



SARS-CoV-2-NeutralISA



- **Surrogat-Virusneutralisationstest (sVNT) zur Bestimmung neutralisierender Antikörper, die die Bindung von SARS-CoV-2-S1-/RBD an ACE2-Rezeptoren inhibieren**
- **Unterstützt die Bewertung der individuellen Immunantwort nach einer SARS-CoV-2-Infektion oder Impfung mit S1-/RBD-basierten Impfstoffen**
- **Etablierte ELISA-Methode – automatisierbar, für die Laborroutine geeignet, keine BSL-3-Umgebung erforderlich**

Technische Daten

Antigen	Festphase: S1-/RBD-Domäne des Spike-Proteins von SARS-CoV-2; Flüssigphase: humanes Rezeptorprotein ACE2 (<i>Angiotensin-converting enzyme 2</i>); jeweils in humanen Zellen rekombinant dargestellt
Testauswertung	Semiquantitativ, Berechnung der Inhibition in Prozent (%IH): $\%IH = 100\% - (\text{Extinktion der Patientenprobe} \times 100\% / \text{Extinktion des Blanks (Mittelwert)})$ Empfohlener oberer Grenzwert des Referenzbereichs (Cut-off): 25% IH
Befundinterpretation	EUROIMMUN schlägt folgende Befundinterpretation vor: %IH < 20: negativ %IH ≥ 20 bis < 35: grenzwertig %IH ≥ 35: positiv
Probenverdünnung	Serum oder Plasma, 1:5 im vorbereiteten Probenpuffer
Reagenzien	Enzymkonjugat und ACE2-Verdünnungspuffer sind chargenübergreifend für den SARS-CoV-2-NeutralISA einsetzbar; Waschpuffer, Chromogen-/Substrat- und Stopplösung sind chargen- und produktübergreifend für EUROIMMUN-ELISA einsetzbar
Testablauf	60 min (37°C) / 30 min (RT) / 15 min (RT) (Proben-/Konjugat-/Substratinkubation), vollautomatisierbar
Messung	450 nm, Referenzwellenlänge zwischen 620 nm und 650 nm
Packungsformat	96 vereinzelbare Reagenzgefäße und alle erforderlichen Reagenzien inklusive zweier Kontrollen
Bestell-Nr.	EI 2606-9601-4

Klinische Bedeutung

SARS-CoV-2 (*Severe Acute Respiratory Syndrome-Coronavirus 2*) gehört zur Familie der Coronaviren, Gattung *Betacoronavirus*, und ist ursächlicher Erreger von COVID-19 (*Coronavirus Disease 2019*). SARS-CoV-2 wird hauptsächlich durch respiratorische Aufnahme virushaltiger Tröpfchen und Aerosole übertragen, die beim Sprechen, Atmen, Husten und Niesen entstehen. Die Inkubationszeit des SARS-CoV-2 beträgt 3 bis 7, maximal 14 Tage. Die Infektion kann sowohl asymptomatisch verlaufen als auch durch Symptome einer fieberhaften Erkrankung mit unregelmäßigen Lungeninfiltraten äußern. Ein Teil der Patienten, vor allem alte und chronisch kranke Menschen, entwickelt ein akutes Atemnotsyndrom (*Acute Respiratory Distress Syndrome, ARDS*).

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 (Naso- und Oropharynxabstriche) 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. Die Spike(S)- und Nukleokapsid(N)-Proteine von SARS-CoV-2 sind hochimmunogen. Mithilfe der Rezeptorbindungsdomäne (RBD) des Spike-Proteins bindet das Virus an den ACE2-Rezeptor der Wirtszellen und kann diese infizieren. Die RBD ist das Ziel von über 90% der neutralisierenden Antikörper bei COVID-19-Patienten. Neutralisierende Antikörper werden mit einer protektiven Immunität gegen eine Zweitinfektion mit SARS-CoV-2 in Verbindung gebracht. Das Spike-Protein ist daher das Zielprotein fast aller COVID-19-Impfstoffe. Etwa 90% der SARS-CoV-2-Infizierten entwickeln bis zum Tag 10 nach Symptombeginn spezifische Antikörper. IgG, IgA und IgM gegen das Spike-Protein erscheinen häufig gleichzeitig. 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).



Testprinzip

Die Testpackung enthält Mikrotiterstreifen zu je 8 vereinzelbaren Reagenzgefäßen, die mit rekombinant dargestellter S1-/RBD-Domäne des Spike-Proteins von SARS-CoV-2 beschichtet sind. Im ersten Analyseschritt werden die Kontrollen und Proben mit einem Probenpuffer, der lösliches, biotinyliertes ACE2 enthält, verdünnt und in den Reagenzgefäßen inkubiert. Sind neutralisierende Antikörper in der Probe enthalten, so konkurrieren diese mit dem ACE2-Rezeptor um die Bindungsstellen der SARS-CoV-2-S1-/RBD-Proteine. Nicht gebundenes ACE2 wird durch einen anschließenden Waschschriff entfernt. Zur Detektion des gebundenen ACE2 wird in einem zweiten Schritt mit Peroxidase-markiertem Streptavidin inkubiert, welches im dritten Schritt eine Farbreaktion katalysiert. Die Intensität der gebildeten Farbe ist dabei umgekehrt proportional zur Konzentration der neutralisierenden Antikörper in der Probe.

Diagnostische Sensitivität

Zur Bestimmung der diagnostischen Sensitivität wurden 124 Proben von rekonvaleszenten COVID-19-Patienten, die ab 15 Tagen nach Symptombeginn entnommen wurden und positiv im Neutralisationstest (PRNT₅₀ bzw. NT₅₀) reagierten, mit dem EUROIMMUN-SARS-CoV-2-NeutraLISA untersucht. Dieser erzielte eine Sensitivität von 95,9%.

Tage nach Symptombeginn	EUROIMMUN-SARS-CoV-2-NeutraLISA		
	positiv	negativ	Sensitivität*
≥ 15	118	5	95,9%

* Grenzwertige Ergebnisse (n=1) ausgenommen

Spezifität

Zur Bewertung der Spezifität des SARS-CoV-2-NeutraLISA wurden 159 Proben analysiert, die positiv für Antikörper gegen andere humanpathogene Coronaviren, andere Erreger oder für Rheumafaktoren waren oder ein negatives Ergebnis im Neutralisationstest (NT₅₀) erzielten. Zusätzlich wurden 600 Proben von Blutspendern und Kindern, die vor dem Auftreten von SARS-CoV-2 (vor Januar 2020) gewonnen wurden, untersucht. Daraus ergab sich eine Spezifität des SARS-CoV-2-NeutraLISA von 99,7%.

n	EUROIMMUN-SARS-CoV-2-NeutraLISA		
	positiv	negativ	Spezifität*
759	2	755	99,7%

* Grenzwertige Ergebnisse (n=2) ausgenommen

Methodenvergleich

74 Proben von Patienten mit zurückliegender bestätigter SARS-CoV-2-Infektion wurden mit dem EUROIMMUN-SARS-CoV-2-NeutraLISA und einem Plaque-Reduktions-Neutralisationstest (PRNT₅₀ nach Wölfel et al. 2020) untersucht. Die Übereinstimmung der qualitativen Ergebnisse beider Tests lag bei 98,6%.

SARS-CoV-2-PRNT ₅₀	n=74	EUROIMMUN-SARS-CoV-2-NeutraLISA	
		positiv	negativ
		positiv	71
negativ	1	2	

52 Proben von Patienten mit zurückliegender bestätigter SARS-CoV-2-Infektion wurden mit dem SARS-CoV-2-NeutraLISA von EUROIMMUN und einem anderen kommerziell erhältlichen Surrogat-Neutralisationstest (NT) untersucht. Die Übereinstimmung der qualitativen Ergebnisse beider Tests lag bei 96,2%.

Kommerzieller Surrogat-NT	n=52	EUROIMMUN-SARS-CoV-2-NeutraLISA	
		positiv	negativ
		positiv	50
negativ	0	0	

* Für diese Proben standen weder Informationen zur klinischen Vorcharakterisierung zur Verfügung noch lagen Folgeproben vor. Beide Proben reagierten negativ im PRNT₅₀.

111 Proben von Patienten mit zurückliegender bestätigter SARS-CoV-2-Infektion wurden mit dem SARS-CoV-2-NeutraLISA und dem Anti-SARS-CoV-2-Quantivac-ELISA (IgG) von EUROIMMUN untersucht. Die Übereinstimmung der qualitativen Ergebnisse beider Tests lag bei 99,1%. Grenzwertige Ergebnisse (n=2) wurden bei der Berechnung nicht berücksichtigt.

EUROIMMUN-Anti-SARS-CoV-2-Quantivac-ELISA (IgG)	n=111	EUROIMMUN-SARS-CoV-2-NeutraLISA		
		positiv	grenzwertig	negativ
		positiv	107	2
negativ	0	0	1	

Kreuzreaktivität

Es wurden 55 Proben, die positiv für Antikörper gegen mindestens ein humanpathogenes Coronavirus (HCoV HKU1; HCoV OC43; HCoV NL63; HCoV 229-E) waren, mit dem SARS-CoV-2-NeutraLISA untersucht. Es konnten keine Kreuzreaktionen mit Antikörpern gegen diese endemischen HCoV in den Untersuchungen beobachtet werden.