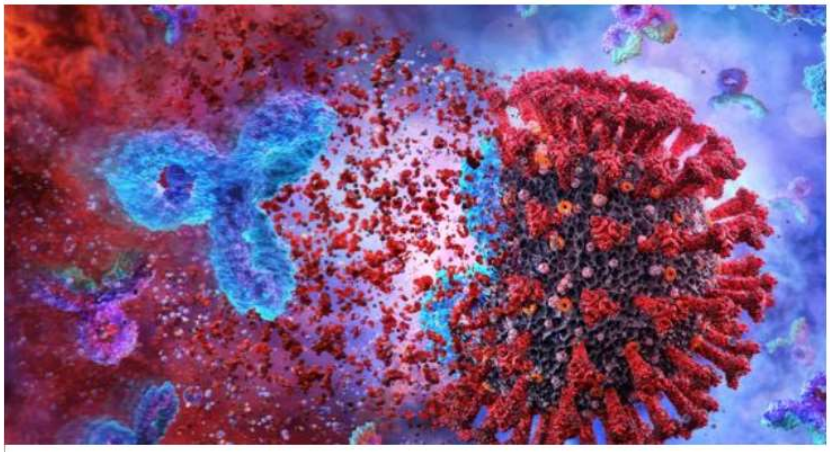
Individuelle Immunantwort körpereigener T-Zellen gegen SARS-CoV-2

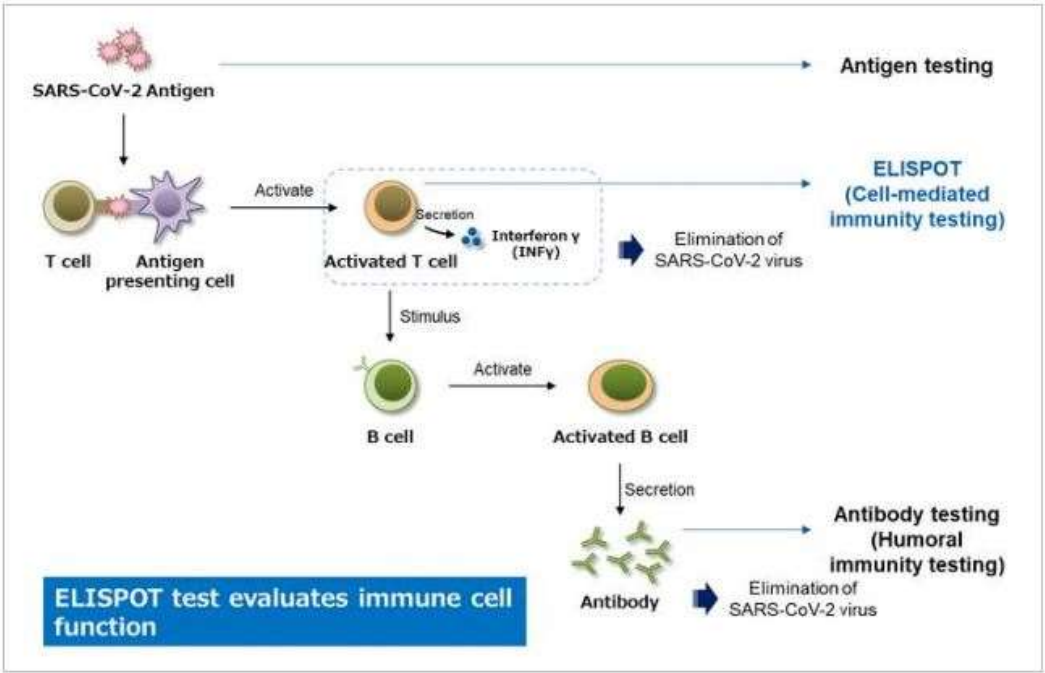
Der Ausbruch von SARS-CoV-2 und die pandemische Ausbreitung brachte die Gesundheitssysteme weltweit an ihre Belastungsgrenzen. Neben dem molekularbiologischen Nachweis von SARS-CoV-2 zur Bestätigung einer akuten Infektion ist der Nachweis einer individuellen zellulären Immunantwort gegen SARS-CoV-2 ein wesentlicher Faktor zur Eindämmung des Virus.



/Corona Borealis, stock.adobe.com

Quelle: Ärzteblatt 28.12.2020: SARS-CoV2: Gedächtniszellen erhalten Immunität über mindestens 8 Monate. Diese bewahren die Erinnerung an den Viruskontakt und beschleunigen im Fall einer erneuten Reaktion die Bildung von Antikörpern. https://www.aerzteblatt.de/nachrichten/119712/SARS-CoV-2-Gedaechtniszellen-erhalten-Immunitaet-ueber-mindestens-8-Monate

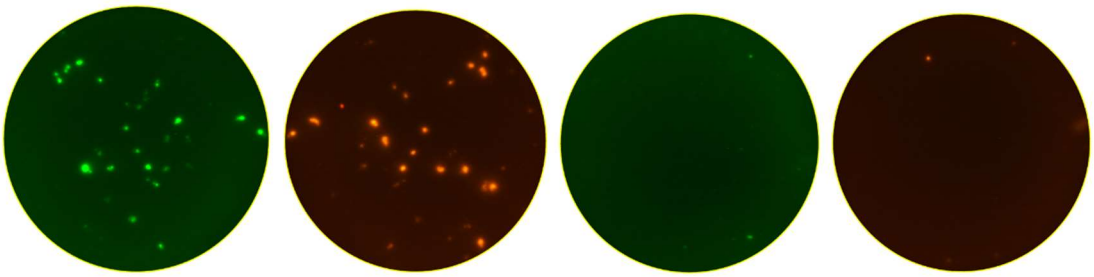
Der serologische Antikörpernachweis erbrachte bis dato noch keine konkrete Aussage über eine ausreichende Immunität, da er lediglich die humorale Immunität wieder spiegelt. Die Abwehr von Viren erfolgt jedoch nicht nur über Antikörper allein, sondern vielmehr über das zelluläre Immunsystem. Unsere eigenen T-Lymphozyten spielen hier die zentrale Rolle und bilden die erworbene Immunität aus, die Ausgangspunkt der **zellulären <u>und</u> humoralen Immunantwort** ist.



Quelle : Sysmex/ Kobe University ; Sekine et al Cell 183, 158-168

synlab MVZ Labor München Zentrum ♦ Schwanthalerstraße 115 ♦ 80339 München
Telefon: +49 89 54 308 - 0 ♦ Fax: +49 89 54 308 - 337
E-Mail: muenchen.zentrum@synlab.com ♦ Internet: www.labor-muenchen.zentrum.de

Unsere T-Lymphozyten lassen sich in Subpopulationen unterteilen, welche unterschiedliche Zytokine ausschütten. Nach Kontakt mit den Virusantigenen kommt es zu einer Differenzierung und Proliferation erregerspezifischen T-Zellklone, die als **Effektor- und Gedächtnis T-Lymphozyten** im peripheren Blut zu finden sind. Bei erneutem Viruskontakt werden diese Gedächtnis T-Zellen aktiviert, um Immunabwehrprozesse zu initiieren, die zu einer schnelleren Vernichtung des Virus führen. Zum einen können virusinfizierte Körperzellen durch T-Effektorzellen sofort eliminiert werden; zum anderen werden Plasmazellen zur Antikörperbildung angeregt. Anhand der spezifischen Sekretion von Zytokin kann die Stärke der Immunreaktion von den T-Zellen geregelt und moduliert werden.



Positive Probe INFγ Spots IL2Spots Negativer Patient: kein Nachweis von Spots

Quelle: MVZ München Zentrum

Mit dem Nachweis patienteneigener T-Effektorzellen gegen SARS-CoV-2 kann durch die individuelle Zytokin Ausschüttung eine akute oder zurückliegende Infektion nachgewiesen werden, unabhängig ob Antikörper im Patientenblut detektiert werden können. Diese spezifischen T-Zellen sind, im Gegensatz zum Antikörperspiegel, über einen längeren Zeitraum im Blut nachweisbar.

Daher ist die alleinige Bestimmung von Antikörpertitern zur Beurteilung einer Immunität gegen SARS-CoV-2 nicht geeignet, da sie lediglich die humorale Immunität abbilden kann. Diese kann Viren abblocken und die Erregerelimination fördern. Allerdings entwickeln längst nicht alle Patienten nach Viruskontakt eine messbare Antikörpermenge, vor allem nicht bei asymptomatischen oder sehr milden Verläufen. Auch deuten wissenschaftliche Daten darauf hin, dass die Antikörperbildung nach Infektion sehr kurzlebig sein kann. Bei milden Verläufen fallen die Antikörperspiegel bei 40% der Patienten sehr schnell unter die Nachweisgrenze ab und sind somit serologisch nicht mehr nachweisbar. Zwar bleiben bei symptomatischen Patienten diese länger im Blut nachweisbar, fallen jedoch über die Zeit ebenfalls ab.

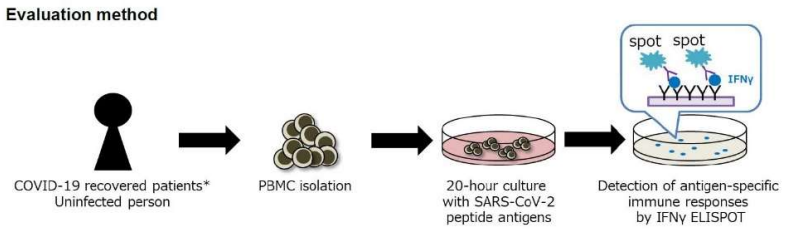
Im Gegensatz dazu kann das **T-Zell-Gedächtnis über mehrere Jahre persistieren,** um den Organismus gegen schwere Reinfektionen zu schützen. Insofern stellt der **Nachweis SARS-CoV-2-spezifischer T-Zellen** einen bedeutenden Fortschritt in der SARS-CoV-2-Labordiagnostik dar, da eine Immunität **nicht nur** durch den IgG-Antikörpernachweis festzustellen ist, sondern viel mehr auf einer **körpereigenen zellulären Immunität** gegen SARS-CoV-2 spezifischen T-Zellklonen beruht.

Diese erregerspezifische T-Zellen und insbesondere ihre T-Gedächtnisfraktion sind im Blut nur in geringen Mengen zu finden. Ein **hochsensitives zelluläres Testverfahren (Sensivität: 1:100000 Zellen)** detektiert diese Zellen auf Einzelzellebene. Anhand des spezifischen Nachweises lässt sich die zelluläre Immunantwort des adaptiven Immunsystems gegenüber Coronaviridae allgemein bzw. SARS-Cov2 beurteilen.

Hierfür werden patienteneigene Immunzellen mit den Viruspeptiden stimuliert und anschließend die Reaktion der zytotoxischen T-Lymphozyten anhand der **IFN-γ** und **Interleukin 2 Sekretion** beurteilt.

synlab MVZ Labor München Zentrum ♦ Schwanthalerstraße 115 ♦ 80339 München
Telefon: +49 89 54 308 - 0 ♦ Fax: +49 89 54 308 - 337
E-Mail: muenchen.zentrum@synlab.com ♦ Internet: www.labor-muenchen.zentrum.de

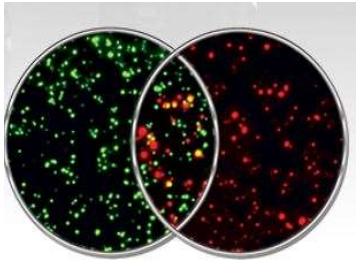
IL-2 steuert die Aktivitäten der T-Lymphozyten. Es fördert die Aktivierung und Expansion von T-Zellen und die Differenzierung von CD8+ T-Lymphozyten zu Gedächtniszellen. Die **IFN-γ und IL-2-Reaktion** von erregerspezifisch aktivierten T-Zellen gegen Coronaviridae (PAN-Corona Peptid-Mix) und / oder spezifisch gegen SARS-CoV-2 (SARS-CoV-2 Peptid-Mix) ergibt ein hoch differenziertes Bild der patienteneigenen Immunantwort, um die Entwicklung des individuellen Krankheitsverlaufs und der Immunität nach Infektion darzustellen.



Quelle: Sysmex/ Kobe University; Sekine et al Cell 183, 158-168

Die Sezernierung von **IFN-γ** durch Effektorzellen ist charakteristisch für zytotoxische Th1-Reaktionen. Der isolierte Nachweis von IFN-γ produzierenden Effektorzellen lässt auf eine Immunreaktion im Rahmen einer **Covid-19-Infektion** schließen.

Der Nachweis von **IL-2 bzw. die gleichzeitige Detektion von IFN-γ und IL-2** sprechen für das Vorhandensein von **funktionaler Gedächtniszellen**, als Hinweise auf eine zurückliegende SARS-CoV-2-Infektion und eine **vorhandene zelluläre Immunität**.



Kernaussagen

Nachweis einer aktiven Immunreaktion anhand der **IFN-γ Sekretion**

Detektion von Memory T-Zellen als Nachweis eines latenten Immunstatus anhand der **Il2 Sekretion**

Ggf. Verhältnis doppelt und einfach gefärbter Spots für eine differenzierte Beurteilung des Immunstatus

Quelle: Fa. Aid SARS CoV-2 EliSpot

synlab MVZ Labor München Zentrum ♦ Schwanthalerstraße 115 ♦ 80339 München
Telefon: +49 89 54 308 - 0 ♦ Fax: +49 89 54 308 - 337
E-Mail: muenchen.zentrum@synlab.com ♦ Internet: www.labor-muenchen.zentrum.de

Indikationen zur Durchführung des CoV-iSpot:

Indirekter Nachweis einer vorangegangenen COVID-19-Infektion

- bei respiratorischen Atemwegsinfektionen mit Fieber und trockenem Husten, die nicht durch eine positive PCR bestätigt werden konnten
- bei Patienten mit fraglicher oder primär fehlender Antikörperantwort trotz positiven SARS-CoV-2 PCR-Nachweis
- bei asymptomatischen Verläufen bei der sich oft keine oder nur geringe Antikörpertiter finden ließen, da diese häufig bereits in der frühen Rekonvaleszenz Phase abgenommen haben

Aktuellen Studien zufolge gelingt der Nachweis einer Covid-19 Infektion mit dem CoV-iSpot deutlich häufiger als mit Antikörpernachweisen allein.

Nachweis einer zellulären Immunität

- Nachweis SARS-CoV-2-spezifischer T-Zellklone stellen einen Beweis für eine vorangegangene Virusinfektion und eine zelluläre Immunität dar, selbst bei fehlenden Antikörpernachweis.

Ersten Studien zufolge bleiben SARS-CoV-2-spezifische T-Zellantworten lange nachweisbar.

Anforderung:	SARS CoV-2 Elispot
Material:	10 ml Heparin Blut
Dauer:	zwei Tage (Annahme Montag bis Donnerstag 12:00 Uhr)
Abrechnung:	Abrechnung gegenwärtig nur im privatärztlichen Bereich (GOÄ)

GOÄ (1,15) Privat:	147,46 €*	GOP 4003, 4xA3767
GOÄ (1,0) IGeL:	128,23 €	GOP 4003, 4xA3767

Aufgrund der Materialkosten und der aufwendigen Testabarbeitung erfolgte eine Preisanpassung zum 15.03.2021.

*zzgl. Auslagen nach §10 der GOÄ

Ansprechpartner:	Frau Dr. Häring	Telefon: 089 54308-0

DAkkS Deutsche Akkreditierungsstelle
D-PL-13149-01-00
D-ML-13149-01-00

synlab MVZ Labor München Zentrum ♦ Schwanthalerstraße 115 ♦ 80339 München
Telefon: +49 89 54 308 - 0 ♦ Fax: +49 89 54 308 - 337
E-Mail: muenchen.zentrum@synlab.com ♦ Internet: www.labor-muenchen.zentrum.de

Literatur

Li et al J. T cell reponses to whole SARS Coronavirus in Human Immunol 2008 181 (8): 5490-5500
Bacher et al. Low avidity CD4+ T cell response to SARS-CoV-2 in unexposed individuals and humans with severe COVID-19 Immunity 2020 DOI19.1016
Peng Y, Mentzer AJ, Liu G, et al. Broad and strong memory CD4 + and CD8 + T cells induced by SARS-CoV-2 in UK convalescent individuals following COVID-19. Nature Immunology. Published online September 4, 2020:1-10
Braun J, Loyal L, Frentsch M, Wendisch D, Georg P, Kurth F, et al. Presence of SARS-CoV-2 reactive T cells in COVID-19 patients and healthy donors. medRxiv. 2020:2020.04. 17.20061440A. N. Cohen and B. Kessel, "False positives in reverse transcription PCR testing for SARS-CoV-2," medRxiv, May 2020, doi:10.1101/2020.04.26.20080911.
S. Woloshin, N. Patel, and A. S. Kesselheim, "False Negative Tests for SARS-CoV-2 Infection - Challenges and Implications," Engl. J. Med., Jun. 2020, doi: 10.1056/nejmp2015897.
Q. X. Long et al., "Antibody responses to ARS-CoV-2 in patients with COVID-19," Nat. Med., vol. 26, no. 6, pp. 845–848, Jun.2020, doi: 10.1038/s41591-020-0897-1.
Q. X. Long et al., "Clinical and immunological assessment f asymptomatic SARS-CoV-2 infections," Nat. Med., vol. 26, no. 8, pp.1200–1204, Jun. 2020, doi: 10.1038/s41591-020-0965-6.
J. Seow et al., "Longitudinal evaluation and ecline of antibody responses in SARS-CoV-2 infection,"medRxiv, p.2020. 07.09.20148429, Jul. 2020, doi: 10.1101/2020.07.09.20148429.
S. R. Huber, J. van Beek, J. de Jonge, W. Luytjes, and D. van Baarle, "T cell responses to viral infections - opportunities for peptide vaccination," Frontiers in Immunology, vol. 5, no. APR. rontiers Research Foundation, 2014, doi:10.3389/fimmu.2014.00171.
S. L. Swain, K. K. McKinstry, and T. M. Strutt, "Expanding roles for CD4 + T cells in immunity to viruses," Nature Reviews Immunology,vol. 12, no. 2. Nature Publishing Group, pp. 136–148, Feb. 2012, doi: 0.1038/nri3152.
J. Charles A Janeway, P. Travers, M. Walport, and M. J. Shlomchik, "T Cell-Mediated Immunity," in Immunobiology: The Immune System in Health and Disease., 5th ed., Garland Science, 2001.
H. Zhang, "INF-gamma Release ELISpot Assay," Bio-Protocol, vol. 2, no. 6, 2012, doi: 10.21769/bioprotoc.120.
C. Möbs and T. Schmidt, "Research Techniques Made Simple: Monitoring of T-Cell Subsets using the ELISpot Assay," J. Invest. Dermatol., vol. 136, no. 6, pp. e55–e59, Jun. 2016, doi: 10.1016/j.jid.2016.04.009.
S. Thijsen et al., "Elevated nucleoprotein-induced interferon-γ release in COVID-19 patients detected in a SARS-CoV-2 enzymelinked immunosorbent spot assay," J. Infect., vol. 0, o. 0, 2020, doi: 10.1016/j.jinf.2020.06.015.
T. Sekine et al., "Robust T cell immunity in convalescent individuals with asymptomatic or mild COVID-19, "Cell 183, 158-168 2020
A. Grifoni et al., "Targets of T Cell Responses to ARS-CoV-2 Coronavirus in Humans with COVID-19 Disease and Unexposed Individuals," Cell, vol. 181, no. 7, pp. 1489-1501.e15, Jun. 2020, doi: 0.1016/j.cell.2020.05.015.
A. Sette and S. Crotty, "Pre-existing immunity to SARS-CoV-2: the knowns and unknowns," Nat. Rev. Immunol.,vol. 20, no. 8, pp. 457–458, Aug. 2020, doi: 10.1038/s41577-020-0389-z.
J. Mateus et al., "Selective and cross-reactive SARS-CoV-2 T cell epitopes in unexposed humans," Science (80-.)., p.3871, Aug. 2020, doi: 10.1126/science.abd3871.
J. Braun et l., "SARS-CoV-2-reactive T cells in healthy donors and patients with COVID-19., Nature, pp. 1–8, Jul. 2020, doi: 10.1038/s41586-020-2598-9.
Le Bert et al., "SARS-CoV-2-specific T cell immunity in cases of COVID-19 and SARS, and uninfected controls,"doi: 10.1038/s41586-020-2550-z.
Le Bert, N., Tan, A.T., Kunasegaran, K. et al. SARS-CoV-2-specific T cell immunity in cases of COVID-19 and SARS,and uninfected controls. Nature (20209
D. M. Altmann and R. J. Boyton, "SARS-CoV-2 T cell immunity: Specificity, function, durability, and role in protection," Sci. Immunol., vol. 5, no. 49, p. 6160, Jul. 2020, doi: 10.1126/sciimmunol. abd6160.

synlab MVZ Labor München Zentrum ♦ Schwanthalerstraße 115 ♦ 80339 München
Telefon: +49 89 54 308 - 0 ♦ Fax: +49 89 54 308 - 337
E-Mail: muenchen.zentrum@synlab.com ♦ Internet: www.labor-muenchen.zentrum.de