

T-SPOT[®].COVID test

Laboratoř klinické imunologie a alergologie v Novém Jičíně rozšiřuje diagnostiku nemoci COVID-19 o sledování specifické T-buněčné imunitní odpovědi proti viru SARS-CoV-2 metodou ELISPOT izolací mononukleárních buněk z lidské plné krve.

PRINCIP TESTU

Imunitní odpověď na infekci virem SARS-CoV-2 je zprostředkovaná aktivací B a T-lymfocytů. V případě, že jsou u pacienta přítomny paměťové T-lymfocyty, dochází při jejich stimulaci *in vitro* specifickými antigeny viru (spike a nukleokapsidové proteiny, zvláště panel A a panel B) k tvorbě prozánětlivého cytokinu interferonu gamma (INF- γ). Antigeny jsou navrženy tak, aby aktivovaly CD4+ T-pomocné lymfocyty (Th) i CD8+ cytotoxické T-lymfocyty (Tc). Výsledkem testu je odečet specifických T-lymfocytů, které produkují INF- γ a ten je vizualizován na membráně ve formě spotů (metoda ELISPOT). Výsledky lze kvantifikovat (tzn. určit počet spotů) a zhodnotit tak míru infekce.

KLINICKÉ INFORMACE, INDIKACE VYŠETŘENÍ

Test slouží k nepřímé diagnostice infekce virem SARS-CoV-2 (akutní anebo prodělané). Imunitní odpověď zprostředkovaná T-lymfocyty nastupuje dříve než protilátková odpověď (viz obr.1). Byla prokázána rychlá produkce specifických T-lymfocytů (CD4+ a CD8+) během prvních dvou týdnů po nástupu klinických příznaků. Existuje pozitivní korelace mezi časnou detekcí specifických T-lymfocytů a lepším průběhem nemoci.

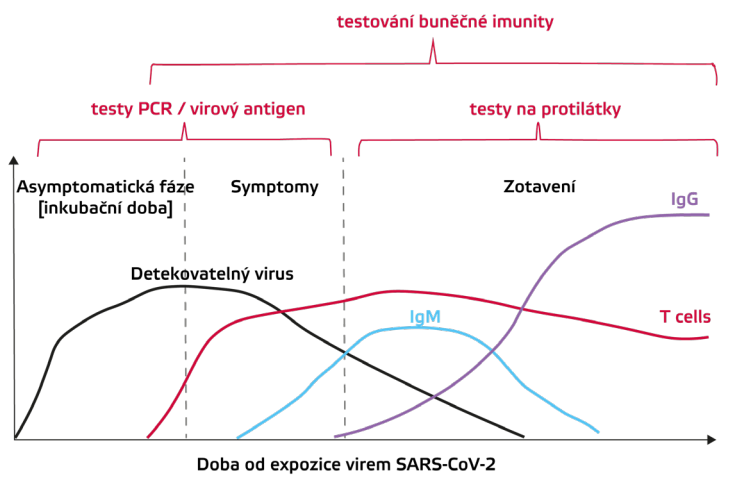
Test je vhodné uvést do korelace se stanovením protilátkové odpovědi (10-30 % pacientů nemají detekovatelné protilátky proti SARS-CoV-2 a hladina protilátek se může s odstupem času měnit). Nízký titer protilátek byl prokázán u jedinců s mírným či asymptomatickým průběhem nemoci. T-buněčná odpověď se prezentuje jako robustní a dlouhodobá (průkazná touto metodou cca do 6 měsíců od infekce) a hraje důležitou roli v potlačení šíření viru v organismu. Test může sloužit k posouzení míry T-buněčné imunitní odpovědi u jednotlivce.

Obrázek:

Dynamika tvorby T-buněčné odpovědi a specifických protilátek: 1. fáze – přímý průkaz viru (PCR nebo antigen), 2. fáze – průkaz T-buněčné imunitní odpovědi, která je detekovatelná během prvních dvou týdnů po nástupu klinických příznaků, 3. fáze – průkaz protilátek třídy IgM a následně třídy IgG

Zdroj:

the World Health Organisation – EPI-WiN webinar COVID-19 immunity and Oxford Immunotec



VÝHODY TESTU

- vysoká senzitivita testu
- citlivý indikátor proběhlé infekce
- rychlý a snadný záchyt aktivovaných T-lymfocytů při novém kontaktu s antigenem
- možnost objasnění nejasných serologických výsledků či nejasné symptomatologie (negativní PCR test)
- pro sledování úspěšnosti očkování u pacientů s deplecí B-lymfocytů

JEDNOTKA

počet spotů

BIOLOGICKÉ REFERENČNÍ ROZMEZÍ

negativní (počet spotů v obou panelech je ≤ 5 spotů), hraniční (počet spotu je roven 5,6 nebo 7, doporučuje se test opakovat), pozitivní (počet spotů je ≥ 8 spotů)

ODBĚR

2 zkumavky s nesrážlivou krví odebrané do Lithium-heparinu (celkový objem krve 8 ml), odběrové dny: pondělí až čtvrtek. Důležité upozornění: **neodebírat v pátek a den před pracovním volnem!** (nutná inkubace přes noc), dodat do laboratoře do 6 h po odběru a uchovat při pokojové teplotě.

METODA

ELISPOT (enzyme-linked immunospot assay)

DOBA ODEZVY

do druhého dne

INTERPRETACE NÁLEZU

každý výsledek bude slovně interpretovaný odborným pracovníkem. Pozitivní (reaktivní) výsledek, tzn. detekce reaktivních T-lymfocytů produkujících IFN- γ po stimulaci specifickým antigenem, ukazuje na expozici SARS-CoV-2. U pacientů, kteří prodělali přirozenou infekci virem by měla být pozitivní reakce v obou antigenech. U vakcinovaných jedinců by měla být pozitivní reakce pouze po stimulaci spike proteinem. Nález je nutno interpretovat v kontextu s anamnézou pacienta, klinickým obrazem a dalšími laboratorními vyšetřeními.

Literatura:

1. Cervia C, Nilsson J, Zurbuchen Y et al. Systemic and mucosal antibody responses specific to SARS-CoV-2 during mild versus severe COVID-19. J Allergy Clin Immunol. 2020; 147(2): 545-557
2. Long QX, Tang XJ, Shi QL et al. Clinical and immunological assessment of asymptomatic SARS-CoV-2 infections. Nature Medicine. 2020;26:1200-1204
3. Ibarrondo FJ, Fulcher JA, Goodman-Meza D et al. Rapid decay of anti-SARS-CoV-2 antibodies in persons with mild Covid-19. N Engl J Med. 2020; 383: 1085-1087
4. Zuo J, Dowell A, Pearce H et al. Robust SARS-CoV-2-specific T-cell immunity is maintained at 6 months following primary infection. bioRxiv. 2020. doi: 10.1101/2020.11.01.362319
5. Tan AT, Linster M, Tan CW et al. Early induction of functional SARS-CoV-2 specific T cells associates with rapid viral clearance and mild disease in COVID-19 patients. Cell Reports. 2021; 34(6)
6. Sette A, Crotty S. Adaptive immunity to SARS-CoV-2 and COVID-19. Cell. 2021. 184(4): 861-880
7. Weiskopf D, Schmitz KS, Raadsen MP et al. Phenotype and kinetics of SARS-CoV-2-specific T cells in COVID-19 patients with acute respiratory distress syndrome. Sci Immunol. 2020; 5(48)
8. Wyllie D, Mulchandani R, Jones HE et al. SARS-CoV-2 Reactive T cell numbers are associated with protection from COVID-19: A prospective cohort study. medRxiv. doi: 10.1101/2020.11.02.2022277