

Test auf Antikörper gegen COVID-19

Prof. Dr. Gerrit Borchard



Institut des Sciences Pharmaceutiques de Suisse Occidentale (ISPSO), Université de Genève, gerrit.borchard@unige.ch

Einleitung

Zur Bekämpfung der durch SARS-CoV-2 ausgelösten Pandemie und als Grundlage für strategische Entscheidungen ist das Wissen um den Prozentsatz der Bevölkerung, der bereits nach einer Infektion durch die Entwicklung von Antikörpern gegen das Virus immun ist, von grosser Bedeutung. Voraussetzungen für einen Test auf Anti-SARS-CoV-2-Antikörper sind deren schnelle Durchführung, die Verlässlichkeit der Ergebnisse, und natürlich dessen Kosten. Im Folgenden wird auf den immunologischen Hintergrund der Entwicklung von Antikörpern als eine Antwort auf eine Infektion, sowie auf die Details des von Roche kürzlich entwickelten Tests eingegangen.

Immunologie

Das angeborene Immunsystem ist die erste Verteidigung gegen Infektionen. Pathogene Strukturen der infektiösen Mikroorganismen – sog. **pathogen associated molecular patterns** (PAMPs) - werden von spezialisierten Immunrezeptoren (z. B. Toll-like Rezeptoren) erkannt. Sogenannte **Antigen-präsentierende Zellen/cells** (APC) wie dendritische Zellen und Makrophagen nehmen die Pathogene auf, degradieren diese und präsentieren anschliessend spezifische antigene Peptide mit Hilfe von MHC (**major histocompatibility complexes**) Proteinen auf ihrer Zelloberfläche. Nach Migration der APC in die Lymphknoten führt diese Präsentation antigener Peptide zur Aktivierung von T-Lymphozyten. Dies wiederum kann durch die Ausschüttung von Lymphokinen zur Aktivierung der zellulären (zytotoxische T-Lymphozyten) und humoralen Immunantwort führen. Letztere besteht aus der Entwicklung von B-Zellklonen, die für das präsentierte Antigen spezifische monoklonale Antikörper produzieren (Abbildung 1). Der Nachweis von Antikörpern gegen ein pathogenes Antigen ist daher der Nachweis, dass es zu einer Initiierung einer spezifischen Immunantwort gegen ein Pathogen gekommen ist.

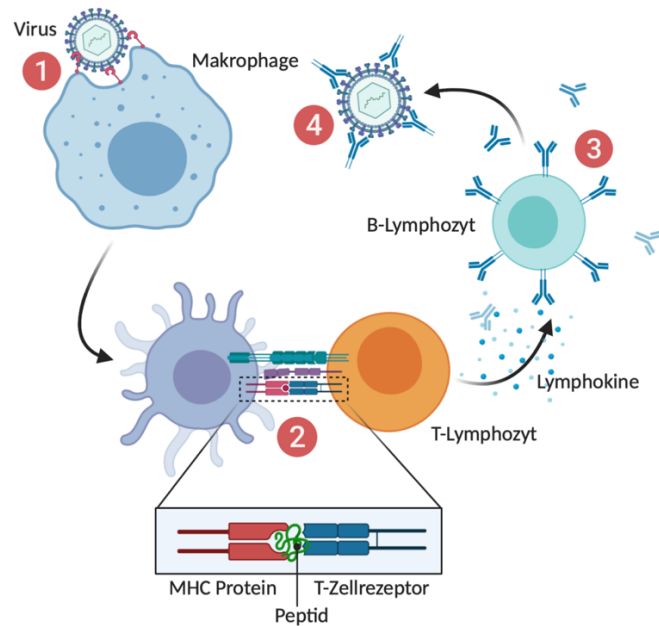


Abbildung 1: Humorale Immunabwehr. 1: Viren werden über ihre PAMPs erkannt und von Makrophagen aufgenommen; 2: Antigene Peptide werden über MHC Proteine an T-Lymphozyten präsentiert; 3: Antikörper-produzierende B-Zellen werden über Lymphokinausschüttung aktiviert; 4: Antigen-spezifische Antikörper binden an und neutralisieren das Virus im besten Fall.

Methodik des Antikörpernachweises

Wie oben beschrieben, ist ein Ergebnis der Immunantwort auf eine virale Infektion die Entwicklung von Antikörpern, die spezifisch an antigene Strukturen eines Virus binden. Im Falle von SARS-CoV-2 ist das **S**pike-Protein **S** (Abbildung 2) über die Bindung an den ACE-2-Rezeptor für die Infektion verantwortlich. Eine Immunreaktion auf das S Protein, welches als einziges auf der viralen Oberfläche exprimiert wird, resultiert in der Bildung virusneutralisierenden Antikörpern. Das **N**ucleocapsid-Protein **N** zeigt dagegen die höchsten Konzentrationen und wird daher in einigen Antikörpernachweisen verwendet (1).

Elecsys[®], ein von Roche entwickelter SARS-CoV-2 Antikörper-Nachweis wurde vor kurzem von der amerikanischen Arzneimittelbehörde FDA im Rahmen einer **Emergency Use Authorization** (EUA) für den amerikanischen Markt zugelassen (2). Die Zulassung gilt ebenso für alle Länder, welche die CE-Kennzeichnung (3) anerkennen. Zu diesen Ländern gehört auch die Schweiz, der Test darf daher auch hier angewendet werden und wird darum in diesem Zusammenhang besprochen.

Die Methodik des Nachweises beruht auf der Reaktion von Antikörpern, die sich im Serum von Patienten befinden, mit einem biotechnologisch hergestellten, rekombinanten Antigen des Virus. Im Falle von Elecsys[®] hat man sich für das Protein N von SARS-CoV-2 entschieden (Abbildung 2).

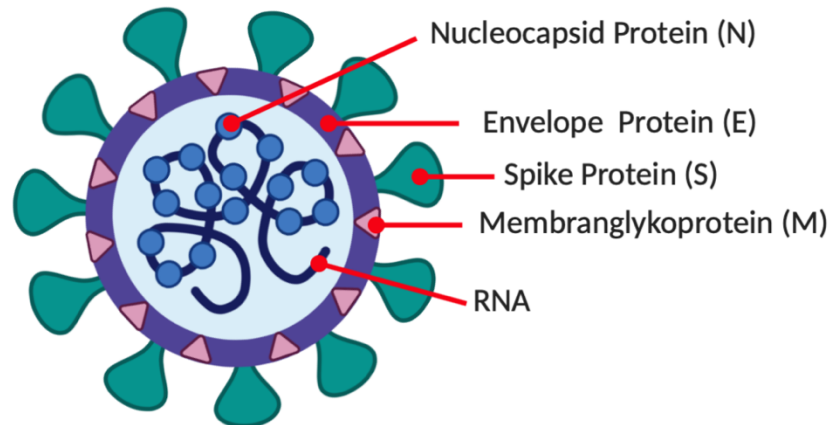


Abbildung 2: Struktur des SARS-CoV-2 Virus.

Der Nachweis der Antikörper erfolgt dann über ein Elektrochemolumineszenz-Immunassay (Abbildung 3). Dafür wird ein Teil des zugegebenen N-Proteins «biotinyliert», d. h. mit einem Biotin-Molekül verbunden; der andere Teil wird an einen Ruthenium-Komplex gebunden. Das biotinylierte N-Protein bindet dann zum einen an das Fab-Fragment des Antikörpers, und zum anderen über das Biotin an die mit Streptavidin überzogene Oberfläche von Mikropartikeln. Die Interaktion zwischen Biotin und Streptavidin ist die stärkste nicht-kovalente Bindung in der Natur und wird daher oft für verschiedene Assays verwendet. Anschliessend werden die Mikropartikel in das Messinstrument überführt und Elektrochemilumineszenz des Rutheniumkomplexes durch Anlegen einer Spannung ausgelöst (4).

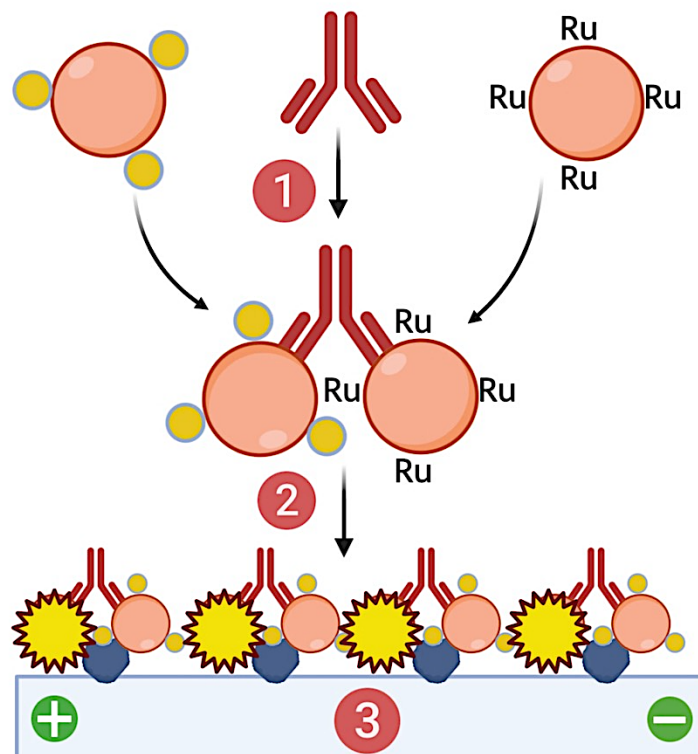


Abbildung 3: Antikörpernachweis über Elektrochemolumineszenz-Immunassay. 1: Zusatz von biotinylierten (links) und mit Ruthenium verbundenem rekombinanten N-Protein zum Patientenserum; 2: Bindung beider Proteinspezies an den Antikörper; 3: Bindung des Immunkomplexes an Streptavidin beschichtete Mikropartikel und Nachweis über elektrisch induzierte Chemolumineszenz. Mit freundlicher Genehmigung durch den Autor.

Testeigenschaften

Die Dauer des Tests wird mit 18 Minuten angegeben, was nicht die Gewinnung des Patientenserums beinhaltet (4). Die Verlässlichkeit des Testes (4) steigt anscheinend mit der Zeit, die zwischen der Diagnose einer Infektion mittels PCR (Polymerase Chain Reaction) und dem Test auf Antikörper vergangen ist (Tabelle 1).

Tabelle 1: Klinische Sensitivität von Elecsys® (4)

Tage nach PCR-Diagnose	Anzahl Proben	Sensitivität (95%-Konfidenzintervall)
0 – 6	116	65.5 % (56.1 – 74.1 %)
7 – 13	59	88.1 % (77.1 – 95.1 %)
≥14	29	100 % (88.1 – 100 %)

Fazit

Elecsys® beruht auf einer Technologie, die bereits für den Nachweis anderer Proteine (z. B. beta-Amyloid und Tau-Protein bei Alzheimer, hCG bei Krebs) und Infektionen (Chagas-Krankheit) verwendet wurde (5, 6, 7). Elecsys® wurde bereits 2018 als «*Breakthrough Device Designation*» für den Tau-Protein Nachweis bei Alzheimer von der FDA zugelassen (8). Die Bewährung des Testes in der Praxis muss abgewartet werden, allerdings stimmen erste Ergebnisse optimistisch. Ob man bei positivem Test allerdings von einer Immunität des Patienten gegen COVID-19 ausgehen kann, lässt sich noch nicht sagen, da der Test nicht die das Virus neutralisierende Antikörper gegen Protein S bestimmt.

Literatur

1. Petherick A. Developing antibody tests for SARS-CoV-2. *The Lancet* 2020;395:1101-2
2. <https://www.fda.gov/media/137602/download>, zugegriffen am 4. Juni 2020.
3. https://www.seco.admin.ch/seco/de/home/Aussenwirtschaftspolitik_Wirtschaftliche_Zusammenarbeit/Wirtschaftsbeziehungen/Technische_Handelsbarrieren/Mutual_Recognition_Agreement_MRA0/CE-Kennzeichnung.html, zugegriffen am 4. Juni 2020.
4. <https://diagnostics.roche.com/ch/de/products/params/elecsys-anti-sars-cov-2.html>, zugegriffen am 5. Juni 2020.
5. <https://www.roche.com/media/releases/med-cor-2018-07-20.htm>, zugegriffen am 5. Juni 2020.
6. Ferraro S, Trevisiol C, Gion M, Panteghini M. Human chorionic gonadotropin assays for testicular tumors: closing the gap between clinical and laboratory practice. *Clin Chem*. 2018;64:270–8.
7. Delmans Flores-Chavez M, Sambri V, Schottstedt V, Higuera-Escalante HA, Roessler D, Chaves M, Laengin T, Martinez A, Fleischer B. Evaluation of the Elecsys Chagas assay for detection of *Trypanosoma cruzi*-specific antibodies in a multicenter study in Europe and Latin America. *J Clin Microbiol* 2018;56:e01446-17.
8. <https://diagnostics.roche.com/global/en/products/params/elecsys-ttau.html>, zugegriffen am 5. Juni 2020.