

Nachweis neutralisierender Antikörper auf SARS-CoV-2 mit dem Surrogat-SARS-Neutralisationstest

Seit fast einem Jahr können in medizinischen Laboren routinemäßig die Antikörper auf SARS-CoV-2-IgM, -IgA und/oder -IgG bestimmt werden. Für die Frage der durchgemachten Infektion ist das ausreichend; eine Einschätzung der tatsächlichen Schutzwirkung (nach Infektion oder Impfung) ist durch die Antikörperbestimmung aber nur eingeschränkt möglich. Die dafür vielfach diskutierten Plaque-Reduktions-Neutralisationstests (PRNT), d.h. Tests, die nachweisen, ob eine Schutzwirkung durch die Antikörper vorliegt, waren bisher im niedergelassenen Bereich nicht möglich. Diese Tests erfordern einen S3-Sicherheitsstandard (Umgang mit vermehrungsfähigen Viren), den lediglich virologische Speziallabors an Universitätskliniken gewährleisten können.

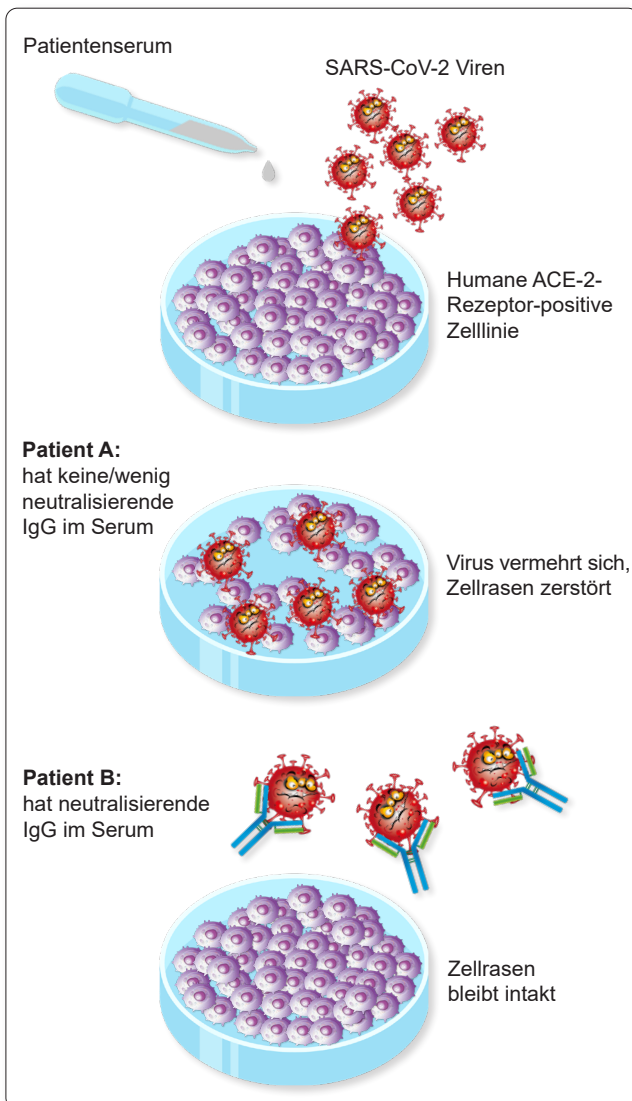


Abb. 1 Testprinzip des klassischen Plaque-Reduktions-Neutralisationstests (PRNT).

Jetzt gibt es eine Alternative

Mit dem Surrogat Virus Neutralisationstest (svNT) ist es nun möglich, in einem ELISA-Testformat die inhibitorische Wirkung neutralisierender Antikörper innerhalb kürzester Zeit nachzuweisen (Tan et al., 2020). Dieser Test steht ab sofort im IMD zur Verfügung.

Das Testprinzip des Surrogat-SARS-Neutralisationstests

Beim SARS-CoV-2 Neutralisationstest ist die ELISA-Platte mit dem humanen ACE-2-Rezeptor beschichtet. Das Serum des Patienten wird mit einem RBD-Fragment des viralen S1-Proteins inkubiert. Sofern im Serum Antikörper vorhanden sind, welche das S1-Protein binden („neutralisieren“) können, wird im 2. Schritt die Bindung an die ACE-2-Rezeptoren verhindert. Nach mehreren Waschschritten, der Färbereaktion (mit TMB) und der photometrischen Messung wird die Hemmung der RBD Fragment-Bindung in Prozent berechnet.

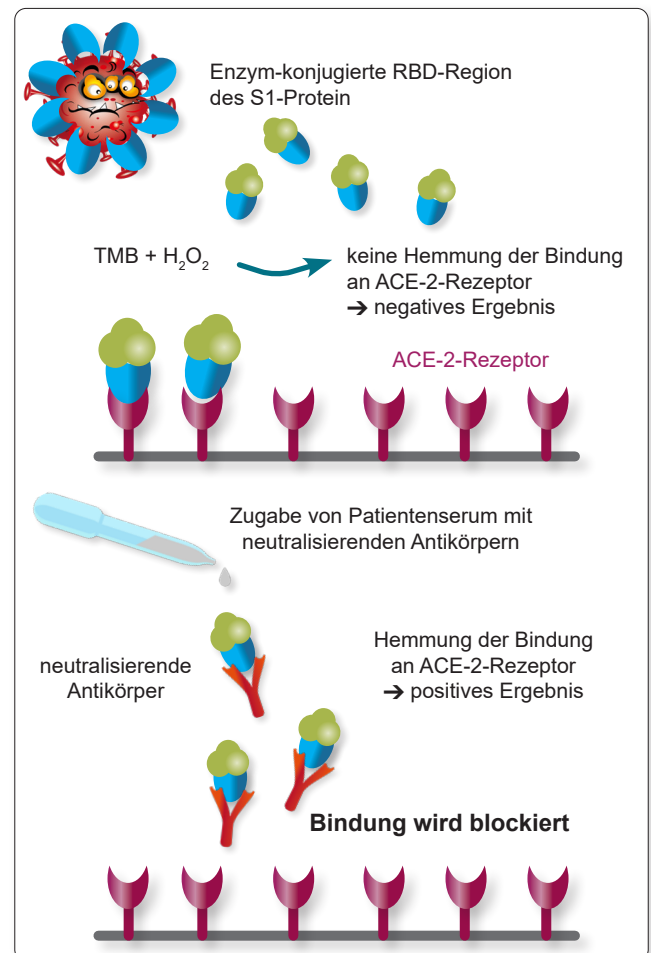


Abb. 2 Testprinzip des neuen Surrogat-SARS-Neutralisationstest. Wenn im Patientens Serum Antikörper enthalten sind, welche die Bindungsregion (RBD) des S1-Proteins erkennen und „abdecken“, wird die Bindung an den ACE-2-Rezeptor im Test verhindert.

Haben Sie Fragen? Unser Service Team beantwortet sie gerne unter +49 (0)30 770 01-220.

Studien zeigen hervorragende Korrelation zu den Plaque-Reduktions-Neutralisationstests (PRNT)

Wie die Abbildungen aus den genannten Publikationen zeigen, korrelieren die Ergebnisse Plaque-Reduktions-Neutralisationstests (PRNT) sehr gut zum Surrogat-SARS-Neutralisationstest. Die Abbildung 3b zeigt, dass bei einem Cutoff von 30 % eine hervorragende Differenzierung zwischen positiven und negativen Serumproben möglich ist.

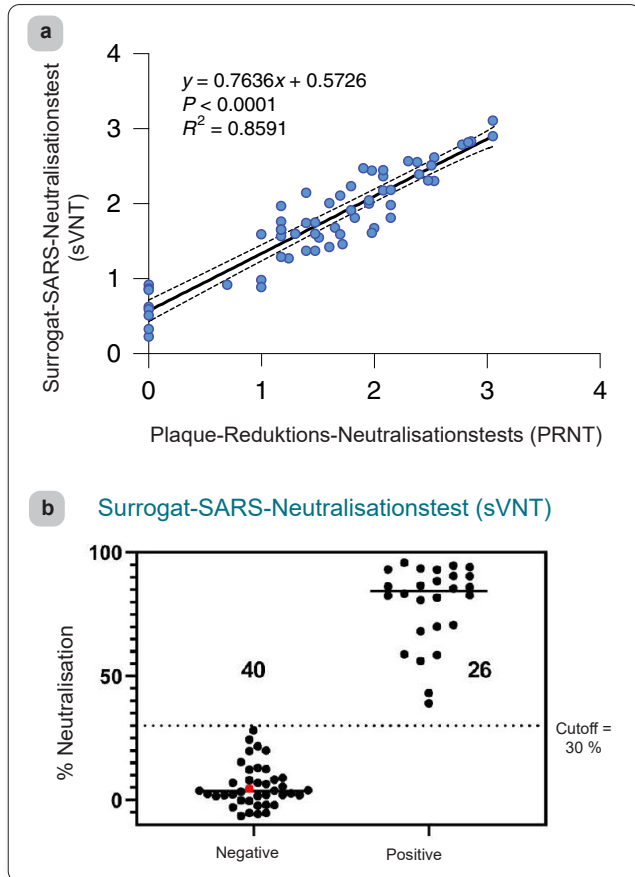


Abb. 3a aus Chee Wah Tan et. al. Nature Biotechnology 2020. Die Abb. zeigt die Korrelation des classic-Virus-Neutralisationstest (cVNT) zum neuen Surrogat-VNT (sVNT), **Abb. 3b** aus Sean C. Taylor et. al. zeigt, dass bei einem Cutoff von 30% eine klare Unterscheidung zwischen im cVNT-positiven und negativen Patienten möglich ist.

Ärztlicher Befundbericht

Untersuchung	Ergebnis	Einheit	Referenzbereich
SARS-CoV-2 IgG-Ak (S1) i.S. (ELISA)	49.3	BAU/ml	< 25.6

Nachweis von IgG-AK gegen SARS-CoV-2 Spike-Protein (S1). Dieser Befund spricht entweder dafür, dass eine Infektion mit SARS-CoV-2 stattgefunden hat oder im Falle einer zuvor erfolgten Impfung für eine erwünschte Impfreaktion.

Abb. 4 Messung der IgG-Antikörper gegen das Spike-Protein 1 (S1) 4 Wochen nach Impfung

Wichtiger Hinweis:

Wir weisen Sie darauf hin, dass nach der aktuellen Rechtsprechung immunologische Befunde, d.h. SARS-CoV-2-Antikörper oder eine SARS-spezifische T-Zellantwort keinen Anspruch auf einen „Immunitätsnachweis“ darstellen, welcher Betroffene nach der aktuellen Rechtslage mit Geimpften oder Genesenen gleichstellt.

Literatur

- Addetia, A. et al. Neutralizing Antibodies Correlate with Protection from SARS-CoV-2 in Humans during a Fishery Vessel Outbreak with a High Attack Rate. JCM. Oct 2020, 58 (11)
- Tan, C.W. et al. A SARS-CoV-2 surrogate virus neutralization test based on antibody-mediated blockage of ACE2-spike protein-protein interaction. Nat Biotechnol 38, 1073-1078 [2020]
- Wu, J. et al. SARS-CoV-2 infection induces sustained humoral immune responses in convalescent patients following symptomatic COVID-19. medRxiv. 2020
- Sean C Taylor et al. A New SARS CoV-2 Dual Purpose Serology Test: Highly Accurate Infection Tracing and Neutralizing Antibody Response Detection. J Clin Microbiol 2021 26;JCM.02438-20. doi: 10.1128/JCM.02438-20.

Ärztlicher Befundbericht

Untersuchung	Ergebnis	Einheit	Referenzbereich
neutral. Ak SARS-CoV-2 i.S. (ELISA)	85	%	> 30

Gemessen wird die Hemmung der Virusverbindung (RBD-Region) an dem Rezeptor der Wirtszelle (ACE2) durch im Serum befindlicher spezifischer SARS-CoV-2-Antikörper.

% Neutralisation	Test-Ergebnis
< 30%	keine Neutralisationskapazität
30 - 50 %	niedrige Neutralisationskapazität
51 - 74 %	moderate Neutralisationskapazität
ab 75 %	Hohe Neutralisationskapazität

Abb. 5 Bei diesem Patienten liegt trotz relativ geringem IgG(S1)-Titer (4 Wochen nach Impfung; siehe Abb. 4) ein deutlich positiver Neutralisationstest vor.

Was sagt der Test aus?

Die nachfolgende Abbildung zeigt erste Ergebnisse aus dem IMD-Berlin. Der klassische IgG(S1)-Antikörper differenziert ausreichend die Patienten mit und ohne Neutralisationseffekt ihrer IgG-Antikörper. Erkennbar ist aber, dass es bei ein und demselben IgG(S1) Titer qualitative Unterschiede gibt, die im Einzelfall 20-30% erreichen. Patienten mit isoliert positiven IgG(Nc)-Antikörpern zeigen in keinem Fall positive Ergebnisse im Neutralisationstest (4 rot dargestellte Patienten).

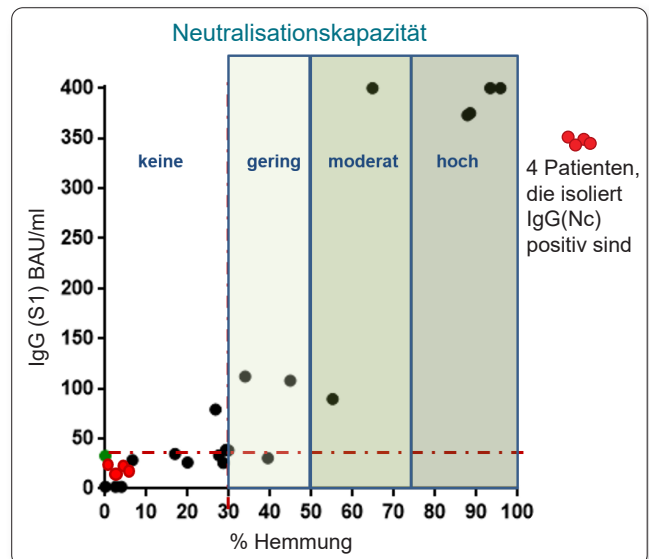


Abb. 6 Erste Daten aus dem IMD zur Neutralisationskapazität von IgG-S1-Antikörpern

Material

1 ml Serum

Der Transport ins Labor ist nicht zeitkritisch und kann per Postversand erfolgen.

Abrechnung

Eine Abrechnung ist bisher nur im privatärztlichen Bereich (GOÄ) gegeben. Immunitätsuntersuchungen gehören bisher nicht zum Leistungsspektrum der GKV. Für Selbstzahler kostet der Test 35,44 €.