



Für den Inhalt verantwortlich:
Prof. Dr. J. Aberle, Prof. Dr. St. Aberle, Prof. Dr. H. Holzmann,
Prof. Dr. E. Puchhammer, Doz. Dr. M. Redlberger-Fritz,
Prof. Dr. L. Weseslindtner
Redaktion:
Dr. Eva Geringer
Zentrum f. Virologie d. Med. Universität Wien
1090 Wien, Kinderspitalgasse 15
Tel. +43 1 40160-65500 Fax: +43 1 40160-965599
e-mail: virologie@meduniwien.ac.at
homepage: www.virologie.meduniwien.ac.at

Antikörpertests zur Diagnose von SARS-CoV-2 Infektionen: ein Update

Lukas Weseslindtner

Das neue pandemische Coronavirus SARS-CoV-2 (Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2) wurde bereits wenige Wochen nach Auftreten der ersten Fälle in Wuhan mit molekularen Methoden identifiziert. Durch die rasche Veröffentlichung der Gensequenz wurden PCR-basierte Nachweisverfahren in der Folge weltweit zum Eckpfeiler der klinisch-virologischen Diagnostik dieser schwerwiegenden Virusinfektion.

Kurz darauf wurden Antikörpertests entwickelt und breitflächig verfügbar. Durch die unterschiedlichen Einsatzmöglichkeiten und Fragestellungen, die mit diesen Tests beantwortet werden können, durch die Variabilität der serologischen Methoden (z.B. im Hinblick auf die in den Tests verwendeten Antigene), aber vor allem durch die Flut der auf dem Markt aufgetauchten kommerziellen (Schnell-)Tests, wurde die Lage zunehmend unübersichtlich. Deshalb wollen wir ein Update über den aktuellen Stand der Einsatzmöglichkeiten und der Aussagekraft verschiedener Antikörpertests für die SARS-CoV-2-Diagnostik geben.

Wie bei anderen Virusinfektionen können Antikörpertests bei SARS-CoV-2-Infektionen zur Beantwortung von zwei wichtigen, aber unterschiedlichen Fragenstellungen herangezogen werden: 1. Antikörpertests können PCR-basierte Methoden bei der Diagnose von akuten SARS-CoV-2-Infektionen unterstützen (nachweislich erhöht sich die Sicherheit der Diagnostik, wenn

direkte und indirekte Verfahren kombiniert werden). 2. Mit Antikörpertests kann die Frage beantwortet werden, welche Personen eine SARS-CoV-2-Infektion bereits durchgemacht haben, wobei retrospektiv auch jene Menschen erfasst werden, bei denen die Infektion asymptomatisch geblieben ist und bei denen daher in der Regel kein Nasen-Rachenabstrich für die PCR-Untersuchung durchgeführt wurde. Bei beiden Einsatzmöglichkeiten muss jedoch auf wichtige Aspekte hingewiesen werden.

Während bereits vielfach gezeigt werden konnte, dass virusspezifische Nukleinsäure bereits sehr früh nach der Infektion (typischerweise schon vor Beginn einer etwaigen klinischen Symptomatik) im Rachen von Infizierten nachgewiesen werden kann, braucht es typischerweise mehrere Tage, bis Antikörper in detektierbaren Konzentrationen gebildet werden. So geht man davon aus, dass mit den derzeit verfügbaren Tests Antikörper frühestens 5 bis 7 Tage nach Symptombeginn nachgewiesen werden können. Aufgrund dieser zeitlichen Verzögerung sind Antikörpertests in der Frühphase der Infektion also kein Ersatz für die PCR-basierte Diagnostik.

Man könnte sich nun fragen, welchen Sinn die Antikörperdiagnostik in der akuten Phase der SARS-CoV-2-Infektion dann überhaupt hat. Ein zusätzlicher Informationsgewinn basiert auf dem Immunglobulinklassenswitch in der sog. Keimzentrumsreaktion, durch den Antikörper unterschiedlicher Immunglobulinklassen in zeitlicher Abfolge gebildet werden. Aktivierte B-Zellen, die anfangs virusspezifische IgM-Antikörper bilden, ändern nämlich, sofern sie durch virusspezifische T-Zellen zusätzlich stimuliert werden, durch eine Transkriptionsänderung die konstante Region, während die variable Region des Antikörpers (die virusspezifische Bindungsstelle) ident bleibt.

Wie bei anderen Infektionen werden bei SARS-CoV-2 Infektionen zuerst spezifische IgM-Antikörper gebildet (etwa ab dem 5. Tag nach Symptombeginn), kurze Zeit später folgen IgA (etwa ab dem 7. Tag). Das sind sekretorische Antikörper, die in diversen Körperflüssigkeiten (Schleimhautsekrete, Muttermilch, Tränenflüssigkeit, Speichel u.a.), aber auch im Blut vorkommen.

Da die SARS-CoV-2-Infektion in erster Linie die Schleimhaut des Respirationstrakts betrifft, erfahren IgA also gerade ein „Revival“ in der Virusdiagnostik (sie werden bereits z.B. für Diagnose und Staging des EBV-induzierten Nasopharyngealkarzinoms verwendet).

Nach dem Anstieg von spezifischen IgA-Antikörpern kommt es zur Bildung von IgG, die mit zunehmend ansteigender Konzentration (ca. ab dem 10. Tag nach Symptombeginn) nachgewiesen werden können. Diese Kinetik nutzt man, um durch eine quantitative Bestimmung der Antikörperimmunglobulinklassen den Infektionszeitpunkt ungefähr zu bestimmen. Der klinische Nutzen besteht darin, das Risiko von Komplikationen, die sich erst im Verlauf der Infektion bilden (so kommt es bei vielen Infizierten erst am Ende der ersten Krankheitswoche zur klinischen Verschlechterung), einzuschätzen. Außerdem kann die Bestimmung des Infektionsstadiums für die Rückverfolgung von Infektionsketten („Contact Tracing“) wichtig sein.

Die wichtigste Einsatzmöglichkeit von Antikörpertests in der akuten Phase der SARS-CoV-2-Infektion geht aber auf die Beobachtung zurück, dass es bei symptomatischen, protrahierten CoVID19 (coronavirus disease 2019) -Verläufen etwa am Ende der 1. Krankheitswoche zu einer Abnahme der Viruskonzentration im oberen Respirationstrakt kommen kann, während das Virus in den tiefen Atemwegen repliziert (und das klinische Vollbild einer Pneumonie verursacht). Im Trachealsekret würde der Nachweis von Virusnukleinsäure in so einem Fall mit hoher Wahrscheinlichkeit gelingen, wird die PCR aber nur aus einem Rachenabstrich durchgeführt, kann ihre Aussagekraft verringert sein. Mehrere Studien und Fallberichte zeigen, dass die PCR aus Rachenabstrichen bei fortgeschrittenen CoVID19-Fällen wiederholt negative Ergebnisse liefern kann. Antikörpertests können dann die korrekte Diagnose liefern (da sich Patienten in diesen Fällen typischerweise in späteren Infektionsstadien befinden).

Das zweite große Einsatzgebiet von Antikörpertests ist die Beantwortung der Fragestellung, ob eine Person die SARS-CoV-2-Infektion bereits durchgemacht hat. Antikörpertests werden diesbezüglich im Rahmen von

Seroprävalenzstudien eingesetzt, um die Geschwindigkeit, mit der sich das Virus während der Pandemie ausbreitet, zu beurteilen. Schwieriger ist die Frage zu beantworten, ob Antikörpertests eine Aussage über eine wirksame und anhaltende Immunität gegen SARS-CoV-2 zulassen. Dies liegt daran, dass nach derzeitigem Wissenstand noch nicht ganz klar ist, welche immunologischen Faktoren in welchem Ausmaß Immunität gegen SARS-CoV-2 bewirken. So spielt dabei sicher nicht nur die humorale, sondern auch die zelluläre Immunantwort (z.B. Gedächtnis T-Zellen) eine große Rolle.

Der Einfluss der Antikörper-vermittelten Immunität auf den Schutz gegen eine Reinfektion ist zum Beispiel auch von der jeweiligen Pathogenese einer Virusinfektion abhängig. Während Konzentrationen von neutralisierenden Antikörpern im Blut zwar die hämatogene Dissemination und Infektion neuer Zellen in anderen Organen effizient verhindern, müssen sie nicht zwangsläufig mit der Stärke der Reaktion von T-Zellen im Gewebe des Respirationstraktes korrelieren, durch die virusinfizierte Zellen im Rahmen einer Gedächtnisreaktion eliminiert werden. Um die Frage zu beantworten, ob nachweisbare Antikörper als Korrelat für sichere und anhaltende Immunität ausreichen, müssen weitere Studienergebnisse abgewartet werden.

Auch für die umfassende Evaluierung der inzwischen zahlreichen kommerziell verfügbaren Antikörpertests braucht es mehrere, unabhängige Studien. Dies gilt besonders für die große Zahl der am Markt aufgetauchten Schnelltests. Zusammen mit ELISA- (Enzyme-linked Immunosorbent Assay) und CLIA- (Chemilumineszenz Immunoassay) Tests basiert der Antikörpernachweis mit Schnelltests auf der Bindung der in der Probe vermeintlich enthaltenen Antikörper an die im Test fixierten Virusbestandteile (Antigene). Messbar werden die gebundenen Antikörper in diesen Tests dann durch eine chemische Farbreaktion. Durch die Zugabe von Detektions-antikörpern, die das Konjugat für die Farbreaktion tragen und gegen unterschiedliche Immunglobulinklassen gerichtet sind (z.B. Anti-IgA Antikörper), eignen sich ELISA- und CLIA-Tests hervorragend zur oben beschriebenen quantitativen Differenzierung von IgM, IgA und IgG.

Wichtig ist hierbei aber, dass kommerzielle Tests verschiedener Hersteller zum Teil unterschiedliche Virusproteine als Antigene verwenden. Da die Antikörpermenge zwischen SARS-CoV-2-infizierten Individuen nicht nur absolut, sondern auch im Hinblick auf das Spektrum der Virusbestandteile, gegen die diese Antikörper gerichtet sind, variieren könnte (und es kommt hier womöglich eine Variabilität im zeitlichen Verlauf der Infektion hinzu), wird verständlich, dass dies zu Schwankungen in der Testsensitivität und damit von Testergebnissen in unterschiedlichen Patientenkohorten führen kann.

Unterschiedliche Antigene in den Tests bewirken auch Unterschiede im Hinblick auf unspezifische Reaktionen oder Kreuzreaktionen. So ist es möglich, dass Antikörper, die gar nicht gegen SARS-CoV-2 gerichtet sind, durch eine Ähnlichkeit an ihrer Bindungsstelle an SARS-CoV-2 spezifische Antigene in der Testreaktion binden und in der Folge eine falsch-positive Farbreaktion auslösen. Ein Mensch, der noch keine SARS-CoV-2 Infektion durchgemacht hat, erhält dann ein falsches Ergebnis, das suggeriert, er hätte die Infektion bereits durchgemacht. Im schlimmsten Fall führt das zur irrigen Annahme, es bestünde bereits Immunität, was bei Missachtung von Schutzmaßnahmen schwere persönliche (aber auch gesundheitspolitische) Folgen haben könnte.

Inzwischen erscheinen zunehmend wissenschaftliche Publikationen, die die Spezifität von kommerziell verfügbaren Labortests (ELISA- und CLIA-Tests) untersuchen. Diese ersten Ergebnisse zeigen zwar, dass die Spezifität von den meisten Tests hoch ist (in der Regel >95%), es muss aber betont werden, dass möglichst viele, unterschiedliche und gut charakterisierte Kollektive von Nicht-SARS-CoV-2 infizierten Kontrollpersonen mit diesen Tests untersucht werden müssen, um die Spezifität eines Tests hinreichend zu evaluieren (unspezifische Antikörperreaktionen können z.B. bei Infektionen mit anderen Erregern oder Autoimmunkrankheiten häufiger vorkommen). Bei der Evaluierung der Sensitivität ist wichtig, dass die Tests mit einer klaren Fragestellung (Einsatz zur Diagnose von akut oder zurückliegenden Infektionen) in möglichst gut beschriebenen Patientenkohorten (hospitalisierte Patienten vs. Menschen mit

milden Verläufen, in Korrelation zum Intervall seit Symptombeginn) evaluiert werden.

Wichtig ist aber, dass inzwischen Neutralisationstests als Referenzmethode für die Messung von SARS-CoV-2-spezifischen Antikörpern zur Verfügung stehen. Mit diesen Tests kann überprüft werden, ob die in einer Probe vermeintlich vorhandenen Antikörper tatsächlich zur Hemmung der Virusvermehrung führen. Die Messung von neutralisierenden Antikörpern hat insofern eine höhere Aussagekraft als reine Bindungstests (z.B. ELISAs), da die Hemmung der Virusreplikation in einer Zellkultur nur dann eintritt, wenn Antikörper exakt an jenen Virusstrukturen binden, die den Eintritt des Virus in die Zelle bewirken. Da es sich hierbei um ganz bestimmte, wesentlich spezifischere Stellen des viralen „Spikeproteins“ handelt, geht man davon aus, dass es nur dann zur Antikörper-vermittelten Hemmung der Virusreplikation kommt, wenn ein Mensch die SARS-CoV-2-Infektion tatsächlich durchgemacht hat. Nach derzeitigem Wissensstand scheint sicher, dass eine zurückliegende Infektion mit anderen Coronaviren in Bezug auf Antikörper zwar Kreuzreaktivität in ELISA- oder CLIA-Tests verursachen kann, aber nicht zur Kreuzprotektivität, also zum Schutz gegen SARS-CoV-2 führt.

In Anbetracht der Tatsache, dass das Virus erst vor wenigen Monaten erstmals beschrieben wurde, weisen erste Evaluierungsstudien auf eine gute Aussagekraft vieler kommerziell verfügbarer Labortests (ELISA- und CLIA-Tests) hin. Positive (oder unklare) Ergebnisse mit diesen Tests sollten dennoch (zum Ausschluss von falsch-positiven Reaktionen) mit einem Neutralisationstest verifiziert werden. Aufgrund der noch spärlichen Daten für Schnelltests wird von einem privaten Gebrauch derzeit abgeraten.

Am Zentrum für Virologie steht ein Neutralisationstest als Routineparameter bereits zur Verfügung.