

 <p>Carl-Thiem-Klinikum Cottbus AKADEMISCHES LEHRKRANKENHAUS DER CHARITÉ</p> <p><i>Der Gesundheits-Campus</i></p>	<h1>LAB-Info</h1>	<p>Carl-Thiem-Klinikum Cottbus Zentrum für Laboratoriumsmedizin, Mikrobiologie und Krankenhaushygiene Brandenburger Referenzlabor SARS-CoV-2- Virusgenom Thiemstrasse 111 03044 Cottbus Tel.: 0355 46 2538 Fax: 0355 46 4086 E-Mail: covid19@ctk.de Web: www.ctk.de</p>
--	-------------------	--

Quantitativer serologischer Nachweis (ELISA) von Sars-CoV-2 neutralisierenden IgG-Antikörpern (Anti-SARS-CoV-2-Quantivac-ELISA; IgG)

Für den serologischen Nachweis bestehender oder zurückliegender Infektionen mit SARS-CoV-2, sowie zum Nachweis von Impfantikörpern stehen heute sensitive und spezifische serologische Testverfahren zur Verfügung (s. Tabelle 1). Der Goldstandard zur **Neutralisationstestung** ist derzeit die Zellkultur, welche aufwendig ist und aufgrund von Sicherheitsvorschriften nur in Speziallaboren durchführbar. Hier werden Seren darauf getestet, ob Sie *in vitro* verhindern können, dass Sars-CoV-2 Zellkulturen infiziert werden. Kann diese Infektion von Zellkulturen *in vitro* durch ein Probanden-Serum verhindert werden, wird davon ausgegangen, dass dies auch *in vivo* der Fall ist und der Proband somit vor einer Re-Infektion geschützt ist (nach derzeitigen Studien bisher max. nachgewiesener Immunschutz für 6-8 Monate ab Beginn der Symptomatik).

Hier unterstützt jetzt der neue **Quantivac-ELISA EUROIMMUN (IgG)**. Er basiert auf der rekombinant hergestellten S1-Untereinheit des Spike-Proteins von SARS-CoV-2 mit vielen verschiedenen Bindestellen (Epitopen) für neutralisierende Antikörper. Die Neutralisation („Unschädlich-machen“) des SarsCoV-2 Virus beruht überwiegend auf Antikörpern gegen dieses Spike Protein. Das Spike-Protein vermittelt das Eindringen des Virus in die Wirtszellen, weshalb die Antikörperbildung gegen dieses virale Protein im Fokus von weltweiten Programmen zur Impfstoffentwicklung steht. Debatten über Ausmaß und Dauer einer möglichen Immunität ehemals Infizierter werden derzeit geführt.

Dieser neue ELISA wurde am neuen "**First WHO International Standard**" kalibriert. Dieses WHO Referenzmaterial enthält definierte über Messwerte festgelegte neutralisierende Eigenschaften. Anhand einer 6-Punkt-Standardkurve wurden die Testergebnisse des Anti-SARS-CoV-2-Quantivac-ELISA mit Messwerten aus Neutralisationstesten des Referenzmaterials korreliert. Die Messwerte im ELISA korrelieren linear mit den Ergebnissen im Zellkultur-Neutralisationstest und werden als BAU/ml (BAU = Binding Antibody Units) angegeben und NICHT als IE/ml (IE = Internationale Einheit, gilt für den Neutralisationstest). Die BAU-Einheit wurde eingeführt, da im Zellkultur-Neutralisationstest auch andere als Anti-S1 Antikörper erfasst werden. De facto korrelieren IE/ml und BAU/ml allerdings linear (s. Abb. 1)!

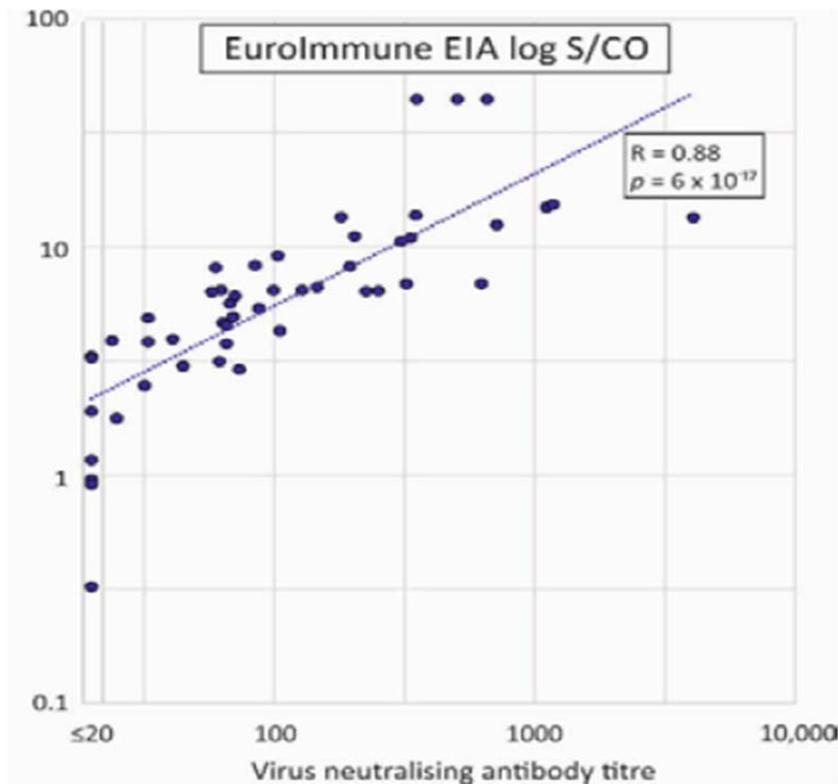


Abb 1: Korrelation Euroimmun Anti S1 IgG mit neutralisierenden Antikörpern im Neutralisationstest

Immunoassays, in denen auch andere nicht-neutralisierende Antikörper miterfasst werden (z.B. gegen S2- oder N Protein) zeigen schlechtere Korrelationsergebnisse mit dem Referenzmaterial, da vermutlich andere Antikörper im ELISA um die Bindungsstellen mit den S1 Antikörpern konkurrieren. Dabei sinkt dann die Vorhersagekraft des serologischen Tests im Vergleich zum Zellkultur Neutralisationstest.

CAVE: Es liegen bisher noch keine belastbaren Studiendaten bezüglich der Korrelation einer quantitativen IgG-Messung (IgG-Titer) und dem Vorhandensein bzw. der Dauer eines Immunschutzes nach Impfung vor. Antikörper, die nach einer Wildvirus-Infektion (COVID-19) gebildet werden, werden vom Anti-SARS-CoV-2-QuantiVac-ELISA genauso erfasst wie Impfantikörper.

Dieser ELISA zur Erfassung neutralisierender Antikörper sollte nicht in der Akutdiagnostik eingesetzt werden - er ersetzt weder die PCR-Testung noch die Antigen-Schnellteste auf das Virusantigen bei Verdacht auf eine frische Infektion! Aussagekräftige Titer neutralisierender Antikörper sind frühestens etwa zwei Wochen nach Krankheitsbeginn nachweisbar und etwa drei Wochen nach der stattgehabten Infektion bzw. Impfung.

Befundkommentare nach Bestimmung der neutralisierenden SARS-CoV-2 ELISA IgG Antikörper:

SARS_IGG_quant_POS

SARS-IgG-Antikörper NACHGEWIESEN. Das Ergebnis wurde mit dem WHO Standard verglichen und spricht für das Vorhandensein neutralisierender AK im Serum. Diese hindern SARS-CoV-2 an der Bindung, bzw. dem Eintritt in die Wirtszelle. Eine erneute Infektion ist somit sehr unwahrscheinlich. Ggfs. Verlaufskontrolle nach frühestens 3 Monaten.

SARS_IGG_quant_NEG

Derzeit KEIN Hinweis auf Antigenkontakt (SARS-CoV-2)

Zum Nachweis einer Serokonversion bitten wir um Einsendung eines weiteren Serums mit 7-14-tägigem Abstand. Die zweite Probe sollte nicht vor der dritten Woche nach Symptomeintritt gewonnen werden.

SARS_IGG_quant_GW

GRENZWERTIGER Nachweis von Sars-CoV-2-IgG-Antikörpern. Das Ergebnis wurde mit dem WHO Standard verglichen: Schutz vor einer Infektion unsicher. Verlaufskontrolle nach ca. 3 Monaten empfohlen.

Tabelle 1: Indikationen ALLER Sars-CoV-2 Antikörper Testungen, die derzeit im serologischen Labor der Mikrobiologie durchgeführt werden können.

Der leitende Mikrobiologe im serologischen Labor behält sich vor Anforderungen in Sinne eines sinnvollen Testalgorithmus ggf. selber zu korrigieren!

Indikation	Parameter	Methode	Testantigen
Titer-Bestimmung nach Impfung, insb. Verlaufskontrollen	SARS-CoV-2-IgG QuantiVac	ELISA, Firma Euroimmun Referenz WHO	Spike-Protein
Differenzierung Infektion vs. Impftiter	SARS-CoV-2-IgG recomLine Assay	Blot, Firma Mikrogen	Nukleokapsid, Spike-Protein, Rezeptorbindungsdomäne (RBD)
Verdacht auf Wildvirus-Infektion (COVID-19) CAVE: Besser Sars-CoV-2 PCR wiederholen!	SARS-CoV-2-AK	ECLIA, DIASORIN als Screening	Nukleokapsid, Spike-Protein
Verdacht auf Wildvirus-Infektion (COVID-19) CAVE: Besser Sars-CoV-2 PCR	SARS-CoV-2-IgG QuantiVac (u. IgA*)	ELISA, Firma Euroimmun	Spike-Protein

*Für die erregerspezifischen IgA- und IgM-Antikörper ist die Spezifität zu niedrig und es ist hier mit einem erheblichen Anteil falsch reaktiver Ergebnisse zu rechnen. Daher verzichten wir derzeit nahezu komplett auf deren Bestimmung bei akuter Infektion. Bei einem isolierten IgA-Nachweis wäre in einer Nachkontrolle nach 5-10 Tagen eine Serokonversion zu erwarten.