

IMV SARS-CoV-2 Antikörper Differenzierung (ABCORA)

Hintergrund

Die Antikörperantwort zu SARS-CoV-2 kann sehr unterschiedlich ausfallen. Die Kinetik der Antikörper An- und Abstiege variiert stark und kann auch durch den Schweregrad und Dauer der Infektion beeinflusst werden¹. IgA und IgM sind im Frühstadium im Serum nachweisbar, IgG tritt erst später auf. Bei Konvaleszenten nimmt zuerst IgA und IgM im Serum ab. Ebenso kann die ausgebildete IgG Antwort innert weniger Monate unter die Nachweisgrenze fallen¹. Nukleoprotein (N) Antikörper können nach der Infektion in manchen Patienten zuerst auftreten, sie können daher die Erkennung der frühen Serokonversion unterstützen. Neutralisierende Antikörper binden an das Spike Protein S1 und hier vor allem an die receptor binding domain (RBD). Die Erfassung der S1 und RBD Antwort ist daher wichtig, um die Ausbildung einer potenziell schützenden Immunität gegen das Virus messen zu können.

Die Erfassung der Antikörperantwort zu SARS-CoV-2 bleibt daher komplex. Nach derzeitigem Wissenstand erlaubt nur die kombinierte Messung mehrerer Antigene und Immunglobulinklassen eine sichere Bestimmung und Differenzierung der Serokonversion in verschiedenen Krankheitsstadien (früh, spät, Konvaleszent).

1. Seow, J., *et al.* Longitudinal evaluation and decline of antibody responses in SARS-CoV-2 infection. *medRxiv*, 2020.2007.2009.20148429 (2020).

Der IMV in-house Test ABCORA 2.0

Aufgrund der stark unterschiedlichen Antikörperreaktivitäten zu verschiedenen Zeitpunkten nach der SARS-CoV-2 Infektion, werden Serologietestverfahren benötigt, die eine Differenzierung der Antikörperantwort ermöglichen. Das Institut für Medizinische Virologie hat zur Differenzierung der Antikörperantwort einen eigenen SARS-CoV-2 Antikörpertest (**ABCORA**) entwickelt. Der Test wurde über die letzten Monate laufend weiter entwickelt. Die nachfolgende Beschreibung bezieht sich auf die Version 2.0 des ABCORA Tests, die seit 20.7.2020 in der IMV Diagnostik für die Qualitative SARS-CoV-2 Serologie Differenzierung eingesetzt wird.

Einsatzgebiet des ABCORA 2.0 Test

- Der ABCORA 2.0 Test beruht auf einer parallelen Bestimmung von IgM, IgG und IgA gegen vier SARS-CoV-2 Antigene: Spike Proteine (RBD, S1, S2) und Nukleoprotein (N)
- Der ABCORA 2.0 bietet durch die parallele Erfassung von drei Antikörperklassen und vier Antigenen (insgesamt 12 Einzelwerte) eine breit gestützte und sichere Erfassung der Immunantwort.
- **Der ABCORA 2.0 ermöglicht dadurch ohne Verlaufsserologie eine direkte Information zum Gesamtstatus der Serokonversion** (früh, spät, Konvaleszent).

Testprinzip des ABCORA 2.0 Test

- Im ABCORA 2.0 Test wird mittels Luminex Technologie die Bindung von Plasmaantikörpern an bead-immobilisierte Antigene gemessen. Gebundene Antikörper werden mittels fluoreszierender Detektions-Antikörper für IgG/A/M detektiert (Messwert mean fluorescence intensity (MFI)).
- Parallel zu den Testproben werden Negativ- und Positivkontrollen gemessen.
- Für jede der 12 Antigen/Antikörpersubtyp-Kombinationen im ABCORA Test wurden spezifische cut-off Werte anhand von Messwerten einer Kohorte von präpandemischen Plasmen gesunder Donoren (N=251) ermittelt.

- **Qualitative Auswertung über Signal Over Cut-off Werte (SOC):** Die im Befund rapportierten SOC Werte beziehen sich auf den Antigen-spezifischen cut-off. Sie erlauben eine qualitative Bewertung der Antikörperantwort.
- **Quantitative Auswertung:** ein Verfahren zur quantitativen Auswertung für S1 IgG und RBD IgG ist in Vorbereitung.

Befund SARS-CoV-2 Antikörper Differenzierung (ABCORA)

Einzelwerte spezifische IgG, IgA, IgM für N, RBD, S1, S2

- Die 12 Einzelwerte (SOC) der IgG, IgA, IgM Reaktivität der vier SARS-CoV-2 Antigene (N, RBD, S1, S2) werden im Befund ausgewiesen und positive (>1 SOC) und negative (< 1 SOC) Reaktivitäten indiziert.
- Für IgG N, RBD und S1 weist der Befund zusätzlich grenzwertige Resultate aus, da im Infektionsverlauf die IgG Antwort im An- und Absteigen in diesen grenzwertigen Bereich fallen kann.

ABCORA Auswertung Einzelwerte [SOC]	
positiv (N, RBD, S1, S2)	≥ 1
negativ (N, RBD, S1, S2)	< 1
grenzwertig (IgG N, IgG RBD, IgG S1)	$0.884 < N < 1$ $0.714 < RBD < 1$ $0.895 < S1 < 1$

Gesamtstatus der Serokonversion zu SARS-CoV-2

- Der Gesamtstatus der Serokonversion zu SARS-CoV-2 wird anhand der 12 Einzelmessungen ermittelt.
- Durch die gleichzeitige Ermittlung von 12 Parametern erlaubt der ABCORA Test eine breit gesicherte Abklärung des Serologiestatus.
- Für die Beurteilung des Gesamtstatus der Serokonversion gelten folgende Kriterien:
 - **Positiv**
 - Mindestens 2 Einzelmessungen testen positiv (2x positiv) oder
 - Mindestens 1 Einzelmessung testet positiv (1x positiv) und zusätzlich erreichen mindestens 2 Einzelmessungen den cut-off IgG grenzwertig ($\geq 2x$ IgG grenzwertig)
 - Der Gesamtstatus wird als **Positiv, fortgeschritten** (mit IgG Beteiligung) bzw. **Positiv, partiell** (ohne IgG Beteiligung) gewertet.
 - **Schwach reaktiv**
 - 1 Einzelmessung testet positiv für IgG (SOC>1 für N, RBD oder S1) (1x positiv) oder
 - Mindestens 1 Einzelmessung testet grenzwertig für IgG (SOC>Grenzwert für N, RBD oder S1) und zusätzlich erreicht 1 Einzelmessungen den cut-off positiv für IgA (N, RBD, S1, S2), IgM (N, RBD, S1, S2) oder IgG S2 (1x grenzwertig & 1x positiv)
 - Der Gesamtstatus wird als **Schwach reaktiv** gewertet.
 - Verlaufsserologie wird empfohlen.
 - **Indeterminat**
 - 1 Einzelmessung IgA (N, RBD, S1, S2), IgM (N, RBD, S1, S2) und IgG (S2) testet positiv.
 - Der Gesamtstatus wird als **Indeterminat** gewertet (mögliche frühe Serokonversion oder Kreuzreaktivität mit anderen Coronaviren).

- **Negativ**
 - Wenn keine Einzelmessung positiv testet (alle Einzelwerte negativ oder grenzwertig), wird der Gesamtstatus als **Negativ** gewertet.

Befundung der SARS-CoV-2 Serokonversion im ABCORA Test		
Kategorie Befund	Definition	Bemerkung
Positiv, fortgeschritten	SARS-CoV-2 Serokonversion mit IgG	
Positiv, partiell	SARS-CoV-2 Serokonversion ohne IgG, aber mit IgM und/oder IgA	
Schwach reaktiv	SARS-CoV-2 IgG Reaktivität mit einzeltem Antigen IgG SOC>1 für N, RBD oder S1 oder IgG grenzwertig für N, RBD oder S1 und zusätzlich Einzelwert > 1 SOC für IgA (N, RBD, S1, S2), IgM (N, RBD, S1, S2) oder IgG (S2)	Kann bei SARS-CoV-2 Konvaleszenten mit abnehmender Antikörperantwort auftreten oder bei insgesamt schwacher Serokonversion. Verlaufsserologie empfohlen.
Indeterminat	SARS-CoV-2 Reaktivität nur mit einem Einzelwert > 1 SOC für IgA (N, RBD, S1, S2), IgM (N, RBD, S1, S2) oder IgG (S2)	SARS-CoV-2 negative Patienten ohne COVID-19-Verdacht: Kreuzreaktivität mit anderen Coronaviren wahrscheinlich.
Indeterminat	SARS-CoV-2 Reaktivität nur mit einem Einzelwert > 1 SOC für IgA (N, RBD, S1, S2), IgM (N, RBD, S1, S2) oder IgG (S2)	Patienten mit unbekanntem SARS-CoV-2 PCR Status oder COVID-19-Verdacht: Es sind zusätzliche PCR Abklärungen und eine Verlaufsserologie empfohlen, um zwischen sehr früher SARS-CoV-2 Serokonversion und Kreuzreaktivität mit anderem Coronavirus zu differenzieren.
Negativ	Keine Reaktivität mit N, RBD, S1 oder S2	

Befundbemerkung zum ABCORA Test

Alle ABCORA Befunde werden mit folgender Bemerkung versehen:

„SARS-CoV-2 Serologie-Testresultate dienen der Erfassung eines klinischen Gesamtbildes bei vorliegender SARS-COV-2 Infektion. Sie geben keine Auskunft über die Immunität gegen eine neuerliche SARS-CoV-2 Infektion. Ausschluss einer SARS-CoV-2 Infektion kann nicht allein durch die Serologiebestimmung erfolgen.

Ab 20.07.2020 wird der Test mit der ABCORA Version 2.0 durchgeführt und ausgewertet. Indexwerte und Interpretation können gegenüber der Version 1 abweichen. Detaillierte Informationen zum ABCORA 2.0 Test finden Sie unter [IMV ABCORA Serologie](#).

Spezifität und Sensitivität der ABCORA SARS-CoV-2 Antikörper Differenzierung

Spezifität

- Um die Spezifität des ABCORA Tests zu ermitteln, wurde die Reaktivität von 251 präpandemischen Plasmen gesunder Donoren gemessen.

Sensitivität

- Um die Sensitivität des ABCORA Tests zu ermitteln, wurde die Reaktivität von 104 Plasmen SARS-CoV-2 positiver Patienten gemessen (bestätigt durch SARS-CoV-2 positive PCR). Die Plasmen stammen von verschiedenen Infektionsstadien, sowie von Konvaleszenten, um die verschiedenen Phasen der Antikörperbildung und -rückbildung abzudecken.
- Seronegativität kann in frühen Stadien der Infektion vorliegen, sowie bei Konvaleszenten, eine 100% Sensitivität im Vergleich zu SARS-CoV-2 PCR Positivität als Goldstandard ist daher nicht erreichbar.
- Die Sensitivität des ABCORA Test wurde auf der Testkohorte im direkten Vergleich mit drei kommerziellen Tests getestet (Abbott SARS-CoV-2 IgG N, Roche Elecsys Anti-SARS-CoV-2 Ig N, Euroimmun IgG S1). Der ABCORA Test und der Euroimmun IgG S1 Test geben positive, negative und grenzwertige Resultate an. Abbott und Roche geben nur positive und negative Werte an. Es wurden daher zwei separate Sensitivitätsanalysen durchgeführt, einmal basierend auf positiven Resultaten, einmal auf positiven und grenzwertigen Resultaten.
- Vier der 104 Plasmen testeten in keinem der kommerziellen Tests positiv. Wertet man diese Plasmen als bestätigt seronegativ, wäre die maximale erwartete Sensitivität in der Testkohorte 96.15%.

	Testkohorte (Plasma)	N	Wertung	ABCORA	Roche Elecsys	Abbott	Euroimmun
				IgG/A/M	Total Ig	IgG	IgG
				N, RBD, S1, S2	N	N	S1
Sensitivität	SARS-CoV-2, PCR positive, verschiedene Infektionsstadien	104	% Positive	93.27%	93.27%	87.50%	88.46%
			% Positive und Grenzwertige	95.19%			92.31%
Spezifität	Prä-pandemische, gesunde Donoren	251	% Negative (mit Grenzwertige als negativ gewertet)	99.60%			
			% Negative (mit Grenzwertige als positiv gewertet)	98.41%			