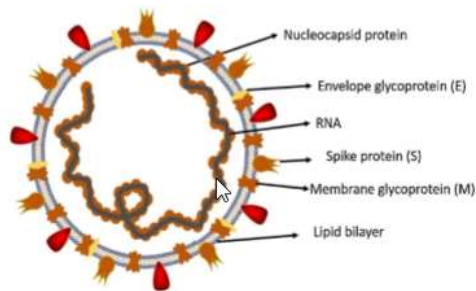


Nieuwsbrief: Serologie SARS-CoV-2

Eind 2019 werd in China bij een cluster van patiënten een atypische pneumonie van ongekende etiologie gemeld. De veroorzaker werd geïdentificeerd als een nieuw betacoronavirus, het “*severe acute respiratory syndrome-coronavirus 2*” (SARS-CoV-2). Het virus verspreidde zich snel wereldwijd, en veroorzaakt momenteel een pandemie. De snelle sequentiebepaling van het virale genoom heeft geleid tot de ontwikkeling van nucleïnezuur gebaseerde testen voor de diagnose van acute SARS-CoV-2 infecties. De ontwikkeling van serologische assays, die de antilichaamrespons geïnduceerd door een SARS-CoV-2 infectie bepalen, duurde langer (1).



E-proteïne: Enveloppe - gebruikt om nieuwe virussen samen te stellen en vrij te maken uit gastheercellen.

S-proteïne: Spike-glycoproteïne - vasthechten van virus aan gastheercel, waarna binnendringen van virus plaatsvindt.

M-proteïne : Membraan - dit structureel proteïne kan verschillende vormen hebben om de binding aan het nucleocapside te bevorderen.

Virale binding aan de cellen vindt plaats via de interactie van het S-eiwit van SARS-CoV-2, via zijn receptor bindend domein (RBD), met angiotensine-converterend enzym 2 (ACE2). ACE2 komt tot expressie op het oppervlak van long alveolaire epitheelcellen en enterocyten van de dunne darm. ACE2 is ook aanwezig in arteriële en veneuze endotheelcellen en in gladde spiercellen van meerdere organen (2).

In de serologietesten die op de markt zijn, wordt er gebruik gemaakt van recombinante antigenen tegen het S-proteïne, RBD of het virale nucleoproteïne. Het HAS (Haute Autorité de Sante; Frankrijk) vereist van iedere serologietest een gevoeligheid van 90-95% en specificiteit van 98% (3).

Er blijven tot op vandaag veel vragen omtrent de SARS-CoV-2 serologie onbeantwoord. De immunrespons tegen een virus gebeurt namelijk zowel via de cellulaire afweer (via de T-lymfocyten), als via de humorale afweer (productie van antistoffen door de B-lymfocyten). Het is onduidelijk in welke mate de antistofrespons belangrijk is voor het opbouwen van de immuniteit. Mogelijks maken niet alle patiënten die de infectie doormaken effectief antistoffen aan. Of deze patiënten daarom minder beschermd zijn tegen een herinfectie is vooralsnog onduidelijk. Omgekeerd weet men ook nog niet of patiënten met aanwezigheid met antistoffen effectief beschermd zijn tegen een herinfectie. Verder weten we ook niet of de ernst van symptomen gecorreleerd kan worden met de waarde van de titer en hoelang de antilichamen aanwezig blijven. Ook de kinetiek van de antilichamen bij vnl. asymptomatische patiënten blijft ongekend. De vraag blijft of de aanwezigheid van antilichamen wil zeggen dat de patiënt niet meer besmettelijk is (1,4).

Algemeen kan aangenomen worden dat SARS-CoV-2 serologie mogelijks nut kan hebben in volgende gevallen (1,4) :

- 1) Als complementaire test bij verdachte gevallen met negatief PCR resultaat.
- 2) Om asymptomatische patiënten, die in nauw contact waren met een positieve patiënt, op te volgen.
- 3) Voor epidemiologische doeleinden.

Validatiegegevens testen CRI

Dankzij de samenwerking met verschillende labo's van de Cerba groep, kon het labo CRI begin mei starten met het valideren van drie mogelijks performante serologische testkits.

Wij mochten dankzij de medewerking van verschillende artsen verschillende stalen ontvangen van PCR positieve patiënten, al of niet met symptomen. In onderstaande tabellen, kan u de resultaten terugvinden van de validaties.

		TEST A			TEST B			TEST C		
		<7dagen	8-21dagen	>21dagen	<7dagen	8-21dagen	>21dagen	<7dagen	8-21dagen	>21dagen
PCR +	Pos/Twijfel	2	7	35	2	7	30	2	7	35
	Neg	2	2	0	3	2	5	3	2	0
PCR + Sympt +	Pos/Twijfel	1	4	21	1	4	18	1	4	21
	Neg	1	0	0	2	0	3	2	0	0
Sensitiviteit bij PCR +		50	78	100	40	78	86	40	78	100
Sensitiviteit bij PCR en sympt +		50	100	100	33	100	86	33	100	100
Specificiteit		100			100			100		

Zoals te zien in de bovenstaande tabel vinden we bij alle 3 de testkits een specificiteit van 100% terug. De sensitiviteit blijkt beter bij test A en test C. Het labo CRI besloot om te starten met test C.

Dankzij de accuraat ingevulde aanvraagformulieren, kunnen we na het uitvoeren van deze validatie en de routinestalen (van 10 dagen), enkele belangrijke conclusies trekken over de serologietest:

- Niet alle PCR positieve patiënten maken antilichamen aan. Dit werd vaker gezien bij asymptomatische patiënten. In de literatuur wordt er beschreven dat er dringend onderzoek moet worden gedaan naar het al of niet detecteren van antilichamen in patiënten met milde symptomen en asymptomatische patiënten (2).
- Zoals wel voor meerdere serologietesten het geval is, vermoeden we dat er ook voor deze test een "grijze zone" zal kunnen bepaald worden. De resultaten tonen inderdaad PCR positieve patiënten die "zwak verhoogde waarden" hebben, waarbij de waarde onder de cutoff ligt van 1.4. Het aantal resultaten van CRI is momenteel nog te klein om deze grijze zone te definiëren. Verschillende labo's van de Cerba groep legden de grijze zone vast tussen 0.8 en 1.4.
- Uit data van het referentiecentrum UZ Leuven, die met dezelfde serologische test werkt als het labo CRI, blijkt dat 100% van de patiënten na 21 dagen IgG's hebben aangemaakt. In deze studie ging het weliswaar over zwaar zieke patiënten. Het UZ Leuven vond in hun studie een specificiteit van 99.1% terug. Het UZ Gent rapporteert een gevoeligheid van 87.65%, weliswaar 15 dagen na symptomen en een specificiteit van 100%. Wij raden daarom aan om de serologietest pas te bepalen na > 21 dagen na de start van de symptomen.

Terugbetaling (cfr RIZIV omzendbrief (5))

Er is een nieuw KB in voorbereiding dat de doelgroepen en vergoedingsvoorwaarden bepaalt voor deze verstrekking en de terugbetaling door het RIZIV mogelijk zal maken.

Enkele belangrijke opmerkingen vanuit het RIZIV, zoals ook al vermeld hierboven

De serologie kan in een beperkt aantal klinische situaties een aanvulling zijn op de moleculaire tests in de diagnostiek, maar er moet rekening gehouden worden met de volgende wetenschappelijke elementen:

- Het is niet bekend welke concentraties nodig zijn om bescherming te bieden tegen het virus en hoelang deze antistoffen beschermend werken.
- Er is dus geen garantie dat bij aanwezigheid van antilichamen de patiënt een tweede infectie zal afslaan.
- De serologische status van een persoon bepaalt niet of een persoon besmettelijk is of niet. Seroconversie gaat niet gepaard met een daling van de virale load.
- Herstelde patiënten kunnen lage antilichaamconcentraties tegen het SARS-CoV-2-virus vertonen.

Vergoedingsvoorwaarden:

De verstrekking zal kunnen aangerekend worden bij de volgende indicaties:

1. Bij gehospitaliseerde patiënten met een suggestief klinisch beeld voor Covid-19 waarbij er discrepantie is tussen de moleculaire opsporingstest en een CT-scan, minimum 7 dagen na de start van de symptomen.
2. Bij ambulante of gehospitaliseerde patiënten die een suggestief en langdurig klinisch beeld hebben voor Covid-19 maar een negatief resultaat op de moleculaire test verkregen of niet binnen de 7 dagen na de start van de symptomen konden getest worden via een moleculaire test, minimum 14 dagen na de start van de symptomen.
3. In de context van differentiële diagnose bij een atypische klinische presentatie, minimum 14 dagen na de start van de symptomen.
4. Om de serologische status te onderzoeken bij zorgverleners en personeel (werkzaam in ziekenhuizen, in klinische laboratoria of collectiviteiten met een hoge besmettingsgraad (Covid-diensten, woonzorgcentra of klinische laboratoria) in het kader van lokaal risicomanagement.

De verstrekking zal maximaal 2 maal per periode van 6 maanden kunnen worden aangerekend aan het RIZIV.

Voorlopig kan de verstrekking "Bepaling van antilichamen tegen het SARS-CoV-2-virus via immunoassay" nog niet aangerekend worden aan het RIZIV. Tot aan de datum van de publicatie van het KB in het Belgisch Staatsblad, is het verboden om serologische testen aan de patiënten of de verzekering voor geneeskundige verzorging aan te rekenen.

Het is voornamelijk onduidelijk of serologische analyses die uitgevoerd worden vóór de publicatie van dit KB zullen kunnen aangerekend worden aan het RIZIV. Mogelijks zullen deze analyses ten laste vallen van de patiënt.

Bij verdere vragen, kan u steeds de klinisch biologen van het labo CRI contacteren.

Referenties

- (1) Krammer F. and Simon V., Serology assays to manage Covid-19, Science, 2020
- (2) Sciensano, Fact sheet Covid-19 disease
- (3) Haute Autorité de Santé, Cahier des charges définissant les modalités d'évaluation des performances des tests sérologiques détectant les anticorps dirigés contre le SARS-CoV-2, 2020
- (4) Long Q-X et al., Antibody responses to SARS-CoV-2 in patients with COVID-19, Nature Medicine, 2020

(5) RIZIV, Omzendbrief laboratoria – Terugbetaling opsporingstesten Coronavirus tijdens de Covid-19 pandemie.