

# SARS-CoV-2

## Eine aktuelle Übersicht zur Corona Labordiagnostik

Dipl.-Biol. Wolfgang Mayer

SARS-COV2 DIAGNOSTIK		NEU
<input type="checkbox"/>	TAB SARS-CoV2 PCR/Direktnachweis	233
<input type="checkbox"/>	S SARS-CoV2 IgM Antikörper	217
<input type="checkbox"/>	S SARS-CoV2 IgG Ak quantitativ	2752
	Neutralisierende IgG-Ak Spike (Impfung od. Infektion)	
<input type="checkbox"/>	S SARS-CoV2 Antikörper Blot IgG	219
	Nachweis und Differenzierung IgG Ak Coronaviren	
<input type="checkbox"/>	NH SARS-CoV2 ITT	24h 15020
	T-Zellen SARS-CoV2 und saisonale Coronaviren	
<input type="checkbox"/>	NH ITT Spike	24h 15019
	T-Zell Antwort gegen Spike nach Impfung	
<input type="checkbox"/>	3Snü, Corona Risk	24h 6600
	1E Risikofaktoren Herz, Gefäße, Leber, Niere, α1-AT, Diabetes, Asthma, Antikörperstatus, Vitamin D	
<input type="checkbox"/>	E FlowCast PEG (Polyethylenglykol)	24h 13943
	Allergie/Impfstoffzusatz (2xPEG BioNTech&Moderna)	
<input type="checkbox"/>	S PF4-Autoantikörper	3094
	Risiko impfstoffinduzierte Thrombose	

Abb. 1: Übersicht SARS-CoV-2 Labordiagnostik

### 1. Direktnachweis des Erregers aus Nasen/Rachenabstrich mittels PCR

Die PCR-Verfahren gelten derzeit als Goldstandard zum Nachweis einer akuten Infektion. Ein negatives PCR-Ergebnis schließt allerdings die Möglichkeit einer Infektion mit SARS-CoV-2 nicht zwingend aus. Falsch-negative Ergebnisse können z. B. aufgrund schlechter Qualität der Probenahme, unsachgemäßen Transports oder ungünstigen Zeitpunkts (bezogen auf den Krankheitsverlauf) der Probenentnahme auftreten. Wenn ein Patient mit begründetem Verdacht auf SARS-CoV-2-Infektion in der initialen PCR negativ getestet wird, sollte ggf. eine erneute Probenentnahme und -untersuchung durchgeführt werden.

**Indikation:**

- Verdacht auf akute Infektion
- akute Symptomatik
- Kontakt mit Risikoperson
- Ausschluss akute Infektion



Abb.2: Geeignete Abstrichmaterialien für die SARS-CoV-2 PCR. Benötigt wird ein trockener Abstrich aus Rachen bzw. Nase für den Virusnachweis.

**Material:** Mittels eines Nasen-Rachen-Abstriches bzw. Rachenabstriches aus den oberen Atemwegen gewonnen.

Rachenabstriche zeigen eine geringfügig niedrigere diagnostische Sensitivität als Nasenabstriche, werden aber von Patienten leichter toleriert, ggf. können die Abstriche auch kombiniert werden. Zu beachten ist die Verwendung geeigneter Tupfer („Virusstuffer“/trockene Tupfer mit kleiner Menge NaCl-Lösung im Schwämmchen, keine Agar-Tupfer!), siehe Abb.2.

**Achtung!** Anforderungen über GKV bzw. in Bezug auf Bayerisches Testangebot können nur über eine Kassenpraxis mit den nach KV-Vorgaben gekennzeichneten Überweisungsscheinen bearbeitet werden, die Indikationsstellung ist zwingend anzugeben (akute Symptomatik, Kontakt mit Risikoperson bzw. App Signal, freiwilliger Test ohne Anlass).

### 2. Antikörpernachweis aus Serum

**Indikation:**

- Nachweis einer zurückliegenden/überstandenen SARS-CoV-2 Infektion, Impferfolgskontrolle

**Material:** Serum

Wie lange und wie robust nach SARS-CoV-2-Infektion Antikörpertiter vorliegen, ist derzeit unklar. Es gibt Hinweise, dass gerade bei asymptomatischen



Infektionen nur geringe oder keine Antikörpertiter messbar sind.

**IgM-Antikörper** treten in der frühen Phase einer Infektion auf. Die Bestimmung von IgM-Antikörpern gegen SARS-CoV-2 ist daher allenfalls im Rahmen einer Akutdiagnostik in Erwägung zu ziehen, hat aber als Infektionsnachweis gegenüber dem Goldstandard PCR-Direktnachweis so gut wie keine Bedeutung. Ein positiver IgM-Befund muss mittels PCR bestätigt werden, da auch falsch positive Ergebnisse vorkommen können. In der Kombination von IgG mit IgM können auch frischere und möglicherweise noch infektiöse Personen identifiziert werden, die bei alleiniger Betrachtung von IgG nicht erkannt werden.

**IgG-Antikörper** (neutralisierende Antikörper): Marker für eine stattgefundene Infektion oder eine Immunisierung durch Impfung. Im Gegensatz zu den IgG Assays der ersten Generation, die in der Regel gegen die Nukleokapsidstruktur des Virus gerichtet waren und ein qualitatives Ergebnis lieferten, sind die Tests nun deutlich verbessert worden. Dies ist nicht zuletzt auch den Anforderungen an die Assays als Impferfolgskontrolle geschuldet. Es werden quantitative Messergebnisse in einer von der WHO standardisierten internationalen Einheit ausgegeben. Die erfassten IgG-Antikörper sind gegen die Spike Struktur des Virus gerichtet und haben neutralisierende (schützende) Funktion. Damit kann nun auch die Frage der protektiven Immunität von Antikörpern (Schutz vor Reinfektion oder erneuter Erkrankung) nach Impfung oder durchgemachter Infektion beantwortet werden.

### 3. Antikörper-Blot aus Serum (IgG)

**Indikation:**

- Nachweis einer zurückliegenden/überstandenen SARS-CoV-2 Infektion.

**Material:** Serum

Eine wertvolle Erweiterung der Antikörperdiagnostik stellt der rekombinante Blot Assay zum Nachweis von IgG-Antikörpern gegenüber Antigenen von saisonalen Coronaviren (HCoV) und dem neuen SARS-CoV-2 Virus dar. Die diagnostische Spezifität wird mit 98,8% angegeben, die diagnostische Sensitivität ab 23 Tage nach Symptombeginn mit 100%. Der

Test eignet sich daher ganz klar nicht für die Fragestellung akute Infektion sondern ausschließlich für die Abklärung einer zurückliegenden Infektion und bestehenden Antikörperantwort. Gerade die Information über die Immunitätslage gegenüber saisonalen Coronaviren gibt Hinweise im Rahmen der Risikoeinschätzung für den Krankheitsverlauf bei Infektion mit SARS-CoV-2.

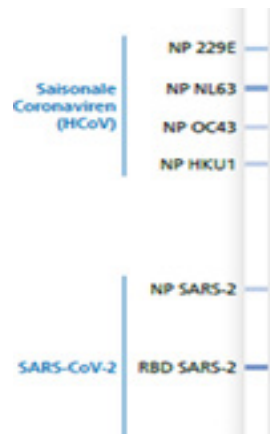


Abb.3: Ergebnis eines **Antikörper-Blots** mit Antikörpern gegen saisonale Coronaviren und CoV-2, hier sind bei SARS-CoV-2 Antikörper sowohl gegenüber dem Nukleokapsid des Virus als auch gegenüber dem Spike Oberflächenprotein und der Rezeptor-Bindedomäne erkennbar, die für die Bindung an die Wirtszelle maßgeblich ist.

**Vorteile des Blots gegenüber dem einfachen Antikörper Suchtest sind:**

- Sehr hohe Sensitivität und Spezifität durch die Verwendung verschiedener, rekombinanter SARS-CoV-2-spezifischer Antigene
- Differenzierung der Antikörperantwort ermöglicht bessere Einschätzung der Protektivität der Immunantwort (Antikörperdiversität und Abdeckung von Bindungsdomänen)
- Eignung als Screening- und Bestätigungstest für den Nachweis von IgG-Antikörpern gegen SARS-CoV-2
- Zusätzliche Information durch die Detektion von Antikörpern gegen saisonale Coronaviren (HCoV)

**Hinweis:**

Der Blot ist derzeit ausschließlich als Privat- oder Selbstzahlerleistung anforderbar.

### 4. Zelluläre Immunantwort aus Heparinblut (ITT-Corona)

**Indikation:**

- Nachweis einer zurückliegenden/überstandenen SARS-CoV-2 Infektion, zusätzlich Überprüfung der Immunkompetenz gegenüber saisonalen Coronaviren

**Material:** Heparinblut, nicht älter als 24 Stunden

Zahlreiche Publikationen zeigen, dass infizierte asymptomatische Personen oder solche mit mildem Verlauf keine oder kaum Antikörper entwickeln, allerdings eine robuste T-Zell-Antwort nachweisbar ist. Daher muss zur Überprüfung einer bestehenden Immunantwort die T-Zell-Situation unbedingt mit berücksichtigt werden. Dies erfolgt mit gängigen zellulären Funktionstests (z. B. LTT, EliSpot, ITT). Während im LTT die Proliferation möglicher Gedächtniszellen ohne Beurteilung der Effektorzellkompetenz gemessen wird, erfassen zytokinbasierte Verfahren wie Elispot (nur als Kombitest mit IL2 und IFN $\gamma$  Spots) und ITT (Messung der gesamten Produktion von IL2 und IFN $\gamma$ ) gerade auch die Qualität und Effektorkompetenz der Immunsituation und sind daher gegenüber dem LTT zu bevorzugen. Entscheidend für die diagnostische Aussage ist die Qualität (Spezifität) und Breite (Sensitivität) der eingesetzten Antigene von SARS-CoV-2, Gesamtproteine decken hier gegenüber verbreiteten Peptidmischungen ein maximales Antigenspektrum bei weitgehender Unabhängigkeit vom HLA-Typ des Patienten ab. Auch wenn die Vermutung nahe liegt, dass eine starke und IFN $\gamma$ -geprägte T-Zell-Antwort vor einer rekurrenten, schweren COVID-19-Episode schützt steht ein wissenschaftlicher Beleg dafür noch aus.

**Hinweis:** Der ITT Corona ist derzeit ausschließlich als Privat- oder Selbstzahlerleistung anforderbar.

## 5. ITT-Spike

### Indikation:

➤ T-Zell Antwort gegenüber SARS-CoV-2 Spike nach Impfung oder Infektion

**Material:** Heparinblut, nicht älter als 24 Stunden

Der gegenüber dem ITT Corona reduzierte T-Zell-Test ITT Spike ermöglicht den Nachweis und die Differenzierung spezifischer T-Zellen ausschließlich gegenüber dem SARS-CoV-2 Spike Protein, welches nach der Impfung (oder nach Infektion) im Körper gebildet wird und dadurch die Immunantwort gegen SARS-CoV-2 hervorruft. Der Test ist speziell dafür gedacht, nach einer Impfung zusätzlich zur Antikörper-Impftiterkontrolle (IgG-Spike) auch die zelluläre Immunantwort, die durch die Impfung induziert wurde, zu überprüfen. Die T-Zell-Antwort wird über die Freisetzung von Interleukin-2 und

Interferon-gamma ermittelt. Damit werden sowohl Gedächtnis- als auch Effektorzellen im Read-out berücksichtigt.

**Hinweis:** Der ITT Spike ist derzeit ausschließlich als Privat- oder Selbstzahlerleistung anforderbar.

## 6. FlowCast PEG

### Indikation:

➤ Überprüfung einer allergischen Reaktion auf PEG vor Impfung mit mRNA-Impfstoff

**Material:** EDTA-Blut, nicht älter als 24 Stunden

Nach bisherigen Erfahrungen werden die mRNA-Impfstoffe von BioNTech oder Moderna gut vertragen. Die Rate an allergischen Reaktionen liegt deutlich unter der konventioneller Impfstoffe. Dies liegt sicher auch daran, dass in mRNA-Impfstoffen weitaus weniger Zusatzstoffe (Impfverstärker, Immunbooster, Stabilisatoren und Konservierungsmittel) enthalten sind als in den gängigen Impfstoffen. Nur in einer sehr geringen Anzahl an Fällen wurde von allergischen Sofortreaktionen nach Impfung mit mRNA Impfstoff berichtet. Mit sehr hoher Wahrscheinlichkeit ist dafür der darin enthaltene Zusatzstoff Polyethylenglykol (PEG) verantwortlich. PEG ist ein pharmazeutischer Hilfsstoff, der ubiquitär in vielen Medikamenten und Kosmetikprodukten Verwendung findet, z. B. auch in Salben, Sonnencremes oder Zahnpasta. PEG kann bei hochempfindlichen Personen allergische Reaktionen vom Soforttyp hervorrufen, dies ist lange bekannt. Diese Reaktionen sind im medizinischen Labor über einen Flow-Cast-Test mit PEG zu erkennen. Allergiker oder verunsicherte Patienten können sich daher vor einer Impfung auf PEG-Unverträglichkeit testen lassen.

**Hinweis:** Der FlowCast PEG ist derzeit ausschließlich als Privat- oder Selbstzahlerleistung anforderbar.

## 7. Prävention und Risikominimierung für einen schweren Verlauf einer SARS-CoV-2-Infektion

### Indikation:

- Identifizierung von Risikopersonen
- zur Prävention und Risikominimierung

## A) Lab4gut NGS–Risikofaktor Darmmikrobiom

**Material:** Stuhl-Spezialröhrchen/Kit

Zwei bemerkenswerte Publikationen (Yeoh YK, et al. Gut 2021; Rajput, S., et al. Ind J Clin Biochem 2021) weisen auf den Zusammenhang zwischen Darmmikrobiom und dem Verlauf sowie dem Ansteckungsrisiko einer COVID-19 Infektion hin. Dies liegt in der immensen Bedeutung des Darmimmunsystems für die Immunkompetenz begründet. So führen Defizite des Mikrobioms auch zu einer unzureichenden Erregerabwehr in der Lunge, da die Schleimhautimmunität beeinträchtigt ist. Ein Kontakt mit SARS-CoV-2 trifft dann dort auf eine suboptimale Abwehr, eine Infektion wird wahrscheinlicher. Auf der anderen Seite wird durch das Darmmikrobiom und das dadurch beeinflusste Darm-assoziierte Immunsystem auch maßgeblich die Kontrolle der Entzündungsreaktion gesteuert. Eine entgleiste Immunhomöostase begünstigt ein progressives Infektionsgeschehen mit starker Gewebedestruktion und damit einen schweren Verlauf der Erkrankung. Die modernen Möglichkeiten der NGS-basierten Stuhlanalytik erlauben eine umfassende Beurteilung des Darmmikrobioms und gehören daher in das diagnostische Portfolio zur Prävention und zur Abklärung von Risikofaktoren für eine SARS-CoV-2 Infektion.

## B) Corona Risk–Risikoparameter im Blut

**Material:** 3 Serum, 1x EDTA, nicht älter als 24 h

Etliche Risikofaktoren für einen schweren Verlauf einer SARS-CoV-2 Infektion sind bekannt, dazu gehören Leber- und Nierenerkrankungen, kardiovaskuläre Erkrankungen, Herzinsuffizienz, Diabetes, Lungenerkrankungen, Immundefizite sowie niedrige Vitamin D-Spiegel. In dem Profil sind Labormarker für die bekannten Risikofaktoren zusammengestellt, zusätzlich wird die Immunitätslage (IgG) gegenüber saisonalen Coronaviren und SARS-CoV-2 ausgewiesen (siehe Abb. 4).

**Hinweis:** Lab4gut NGS und das Risikoprofil Corona ist derzeit ausschließlich als Privat- oder Selbstzahlerleistung anforderbar.

## C) Risiko Vakzin-induzierte thrombotische Thrombozytopenie (VITT)

**Material:** Serum, nicht älter als 12 h

In Zusammenhang mit den Vektorimpfstoffen von AstraZeneca und Johnson&Johnson wurden schwerwiegende Nebenwirkungen mit thrombotischen Ereignissen, überwiegend Sinus- und Hirnvenenthrombosen, in einigen Fällen aber auch primäre intrazerebrale Blutungen und arterielle Verschlüsse zerebraler Gefäße beobachtet.

Bei einer Sinusvenenthrombose kommt es durch die Bildung von Blutgerinnseln zu einem Verschluss bestimmter Venen im Gehirn. Folge sind schwere Kopfschmerzen, aber auch Lähmungen und Sprachstörungen können auftreten. Gleichzeitig tritt bei den Patienten ein Mangel an Blutplättchen auf, was eine erhöhte Blutungsneigung bedingt und zu punktförmigen Einblutungen in der Haut und den Schleimhäuten oder zu Nasenbluten führt. Dabei handelt es sich nicht um einen gänzlich unbekanntem Pathomechanismus, ähnlichen Verlauf zeigt die sogenannten Heparin-induzierte Thrombozytopenie (HIT). Die Heparin-induzierte Thrombozytopenie stellt eine unerwünschte Arzneimittelwirkung dar, bei der das endogene Chemokin Plättchenfaktor 4 (PF4) an Heparin, einem Polyanion, bindet. Die dadurch bedingte Konformationsänderung des Plättchenfaktors löst schließlich eine Immunreaktion aus, in deren Folge es zur Synthese spezieller Antikörper kommt. Diese gegen PF4 gerichteten Antikörper binden ihrerseits an Blutplättchen und aktivieren diese. Normalerweise sorgen Thrombozyten bei einer Verletzung für den Blutungsstopp. Werden sie aktiviert, ohne dass eine Blutung besteht, können sich Gerinnsel im Blut bilden. Weitere Trigger, die eine prothrombotische Störung auslösen können und die die serologischen und klinischen Zeichen einer HIT aufweisen, sind bekannt. Dazu gehören bestimmte Arzneimittel wie das Heparinderivat Pentosanpolysulfat (gg. Interstitielle Zystitis) oder andere Wirkstoffe wie hypersulfatiertes Chondroitinsulfat.

Ob Bestandteile des Impfstoffes den Ablauf in Gang setzen und zur Produktion der Antikörper führen, ist bislang noch unklar. Es gibt auch Diskussionen darüber, ob die Impfung vielleicht einen Prozess triggert, der zur Autoimmunreaktion gegen ein Eiweiß im Gerinnungssystem führt. Und auch eine genetische Disposition wird für die fehlgeleiteten Antikörper verantwortlich gemacht.

Offen ist auch, ob die PF4-Antikörper schon vor der Impfung vorhanden sind oder durch die Immunisierung gebildet werden. So finden sich beispielsweise bei Menschen mit chronischen Infektionen wie einer Parodontitis auch ohne Heparin-Behandlung Anti-PF4/Heparin-Antikörper vom IgM-Isotyp.

In klinischen Verdachtsfällen wird empfohlen, einen Elisa-Test zum Nachweis von Antikörpern gegen PF4 durchzuführen und das nicht nur nach, sondern ggf. zusätzlich auch vor dem Impftermin.

In jedem Fall ist ein Nachweis bei langanhaltenden, schweren Symptomen wie Kopfschmerzen und Lähmungen, auch wenn sie Tage nach Impfung noch bestehen oder auftreten, gerechtfertigt. Und solange ungeklärt bleibt, welche Impf- oder Trägerkomponenten das Geschehen auslösen, sollte man die Impfkomplicationen nicht auf einen einzelnen Impfstoff wie beispielsweise den von AstraZeneca oder Johnson&Johnson begrenzen.

Corona Risk Profil				
Kreatinin (S)	0,82		0,57 - 1,11	mg/dl
Cystatin C	0,82		0,53 - 0,92	mg/l
GOT (AST)	29		5 - 34	U/l
GPT (ALT)	35		< 55	U/l
CHE	9256		2879 - 12669	U/l
Lp-PLA2	↑ 663		< 507	U/l
NT-proBNP (S)	↑ 284,0		< 125	pg/ml
Cholesterin	↑ 224		< 200	mg/dl
Triglyceride	135		< 150	mg/dl
Triglyceride/HDL-Ratio	1,13		< 1,65	Ratio
HDL-Cholesterin	52		> 40	mg/dl
LDL-Cholesterin	↑ 185		< 170	mg/dl
LDL/HDL-Quotient	↑ 3,56		< 3	RI
HbA1c	5,10		4,5 - 6,2	%
HbA1c absolut	32,2		< 42,1	mmol/mol
IgA (S)	↓ 43		65 - 421	mg/dl
IgG (S)	1026		552 - 1631	mg/dl
IgM (S)	198		33 - 293	mg/dl
CRP high sensitiv (S)	2,3		< 3	mg/l
alpha 1-Antitrypsin	↓ 31,0		90 - 200	mg/dl
ECP/Eosino. Cat. Protein	9,0		< 15	µg/l
Vitamin D (25-OH)	↓ 14,0		30 - 80	ng/ml

#### Serologie/Antikörper

##### Virale Antikörper

##### SARS CoV2 Antikörper

##### SARS CoV2 IgG AK Blot

SARS CoV2 IgG Antikörper Gesamtergebnis	negativ	negativ
SARS CoV2 Blot NP SARS2	-	negativ
SARS CoV2 Blot RBD SARS2	-	negativ
SARS CoV2 Blot S1 SARS2	-	negativ
Saisonale Corona-Viren IgG Antikörper Gesamtergebnis	↑ positiv	negativ
HCoV IgG Blot NP 229E	-	negativ
HCoV IgG Blot NP NL63	-	negativ
HCoV IgG Blot NP OC43	↑ ++	negativ
HCoV IgG Blot NP HKU1	↑ +	negativ

**Abb.4: Befund Risikoprofil Corona.** Das Ergebnis zeigt ein erhöhtes kardiovaskuläres Risiko mit Herzinsuffizienz, ein schwerer Verlauf einer SARS-CoV-2 Infektion ist möglich. Zudem liegt ein sehr niedriger Vitamin-D-Spiegel als ungünstiger Faktor vor. Der niedrige IgA-Spiegel deutet auf eine verminderte Schleimhautimmunität hin. Auch das Enzym Alpha-1-Antitrypsin ist vermindert, welches bei Infektion die Lungenbläschen vor einer Zerstörung durch granulozytäre Mediatoren schützt. Dies ist ein Hinweis auf eine Mutation im ALPHA-1-AT Genabschnitt, die mit einem Mangel des Enzyms und einem höheren Risiko für eine pathologische Lungenmanifestation auch einer SARS-CoV-2 Infektion assoziiert ist. Ein Kontakt mit SARS-CoV-2 hat bisher nicht stattgefunden. Es liegen allerdings Antikörper gegen saisonale Coronaviren vor, die bei einer Infektion mit dem neuartigen Coronavirus durch Kreuzreaktivität eine bessere immunologische Ausgangslage erlauben würden.



Fragestellung	Labordiagnostik
Prävention: Habe ich ein Risiko für einen schweren Verlauf bei SARS-CoV-2 Infektion?	- Lab4gut-NGS - Corona-Risk-Profil
Habe ich mich mit SARS-CoV-2 angesteckt? Akute Infektion?	- PCR-Direktnachweis aus Rachen und/oder Nasenabstrich
Hatte ich bereits eine SARS-CoV-2 Infektion? Immunitätslage?	- IgG-Immunoblot (saisonale CV und CoV-2) - SARS-COV-2 T-Zell-Assay (ITT) mit Coronaviren (saisonal und CoV-2) Interleukin 2 und Interferon gamma
Habe ich einen Immunschutz gegenüber SARS-CoV-2 nach Impfung oder Infektion?	- IgG Spike (neutralisierende Antikörper) - ITT Spike (T-Zell-Antwort)
Habe ich eine Allergie gegen Impfstoffzusätze?	- FlowCast PEG (Zusatzstoffe BioNTech/Moderna)
Besteht der Verdacht einer thrombotischen Komplikation nach der Impfung?	- Autoantikörper gegen PF4

Tab.1: **Corona-Fragestellungen** - Was mache ich wann?

**Fazit:**

Neben dem Direktnachweis des Erregers mittels PCR bei akuter Fragestellung kann bei gesunden Personen zur umfassenden Überprüfung der Immunantwort gegenüber SARS-CoV-2 die Kombination aus serologischer (IgG-Blot) und zellulärer (ITT Corona) Diagnostik empfohlen werden. Die Impferfolgskontrolle erfolgt mittels quanti-

tativer IgG-Spike Bestimmung, gegebenenfalls in der Kombination mit der T-Zell-Impfantwort (ITT Spike). Risikopersonen für einen schweren Verlauf bei Infektion können mit dem Laborprofil Corona Risk identifiziert werden, Allergien gegen PEG in den mRNA Impfstoffen sind mittels FlowCAST erkennbar. Besteht der Verdacht auf thrombotische Ereignisse, ist eine Analyse der Autoantikörper gegen PF4 sinnvoll (siehe Tab. 1).