

Rapportage
Status validatie van ELISA en auto-
analyser antilichaam testen voor
diagnostiek van SARS-CoV-2;
overwegingen voor gebruik

Status per 16 juni 2020

Dataverzameling en rapportage door Taskforce serologie, onderdeel van de
Landelijke Coördinatiestructuur Testcapaciteit (LCT)

De hier beschreven data is gedeeld door de volgende laboratoria:

Afdeling Medische Microbiologie, Amsterdam UMC, locatie AMC, Amsterdam
Afdeling Medische Microbiologie en Infectiepreventie, Deventer Ziekenhuis, Deventer
Afdeling Medische Microbiologie en Infectiepreventie, Universitair Medisch Centrum Groningen, Groningen
Atalmedial, Amsterdam
Centraal Bacteriologisch en Serologisch Laboratorium, Hilversum
Centrum voor Infectieziekteonderzoek Diagnostiek en laboratorium surveillance, RIVM, Bilthoven
COMICRO, Hoorn
Izore – Centrum Infectieziekten Friesland, Leeuwarden
Laboratorium Medische Microbiologie, Jeroen Bosch Ziekenhuis, 's-Hertogenbosch
Laboratorium Microbiologie Twente Achterhoek, Hengelo
Laboratorium voor Medische Microbiologie en Immunologie, Admiraal de Ruyter Ziekenhuis, Goes
Laboratorium voor Medische Microbiologie en Immunologie, Elisabeth-TweeSteden Ziekenhuis, Tilburg en Waalwijk
Laboratorium voor Medische Microbiologie en Immunologie, Meander Medisch Centrum, Amersfoort
Laboratorium voor Medische Microbiologie en Infectieziekten, Isala Klinieken, Zwolle
Laboratorium voor Medische Microbiologie, Stichting PAMM, Veldhoven
Medische Microbiologie en Immunologie, Diakonessenhuis, Utrecht
Medische Microbiologie en Immunologie, Sint Antonius Ziekenhuis, Nieuwegein
Medische Microbiologie en Infectiepreventie, Franciscus Gasthuis & Vlietland, Rotterdam
Medische Microbiologie en Infectiepreventie, Gelre Ziekenhuizen, Apeldoorn
Medische Microbiologie en Infectiepreventie, Groene Hart Ziekenhuis, Gouda
Medische Microbiologie en Infectieziekten, CWZ, Nijmegen
Medische Microbiologie en Infectieziekten, Ikazia ziekenhuis, Rotterdam
Medische Microbiologie, Alrijne Ziekenhuis, Alphen aan de Rijn, Leiden en Leiderdorp
Medische Microbiologie, HagaZiekenhuis, Den Haag
Medische Microbiologie, Leids Universitair Medisch Centrum, Leiden
Medische Microbiologie, Maastricht UMC+, Maastricht
Medische Microbiologie, Noordwest Ziekenhuisgroep, Alkmaar
Medische Microbiologie, Radboudumc, Nijmegen
Medische Microbiologie, UMC Utrecht, Utrecht
Medische Microbiologie, Zuyderland Medisch Centrum, Heerlen en Sittard
Medisch Microbiologisch Laboratorium, OLVG, Amsterdam
Medisch Microbiologisch Laboratorium, Ziekenhuis Gelderse Vallei, Ede
Medlon Medische Diagnostiek, Enschede
Reinier Haga – Medisch Diagnostisch Centrum, Delft
Saltro, Utrecht
Sanquin Bloedvoorziening, Amsterdam
Stichting Star-SHL, Etten-Leur en Rotterdam
Viroscience, Erasmus Medisch Centrum, Rotterdam

Colofon

© Taskforce serologie, onderdeel van LCT | versie : 16 juni 2020

Met uitzondering van gebruik voor reclame, werving of anderszins commerciële aanprijzing of uitingen, mag zonder voorafgaande toestemming deze publicatie verspreid worden of mogen delen daaruit overgenomen/geciteerd worden, op voorwaarde van bronvermelding: Taskforce serologie, Landelijke Coördinatiestructuur Testcapaciteit, *de titel van de publicatie en de versiedatum*.

Dit is een levend document. Regelmatig zullen nieuwe versies uitkomen, waarbij de data wordt geüpdatete, afhankelijk van validatie gegevens die gedeeld worden door laboratoria.

Taskforce serologie, onderdeel van Landelijke Coördinatiestructuur Testcapaciteit (LCT)

Chantal Reusken, coördinator | RIVM - Centrum IDS

Jean-Luc Murk | Elisabeth-Tweesteden Ziekenhuis

Maaïke van den Beld | RIVM - Centrum IDS

Johan Reimerink | RIVM - Centrum IDS

Jan Kluytmans | Amphia Ziekenhuis en Julius Center for Health Sciences and Primary Care, UMCU

Marjolijn Wegdam | Stichting PAMM

Hans Zaaijer | Sanquin Bloedvoorziening en Amsterdam UMC

Inge van Loo | Maastricht UMC+

Corine Geurts van Kessel | Viroscience Erasmus MC

Marion Koopmans | Viroscience Erasmus MC

Dit is een uitgave van:

Taskforce serologie, onderdeel van de Landelijke Coördinatiestructuur Testcapaciteit (LCT)

Redactie: taskforce.serologie@rivm.nl

Versiebeheer

Versie 30 april 2020: eerste versie

Versie 5 mei 2020: tweede versie

- Status validatie ELISA en auto-analyzer testen in Nederland geüpdatete naar 5 mei (hoofdstuk 2)
- Evaluatie aangevuld met data vanuit de volgende medisch microbiologische laboratoria: Laboratorium Microbiologie Twente Achterhoek; Reinier Haga - Medisch Diagnostisch Centrum; UMC Utrecht; Izore – Centrum Infectieziekten Friesland; Centraal bacteriologisch en serologisch laboratorium; Isala Klinieken (hoofdstuk 2 en 3)

Versie 19 mei: derde versie

- Status validatie ELISA en auto-analyzer testen in Nederland geüpdatet naar 19 mei (hoofdstuk 2)
- Sensitiviteit voor alle testen berekend over totaal aantal monsters van verschillende labs (hoofdstuk 3.2)

Evaluatie aangevuld met (meer) data vanuit de volgende medisch microbiologische laboratoria: Laboratorium Microbiologie Twente Achterhoek; Izore –Centrum Infectieziekten Friesland; LUMC, OLVG, Jeroen Bosch Ziekenhuis; PAMM; Saltro; Radboudumc; HagaZiekenhuis; Star-SHL; RIVM-IDS; UMCU; Meander Medisch Centrum; COMICRO; Noordwest Ziekenhuisgroep; UMCG; Amsterdam UMC (hoofdstuk 3). Hierbij is van de volgende testen (meer) data toegevoegd (hoofdstuk 3.2): Wantai SARS-CoV-2 Ab ELISA; Wantai SARS-CoV-2 IgM ELISA; EUROIMMUN SARS-CoV-2 IgG (S1 proteïne); EDI Novel Coronavirus COVID-19 IgG; EDI Novel Coronavirus COVID-19 IgM; RecomWell SARS-CoV-2 IgG; Vircell COVID-19 ELISA IgG; Vircell COVID-19 ELISA IgM+IgA; Creative Diagnostics SARS-CoV-2 IgG ELISA; Creative Diagnostics SARS-CoV-2 IgM ELISA; Platelia SARS-CoV-2 Total Ab; NovaLisa® SARS-CoV-2 IgG; NovaLisa® SARS-CoV-2 IgM; NovaLisa® SARS-CoV-2 IgA; LIAISON® SARS-CoV-2 IgG; ARCHITECT SARS-CoV-2 IgG assay; COVID-19 VIRCLIA® SARS-CoV-2 IgG MONOTEST; COVID-19 VIRCLIA® SARS-CoV-2 IgM+IgA MONOTEST; Elecsys® Anti-SARS-CoV-2.

Versie 26 mei: vierde versie

- Copyright aangepast (colofon)
- Status validatie ELISA en auto-analyzer testen in Nederland geüpdatet naar 26 mei (hoofdstuk 2)
- Evaluatie aangevuld met (meer) data vanuit de volgende medisch microbiologische laboratoria: Zuyderland MC; CWZ; CBSL; Star-SHL; Jeroen Bosch Ziekenhuis (hoofdstuk 3). Hierbij is van de volgende testen (meer) data toegevoegd (hoofdstuk 3.2): Wantai SARS-CoV-2 Ab ELISA; Wantai SARS-CoV-2 IgM ELISA; RecomWell SARS-CoV-2 IgG; Platelia SARS-CoV-2 Total Ab; LIAISON® SARS-CoV-2 IgG

Versie 2 juni: vijfde versie

- Status validatie ELISA en auto-analyzer testen in Nederland geüpdatet naar 2 juni (hoofdstuk 2)
- Evaluatie aangevuld met (meer) data vanuit de volgende medisch microbiologische laboratoria: COMICRO, Star-SHL, Diakonessenhuis, Gelre Ziekenhuizen, Ziekenhuis Gelderse Vallei, Alrijne Ziekenhuis (hoofdstuk 3). Hierbij is van de volgende testen (meer) data toegevoegd (hoofdstuk 3.2): Wantai SARS-CoV-2 Ab ELISA, EUROIMMUN SARS-CoV-2 IgG (S1 proteïne), EUROIMMUN SARS-CoV-2 IgA, RecomWell SARS-CoV-2 IgG, LIAISON® SARS-CoV-2 IgG, ARCHITECT SARS-CoV-2 IgG assay, Elecsys® Anti-SARS-CoV-2.

Versie 16 juni: zesde versie

- Status validatie ELISA en auto-analyzer testen in Nederland geüpdatet naar 16 juni (hoofdstuk 2)

- Grens 10 dagen na 1^e ziektedag aangepast naar 14 dagen bij sensitiviteit berekeningen voor alle testen. Tevens is alle data waarbij de duur afname na 1^e ziektedag onbekend is, verwijderd. Hierbij is voor alle testen de sensitiviteit onder punt a, b en c herberekend (hoofdstuk 3.2).
- Voor specificiteitsberekeningen alle data waarvan controlegroepen monsters verkregen werden in 2020 (tijdens de pandemie) verwijderd en herberekend (hoofdstuk 3.2).
- Evaluatie aangevuld met (meer) data van OLVG, HagaZiekenhuis, LabMicTA, CWZ, MH-MDC, Groene Hart Ziekenhuis, Medlon, Ikazia ziekenhuis, Comicro, en Deventer Ziekenhuis (hoofdstuk 3).

Inhoudsopgave

Colofon.....	3
Versiebeheer.....	4
1 Inleiding en overwegingen.....	7
1.1 Achtergrond: de mogelijkheden van antilichaam testen.....	7
1.2 De beperkingen van antilichaamtesten	8
1.3 Welke foutmarge is acceptabel?.....	10
1.4 Advies om verstandig gebruik te maken van antilichaamtesten	11
2 Status validatie ELISA en serologie auto-analyzers.....	12
3 Resultaten en conclusies validatie ELISA in Nederlandse laboratoria	13
3.1 Afbakening en criteria.....	13
3.2 Resultaten en conclusies per ELISA of auto-analyzer	14
3.2.1 Resultaten van ELISA testen.....	14
3.2.2 Resultaten van auto-analyzer antilichaam testen	19
3.3 Correlatie positieve uitslag in ELISA met aanwezigheid neutraliserende antilichamen.....	21
3.4 Samenvatting eerste laboratorium resultaten	22
3.5 Voorlopige conclusie op grond van eerste laboratorium resultaten.....	23
4 Stappenplan voor de nabije toekomst.....	24
Referenties.....	24

1 Inleiding en overwegingen

Voor u ligt de Rapportage “Status validatie van ELISA en auto-analyser antilichaam testen voor diagnostiek van SARS-CoV-2 ; overwegingen voor gebruik”, versie 16 juni 2020. De dataverzameling en rapportage is verzorgd door de Taskforce serologie, onderdeel van de Landelijke Coördinatiestructuur Testcapaciteit (LCT). De beschreven data is afkomstig van 38 verschillende ISO 15189 geaccrediteerde laboratoria in Nederland met een flexibele scope in de werkvelden Medische Microbiologie of Medische Immunologie met een relevant bronelement. In hoofdstuk 1 worden de achtergronden en overwegingen met betrekking tot het gebruik van antilichaam testen toegelicht voor een breder publiek. Inhoudsdeskundigen wordt geadviseerd om te starten bij hoofdstuk 2, vanaf hier zijn de meer technische aspecten van dit rapport beschreven.

16 juni 2020,

Taskforce serologie, onderdeel van Landelijke Coördinatiestructuur Testcapaciteit (LCT)

1.1 Achtergrond: de mogelijkheden van antilichaam testen

Antilichamen worden door het lichaam gemaakt als reactie op het binnendringen van een lichaamsvreemde stof en vormen een onderdeel van het afweersysteem. Antilichamen en afweercellen bestrijden samen een binnendringend ziekteverwekker en kunnen een rol spelen bij de bescherming tegen een volgende infectie met deze ziekteverwekker. Het kan enige tijd (meerdere weken) duren voordat de antilichaamproductie op gang komt. Antilichamen worden voor iedere ziekteverwekker op maat gemaakt, dat wil zeggen dat ze betrekkelijk specifiek zijn. Antilichamen tegen influenza virus binden niet met een coronavirus en vice versa, maar binnen groepen van verwante virussen kan er wel sprake zijn van enige mate van kruisreactiviteit.

Wanneer antilichamen bescherming bieden tegen nieuwe infecties spreekt men van beschermende antilichamen. De aanwezigheid hiervan wijst op (gedeeltelijke) immuniteit. Bij een groot aantal ziekteverwekkers zijn antilichamen hiertoe in staat. Soms zijn de ontsnappingsmechanismen van ziekteverwekkers echter zo goed, dat zelfs grote hoeveelheden antilichamen geen bescherming bieden. Het varieert per ziekteverwekker of antilichamen wel of geen immuniteit geven.

Mogelijke toepassingen van antilichaamtesten zijn:

- Onderzoeken of iemand (recent of in het verleden) een infectie heeft doorgemaakt
- Onderzoeken of iemand immuun is

In de huidige SARS-CoV-2 pandemie klinkt een sterke roep om antilichaamtesten te gebruiken om te bepalen welk deel van de bevolking de virusinfectie al heeft doorgemaakt om vast te stellen wie mogelijk immuun is. Dat zou tal van mogelijkheden bieden, zoals differentiatie van beleid voor mensen die mogelijke immuniteit hebben versus mensen die nog geen immuniteit hebben. Als bekend is hoe groot het deel van de bevolking is dat immuniteit heeft, kan gemodelleerd worden wat de effecten van (versoepeling van) maatregelen zijn. Hierbij wordt er vaak ten onrechte vanuit gegaan dat de aanwezigheid van antilichamen correleert met een totale immuniteit tegen re-infectie. De World Health Organization (WHO) waarschuwde er op 24 april dan ook voor om op basis van antilichaam detectie veronderstellingen te doen ten aanzien van bescherming tegen tweede infecties en op basis hiervan persoon specifieke maatregelen te ontwikkelen [1].

In reactie op de groeiende behoefte naar wereldwijde testcapaciteit tijdens de COVID-19 pandemie, worden door verschillende fabrikanten enzym-linked immunosorbent assays (ELISA) en auto-analyzer antilichaamtesten aangeboden. Deze testen kunnen binnen een laboratorium setting gebruikt worden om aanwezigheid van antilichamen tegen SARS-CoV-2 in serum van patiënten te bepalen om te onderzoeken of iemand COVID-19 heeft of heeft doorgemaakt in het (recente) verleden.

Binnen de virologie wordt naast antilichaamtesten ook nog gebruik gemaakt van virus neutralisatie testen (VNT, PRNT). Daarbij wordt gebruik gemaakt van het feit dat specifieke antilichamen in serum de vermeerdering van virussen in celkweek kunnen remmen. Dit wordt in het algemeen gezien als aanwijzing voor de aanwezigheid van mogelijke beschermende antilichamen. Er zijn echter in Nederland nog maar enkele laboratoria die virussen routinematig kweken. Voor SARS-CoV-2 komt daar nog bij dat het kweken onder zeer stringente veiligheidscondities moet worden gedaan (BSL3 condities). Virus neutralisatie testen t.b.v. humane diagnostiek zijn op dit moment, voor zover bekend, beschikbaar bij RIVM-IDS en Erasmus MC. Voorlopige resultaten laten zien dat ELISA testen een goede correlatie kunnen hebben met virus neutraliserende antilichamen voor SARS-CoV-2 [2].

In dit verslag worden overwegingen met betrekking tot antilichaamtesten beschreven. Ook is een eerste vergelijkende studie van ELISA en auto-analyzer testen voor detectie van antilichamen van SARS-CoV-2 die in Nederlandse laboratoria geëvalueerd zijn uitgevoerd en worden de voorlopige resultaten en conclusies gedeeld. Al naar gelang er meer validatie gegevens binnenkomen bij de werkgroep serologie zal dit rapport wekelijks ge-updatet worden.

1.2 De beperkingen van antilichaamtesten

De beperkingen van de antilichaamtesten vallen in twee grote categorieën uiteen, namelijk I) de menselijke biologie en II) de eigenschappen van de antilichaamtesten.

Beperkingen die onderdeel zijn van de biologie van antilichamen:

- 1) Het duurt enige tijd voordat antilichamen gevormd zijn. De eerste berichten mbt SARS-CoV-2 laten zien dat het een maand na de 1^e ziektedag duurt totdat >90% van de geïnfekteerden antilichamen gevormd heeft. Dat is tijdens een snel verspreidende epidemie een beperking, want hierdoor zal een groot deel van de mensen een negatieve antilichaamtest hebben in de eerste weken na infectie. Resultaten van antilichaamtesten lopen minimaal twee tot vier weken achter bij het werkelijke aantal besmettingen. Vanwege bovengenoemde redenen is vaak een tweede bloedmonster nodig om vast te kunnen stellen of iemand recent een infectie tegen een virus heeft doorgemaakt. In de opeenvolging wordt gekeken naar de kinetiek van antilichamen, zoals omslag van negatief naar positief, toename van positiviteit of verandering van klasse antilichaam (bijvoorbeeld overgang van IgM naar IgG).
- 2) Er zijn verschillende soorten antilichamen tegen verschillende delen van het virus en de nu beschikbare testen verschillen in wat ze meten. Voor een betrouwbare interpretatie van de uitslag is het belangrijk om precies te weten hoe de testen zijn opgebouwd. Die informatie is niet altijd beschikbaar (bedrijfsvertrouwelijk). Door die verscheidenheid aan antigenen en aan menselijke immuunrespons is het dus ook noodzakelijk de testen afzonderlijk te evalueren voordat ze ingezet worden.
- 3) Een deel van de mensen die met SARS-CoV-2 geïnfecteerd zijn geraakt en asymptomatisch zijn gebleven of slechts milde klachten hebben gehad, lijkt nauwelijks of geen antilichamen te vormen. Dit blijkt uit huidig preliminair onderzoek, maar wordt bijvoorbeeld ook gezien bij asymptomatische infecties met H5N1 [3]. Dat betekent dat bij bevolkingsonderzoek of onderzoek van mensen in kritische beroepen het werkelijke aantal besmettingen onderschat zal worden. Het is niet duidelijk hoe groot die onderschatting is, omdat nog onvoldoende onderzoek is gedaan naar asymptomatische en milde infecties met SARS-CoV-2 om deze vraag

te kunnen beantwoorden. Het is ook niet duidelijk of mensen met lage antilichaam niveaus misschien toch deels beschermd zijn.

- 4) Antilichamen zijn 'plakkerige eiwitten' die doorgaans niet zo specifiek zijn als we voor onze vraagstellingen zouden wensen. Voor de vraag of mensen de infectie al hebben doorgemaakt is een gebrek aan voldoende specificiteit problematisch, omdat SARS-CoV-2 verwant is aan andere coronavirussen die veelvuldig voorkomen. Er kan ook sprake zijn van storende factoren die niets met infecties te maken hebben zoals rheumafactoren. De antilichamen die je detecteert met een SARS-CoV-2 test, kunnen in werkelijkheid antilichamen tegen een ander coronavirus zijn. Een gebrek aan specificiteit leidt dus tot fout-positieve testuitslagen.
- 5) Antilichamen verdwijnen vaak na enige tijd. De snelheid waarmee antilichamen verdwijnen is onderhevig aan persoonlijke variatie en is afhankelijk van de ziekteverwekker en de ernst van de doorgemaakte infectie. Het verdwijnen van antilichamen leidt tot negatieve testuitslagen, die kunnen leiden tot de onterechte conclusie dat iemand de infectie niet heeft doorgemaakt. Dit leidt in een bevolkingsonderzoek tot een onderschatting van het aantal mensen dat de infectie heeft doorgemaakt.
- 6) We weten voor SARS-CoV-2 nog niet of en in welke mate de aanwezigheid van antilichamen samenhangt met immuniteit. Hoewel het aannemelijk is dat er wel sprake is van enige mate van immuniteit, is voorzichtigheid geboden gezien de ruime ervaring met andere respiratoire ziekteverwekkers waaruit blijkt dat die samenhang niet vanzelfsprekend is. In parallel met andere respiratoire ziekteverwekkers inclusief de vier "gewone verkoudheidscoronavirussen" wordt er momenteel vanuit gegaan dat re-infecties mogelijk zullen zijn waarbij men waarschijnlijk (veel) minder ziek wordt maar wel besmettelijk kan zijn [4]. Dit kan niet uitgesloten worden en onderzoek hiernaar in de komende jaren zal hierover duidelijkheid gaan geven. Op 24 april heeft de World Health Organization gesteld dat er niet voldoende bewijs is dat aanwezigheid van antilichamen tegen SARS-CoV-2 beschermt tegen een tweede infectie [1]. Daarom is het dan ook niet veilig om mensen met antilichamen zonder beschermende maatregelen voor COVID-19 patiënten te laten zorgen.

Beperkingen van antilichaamtesten:

Antilichaamtesten worden ontwikkeld voor specifieke toepassingen. Een antilichaamtest die bedoeld is om acute infecties bij zieke patiënten aan te tonen moet aan andere eisen voldoen dan een test voor een bevolkingsonderzoek of een test om een doorgemaakte infectie bij gezondheidswerkers mee vast te stellen. Als een test buiten de beoogde toepassing wordt ingezet worden onbetrouwbare resultaten gegenereerd.

Hier volgen specifieke problemen van antilichaamtesten:

- 1) De testen zijn niet gevalideerd voor het doel waarvoor ze worden gebruikt of verkocht. Veel van de nu aangeboden testen zijn gevalideerd door onderzoek met COVID-19 patiënten met ernstige klachten, in vergelijking met gezonde personen. Dit zijn de twee uitersten van het spectrum en er is onvoldoende informatie om uitspraken te kunnen doen over de mate van kruisreacties (fout positieve test uitslagen) of de gevoeligheid van testen bij mensen die milde infectie hebben gehad of asymptomatisch zijn gebleven (fout negatieve test uitslag).
- 2) Gebrek aan sensitiviteit: de sensitiviteit is het vermogen van een test om de beoogde antilichamen te detecteren. De antilichamen worden gedetecteerd (gebonden) door deze te vangen met componenten van de ziekteverwekker. Om goed te werken moeten de juiste componenten van de ziekteverwekker worden gebruikt en moet de 3D-vorm van deze componenten goed bewaard zijn gebleven. Dat laatste blijkt lang niet altijd goed te lukken. Daarnaast moet ieder lichaam 'het wiel zelf uitvinden' met het maken van de juiste

antilichamen. Daardoor bestaan er individuele verschillen tussen de antilichamen die aangemaakt worden. Componenten waar één persoon antilichamen tegen maakt, worden niet gemaakt door een ander persoon. Deze factoren zorgen ervoor dat veel antilichaamtesten geen sensitiviteit van of in de buurt van 100% hebben. Een gebrek aan sensitiviteit zorgt voor fout-negatieve uitslagen.

- 3) Gebrek aan specificiteit: de specificiteit is het vermogen van een test om mensen zonder de beoogde antilichamen (dus die de infectie niet hebben doorgemaakt) als negatief af te geven. Antilichamen zijn plakkerige substanties. Ze blijven soms aan testcomponenten plakken die er niet toe doen. En als ziekteverwekkers aan elkaar verwant zijn, kunnen antilichamen van de ene ziekteverwekker binden aan componenten van de andere ziekteverwekker. Een goede antilichaamtest maakt gebruik van componenten van de ziekteverwekker die zo uniek mogelijk zijn. Als de specificiteit lager is dan 100% betekent dit dat er fout-positieve uitslagen ontstaan.
- 4) De antilichaam testen die de hoeveelheid beschermende antilichamen meten zijn bewerkelijk en lastig op grote schaal uit te voeren. De beschikbare commerciële testen zijn meestal niet gevalideerd voor geschiktheid voor het meten van beschermende antilichamen.
- 5) Omdat het om detectie van antilichamen tegen een nieuw virus gaat, betreft het in deze situatie een nieuwe methode en is er in deze fase maar zeer beperkte ervaring opgedaan. Gebruik van deze testen in grote groepen zal mogelijke problemen aan het licht brengen zoals bijv. fout positieve of fout negatieve reacties bij gebruik van bepaalde medicijnen, andere gevoeligheid bij verschillende leeftijdsgroepen of tijdens zwangerschap, stabiliteit van de testen na bewaren etc.
- 6) Er is vaak beperkte informatie beschikbaar over de patiënten waarvan het serum is gebruikt om de prestatiekenmerken van de test mee vast te stellen. Relevante informatie die mist is onder andere: 1) het moment van afname ten opzichte van de eerste ziektedag, 2) hoe ernstig ziek de patiënten waren, 3) welke patiëntkenmerken hoorden bij de negatieve monsters en of 4) gekeken is naar kruisreactiviteit met antilichamen tegen andere humane coronavirussen. Punten 1 en 2 zijn bepalend voor de sensitiviteit van de test, punten 3 en 4 voor de specificiteit. Omdat informatie over deze punten vaak ontbreekt, moeten de ELISA en auto-analyzer testen nauwkeurig beoordeeld worden, zodat kan worden bepaald in welke populatie en op welk moment na de infectie ze bruikbaar zijn.

1.3 Welke foutmarge is acceptabel?

De eerdergenoemde beperkingen geven een indruk van de complexiteit van antilichaamtesten. Tot op de dag van vandaag bestaat er geen enkele antilichaamtest die onfeilbaar is – ook niet als het gaat om ver uitontwikkelde testen zoals testen voor HIV. De testen die ontwikkeld zijn tegen SARS-CoV-2 zitten nog in het beginstadium van ontwikkeling en de betrouwbaarheid is van een groot aantal van deze testen nog maar beperkt of vrijwel niet onderzocht. Voordat een test gebruikt kan worden, moeten de prestatiekenmerken eerst goed worden onderzocht. Hoe vaak mag een test een onjuiste uitslag geven om bruikbaar te zijn? Dat hangt af van de consequenties die men aan de uitslag verbindt. Als iemand slechts uit interesse wil weten of hij of zij SARS-CoV-2 heeft doorgemaakt, heeft een onjuiste uitslag waarschijnlijk weinig gevolgen. Als iemand met een fout-positieve uitslag meent immuun te zijn en daardoor risicovol gedrag gaat vertonen kan dat ernstige gevolgen hebben. In de extreme situatie dat maatregelen in het land pas zouden worden afgeschaald op basis van de veronderstelling dat een groot deel van de bevolking immuun is (waarbij modellering duidt op een noodzakelijke 50-60% immuniteit onder de algemene bevolking), terwijl een groot deel van de testuitslagen waarmee dit vastgesteld is fout-positief is, ontstaat er opnieuw een grote uitbraak. Als een groot deel van de uitslagen fout-negatief is, zouden maatregelen onnodig lang kunnen worden

aangehouden. Dit staat nog los van het feit dat momenteel nog niet voldoende bekend is in hoeverre de aanwezigheid van IgG samenhangt met daadwerkelijke bescherming.

De antilichaamtesten die nu massaal worden aangeboden voor detectie van antilichamen tegen SARS-CoV-2 zijn meestal ontwikkeld om infecties aan te tonen bij mensen die (recent) flinke klachten hebben (gehad) van de infectie. Deze testen zijn voornamelijk geëvalueerd met monsters van patiënten uit het ziekenhuis. Dat is een selectieve patiëntenpopulatie met ernstige klachten, waarbij we inmiddels weten dat grote hoeveelheden antilichamen worden geproduceerd. Er is in deze evaluaties niet of nauwelijks gekeken naar monsters van mensen met milde klachten of asymptomatische infecties. Ook is niet goed gekeken naar de kruisreactiviteit met andere coronavirussen of allerlei andere condities bij mensen die tot kruisreactiviteit leiden.

Een rekenvoorbeeld:

Stel dat 3% van de Nederlandse bevolking een SARS-CoV-2 infectie heeft doorgemaakt. We gaan dit proberen vast te stellen met een serologische test die een sensitiviteit heeft van 99% en een specificiteit van 97%. Dat zijn uitstekende testkarakteristieken voor een serologische test. Veel goed ontwikkelde antilichaamtesten die dagelijks in ziekenhuizen, waarbij een hoge a priori kans op de aandoening groot is, gebruikt worden halen deze specificaties niet. De bevolking testen met een dergelijke test zou er echter toe leiden dat ongeveer de helft van alle positieve testresultaten onjuist is! De positief voorspellende waarde is 50%. De test doet het dan net zo goed als het opgooien van een munt. Is dat acceptabel?

Hoe kan dit? Van de 100 mensen hebben slechts 3 de infectie doorgemaakt. De test heeft een specificiteit van 97%, dus 3 mensen krijgen een fout positieve uitslag. Wel worden bijna alle 3 geïnfecteerde mensen gevonden met een sensitiviteit van 99%. Maar van de positieve uitslagen is dus 3/6 terecht. De test heeft een lage positief voorspellende waarde. De negatief voorspellende waarde is wel veel beter (99,9%).

Als 20% van de bevolking SARS-CoV-2 heeft doorgemaakt, is de positief voorspellende waarde met dezelfde test ~93%. Dat is al een stuk beter. In een ziekenhuispopulatie, waar de a priori kans op een bepaalde aandoening hoog is, omdat de test met de reden van een gerichte verdenking wordt aangevraagd, is het probleem van gebrek aan specificiteit minder groot dan bij een ongerichte screening waarbij de prevalentie veel lager is. Dit geeft aan dat een test niet los kan worden gezien van de populatie en situatie waarin deze wordt toegepast. Daarom zijn de resultaten van antilichaamtesten niet gemakkelijk te interpreteren.

1.4 Advies om verstandig gebruik te maken van antilichaamtesten

De antilichaamtesten tegen SARS-CoV-2 zijn zeer recent ontwikkeld. Ze zijn ontwikkeld om infecties vast te stellen bij patiënten die in de ziekenhuizen terecht komen: mensen die flinke klachten behorende bij COVID-19 hebben en met een hoge a priori kans op een infectie met SARS-CoV-2. De specificaties lijken indrukwekkend, maar onafhankelijk onderzoek dat tot nu toe verricht is laat zien dat die specificaties niet waargemaakt kunnen worden als een bredere populatie patiënten wordt getest. Een toepassing van de testen buiten de beoogde doelgroep van de test leidt tot veel onjuiste uitslagen. Ondanks de grote haast die er is, is het niet wenselijk om testen in te zetten voordat deze de noodzakelijke grondige evaluatie hebben gehad.

In de hoofdstukken 2 en 3 hieronder worden voorlopige resultaten van onderzoeken in Nederland naar de mogelijke toepassingen van ELISA en serologische testen met auto-analyzers gedeeld.

2 Status validatie ELISA en serologie auto-analyzers

Status per 16 juni 2020

Inventarisaties naar de status van validatie van serologische testen zijn uitgevoerd via de Nederlandse Vereniging voor Medische Microbiologie (NVMM). Op deze inventarisaties hebben 54 laboratoria gereageerd, en hieruit bleek dat ELISA of auto-analyzer testen (IgM en IgG) van 16 verschillende fabrikanten op 16 juni 2020 in verschillende stadia van validatie verkeren in Nederland. De selectie van deze testen door de laboratoria heeft plaatsgevonden op basis van beschikbaarheid. In totaal zijn er 118 verschillende ELISA testen beschikbaar op de wereldmarkt op 16 juni 2020 [5]. In tabel 1 staan 28 ELISA en auto-analyzer testen die zich in Nederland in een stadium van validatie bevinden waaronder zeven testen waarvoor de validaties nog niet gestart zijn. Deze lijst is samengesteld op basis van de informatie van de 54 laboratoria die hebben gereageerd op de uitvraag en is mogelijk niet volledig.

Tabel 1. ELISA en serologische auto-analyzers in verschillende stadia van validatie in Nederland per 16 juni 2020

Test	Fabrikant	Soort	Certificaat	Status validatie (n labs)		
				Afgerond	Bezig	Planning
Wantai SARS-CoV-2 Ab ELISA	Beijing Wantai Biological	ELISA	CE-IVD	23	1	2
Wantai SARS-CoV-2 IgM ELISA	Beijing Wantai Biological	ELISA	CE-IVD	11	0	1
EUROIMMUN SARS-CoV-2 IgG (protein S1)	EUROIMMUN AG	ELISA	CE-IVD	10	2	8
EUROIMMUN SARS-CoV-2 IgA	EUROIMMUN AG	ELISA	CE-IVD	5	3	6
EDI™ Novel Coronavirus COVID-19 ELISA IgG	Epitope Diagnostics Inc	ELISA	CE-IVD	7	1	0
EDI™ Novel Coronavirus COVID-19 ELISA IgM	Epitope Diagnostics Inc	ELISA	CE-IVD	6	1	1
recomWell SARS-CoV-2 IgG COVID-19 ELISA IgG	Mikrogen Diagnostik	ELISA	CE-IVD	5	1	1
COVID-19 ELISA IgG	Vircell S.L.	ELISA	CE-IVD	5	1	0
COVID-19 ELISA IgM+IgA	Vircell S.L.	ELISA	CE-IVD	4	1	0
SARS-CoV-2 IgG ELISA kit	Creative Diagnostics	ELISA	RUO	1	0	0
SARS-CoV-2 IgM ELISA kit	Creative Diagnostics	ELISA	RUO	1	0	0
Platelia SARS-CoV-2 Total Ab	Bio-Rad Laboratories	ELISA	CE-IVD	3	0	0
NovaLisa® SARS-CoV-2 IgG	NovaTec Immundiagnostica GmbH	ELISA	CE-IVD	1	0	0
NovaLisa® SARS-CoV-2 IgM	NovaTec Immundiagnostica GmbH	ELISA	CE-IVD	1	0	0
NovaLisa® SARS-CoV-2 IgA	NovaTec Immundiagnostica GmbH	ELISA	CE-IVD	1	0	0
COVID-19 IgG ELISA Assay	Eagle Biosciences, Inc.	ELISA	RUO	0	0	1
COVID-19 IgM ELISA Assay	Eagle Biosciences, Inc.	ELISA	RUO	0	0	1
MAGLUMI 2019-nCoV IgG (CLIA)	Snibe Co. Ltd.	ELISA	CE-IVD	0	0	1
MAGLUMI 2019-nCoV IgM (CLIA)	Snibe Co. Ltd.	ELISA	CE-IVD	0	0	1
LIAISON® SARS-CoV-2 IgG	Diasorin	AA	CE-IVD	17	4	1
ARCHITECT SARS-CoV-2 IgG assay	Abott core laboratory	AA	CE-IVD	6	2	3
COVID-19 VIRCLIA® IgG monotest	Vircell S.L.	AA	CE-IVD	2	0	1
COVID-19 VIRCLIA® IgM+IgA monotest	Vircell S.L.	AA	CE-IVD	2	0	1
Elecsys® Anti-SARS-CoV-2	Roche Diagnostics Inc	AA	CE-IVD	3	2	0
SARS-CoV-2 total antibody test, voor Centaur en Atellica*	Siemens Healthineers	AA	RUO	1	0	5
VIDAS® anti-SARS-CoV-2 IgG	BioMérieux	AA	RUO	0	0	1
VIDAS® anti-SARS-CoV-2 IgM	BioMérieux	AA	RUO	0	0	1
Access SARS-CoV-2 IgG assay*	Beckman Coulter Inc.	AA	RUO	0	0	1

AA=auto-analyzer. *vanaf half juni beschikbaar.

De uitvoering van de plannen die er nog zijn voor verder onderzoek en validatie naar deze ELISA en auto-analyzer testen is afhankelijk van de beschikbaarheid en levering van de kits. Verschillende laboratoria geven aan dat er problemen zijn met levering bij enkele van de hierboven beschreven kits. Dit heeft er toe geleid dat sommige validaties minder uitgebreid zijn uitgevoerd dan wenselijk. Dit benadrukt het belang van het gecoördineerd verzamelen van data met betrekking tot de testen van verschillende laboratoria zoals in deze rapportage waarmee dat gedeeltelijk ondervangen kan worden.

3 Resultaten en conclusies validatie ELISA in Nederlandse laboratoria

3.1 Afbakening en criteria

Status per 16 juni 2020

De resultaten die beschikbaar zijn van validaties van ELISA en auto-analyzers voor SARS-CoV-2 per 2 juni 2020 zijn resultaten van soms beperkte validaties, omdat veel kits niet in grote aantallen beschikbaar zijn. De data in dit verslag kan daarom gezien worden als een eerste screening door Nederlandse laboratoria. Er zijn ook publicaties van de evaluatie van commercieel verkrijgbare ELISAs en auto-analyzer antilichaam testen voor SARS-CoV-2 beschikbaar [2, 6-20].

Omdat SARS-CoV-2 nog maar recent in Nederland is geïntroduceerd is voornamelijk de sensitiviteit en specificiteit van de IgG antilichamen (versus IgA en IgM) van belang als marker voor het hebben doorgemaakt van de infectie. De voornaamste toepassing van serologie wordt gezien in de patiëntenzorg. Criteria waaraan antilichaam testen moeten voldoen verschillen afhankelijk van de toepassing van de test. In deze eerste screening van ELISA en auto-analyzer testen zijn de volgende criteria gehanteerd (expert opinion):

- Voor individuele patiënten diagnostiek: IgG en IgM antilichamen: beide *apart* een specificiteit >98% en sensitiviteit >95% vanaf 14 dagen¹ na ontstaan klachten
- Wanneer door (inter)nationaal onderzoek beter inzichtelijk is geworden hoe aanwezigheid van antistoffen een indicatie kan zijn voor aanwezigheid van (gedeeltelijk) beschermende immuniteit tegen herinfectie (en mogelijk een verminderde besmettelijkheid) kan het testen of mensen in specifieke (sub)populaties, bijvoorbeeld zorgmedewerkers en mantelzorgers, een SARS-CoV-2 infectie hebben doorgemaakt zinvol zijn: Alleen IgG: specificiteit >98%, sensitiviteit >85% vanaf 14 dagen¹ na ontstaan klachten.
- Epidemiologische sero prevalentie studies: Alleen IgG: specificiteit >98%, sensitiviteit >95%

Dit zijn geen absolute criteria, maar een advies vanuit de Taskforce serologie gebaseerd op expert opinion. De toepasbaarheid van deze criteria zal per situatie afgewogen moeten worden door de lokale experts.

¹ Uit internationale overleggen, o.a. in de WHO labtechnische werkgroep, komt steeds meer naar voren dat pas 4 weken na start symptomen met de hoogste zekerheid op basis van serologie gesteld kan worden of iemand een infectie heeft doorgemaakt. Dit is een levend document en aanpassingen worden voorzien naarmate data omtrent de kinetiek van immunologische responses in verschillende populaties robuuster wordt.

3.2 Resultaten en conclusies per ELISA of auto-analyzer

Status per 16 juni 2020

De resultaten en conclusies per ELISA voor detectie van antilichamen zijn hieronder beschreven voor vier achtereenvolgende punten:

- a. sensitiviteit bij RT-PCR geconfirmeerde patiënten met ernstige klachten in het ziekenhuis en bij gebruik sera afgenomen > 14 dagen na de eerste ziektedag.
- b. sensitiviteit bij RT-PCR geconfirmeerde patiënten met ernstige klachten in het ziekenhuis en bij gebruik sera afgenomen binnen 14 dagen na start klachten. Hierbij dient opgemerkt te worden dat de sensitiviteit van een test in deze categorie niet goed beoordeeld kan worden gezien het vroege tijdstip van afname tijdens het verloop van de infectie. Daarom zijn hier ook geen criteria voor opgesteld.
- c. sensitiviteit in RT-PCR-geconfirmeerde populaties met geen of milde klachten. Hierbij dient opgemerkt te worden dat de sensitiviteit van een test niet goed beoordeeld kan worden indien sera zijn afgenomen binnen 14 dagen na start van klachten.
- d. sensitiviteit bij patiënten met een positieve neutralisatie titer (PRNT/VNT50; VNT90)
- e. specificiteit.

Indien meerdere laboratoria dezelfde test hebben geëvalueerd bij patiënten behorend tot dezelfde groep, zijn deze bij elkaar genomen om de totale sensitiviteit of specificiteit te berekenen.

De resultaten in deze rapportage zijn voorlopig, op veel laboratoria worden nog vervolgonderzoeken uitgevoerd met bijvoorbeeld andere patiënten groepen.

3.2.1 Resultaten van ELISA testen

Wantai SARS-CoV-2 Ab ELISA (23 labs; totaal panel sensitiviteit n=1362, specificiteit n=1167)

- a. De sensitiviteit voor diagnose bij patiënten met een ernstige infectie, waarbij materiaal is afgenomen >14 dagen (97,2%, n=431) na 1^e ziektedag voldoet aan de vooraf gestelde criteria.
- b. De sensitiviteit is 86,6% (n=657) bij patiënten met een ernstige infectie, waarbij materiaal is afgenomen <14 dagen na 1^e ziektedag.
- c. De sensitiviteit (95,2%, n=249) in populaties met milde of asymptomatische klachten, bij monsters afgenomen >14 dagen na 1^e ziektedag, voldoet aan de vooraf gestelde criteria. De sensitiviteit is 48,0% (n=25) voor diagnose bij patiënten met een milde of asymptomatische infectie waarbij materiaal is afgenomen <14 dagen na 1^e ziektedag. Omdat dit laatste percentage gebaseerd is op een beperkte set monsters is bevestiging met grotere monsteraantallen nodig.
- d. Goede correlatie met neutraliserende antilichamen met een sensitiviteit van 100% (n=155) bij titer in VNT50%, 99% (n=155) bij titer in VNT90%, en 99% (n=187) bij titer in PRNT50.
- e. De specificiteit voldoet aan de vooraf gestelde criteria met 99,5% (n=1167).

Wantai SARS-CoV-2 IgM ELISA (11 labs; totaal panel sensitiviteit n=420, specificiteit n=368)

- a. De sensitiviteit (85,1%, n=47) voor diagnose bij patiënten met een ernstige infectie, waarbij materiaal is afgenomen >14 dagen na 1^e ziektedag voldoet niet aan de vooraf gestelde criteria. Dit moet bevestigd worden met grotere monsteraantallen.
- b. De sensitiviteit is 84,9% (n=265) bij patiënten met een ernstige infectie, waarbij materiaal is afgenomen <14 dagen na 1^e ziektedag.
- c. De sensitiviteit (90,5%, n=84) in populaties met milde of asymptomatische klachten bij monsters afgenomen >14 dagen na 1^e ziektedag, voldoet niet aan de gestelde criteria. De sensitiviteit is 50,0% (n=24) voor diagnose bij patiënten met een milde of asymptomatische

- infectie waarbij materiaal is afgenomen <14 dagen na 1^e ziektedag. Omdat deze percentages gebaseerd zijn op beperkte sets monsters, is bevestiging met grotere monsteraantallen nodig.
- d. Beperkte correlatie met neutraliserende antilichamen met een sensitiviteit van 90% (n=185) bij titer in PRNT50.
 - e. De specificiteit is hoog maar voldoet niet aan de vooraf gestelde criteria met 97,0% (n=368).

EUROIMMUN SARS-CoV-2 IgG, S1 proteïne (10 labs, totaal panel sensitiviteit n= 477; specificiteit n=493)

- a. De sensitiviteit (91,9%, n=86) voor diagnose bij patiënten met een ernstige infectie, waarbij materiaal is afgenomen >14 dagen na 1^e ziektedag voldoet niet aan de vooraf gestelde criteria.
- b. De sensitiviteit is 62,0% (n=329) bij patiënten met een ernstige infectie, waarbij materiaal is afgenomen <14 dagen na 1^e ziektedag.
- c. De sensitiviteit (64,5%, n=62) in populaties met milde of asymptomatische klachten, bij monsters afgenomen >14 dagen na 1^e ziektedag, voldoet niet aan de vooraf gestelde criteria. Omdat dit percentage gebaseerd is op een beperkte set monsters, is bevestiging met grotere monsteraantallen nodig.
- d. De correlatie met neutraliserende antilichamen is wisselend met een sensitiviteit van 97% (n=35) bij een titer in VNT50%, 100% (n=14) bij een titer in VNT90% en 81% (n=75) bij een titer in PRNT50.
- e. De specificiteit voldoet aan de vooraf gestelde criteria met 99,0% (n=493).

EUROIMMUN SARS-CoV-2 IgA (5 labs, totaal panel sensitiviteit n=253; specificiteit n=323)

- a. De sensitiviteit (96,9%, n= 65) voor diagnose bij patiënten met een ernstige infectie, waarbij materiaal is afgenomen >14 dagen na 1^e ziektedag voldoet aan de vooraf gestelde criteria. Hiervan is bevestiging met grotere monsteraantallen nodig.
- b. De sensitiviteit is 81,9% (n=127) bij patiënten met een ernstige infectie, waarbij materiaal is afgenomen <14 dagen na 1^e ziektedag.
- c. De sensitiviteit (65,6%, n=61) in populaties met milde of asymptomatische klachten, bij monsters afgenomen >14 dagen na 1^e ziektedag voldoet niet aan de vooraf gestelde criteria. Hiervan is bevestiging met grotere monsteraantallen nodig.
- d. De correlatie met neutraliserende antilichamen heeft een sensitiviteit van 97% (n=75) bij titer in PRNT50.
- e. De specificiteit voldoet niet aan de vooraf gestelde criteria met 89,2% (n=323).

EDI Novel Coronavirus COVID-19 ELISA IgG (7 labs, totaal panel sensitiviteit n=251; specificiteit n=235)

- a. De sensitiviteit (66,7%, n=3) voor diagnose bij patiënten met een ernstige infectie, waarbij materiaal is afgenomen >14 na 1^e ziektedag voldoet niet aan de vooraf gestelde criteria. Omdat dit percentage gebaseerd is op een zeer beperkte set monsters is bevestiging met grotere monsteraantallen nodig.
- b. De sensitiviteit is 80,0% (n=155) bij patiënten met een ernstige infectie, waarbij materiaal is afgenomen <14 dagen na 1^e ziektedag.
- c. De sensitiviteit voor diagnose bij patiënten met een milde of asymptomatische infectie, waarbij materiaal is afgenomen >14 dagen (79,8%, n=84) na 1^e ziektedag voldoet niet aan de vooraf gestelde criteria. De sensitiviteit is 44,4% (n=9) voor diagnose bij patiënten met een milde of asymptomatische infectie waarbij materiaal is afgenomen <14 dagen na 1^e ziektedag. Omdat deze percentages gebaseerd zijn op beperkte sets monsters, is bevestiging met grotere monsteraantallen nodig.

- d. Neutralisatie testen zijn nog niet uitgevoerd in correlatie met deze ELISA, daarom kunnen hier geen uitspraken over gedaan worden.
- e. De specificiteit voldoet niet aan de vooraf gestelde criteria met 95,3% (n=235).

EDI Novel Coronavirus COVID-19 ELISA IgM (6 labs, totaal panel sensitiviteit n=217; specificiteit n=199)

- a. De sensitiviteit (66,7%, n=3) voor diagnose bij patiënten met een ernstige infectie, waarbij materiaal is afgenomen >14 dagen na 1^e ziektedag voldoet niet aan de vooraf gestelde criteria. Omdat dit percentage gebaseerd is op een zeer beperkte set monsters is bevestiging met grotere monsteraantallen nodig.
- b. De sensitiviteit is 72,9% (n=155) bij patiënten met een ernstige infectie, waarbij materiaal is afgenomen <14 dagen na 1^e ziektedag.
- c. De sensitiviteit (27,8%, n=54) in populaties met milde of asymptomatische klachten, waarbij materiaal is afgenomen >14 dagen na 1^e ziektedag, voldoet niet aan de vooraf gestelde criteria. De sensitiviteit is 20,0% (n=5) voor diagnose bij patiënten met een milde of asymptomatische infectie waarbij materiaal is afgenomen <14 dagen na 1^e ziektedag. Omdat deze percentages gebaseerd zijn op beperkte sets monsters, is bevestiging met grotere monsteraantallen nodig.
- d. Neutralisatie testen zijn nog niet uitgevoerd in correlatie met deze ELISA, daarom kunnen hier geen uitspraken over gedaan worden.
- e. De specificiteit voldoet aan de vooraf gestelde criteria met 98,5% (n=199).

RecomWell SARS-CoV-2 IgG, Mikrogen Diagnostik (5 labs, totaal panel sensitiviteit n=172; specificiteit n=232)

- a. De sensitiviteit is 100% (n=1) voor diagnose bij patiënten met een ernstige infectie, waarbij materiaal is afgenomen >14 dagen na 1^e ziektedag. Omdat dit maar op 1 monster is gebaseerd kan dit (nog) niet getoetst worden aan de criteria.
- b. De sensitiviteit is 84,3% (n=108) bij patiënten met een ernstige infectie, waarbij materiaal is afgenomen <14 dagen na 1^e ziektedag.
- c. De sensitiviteit (78,2%, n=55) in populaties met milde of asymptomatische klachten, waarbij materiaal is afgenomen >14 dagen na 1^e ziektedag, voldoet niet aan de vooraf gestelde criteria. De sensitiviteit is 25,0% (n=8) voor diagnose bij patiënten met een milde of asymptomatische infectie waarbij materiaal is afgenomen <14 dagen na 1^e ziektedag. Omdat deze percentages gebaseerd zijn op beperkte sets monsters is bevestiging met grotere monsteraantallen nodig.
- d. Neutralisatie testen zijn nog niet uitgevoerd in correlatie met deze ELISA, daarom kunnen hier geen uitspraken over gedaan worden.
- e. De specificiteit voldoet niet aan de vooraf gestelde criteria met 95,7% (n=232).

Vircell COVID-19 ELISA IgG (5 labs, totaal panel sensitiviteit n=214; specificiteit n=231)

- a. De sensitiviteit (100%, n=15) voor diagnose bij patiënten met een ernstige infectie, waarbij materiaal is afgenomen >14 na 1^e ziektedag voldoet aan de vooraf gestelde criteria. Hiervan is bevestiging met grotere monsteraantallen nodig.
- b. De sensitiviteit is 85,4% (n=192) bij patiënten met een ernstige infectie, waarbij materiaal is afgenomen <14 dagen na 1^e ziektedag.
- c. De sensitiviteit (71,4%, n=7) in populaties met milde of asymptomatische klachten, waarbij materiaal is afgenomen ≥10 dagen na 1^e ziektedag, voldoet niet aan de vooraf gestelde criteria. Omdat dit percentage gebaseerd is op een zeer beperkte set monsters is bevestiging

met grotere monsteraantallen nodig. De sensitiviteit in populaties met milde klachten waarbij materiaal is afgenomen >14 dagen na 1^e ziektedag is nog niet specifiek geëvalueerd.

- d. Neutralisatie testen zijn nog niet uitgevoerd in correlatie met deze ELISA, daarom kunnen hier geen uitspraken over gedaan worden.
- e. De specificiteit voldoet niet aan de vooraf gestelde criteria met 93,1% (n=231).

Vircell COVID-19 ELISA IgM+IgA (4 labs, totaal panel sensitiviteit n=191; specificiteit n=144)

- a. De sensitiviteit (100%, n=15) voor diagnose bij patiënten met een ernstige infectie, waarbij materiaal is afgenomen >14 na 1^e ziektedag voldoet aan de vooraf gestelde criteria. Hiervan is bevestiging met grotere monsteraantallen nodig.
- b. De sensitiviteit is 81,1% (n=169) bij patiënten met een ernstige infectie, waarbij materiaal is afgenomen <14 dagen na 1^e ziektedag.
- c. De sensitiviteit (85,7%, n=7) in populaties met milde of asymptomatische klachten, waarbij materiaal is afgenomen ≥10>14 dagen na 1^e ziektedag, voldoet niet aan de vooraf gestelde criteria. Omdat dit percentage gebaseerd is op een zeer beperkte set monsters, is bevestiging met grotere monsteraantallen nodig. De sensitiviteit in populaties met milde klachten waarbij materiaal is afgenomen >14 dagen na 1^e ziektedag is nog niet specifiek geëvalueerd.
- d. Neutralisatie testen zijn nog niet uitgevoerd in correlatie met deze ELISA, daarom kunnen hier geen uitspraken over gedaan worden.
- e. De specificiteit voldoet niet aan de vooraf gestelde criteria met 84,7% (n=144).

SARS-CoV-2 IgG ELISA kit, Creative Diagnostics (1 lab, totaal panel sensitiviteit n=102; specificiteit n=78)

- a. De eigenschappen in ernstige SARS-CoV-2 infecties waarbij materiaal is afgenomen >14 dagen na de 1^e ziektedag zijn nog niet geëvalueerd, daarom kunnen hier geen uitspraken over gedaan worden.
- b. De sensitiviteit is 48,2% (n=56) bij patiënten met een ernstige infectie, waarbij materiaal is afgenomen <14 dagen na 1^e ziektedag. Omdat dit percentage gebaseerd is op een beperkte set monsters is bevestiging met grotere monsteraantallen nodig.
- c. De sensitiviteit (52,2%, n=46) in populaties met milde of asymptomatische klachten, waarbij materiaal is afgenomen >14 dagen na 1^e ziektedag, voldoet niet aan de vooraf gestelde criteria. Omdat dit percentage gebaseerd is op een beperkte set monsters, is bevestiging met grotere monsteraantallen nodig.
- d. Neutralisatie testen zijn nog niet uitgevoerd in correlatie met deze ELISA, daarom kunnen hier geen uitspraken over gedaan worden.
- e. De specificiteit voldoet aan de vooraf gestelde criteria met 98,7% (n=78). Omdat dit percentage gebaseerd is op een beperkte set monsters, is bevestiging met grotere monsteraantallen nodig.

SARS-CoV-2 IgM ELISA kit, Creative Diagnostics (1 lab, totaal panel sensitiviteit n=102; specificiteit n=78)

- b. De eigenschappen in ernstige SARS-CoV-2 infecties waarbij materiaal is afgenomen >14 dagen na de 1^e ziektedag zijn nog niet geëvalueerd, daarom kunnen hier geen uitspraken over gedaan worden. De sensitiviteit is 67,9% (n=56) bij patiënten met een ernstige infectie, waarbij materiaal is afgenomen <14 dagen na 1^e ziektedag. Omdat dit percentage gebaseerd is op een beperkte set monsters is bevestiging met grotere monsteraantallen nodig.
- c. De sensitiviteit (54,3%, n=46) in populaties met milde of asymptomatische klachten, waarbij materiaal is afgenomen >10 dagen na 1^e ziektedag, voldoet niet aan de vooraf gestelde

criteria. Omdat dit percentage gebaseerd is op een beperkte set monsters, is bevestiging met grotere monsteraantallen nodig.

- d. Neutralisatie testen zijn nog niet uitgevoerd in correlatie met deze ELISA, daarom kunnen hier geen uitspraken over gedaan worden.
- e. De specificiteit is hoog, maar voldoet net niet aan de vooraf gestelde criteria met 97,4% (n=78).

Platelia SARS-CoV-2 Total Ab (3 labs, totaal panel sensitiviteit n=185; specificiteit n=122)

- a. De eigenschappen in ernstige SARS-CoV-2 infecties waarbij materiaal is afgenomen >14 dagen na de 1^e ziektedag zijn nog niet geëvalueerd, daarom kunnen hier geen uitspraken over gedaan worden.
- b. De sensitiviteit is 71,7% (n=99) bij patiënten met een ernstige infectie, waarbij materiaal is afgenomen <14 dagen na 1^e ziektedag. Omdat dit percentage gebaseerd is op een beperkte set monsters is bevestiging met grotere monsteraantallen nodig.
- c. De sensitiviteit (89,2%, n=83) in populaties met milde of asymptomatische klachten, waarbij materiaal is afgenomen >14 dagen na 1^e ziektedag, voldoet niet aan de vooraf gestelde criteria voor diagnostiek. De sensitiviteit in populaties met milde of asymptomatische klachten waarbij materiaal is afgenomen <14 dagen na 1^e ziektedag is 66,7% (n=3). Omdat deze percentages gebaseerd zijn op beperkte sets monsters, is bevestiging met grotere monsteraantallen nodig.
- d. Neutralisatie testen zijn nog niet uitgevoerd in correlatie met deze ELISA, daarom kunnen hier geen uitspraken over gedaan worden.
- e. De specificiteit voldoet niet aan de vooraf gestelde criteria met 94,3% (n=122).

NovaLisa® SARS-CoV-2 IgG (1 lab, totaal panel sensitiviteit n=78; specificiteit n=72)

- a. De eigenschappen in ernstige SARS-CoV-2 infecties waarbij materiaal is afgenomen >14 dagen na de 1^e ziektedag zijn nog niet geëvalueerd, daarom kunnen hier geen uitspraken over gedaan worden.
- b. De sensitiviteit is 35,7% (n=14) bij patiënten met een ernstige infectie, waarbij materiaal is afgenomen <10 dagen na 1^e ziektedag en 74,6% (n=59) bij afname ≥10 dagen. Omdat deze percentages gebaseerd zijn op een beperkte set monsters is bevestiging met grotere monsteraantallen nodig. De sensitiviteit in ernstige SARS-CoV-2 infecties waarbij materiaal is afgenomen <14 dagen na 1^e ziektedag is nog niet specifiek geëvalueerd.
- c. De sensitiviteit (100%, n=5) in populaties met milde of asymptomatische klachten, waarbij materiaal is afgenomen ≥10 dagen na 1^e ziektedag, voldoet aan de vooraf gestelde criteria. Omdat dit percentage gebaseerd is op een zeer beperkte set monsters, is bevestiging met grotere monsteraantallen nodig. De sensitiviteit in populaties met milde klachten waarbij materiaal is afgenomen >14 dagen na 1^e ziektedag is nog niet specifiek geëvalueerd.
- d. Neutralisatie testen zijn nog niet uitgevoerd in correlatie met deze ELISA, daarom kunnen hier geen uitspraken over gedaan worden.
- e. De specificiteit is hoog maar voldoet niet aan de vooraf gestelde criteria met 95,8% (n=72). Omdat dit percentage gebaseerd is op een beperkte set monsters is bevestiging met grotere monsteraantallen nodig.

NovaLisa® SARS-CoV-2 IgM (1 lab, total panel sensitiviteit n=78; specificiteit n=72)

- a. De eigenschappen in ernstige SARS-CoV-2 infecties waarbij materiaal is afgenomen >14 dagen na de 1^e ziektedag zijn nog niet geëvalueerd, daarom kunnen hier geen uitspraken over gedaan worden.

- b. De sensitiviteit is 7,1% (n=14) bij patiënten met een ernstige infectie, waarbij materiaal is afgenomen <10 dagen na 1^e ziektedag en 84,7% (n=59) bij afname ≥10 dagen. Omdat deze percentages gebaseerd zijn op een beperkte set monsters is bevestiging met grotere monsteraantallen nodig. De sensitiviteit in ernstige SARS-CoV-2 infecties waarbij materiaal is afgenomen <14 dagen na 1^e ziektedag is nog niet specifiek geëvalueerd.
- c. De sensitiviteit (0%, n=5) in populaties met milde of asymptomatische klachten, waarbij materiaal is afgenomen ≥10 dagen na 1^e ziektedag, voldoet niet aan de vooraf gestelde criteria. Omdat dit percentage gebaseerd is op een zeer beperkte set monsters, is bevestiging met grotere monsteraantallen nodig. De sensitiviteit in populaties met milde klachten waarbij materiaal is afgenomen >14 dagen na 1^e ziektedag is nog niet specifiek geëvalueerd.
- d. Neutralisatie testen zijn nog niet uitgevoerd in correlatie met deze ELISA, daarom kunnen hier geen uitspraken over gedaan worden.
- e. De specificiteit voldoet aan de vooraf gestelde criteria met 98,6% (n=72). Omdat dit percentage gebaseerd is op een beperkte set monsters is bevestiging met grotere monsteraantallen nodig.

NovaLisa® SARS-CoV-2 IqA (1 lab, total panel sensitiviteit n=78; specificiteit n=72)

- a. De eigenschappen in ernstige SARS-CoV-2 infecties waarbij materiaal is afgenomen >14 dagen na de 1^e ziektedag zijn nog niet geëvalueerd, daarom kunnen hier geen uitspraken over gedaan worden.
- b. De sensitiviteit is 42,9% (n=14) bij patiënten met een ernstige infectie, waarbij materiaal is afgenomen < 10 dagen na 1^e ziektedag en 84,7% (n=59) bij afname ≥10 dagen. Omdat deze percentages gebaseerd zijn op een beperkte set monsters is bevestiging met grotere monsteraantallen nodig. De sensitiviteit in ernstige SARS-CoV-2 infecties waarbij materiaal is afgenomen <14 dagen na 1^e ziektedag is nog niet specifiek geëvalueerd.
- c. De sensitiviteit (20%, n=5) in populaties met milde of asymptomatische klachten, waarbij materiaal is afgenomen ≥10 dagen na 1^e ziektedag, voldoet niet aan de vooraf gestelde criteria. Omdat dit percentage gebaseerd is op een zeer beperkte set monsters, is bevestiging met grotere monsteraantallen nodig. De sensitiviteit in populaties met milde klachten waarbij materiaal is afgenomen >14 dagen na 1^e ziektedag is nog niet specifiek geëvalueerd.
- d. Neutralisatie testen zijn nog niet uitgevoerd in correlatie met deze ELISA, daarom kunnen hier geen uitspraken over gedaan worden.
- e. De specificiteit voldoet niet aan de vooraf gestelde criteria met 88,9% (n=72). Omdat dit percentage gebaseerd is op een beperkte set monsters is bevestiging met grotere monsteraantallen nodig.

3.2.2 Resultaten van auto-analyzer antilichaam testen

LIAISON SARS-CoV-2 IgG (17 labs, totaal panel sensitiviteit n=709; specificiteit n=795)

- a. De sensitiviteit (94,5%, n=289) voor diagnose bij patiënten met een ernstige infectie, waarbij materiaal is afgenomen >14 na 1^e ziektedag voldoet net niet aan de vooraf gestelde criteria.
- b. De sensitiviteit is 26,7% (n=232) bij patiënten met een ernstige infectie, waarbij materiaal is afgenomen <14 dagen na 1^e ziektedag.
- c. De sensitiviteit (81,0%, n=179) in populaties met milde of asymptomatische klachten, bij sera afgenomen >14 dagen na 1^e ziektedag, voldoet niet aan de vooraf opgestelde criteria. De sensitiviteit is 44,4% (n=9) voor diagnose bij patiënten met een milde of asymptomatische infectie waarbij materiaal is afgenomen <14 dagen na 1^e ziektedag. Omdat dit laatste

percentage gebaseerd is op een beperkte set monsters is bevestiging met grotere monsteraantallen nodig.

- d. De correlatie met neutraliserende antilichamen is beperkt met een sensitiviteit van 81% (n=165) bij sera met een titer in PRNT50.
- e. De specificiteit is hoog maar voldoet niet aan de vooraf gestelde criteria met 97,1% (n=795).

ARCHITECT SARS-CoV-2 IgG assay (6 labs, totaal panel sensitiviteit n= 209; specificiteit n=138)

- a. De sensitiviteit (95,6%, n=45) voor diagnose bij patiënten met een ernstige infectie, waarbij materiaal is afgenomen >14 dagen na 1^e ziektedag voldoet aan de vooraf gestelde criteria. Hiervan is bevestiging met grotere monsteraantallen nodig.
- b. De sensitiviteit is 34,3% (n=70) bij patiënten met een ernstige infectie, waarbij materiaal is afgenomen <14 dagen na 1^e ziektedag. Hiervan is bevestiging met grotere monsteraantallen nodig.
- c. De sensitiviteit (88,9%, n=81) in populaties met milde of asymptomatische klachten, bij monsters afgenomen >14 dagen na 1^e ziektedag, voldoet niet aan alle vooraf gestelde criteria. De sensitiviteit is 7,7% (n=13) voor diagnose bij patiënten met milde of asymptomatische infectie waarbij materiaal <14 na 1^e ziektedag is afgenomen. Omdat deze percentages gebaseerd zijn op beperkte sets monsters is bevestiging met grotere monsteraantallen nodig.
- d. Neutralisatie testen zijn nog niet uitgevoerd in correlatie met deze auto-analyzer test, daarom kunnen hier geen uitspraken over gedaan worden.
- e. De specificiteit voldoet aan de vooraf gestelde criteria met 100% (n=138).

COVID-19 VIRCLIA[®] IgG monotest (2 labs, totaal panel sensitiviteit n=80; specificiteit n=129)

- a. De eigenschappen in ernstige SARS-CoV-2 infecties waarbij materiaal is afgenomen >14 dagen na de 1^e ziektedag zijn nog niet geëvalueerd, daarom kunnen hier geen uitspraken over gedaan worden.
- b. De sensitiviteit is 58,3% (n=24) bij patiënten met een ernstige infectie, waarbij materiaal is afgenomen <10 dagen na 1^e ziektedag en 88,9% (n=54) bij afname ≥10 dagen. Hiervan is bevestiging met grotere monsteraantallen nodig. De sensitiviteit in ernstige SARS-CoV-2 infecties waarbij materiaal is afgenomen <14 dagen na 1^e ziektedag is nog niet specifiek geëvalueerd.
- c. De sensitiviteit op basis van slechts 2 samples was 100% in populaties met milde of asymptomatische klachten, bij monsters afgenomen ≥10 dagen na 1^e ziektedag. Omdat dit percentage gebaseerd is op een zeer beperkte set monsters, is bevestiging met grotere monsteraantallen nodig. De sensitiviteit in populaties met milde klachten waarbij materiaal is afgenomen >14 dagen na 1^e ziektedag is nog niet specifiek geëvalueerd.
- d. Neutralisatie testen zijn nog niet uitgevoerd in correlatie met deze auto-analyzer test, daarom kunnen hier geen uitspraken over gedaan worden.
- e. De specificiteit is hoog maar voldoet net niet aan de vooraf gestelde criteria met 96,1% (n=129).

COVID-19 VIRCLIA[®] IgM+IgA monotest (1 lab, totaal panel sensitiviteit n=68; specificiteit n=69)

- a. De eigenschappen in ernstige SARS-CoV-2 infecties waarbij materiaal is afgenomen >14 dagen na de 1^e ziektedag zijn nog niet geëvalueerd, daarom kunnen hier geen uitspraken over gedaan worden.
- b. De sensitiviteit is 75,0% (n=12) bij patiënten met een ernstige infectie, waarbij materiaal is afgenomen <10 dagen na 1^e ziektedag en 92,6% bij afname ≥10 dagen. Hiervan is bevestiging

met grotere monsteraantallen nodig. De sensitiviteit in ernstige SARS-CoV-2 infecties waarbij materiaal is afgenomen <14 dagen na 1^e ziektedag is nog niet specifiek geëvalueerd.

- c. De sensitiviteit op basis van slechts twee samples was 50% in populaties met milde of asymptomatische klachten, bij sera afgenomen ≥ 10 na 1^e ziektedag. Omdat dit percentage gebaseerd is op een zeer beperkte set monsters, is bevestiging met grotere monsteraantallen nodig. De sensitiviteit in populaties met milde klachten waarbij materiaal is afgenomen >14 dagen na 1^e ziektedag is nog niet specifiek geëvalueerd.
- d. Neutralisatie testen zijn nog niet uitgevoerd in correlatie met deze auto-analyzer test, daarom kunnen hier geen uitspraken over gedaan worden.
- e. De specificiteit voldoet niet aan de vooraf gestelde criteria met 92,8% (n=69). Omdat dit percentage gebaseerd is op een beperkte set monsters is bevestiging met grotere monsteraantallen nodig.

Elecsys® Anti-SARS-CoV-2 (3 labs, totaal panel sensitiviteit n=191; specificiteit n=244)

- a. De sensitiviteit (91,4%, n=35) voor diagnose bij patiënten met een ernstige infectie, waarbij materiaal is afgenomen >14 dagen na 1^e ziektedag voldoet niet aan de vooraf gestelde criteria. Hiervan is bevestiging met grotere monsteraantallen nodig.
- b. De sensitiviteit is 72,1% (n=104) bij patiënten met een ernstige infectie, waarbij materiaal is afgenomen <14 dagen na 1^e ziektedag.
- c. De sensitiviteit (83,7%, n=49) in populaties met milde of asymptomatische klachten, bij sera afgenomen >14 dagen na 1^e ziektedag voldoet niet aan de vooraf gestelde criteria. Omdat dit percentage gebaseerd is op een beperkte set monsters, is bevestiging met grotere monsteraantallen nodig.
- d. Neutralisatie testen zijn nog niet uitgevoerd in correlatie met deze auto-analyzer test, daarom kunnen hier geen uitspraken over gedaan worden.
- e. De specificiteit voldoet aan de vooraf gestelde criteria met 100% (n=244).

Siemens Healthineers SARS-CoV-2 total antibody test, Centaur en Atellica (1 lab, totaal panel sensitiviteit n=20; specificiteit n=0)

- a. De sensitiviteit (95,0%, n=20) voor diagnose bij patiënten met een ernstige infectie, waarbij materiaal is afgenomen met onbekend aantal dagen na 1^e ziektedag voldoet aan de vooraf gestelde criteria. Dit moet verder onderzocht worden met meer gespecificeerde data.
- b. Zie punt a.
- c. De eigenschappen in populaties met milde of asymptomatische klachten, bij sera afgenomen >14 dagen na 1^e ziektedag zijn nog niet geëvalueerd, daarom kunnen hier geen uitspraken over gedaan worden.
- d. Neutralisatie testen zijn nog niet uitgevoerd in correlatie met deze auto-analyzer test, daarom kunnen hier geen uitspraken over gedaan worden.
- e. De specificiteit van IgG in controlegroepen en/of mogelijk kruis reagerende infecties is nog niet geëvalueerd, daarom kunnen hier geen uitspraken over gedaan worden.

3.3 Correlatie positieve uitslag in ELISA met aanwezigheid neutraliserende antilichamen.

Afhankelijk van het doel van het uitvoeren van serologie kan het essentieel zijn om de betrouwbaarheid van routine serologietesten als proxy voor de aanwezigheid van neutraliserende antilichamen vast te stellen. Test capaciteit voor het bepalen van de aanwezigheid van neutraliserende antilichamen is in ieder geval aanwezig bij Erasmus MC en RIVM. Aanwezigheid van

neutraliserende antilichamen is een mogelijke aanwijzing voor beschermende immuniteit. De sensitiviteit van de testen uit dit rapport berekent met een neutralisatie test als referentie test zijn hierboven reeds vermeld onder punt "d".

In een cohort van n=47 patiënten met milde klachten die positief waren voor aanwezigheid van Ab met de Wantai Ab ELISA, werd in 34/47 (72%) patiënten aanwezigheid van neutraliserende antilichamen op basis van een VNT₅₀ gevonden en in 12/47 (26%) patiënten bij een cutoff van 90% remming.

In een cohort van n=111 patiënten met ernstige klachten die positief waren voor aanwezigheid van Ab met de Wantai Ab ELISA, werd in 102/111 (92%) patiënten aanwezigheid van neutraliserende antilichamen op basis van VNT₅₀ gevonden en 95/111 (86%) patiënten bij een cutoff 90% remming in de VNT. Deze data lijken een eerste aanwijzing voor een minder goede correlatie tussen positiviteit in de Wantai total Ab ELISA met aanwezigheid van neutraliserende antilichamen in cohorten met milde klachten (patiënten zonder ziekenhuisopname).

3.4 Samenvatting eerste laboratorium resultaten

De ELISA of auto-analyzers variëren in hoe ze presteren. *In bepaalde groepen zijn de monsteraantallen te klein voor sterke conclusies met betrekking tot gebruik, en deze moeten nog bevestigd worden met grotere monsteraantallen. Daarom is het belangrijk dat laboratoria de achterliggende data in paragrafen 3.1-3.3 betrekken in hun besluitvorming.*

De volgende testen voldoen op dit moment aan het vooraf gestelde criterium van specificiteit >98% wanneer alle specificatie panels van de verschillende laboratoria bij elkaar genomen worden:

- Wantai SARS-CoV-2 Ab (99,5%, n=1167)
- EUROIMMUN SARS-CoV-2 IgG (99,0%, n=493)
- EDI Novel Coronavirus COVID-19 ELISA IgM (98,5%, n=199)
- Creative Diagnostics SARS-CoV-2 IgG (98,7%, n=78)
- NovaLisa® SARS-CoV-2 IgM (98,6%, n=72)
- Architect SARS-CoV-2 IgG (100%, n=138)
- Elecsys® Anti-SARS-CoV-2 (100%, n=129)

Twee van deze zeven testen die aan de vooraf gestelde criteria voor specificiteit voldoen, zijn geëvalueerd met in totaal <100 monsters, hierbij is verder onderzoek met grotere monstersets nodig. De Siemens Healthineers SARS-CoV-2 total antibody test is nog niet geëvalueerd voor specificiteit met behulp van monsters van een controlegroep en/of mogelijk kruis reagerende infecties. Serologische testen met een lagere specificiteit kunnen wel ingezet worden, maar dan moet er vervolgonderzoek plaatsvinden. Dit moet voor specifieke situaties afgewogen worden door lokale experts.

De onderstaande testen voldoen op dit moment (bij evaluatie met in het algemeen beperkte monsteraantallen) aan het vooraf gestelde criterium van sensitiviteit >95% om eventueel gebruikt kunnen worden **in aanvulling op** voorkeursdiagnostiek bij **ernstig zieke patiënten, > 14 dagen na 1^e ziektedag**. De standaard voor diagnostiek in deze setting is echter RT-PCR. Serologie zou voor diagnostiek bij deze groep patiënten, waarbij op basis van kliniek (bv op basis van CT-scan) een sterk vermoeden bestaat op een SARS-CoV-2 infectie maar waarbij de PCR herhaaldelijk negatief is, van diagnostische waarde kunnen zijn.

- Wantai SARS-CoV-2 Ab (99,5%, n=431)
- EUROIMMUN SARS-CoV-2 IgA (96,9%, n=65)

- Vircell COVID-19 ELISA IgG (100%, n=15)
- Vircell COVID-19 ELISA IgM+IgA (100%, n=15)
- Architect SARS-CoV-2 IgG (95,6%, n=45)

De Wantai SARS-CoV-2 Ab en de Architect SARS-CoV-2 IgG zijn hiervan de enige kits die ook voldoen aan het criterium voor specificiteit van >98%. De Recomwell, Creative Diagnostics IgG en IgM, Platelia, NovaLisa IgG, IgM en IgA, Virclia monotesten IgG en IgM/IgA en de Siemens Healthineers antilichaam testen moeten nog getest worden in patiënten met ernstige infecties waarbij monsternamen >14 dagen na 1^e ziektedag plaatsvindt.

Onderstaande test voldoet aan het vooraf gestelde criterium van sensitiviteit >95% voor diagnostiek in een populatie van **patiënten met milde klachten of met asymptomatische infecties** waarbij monsternamen is afgenomen **>14 dagen na start van symptomen**. Deze sensitiviteit is ook hoog genoeg voor het testen van subpopulaties en voor sero-prevalentie onderzoeken.

- Wantai SARS-CoV-2 Ab (95,2%, n=249)

De Wantai SARS-CoV-2 Ab voldoet ook aan het criterium voor specificiteit van >98%. De NovaLisa[®] SARS-CoV-2 IgG en de COVID-19 VIRCLIA[®] IgG monotest zijn met een zeer beperkt aantal monsters getest. De in dit rapport gemelde waarden voor deze 2 laatste testen voldoen weliswaar aan de van tevoren opgestelde criteria bij populaties met milde klachten maar zijn niet betrouwbaar vanwege te kleine monsteraantallen en moeten verder onderzocht worden voordat conclusies getrokken kunnen worden. De Siemens Healthineers SARS-CoV-2 total antibody test is nog niet geëvalueerd in populaties met milde en/of asymptomatische klachten.

De volgende testen voldoen niet aan het vooraf gestelde criterium voor **diagnostiek** in een populatie van patiënten met milde klachten of met asymptomatische infecties, maar zijn mogelijk wél geschikt voor het testen van subpopulaties en voor sero-prevalentie onderzoeken omdat bij monsterafname waarbij monsternamen is afgenomen **>14 dagen na start van symptomen**, omdat de IgG (of Ig totaal) een sensitiviteit >85% heeft.

- Platelia SARS-CoV-2 Total Ab (89,2%, n=83)
- Architect SARS-CoV-2 IgG (88,9%, n=81)

Na bevestiging van deze sensitiviteit met voldoende monsters zou het inzetten van deze testen zinvol kunnen zijn wanneer door (inter)nationaal onderzoek beter inzichtelijk is geworden hoe aanwezigheid van antistoffen een indicatie kan zijn voor aanwezigheid van beschermende immuniteit tegen herinfectie en mogelijk een verminderde besmettelijkheid. Het inzetten van deze testen moet per situatie en vraagstelling bekeken worden door lokale experts.

3.5 Voorlopige conclusie op grond van eerste laboratorium resultaten

Op grond van de eerste resultaten kunnen de volgende vier voorlopige conclusies getrokken worden voor inzet van testen ten behoeve van patiëntenzorg:

1. Niet van alle hier geteste antilichaam testen is de specificiteit >98%. Serologische testen met een lagere specificiteit kunnen wel ingezet worden, maar dan moet er vervolgonderzoek plaatsvinden. Dit moet voor specifieke situaties afgewogen worden door lokale experts.
2. Voor diagnostiek bij patiënten met ernstige klachten wanneer monsternamen plaatsvindt na minimaal 14 dagen na de 1^e ziektedag voldoen de Wantai SARS-CoV-2 Ab en de Architect SARS-CoV-2 IgG aan alle vooraf gestelde criteria voor sensitiviteit en specificiteit. Echter voor een

solide onderbouwing moeten voor de Architect test nog meer samples in deze categorie geëvalueerd worden. De RecomWell SARS-CoV-2 IgG, Vircell COVID-19 IgG en IgM ELISAs, Creative Diagnostics IgG, Platelia Total Ab, en IgM ELISAs, NovaLisa IgG, IgM en IgA ELISAs, en alle overige hier geëvalueerde auto-analyser antilichaam testen zijn nog niet (voldoende) onderzocht in deze populatie en zouden verder onderzocht moeten worden.

3. Bij het testen van doorgemaakte infecties van populaties met milde klachten of asymptomatische infecties voldoet de Wantai SARS-CoV-2 Ab ELISA bij monsterafname >14 dagen na 1^e ziektedag aan alle vooraf gestelde criteria. Andere geëvalueerde antilichaam testen voldoen niet aan alle criteria of zijn nog niet (voldoende) onderzocht op prestaties in deze populatie en zouden nog verder onderzocht moeten worden.
4. Er is een goede correlatie tussen positiviteit in de Wantai total Ab ELISA met aanwezigheid van neutraliserende antilichamen. Echter, in de populatie met milde klachten (patiënten zonder ziekenhuisopname), wordt een minder goede correlatie gezien. Dit dient nog verder uitgezocht te worden met grotere aantallen samples.

4 Stappenplan voor de nabije toekomst

Dit is een gebundeld verslag van diverse data verzameld door Nederlandse medisch microbiologische laboratoria, allen ISO 15189 geaccrediteerd met een flexibele scope binnen de werkvelden Medische Microbiologie of Medische Immunologie met een relevant bronelement. Het rapport zal aangepast worden wanneer nieuwe validatie data verkregen wordt. Het wordt dan ook zeer op prijs gesteld als laboratoria hun data met betrekking tot de prestatiekenmerken van testen blijven delen met de collega laboratoria via de taskforce serologie.

Referenties

1. WHO. "Immunity passports" in the context of COVID-19. 2020 28 April 2020]; Available from: <https://www.who.int/news-room/commentaries/detail/immunity-passports-in-the-context-of-covid-19>.
2. Okba, N.M.A., et al., *Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2-Specific Antibody Responses in Coronavirus Disease 2019 Patients*. Emerg Infect Dis, 2020. **26**(7).
3. Yongchen, Z., et al., *Different longitudinal patterns of nucleic acid and serology testing results based on disease severity of COVID-19 patients*. Emerg Microbes Infect, 2020: p. 1-14.
4. Callow, K.A., et al., *The time course of the immune response to experimental coronavirus infection of man*. Epidemiol Infect, 1990. **105**(2): p. 435-46.
5. WHO. *FIND SARS-CoV-2 Diagnostic pipeline*. 02-06-2020]; Available from: <https://www.finddx.org/covid-19/pipeline/>.
6. Kruttgen, A., et al., *Comparison of four new commercial serologic assays for determination of SARS-CoV-2 IgG*. J Clin Virol, 2020. **128**: p. 104394.
7. Montesinos, I., et al., *Evaluation of two automated and three rapid lateral flow immunoassays for the detection of anti-SARS-CoV-2 antibodies*. J Clin Virol, 2020. **128**: p. 104413.
8. Jaaskelainen, A.J., et al., *Evaluation of commercial and automated SARS-CoV-2 IgG and IgA ELISAs using coronavirus disease (COVID-19) patient samples*. Euro Surveill, 2020. **25**(18).
9. Kontou, P.I., et al., *Antibody Tests in Detecting SARS-CoV-2 Infection: A Meta-Analysis*. Diagnostics (Basel), 2020. **10**(5).
10. Tre-Hardy, M., et al., *Validation of a chemiluminescent assay for specific SARS-CoV-2 antibody*. Clin Chem Lab Med, 2020.
11. Van Elslande, J., et al., *Diagnostic performance of 7 rapid IgG/IgM antibody tests and the Euroimmun IgA/IgG ELISA in COVID-19 patients*. Clin Microbiol Infect, 2020.

12. Traugott, M., et al., *Performance of SARS-CoV-2 antibody assays in different stages of the infection: Comparison of commercial ELISA and rapid tests*. J Infect Dis, 2020.
13. Tuaille, E., et al., *Detection of SARS-CoV-2 antibodies using commercial assays and seroconversion patterns in hospitalized patients*. J Infect, 2020.
14. Beavis, K.G., et al., *Evaluation of the EUROIMMUN Anti-SARS-CoV-2 ELISA Assay for detection of IgA and IgG antibodies*. J Clin Virol, 2020. **129**: p. 104468.
15. Whitman, J.D., et al., *Test performance evaluation of SARS-CoV-2 serological assays*. medRxiv, 2020.
16. Bundschuh, C., et al., *Evaluation of the EDI enzyme linked immunosorbent assays for the detection of SARS-CoV-2 IgM and IgG antibodies in human plasma*. Clin Chim Acta, 2020. **509**: p. 79-82.
17. Egger, M., et al., *Comparison of the Elecsys(R) Anti-SARS-CoV-2 immunoassay with the EDI enzyme linked immunosorbent assays for the detection of SARS-CoV-2 antibodies in human plasma*. Clin Chim Acta, 2020. **509**: p. 18-21.
18. Kohmer, N., et al., *Clinical performance of different SARS-CoV-2 IgG antibody tests*. J Med Virol, 2020.
19. Kohmer, N., et al., *Brief clinical evaluation of six high-throughput SARS-CoV-2 IgG antibody assays*. J Clin Virol, 2020. **129**: p. 104480.
20. Ong, D.S.Y., et al., *Comparison of diagnostic accuracies of rapid serological tests and ELISA to molecular diagnostics in patients with suspected coronavirus disease 2019 presenting to the hospital*. Clin Microbiol Infect, 2020.