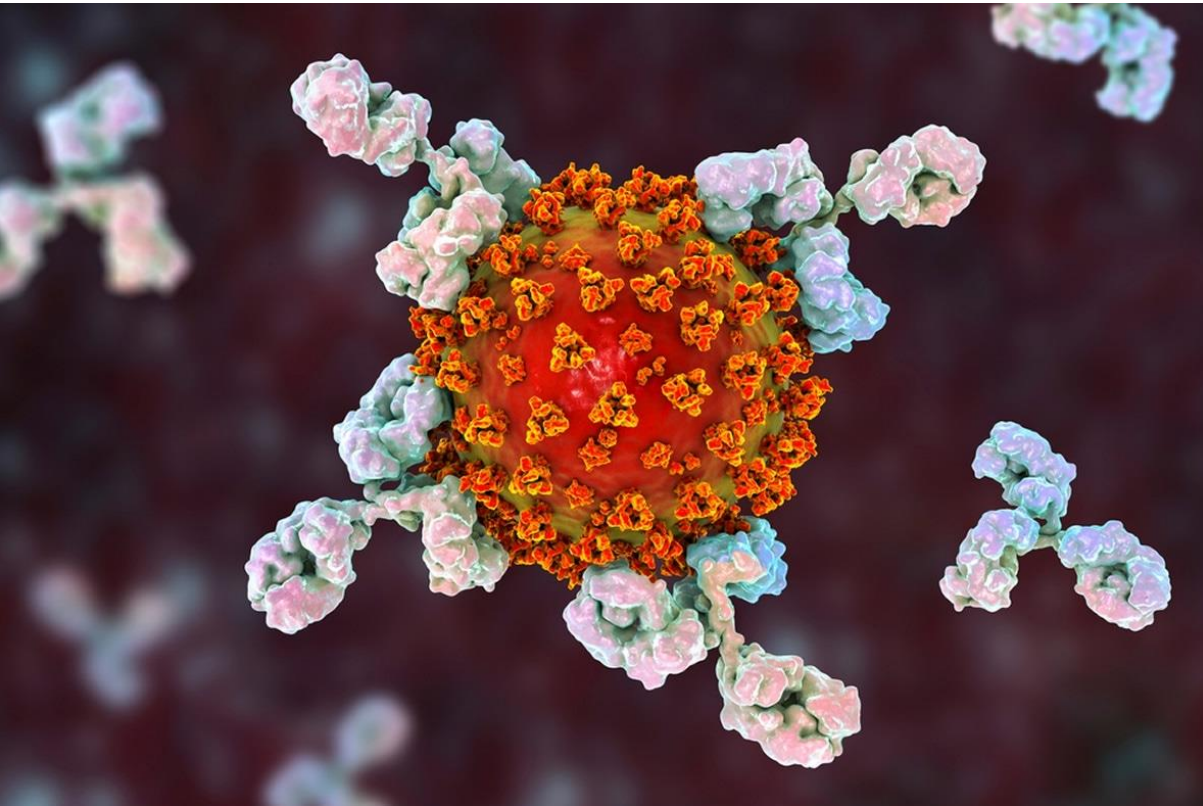


Elecsys® Anti-SARS-CoV-2 S assay

Roche

Miray Akgüç-Medikal Uzman, Roche Diagnostics Turkey



*Nötralizan antikor düzeyleri ve
aşı sonrası antikor yanıtları ile
ilgili mevcut veriler*

Roche SARS-CoV-2 Test Portföyü

Roche

Klinik Laboratuvarlar

Hızlı Testler

Tanı Testleri

Pozitif sonuç, yüksek olasılıkla test yapıldığı anda aktif enfeksiyon varlığını ve bulaştırıcılığı gösterir

- **cobas**® SARS-CoV-2 **PCR** Testi
- **cobas**® SARS-CoV-2 & Influenza A/B **PCR** Testi
- **Elecsys**® SARS-CoV-2 **Antigen** Test



- SARS-CoV-2 **hızlı antijen** testi
- SARS-CoV-2 **hızlı antijen** testi- nazal

İmmünokimyasal Yanıt Testleri

Pozitif sonuç, yüksek olasılıkla test yapılan kişinin virüs ile geçmişte karşılaştığını gösterir. Bu sonuç olası bağışıklık değerlendirmesi için önemlidir.

- **Elecsys**® Anti-SARS-CoV-2 **kalitatif antikor** testi (N)
- **Elecsys**® Anti-SARS-CoV-2 **kantitatif antikor** testi (S)



- SARS-CoV-2 **hızlı antikor** testi

N: nükleokapsid proteini, S: spike proteini

Farklı antikor testlerinde doğru konumlandırma

Elecsys® Antikor Testleri: Yüksek verimli, Yüksek performanslı
Toplumlar ve bireylere yönelik Merkezi çözüm



**Anti-SARS-CoV-2/
Anti-SARS-CoV-2 S**

Seroprevalans Tespiti

**Antikor pozitifliği / olası
bağışıklık tespiti**

**NAA (PCR) testine
tamamlayıcı**

Birlikte kullanımı

**Düşük prevalansta bile
Seroprevalans tespiti**

Yüksek Hassasiyet

Anti-SARS-CoV-2 S

**Aşı ile kazanılmış
Bağışıklık Tespiti**

Plazma bağışçısı seçimi

Hasta başı Testler: Hızlı ve Kolay Çözüm
Bireylere yönelik Hastabaşı çözüm



SARS-CoV-2 Hızlı Antikor Testi

**Kısıtlama
Olmaksızın Test
yapabilme
imkanı****

**Güvenli ve Hızlı
Hastabaşı Testi**

**Tamamlayıcı
Laboratuvar
Testi*****

**Venöz Kan
Alımına Alternatif**

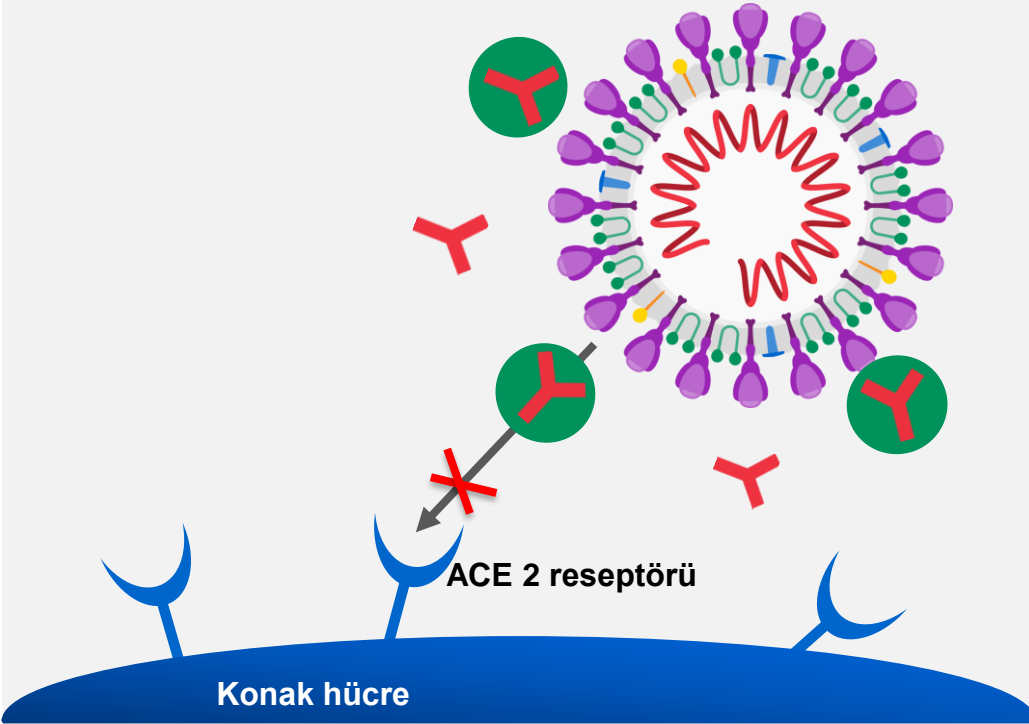
** Antikorların varlığı bağışıklık kazanıldığı anlamına gelmez fakat bireylerde tekrar enfeksiyon geçirme riski daha azdır

*** Sınırlı sağlık kapasitesi veya altyapısı bulunan durumlarda / yatan hastalara yönelik ve hasta başı testleri tercih edilecekse (ör: huzur evleri, ev bakımı hizmetleri, havalimanı doktoru)

Nötralizan antikorların önemi

Nötralizan antikorlar bağışıklığın bir bağlantısıdır

Anti-S nötralizan antikorlar



Nötralize edici antikorlar, enfeksiyon veya aşılama yanıtı olarak üretilen antikorların bir alt kümesidir.

Spike proteinini nötralize edici antikorlar, virüs tarafından konak hücrelere girmek için kullanılan ACE-2 reseptörüne SARS-CoV-2 erişimini engelleyebilir.

Bu nedenle, nötralize edici antikorların ölçülmesi şu anda korumanın en güvenilir yöntemidir. NT testi şunlar için yararlıdır:

- Enfeksiyon sonrası immün korumanın değerlendirilmesi
- Aşı etkinliğinin değerlendirilmesi (immünojenite)
- Terapötik veya profilaktik kullanımlar için konvelesan plazma seçimi

SARS-CoV-2 enfeksiyonundan veya ağır hastalıktan korunmak için gerekli minimum antikor titresi henüz tanımlanmamıştır.

1. Sette A and Crotty S (2020). Adaptive immunity to SARS-CoV-2 and COVID-19. Cell 184(4):861-880. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2021.01.007>

2. L'Huillier, AG. et al. (2021). Antibody persistence in the first 6 months following SARS-CoV-2 infection among hospital workers: a prospective longitudinal study. Clinical Microbiology and Infection. <https://doi.org/10.1016/j.cmi.2021.01.005>

Elecsys® Anti-SARS-CoV-2 S Testi

Kullanım amacı

İnsan serum ve plazmasında Akut Şiddetli Solunum Yetmezliği Sendromu Koronavirüs 2 (SARS-Cov-2) spike (S) protein reseptör bağlanma bölgesine karşı gelişen antikorların (IgG dahil) **kantitatif** olarak, in vitro tespitine dayalı immünokimyasal testtir.

Elektrokemilüminesans immünokimyasal testi, «ECLIA» Elecsys ve cobas e analizörlerinde kullanıma yönelik olarak geliştirilmiştir.

Nötralizan antikor düzeyleri ile korelasyon

Neden önemli?

Elecsys Anti-SARS-CoV-2 S testi, Spike'ın RBD'sine bağlı total antikorları tespit eder ve ölçer (nötralizan antikorlar dahildir, ancak sadece onlar değildir).

Bu test direkt bir nötralizan antikor saptama testi değildir.

Elecsys Anti-SARS-CoV-2 S testi ve aynı örneklerdeki viral nötralizasyon testleri ile elde edilen sonuçlar arasındaki iyi bir korelasyon, rutin test ve taramaya izin vererek nötralizasyon (ve dolaylı olarak bağışıklık) korelasyonu olarak kullanımını doğrulayacaktır.

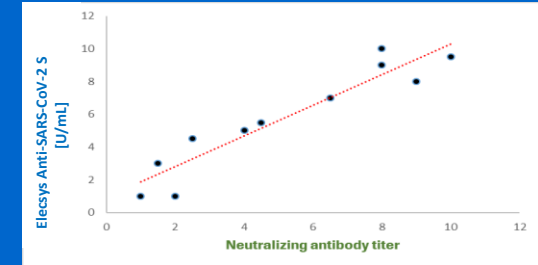
Kategorik uyum (kalitatif)

		Virus Neutralization Test	
		Positive (neutralizing)	Negative (non-neutralizing)
Elecsys® Anti-SARS-CoV-2 S	Positive (≥0.8 U/mL)	W	Y
	Negative (<0.8 U/mL)	X	Z

Çıktı: Yüzde uyum (PPA, PNA, POA)

Konkordansı
belirlemenin iki
yöntemi

Korelasyon (kantitatif)



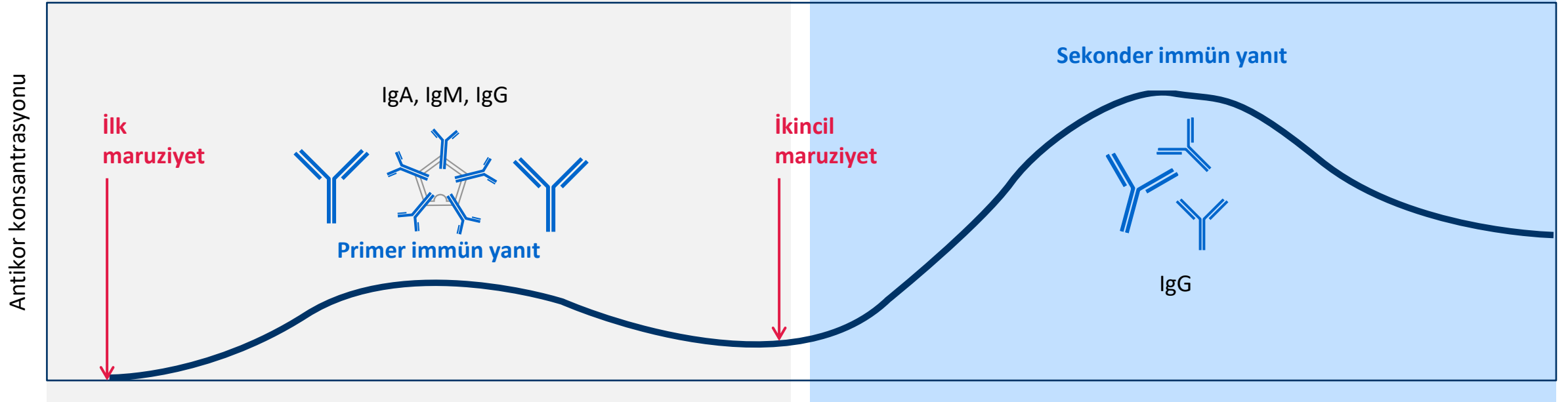
Çıktı: Korelasyon katsayısı (r)
anti-RBD titresini NT titresine çevirmeye yarar

Bağışıklık sistemi— vücudun enfeksiyona karşı savunması

İmmün hafıza

Primer immün yanıt sırasında antikorlar üretilir ve vücut aynı virüsle tekrar karşılaşır hızlı bir şekilde harekete geçmek için **hafıza hücreleri** vücutta kalır.

T ve B hücreleri daha hızlı, **daha yüksek** afiniteli ikincil bir antikor yanıtı üretebilir ve bu **ağırlıklı olarak IgG** salgılanmasıyla sonuçlanır.



https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/vaccines/different-vaccines/how-they-work.html?CDC_AA_refVal=https%3A%2F%2Fwww.cdc.gov%2Fcoronavirus%2F2019-ncov%2Fvaccines%2Fabout-vaccines%2Fhow-they-work.html

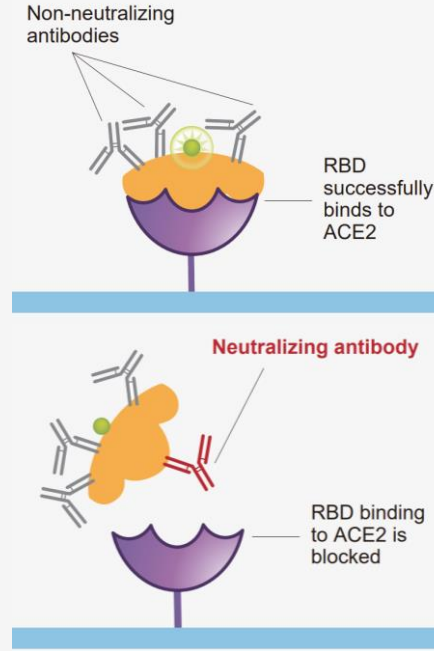
Ridell, *Immune Responses: Primary and Secondary*, 2020

Elecsys® Anti-SARS-CoV-2 S

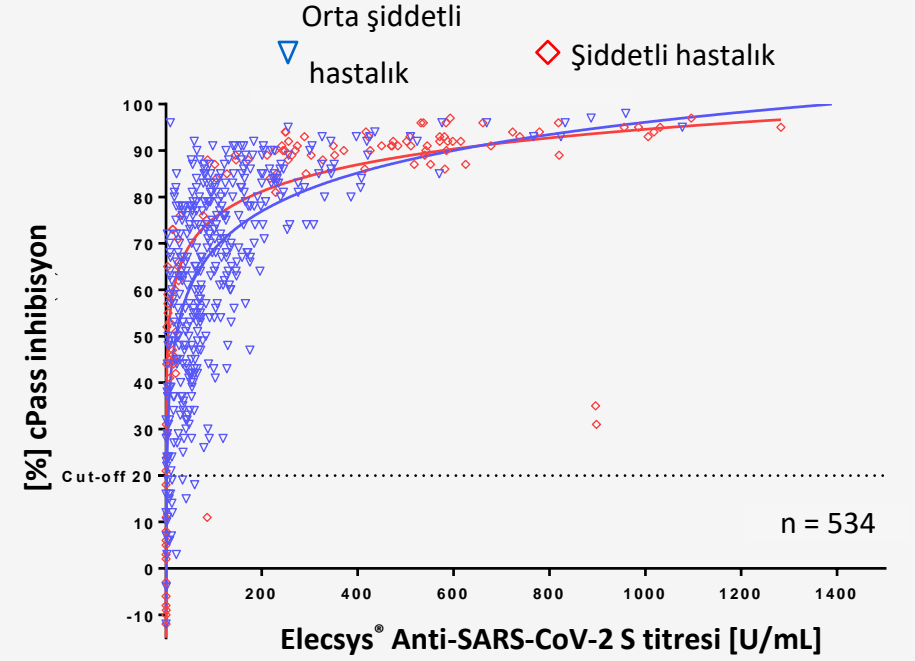
'Surrogate' virüs nötralizasyon testi ile iyi korelasyon

GenScript® cPass™ SARS-CoV-2 Nötralizasyon Antikor Tespit Kiti geleneksel doğrudan virüs nötralizasyon testlerine daha uygun bir alternatiftir ¹ Saflaştırılmış RBD ve ACE2 proteinlerini kullanan test, RBD/ACE2 etkileşiminin nAbs tarafından engellenmesini ölçer

cPass negatif*



cPass pozitif*



Elecsys® Anti-SARS-CoV-2 S ile ölçülen PCR pozitif hastalarda anti-S titerleri GenScript cPass tarafından ölçülen nAbs titreleri ile koreledir hafif ve ağır hastalık arasında anlamlı bir fark yoktur

* The GenScript cPass CE assay uses a cut-off of $\geq 20\%$ observed inhibition

¹ Tan, CW et al. (2020). A SARS-CoV-2 surrogate virus neutralization test based on antibody-mediated blockage of ACE2–spike protein–protein interaction. *Nat Biotechnol* 38, 1073–1078 (2020). <https://doi.org/10.1038/s41587-020-0631-z>

² Internal R&D data on file; Roche Diagnostics GmbH, Penzberg, Germany

Elecsys® Anti-SARS-CoV-2 S



Anti-RBD titrelerinin ve nötralizan kapasitenin yüksek kalitatif korelasyonu

cPass yöntemi sadece kalitatif yorumlama için onaylandığı için, Elecsys® Anti-SARS-CoV-2 S testi ve cPass testinin kalitatif okumaları bir 'field plot' analizinde karşılaştırıldı.

		cPass SARS-CoV-2 'Surrogate' Virus Nötralizasyon Testi		
		neutralizing (≥%20)	non-neutralizing (<%20)	Total
Elecsys® Anti-SARS-CoV-2 S	≥0.8 U/mL	490	19	509
	<0.8 U/mL	4	21	25
Total		494	40	534

PPA	%99.19 (%97.94-99.78)
NPA	%52.50 (%36.13-68.49)
PPV	%96.27 (%94.90-97.28)

		cPass SARS-CoV-2 'Surrogate' Virus Nötralizasyon Testi		
		neutralizing (≥%20)	non-neutralizing (<%20)	Total
Elecsys® Anti-SARS-CoV-2 S	≥15 U/mL	439	4	443
	<15 U/mL	55	36	91
Total		494	40	534

PPA	%88.87 (%85.76-91.50)
NPA	%90.00 (%76.34-97.21)
PPV	%99.10 (%97.74-99.64)

Hassasiyet için optimize edilmiş 0,8 U/mL cut-off
%99,19'luk çok yüksek pozitif uyum

Cut-off 15 U/mL daha iyi uyum için optimize edildi
Çok yüksek pozitif tahmin değeri %99,10

PPA: pozitif yüzde uyum; NPA: negatif yüzde uyum; PPV: pozitif tahmin değeri

1 Internal R&D data on file; Roche Diagnostics GmbH, Penzberg, Germany

*cPass sonuçları ACOV2S sonucu ≥200 U/mL olan çoğu örnek için maksimum nötralizasyonla belirtildiği gibi doygunluğa ulaştı (%80-100).

Elecsys® Anti-SARS-CoV-2 S



Anti-RBD titrelerinin ve nötralizan kapasitenin yüksek kalitatif korelasyonu

PCR ile doğrulanmış enfeksiyon ve ağır COVID-19 pnömonisi olan hastanede yatan 111 hastadan alınan 206 örnek virüs nötralizasyon kapasitesi için analiz edildi* ACOV2S sonuçlarına kıyasla iki farklı kalitatif cut-off uygulanmıştır:

- 0.8 U/mL, anti-RBD varlığını belirlemek için karar noktası olarak
- Virüs engelleme kapasitesinin tespiti ile optimize edilmiş korelasyon için 15 U/mL

		Virüs Nötralizasyon Testi		Toplam
		nötralizan (NT80 \geq 1:8**)	nötralizan olmayan	
Elecsys® Anti-SARS-CoV-2 S	\geq 0.8 U/mL	187	1	188
	<0.8 U/mL	6	12	18
	Total	193	13	206

PPA	%96.9 (%93.4-98.9)
NPA	%92.3 (%64.4-99.8)
PPV	%99.5 (%97.1-100)

		Virüs Nötralizasyon Testi		Toplam
		nötralizan (NT80 \geq 1:8)	nötralizan olmayan	
Elecsys® Anti-SARS-CoV-2 S	\geq 15 U/mL	164	0	164
	<15 U/mL	29	13	42
	Total	193	13	206

PPA	%85.0 (%79.1-89.7)
NPA	%100 (%75.3-100)
PPV	%100 (%97.8-100)

Hassasiyet için optimize edilmiş 0,8 U/mL kalitatif cut-off ile **%96,9'luk** çok yüksek pozitif yüzdellik uyum

Optimize edilmiş cut-off 15 U/mL **Çok yüksek Pozitif Tahmin Değeri %100**

* Fonksiyonel in vitro tüm virüs nötralizasyon testi, Viroclinics, Hollanda; NT ** 1:8 veya daha yüksek bir örnek seyreltmede % 80 nötralizasyon varlığı fonksiyonel in vitro virüs nötralizasyonu kabul edildi
PPA: pozitif yüzde uyum ; NPA: negatif yüzde uyum; PPV: pozitif tahmin değeri

Elecsys® Anti-SARS-CoV-2 S

Anti-RBD titrelerinin ve nötralizan kapasitenin yüksek kalitatif korelasyonu

PCR ile enfeksiyonu doğruladıktan sonra iyileşen bağışçılardan gelen 390 plazma bağıışı örneği in vitro tüm virüs nötralizan potansiyeli için analiz edildi*

ACOV2S sonuçlarına kıyasla iki farklı cut-off uygulanmıştır:

- 0.8 U/mL, anti-RBD varlığını belirlemek için karar noktası olarak
- Virüs engelleme kapasitesinin tespiti ile optimize edilmiş korelasyon için 15 U/mL

		Virus Neutralization Test		
		neutralizing (NT50 \geq 1:20**)	non-neutralizing	Total
Elecsys® Anti-SARS-CoV-2 S	\geq 0.8 U/mL	356	4	360
	<0.8 U/mL	2	28	30
	Total	358	32	390

PPA	99.4% (98.0-99.9%)
NPA	87.5% (71.0-96.5%)
PPV	98.9% (97.2-99.7%)

Hassasiyet için optimize edilmiş 0,8 U/mL kalitatif cut-off ile

Çok yüksek Pozitif Yüzde Uyum **99.4%**

		Virus Neutralization Test		
		neutralizing (NT50 \geq 1:20)	non-neutralizing	Total
Elecsys® Anti-SARS-CoV-2 S	\geq 15 U/mL	331	0	331
	<15 U/mL	27	32	59
	Total	358	32	390

PPA	92.5% (89.2-95.0%)
NPA	100% (89.1-100%)
PPV	100% (98.9-100%)

Optimize edilmiş cut-off 15 U/mL

Çok yüksek Pozitif Tahmin Değeri **100%**

* BROAD Enstitüsü plak azaltıcı nötralizasyon testi (PRNT), USA. ** >1:20'lik örnek seyreltmede %50 Nötralizasyon (NT50) varlığı fonksiyonel in vitro virüs nötralizasyonu PPA: pozitif yüzde uyum; NPA: negatif yüzde uyum; PPV: pozitif tahmin değeri
1 Internal R&D data on file; Roche Diagnostics GmbH, Penzberg, Germany

Elecsys® Anti-SARS-CoV-2 S

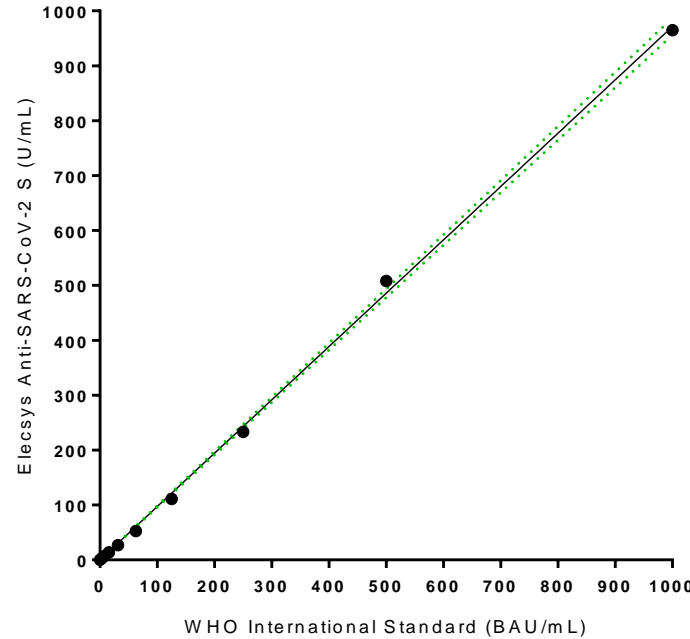
Anti-SARS-CoV-2 Ig için WHO Uluslararası Standardı ile korelasyon

Anti-SARS-CoV-2 immünoglobulin için 1. WHO Uluslararası Standardı 17 Aralık 2020'de yayınlandı^{1,2}

SARS-CoV-2 enfeksiyonunu atlatmış 11 kişiden elde edilen havuzlanmış plazma

İki farklı birim:

- Nötralizan antikor aktivitesi için IU
- Bağlayıcı antikor testleri için BAU



Elecsys® Anti-SARS-CoV-2 S ünitelerinin WHO Uluslararası Standart BAU ile korelasyonu

- Stok numuneden (1000 BAU / mL) LoQ (0.24 BAU / mL) test LOQ altına kadar mükemmel doğrusal dilüsyon
- Her iki birimin de sayısal değerleri oldukça yüksek bir derecede karşılık bulmuştur
- Pearson correlation coefficient: $r = 0.9996$
- Çevrim: Elecsys® U = $0.972 \times$ BAU
- Çevrim, tipik test varyansı aralığında minimum sayısal değişikliklere neden olur ve bu nedenle ihmal edilebilir

Elecsys® Anti-SARS-CoV-2 S testine özgü U / mL, anti-SARS-CoV-2 immünoglobulin için 1. WHO Uluslararası Standardının BAU / mL'sine eşdeğer kabul edilebilir

1. World Health Organization (2020). Establishment of the WHO International Standard and Reference Panel for anti-SARS-CoV-2 antibody. WHO/BS/2020.2403. Available at: <https://www.who.int/publications/m/item/WHO-BS-2020.2403>

2. First WHO International Standard Anti-SARS-CoV-2 Immunoglobulin (Human). Available at: https://www.nibsc.org/products/brm_product_catalogue/detail_page.aspx?catid=20/136

FDA konvalesan plazma cut-off değeri

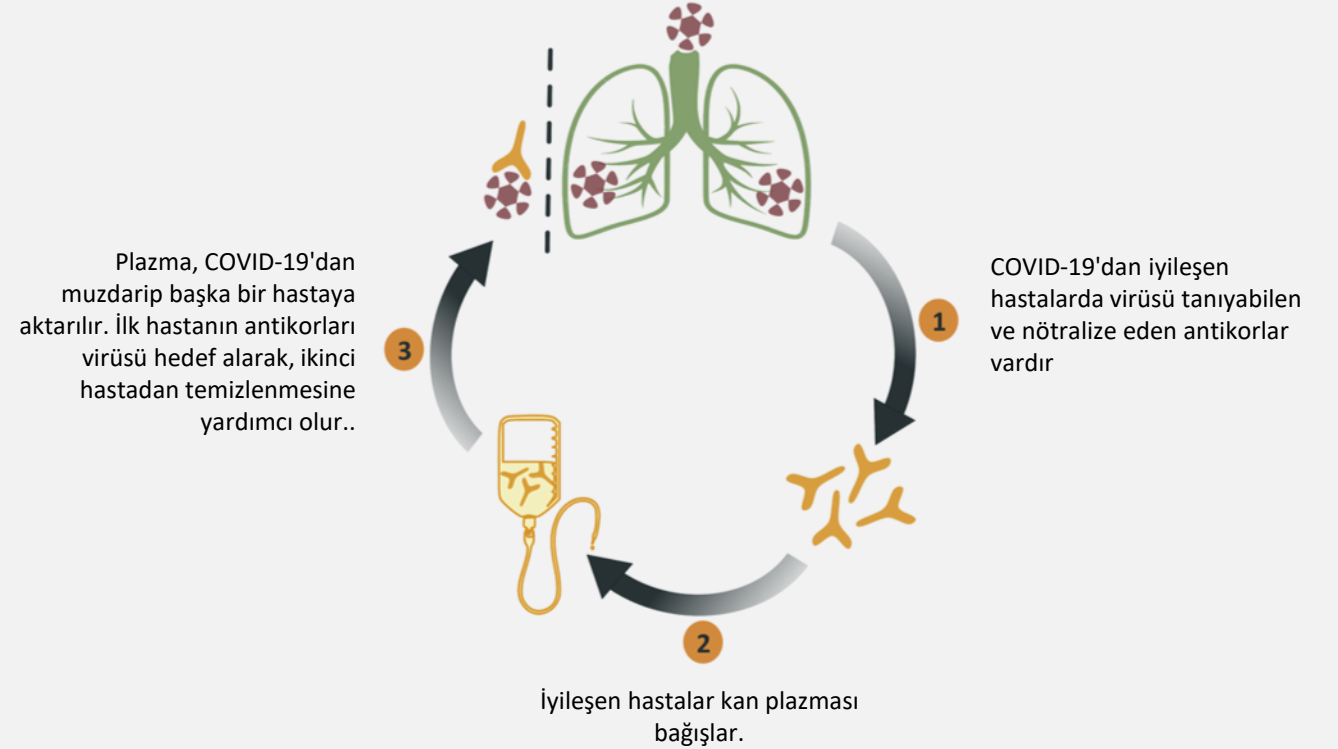
Konvelesan plazma kullanarak immün tabanlı tedavi



FDA Elecsys® Anti-SARS-CoV-2 S testi için konvelesan plazma titre eşik değerini ≥ 132 U/mL olarak belirlemiştir.

*<https://www.fda.gov/media/141477/download>

COVID-19 için konvelesan plazma



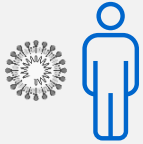
SARS-CoV-2 aşılmasında antikor testinin rolü

Test, özel hasta gruplarında Gerçek Dünya Verilerini (RWD) ve yanıtı anlamada önemli bir rol oynayabilir

Aşı öncesi kullanım



Bir kişiye **daha önce** SARS-CoV-2 bulaşıp bulaşmamış olduğunu belirlemek için



Aşıların **önceliklendirmesi** ve optimizasyonu



Aşı sonrası kullanım



Aşılamadan sonra bir popülasyonun bağışıklık durumunu anlama (RWD):

- Çeşitli aşıların sağladığı koruma süresi.
- Hem hücresel düzeyde hem de humoral yanıtlarda belirli bir bağışıklık yanıtının etkinliğini belirleyin.
- **Aşıların virüs mutasyonları üzerindeki etkinliği**
- Aşılama etkinliğinin sürveyansına ihtiyaç vardır.
- **Özel kohortlarda antikor yanıtı**
- Sağlık Çalışanları: Çoklu maruziyet sonrası bağışıklık durumlarını izleyin
- İmmün sistemi baskılanmış veya immünmodülatörlerle tedavi edilen hastalar (örneğin nakil hastaları, kanser hastaları)



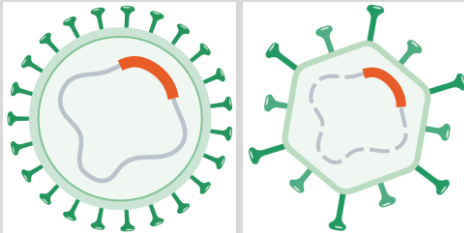
Aşı Sonrası Antikor Testleri

Aşı adaylarının çoğu, **spike** proteinine karşı antikor tepkisi oluşturmayı amaçlamaktadır.

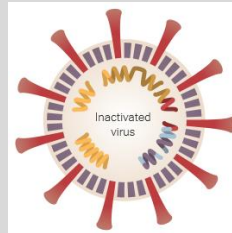
- Aşı sonrası antikor takibinde; **spike** antikorlarına özel testlerin tercih edilmesi daha uygundur.
- COI test sonuçları antikor miktarını göstermez, sadece **göreceli** sinyal/cut-off değeri verir.
- Antikor testlerinin nötralizan antikorlar ile uyum verilerini yayınlamış olmaları önem teşkil etmektedir
- **Elecsys Anti-SARS-CoV-2 S** testi WHO standartına göre standardize edilmiştir ve bu çalışmaya göre U/mL olarak alınan sonuçlar çevrim faktörüne ihtiyaç duymadan BAU/mL olarak kullanılabilir.
- **Elecsys Anti-SARS-CoV-2 S** testinde >15 U/mL antikor düzeyleri nötralizan antikor varlığını göstermektedir. >200 U/mL sonuçlar ise yüksek düzeyde (%90-100) nötralizan antikor varlığını göstermektedir*.
- FDA Elecsys® Anti-SARS-CoV-2 S testi için konvelesan plazma titre eşik değerini **≥132 U/mL** olarak belirlemiş bulunmaktadır.

Aşı Türleri

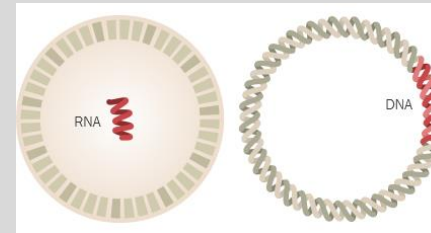
Viral Vektör Aşıları



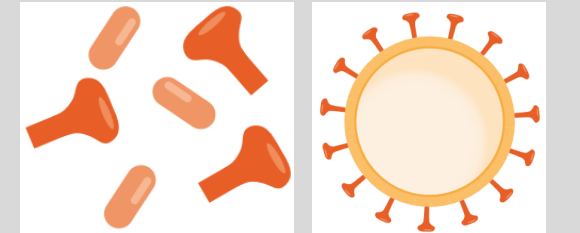
İnaktif Aşılar



Rekombinant Aşılar



Protein-bazlı Aşılar



Doing now what patients need next