



Anti-SARS-CoV-2-ELISA (IgG)



- Spezifischer Nachweis von IgG gegen SARS-CoV-2 durch die Verwendung der S1-Domäne des Spike-Proteins inklusive der immunologisch relevanten Rezeptorbindungsdomäne (RBD)
- Hervorragende Leistungsfähigkeit und gute Korrelation mit Neutralisationstests in externen Studien bestätigt
- Programme zur Impfstoffentwicklung weltweit setzen auf das Spike-Protein als Antigen
- Für getrocknetes Kapillarblut als alternatives Probenmaterial validiert, vollständige Automatisierung möglich

Technische Daten

Antigen	In humanen Zellen rekombinant dargestellte S1-Domäne des Spike-Proteins von SARS-CoV-2
Kalibrierung	Semiquantitativ, Berechnung einer Ratio aus Extinktion der Probe und Extinktion des Kalibrators
Befundinterpretation	EUROIMMUN schlägt folgende Befundinterpretation vor: Ratio < 0,8: negativ Ratio ≥ 0,8 bis < 1,1: grenzwertig Ratio ≥ 1,1: positiv
Probenverdünnung	Serum oder Plasma, 1:101 in Probenpuffer, oder 4,76 mm-Stanze mit getrocknetem Kapillarblut in 250 µl Probenpuffer
Reagenzien	Gebrauchsfertig, Ausnahme: Waschpuffer (10x); farbcodierte, mit weiteren EUROIMMUN-ELISA-Test-sätzen weitgehend austauschbare Lösungen
Testablauf	60 min (37°C) / 30 min (37°C) / 30 min (RT) (Proben-/Konjugat-/Substratinkubation), vollautomatisierbar
Messung	450 nm, Referenzwellenlänge zwischen 620 nm und 650 nm
Packungsformat	96 vereinzelbare Reagenzgefäße, inklusive aller erforderlichen Reagenzien
Haltbarkeit	6 Monate
Bestell-Nr.	EI 2606-9601 G; EI 2606-9620 G (speziell für die Abarbeitung auf der EUROLabWorkstation ELISA)

Klinische Bedeutung

Das *Severe Acute Respiratory Syndrome-Coronavirus 2* (SARS-CoV-2, vormals 2019-nCoV) gehört zur Familie der Coronaviren und wird wie SARS-CoV in die Gattung *Betacoronavirus* eingeordnet. Das neuartige Coronavirus hat seinen Ursprung in China, in der Stadt Wuhan, Provinz Hubei. Es löste Ende 2019 eine Infektionswelle aus, die sich im Land und weltweit rasch ausbreitete. Wenige Tage nach der ersten Meldung über Patienten mit Pneumonie unklarer Ursache wurde SARS-CoV-2 als ursächlicher Erreger identifiziert.

SARS-CoV-2 wird hauptsächlich durch Tröpfcheninfektion beim Husten oder Niesen und bei engem Kontakt mit Infizierten übertragen. Gesundheitspersonal und Familienangehörige gehören zu den besonders gefährdeten Personen. Ein zoonotisches Reservoir des Virus scheinen Fledermäuse zu sein. Die Inkubationszeit des SARS-CoV-2 beträgt 3 bis 7, maximal 14 Tage. Die Symptome einer SARS-CoV-2-Pneumonie sind Fieber, Husten, Atembeschwerden und Erschöpfung. Bei den meisten Patienten äußert sich die Infektion durch Symptome einer leichten fieberhaften Erkrankung mit unregelmäßigen Lungeninfiltraten, ein Teil der Patienten, vor allem alte und chronisch kranke Menschen, entwickelt ein akutes Atemnotsyndrom (*Acute Respiratory Distress Syndrome*, ARDS). Die Sterblichkeitsrate liegt in den verschiedenen Ländern der Welt zwischen 0,6% und 7,2%. Die Erkrankung, die durch SARS-CoV-2 hervorgerufen wird, wurde im Februar 2020 von der WHO „COVID-19“ genannt.

Zur Diagnose einer SARS-CoV-2-Infektion sind der Nachweis von viraler RNA über Reverse-Transkriptase-Polymerasekettenreaktion (RT-PCR) oder von Virusprotein im ELISA in erster Linie aus Probenmaterialien der oberen Atemwege (nasopharyngeale und oropharyngeale Abstriche) und der unteren Atemwege (bronchoalveoläre Lavage, Trachealsekret, Sputum u. a.) geeignete Verfahren. Die Bestimmung von Antikörpern ermöglicht die Bestätigung von SARS-CoV-2-Infektionen bei Patienten mit typischen Symptomen und bei Verdachtsfällen und trägt zu Monitoring und Ausbruchskontrolle bei. Für aussagekräftige serologische Ergebnisse sollten 2 Patientenproben untersucht werden, eine aus der akuten (Woche 1 der Erkrankung) und eine aus der Rekonvaleszenzphase (3 bis 4 Wochen später).

Kreuzreaktionen von Antikörpern innerhalb der Gattung *Betacoronavirus* wurden beschrieben. Derzeit gibt es keine Medikamente und Impfstoffe zur Bekämpfung dieses neuen Virus.



Diagnostische Sensitivität (Prävalenz)

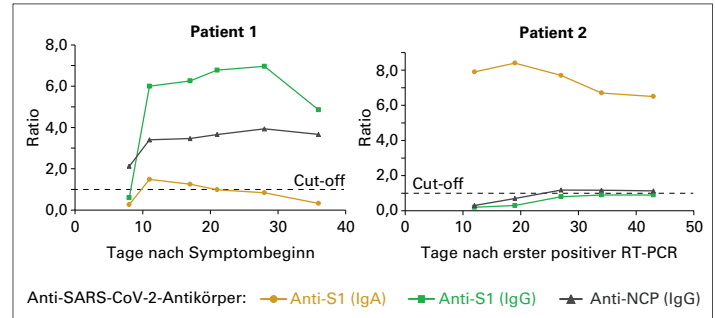
Zur Bestimmung der Sensitivität wurden mit dem Anti-SARS-CoV-2-ELISA (IgG) 166 Proben von 152 europäischen Patienten untersucht, bei denen mittels RT-PCR-Test¹ jeweils anhand einer Probe aus der frühen Infektionsphase eine Infektion mit SARS-CoV-2 bestätigt wurde. Die serologische Untersuchung erfolgte mit Proben, die im weiteren Verlauf der Infektion abgenommen wurden. Bei Proben, die bis zum Tag 10 (Zeitpunkt nach Symptombeginn oder positivem Direktnachweis) gewonnen wurden, zeigte der Anti-SARS-CoV-2-ELISA (IgG) eine Sensitivität von 43,7%. Die Sensitivität bei Proben, die nach Tag 10 entnommen wurden, liegt für den Anti-SARS-CoV-2-ELISA (IgG) bei 94,4%.

Die Grafik zeigt zwei individuelle Immunantworten in COVID-19-Patienten, die mit den EUROIMMUN-Anti-SARS-CoV-2-ELISA (IgA, IgG), basierend auf der rekombinant dargestellten S1-Domäne des Spike-Proteins, und dem EUROIMMUN-Anti-SARS-CoV-2-NCP-ELISA (IgG), für den ein modifiziertes Nucleokapsidprotein (NCP) als Antigen eingesetzt wird, bestimmt wurden. **Patient 1 (47 Jahre):** Der Anti-SARS-CoV-2-NCP-IgG-Antikörperspiegel ist bereits an Tag 8 nach Symptombeginn erhöht. Anti-SARS-CoV-2-S1-Antikörper (IgA und IgG) sind noch nicht nachweisbar. Die Folgebeprobe an Tag 11 nach Auftreten der Symptome zeigt einen Anstieg der Antikörperspiegel für beide Ig-Klassen. **Patient 2 (58 Jahre):** Der Anti-SARS-CoV-2-S1-IgA-Antikörperspiegel ist 12 Tage nach der ersten positiven RT-PCR bereits stark erhöht. Hingegen steigen die Spiegel der Anti-SARS-CoV-2-S1- und Anti-SARS-CoV-2-NCP-IgG-Antikörper bis Tag 43 nach positiver RT-PCR nur langsam an.

Der zeitliche Verlauf der Antikörpersekretion und die Antikörperaktivität zu bestimmten Zeitpunkten können stark variieren. Bei den meisten Patienten sind Antikörper nach Tag 10 nach Symptombeginn oder positivem Direktnachweis detektierbar. In einzelnen Fällen wurde eine stark verzögerte Synthese von IgG (> 4 Wochen nach Symptombeginn oder positivem Direktnachweis) berichtet.

Tage nach Symptombeginn oder positivem Direktnachweis	EUROIMMUN-Anti-SARS-CoV-2-ELISA (IgG)		
	positiv	negativ	Sensitivität (Prävalenz)*
≤ 10	38	49	43,7%
> 10	68	4	94,4%

* Grenzwertige Ergebnisse (n=7) ausgenommen. Die Sensitivität ist abhängig von der Prävalenz spezifischer IgG-Antikörper in COVID-19-Infizierten.



Spezifität

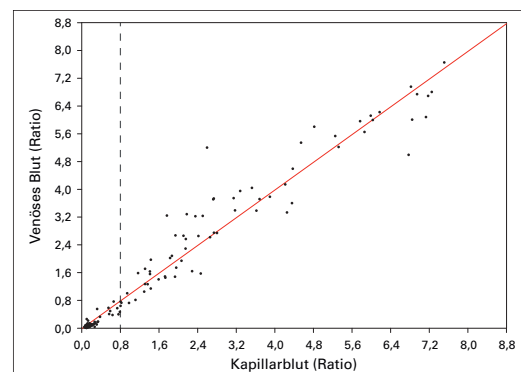
Zur Bewertung der Spezifität des Anti-SARS-CoV-2-ELISA (IgG) wurden 222 Patientenserum analysiert, die positiv für Antikörper gegen andere humanpathogene Coronaviren, andere Erreger oder für Rheumafaktoren waren. Zusätzlich wurden 1.122 Proben von Blutspendern, Kindern und Schwangeren untersucht, die vor dem Auftreten von SARS-CoV-2 (vor Januar 2020) gewonnen wurden. Kreuzreaktionen mit anderen humanpathogenen Coronaviren konnten nicht beobachtet werden. Daraus ergibt sich für den Anti-SARS-CoV-2-ELISA (IgG) eine Spezifität von 99,6%.

Kollektiv	EUROIMMUN-Anti-SARS-CoV-2-ELISA (IgG)	
	n	Spezifität
Blutspender	849	99,5%
Schwangere	199	99,5%
Kinder	74	100%
Ältere Patienten	97	100%
Infektionen mit anderen humanpathogenen Coronaviren	23	100%
Influenza (frisch geimpft inkl. Verläufe)	40	100%
Akute EBV-Infektion & heterophile Antikörper	22	100%
Rheumafaktoren	40	100%
Gesamt	1.344	99,6%

* Grenzwertige Ergebnisse (n=7) ausgenommen

Methodenvergleich

Zur Ermittlung der Korrelation zwischen Extrakten getrockneter Kapillarblutstropfen (*dried blood spots*; DBS) und Serum aus venösem Blut wurden 215 Patientenproben aus Europa mit dem Anti-SARS-CoV-2-ELISA (IgG) untersucht. Für jeden Patienten lagen jeweils sowohl eine Kapillarblutprobe als auch eine venös entnommene Blutprobe vor. Die Übereinstimmung der Messergebnisse der getrockneten Kapillarblutstropfen und der venösen Blutproben lag bei 100%. Grenzwertige Ergebnisse wurden bei der Berechnung nicht berücksichtigt.



Literatur

1. Corman VM, et al. **Detection of 2019 novel coronavirus (2019-nCoV) by real-time RT-PCR.** Euro Surveill 25(3): pii=2000045 (2020-01-23).
2. WHO: **Laboratory testing for 2019 novel coronavirus (2019-nCoV) in suspected human cases.** Interim guidance (2020-03-19).
3. Matushek S, et al. **Evaluation of the EUROIMMUN Anti-SARS-CoV-2 ELISA Assay for detection of IgA and IgG antibodies.** bioRxiv preprint (2020-05-13).