

PENGUKURAN ANTIBODI KUANTITATIF ANTIBODI ANTI-SARS-COV-2

Ronald T. H. Tambunan

Fakultas Kedokteran, Universitas Methodist Indonesia, Medan, Indonesia

Email: docrocixking@gmail.com

DOI: <https://doi.org/10.46880/methoda.Vol11No2.pp106-114>

ABSTRACT

Severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2) is the causative agent of coronavirus disease 2019 (COVID-19). Molecular assays are used to diagnose the disease and serological tests for specific antibodies to SARS-CoV-2 are used to detect past infections, but currently available serological tests are generally qualitative. Currently, serological tests have been developed that can quantitatively measure antibodies to protein S that are useful for assessing the effectiveness of the COVID-19 vaccine. This quantitative antibody determination can assist in measuring antibody titers and facilitate longitudinal monitoring of antibody responses, including antibody responses to vaccines. Research conducted by Higgins et al. was conducted to evaluate the quantitative anti-SARS-CoV-2 assay from Elecsys®, Roche. Specimens were taken from 167 patients with positive polymerase chain reaction (PCR) results and 103 control specimens were analyzed using Elecsys anti-SARS-CoV-2 on Cobas e411 (Roche Diagnostics). Analytical evaluation includes the assessment of linearity, imprecision, and analytical sensitivity. The clinical evaluation includes assessment of clinical sensitivity, specificity, cross-reaction, positive predictive value (PPV), negative predictive value (NPV), and series of sampling from the same patient. Elecsys anti-SARS-CoV-2 assay showed its highest sensitivity (84.0%) after 15 – 30 days after positive PCR results and showed no cross-reaction, 100% specificity, and PPV and NPV between 98.3% – 99.8 % after 14 days after a positive PCR result, depending on the estimated seroprevalence. < 2% imprecision at 9.06 U/ml for 6 days, negative quality control (Q) consistently negative (< 0.40 U/ml), which the manufacturer claims that the quantity limit is verified at 0.40 U/ml, and linearity were also observed except at the lowest level (< 20 U/ml). Finally, the antibody response showed a high variation in antibody titers between individuals.

Keyword: Antibody, COVID-19, Serology, Virology, Immunoassay.

ABSTRAK

Sindroma pernapasan akut berat virus corona 2 (SARS-CoV-2) merupakan agen kausatif dari penyakit coronavirus 2019 (COVID-19). Uji molekuler digunakan untuk mendiagnosis penyakit ini dan uji serologis terhadap antibodi spesifik SARS-CoV-2 digunakan untuk mendeteksi infeksi yang sudah lampau, tapi uji serologis yang ada pada saat ini umumnya bersifat kualitatif. Saat ini, sudah dikembangkan uji serologis yang dapat mengukur antibodi terhadap protein S secara kuantitatif yang berguna untuk menilai efektivitas dari vaksin COVID-19. Penentuan antibodi kuantitatif ini dapat membantu dalam mengukur titer antibodi dan memfasilitasi pengawasan secara longitudinal respon antibodi, termasuk respon antibodi terhadap vaksin. Penelitian yang dilakukan oleh Higgins dkk. dilakukan untuk mengevaluasi uji kuantitatif anti-SARS-CoV-2 dari Elecsys®, Roche. Spesimen diambil dari 167 pasien dengan hasil *polymerase chain reaction* (PCR) positif dan 103 spesimen kontrol dianalisis menggunakan Elecsys anti-

SARS-CoV-2 pada cobas e411 (Roche Diagnostics). Evaluasi analitik meliputi penilaian linearitas, ketidaktepatan, dan sensitivitas analitik. Evaluasi klinis meliputi penilaian sensitivitas klinis, spesifitas, reaksi silang, *positive predictive value* (PPV), *negative predictive value* (NPV), dan rangkaian pengambilan sampel dari pasien yang sama. Elecsys anti-SARS-CoV-2 *assay* menunjukkan sensitivitas tertingginya (84,0%) setelah 15 – 30 hari pasca hasil positif PCR dan menunjukkan tidak adanya reaksi silang, spesifitas dan PPV 100% dan NPV antara 98,3% – 99,8% setelah ≥ 14 hari pasca hasil positif PCR, tergantung dari estimasi seroprevalensinya. Ketidaktepatan $< 2\%$ pada 9,06 U/ml selama 6 hari, kontrol kualitas negatif (Q) konsisten negatif ($< 0,40$ U/ml), yang diklaim pabrik pembuatnya bahwa batas kuantitasnya diverifikasi pada 0,40 U/ml, dan linearitas juga diobservasi kecuali pada kadar terendah (< 20 U/ml). Terakhir, respon antibodi menunjukkan variasi titer antibodi antar individu yang tinggi.

Kata Kunci: *Antibodi, COVID-19, Serologi, Virologi, Immunoassay.*

PENDAHULUAN

Sindroma pernapasan akut berat virus corona 2 (SARS-CoV-2) merupakan agen kausatif penyakit coronavirus 2019 (COVID-19). Dideklarasikan pertama kali oleh badan kesehatan dunia/*World Health Organisation* (WHO) pada bulan Januari 2020 sebagai situasi kesehatan internasional yang gawat, penyakit ini telah menginfeksi lebih dari 88 juta orang di seluruh dunia, menyebabkan lebih dari 1,9 juta kematian menurut data tanggal 10 Januari 2021 (WHO, 2021). Penyakit ini didiagnosis dengan uji molekuler (Carter et al., 2020), sedangkan uji antibodi spesifik COVID-19 digunakan untuk mendeteksi infeksi di masa lalu (Van Caesele, Bailey, Forgie, Dingle, & Kraijden, 2020). Uji serologis dapat membantu dalam mensurvei infeksi asimtomatik, menilai prevalensi infeksi SARS-CoV-2 di masa lalu, atau digunakan sebagai tambahan diagnosis COVID-19 bila digunakan ≥ 15 hari setelah onset simptom dengan presentasi klinis yang dicurigai ke arah penyakit tersebut dengan hasil *reverse transcriptase* PCR (RT-PCR) negatif atau tidak tersedia (Deeks et al., 2020; Kofler & Baylis, 2020; Long et al., 2020; Weinstein, Freedberg, Hyle, & Paltiel, 2020). Kebanyakan pemeriksaan serologis saat ini bersifat kualitatif dan protein *nucleocapsid* (N) atau *spike* (S) yang *full-length* atau yang dipotong sebagai target deteksi antibodi. Roche telah mengembangkan pemeriksaan serologis kuantitatif yang mengukur antibodi terhadap reseptor yang berikatan dengan protein S, yang menjadi target vaksin yang digunakan (Zhu et al., 2020), yang

dapat membantu dalam mengkarakterisasi respon imun terhadap vaksin. Protein S memfasilitasi masuknya virus ke sel pejamu melalui ikatan dengan *angiotensin-converting enzyme 2* (ACE2) (Xu et al., 2020), dan antibodi terhadap protein S menunjukkan potensi aktivitas antiviral dan berkorelasi dengan potensi imunitas (Hoffmann et al., 2020). Penentuan antibodi kuantitatif anti-SARS-CoV-2 berguna untuk mengukur titer antibodi spesifik, memfasilitasi pemantauan secara berkelanjutan respon antibodi pada tiap individu, dan secara spesifik memantau respon antibodi terhadap vaksin. Higgins dkk melakukan penelitian yang mengevaluasi secara klinis dan analitik pemeriksaan kuantitatif anti-SARS-CoV-2, termasuk penilaian linearitas, presisi, sensitivitas analitik dan klinis, spesifitas, reaksi silang, dan nilai prediktif negatif, dan pengambilan sampel secara serial dari pasien-pasien yang sama (Higgins, Fabros, & Kulasingam, 2021).

METODOLOGI

Penelitian Higgins dkk. ini disetujui berdasarkan tinjauan peningkatan kualitas dan komite etik penelitian *University Health Network* (UHN; Toronto, Kanada). Sampel berupa serum dan plasma dari pasien yang tidak diidentifikasi didapatkan dari UHN dan dianalisis dengan Elecsys anti-SARS-CoV-2 S dengan cobas e411 (Roche Diagnostics) untuk mendeteksi secara kuantitatif antibodi terhadap ikatan reseptor dan protein S SARS-CoV-2. Pemeriksaan merupakan susunan antigen ganda *electrochemiluminescence immunoassay*, yang

menggunakan mikropartikel yang dilapisi streptavidin untuk memisahkan ikatan dari bahan-bahan yang sebelumnya dalam keadaan tidak terikat pada saat dialirkan voltase melalui elektroda. Pemeriksaan ini mempunyai rentang pengukuran 0,40–250 U/ml (bisa ditingkatkan sampai 2500 U/ml dengan dilusi 1:10), dengan konsentrasi < 0,80 U/ml adalah negatif dan \geq 0,80 U/ml adalah positif. Untuk menentukan ada atau tidaknya infeksi, RNA viral SARS-CoV-2 diambil dengan usap nasofaringeal dengan Seegene Allplex 2019-nCoV (Higgins et al., 2021).

Linearitas dari rentang hasil pengukuran secara analitik (AMR; 0,40–250 U/ml) dinilai dengan berbagai protokol. Pada penilaian linearitas pertama, dilakukan pencampuran antara sampel plasma pasien yang tinggi (1097 U/ml) dan rendah (< 0,40 U/ml) untuk menciptakan 14 kelompok sampel, termasuk kelompok sampel yang baik. Linearitas juga dinilai dengan mencampur sampel plasma yang baik dari satu pasien yang tinggi (1012 U/ml) dan rendah (< 0,40 U/ml) untuk membuat 8 sampel. Sampel plasma yang baik didilusi dengan diluen yang telah tersedia untuk membuat 8 sampel untuk membuat sampel tinggi yang baik dan diluen yang baik. Terakhir, plasma yang bernilai lebih rendah dinilai dengan mendilusi (64,2 U/ml), sehingga tercipta 9 sampel (Higgins et al., 2021).

Ketidaktepresian dinilai dengan menggunakan 2 tahap kendali mutu (< 0,40 U/ml dan 9,06 U/ml) selama 6 hari. Sensitivitas analitik dinilai dengan memverifikasi batas kuantifikasi yang ditentukan dari pabrik (LoQ) yaitu 0,40 U/ml dengan menganalisis 5 sampel dengan konsentrasi rendah (1,05 U/ml, 0,58 U/ml, 0,51 U/ml, < 0,40 U/ml, dan < 0,40 U/ml). Sensitivitas klinis ditentukan menggunakan serum atau sampel plasma yang diambil dari 167 pasien yang terkonfirmasi terinfeksi SARS-CoV-2 dengan uji PCR dalam kurun 0–73 hari. Sensitivitas total dan sensitivitas pada kategori yang berbeda dari hasil positif pasca PCR berdasarkan hari juga dicatat (Higgins et al., 2021).

Reaksi silang juga dilihat menggunakan serum atau sampel plasma yang diambil dari 103 pasien yang positif terinfeksi virus selain SARS-CoV-2 (misalnya hepatitis A, hepatitis B, hepatitis C, *human immunodeficiency virus*, rubella, virus Epstein-Barr, *cytomegalovirus*) dan menunjukkan adanya autoantibodi atau adanya kondisi autoimun, mengalami elevasi pada analit lainnya (misalnya C-reactive protein, IgA, IgG, IgM), atau mendapatkan vaksin influenza pada tahun 2019. Spesifitas dinilai menggunakan 32 dari sampel-sampel yang diambil dari pasien pada tahun 2019, sebelum SARS-CoV-2 masuk ke Ontario, Kanada (Higgins et al., 2021).

Nilai prediktif positif (PPV) dan nilai prediktif negatif (NPV) pada nilai seroprevalensi 1%, 5%, dan 10% dihitung menggunakan sensitivitas selama < 14 hari dan \geq 14 hari pasca hasil positif PCR sama seperti penentuan spesifitas. Terakhir, titer antibodi diperiksa sepanjang waktu karena hasil positif PCR menggunakan serum serial dan sampel plasma ($n = 6-20$) yang diambil dari 5 pasien (Higgins et al., 2021).

HASIL

Higgins dkk. menemukan bahwa linearitas dari Elecsys anti-SARS-CoV-2 yang dinilai menggunakan berbagai protokol, menunjukkan adanya kesamaan respon linear di seluruh AMR, kecuali di ujung yang rendah, terutama < 20 U/ml. Nilai linearitas dari pencampuran kelompok sampel plasma pasien yang tinggi dan rendah menunjukkan rerata perbedaan persentase sebesar 5,60% dari hubungan linearitas yang diharapkan, kecuali untuk nilai yang berada di ujung rendah dengan konsentrasi yang diharapkan sebesar 11,0 U/ml dan 5,49 U/ml menunjukkan perbedaan nilai persentase 67,8% dan 69,8% (Tabel 1). Pencampuran sampel pasien yang tinggi dan rendah dan mencampur sampel pasien tinggi dengan diluen menghasilkan hasil yang serupa, yaitu terjadinya deviasi yang lebih besar dari respon linear pada konsentrasi rendah (Higgins et al., 2021).

Tabel 1. Penilaian linearitas pemeriksaan kuantitatif Roche SARS-CoV-2^a

Sample	Rep 1 (U/ml)	Rep 2 (U/ml)	Avg (U/ml)	Expected (U/ml)	Dilution factor	Difference (U/ml)	% difference
Linearity assessment 1							
Neat high sample	1,102	1,092	1,097	1,097	N/A ^b	N/A	N/A
1	1,021	1,030	1,026	987	1.11	38.2	3.87
2	917	932	925	878	1.25	47.2	5.38
3	767	780	773	768	1.43	5.40	0.70
4	691	705	698	658	1.67	39.8	6.04
5	568	569	568	549	2	19.7	3.59
6	407	415	411	439	2.5	-27.8	-6.32
7	319	321	320	329	3.33	-9.05	-2.75
8	218	229	224	219	5	4.40	2.01
9	126	129	127	110	10	17.7	16.1
10	24.7	25.1	24.9	27.4	40	-2.53	-9.21
11	18.2	18.6	18.4	11.0	100	7.44	67.8
12	9.18	9.45	9.32	5.49	200	3.83	69.8
Neat low sample	<0.40	<0.40	<0.40	<0.40	N/A	N/A	N/A

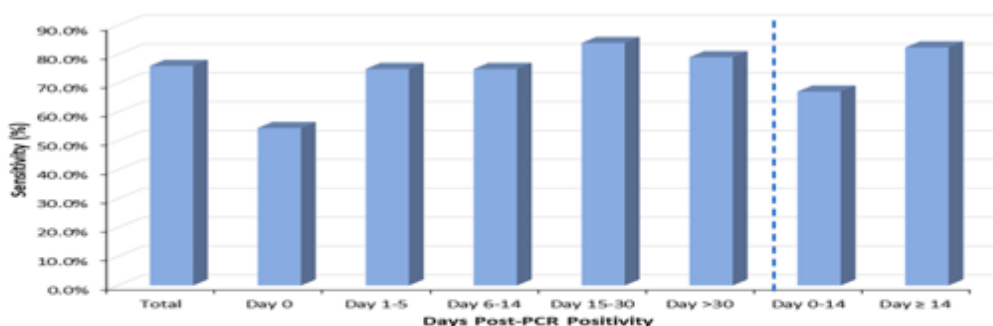
Sumber: (Higgins et al., 2021)

Keterangan: ^a Ketepatan nilai yang dicatat sampai 3 angka; ^b N/A (*not available*/tidak tersedia)

Ketidakpresisian tidak dapat dihitung dikarenakan bahan QC yang rendah (rata-rata, < 0,40 U/ml), dan semua hasil menunjukkan nilai tersebut. Untuk bahan dengan QC tinggi (rata-rata, 9,06 U/ml), ketidakpresisian adalah 1,26% selama 6 hari dan 2 botol reagen. LoQ yang diklaim oleh pabrik adalah 0,40 U/ml diverifikasi dengan variasi koefisien (CV) < 4%. Sensitivitas total adalah 76,0% (interval keyakinan [IK] 95%, 69,6%–82,5%), dengan sensitivitas tertinggi yang diobservasi selama 15–30 hari pasca hasil positif PCR (84,0% [IK 95%, 73,8%–94,2%]) dan sensitivitas terendah yang diobservasi pada hari yang sama adalah 54,5% (IK 95%, 33,7%–75,4%), walaupun IK sedikit tumpang tindih (Gambar 1). Sensitivitas lebih tinggi \geq 14 hari pasca hasil positif PCR (82,5% [IK 95%, 73,6%–91,4%]) dibandingkan dengan sensitivitas < 14 hari pasca hasil positif

PCR yaitu hanya sebesar 67,1 % (IK 95%, 57,8%–76,5%), walaupun IK sedikit tumpang tindih (Higgins et al., 2021).

Higgins dkk. sebelumnya menentukan sensitivitas kualitatif serologi anti-SARS-CoV-2, termasuk milik Roche, menggunakan sampel pasien yang sama (Higgins et al., 2020). Tidak ada sampel yang secara kualitatif yang oleh Roche anti-SARS-CoV-2 menunjukkan hasil positif, menjadi negatif secara kuantitatif. Tetapi, terdapat 7 sampel (5 sampel < 14 hari pasca hasil positif PCR dan 2 sampel \geq 14 hari pasca hasil positif PCR) yang positif secara kuantitatif, negatif secara kualitatif. Secara kuantitatif, sensitivitas pemeriksaan sedikit lebih tinggi, walaupun tidak berbeda secara signifikan (sensitivitas total 76,0% [IK 95%, 69,6%–82,5%]) dibandingkan dengan pemeriksaan kualitatif yaitu 73,6% (IK 95%, 67%–80,1%).¹¹



	Days Post-PCR Positivity							
	Total	0	1-5	6-14	15-30	>30	0-14	\geq 14
n	167	22	16	36	50	43	97	70
Concentration Range (U/ml)	0.88-33120	1.01-2152	1.03-2410	1.84-16720	3.26-5082	0.88-33120	0.88-33120	1.01-6299
Sensitivity (95% CI)	76.0% (69.6-82.5%)	54.5% (33.7-75.4%)	75.0% (53.8-96.2%)	84.0% (60.9-89.1%)	84.0% (73.8-94.2%)	67.1% (66.9-91.2%)	67.1% (57.8-76.5%)	82.5% (73.6-91.4%)

Sumber: (Higgins et al., 2021)

Gambar 1. Sensitivitas total dan sensitivitas pada hari ke-0, 1–5, 6–14, 15–30, hari ke-0–14, dan \geq 14 hari pasca hasil positif PCR dengan pemeriksaan kuantitatif Roche Elecsys anti-SARS-CoV-2 menggunakan sampel serum atau plasma yang diambil dari 167 pasien yang terkonfirmasi SARS-CoV-2 dalam kurun 73 hari.

Rentang konsentrasi antibodi dari seluruh sampel positif dan sampel positif untuk tiap kategori berdasarkan hari pasca hasil positif PCR disediakan di gambar 1. Rentang konsentrasi total yang sangat lebar dari sampel positif diobservasi, mulai dari 0,88 sampai 33,120 U/ml, dengan 59,1% sampel positif mempunyai konsentrasi > 250 U/ml. Sementara AMR atas adalah 250 U/ml, hal tersebut ditingkatkan sampai 2500 U/ml dengan dilusi 1:10. Batas atas ini kemudian dapat lebih jauh ditingkatkan untuk sampel-sampel positif dengan konsentrasi > 2500 U/ml, sebanyak 11,0% dengan melakukan dilusi secara manual dengan diluen universal yang direkomendasikan pabrik. Sebagai Contoh, untuk mendapatkan konsentrasi tertinggi 33120 U/ml, dilusi manual 1:100 dilakukan sebagai tambahan dilusi 1:10 dan akhirnya melakukan dilusi 1:1000 (Higgins et al., 2021).

Untuk penilaian reaktivitas silang, seluruh 103 sampel yang negatif SARS-CoV-2 dengan nilai di atas LoQ (0,40 U/ml) yaitu sebesar 0,56 U/ml, tetapi masih di bawah batas positif yaitu $\geq 0,80$ U/ml. Sewaktu menilai 32 sampel untuk spesifitas (dari pasien-pasien di tahun 2019), semua sampel di bawah LoQ, yang menghasilkan spesifitas 100% (Higgins et al., 2021).

PPV 100% selama < 14 hari dan ≥ 14 hari pasca hasil positif PCR di seluruh estimasi seroprevalensi yang dikarenakan spesifitas yang 100% (tabel 2). NPV mempunyai rentang dari 96,8% (IK 95%, 95,7%–97,9%) sampai 99,7% (IK 95%, 99,3%–100%) selama < 14 hari pasca hasil positif PCR dan 98,3% (IK 95%, 97,5%–99,1%) sampai 99,8% (IK 95%, 99,6%–100%) pada ≥ 14 hari pasca hasil positif PCR, tergantung dari estimasi seroprevalensi (Higgins et al., 2021).

Tabel 2. Nilai prediktif positif dan negatif pada seroprevalensi 1%, 5%, dan 10% pemeriksaan kuantitatif SARS-CoV-2 Roche

Parameter	Estimate (95% CI)
<14 Days Post-PCR Positivity	
Sensitivity	67.1 (57.8–76.5)
Specificity	100 (100–100)
Seroprevalence	
1%	
PPV	100 (100–100)
NPV	99.7 (99.3–100)
5%	
PPV	100 (100–100)
NPV	98.4 (97.6–99.2)
10%	
PPV	100 (100–100)
NPV	96.8 (95.7–97.9)
≥ 14 Days Post-PCR Positivity	
Sensitivity	82.5 (73.6–91.4)
Specificity	100 (100–100)
Seroprevalence	
1%	
PPV	100 (100–100)
NPV	99.8 (99.6–100)
5%	
PPV	100 (100–100)
NPV	99.1 (98.6–99.7)
10%	
PPV	100 (100–100)
NPV	98.3 (97.5–99.1)

Sumber: (Higgins et al., 2021)

Titer antibodi diperiksa sepanjang waktu pasca hasil positif PCR pada pasien pertama ditunjukkan pada gambar 2A. Pasien ini dimonitor sampai 11 hari dan menunjukkan

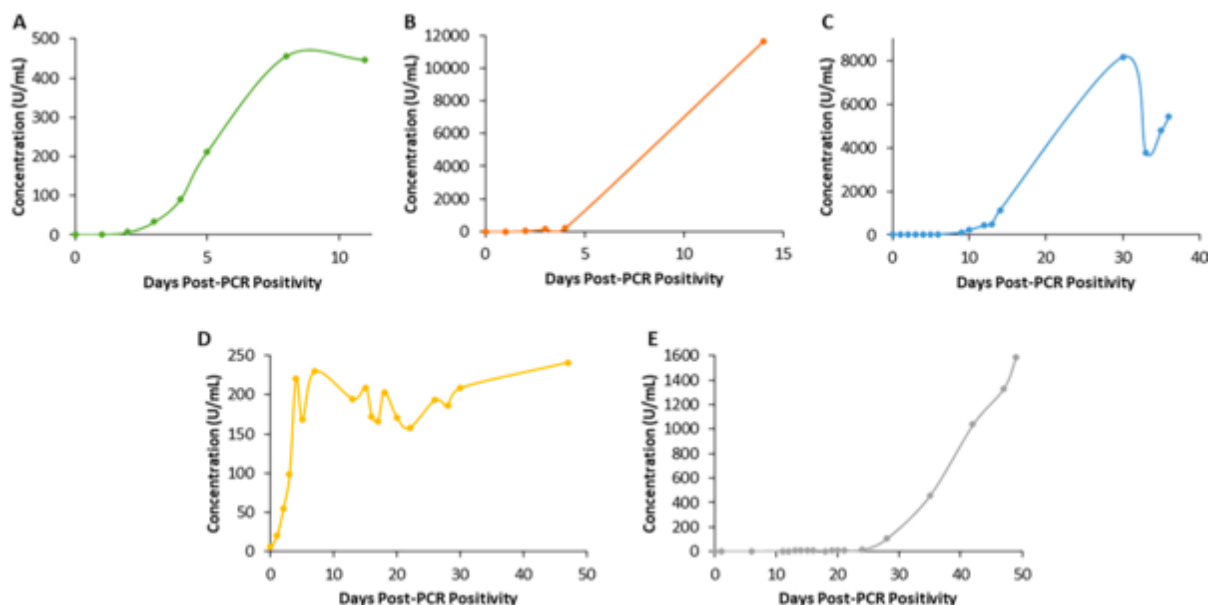
peningkatan titer antibodi yang eksponensial dengan puncak tertinggi yaitu 8 hari pasca hasil positif PCR dan kemudian mulai mendatar. Pasien kedua (gambar 2B), dimonitor sampai 14

hari, menunjukkan peningkatan titer antibodi secara perlahan selama 4 hari, dan pada hari ke-14, terjadi peningkatan nilai sampai 50 kali. Pasien ketiga (gambar 2C), dimonitor sampai 36 hari, menunjukkan puncak titer pada hari ke-30, lalu menurun, kemudian meningkat lagi. Pasien keempat (gambar 2D), dimonitor sampai 47 hari, menunjukkan peningkatan titer antibodi secara eksponensial sampai hari ke-4, kemudian mulai mendatar, dengan sedikit variasi. Terakhir, pasien kelima (gambar 2E), dimonitor sampai 49 hari, menunjukkan peningkatan titer antibodi yang terlambat, dimana peningkatan terjadi di hari ke-28 dan belum menunjukkan pendataran atau penurunan pada hari ke-49. Secara keseluruhan, terjadi respon antibodi yang heterogen antara pasien-pasien yang diobservasi, yang bervariasi antara waktu dan kadar titernya, serta kecenderungannya seiring dengan waktu (Higgins et al., 2021).

DISKUSI

Higgins dkk. melakukan evaluasi analitik dan klinis dari pemeriksaan kuantitatif anti-SARS-CoV-2. Secara analitik, dilakukan penilaian atas linearitas, presisi, dan sensitivitas analitik. Linearitas yang buruk diobservasi di bawah 20 U/ml dengan mencampur kelompok pasien,

mencampur sampel-sampel dari satu pasien, atau menggunakan diluen yang kemungkinan tidak terlalu mempengaruhi, karena sampel seharusnya tidak didilusi sampai serendah itu pada praktiknya. Roche menganjurkan bahwa konsentrasi sampel yang didilusi harus ≥ 20 U/ml. Penilaian linearitas meliputi pembuatan dan pengukuran serial dilusi, dimana ditentukan apakah terjadinya perubahan konsentrasi adalah seperti yang diharapkan sesuai dengan hubungan yang proporsional antara sampel yang dibuat dengan faktor dilusi yang berbeda-beda. Linearitas yang buruk di bawah 20 U/ml dianggap menguatirkan bila adanya ketidakakurasian diobservasi pada rentang konsentrasi ini, kemungkinan bila bahan-bahan dari konsentrasi yang diketahui (bukan dibuat dengan dilusi) dianalisis di seluruh rentang pengukuran. Konsentrasi dari bahan-bahan kendali mutu yang digunakan untuk penilaian ketidakpresisian adalah < 20 U/ml dan masih berada rentang yang dianjurkan pabrik, yang menggambarkan akurasi pada konsentrasi rendah. Ketidakpresisian adalah minimal (yaitu 1,26% di 9,06 U/ml), dan LoQ pabrik sebesar 0,40 U/ml juga diverifikasi pada penelitian ini (Higgins et al., 2021).



Sumber: (Higgins et al., 2021)

Gambar 2. Respon antibodi berdasarkan hari pasca hasil positif PCR dari 5 pasien yang diperiksa dengan Elecsys anti-SARS-CoV-2 dari Roche.

Higgins dkk. Menilai sensitivitas klinis, spesifitas, reaksi silang, nilai prediktif positif dan negatif, dan pengambilan sampel serial dari pasien-pasien yang sama. Mereka melaporkan hasil observasi yang sama dengan pabrik mengenai sensitivitas yang lebih tinggi pada ≥ 14 hari pasca hasil positif PCR dibandingkan dengan < 14 hari, dimana didapatkan estimasi yang lebih rendah daripada sensitivitas yang diklaim oleh pabrik sebesar 98,8% (≥ 14 hari pasca hasil positif PCR) dan 86,1% (< 14 hari pasca hasil positif PCR). Hal ini Mungkin terjadi oleh karena karakteristik populasi pasien, terutama pada populasi yang mengalami *immunocompromised* yang besar di UHN. Secara keseluruhan, 90,0% dari pasien yang positif SARS-CoV-2 dengan uji PCR tetapi negatif dengan uji Elecsys anti-SARS-CoV-2 juga negatif pada empat uji serologi kualitatif lainnya¹², hal ini mendukung ketidakmampuan pasien-pasien tersebut menghasilkan antibodi terhadap SARS-CoV-2. Alasan potensial lainnya adalah estimasi sensitivitas dalam penelitian Higgins dkk. lebih rendah dibandingkan dengan yang diklaim oleh pabrik pembuat alat tersebut dimana potensi rujukan atau angka *cycle threshold* (CT) minimal PCR yang ditentukan oleh pabrik, berada pada keadaan pasien dengan beban viral yang lebih tinggi.

Untuk memastikan bahwa alasan dari sensitivitas yang lebih rendah tersebut, tidak bisa hanya nilai titer antibodi yang berada di bawah ambang batas (yaitu di antara LoQ 0,40 U/ml dan ambang batas positif 0,80 U/ml), maka Higgins dkk. melakukan kalkulasi ulang dari sensitivitas total dan sensitivitas untuk kategori berdasarkan hari hasil positif PCR menggunakan 0,40 U/ml sebagai ambang batas positif. Tidak ada estimasi sensitivitas yang berubah, dikarenakan hanya 2 sampel dengan konsentrasi antibodi antara 0,40 U/ml dan 0,80 U/ml. Sangat penting untuk dicatat bahwa hasil negatif tidak dapat menyingkirkan infeksi SARS-CoV-2 saat ini atau yang sudah lampau, karena hasil negatif pada fase preserokonversi infeksi, beberapa pasien yang terkonfirmasi SARS-CoV-2 tidak dapat mengembangkan antibodi, dan titer antibodi dapat saja berangsur-angsur

menghilang pada individu-individu yang sudah terinfeksi berbulan-bulan sebelumnya (Ibarrondo et al., 2020; Liu et al., 2020).

Estimasi spesifitas pada penelitian Higgins dkk. sebesar 100%, hal ini sesuai dengan klaim pabrik sebesar 99,98%. Mereka juga melakukan rekalkulasi spesifitas dengan nilai batas positif 0,40 U/ml, dan spesifitas tidak berubah secara signifikan (yaitu turun dari 100% [IK 95%, 100%–100%] sampai ke nilai 99,0% [IK 95%, 97,1%–100%]). Mereka mengobservasi tidak adanya reaksi silang pada 103 sampel yang diuji yang memiliki bahan-bahan yang berpotensi memicu reaksi silang (seperti sampel dari pasien penyakit autoimun atau infeksi viral lainnya), hal ini sama dengan klaim pabrik (yaitu tidak ada reaksi silang pada 1100 sampel). Karena estimasi spesifitas sebesar 100%, PPV juga 100% pada < 14 hari dan ≥ 14 hari pasca hasil positif PCR pada seluruh estimasi seroprevalensi. NPV sedikit lebih rendah dari PPV, dimana nilainya lebih tinggi pada ≥ 14 hari pasca hasil positif PCR dibandingkan dengan < 14 hari, dan kemudian berkurang seiring dengan semakin meningkatnya estimasi seroprevalensi (Higgins et al., 2021).

Higgins dkk. juga melaporkan heterogenitas pada respon antibodi yang diobservasi dengan 4 pemeriksaan serologis kualitatif (yaitu Abbott SARS-CoV-2 IgG dan SARS-CoV-2 IgM, DiaSorin SARS-CoV-2 S1/S2 IgG, dan Roche Elecsys anti SARS-CoV-2) yang menunjukkan level antibodi relatif dengan nilai ambang batas dari pabrik pembuatnya (Higgins et al., 2020). Beberapa penelitian lain juga melaporkan perbedaan respon antibodi SARS-CoV-2 antar individu (Deeks et al., 2020; Zhao et al., 2020), akan tetapi penelitian Higgins dkk. ini adalah yang pertama yang melaporkan kecenderungan antibodi SARS-CoV-2 secara kuantitatif. Seperti yang sudah disebutkan di atas, penentuan antibodi anti-SARS-CoV-2 secara kuantitatif dapat memfasilitasi pemantauan jangka panjang respon antibodi pada pasien-pasien terutama respon antibodi terhadap vaksin. Seperti yang ditunjukkan dari hasil titer antibodi pada sampel serial pasien dengan hasil positif PCR, pemeriksaan ini berguna untuk menggambarkan berbagai kecenderungan respon antibodi

sepanjang waktu. Tetapi, Higgins dkk. tidak secara spesifik memeriksa kemampuan alat tersebut dalam memantau respon antibodi terhadap vaksin. Walaupun uji ini dapat digunakan dalam hal tersebut oleh karena antigen yang digunakan pada alat tersebut sama dengan yang digunakan pada vaksin, pemantauan respon terhadap vaksin dengan uji netralisasi antibodi mempunyai manfaat yang lebih besar secara klinis untuk memastikan seseorang mengembangkan respon antibodi dan mengembangkan imunitas (Muruat et al., 2020). Pada penggunaan pemeriksaan antibodi anti-SARS-CoV-2 kuantitatif untuk menentukan titer antibodi, sangat penting untuk dicatat bahwa kebanyakan sampel positif mempunyai konsentrasi di atas AMR (> 250 U/ml). Tetapi, dengan dilusi 1:10, batas atas ditingkatkan sampai 2500 U/ml, dan hanya 11,0% sampel yang harus didilusi secara manual untuk mendapatkan hasil kuantitatif (Higgins et al., 2021).

KESIMPULAN

Secara keseluruhan, Elecsys anti-SARS-CoV-2 untuk menunjukkan sensitivitas tertinggi 84% pada 15–30 hari pasca hasil positif PCR, tidak ada reaksi silang, spesifitas dan PPV 100% dan NPV berada di antara 98,3% dan 99,8% pada \geq 14 hari pasca hasil positif PCR, tergantung dari estimasi seroprevalensi. Linearitas di seluruh AMR diobservasi, kecuali pada ujung bawah, terutama pada titer antibodi < 20 U/ml. Ketidaktepatan minimal, dan LoQ 0,40 U/ml diverifikasi. Terakhir, respon antibodi menunjukkan adanya variasi antar individu berdasarkan kadar dan waktu puncak yang tinggi seiring dengan berjalannya waktu (Higgins et al., 2021).

DAFTAR PUSTAKA

- Carter, L. J., Garner, L. V., Smoot, J. W., Li, Y., Zhou, Q., Saveson, C. J., ... Liu, C. (2020). Assay Techniques and Test Development for COVID-19 Diagnosis. *ACS Central Science*, 6(5), 591–605. <https://doi.org/10.1021/acscentsci.0c00501>
- Deeks, J. J., Dinnes, J., Takwoingi, Y., Davenport, C., Spijker, R., Taylor-Phillips, S., ... Van den Bruel, A. (2020). Antibody tests for identification of current and past infection with SARS-CoV-2. *Cochrane Database of Systematic Reviews*, 2020(6). <https://doi.org/10.1002/14651858.CD013652>
- Higgins, V., Fabros, A., & Kulasingam, V. (2021). Quantitative Measurement of Anti-SARS-CoV-2 Antibodies: Analytical and Clinical Evaluation. *Journal of Clinical Microbiology*, 59(4). <https://doi.org/10.1128/JCM.03149-20>
- Higgins, V., Fabros, A., Wang, X. Y., Bhandari, M., Daghfal, D. J., & Kulasingam, V. (2020). Analytical and clinical evaluation of four anti-SARS-CoV-2 serologic (IgM, IgG, and total) immunoassays. *MedRxiv*. <https://doi.org/10.1101/2020.10.23.20217810>
- Hoffmann, M., Kleine-Weber, H., Schroeder, S., Krüger, N., Herrler, T., Erichsen, S., ... Pöhlmann, S. (2020). SARS-CoV-2 Cell Entry Depends on ACE2 and TMPRSS2 and Is Blocked by a Clinically Proven Protease Inhibitor. *Cell*, 181(2), 271–280.e8. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2020.02.052>
- Ibarrondo, F. J., Fulcher, J. A., Goodman-Meza, D., Elliott, J., Hofmann, C., Hausner, M. A., ... Yang, O. O. (2020). Rapid Decay of Anti-SARS-CoV-2 Antibodies in Persons with Mild Covid-19. *New England Journal of Medicine*, 383(11), 1085–1087. <https://doi.org/10.1056/NEJMc2025179>
- Kofler, N., & Baylis, F. (2020). Ten reasons why immunity passports are a bad idea. *Nature*, 581(7809), 379–381. <https://doi.org/10.1038/d41586-020-01451-0>
- Liu, A., Wang, W., Zhao, X., Zhou, X., Yang, D., Lu, M., & Lv, Y. (2020). Disappearance of antibodies to SARS-CoV-2 in a -COVID-19 patient after recovery. *Clinical Microbiology and Infection*, 26(12), 1703–1705. <https://doi.org/10.1016/j.cmi.2020.07.009>
- Long, Q.-X., Liu, B.-Z., Deng, H.-J., Wu, G.-C., Deng, K., Chen, Y.-K., ... Huang, A.-L. (2020). Antibody responses to SARS-CoV-2 in patients with COVID-19. *Nature Medicine*, 26(6), 845–848. <https://doi.org/10.1038/s41591-020-0897-1>

- Muruato, A. E., Fontes-Garfias, C. R., Ren, P., Garcia-Blanco, M. A., Menachery, V. D., Xie, X., & Shi, P.-Y. (2020). A high-throughput neutralizing antibody assay for COVID-19 diagnosis and vaccine evaluation. *Nature Communications*, *11*(1), 4059.
<https://doi.org/10.1038/s41467-020-17892-0>
- Van Caesele, P., Bailey, D., Forgie, S. E., Dingle, T. C., & Kraiden, M. (2020). SARS-CoV-2 (COVID-19) serology: implications for clinical practice, laboratory medicine and public health. *Canadian Medical Association Journal*, *192*(34), E973–E979.
<https://doi.org/10.1503/cmaj.201588>
- Weinstein, M. C., Freedberg, K. A., Hyle, E. P., & Paltiel, A. D. (2020). Waiting for Certainty on Covid-19 Antibody Tests — At What Cost? *New England Journal of Medicine*, *383*(6), e37.
<https://doi.org/10.1056/NEJMp2017739>
- WHO. (2021). Weekly Epidemiological Update. In *Emergency Situational Updates*. Retrieved from <https://www.who.int/>
- Xu, X., Chen, P., Wang, J., Feng, J., Zhou, H., Li, X., ... Hao, P. (2020). Evolution of the novel coronavirus from the ongoing Wuhan outbreak and modeling of its spike protein for risk of human transmission. *Science China Life Sciences*, *63*(3), 457–460. <https://doi.org/10.1007/s11427-020-1637-5>
- Zhao, J., Yuan, Q., Wang, H., Liu, W., Liao, X., Su, Y., ... Zhang, Z. (2020). Antibody Responses to SARS-CoV-2 in Patients With Novel Coronavirus Disease 2019. *Clinical Infectious Diseases*, *71*(16), 2027–2034.
<https://doi.org/10.1093/cid/ciaa344>
- Zhu, F.-C., Guan, X.-H., Li, Y.-H., Huang, J.-Y., Jiang, T., Hou, L.-H., ... Chen, W. (2020). Immunogenicity and safety of a recombinant adenovirus type-5-vectored COVID-19 vaccine in healthy adults aged 18 years or older: a randomised, double-blind, placebo-controlled, phase 2 trial. *The Lancet*, *396*(10249), 479–488.
[https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(20\)31605-6](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(20)31605-6)