Immunodiagnosi cellulare: EliSpot SARS-CoV-2 Quantificazione dell'attività delle cellule T contro SARS-CoV-2

Per coordinare la risposta immunitaria contro un patogeno, il sistema immunitario si basa su due elementi importanti: **la risposta immunitaria cellulare e umorale.**
Poiché non tutti i pazienti sviluppano una quantità misurabile di anticorpi dopo il contatto con il virus, l'immunità può essere valutata a livello cellulare con il test SARS-CoV-2-EliSpot.

La diagnostica di laboratorio di routine, per valutare l'immunità dopo l'esposizione all'infezione, si basa solitamente sulla risposta umorale che produce anticorpi contro il virus SARS-CoV-2. Gli anticorpi possono con l'effetto neutralizzante prevenire un'infezione e contribuire all'eliminazione di un patogeno. **Non tutti i pazienti sviluppano una quantità misurabile di anticorpi dopo il contatto con un virus,** soprattutto in caso di decorso asintomatico oppure molto lieve (8). Altri dati indicano che dopo una risposta immunitaria anticorpale iniziale, gli anticorpi rilevati in seguito scompaiono.

La risposta cellulare e in particolare **le cellule T** modulano la potenza della risposta immunitaria secernendo **citochine** per aumentare (7) o sopprimere la risposta a seconda della carica virale. Le cellule T sono inoltre coinvolte nella differenziazione delle plasmacellule e nella successiva produzione di anticorpi della risposta immunitaria umorale.

La risposta mediata dalle cellule T svolge quindi un ruolo centrale nella difesa virale e la memoria delle cellule T può persistere per diversi anni per proteggere da reinfezioni gravi (1, 2, 5).

Il rilevamento specifico di cellule T reattive (cellule effettrici) contro SARS-CoV-2 indica un'infezione acuta o passata e una possibile protezione vaccinale – indipendentemente dal fatto che si siano formati anticorpi.

Un metodo efficace: il test EliSpot (Enzyme-linked Immuno-Spot Assay)
Il test è in grado di rilevare il **rilascio di citochine** delle cellule T a livello di singola cellula e quindi completa in modo decisivo la diagnostica della risposta immunitaria. Le cellule T che sono già state in contatto con il virus, ma anche con il vaccino, reagiscono con l'attivazione dei **peptidi SARS-CoV-2** aggiunti in vitro. La produzione e il rilascio di interferone gamma **(IFNγ)** sono rilevati nel test EliSpot (T-Spot.COVID) e sono caratteristici delle **cellule T effettrici.** Il rilevamento riesce per un periodo di tempo più lungo di quanto sia possibile con gli anticorpi.

Nel nostro test vengono utilizzati **peptidi** altamente specifici della **SARS-CoV-2:**

1. sequenze della proteina **s**pike situata sulla membrana e
2. del **n**ucleocapside presente nel nucleo.

I risultati attuali delle ricerche scientifiche indicano una possibile distinzione tra un'infezione passata da Covid-19 (reazione a entrambi i peptidi) e la vaccinazione (reazione al peptide S) (4, 6, 9, 10).

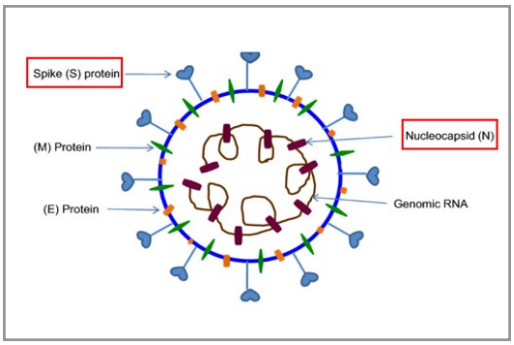
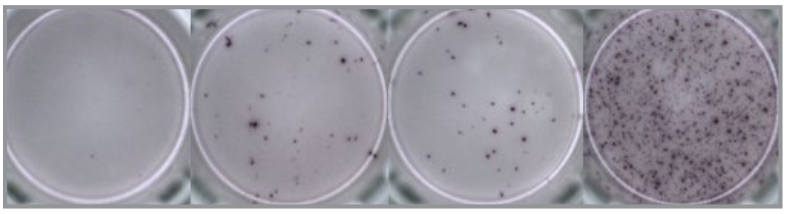


Figure 1: Proteina S e N di SARS-CoV-2 (3)



campione negativo **S-Peptid** **N-Peptid** **Positiv-Kontrolle**

Figura 2: Esempio di risposta delle cellule T al peptide S e N dopo un'infezione.

Possibile indicazione – domande:

L'infezione da SARS-CoV-2 è avvenuta anche in caso di...?
un decorso lieve e asintomatico,
un risultato PCR negativo nonostante la presenza di sintomi tipici.

La risposta anticorpale è incerta, decrescente o assente dopo la positività alla PCR o vaccinazione.
Il rilevamento di cellule T di memoria, le quali nel test EliSpot reagiscono con la produzione di citochine contro gli antigeni SARS-CoV-2, può indicare un precedente contatto virale senza produzione di anticorpi. Il rilevamento della reattività crociata può indicare **un'immunità di base** indipendente dal rilevamento di anticorpi.

Requisito
SARS CoV-2 Elispot, profilo 66911
Con indicazioni cliniche, trattamento, test PCR, vaccinazione, ecc.

Prezzo
CHF 177.00, prestazione non obbligatoria

Materiale
10 ml di sangue con Eparina

Präanalytik
A causa della limitata stabilità del campione, il test deve essere iniziato in laboratorio entro le 24 ore.

- Prelievo di sangue dal lunedì al giovedì. Il test viene eseguito da lunedi a venerdì a mezzogiorno
- Non centrifugare
- Non conservare in frigorifero
- Non esporre ai raggi diretti del sole
- Ritiro tramite corriere, non inviare tramite posta

Antigeni testati
Peptide S di SARS-CoV-2 (proteina spike), peptide N di SARS-CoV-2 (proteina nucleocapside)

Approvazione
CE, IVD

Referto
Il risultato della reazione immunitaria cellulare è indicato come «negativo», «borderline» o «positivo».

Bibliografia:

1. 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. 2020:2020.04.17.20061440
2. Channappanavar, R., Fett, C., Zhao, J., Meyerholz, D.K., and Perlman, S. (2014). Virus-specific memory CD8 T cells provide substantial protection from lethal severe acute respiratory syndrome coronavirus infection. J Virol 88, 11034-11044.
3. Das, S.K. The Pathophysiology, Diagnosis and Treatment of Corona Virus Disease 2019 (COVID-19). Ind J Clin Biochem 35, 385–396 (2020). https://doi.org/10.1007/s12291-020-00919-0
4. Folegatti PM, Ewer KJ, Aley PK et al. Safety and immunogenicity of the ChAdOx1 nCoV-19 vaccine against SARS-CoV-2: apreliminary report of a phase 1/2, single-blind, randomized controlled trial. The Lancet. 2020; 396(10249):467-478.
5. Grifoni A, Weiskopf D, Ramirez SI, Mateus J, Dan JM, Moderbacher CR, et al. Targets of T Cell Responses to SARS-CoV-2 Coronavirus in Humans with COVID-19 Disease and Unexposed Individuals. Cell. 2020;181(7):1489-501.e15
6. Jackson LA, Anderson EJ, Rouphael NG et al. An mRNA vaccine against SARS-CoV-2 – Preliminary Report. N Engl J Med. 2020; 383:1920-1931.
7. Maisch B. SARS-CoV-2 as potential cause of cardiac inflammation and heart failure. Is it the virus, hyperinflammation, or MODS? Herz. 2020;45(4):321-2.
8. Mallapaty, S. (2020). Will antibody tests for the coronavirus really change everything? Nature 580, 571-572.
9. Sahin U, Muik A, Derhovanessian E et al. COVID-19 vaccine BNT162b1 elicits human antibody and Th1 responses. Nature. 2020; 586: 594-599.
10. Sauer K, Harris T. An effective COVID-19 vaccine needs to engage T cells. Front. Immunol. 2020. https://doi.org/10.3389/fimmu.2020.581807