

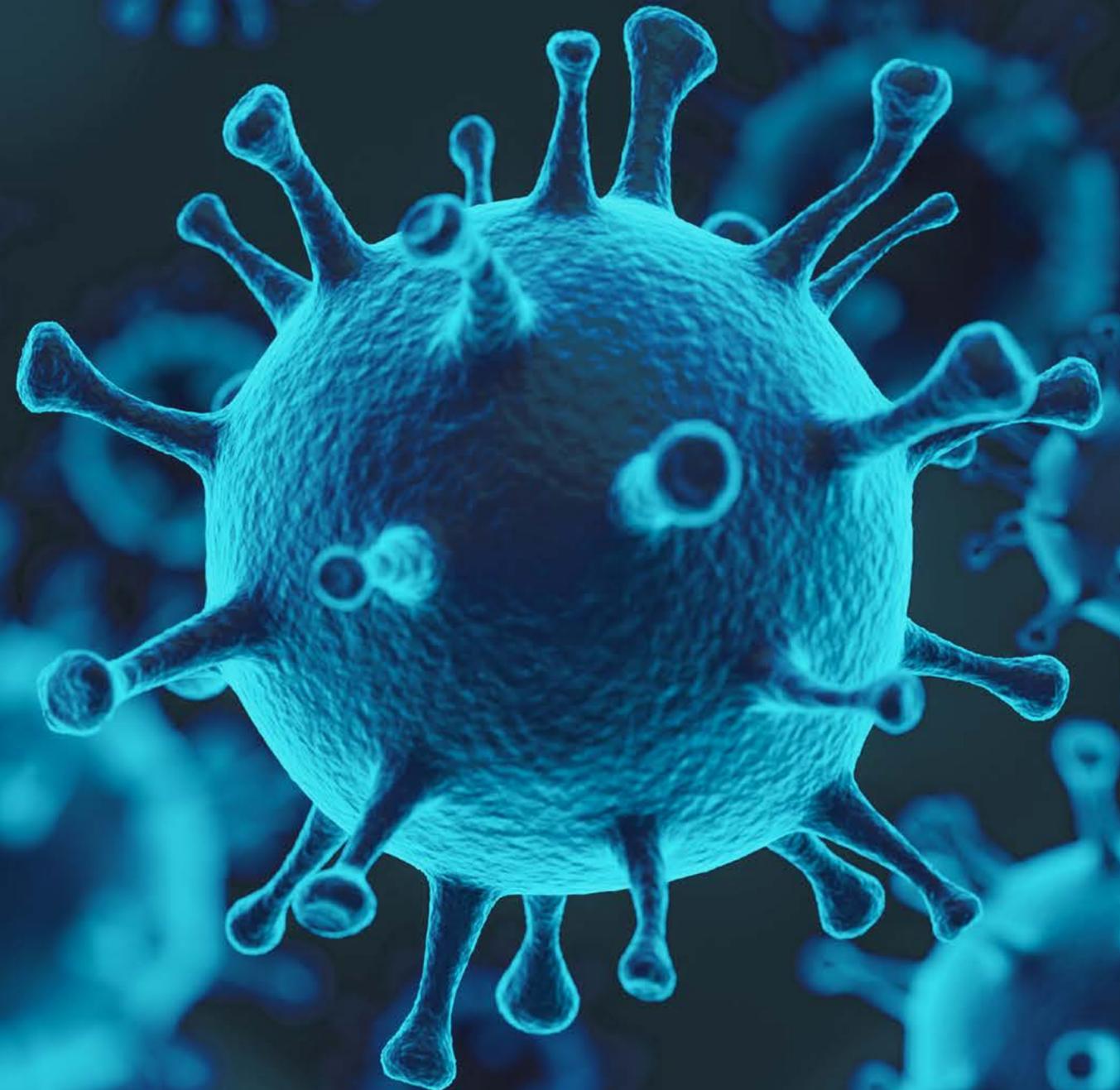
AID

AUTOIMMUN DIAGNOSTIKA GMBH

AID CoV-*i*Spot

SARS-CoV-2
EliSpot Assay

PRODUKTINFORMATIONEN



INHALT

Kurzvorstellung AID	3
Produktinfos CoV- <i>i</i> Spot	4-5
Zeitschiene Entwicklung CoV- <i>i</i> Spot	6
Fallbeispiele	7-15
Mutationen und Impfstoffe	16-17

DAS UNTERNEHMEN

Die AID Autoimmun Diagnostika GmbH mit Firmensitz in Südwestdeutschland auf der Schwäbischen Alb, produziert und vermarktet seit 1989 weltweit diagnostische Produkte, Geräte und dazu gehörende Software im Bereich Immunologie und Infektionskrankheiten.

Zu unseren Diagnostika gehören **PCR-Nachweise** für die **Infektionsdiagnostik** im Bereich sexuell übertragbare Krankheiten, CAPs, Antibiotika-Resistenzen und Zecken, sowie für die **Humangenetik** im Bereich Immunologie, Pharmakogenetik, Hämatologie und Stoffwechsel.

Desweiteren bieten wir Assays für die **T- und B-Zell Diagnostik** auf Basis der **EliSpot-Technologie** an. Zu unseren Reader-Systemen gehören **Bildanalyse-Geräte** zur automatischen Auswertung von EliSpot-Assays (**EliSpot-Reader**), automatische Mikroskope und Kolonien-Zähler (**BacSpot-Reader**). Für den Hochdurchsatz sind diese Geräte

auch vollautomatisiert erhältlich (BacSpot-Robot, EliSpot-Robot).

Alle unsere in-vitro Diagnostika, sowie Hardware und Software werden im Haus entwickelt und produziert, sodass wir jederzeit höchsten Qualitätsansprüchen genügen. Unsere gebündelte Kompetenz bei Assays und Auswertesystemen, machen unseren praxisnahen, schnellen und **kundenorientierten Support** möglich.

Alle unsere Produkte sind **CE/IVD zugelassen** für die Verwendung innerhalb der EU.



AID CoV-*i*Spot

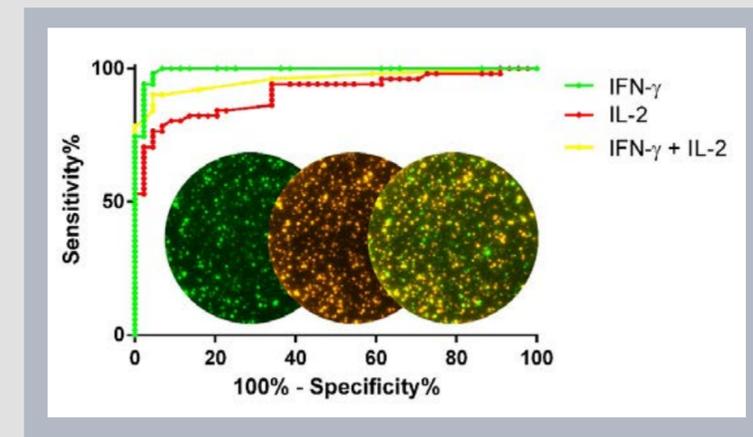
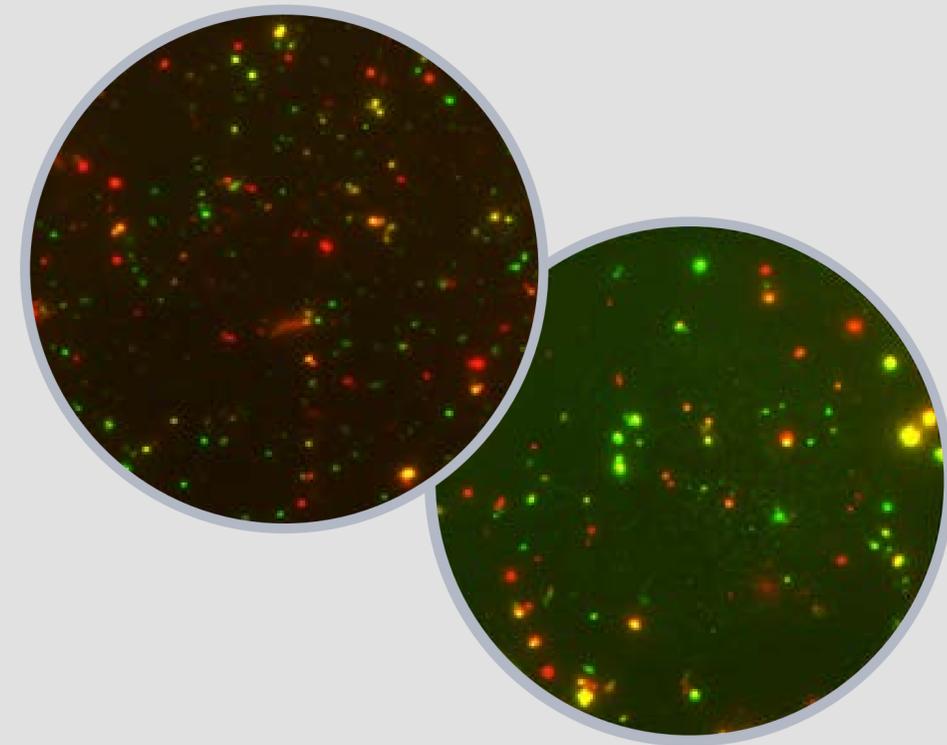
SARS-CoV-2 EliSpot Assay – Nachweis der funktionalen T-Zell-Antwort auf SARS-CoV-2

Der EliSpot-Assay (Enzyme-linked Immuno-Spot Assay) ist in der Lage, T-Zell-Reaktionen auf Einzelzellebene nachzuweisen und damit die individuelle Immunantwort von infizierten Personen zu charakterisieren.

Der Nachweis der Zytokinausschüttung von T-Zellen, die mit spezifischen Coronavirus-Antigenen stimuliert werden, ergibt ein hoch differenziertes Bild der Immunantwort, um die Entwicklung des Krankheitsverlaufs und der Immunität nach Infektion darzustellen.

Der von AID entwickelte CoV-*i*Spot weist die IFN- γ (akut) und IL-2 (Memory) Reaktion von erregerspezifisch aktivierten T-Zellen gegen Coronaviridae (PAN-Corona Peptid-Mix) und / oder spezifisch gegen SARS-CoV-2 (SARS-CoV-2 Peptid-Mix) nach.

IFN- γ ist mit einer akuten bzw. aktiven Infektion assoziiert, wohingegen IL-2 die Memory Funktion des Immunsystems und damit eine Rekonvaleszenz repräsentiert. Das Verhältnis zwischen der IFN- γ und IL-2 Reaktion ermöglicht eine differenzierte Aussage über den Immunstatus während und nach einer Infektion. Somit stellt der AID CoV-*i*Spot 2-Farben EliSpot Assay eine universelle Lösung zur Ermittlung des Immunstatus sowohl bei aktiven als auch bei einer länger zurückliegenden Infektion dar. Darüber hinaus kann der AID CoV-*i*Spot zur Bestimmung des Impferfolgs verwendet werden.



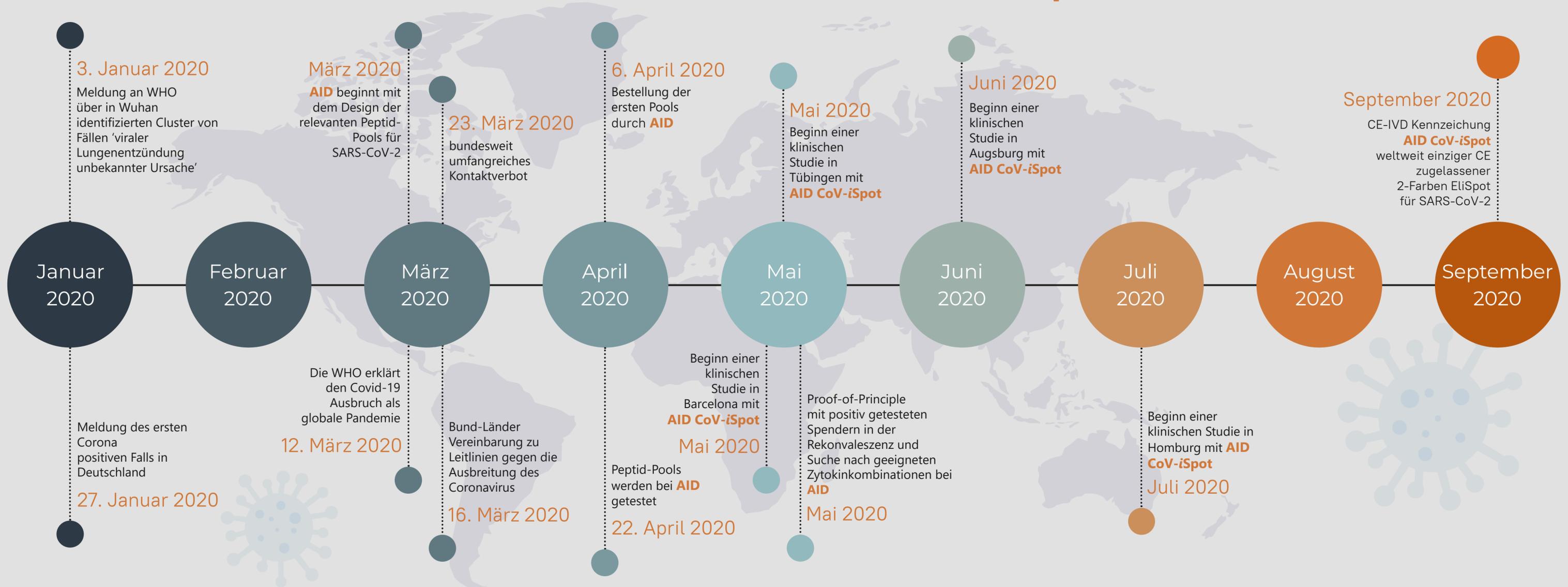
AID CoV-*i*Spot

MERKMALE:

- Nachweis einer IFN- γ und IL-2 Reaktion spezifisch gegen SARS-CoV-2 und/oder weitere Coronaviridae
- Nachweis funktionaler T-Zellen
- längerer Nachweis einer T-Zell Reaktion im Vergleich zum Antikörpernachweis

- einziger CE IVD zugelassener 2-Farben SARS-CoV-2 EliSpot
- Auswertung mit AID *i*Spot, AID *i*Spot Spectrum, AID *i*Spot Robot, AID *v*Spot Spectrum, AID *multi*Spot
- Artikelnr.: ELSP 7010

ENTWICKLUNG DES CoV-*i*Spots



FALLBEISPIELE

Zur Interpretation der Ergebnisse wird ein Stimulationsindex (SI) gebildet.

Zur Berechnung des SI wird der Mittelwert aus den Spotzahlen der beiden Wells mit demselben Antigenmix gebildet und durch die Spotzahl der Negativkontrolle geteilt.

$$SI = \frac{\text{Mittelwert der Spotanzahl Antigen Mix}}{\text{Spotanzahl Negativkontrolle}}$$

Wenn in der Negativkontrolle 0 - 1 Spot zu sehen sind, dann...

- gilt das Ergebnis als **grenzwertig**, wenn der SI zwischen 5 und 6 liegt
- gilt das Ergebnis als **reaktiv**, wenn der SI ≥ 7 ist
- gilt das Ergebnis als **nicht reaktiv**, wenn der SI ≤ 5 ist

Wenn in der Negativkontrolle 2 - 10 Spots zu sehen sind, dann...

- gilt das Ergebnis als **grenzwertig**, wenn der SI zwischen 2 und 3 liegt
- gilt das Ergebnis als **reaktiv**, wenn der SI > 3 ist
- gilt das Ergebnis als **nicht reaktiv**, wenn der SI < 2 ist

Bei Interferon Gamma (IFN- γ) müssen in der Negativkontrolle ≤ 10 Spots gezählt werden.

Als Positivkontrolle dient Pokeweed mitogen, es müssen ≥ 50 Spots gezählt werden.

Bei Interleukin 2 (IL-2) müssen in der Negativkontrolle ≤ 20 Spots gezählt werden.

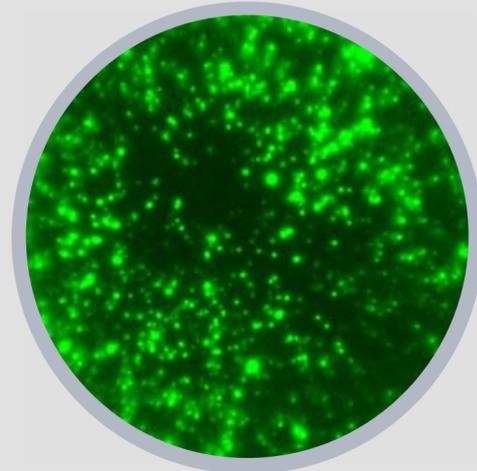
Als Positivkontrolle dient Pokeweed mitogen, es müssen ≥ 50 Spots gezählt werden.

Beispiel einer via PCR-Test abgesicherten **akuten Infektion (A)** mit SARS-CoV-2 im AID CoV-*i*Spot SARS-CoV-2 EliSpot Assay:

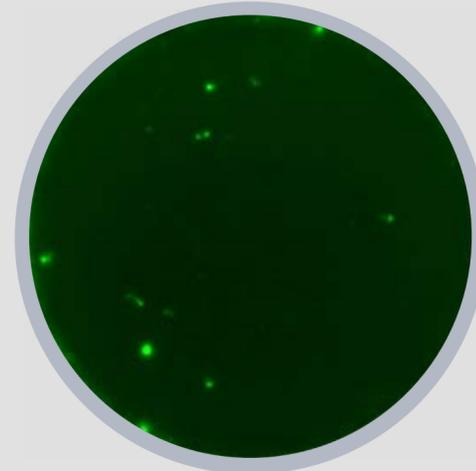
BEISPIEL **A1:**



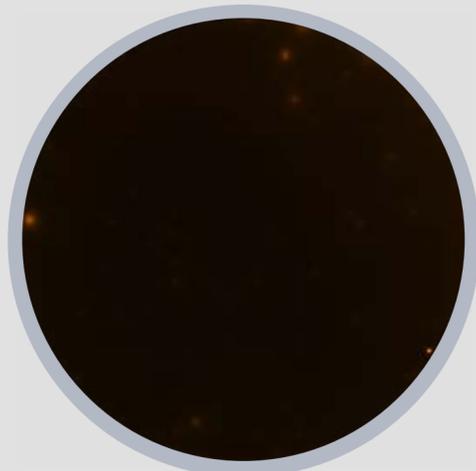
NC IFN- γ



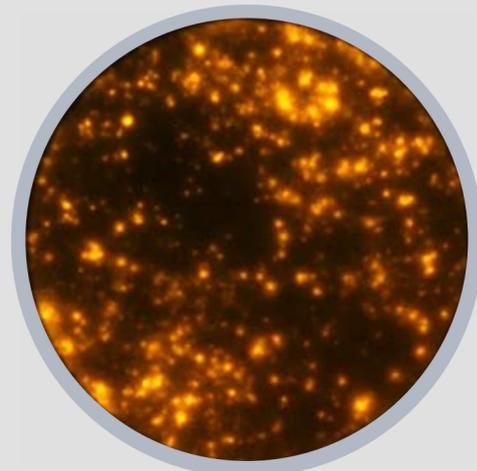
PC IFN- γ



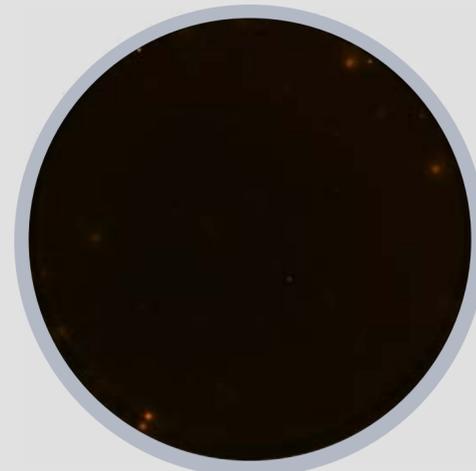
CoV-2 IFN- γ



NC IL-2



PC IL-2



CoV-2 IL-2

Zytokine	Stimulations Index	Interpretation
IFN- γ	16,67	reaktiv
IL-2	0,78	nicht reaktiv

Beispielhafte Interpretation des vorangegangenen EliSpot Assays A1:

Bedingungen IFN- γ

- Negativkontrolle ≤ 10 Spots
- Positivkontrolle ≥ 50 Spots
- **reaktiv** wenn der SI ≥ 7 (A1: 16,67)

Bei erfüllten Bedingungen für ein auswertbares Ergebnis ist der SI Wert 16,67 von Interferon gamma im SARS-CoV-2 Antigen Mix als **reaktiv** zu werten.

Bedingungen IL-2

- Negativkontrolle ≤ 20 Spots
- Positivkontrolle ≥ 50 Spots
- **reaktiv** wenn SI > 3 (A1: 0,78)

Bei erfüllten Bedingungen für ein auswertbares Ergebnis ist der SI Wert 0,78 von Interleukin 2 im SARS-CoV-2 Antigen Mix als **nicht reaktiv** zu werten.

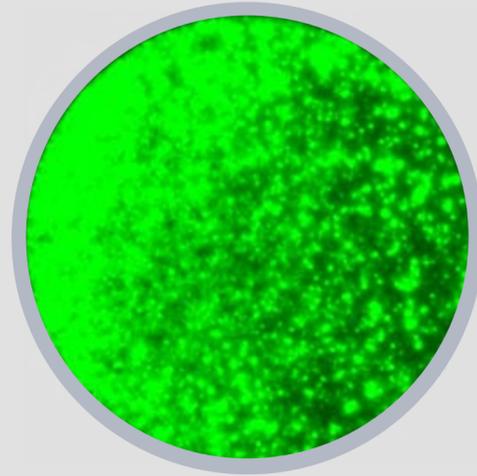
Somit liegt – unter Berücksichtigung des klinischen Gesamtbilds – eine **akute Infektion** mit SARS-CoV-2 vor, da eine reaktive IFN- γ und eine nicht reaktive IL-2 Reaktion zu sehen ist (vgl. Pantaleo G, Harari A. Functional signatures in antiviral T-cell immunity for monitoring virus-associated diseases. Nat Rev Immunol. 2006 May;6(5):417-23. doi: 10.1038/nri1840. PMID: 16622477.).

BEISPIEL A1

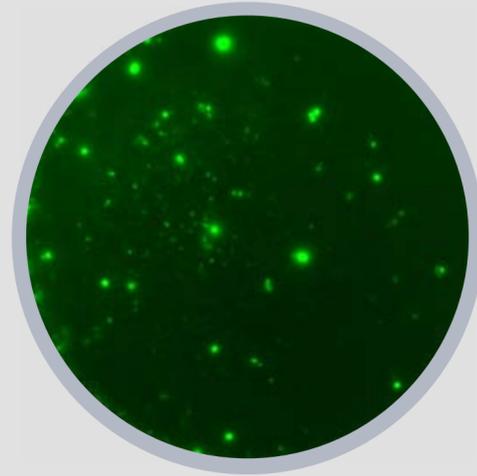
BEISPIEL AKUTE INFEKTION **A2:**



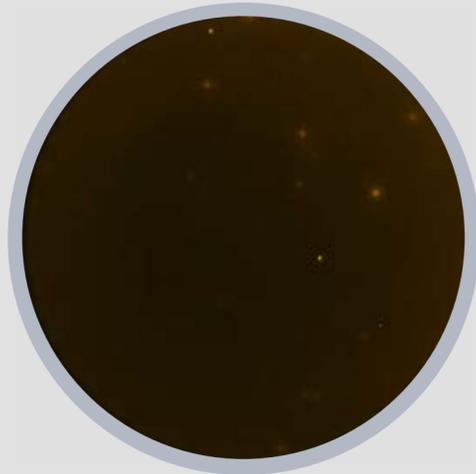
NC IFN- γ



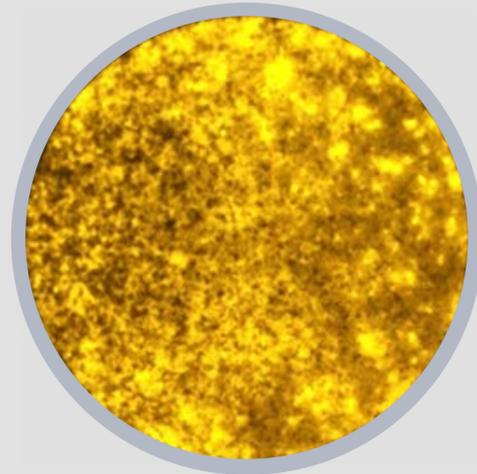
PC IFN- γ



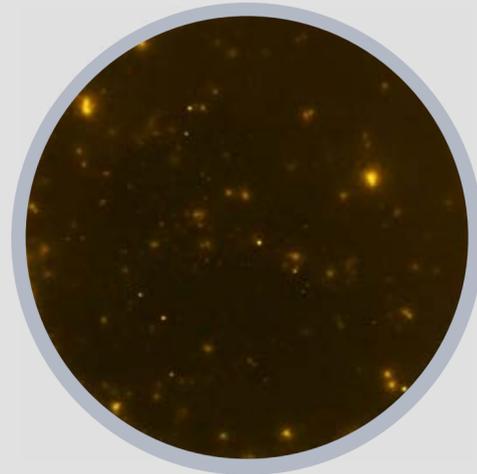
CoV-2 IFN- γ



NC IL-2



PC IL-2



CoV-2 IL-2

Zytokine	Stimulations Index	Interpretation
IFN- γ	56,33	reaktiv
IL-2	6,16	reaktiv

BEISPIEL A2

Beispielhafte Interpretation des vorangegangenen EliSpot Assays A2:

Bedingungen IFN- γ

- Negativkontrolle ≤ 10 Spots
- Positivkontrolle ≥ 50 Spots
- **reaktiv** wenn der SI ≥ 7 (A2: 56,33)

Bei erfüllten Bedingungen für ein auswertbares Ergebnis ist der SI Wert 56.33 von Interferon gamma beim SARS-CoV-2 Antigen Mix als **reaktiv** zu werten.

Bedingungen IL-2

- Negativkontrolle ≤ 20 Spots
- Positivkontrolle ≥ 50 Spots
- **reaktiv** wenn SI > 3 (A2: 6,16)

Bei erfüllten Bedingungen für ein auswertbares Ergebnis ist der SI Wert 6,16 von Interleukin 2 beim SARS-CoV-2 Antigen Mix als **reaktiv** zu werten.

Somit liegt – unter Berücksichtigung des klinischen Gesamtbilds – eine **akute Infektion** mit SARS-CoV-2 vor. Es ist eine reaktive IFN- γ und eine reaktive IL-2 Reaktion zu sehen, wobei die IFN- γ Reaktion eindeutig dominiert (vgl. Pantaleo G, Harari A. Functional signatures in antiviral T-cell immunity for monitoring virus-associated diseases. Nat Rev Immunol. 2006 May;6(5):417-23. doi: 10.1038/nri1840. PMID: 16622477.).

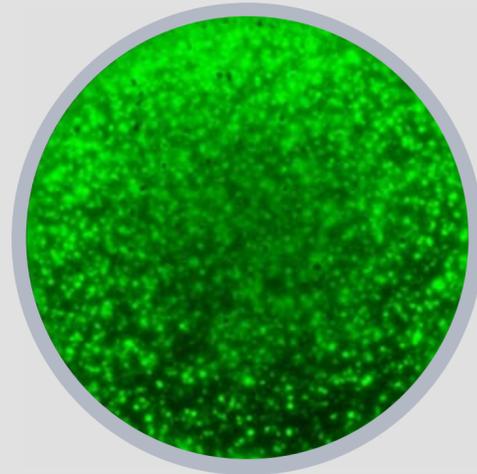
BEISPIEL A2

Beispiel einer via PCR-Test abgesicherten **zurückliegenden Infektion (K)** mit SARS-CoV-2 im AID CoV-*i*Spot SARS-CoV-2 EliSpot Assay:

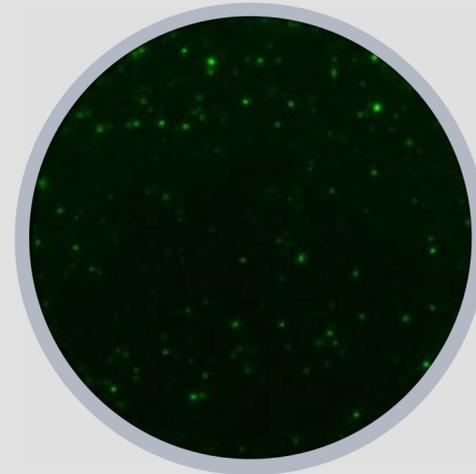
BEISPIEL **K1:**



NC IFN- γ



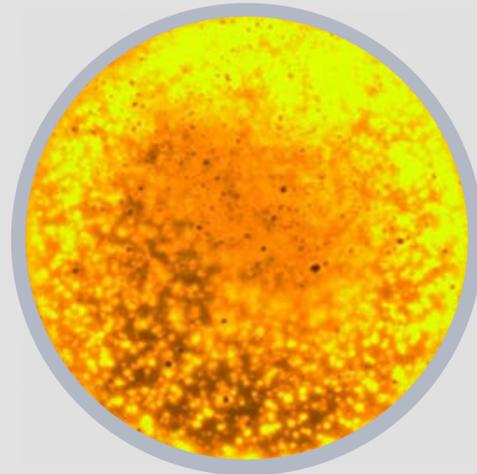
PC IFN- γ



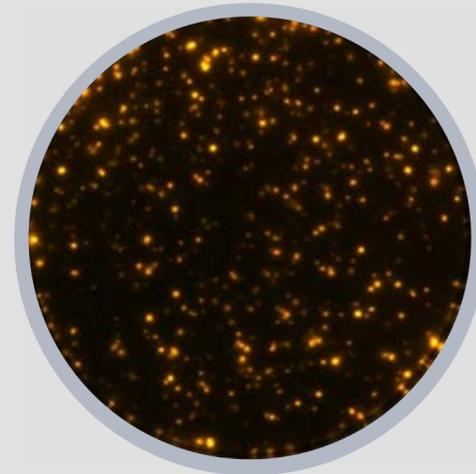
CoV-2 IFN- γ



NC IL-2



PC IL-2



CoV-2 IL-2

Zytokine	Stimulations Index	Interpretation
IFN- γ	44,57	reaktiv
IL-2	33,74	reaktiv

Beispielhafte Interpretation des vorangegangenen EliSpot Assays K1:

Bedingungen IFN- γ

- Negativkontrolle ≤ 10 Spots
- Positivkontrolle ≥ 50 Spots
- **reaktiv** wenn der SI ≥ 7 (K1: 44,57)

Bei erfüllten Bedingungen für ein auswertbares Ergebnis ist der SI Wert 80.33 von Interferon gamma im SARS-CoV-2 Antigen Mix als **reaktiv** zu werten.

Bedingungen IL-2

- Negativkontrolle ≤ 20 Spots
- Positivkontrolle ≥ 50 Spots
- **reaktiv** wenn SI > 3 (K1: 33,74)

Bei erfüllten Bedingungen für ein auswertbares Ergebnis ist der SI Wert 33,74 von Interleukin 2 im SARS-CoV-2 Antigen Mix als **reaktiv** zu werten.

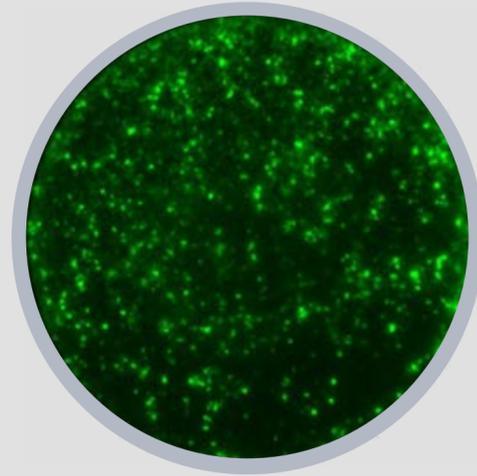
Somit liegt – unter Berücksichtigung des klinischen Gesamtbilds – eine **zurückliegende Infektion** mit SARS-CoV-2 vor. Es liegt eine reaktive IFN- γ und eine reaktive IL-2 Reaktion vor (vgl. Pantaleo G, Harari A. Functional signatures in antiviral T-cell immunity for monitoring virus-associated diseases. Nat Rev Immunol. 2006 May;6(5):417-23. doi: 10.1038/nri1840. PMID: 16622477.).

BEISPIEL K1

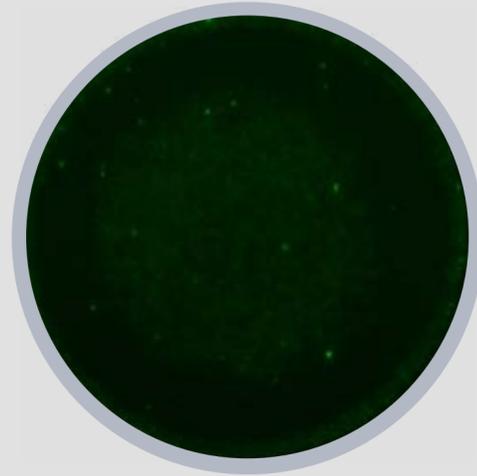
BEISPIEL **K2:**



NC IFN- γ



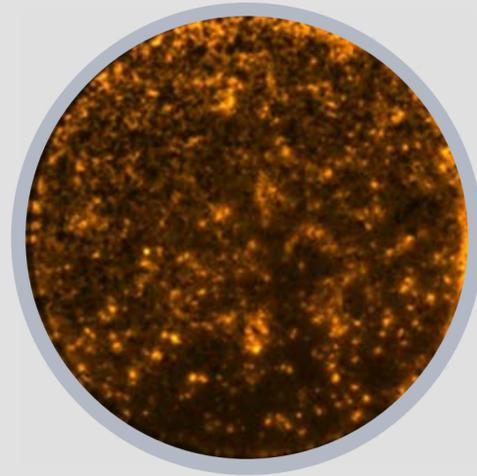
PC IFN- γ



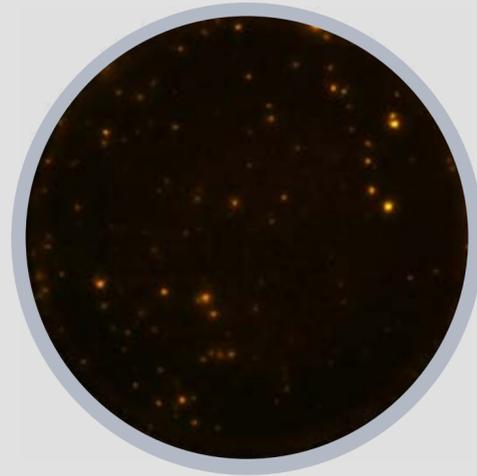
CoV-2 IFN- γ



NC IL-2



PC IL-2



CoV-2 IL-2

Zytokine	Stimulations Index	Interpretation
IFN- γ	162,83	reaktiv
IL-2	62,67	reaktiv

BEISPIEL K2

Beispielhafte Interpretation des vorangegangenen EliSpot Assays K2:

Bedingungen IFN- γ

- Negativkontrolle ≤ 10 Spots
- Positivkontrolle ≥ 50 Spots
- **reaktiv** wenn der SI ≥ 7 (K2: 162,83)

Bei erfüllten Bedingungen für ein auswertbares Ergebnis ist der SI Wert 162,83 von Interferon gamma im SARS-CoV-2 Antigen Mix **reaktiv** zu werten.

Bedingungen IL-2

- Negativkontrolle ≤ 20 Spots
- Positivkontrolle ≥ 50 Spots
- **reaktiv** wenn SI > 3 (K2: 62,67)

Bei erfüllten Bedingungen für ein auswertbares Ergebnis ist der SI Wert 62,67 von Interleukin 2 im SARS-CoV-2 Antigen Mix als **reaktiv** zu werten.

Somit liegt – unter Berücksichtigung des klinischen Gesamtbilds – eine **zurückliegende Infektion** mit SARS-CoV-2 vor, da eine reaktive IFN- γ und eine reaktive IL-2 Reaktion zu sehen ist (vgl. Pantaleo G, Harari A. Functional signatures in antiviral T-cell immunity for monitoring virus-associated diseases. Nat Rev Immunol. 2006 May;6(5):417-23. doi: 10.1038/nri1840. PMID: 16622477.).

BEISPIEL K2

MUTATIONEN UND IMPFSTOFFE

In der momentanen Entwicklung der SARS-CoV-2 Pandemie ist die Fragestellung in Bezug auf die Immunantwort erweitert um die Themen Impfstoffe und Mutationen.

F:

Kann mit dem AID CoV-*i*Spot SARS-CoV-2 EliSpot Assay ein Impfstatus ermittelt werden?

A:

Ja.

Die momentan in der EU zugelassenen Impfstoffe, sowohl die mRNA Impfstoffe als auch die Vektor-basierten Impfstoffe codieren für das SARS-CoV-2 Spike-Protein in voller Länge (siehe RKI: Epidemiologisches Bulletin 02/2021 https://www.rki.de/DE/Content/Infekt/Epid-Bull/Archiv/2021/Ausgaben/02_21.html).

Somit induziert die Impfung die Bildung des S(pike)-Proteins.

Der AID SARS-CoV-*i*Spot verwendet unseren AID SARS-CoV-2 Peptid-Mix (siehe Abbildung S. 17). In diesem sind unter anderem die Spike-Peptide enthalten, sodass eine T-Zell Reaktion auf das S-Protein nachgewiesen wird.

Studien stehen hierzu noch aus.

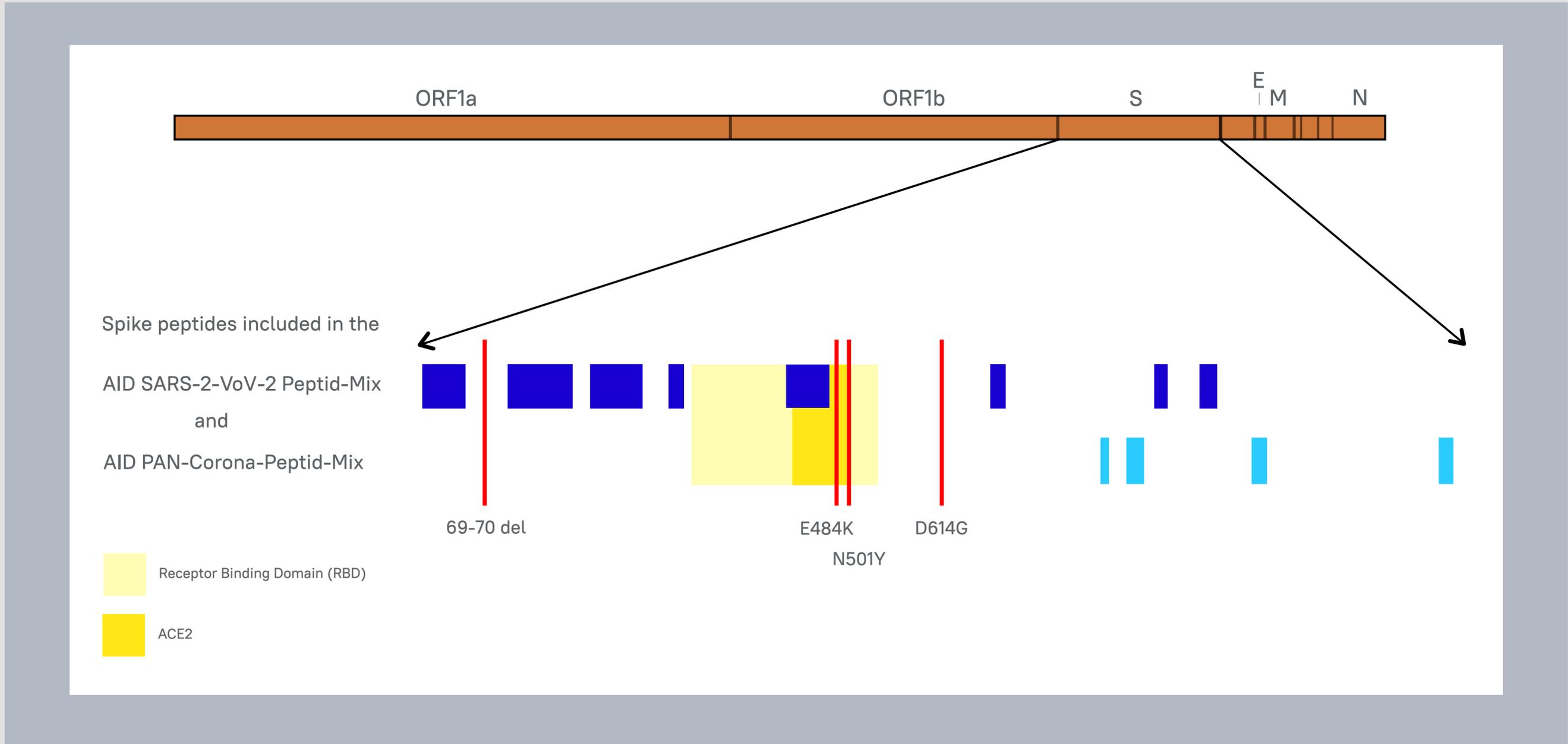
F:

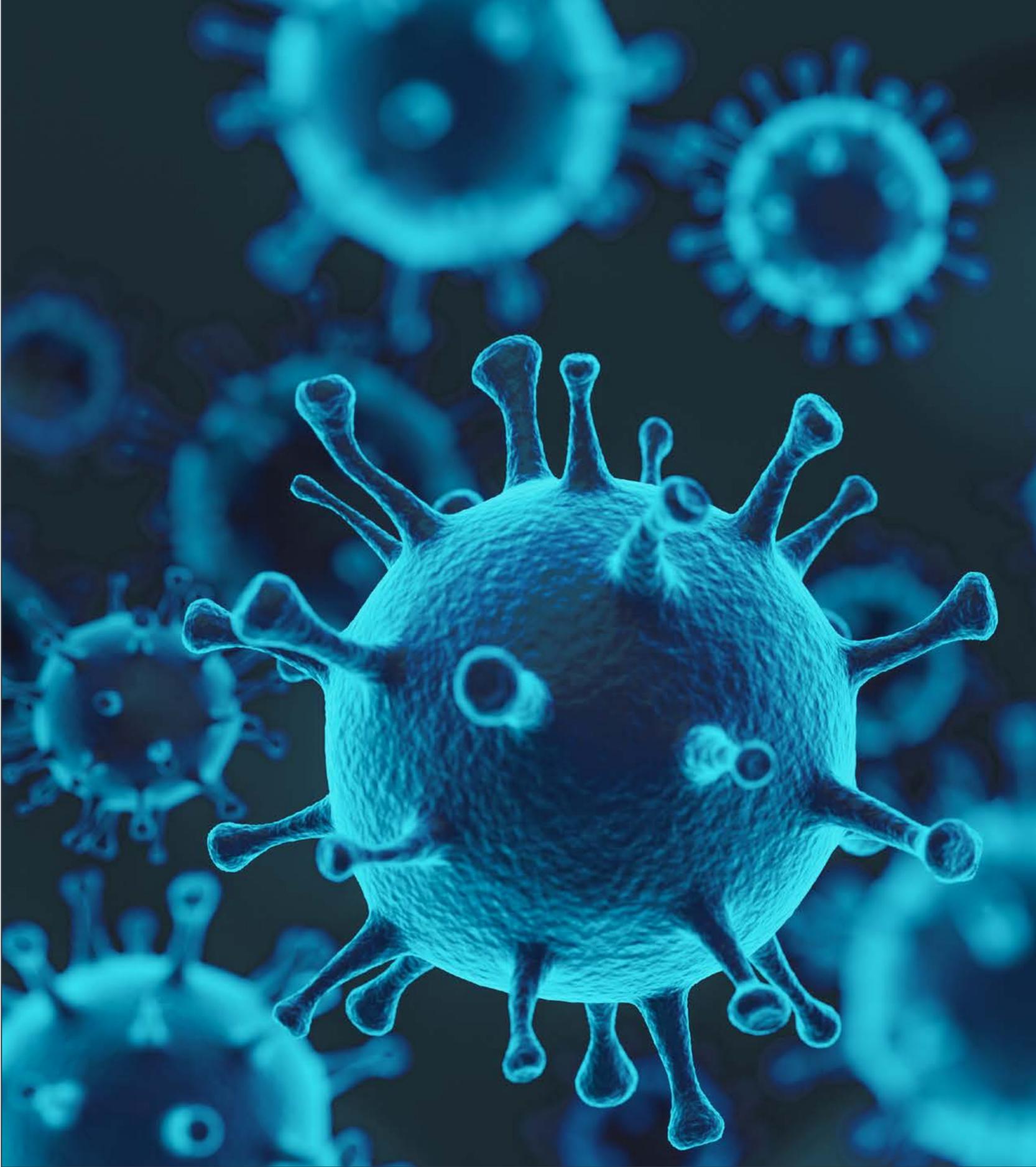
Kann mit dem AID CoV-*i*Spot SARS-CoV-2 EliSpot Assay eine Immunreaktion auf die mutierten SARS-CoV-2 Varianten detektiert werden?

A:

Ja.

Von den über 10.000 beschriebenen Mutationen, stellen sich die sogenannte UK-Variante und die Südafrika-Variante als besonders erfolgreich heraus. Beide Varianten weisen eine Mutation im S-Gen auf. Diese Mutationen betreffen unseren AID SARS-CoV-2 Peptid-Mix nicht (siehe Abbildung S. 17).





aid

Autoimmun Diagnostika GmbH
Ebinger Str. 4
D-72479 Strassberg

info@aid-diagnostika.com
www.aid-diagnostika.com

Tel. +49 (0)7434 9364-0
Fax +49 (0)7434 9364-40
