

Detektion von Antikörpern gegen SARS-CoV-2



Serologische Testsysteme zum Nachweis von Antikörpern gegen SARS-CoV-2 sind seit März 2020 verfügbar. Sie können helfen, die Ausbreitung der COVID-19-Pandemie zu kontrollieren. Ergebnisse von serologischen Tests ergänzen den Erregerdirektnachweis und liefern Antworten auf wichtige epidemiologische, klinische und virologische Fragestellungen in Bezug auf SARS-CoV-2. Die Testergebnisse können unter anderem zur Rückverfolgung von Infektionsketten genutzt werden sowie zur Ermittlung der Bedeutung von asymptomatischen bzw. präsymptomatischen Übertragungen.

Einleitung

Das *Severe Acute Respiratory Syndrome-Coronavirus 2* (SARS-CoV-2) gehört zur Familie der Coronaviren und wird in die Gattung Betacoronavirus eingeordnet. Das neuartige Coronavirus hat seinen Ursprung in China, in der Stadt Wuhan, Provinz Hubei. Es löste Ende des Jahres 2019 eine Infektionswelle aus, die sich im Land und weltweit rasch ausbreitete und im März 2020 den Status einer Pandemie erreichte. Wenige Tage nach der ersten Meldung über ein gehäuftes Auftreten von Patienten mit Pneumonie unklarer Ursache in Wuhan wurde SARS-CoV-2 als ursächlicher Erreger von chinesischen Wissenschaftlern identifiziert. Die von SARS-CoV-2 ausgelöste Erkrankung wurde COVID-19 genannt. Der Hauptübertragungsweg von SARS-CoV-2 ist die respiratorische Aufnahme Virus-haltiger Tröpfchen, Aerosole, die beim Sprechen, Atmen, Husten und Niesen entstehen. Die WHO nimmt für SARS-CoV-2 eine Inkubationszeit von ein bis 14 Tagen an. Im Mittel beträgt die Inkubationszeit etwa fünf Tage. Durch die unspezifischen und zum Teil stark variierenden Symptome lassen sich keine Aussagen zu einem einzigen typischen Krankheitsverlauf machen. Eine Infektion mit SARS-CoV-2 kann symptomlos verlaufen oder von schweren Pneumonien mit Lungenversagen und Tod geprägt sein. Häufigste Symptome sind Fieber, ein trockener Husten und Halsschmerzen. Seltener berichten Patienten von dem Verlust des Geschmacks- oder Geruchssinns, Atemnot, Kopf- und Gliederschmerzen, Appetitlosigkeit, Gewichtsverlust, Übelkeit, Bauchschmerzen, Erbrechen, Durchfall, Konjunktivitis, Lymphknotenschwellung, Hautausschlag, Apathie und Somnolenz. Schwere Krankheitsverläufe treten hauptsächlich bei älteren Menschen, Rauchern, stark Adipösen und bei Personen mit bestimmten Vorerkrankungen auf, wurden aber auch bei jüngeren Menschen oder bei

Personen ohne Vorerkrankung beschrieben. In Deutschland wurden bisher ca. 17 Prozent der gemeldeten Fälle hospitalisiert. Die hohe Infektiosität während der Inkubationszeit sowie die derzeit unbekannt Anzahl von asymptomatischen Infektionen stellen eine Herausforderung bei der Unterbrechung von Infektionsketten dar. Laut Infektionsschutzgesetz sind ein Verdacht auf eine SARS-CoV-2-Infektion, die Erkrankung sowie der Tod im Zusammenhang mit COVID-19 meldepflichtig. Demnach lagen Ende Juni 2020 die Fallzahlen in Deutschland bei über 192.000 gemeldeten Patienten, von denen fast 9.000 verstorben sind. Sechs Monate nach Bekanntwerden der ersten Fälle gibt es weltweit mehr als zehn Millionen bestätigte Infektionen mit SARS-CoV-2 sowie etwa 500.000 Todesfälle.

Diagnostik akuter SARS-CoV-2-Infektionen

Bei der Bekämpfung der COVID-19-Pandemie spielt die Labordiagnostik eine entscheidende Rolle. Das Virus ist direkt nach Symptombeginn in Abstrichproben der oberen Atemwege (nasopharyngeale und oropharyngeale Abstriche) und der unteren Atemwege (bronchoalveoläre Lavage, Trachealsekret, Sputum u. a.) nachweisbar. **Die Methode der Wahl zur Feststellung einer akuten Infektion ist der Direktnachweis viraler RNA über Reverse-Transkriptase-Polymerasekettenreaktion (RT-PCR).** Die WHO-Leitlinie zur Labordiagnostik fordert PCR-Nachweise von mindestens zwei spezifischen Gensequenzen des SARS-CoV-2, um Infektionen verlässlich zu identifizieren und von anderen Coronavirus-Infektionen abgrenzen zu können. Das Virus kann bis zu 14 Tage nach dem Einsetzen der Symptome detektiert werden; in einzelnen Fällen jedoch auch deutlich länger. Die PCR ermöglicht selbst bei asymptomatischen Verläufen einen Erre-



Kristin Meyer-Schlinkmann
PhD in Epidemiology



Dr. med. Dr. rer. nat.
Dieter Münstermann

gernachweis schon wenige Tage nach dem Viruskontakt. Solange Viren in den Sekreten der Atemwege durch PCR nachweisbar sind, ist auch von einer Infektiosität des Patienten auszugehen. **Ein negatives RT-PCR-Ergebnis schließt jedoch die Möglichkeit einer Infektion mit SARS-CoV-2 nicht vollständig aus.** Wird der Abstrich nicht im tiefen Rachenraum genommen oder haben die Viren sich eher in der Lunge als im Rachenraum angesiedelt, kommt es zu negativen PCR-Abstrichen, die dann nicht fehlgedeutet werden dürfen, sondern im Kontext einer umfassenden Anamnese bewertet werden müssen. Bei negativem PCR-Ergebnis, aber entsprechenden Symptomen oder Kontakt mit Infizierten sind im Abstand von wenigen Tagen erneute PCR-Untersuchungen anzuraten.

Serologische Bestimmung von Antikörpern gegen SARS-CoV-2

Patienten, die eine nicht mehr akute bzw. zurückliegende SARS-CoV-2-Infektion haben, entwickeln i.d.R. spezifische Antikörper gegen virale Proteine. Allerdings ist bisher unklar für wie lange diese Antikörper im Blut vorhanden und somit nachweisbar sind. Es gibt inzwischen auch Anhaltspunkte dafür, dass nicht alle Infizierten Antikörper ausbilden. Bei der Mehrzahl der Patienten, die Antikörper bilden, findet die Serokonversion in der zweiten Woche nach Symptombeginn statt. **Ein Titeranstieg oder eine IgG-Serokonversion gelten als indirekter Erregernachweis und bestätigen einen Viruskontakt.** Die Blutuntersuchung zum Nachweis von Antikörpern erweitert somit das Zeitfenster der Diagnose über die ersten ein bis zwei Wochen hinaus und unterstützt die Akutdiagnostik mittels PCR. Zur Bestimmung des Antikörperstatus werden serologische Methoden verwendet. Enzyme-linked Immunosorbent Assays, sogenannte ELISA, dienen der In-vitro-Bestimmung humaner Antikörper gegen SARS-CoV-2 aus Serum, EDTA-, Heparin- oder Citrat-Plasma. Als Alternative zu venösem Blut ist inzwischen auch die Analytik aus getrocknetem Kapillarblut (dried blood spots, DBS) möglich. Das bedeutet eine für Patienten und Praxis-Teams unkomplizierte Blutentnahme aus der Fingerbeere.

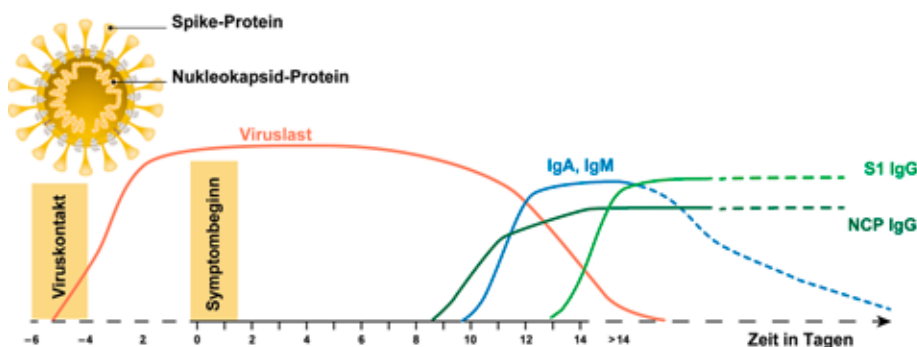
Die Kassenärztliche Bundesvereinigung vergütet die Untersuchung von zwei im Abstand von sieben bis vierzehn Tagen gewonnenen Serumproben auf Anti-SARS-Cov-2-Antikörper der Klasse IgG.

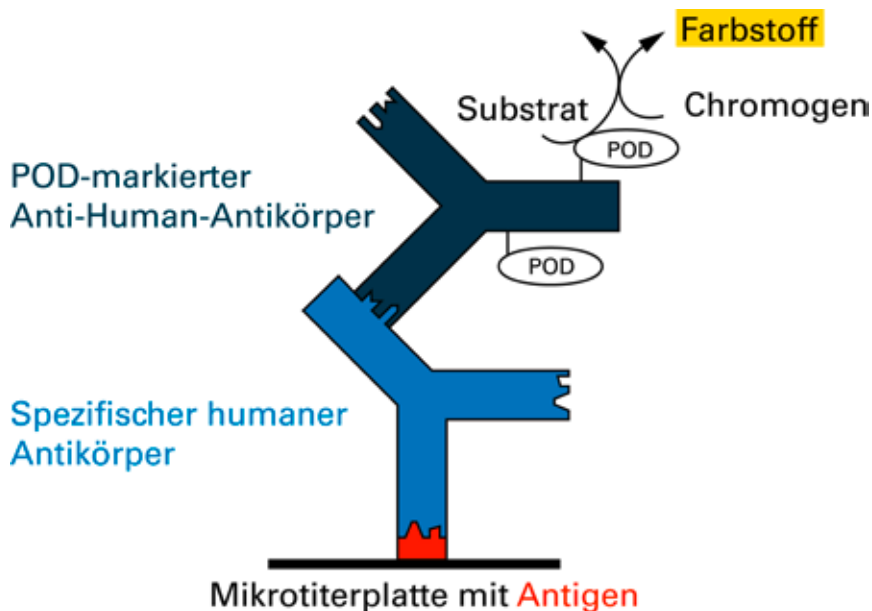
Für die Analytik stehen verschiedene kommerzielle und CE-gekennzeichnete Testsysteme von verschiedenen Herstellern zur Verfügung. Nachgewiesen werden können Antikörper der Klassen IgM, IgA oder IgG. IgA- und auch IgM-Antikörper werden im zeitlichen Verlauf meist einige Tage vor den Antikörpern der Klasse IgG nachgewiesen, was die Analytik von Antikörpern dieser Klassen va. des IgA bei hospitalisierten Patienten zu einem wichtigen Instrument macht. Bereits ab etwa Tag sieben nach Beginn der Symptome können Antikörper der Klasse IgA nachgewiesen werden. Nach aktuellem

Kenntnisstand erreicht der IgA-Titer sein Maximum um Tag 14 nach Beginn der Symptome. Anti-SARS-CoV-2-IgG-Antikörper sind meist mit einem zeitlichen Versatz von bis zu vier Tagen nachweisbar. Der Titer für Anti-SARS-CoV-2-IgG-Antikörper verbleibt in der Regel dann für eine deutlich längere Zeit auf hohem Niveau. Allerdings variiert die Kinetik der Antikörperbildung stark, was eine Interpretation von serologischen Werten ganz ohne klinische und sonstige anamnestische Informationen manchmal erschwert. **Der Test auf IgG-Antikörper dient dem Nachweis eines Erregerkontaktes und wird auch bei Verdacht auf COVID-19 aufgrund der Anamnese und trotz negativem PCR-Ergebnis angewendet.** Ob bei positivem Nachweis von IgG-Antikörpern von einer Immunität – lebenslang oder für nur für einen begrenzten Zeitraum – ausgegangen werden kann, ist derzeit eine der wichtigsten Fragestellungen weltweit.

In den meisten Testsystemen werden als Antigen das virale Spike (S)- und/oder das Nukleokapsid (N)-Protein verwendet. Die S1-Domäne des S-Proteins ist innerhalb der Coronavirus-Familie am wenigsten evolutionär konserviert und daher sehr spezifisch für SARS-CoV-2. Zudem enthält die S1-Domäne die immunologisch relevante Rezeptorbindungsstelle, die als Hauptzielantigen für die Virusneutralisation gilt. Durch ein aufwendiges Herstellungsverfahren kann die Darstellung komplexer dreidimensionaler Strukturen sowie posttranslationaler Glykosylierungen des Polypeptids gewährleistet werden. So können auch solche Anti-SARS-CoV-2-Antikörper detektiert werden, die ausschließlich mit authentischen Epitopen der S1-Domäne reagieren. Einer der ersten auf dem europäischen Markt verfügbaren ELISA-Test wurde von der EUROIMMUN AG/Lübeck entwickelt. Die Leistungsfähigkeit (Herstellerangaben: Sensitivität 94,4%, Spezifität 99,6%) dieses S1-basierten Anti-SARS-CoV-2-ELISA (IgG, EUROIMMUN AG) wurde in Forschungsstudien bestätigt. Antikörper gegen das N-Protein sind typische und sensitive Marker für Infektionen mit SARS-CoV-2. Das N-Protein gilt als besonders immunogen, weist in voller Länge jedoch eine hohe Homologie innerhalb der Coronavirus-Familie auf, weswegen das Risiko für unspezifische (falsch positive) Reaktionen bei Verwendung dieses Antigens erhöht ist. Durch den Einsatz eines rekombinant erzeugten Designer-Antigens (NCP), bei dem unspezifische konservierte Regionen eliminiert wurden und nur die diagnostisch relevanten

Typischer Zeitverlauf einer SARS-CoV-2 Infektion.





Durchführung eines ELISA Tests auf Antikörper gegen SARS-CoV-2 im diagnostischen Labor.

Epitope enthalten sind, konnte die Spezifität optimiert werden (EUROIMMUN AG, Herstellerangaben: Sensitivität 94,6%, Spezifität 99,8%). Mit diesen ELISA lassen sich spezifische Antikörper gegen SARS-CoV-2 gegebenenfalls früher nachweisen (circa sieben Tage nach Symptombeginn) als mit dem S1-basierten IgG-ELISA (circa 10 Tage nach Symptombeginn). Basierend auf der unterschiedlichen Kinetik der Antikörper gegen S1 und NCP kann eine kombinierte Teststrategie die diagnostische Sicherheit zusätzlich steigern. Eine Maximierung der Spezifität ist vor allem in Populationen mit geringer Durchseuchung (Antikörperprävalenz) relevant, um die eindeutige Identifizierung der nicht infizierten Personen zu gewährleisten und den positiven Vorhersagewert zu steigern. **Ein weiterer Nutzen serologischer Tests ist die Rückverfolgung von Infektionsketten.** Die retrospektive Analyse von Ansteckungsketten ist besonders bei neuartigen Krankheitserregern wichtig, um die Wege der Übertragung nachzuvollziehen.

Weiterhin können serologische Studien zur Beantwortung klinischer, epidemiologischer und virologischer Fragestellungen in Bezug auf SARS-CoV-2 bzw. COVID-19 beitragen. Hierzu zählen beispielsweise die Fragen nach sekundären Infektionsraten, nach dem Anteil asymptomatischer Infektionsverläufe, nach Krankheitsverläufen und den klinischen Erscheinungsbildern von COVID-19, nach der Immunantwort und Antikörperkinetik, nach Infektion oder auch nach Risikofaktoren der Übertragung und Ansteckung (gemäß WHO, Q&A: Serologie and COVID-19).

Immunantwort auf SARS-CoV-2

Prinzipiell zeigen IgA und IgM das Einsetzen der Immunantwort an, während IgG-Antikörper wahrscheinlich für die Ausbildung der Immunität die entscheidende Rolle spielen. Der Nachweis von IgG-Antikörpern ist ein Indikator für die Aktivierung einer komplexen, spezifischen Immunantwort

– bestehend aus zellulärer und Antikörper-gebundener Abwehr. Diese Aktivierung wird jedoch nicht in allen COVID-19 Patienten beobachtet. In aktuellen Studien gibt es immer wieder Berichte über Patienten, bei denen die Antikörpersekretion entweder verspätet nach mehreren Wochen einsetzt oder ausbleibt. Diese Patienten sind negativ für Anti-SARS-CoV-2-IgG und reduzieren die klinische Sensitivität eines serologischen Tests. **Zum jetzigen Zeitpunkt ist unklar, ob ein Immunstatus regelhaft aufgebaut wird, wie robust er ist und wie lange er andauert.** Entsprechende serologische Langzeitstudien laufen bereits.

Schnelltests

Schnelltests zum qualitativen Nachweis von Antikörpern gegen SARS-CoV-2 existieren in Form von *Lateral Flow Assay*-Formaten. Sie liefern innerhalb weniger Minuten ein Ergebnis und erfordern nur wenige Blutstropfen. Trotz dieser praktischen Vorteile rät die WHO derzeit davon ab, immundiagnostische Schnelltests für die COVID-19-Diagnostik zu verwenden. Das Fehlen von Probenvorbereitungs- und Waschschritten erhöht das Risiko für unspezifische Reaktionen; das geringe Probenvolumen und die kurze Inkubationszeit reduzieren die Sensitivität bzw. Empfindlichkeit der Assays. Vorerst sollten sie daher laut WHO nur im Rahmen von Forschungsprojekten eingesetzt werden.

Da inzwischen ausreichende Kapazitäten für Antikörpertests mit CE-gekennzeichneten Testsystemen verfügbar sind, raten Experten derzeit von der Verwendung von Schnelltests ab.

Fazit

Serologische Tests für die Detektion von Antikörpern gegen SARS-CoV-2 sind seit März 2020 mit CE-Kennzeichnung kommerziell verfügbar.

Mit Antikörpertests wird festgestellt, ob die getestete Person schon einmal mit SARS-CoV-2 infiziert war – auch wenn diese Person niemals Symptome von COVID-19 zeigte, wobei hier einschränkend erwähnt werden muss, dass es Anhaltspunkte dafür gibt, dass nicht alle infizierten Personen spezifische Antikörper gegen SARS-CoV-2 ausbilden. Serologische Tests erkennen also indirekt eine abklingende oder auch vergangene SARS-CoV-2-Infektion, indem sie die humorale Immunantwort des Wirts auf das Virus messen. Die serologischen Tests ergänzen die direkten Virus-Nachweismethoden mittels RT-PCR. Diese dient als primäres Instrument zur Diagnose einer aktiven SARS-CoV-2-Infektion. Serologische Methoden wie der Nachweis von Antikörpern gegen das SARS-CoV-2-Virus spielen bereits jetzt eine wichtige Rolle beim Verständnis der Epidemiologie des Virus in der Allgemeinbevölkerung, bei der Identifizierung von Risikogruppen und bei der Erforschung der so wichtigen Frage einer möglichen Immunität nach positivem Antikörpernachweis.

Informationen

Dr. med. Dr. rer. nat.

Dieter Münstermann

Facharzt für Laboratoriumsmedizin,
Facharzt für Mikrobiologie und
Infektionsepidemiologie
Kristin Meyer-Schlinkmann
PhD in Epidemiology
Medizinisches Versorgungszentrum
Labor Krone

Medizinal-Untersuchungsstelle im
Regierungsbezirk Detmold
Siemensstraße 40
32105 Bad Salzuflen
www.laborkrone.de

Weitere Informationen

EUROIMMUN AG

Seekamp 31
23560 Lübeck
www.euroimmun.de
www.coronavirus-diagnostik.de