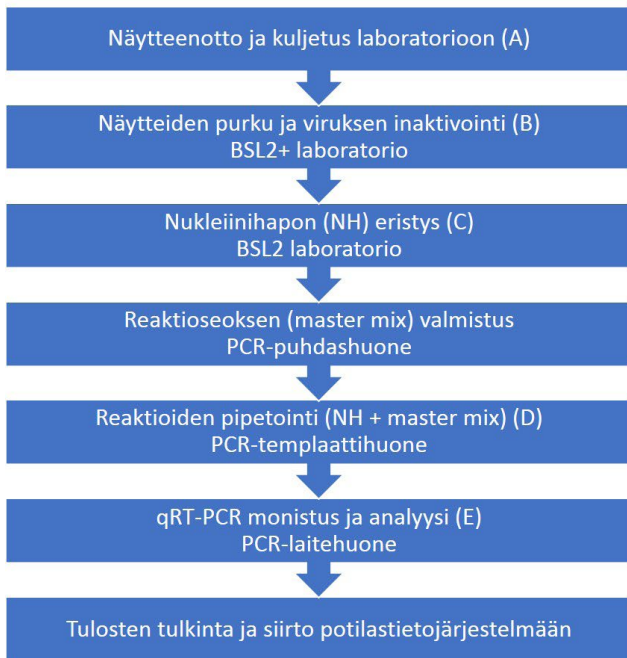
Covid-19-taudin aiheuttaja, uusi koronavirus SARS-CoV-2 tunnistettiin ensimmäisen kerran 7.1.2020 ja pari päivää myöhemmin Kiina raportoi sen olevan syynä Wuhanin alueella riehuvan vakavaan hengitystieinfektioepidemiaan. Viruksen genomisekvenssi julkaistiin 12.1. ja seuraavana päivänä julkaistiin ensimmäinen ohje RT-PCR-testiä varten. Ensimmäiset suomalaisten laboratorioden oma valmistus-PCR-testit olivat käyttövalmiina jo tammikuun aikana. Testikehityksen nopeutta voidaan pitää perustutkimuksen, modernin teknologian ja kansainvälisen yhteistyön huippusuorituksena.

SARS-CoV-2-virus on suurehko vaipallinen RNA-virus ja sen diagnostiikka perustuu yleensä viruksen suoraan osoitukseen näytteestä geenimonistusmenetelmällä kuten nukleiinihaponosoitukseen käänteiskopiointipolymeraasiketjureaktiolla (RT-PCR) tai viruksen rakenteen fenotyypisellä osoitustestillä, kuten antigeeninosoituksella. Lisäksi Covid-19-infektiota voidaan yrittää osoittaa epäsuorasti esimerkiksi serologisilla vasta-ainetesteillä.

Kehitteillä ja käytössäkin on myös monenlaisiin muihin ideoihin ja teknologioihin perustuvia testejä koronakoirista erilaisiin tekoälyä soveltaviin ratkaisuihin kuten suomalaisen puhallustestiin. Näitä emme käsittele tässä katsauksessa.

Geenimonistustestit

Viruksen nukleiinihappojen osoitustestit ovat kultastandardimenetelmiä akuuttien Covid-19-infektioiden diagnostiikassa. Ne perustuvat tietoon viruksen perimän emäsjärjestyksestä. Tunnetuin ja käytetyin on PCR tai RNA-viruksille RT-PCR. Kun ensimmäiset SARS-CoV-2 geenisekvenssit julkaistiin, maailman johtaviin lepakkovirusten tutkijoihin kuuluvalla Christian Drostenilla ja hänen tutkimusryhmälään Berliinin Charité-sairaalassa oli käytössään aikaisemmin selvitettyjen SARS-CoV-1 -kantojen sekä muiden ihmisen ja lepakoiden koronavirusten sekvenssidataa. Näiden perusteella ryhmä suunnitteli PCR-alukkeet ja koettimet, jotka kohdistuivat sellaisiin osiin viruksen geneisissä, jotka todennäköi-



Kuva 1. Tyksissä käytössä olevan SARS-CoV-2-qRT-PCR-linjaston vuokaavio esimerkkinä omavalmistuselaboratorion koronadiagnostiikasta.

sesti eivät mutatoitu, ainakaan nopeasti (1). Myös WHO päätyi nopeasti suosittelemaan Charitéssä kehitettyjä testejä. Erityisesti E-geeni on osoittautunut hyväksi kohteeksi seulontatestissä käytettäväksi. Max Planck -instituutin ylläpitämään GISAID-datapankkiin on kerätty jo 159 000 uuden koronavirusgenomin korkealaatuista sekvenssiä joissa Charitén E-geenin monistuskohteessa on vähiten mutaatioita, 0 %.

RT-PCR edellyttää nukleiinihapon puhdistusta ja konsentroitua näytemateriaalista. On julkaistu menetelmiä, joissa nukleiinihappoa ei puhdisteta, mutta samaan suorituskäyttöön ei silloin päästä. Itse testi tehdään laitteella, jossa lämpötiloja vaihtamalla

Viruksen nukleiinihappojen osoitustestit ovat kultastandardimenetelmiä akuuttien Covid-19-infektioiden diagnostiikassa.

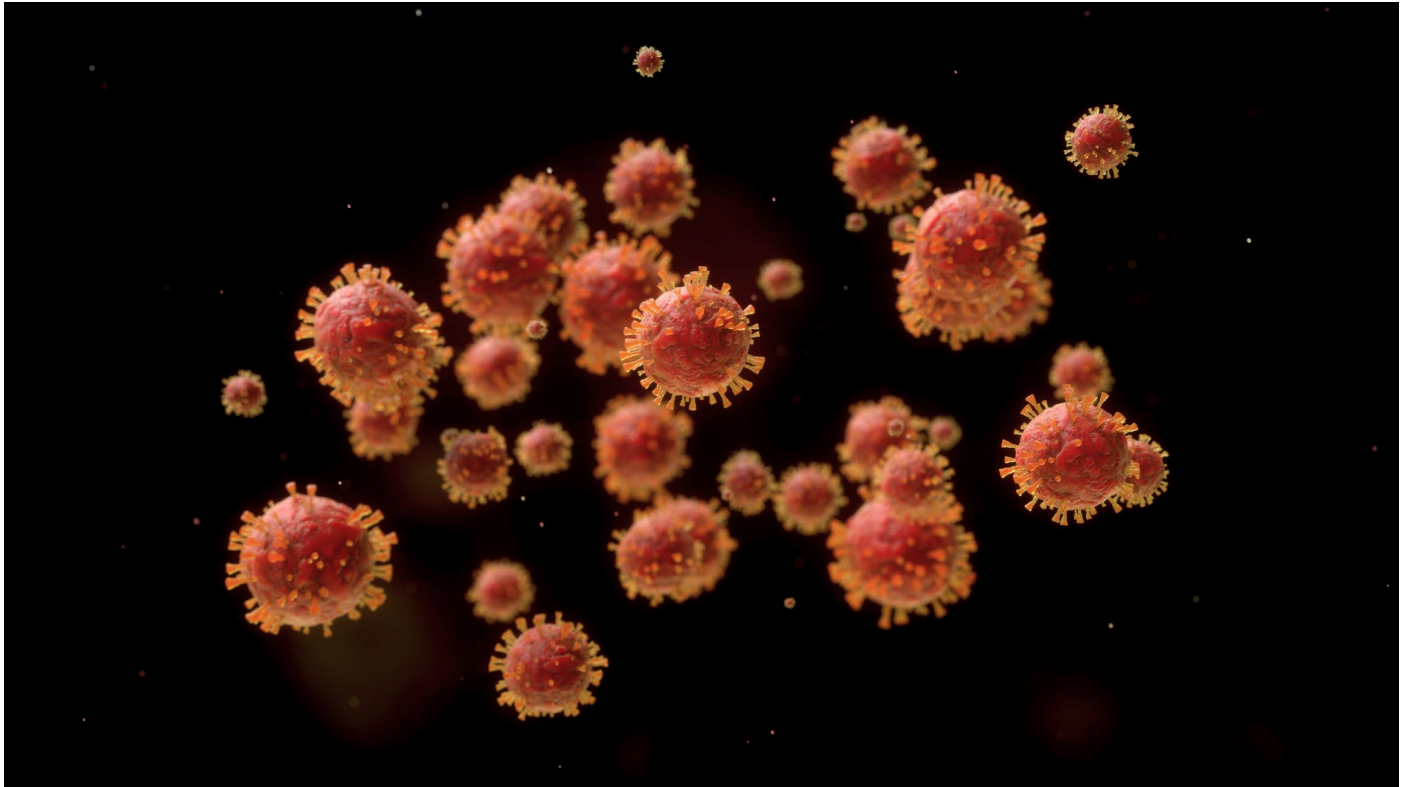
tapahtuu ensin RT-reaktio, sitten PCR, jonka etenemistä voidaan seurata reaaliajassa. Sitä monistussykliä, jolla taudinaiheuttajan RNA:n monistuminen havaitaan, kutsutaan Ct-arvoksi tai kynnysyksi. Se on tyypillisesti välillä 10–40 ja mitä pienempi luku sitä enemmän näytteessä on virusta.

Kuvassa 1 oleva eri laitein toteutettu omavalmistuselaboratorion linjasto vaatii erittäin ammattitaitoisen henkilökunnan, mutta sillä saavutetaan suurin kapasiteetti pienimmällä investoinnilla. Laboratoriossa prosessin kesto on 3–4 tuntia käsittelyn alkamisesta tulokseen, jolloin alueellamme vastausaika näytteenotosta on keskimäärin vuorokausi, monesti

paljon nopeampikin. Suuren kapasiteetin laitteita on myös täysautomaattisina, mutta silloin testihinta on yleensä suurempi eikä laitteiden kapasiteetti ole yhtä skaalautuva kuin isossa omavalmistuselaboratoriossa.

Geenimonistustesteistä on myös kaupallisia pikatestejä, joilla tulos saadaan alle tunnissa. Haittana on pieni kapasiteetti, sillä jokaisen yksittäisen potilasnäytteen kasetti tarvitsee oman monistuslaitteen testiajon ajaksi. Tämä nostaa myös testauksen hintaa. Maailmanlaajuisen kysynnän vuoksi myös kasettien saatavuus on rajallista. TYKS käyttää PCR-pikatestiä päivystyksessä osastoille otettavien potilaiden tutkimiseen.

Ct-arvon merkityksestä tartuttavuudelle käydään keskustelua, jossa vastakkain ovat varovaisuusperiaate ja tarve



lyhentää karanteeniaikoja. On esitetty Ct-lukuja 25-35 tartuttavuuden rajana. Toisaalta on esitetty, että (positiivinen) antigeeninosoitus osoittaisi tartuttavuuden luotettavammin. Yleensä antigeeninosoitus saadaan positiiviseksi, kun näytteestä tehdyn RT-PCR-testin Ct-arvo on korkeintaan 25-30. TYKS:n kliinisen mikrobiologian positiivisista testituloksista alle 60 % näytteistä saa Ct-arvon <30, joka vastaa noin 100 000 viruskopiota nenänielutikkunäytteessä. Kun vielä huomioidaan, että näyte voi olla huonosti otettu tai säilynyt, eikä testauksen työvaiheissakaan viruksen määrä koskaan lisääny, on rajanveto erittäin vaikeaa. Jos aiempi selvä positiivinen testitulos, oireiden kesto ja oireiden häviäminen sitä puoltavat, voisi 1000 kopiota nenänielutikkunäytteessä vastaava Ct-arvo 35 tai korkeampi tarkoittaa henkilön olevan ei-tartuttava, kuten USA:n kansallisen allergia- ja

infektio tautien instituutin pääjohtaja Anthony Fauci on esittänyt (2).

Antigeenitestit

Antigeenitestissä viruksen läsnäolo näytteessä todetaan osoittamalla sen rakenneproteiineja eli antigeenejä. Tyypillisesti yhdellä testillä osoitetaan vain yksi virus, mutta myös usean viruksen osoittaminen samalla kertaa on joillakin testeillä mahdollista.

Antigeenitestin tekninen toteutus voi vaihdella yksittäin käsiteltävästä ja silmin luettavasta raskaustestityypisistä liuskasta pienillä optisilla laitteilla luettaviin liuskoihin tai laitteella alusta loppuun tehtäviin määrityksiin. Tämän tyyppiset testit ja laitteet soveltuvat vieridiagnostiikkaan. Antigeenitestauksen edut

liittyvätkin yleensä mahdollisuuteen varmistaa diagnoosi lähellä näytteenottoa paikkaa ilman kuljetusviivettä. Testin valmistuminen kestää tyypillisesti 10-30 minuuttia, joten tulos voidaan saada jopa potilaan odottaessa, jos kerrollaan testattava näytemäärä on pieni. Suurempien näyte-erien testaaminen liuskatyyppisillä testeillä ei kuitenkaan ole erityisen nopeaa ja silloin myös virhemahdollisuudet kasvavat. Antigeenitestit ovat yleensä kohtuullisen edullisia, ainakin verrattuna pika-PCR-testeihin. Tautitapausten nopea tunnistaminen auttaa tartuntaketjujen katkaisussa.

Positiivisen tuloksen saaminen antigeenitestillä edellyttää melko suurta virusmäärää näytteessä. Markkinoilla olevien SARS-CoV-2-antigeenitestien herkkyy-

» Antigeenitestauksen edut liittyvätkin yleensä mahdollisuuden varmistaa diagnoosi lähellä näytteenottoa paikkaa ilman kuljetusviivettä.

RT-PCR:ään verrattuna vaihtelee suu-
resti. Euroopan tautivirasto (ECDC)
suosittelee, että EU-alueella käytettäi-
siin vain antigeenitestejä, joiden herk-
kyys on vähintään 90 % ja spesifisyys
vähintään 97 % (3). Hyvälaatuiset anti-
geenitestit toteavat varsin luotettavasti
positiivisiksi näytteet, joissa virusmäärä
on suuri (RT-PCR:n kynnyssykli <25),
kun taas vähemmän virusta sisältävät
näytteet jäävät usein negatiivisiksi.
Toisaalta antigeenitestillä ei myöskään
esiinny sairastetun taudin jälkeen pit-
kään positiivisina pysyviä ”häntiä” ku-
ten RT-PCR-testeillä.

Käyttöänoton yhteydessä antigeen-
itestin toiminta tulee aina varmentaa
ottamalla riittävä määrä rinnakkaisia
RT-PCR-näytteitä. Taudin esiintyvyys
testipopulaatioissa vaikuttaa olennai-
sesti siihen, kuinka suuri osa positiiv-
isista (ja negatiivisista) tuloksista on
oikeita. Väärien negatiivisten ja vääri-
en positiivisten tulosten todennäköi-
syyttä ja niiden aiheuttamia riskejä
tulee arvioida, kun mietitään minkä
ryhmien testaamiseen antigeenitestiä
aiotaan käyttää. Euroopan tautivirasto
(ECDC) suosittelee antigeenitestejä
lähinnä tilanteisiin, joissa positiivisten
näytteiden osuus on suuri (≥ 10 %), RT-
PCR-testikapasiteetti ei riitä tai sen vas-
tausviive on huomattavan pitkä.

Virusmäärät ovat yleensä korkeim-
millaan pari päivää ennen ja jälkeen
oireiden alun. ECDC:n ohje on, että
antigeenitestiä ei käytettäisi, jos oirei-
den alusta on kulunut yli 5 päivää. Mi-
käli oireettomia yleensäkin testataan,
odotetun esiintyvyyden pitäisi testipo-
pulaatioissa olla ≥ 10 % ja altistumisesta
saisi olla kulunut korkeintaan 7 päivää.
Negatiivinen antigeenitesti tulisi var-
mistaa PCR:llä tai uusien 2-3 päivän ku-
luttua. Kirjoittajien oman riskinarvion
mukaan antigeenitestausta sopisi erityi-

sesti korkean esiintyvyyden maasta tu-
levien matkailijoiden seulontaan, mutta
juuri siihen ECDC ei niitä suosittele,
koska lentomatkatilijoiden joukossa
esiintyvyys on keskimäärin vain 1 %.

Vasta-ainetestit

Vasta-ainetestejä käytetään silloin, kun
halutaan tietää, onko henkilöllä vasta-
aineita SARS-CoV-2-virusta kohtaan tai
onko henkilö sairastanut Covid-19-in-
fektion. Keskimäärin serokonversio
tapahtuu 7-15 päivän kuluttua oireiden
alusta. Sairaalahoidetuilla SARS-CoV-2
-potilailla on todettu 100 %:sti virus-
spesifinen IgG-vaste 19 päivän kuluttua
oireiden alusta. Sen sijaan on epävar-
maa, kehittykö kaikille lievaoireisille
mitattavissa oleva serologinen vaste.
Toistaiseksi on myös rajallisesti tietoa
siitä, kuinka kauan virusspesifiset IgM-
ja IgG-vasta-aineet ovat mitattavissa
sairastetun taudin jälkeen.

Cochrane-analyysin mukaan SARS-
CoV-2 -vasta-ainetestien herkkyys on
alhaisin ensimmäisen viikon aikana ja
suurin kolmannen viikon aikana oirei-
den alusta (4). IgG-luokan vasta-ainei-
den herkkyys oli ensimmäisellä viikolla
29,7 % ja kolmannella viikolla 88,2 %, ja
vastaavasti IgM-luokan vasta-aineiden
herkkyys 58,4 % ja 75,4 %. Keskimäärin
vasta-ainetestien spesifisyys osoittautui
hyväksi, ollen yli 98 %. Tosin huomata-
tava osa referenssiaineistosta koostui
SARS-CoV-2-negatiivisista näytteistä.
Myös ristireaktioita todettiin muita
koronavirusia kohtaan. Lisäksi tulee
huomioida, että testin herkkyyden ja
spesifisyyden lisäksi, Covid-19-infekti-
oiden prevalenssi väestössä vaikuttaa
testitulosten ennustearvoon.

Toistaiseksi ei ole varmuutta siitä,
miten tarkkaan vasta-ainetestit tun-
nistavat lievaoireisten ja oireettomien
SARS-CoV-2-infektion. Siksi vasta-

ainetestejä ei tule käyttää akuuttien
infektioiden diagnostiikassa. Tämän
hetken tutkimustiedon valossa vasta-ai-
nemittauksia ei tule myöskään käyttää
immunitetin määrittämiseen. Parhai-
ten ne soveltuvat seroepidemiologisiin
tutkimuksiin. Niistä voi olla apua diag-
nostiikassa silloin, kun nukleinihapon-
osoitustestitulokset on ollut negatiivinen
tai sitä ei ole tutkittu, mutta potilaan
pitkittynyt oirekuva sopii koronavirus-
tautiin tai tulee jälkitauteja.

Lopuksi

Kaikkia edellä mainittuja perinteisiä vi-
rustestausteknologioita voidaan tehdä
joko keskitetyissä laboratorioissa suu-
ren kapasiteetin tuotantona tai vierites-
tauksena yksittäisen potilaan näytteistä
hoito- tai testauspaikassa. Määrävänä
tekijänä pitää olla testivastauksen nopeus,
mutta erityisesti matalan esiintyvyy-
den tilanteissa myös testin herkkyydel-
lä ja spesifisyydellä on suuri merkitys.
Kuten yleensäkin potilastyössä, meidän
tulee tuntee käyttämiemme työkalujen
ominaisuudet ja rajoitteet, jotta voim-
me käyttää niitä luotettavasti potilaan
ja erityisesti yleisvaarallisen tartunta-
taudin torjuntatyössä myös koko yh-
teiskunnan parhaaksi.

Kirjallisuutta

1. Corman VM, Landt O, Kaiser M ym. Detection of 2019 novel coronavirus (2019-nCoV) by real-time RT-PCR. *Euro Surveill.* 2020;25:2000045.
2. Epimonitor. Special Recap: Going from A to Z on Coronavirus with Anthony Fauci – A Unique Interview Conducted by Fellow Scientists. www.epimonitor.net/Fauci-Interview.htm
3. European Centre for Disease Prevention and Control. Options for the use of rapid antigen tests for COVID-19 in the EU/EEA and the UK. 19 November 2020. ECDC Stockholm, 2020.
4. Deeks J, Dinnes J, Takwoingi Y ym. Antibody tests for identification of current and past infection with SARS CoV 2. *Cochrane Database of Systematic Reviews.* 2020.