

## SARS-CoV-2-Antikörperdiagnostik Indikation und Interpretation

Die Bestimmung von Antikörpern gegen SARS-CoV-2 im Blut ersetzt nicht den Virus-RNA-Nachweis mittels RT-PCR, welcher für den Nachweis der akuten Infektion weiterhin den Goldstandard darstellt. Mittlerweile stehen für die Labordiagnostik sehr sensitive und ausreichend spezifische Antikörperteste zur Verfügung, dabei unterscheidet man grundsätzlich zwei Indikationen.

1. Nachweis von Antikörpern in Ergänzung des PCR-Direktnachweises in der akuten Krankheitsphase und
2. Nachweis von Antikörpern nach durchgemachter Infektion bzw. Impfung.

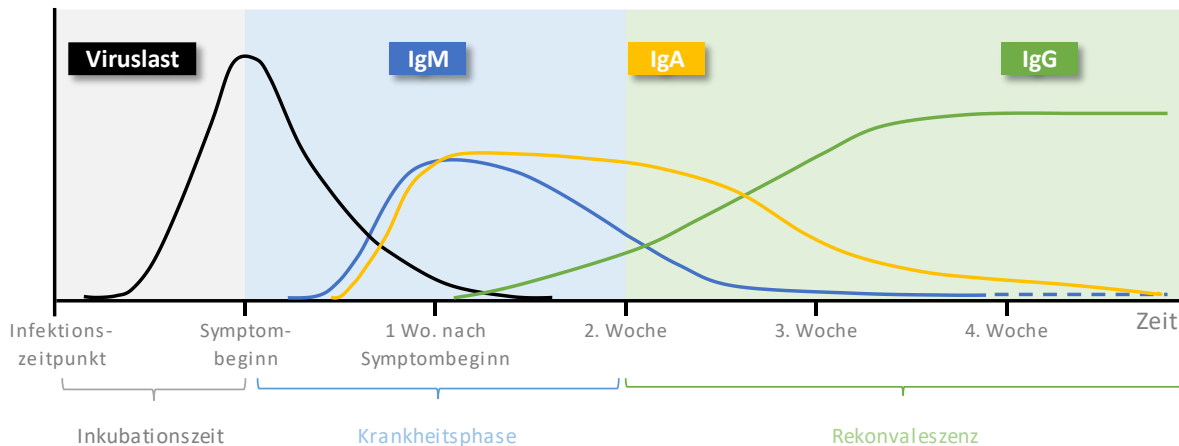


Abbildung 1 Schematischer Verlauf der Immunantwort in zeitlichem Bezug zur Viruslast und zum Zeitpunkt des Symptomeintritts

Die Abbildung 1 zeigt, dass die Viruslast bereits wenige Tage nach dem Auftreten der ersten Symptome wieder abfällt. Entsprechend nimmt auch die Sensitivität der RT-PCR ab dem 7. Tag signifikant ab. Parallel steigt in der Frühphase die Sensitivität für den Nachweis von IgM- oder IgA-Antikörpern im Blut (ca. eine Woche nach Auftreten der Symptome). Demzufolge stellt der Nachweis von IgM- und IgA-Antikörper mit (noch)negativ/oder schon positivem IgG und ggf. bereits negativer RT-PCR eine recht typische Konstellation für eine akute bzw. kürzlich erfolgte Infektion dar.

Die in Deutschland verwendeten Tests detektieren entweder IgA oder IgM zusätzlich zum IgG. Erfahrung bei paralleler Anwendung dieser Tests zeigen, dass IgM ca. 2 Tage früher detektiert wird als IgA, IgA jedoch länger im Nachweis positiv bleibt. Beide Kombinationen (IgA + IgG und IgM + IgG) haben somit Vor- und Nachteile, erlauben jedoch vergleichbare Aussagen bzgl. der Befundinterpretation.

**Kann man sich auf IgM und IgA verlassen?** Vor allem IgM, aber auch IgA zeigen auf Grund ihrer polymeren Struktur (mehrere Bindungsarme) eine höhere Bindungsfähigkeit (Avidität), die besonders in der Frühphase einer Infektion hilft, die noch fehlende Passgenauigkeit auf das Virus auszugleichen. Der Nachteil dieser biologisch sinnvollen Eigenheit ist allerdings, dass diese Antikörper auch in den Labortesten besser binden ("klebriger sind") und deshalb auch im Gegensatz zum IgG häufiger falsch positive Ergebnisse verursachen. Nach der aktuellen Datenlage muss in der Assays Hersteller-übergreifend in etwa 12-14% der Fälle mit falsch positiven Testergebnissen gerechnet werden. Daher darf die Diagnose COVID-19 Erkrankung nie nur anhand alleiniger positiver IgA- oder IgM-Antikörper gestellt werden.

Im KV-Bereich der Mikrobiologie der CTK Cottbus gGmbH werden unsererseits nur die IgA-Antikörper zusätzlich zum IgG bestimmt. Bei Verdacht auf Vorliegen einer akuten bzw. kürzlich zurückliegenden Infektion (in den letzten 6 Wochen) empfehlen wir immer einen gleichzeitigen Untersuchungsauftrag zur Sars-CoV-2 RT-PCR als Direktnachweis. Bei negativem PCR-Nachweis wird dann unsererseits die serologische Konstellation unmittelbar aus dem gleichzeitig eingesandten Serum bestimmt. Sind in diesem Serum IgA-AK gegen SARS-CoV-2 positiv ohne gleichzeitigen Nachweis von IgG kann der isolierte IgA-Befund auf eine kürzlich erfolgte Infektion hindeuten (IgG-Lücke). Da bei der IgA-Detektion auch ein falsch-positives Ergebnis nicht ausgeschlossen werden kann (Spezifität ca. 88 %), empfehlen wir allerdings insb. bei bestehendem klinischen akuten Infektionsverdacht die Wiederholung der RT-PCR aus einem Nasopharyngealabstrich, sowie eine serologische Verlaufskontrolle in ca. 2 Wochen zum Nachweis einer Serokonversion.

Die zweite Fragestellung der Antikörperdiagnostik bezieht sich auf eine bereits durchgemachte SARS-CoV-2-Infektion. Dem IgG, welches sich erst im Verlauf der Immunantwort bildet und längere Zeit persistiert (siehe Abb. 1), kommt hierbei eine große Bedeutung zu. Ca. 6 Wochen nach erfolgter Infektion zeigen 94 - 98 % der Betroffenen IgG-Antikörper. Neuere Studien

zeigen, dass einige Patienten ihre IgG-Antikörper nach 3-4 Monaten auch wieder verlieren können, was bei der Wahl des Testzeitpunktes beachtet werden muss. Die parallele Messung des IgA kann vor allem in der Frühphase sinnvoll sein, da auf diese Weise auch Fälle mit verzögerter IgG-Bildung erfasst werden können.

Uns stehen verschiedene ELISA/CLIA zur IgG-Diagnostik zur Verfügung. Mit Hilfe des SARS-IgG-NP-ELISA gegen das Nucleoprotein (NP), welches im Virion die RNA bindet, kann zwischen einer natürlichen COVID-Infektion (IgG NP AK positiv) und dem Z.n. Impfung (IgG NP Ak negativ) unterschieden werden. S1 Antikörper bilden sich dagegen sowohl nach einer natürlichen Infektion als auch nach COVID19-Impfung. Die IgG-Antikörperteste gegen das S1 Protein der RBD (receptor binding domain; Abbildung 2 rechts) wurden am "First WHO International Standard" kalibriert. Die Messwerte in diesem ELISA bzw. CLIA korrelieren linear mit den Ergebnissen im Neutralisationstest und werden als BAU/ml (BAU = Binding Antibody Units) analog zu IE/ml im Neutralisationstest angegeben. Die Angabe Internationale Einheiten pro Milliliter (IE/ml) bleibt ausschließlich der Antikörperbestimmung im Neutralisationstest (Viruszellkultur) vorbehalten. Dieser Test prüft real, ob Antikörper vorhanden sind, welche die Bindung der RBD von SARS-CoV-2 an den humanen ACE2-Rezeptor verhindern. Zur Prüfung der Sars-CoV-2 Neutralisation eines Serums steht uns hierfür nur der zellkulturfreie Neutralisationstest SARS-NeutraLISA zur Verfügung (Abbildung 2 links).

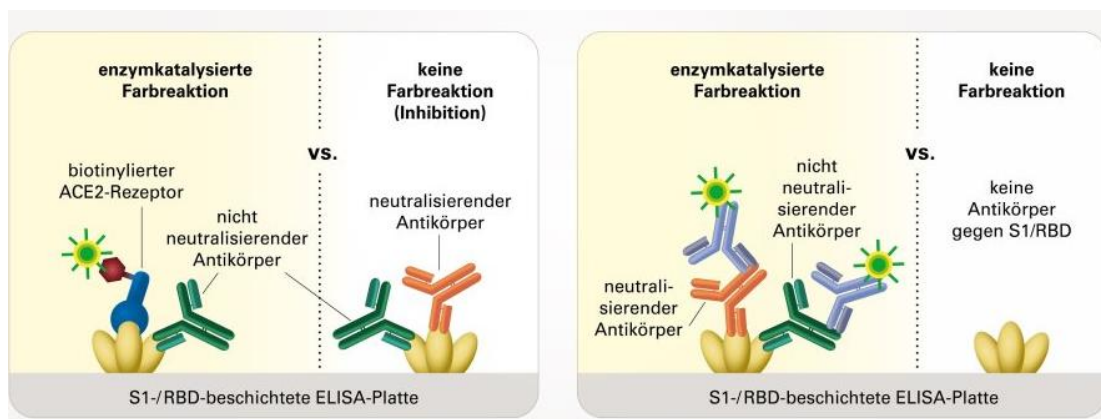


Abbildung 2 Testprinzipien von links) NeutralISA und rechts) klassischen ELISA zur Bestimmung von neutralisierenden Antikörpern

In den meisten serologischen Studien wurden Patienten mit schweren COVID 19 Verläufen untersucht. Milde oder symptomlose Krankheitsverläufe zeigen i.d.R. eine verzögerte Antikörperbildung, sowie auch in allen drei Antikörperklassen niedrigere Titer. Das sollte in der Praxis sowohl bei der Abklärung eines akuten Infektionsverdachtes als auch für den Nachweis einer bereits abgelaufenen Infektion unbedingt beachtet werden (2).

In ca. 3 % der Fälle kommt es vor, dass Patienten mit PCR-gesicherter Infektion auch nach Wochen keine Antikörper bilden. Ursachen können Immundefekte sein oder atypisch verzögerte Antikörperbildung. Bei sicher durchgemachter Infektion kann dennoch ein zelluläres Immungedächtnis vorhanden sein. Antikörper sind nur ein Teil unserer Immunabwehr gegen Viren und hemmen die Aufnahme des Virus in Zielzellen und verhindern somit eine Infektion („Neutralisation durch AK“!). Aber es gibt auch ein zelluläres Abwehrsystem mit Immun-Gedächtnisfunktion, das in der Lage ist Virus-infizierte Zellen zu zerstören. Zu diesem zellulären Abwehrsystem gehören vorrangig T-Lymphozyten. Eine schnelle und starke T-Zellaktivierung kann das Virus komplett eliminieren bevor überhaupt Antikörper im Blut des Patienten nachweisbar sind. Zum Nachweis, ob sich das zelluläre Immunsystem durch Sars-CoV-2 Virusantigen aktivieren lässt, steht als diagnostischer ELISA zusätzlich der SARS-IGRA (Interferon Gamma Release Assay) - zur Verfügung.

Aktuell wird angenommen, dass es eine –wenn auch geringe– auf Kreuzreaktivität beruhende T-Zell-Immunität geben kann, die dafür verantwortlich ist, dass Kinder und einige Erwachsene die COVID19 Infektion ohne ausgeprägte klinische Symptome einer Primärinfektion überstehen. Sicher ist, dass deren „Immunität“ nicht auf Antikörperbildung beruht.

Für die korrekte Anforderung der SARS-Diagnostik bei stationären Patienten haben wir eine Anforderungskarte erarbeitet, welche verschiedene Anforderungsprofile enthält siehe „M15 SARS STUFENDIAGNOSTIK“ Abbildung 3. Wählen Sie bitte **NUR EINE** benötigte Anforderung im grün hinterlegten Bereich aus. Die anderen Spalten enthalten Informationen, welche helfen sollen, das richtige Anforderungsprofil zu finden. Bitte bedienen Sie jedes Etikett mit dem entsprechenden Material.

<b>SARS-CoV-2-Stufen diagnostik - Stationäre Patient en</b>				
ANFORDERUNG	FRAGESTELLUNG	MATERIAL	ERWARTETE ERGEBNISSE	MÖGLICHE NACHFORDERUNGEN
<input type="checkbox"/> <b>SARS aktiv akut</b>	V.a. auf eine akute, aktive Infektion	PCR-Tupfer und Serum	SARS-CoV-2-RNA NACHGEWIESEN Antikörper IgG, IgA negativ/ positiv	negativ --> ggf. Verlaufskontrolle
<input type="checkbox"/> <b>SARS kürzlich zurückliegend</b>	V.a. akute, kürzlich zurückliegende Infektion in den letzten 6 Wochen	PCR-Tupfer und Serum	SARS-CoV-2-RNA nicht nachgewiesen Antikörper IgG und IgA positiv IgG (BAU/ml)	negativ --> ggf. L/H-Röhrchen für IGRA
<input type="checkbox"/> <b>SARS sympt. abgelaufen</b>	V.a. länger als 6. Wochen zurückliegende Infektion MIT Symptomen	Serum	anti-Spike-S1-IgG positiv (BAU/ml) anti-NP-IgG positiv	negativ --> ggf. L/H-Röhrchen für IGRA
<input type="checkbox"/> <b>SARS asympt. abgelaufen</b>	V.a. zurückliegende Infektion OHNE Symptome länger als 6 Wochen	Serum	anti-Spike-S1-IgG positiv (BAU/ml) anti-NP-IgG positiv	negativ --> ggf. L/H-Röhrchen für IGRA
<input type="checkbox"/> <b>SARS Impfung</b>	Z.n. vollständiger Impfung	Serum	Nachweis von neutralisierenden anti-S1/RBD-IgG (IU/ml)	negativ --> ggf. L/H-Röhrchen für IGRA
<b>Legende</b>				
anti-Spike S1-IgG	IgG-Antikörper gegen Spikeprotein S1	Nachweis nach natürlicher Infektion		
anti-NP-IgG	IgG-Antikörper gegen Nucleoprotein	Nachweis nach natürlicher Infektion		
BAU/ml	Binding antibody units	sehr gut Korrelation m. neutralisierenden	IgG Ak (bis 98%)	
Antigen S1/RBD	Spike-Antigen mit Rezeptorbindungsdomäne	Interferon gamma release assay	Nachweis der spezifischen T-Zellantwort	
IGRA	Interferon gamma release assay	Nachweis der spezifischen T-Zellantwort		

Abbildung 3 Anforderungskarte „M15 SARS STUFENDIAGNOSTIK“

#### Quellen

1. Guo Li et al. **Profiling Early Humoral Response to Diagnose Novel Coronavirus Disease (COVID-19)**. Clin Infect Dis. 2020 Jul 28;71(15):778-785. doi: [10.1093/cid/ciaa310](https://doi.org/10.1093/cid/ciaa310).
2. To KK-W et al. **Temporal Profiles of Viral Load in Posterior Oropharyngeal Saliva Samples and Serum Antibody Responses During Infection by SARS-CoV-2: An Observational Cohort Study**, Lancet Infect Dis. 2021, doi: [10.1016/S1473-3099\(20\)30196-1](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(20)30196-1).