

# **SARS-CoV-2 Impfstoffe und die Reaktionen des Immunsystems: Kann die epidemische Ausbreitung des Virus durch Impfung verhindert werden?**

Jonas Schmidt<sup>1</sup>, Frithjof Blessing<sup>1</sup>, Jürgen Bohner<sup>1</sup>, Sandro Berghaus<sup>1</sup>, Lothar Hehmann<sup>1</sup>, Philipp Schnee<sup>1</sup>, Heike Blessing<sup>2</sup>, Kerstin Blessing<sup>1</sup>, Josef Blessing<sup>1</sup> und Lutz G. Gürtler<sup>3</sup>

MVZ Laborärzte Singen Prof. Blessing und Kollegen<sup>1</sup>  
[info@labor-blessing.de](mailto:info@labor-blessing.de), [www.labor-blessing.de](http://www.labor-blessing.de)  
BML Laboratorien BioMolecular Laboratories, Singen<sup>2</sup>  
Max von Pettenkofer Institut der LMU München<sup>3</sup>

**Keywords:** Erreger, Epidemiologie, Pathophysiologie, Immunreaktionen, Diagnostik, Variantenbestimmung und Genomssequenzanalytik

## **Epidemiologie**

Das SARS-CoV-2 (**Abb.1**) ist das dritte neue pathogene Coronavirus seit 2002, neben SARS-CoV und MERS-CoV (Middle East Respiratory Syndrome-related). Die Letalität des SARS-CoV-2 ist mit 0,1-1%, gegenüber dem SARS-CoV mit ca. 10% und dem MERS-CoV mit ca. 30% eher gering. 4 weitere Coronaviren zirkulieren in der deutschen Bevölkerung seit Jahrzehnten und lösen in der Kindheit typische Erkältungskrankheiten teils auch Diarrhoen aus und induzieren nach wiederholter Exposition eine Jahrzehnte persistierende Immunität. Die erwerbende Immunität kann als Anhaltspunkt dafür genommen werden, dass es sich bei SARS-CoV-2 und seinen Varianten möglicherweise ähnlich verhalten wird.

## **Inkubationszeit, Krankheitsverläufe, pathophysiologische und therapeutische Aspekte**

Die Inkubationszeit von SARS-CoV-2 beträgt **2-20** Tage, im Mittel **3-9** Tage. Die Infektion verläuft häufig asymptomatisch, besonders bei Kindern und Jugendlichen. Sie kann aber auch schwere Krankheitsbilder induzieren wie beatmungspflichtige Pneumonien und kann tödlich verlaufen. Da auch die Endothelzellen in den Blutgefäßen infiziert werden, kann jedes Organ betroffen sein, also neben Lunge auch Leber, Niere, Nervensystem u.a. und über die Endothelzell-Schädigung ist die Krankheit COVID-19 (Corona Virus Disease, Dez. 2019) auch mit Störungen der Blutgerinnung assoziiert. Die Virusübertragung erfolgt durch Aerosole aus dem Atemtrakt. Speichel, Sputum, Tracheal- und Bronchialsekrete, sowie Stuhl sind ebenfalls infektiös (Harrison et al. 2020)

Über die ACE2-Rezeptoren gelangt das Virus in seine Wirtszellen (**Abb.2**) im Nasen-Rachen-Raum sowie in Bronchien, Lungenalveolen und Darmepithelien (Li et al. 2020; Koliaraki et al. 2020). ACE2 Rezeptoren befinden sich auch auf den Gefäßendothelien. Der Erreger kann außer von symptomatisch Erkrankten auch von asymptomatischen Virusträgern freigesetzt werden.

Um das Krankheitsbild und die zugrunde liegenden pathophysiologischen Prozesse richtig zu deuten, damit rechtzeitig die richtigen Entscheidungen getroffen werden können, muss man die Krankheitszeichen von den Replikationsvorgängen des Virus her verstehen.

Das Virus findet seine ersten Wirtszellen sowohl im oberen Atemtrakt wie auch in der Darmschleimhaut, denn Coronaviren lieben die Schleimhäute. Als erster Replikationsort dient in der Regel die Nasen-Rachenschleimhaut. Von da kann es im Atemtrakt weiter absteigen sowie auch die Darmschleimhaut besiedeln. Nach der lokalen Replikation am Infektionsort, die bei der die delta und insbesondere die o Varianten sind und im Nasen-Rachen-Raum besonders hohe Viruslasten erzeugen, was mit hohen Erregerkonzentrationen in der Ausatemluft einhergeht, tritt nach ca. 7 Tagen (range 2-14 Tage) die virämische Phase auf, die in der Regel von einem Anstieg der Körpertemperatur begleitet ist. Die Schleimhäute im oberen und unteren Atemtrakt sowie auch im Darmbereich sind zwar die primären Prädispositionsorte der Virusreplikation, jedoch etabliert sich das Virus darüber hinaus auch in den mit ACE 2 Rezeptoren reichlich bestückten Gefäßendothelien und Fettgewebszellen und breitet sich von dort per continuitatem weiter im Organismus und in den kapillären Bereich hinein aus. Hieraus wird auch verständlich warum „Adlipöse“(insbesondere Männer) häufiger von gravierenden Krankheitsverläufen betroffen sind.

Besonders gefährdet für den Befall des kapillären Bereichs sind Diabetiker und mit membranaktiven Medikamenten behandelte Patienten, deren Endothelmembranen für das Virus besonders suszeptibel sind, da sowohl erhöhte Zuckerkonzentrationen (schlecht eingestellter Diabetes) wie auch bestimmte Medikamente die Membranintegrität der Endothelzellen negativ beeinflussen und für das Virus bzw. auch für die nackte Virus-RNA zugänglich machen.

## Der Weg des Virus durch den menschlichen Organismus und die an den jeweiligen Replikationsorten auftretenden Folgeerscheinungen:

SARS-2 kann durch Ausschleusung aus seinen Wirtszellen aber auch mittels lytischer Zyklen freigesetzt werden. Der bei der (Wirts-) **Zell-Lyse entstehende Zelldetritus** ist reich an Protein- und Nucleinsäurebausteinen, also an NS -u- Proteinoligomeren sowie an Monosubstanzen wie Nucleotiden und AS und ist somit für sämtliche Bakterienarten ein **optimaler Nährboden** und bietet daher beste Proliferationsbedingungen, wie z.B für Strepto -und Staphylokokken, Pneumo -und Meningokokken, Hämophilus, Moraxellen sowie auch Gram negative Keime etc.

Dies ist besonders relevant **für pathogene Bakterien**, die sich sporadisch oder auch permanent im Nasen-Rachenraum aufhalten und damit bei einem Corona-Infizierten aus therapeutischer Sicht besonders behandlungsrelevant sind. Da diese Keime grundsätzlich die Möglichkeit haben, dem replizierenden Virus auf seinem Weg via Bronchialsystem bis in die zelluläre Auskleidung der Lungenalveolen und der Kapillaren in den Alveolarmembranen hinein zu folgen.

Es ist daher, von dieser Betrachtungsweise ausgehend, von großer Bedeutung für den gesamten Krankheitsverlauf, dass bei Nasen-Rachen bzw. Atemwegsinfektionen mit bakterieller Beteiligung und gleichzeitig positivem SARS-CoV-2 Nachweis **frühzeitig mit einer effizienten antibiotischen Behandlung begonnen wird**, um eine bakterielle Superinfektion abzuwenden. Um eine möglichst gezielte Behandlung realisieren zu können und auch hochresistente Keime wie MRSA, MRGN und VRE ggf. zu erfassen, empfiehlt es sich den Keimstatus zu ermitteln und ein Antibiogramm zu erstellen.

Die Lyseprozesse der die Lungen Alveolen auskleidenden Zellen wie auch der Endothelzellen der Kapillaren in den Alveolarzellmembranen führt zum Einstrom von Zelldetritus sowie von Exsudat aus dem Interstitium und Blut aus dem Kapillarsystem aus Zelldetritus und geronnenem Plasma in die Alveolarräume mit der nachfolgenden Bildung von Blutgerinnseln und Schleimartigen Ansammlungen in den Alveolen, mit der Folge eines verminderten Gasaustauschs d.h. Verminderung von O<sub>2</sub> – Aufnahme und CO<sub>2</sub> – Abgabe. Die Folgen der Lyse von Kapillar – Endothelien sind Gerinnungsstörungen mit der fatalen Folge von Thrombenbildungen im kapillären System und damit des **Sistierens der Perfusion und der O<sub>2</sub> – Versorgung** der parenchymatösen Organe wie Gehirn, Lunge, Herz, Leber, Nieren sowie von Haut und Muskulatur etc., was bei den Letalausgängen den Eindruck vermittelt als seien die Betroffenen erstickt.

## Reaktionen des humoralen und zellulären Immunsystems

Nach Infektion mit SARS-CoV-2 synthetisiert das Immunsystem außer bindenden auch neutralisierende IgG-Antikörper gegen das Spike-Protein, das sich auf der Virusoberfläche befindet. Neutralisierende Antikörper (NT-AK) inaktivieren das Virus. Sie sind bei jungen Menschen deutlich wirksamer, d.h. neutralisieren die Erreger effektiver als die NT-AK der älteren Erwachsenen. Neben der humoralen Immunreaktion bildet das Immunsystem auch eine T-Lymphozyten Immunität aus. (**Abb. 3**), die den bisherigen Erkenntnissen zufolge deutlich länger bestehen bleibt als die humorale Immunität.

Bisher wurde nicht geprüft ob die im Blut gemessenen IgG-Antikörper auch in der Mukosa exprimiert werden und dort einen zusätzlichen schützenden Effekt haben, denn im Schleimhautbereich ist das sekretorische IgA die dominante Antikörperfraktion für die Abwehr von Infektionserregern. Nach allem bisher verfügbaren Wissen führt die Impfung nicht zu einem antibody enhancement, d.h. dass die durch Impfung erzeugten Antikörper bei Infektion mit dem Wildvirus die immunologische Reaktion so stimulieren, dass Gewebeschäden wie Haemorrhagien etc. entstehen, wie z.B. nach Impfung mit dem Denguefieberevirus-Impfstoff beschrieben.

Antikörper nach Erstinfektion persistieren meist nur für einige Monate, ca. drei Monate bei Kindern, und ca. sechs Monate bei älteren Patienten, bei wiederholter Infektion für etliche Jahre. IgG-Antikörper-Titer bei alten Menschen sind oft höher als bei jungen, sie binden aber die Viren weniger effektiv. Die überstandene Erstinfektion schützt gelegentlich nicht vor einer Zweitinfektion; die ebenso klinisch variabel verlaufen kann (Iwasaki, 2020), jedoch häufig ein milderer Krankheitsbild induziert, aber auch tödlich verlaufen kann.

## Immunsierung durch Impfung und Wirkungsweise der verschiedenen Impfstoffe im Organismus

Aus der Reaktion des Immunsystems auf eine SARS-CoV-2 Infektion folgt, dass auch bei Impfungen eine schützende Immunität erst verzögert aufgebaut wird. In **Tabelle 1** sind die derzeit verfügbaren Impfstoffe dargestellt.

Die Angaben der Hersteller zu den Impfindervallen reichen von einer Einmalgabe bis zu Mehrfachgaben, wobei im Moment die zweimalige Gabe überwiegt. Bei den bisher erhobenen Messdaten zur Induktion von neutralisierenden Antikörpern und einer T-Zell Immunität ist davon auszugehen, dass **wiederholt geimpft werden muss**, um einen ausreichenden Immunschutz zu erreichen. Die bewährten

Impfschemata, wie Sie z.B. von den FSME -und Hepatitis B – Impfungen her bekannt sind, beginnend mit einer Grundimmunisierung von 2 Impfungen im Abstand von 4 – 6 Wochen und einer Folgeimpfung nach 6 – 9 Monaten, könnten hierbei Vorbild sein.

**Tabelle 1: Zur Zeit verfügbare Vakzinen gegen SARS-CoV-2 (Stand Juli/Nov. 2021)**

Inhalt Wirksubstanz	Herstellungs-Zeit	Benötigte Impfdosen	Hersteller-Firma
mRNA	schnell	2 2	BNT-162b2; Pfizer-Biontech GER-USA mRNA 1273; Moderna USA
DNA	schnell	2	INO-4800; Inovia USA
Viraler Vektor S-Protein	mittel	1 2 2 2	Adv26. COV2.3; Johnson & Johnson Janssen, Covid 19 BE-USA Chimp Adv5-CoV AZA1222; Astra Zeneca, Oxford, SWE-UK Adv5, Adv26; Gameleya, RUS Sputnik V Adv5; CanSino, CN
S1 Protein Nanopartikel	mittel	2	NVX-CoV 2373: <b>Novavax</b> , USA
Inaktiviertes Virus	aufwendig	2-3 2-3	Sinovac Biotech; Brasilien-Indonesien Sinopharm, Wuhan, CN

\*) BE – Belgien, CN – China, GER – Deutschland, RUS – Russland, SWE – Schweden, UK-United Kingdom,

Die derzeit verfügbaren und zum Teil noch im Zulassungsverfahren befindlichen **Impfstoffe** können in folgender Weise gegliedert werden:

### Gruppe der genbasierten Impfstoffe

#### 1.) m-RNA Vakzinen

- Biontec – Pfizer-Impfstoff  
Etwa 30µg der mRNA (BNT162b2) codierend für die Rezeptor bindende Domäne (RBD) des Spike Proteins wird intramuskulär verabreicht und erzeugt eine neutralisierende IgG – Immunantwort in allen geprüften Altersklassen, und führt auch zu einer CD4+ und CD8+ T-Zell-Antwort. Eine längerfristige Lagerung des Impfstoffs muss bei -60°C - 90°C erfolgen. Eine Lagerfrist bis 15 Tage ist bei -15°C - 25°C möglich. (Kühlkette erforderlich)
- Moderna-m-RNA 1273 Impfstoff  
Er enthält mRNA (mRNA 1273, 10-30µg) in Lipid-Nanopartikel verpackt und wird intramuskulär verabreicht. Die mRNA wird von Zellen Makrophagen, Myozyten aufgenommen, in Protein umgeschrieben (**Abb.4**) und gegen das Protein eine B-Zell Immunantwort induziert, die neutralisierende und bindende Antikörper bildet und eine T-Zell Immunantwort erzeugt. Der Impfstoff muss bei -20°C dauerhaft gelagert werden. (Kühlkette erforderlich)
- Curevac-mRNA Impfstoff– aus Tübingen, befindet sich derzeit im revidierten Zulassungsverfahren (Stand Juni 2021) Für die Zulassung muss nach den EMA-Vorgaben eine Wirksamkeit von 50% nachgewiesen werden, die bisher nicht erreicht wurde.

\*) Aufgrund seltener aber schwerer thromboembolischer Nebenwirkungen empfiehlt die STIKO eine Impfstoffgabe für den Astra-Zeneca Impfstoff vorzugsweise für Personen ab 60 Jahren, da Sinus-Venen-Thrombosen 4-16 Tage nach Impfung bei etwa 50 Personen im Alter unter 60 Jahren aufgetreten sind [8]. Für die Verabreichung der zweiten Impfung wird ein Zeitabstand von 8 bis 12 Wochen angegeben. Wir empfehlen die weiteren Mitteilungen der STIKO zu beachten. Siehe Internetseite des RKI: <https://www.rki.de/DE/Content/Infekt/Impfen/ImpfungenAZ/COVID-19/COVID-19.html>

#### 2.) Virale Vektor Vakzinen

- **Johnson & Johnson – Janssen Covid 19 Impfstoff**  
enthält nicht replikationsfähiges Adeno-Virus 26 in dessen Genom die Gensequenz des S1-Glycoproteins mit der genetischen Information für die Rezeptor-bindende Domäne (RBD) einkloniert wurde.
- **Astra – Zeneca Impfstoff**

Der Impfstoff enthält im wesentlichen S1-RBD Glykoprotein. Dieses wird mit rekombinantem Schimpansen – Adenovirus in Zellkultur vermehrt. Die Menge der RBD – Komponente pro Impfdosis, die intramuskulär verabreicht wird, entspricht etwa der von  $10^8$  Viruspartikeln.

- **Der Gameleya Impfstoff aus Russland** (Sputnik V) enthält aus Zellkulturen herausgereinigtes S1-Glykoprotein, das mit S1-rekombinantem menschlichen Adenovirus 5 / Adenovirus 26 Hybrid-Virus in Zellkultur vermehrt wurde.

### Gruppe der S1- tragenden Nanopartikel

- **NVX-CoV 2373 Novavax USA**

Der Impfstoff enthält S1-Glykoprotein an Nano-Partikel gekoppelt und induziert eine starke Immunreaktion (entsprechend Herstellerangaben bei bis zu 90% der in die klinische Prüfung einbezogener Probanden)

### Gruppe der inaktivierten Virusvakzinen

- **Sinovac Biotech; Brasilien -Indonesien**, dort hergestellt und dort in Prüfung.
- **Sinopharm, Wuhan, China**. Zur Wirksamkeit sind kaum Daten publiziert bzw. zugänglich.
- **Covaxin, Bharat Biotec, Indien**: scheint wirksam zu sein; >10 Millionen Impfdosen wurden verabreicht.

## Wirksamkeit der derzeit verfügbaren Impfstoffe gegen die neuen Varianten

In kurzer Zeit sind auf Grund des häufigen Auftretens von Mutationen bei der Replikation von SARS-CoV-2 eine Reihe von Mutanten entstanden, von denen die englische ( $\alpha$ /B.1.1.7) im europäischen Raum bisher die größte Ausbreitung erfahren hat. Die südafrikanische ( $\beta$ /B.1.35.1), die portugiesisch-brasilianische Variante ( $\gamma$ /P1) und die indische Variante ( $\delta$ /B.1.617.2). Variante sind in Deutschland auch nachgewiesen und bezüglich der Kontagiosität und schnellerer Ausbreitung der englischen Variante vergleichbar, wobei neueren Daten zufolge die  $\delta$ -Variante das dominanteste Ausbreitungsprofil zeigt. Die dauerhafte Virulenz dieser Virusmutanten ist bisher nicht sicher beurteilbar, die portugiesisch-brasilianische Variante scheint aber merklich virulenter zu sein als das ursprüngliche Wildvirus aus Wuhan. Inwieweit dies auch für die indische und die neu aufgetretene vietnamesische Variante zutreffen könnte, lässt sich wegen der derzeit noch spärlichen und uneinheitlichen Datenlage nicht sicher prognostizieren. Nach Hersteller-Aussage zeigt der **Biontec Impfstoff** bei Induktion messbarer Anti-SARS-CoV Antikörperkonzentrationen **auch gegen** die besonders infektiöse  $\delta$  (=indische Variante) eine deutliche Wirksamkeit.

### Tabelle 2

**Aminosäure Mutationen, die zu einer Steigerung der Infektiosität und Übertragbarkeit führen** (Li Q et al. 2020 [9]; Leung K et al, 2021) [10]

D614, + L5F, +D936Y, + S939F, + S943T zusätzlich weitere Mutationen wie in

B.1.1.7: 17 Mutationen, wie N501Y, P681H, Deletion von Histidin 69 und Valin 70

B.1.3.51: 21 Mutationen, wie N501Y, E484K, K417N, Deletion in ORF1b

P1 :17 Mutationen, wie N501Y, E484K, K417N und weitere Deletion im ORF1b

B.1.167: 13 Mutationen; wie E484Q, L452R in der RBD

Zur Wirksamkeit der derzeit verfügbaren Impfstoffe gegen die neuen Varianten besagen die Herstellerangaben, dass der Biontec-Pfizer Impfstoff und die Adeno-basierten Vakzinen von Astra Zeneca und J&J auch gegen die  $\alpha$  (=englische), die  $\gamma$  (=brasilianische) und auch gegen die  $\delta$  (=indische) Variante wirkt. Gegenüber der  $\beta$ -Variante erscheint die Wirkung der Astra-Zeneca und J&J Vakzine reduziert zu sein. Der Nanopartikelimpfstoff „Novavax“ soll eine besonders ausgeprägte Wirksamkeit haben. Messenger-RNA Impfstoffe haben den grundsätzlichen Vorteil, dass durch Nukleotidadaptation der RNA an die geänderte Gensequenz der Virusmutanten innerhalb von wenigen Monaten wirksame Vakzinen gegen die neuen Varianten hergestellt werden können.

### **Bisher beobachtete mögliche Nebenwirkungen**

Als **lokale Nebenwirkungen** traten Schmerzen, Rötung und Schwellung an der Einstichstelle auf **allgemeinen** Nebenwirkungen kamen bisher zur Beobachtung Fieber, Kopf -und Gliederschmerzen, Abgeschlagenheit, allergische Reaktionen.

In England wurden bei zwei als schwere Allergiker bekannten Personen, eine anaphylaktische Reaktion beobachtet. Außerdem sind in Europa, bei mit Adenovirus-Vektorimpfstoff Geimpften, Thrombosen im Splanchnikusgebiet, den cerebralen Sinusvenen sowie in arteriellen Gefäßen vorwiegend bei Frauen

aufgetreten, die in ca. 100 Fällen tödlich verliefen. In der Mehrzahl der Fälle waren Antikörper gegen PF4 (Plättchenfaktor 4) nachweisbar wie sie auch bei HIT2 (Heparin -induzierte Thrombopenie) auftreten und mit venösen und arteriellen Thrombosen einhergehen können. Die Kausalität ist bisher jedoch nicht abgeklärt und wegen der niedrigen Anzahl im Verhältnis zu >10 Millionen Geimpfter bislang auch nicht beweisbar. Da es sich zwar um seltene, jedoch gravierende Vorkommnisse handelt, werden die Vektorimpfstoffe in verschiedenen Ländern derzeit nur mit Einschränkung empfohlen. Weitere seltene Nebenwirkungen sind eine Myocarditis (=bei 25 männlichen meist Jugendlichen) nach Gabe des m-RNA-Impfstoffs von Biontech-Pfizer sowie das Capillary-leak Syndrom, das zu Hypovolämie führt, nach Impfung mit Vaxzevria (Astra-Zeneca) oder J&J/Janssen Covid 19. **Wenn dieses Krankheitsbild anamnestisch bereits zur Beobachtung gekommen ist, darf der Impfstoff nicht verabreicht werden.**

Nebenwirkungen durch Adjuvantien, die zur Immunogenitätserhöhung eingesetzt werden, ist bisher nicht untersucht. In die Diskussion geraten sind in diesem Zusammenhang nun auch die heat shock Proteine in den viralen Vektorvakzinen, die von den Zellkulturen stammen, in denen die rekombinanten Adenoviren replizieren und dabei auch heat shock Proteine binden, die dann mit Adenopartikeln partiell auch in die viralen Vektorvakzinen gelangen und u.a. Fieberreaktionen verursachen.

Die in der Diskussion befindlichen möglichen Nebenwirkungen von Impfstoffen wie z.B. Störung der Blutgerinnung, Myokarditis oder Capillary-leak Syndrom können nur auf der Basis einer grossen Zahl fundierter wissenschaftlicher Daten beurteilt werden. Alle bisher von der europäischen Zulassungsbehörde für Impfstoffe (**EMA**) zugelassenen anti-SARS-CoV-2 Vakzinen wurden an mehreren zehntausend Probanden erprobt, so dass der Sicherheitsaspekt besonders überprüft wurde. Zu Langzeitnebenwirkungen sind derzeit keine begründeten Aussagen möglich, da auf Grund der relativ schnellen Zulassung bislang keine Langzeitbeobachtungen vorliegen.

### **Ist eine Unterbrechung der Pandemie möglich? Was für Zukunftsperspektiven ergeben sich?**

Es ist absolut wünschenswert mittels einer nebenwirkungsarmen Impfung die weitere Ausbreitung des Virus und die assoziierte Todesrate einzuschränken bzw. zu beenden. Daß die epidemische Ausbreitung von SARS-CoV-2 und seiner Varianten durch Impfung vermindert werden kann, hat sich an den Ergebnissen der Impfung in Israel gezeigt, wo derzeit bereits  $\geq 60\%$  der Bevölkerung durchgeimpft ist. Es zeichnet sich in Israel ein guter Erfolg hinsichtlich einer Entschleunigung der Virusausbreitung ab, ohne dass zum gegenwärtigen Zeitpunkt (Juli 2021) ein Ende der Virusausbreitung durch die angewandte Impfstrategie gesichert ist, was sich an der gegenwärtig beobachtbaren verstärkten Ausbreitungstendenz der  $\delta$ -Variante zeigt.

Eine weitere geringe Reduktion der Infektiosität ist durch die aufkommende UV-Strahlung in Deutschland denkbar (Heilingloh et al, 2020)[11]. Der Effekt stellte sich im Frühjahr 2020 ein, aber die Reduktion kann nicht besonders ausgeprägt sein, da in Ländern mit erheblich höherer UV-Strahlung wie Italien, Spanien und Israel die Virusverbreitung in Nicht-Geimpften nicht reduziert ist.

Bezüglich der  $\alpha$  Variante beobachten wir, dass die RT-PCR ab Infektionszeitpunkt im Mittel noch bis zu 6 Wochen positiv ist, während bei dem ursprünglichen SARS-Typ die RT-PCR meist nach 2 Wochen negativ war. Die  $\alpha$  Variante hatte in wenigen Monaten auf dem europäischen Festland massiv zugenommen und hat in Deutschland derzeit einen Anteil von  $\geq 80\%$  unter den positiven RT-PCR Testergebnissen. Ob bzw. inwieweit sie es vermag, in Konkurrenz mit der südafrikanischen, der portugiesisch-brasilianischen und der indischen Variante, die ebenfalls eine hohe Kontagiosität aufweisen oder möglicherweise zusätzlich auftretender neuer Varianten, der Pandemie ihren Stempel aufzudrücken, wird sich zeigen. Bei differenzierter Betrachtung der derzeitigen konkurrierenden Mutanten (=  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ ,  $\delta$ ) lässt sich allerdings prognostizieren, dass die  $\delta$ -Form mit ihren hochinfektiosen Eigenschaften die anderen Varianten aus dem pandemischen Geschehen weitgehend verdrängen wird. In wieweit die  $\delta$  -Mutante, die derzeit mit bemerkenswerten Letalitätsraten das epidemische Geschehen in Peru weitgehend bestimmt, eine weltweit Bedeutung erlangen wird, lässt sich gegenwärtig noch nicht sicher prognostizieren. Was jedoch durch das Aufkommen durchsetzungsstarker Mutanten Als Folge hiervon wird **keine ausreichende Herdenimmunität** erreichbar sein, da die derzeit verfügbaren Impfstoffe nur eine eingeschränkte Wirksamkeit gegen diese Variante zeigen. Es ist daher ratsam, die weitere Entwicklung der Mutantenszene im Auge zu behalten und **die hygienischen Kriterien weiterhin zu berücksichtigen** und sich mittels einer 2-maligen Impfung wenigstens eine Basisimmunität zu erwerben.

Genombereiche von SARS-CoV-2, in denen Punktmutationen dann auf Translationsebene zum Austausch von Aminosäuren im RBD – Bereich und anderen Proteinanteilen des Virus führen, die mit einer Steigerung der Infektiosität und Übertragbarkeit des Erregers einhergehen, sind in **Tabelle 2** zusammengefasst.

Inwieweit weitere Mutationen und im Gefolge davon neue Varianten auftreten werden, lässt sich gegenwärtig nicht absehen. Es ist aber damit zu rechnen, dass bei der mutagenen Potenz des SARS-CoV-2 Genoms und des sukzessiven Einsatzes der Impfstoffe weitere Varianten aufkommen werden. Den Gesetzmäßigkeiten der Evolution folgend werden sich die Mutanten prinzipiell bemühen, eine möglichst niedrige Letalitätsrate zu induzieren und Dauerausscheider, die sie selbst nicht gravierend schädigen, zu etablieren, um so ihren Bestand und ihre langdauernde Präsenz zu sichern. Es ist aber auch nicht ausschließbar, dass sich immer wieder auch virulentere und mit höheren Letalitätsraten einhergehende Mutanten herausbilden, SARS und MERS sind ein Beispiel hierfür. Dass wir uns im **Zeitalter der zoonotischen viralen Epidemien** bis Pandemien befinden ist augenscheinlich. Besonders prädestiniert als **Brutstätten neuer zoonotischer Erreger** sind weltweit die dicht bevölkerten Regionen, in denen menschliche und animale Populationen auf engem Raum zusammenleben im Verein mit den dort herrschenden besonderen kulturellen und hygienischen Bedingungen.

## Diagnostik und Genotypisierung von SARS-CoV-2

Für den Nachweis einer bestehenden Infektion ist die RT-PCR aus einem korrekt entnommenen Nasen-Rachenabstrich die Methode der Wahl. (Exposé siehe Anlage)

**Hohe Viruslast** bzw. Infektiosität ist gegeben bei einer **Genomkopienzahl >10<sup>6</sup>/ml** alternativ bei einem **niedrigen Ct** (=Cycle-threshold)-Wert.[<28-30]

Eine **niedrige Infektiosität** bzw. eine geringe Ansteckungswahrscheinlichkeit besteht bei einem Messwert **<10<sup>6</sup> Genomkopien pro ml** alternativ bei einem **hohen Ct-Wert**.[>28-30]

Die Domäne der Antikörperdiagnostik, also der Nachweis von SARS-CoV-2 spezifischen IgG -IgM- und IgA-Antikörpern liegt einerseits in der Ermittlung einer durchgemachten Infektion und andererseits in der Kontrolle des Impferfolgs. Nach erfolgreicher Impfung findet man SARS – spezifische **anti S1 IgG-Antikörper** und auch IgM-Antikörper ab etwa dem 10.-14. Tag post vaccinationem. Bei oder nach **Wildvirusinfektionen** lassen sich **zusätzlich** auch **Nukleokapsid**-Antikörper nachweisen (vergl. Abb.1). Dies deswegen, weil in den Impfstoffen nur die RBD-tragende S1 Komponente des Spike Proteins vorhanden ist. Differenzierendes Kriterium zwischen Antikörperstatus nach Impfung und nach Wildvirusinfektion ist die Identifikation von Antikörpern gegen das Nukleokapsid von SARS-CoV-2, da nur das Viruspartikel selbst, nicht aber die Impfstoffe das Nukleokapsid-Antigen enthalten.

Der **alleinige Nachweis** von niedrig titrigen **Antikörpern gegen das Nukleokapsid** Antigen ist jedoch **nicht zwingend mit** einer durchgemachten oder noch laufenden SARS-CoV-2 Infektion verbunden, sondern kann auch aus einer Infektion mit einem der 4 schon seit langen im europäischen Raum zirkulierenden Coronavirus-Stämmen herrühren. Der Zusammenhang mit einer durchgemachten oder noch laufenden Infektion lässt sich daher nur sicher durch den Nachweis der **gesamten SARS-CoV-2 spezifischen Antikörperkonstellation, anti-S1/ anti-S2/ und anti-Nukleokapsid-AK** belegen, für deren Bestimmung wir ein akkreditiertes Westernblot Verfahren einsetzen.

Der Nachweis einer **hochtitrigen Anti-SARS-CoV-2 IgG-Fraktion** ist als Hinweis auf eine gute Schutzwirkung gegen Reinfektionen zu werten. Die neuesten Daten besagen, dass nach der 2. Impfung etwa 97% der Geimpften auch neutralisierende Antikörper gebildet haben, was zwar letztlich keine absolute Resistenz gegen Infektionen, wohl aber einen guten Schutz gegen schwere klinische Verläufe und letale Ausgänge darstellt. Obwohl davon ausgegangen werden kann, dass eine hohe IgG-Konzentration auch genügend neutralisierende Antikörper (=NT-AK) enthält, können diese auch noch zusätzlich bestimmt werden. (Die NT-AK-Bestimmung ist keine Kassenleistung). Eine **langdauernde Immunität** basiert jedoch in besonderem Maße auf der Entwicklung einer suffizienten **T-Zell-Reaktion** mit der Bildung von ausreichend Memory Zellen. Wir haben einen solchen Test ebenfalls in unserem diagnostischen Bestand in Form eines LTT (=LymphozytenTransformationstest).

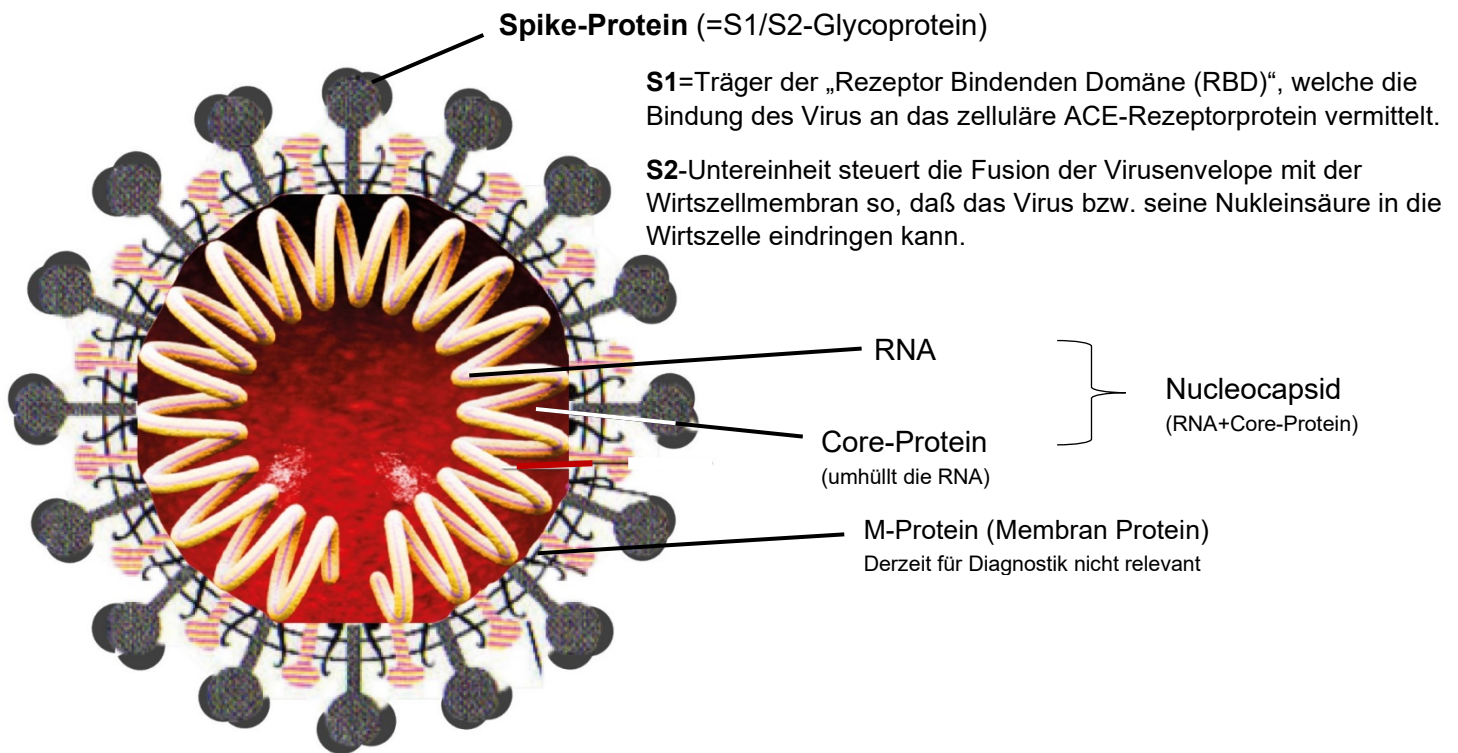
Für die **Identifizierung von Mutationen** und den daraus resultierenden **Varianten** anhand von **Target-PCR-Verfahren** sowie mittels der **Gesamtgenom-Sequenzierung** sind wir sowohl auf Grund unseres spezifischen know how wie auch unserer aktuellen gerätemäßigen Ausstattung in der Lage, alle relevanten Verfahren zur Anwendung zu bringen und den **Virustyp exakt zu bestimmen**.

Wir haben deswegen eine so differenzierte Diagnostik in unserem Labor etabliert, weil uns klar ist, dass auch in Zukunft ein suffizientes Methodenarsenal zur exakten Diagnosestellung zur Verfügung stehen muss, denn das Virus ist gekommen, um zu bleiben, mit anderen Worten: **SARS-CoV-2 und seine Varianten** werden in relativ kurzer Zeit den größten Teil der Weltbevölkerung infizieren und dann in der **menschlichen Bevölkerung zirkulieren, wahrscheinlich für immer**.

Für die computergerechte Bearbeitung des Manuskripts danken wir Frau Nadine Hasani.

## Literatur

- Harrison AG, Lin T, Wang P. Mechanisms of SARS-CoV-2 transmission and pathogenesis. *Trends Immunol* 2020; 41: 1100-1115
- Iwasaki A. What reinfections mean for COVID-19. *Lancet Infect Dis* 2020; 20; doi.org/10.1016/S1473-3099(20)30783-0
- Li Y, Zhou W, Yang L, You R. Physiological and pathological regulation of ACE2, the SARS-CoV-2 receptor. *Pharmacol Res* 2020; 104833
- Koliaraki V, Prados A, Armaka M, Kollias G. The mesenchymal context in inflammation, immunity and cancer. *Nat Immunol* 2020; 2: 974-982
- Poland GA, Ovsyannikova IG, Kennedy RB. SARS-CoV-2 immunity: review and application to phase 3 vaccine candidates. *Lancet* 2020; 398: 1595-1606
- Blessing F., Gürtler L., Löscher T. und Blessing J., *ÄBW* 03.2020, 135
- F. Blessing und J. Blessing: *Wiss. Exposé RT-PCR Nachweis für Neues Coronavirus SARS-CoV-2*, Januar 2020
- Medscape COVID-19 vaccines USA: Poland et al. *Lancet* 2020, 396: 1595-1606



**Abb.1:** Modell eines Corona Virus mit Darstellung der für die Diagnostik relevanten Virusantigene (Spike-Protein und Nucleocapsid).

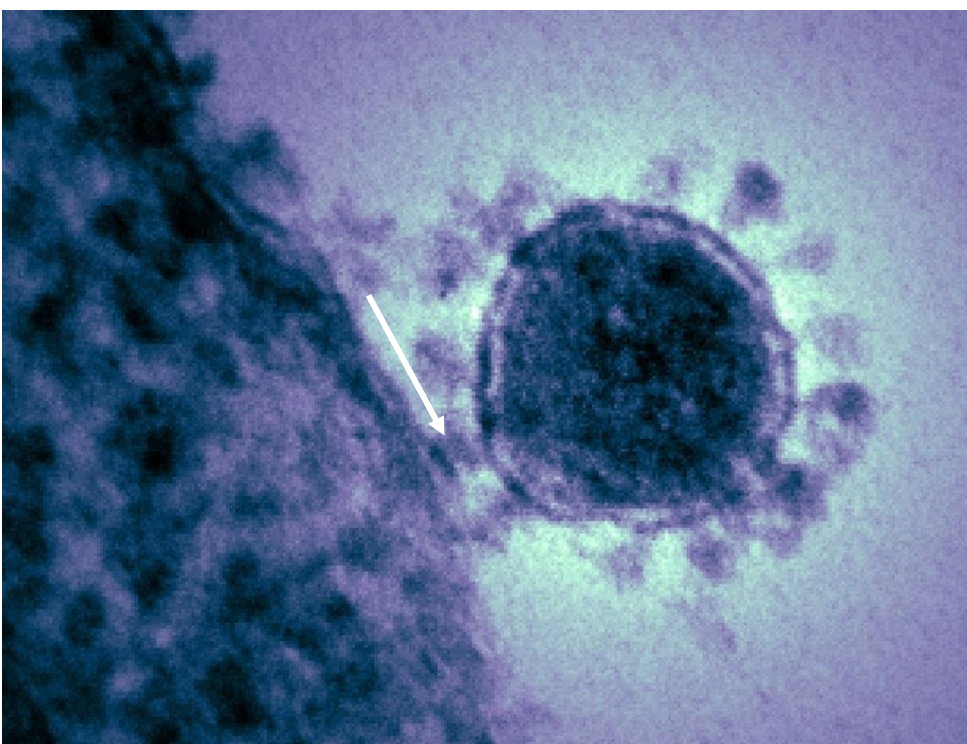
Das Nucleocapsid kommt nur im Viruskern vor und ist in den derzeit verfügbaren Impfstoffen nicht enthalten. Antikörper gegen das Core-Protein sind also nur nach erfolgter Wildvirusinfektion und nicht nach Impfung nachweisbar.

Eine Mutation, welche die Kontagiosität und die Schnelligkeit der Virusausbreitung begünstigte war der **Aminosäureaustausch D614G** innerhalb der RBD des Spike Proteins, wodurch die erste Epidemiewelle des SARS-CoV-2 Anfang 2020 ausgelöst wurde.

Der 614G-Genotyp ist mittlerweile weltweit vorherrschend während der ursprüngliche Genotyp D614 nahezu kaum noch zirkuliert. Die WHO hat derzeit 4 VOC's (=Variants of Concern) bzw. VOI's (=Variants of Interest) bezüglich ihrer Virulenz und ihrer Ausbreitungsgeschwindigkeit unter Beobachtung gestellt. Es sind dies alpha [ $\alpha$ ], beta [ $\beta$ ], gamma [ $\gamma$ ] und delta [ $\delta$ ] die britische, die südafrikanische, die brasilianische und die indische Variante. (Stand Juli 21)

**VOC's:**  $\alpha$  = B.1.1.7 englische,  $\beta$  = B.1.35.1 südafrikanische,  $\gamma$  = P.1 brasilianische,  $\delta$  = B.1.617.2 indische,  $\omicron$  = B.1.1.529 südafrikanische Variante

**VOI's:** **Epsilon** (USA/B.1.427/B.1.429), **Eta** = Europa u.a. Länder, **Theta** = Philippinen, **Kappa** = Indien, **Lambda** = Peru



Erstidentifizierung der Bedrohlichen Varianten (VOC's)

$\alpha$  = Sept. 2020, United Kingdom

$\beta$  = Mai 2020, Südafrika

$\gamma$  = Nov 2020, Brasilien

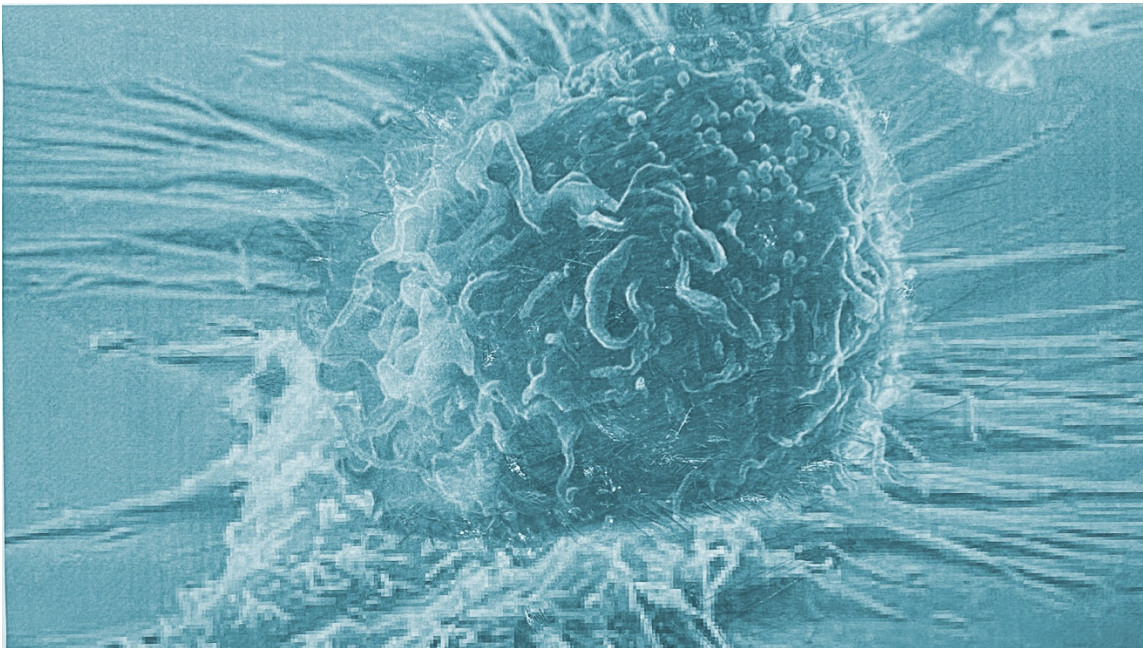
$\delta$  = Okt. 2020, Indien

$\omicron$  = Nov. 2020, Südafrika

Abb. 2: Elektronenoptische Aufnahme eines SARS-CoV2 Virus, das sich mit der Rezeptor bindenden Domäne (RBD) seines Spike-Proteins an den ACE-Rezeptor seiner Wirtszelle anlagert. © NIAID



## **(Abb. 3) Dendritische Zellen und Makrophagen als Antigen-präsentierende Zellen**



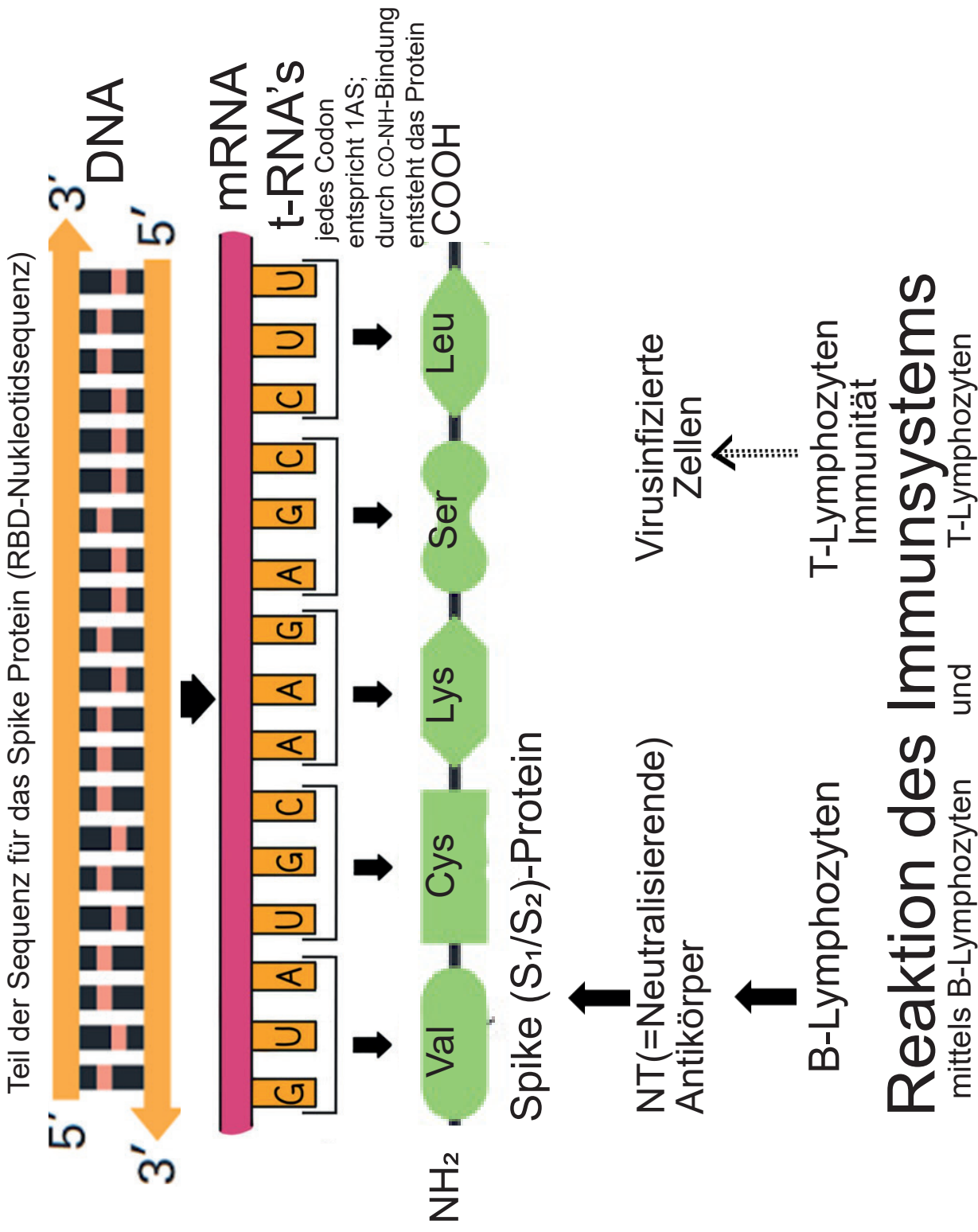
### **Wirkungsweise des Impfstoffs im geimpften Organismus**

**Dendriten (Langerhans Zellen, die im Stratum spinosum von Epidermis, serösen Häuten, Blut- und Lymphgefäßen sitzen) und Makrophagen** phagozytieren das Impfantigen und präsentieren das  $S_1$  und  $S_2$  Protein [= Rezeptorprotein, mit dem das SARS-Virus an den ACE-2 Rezeptoren seiner Wirtszellen andockt] auf ihrer Oberfläche. Auch Myozyten und Bindegewebszellen, in die durch die Injektion der Impfstoff eindringt, beteiligen sich an der Synthese der RBD-Komponente des viralen Spike-Proteins. **(Abb.4)**

**- Gegen das  $S_1/S_2$  Glycoproteine bzw. die RBD Region des Spike Proteins bildet das Immunsystem neutralisierende Antikörper und induziert eine T-Zell Immunität**

Das Antigen induziert die **T-Zell Antwort** mit CD3-, CD4- und CD8-Lymphozyten. Von CD8-Lymphozyten ist bisher bekannt, daß sie als zytotoxische T- Zellen agieren und virusinfizierte Körperzellen angreifen. Eine T-Zell Antwort kann für 1-3 Jahre aber auch bis zu 10 Jahren bestehen bleiben. Bei Nachweis einer hochtitrigen Anti-SARS-CoV-2 IgG Fraktion sowie neutralisierender Antikörper und einer deutlichen T-Zellantwort kann davon ausgegangen werden, daß ein Impfstoff gut wirkt.

Abb. 4 Molekularbiologisch-Biochemischer Syntheseprozess des S1/S2-Proteins und Bildung der T-Lymphozyten Immunität





## LABORANALYSEN (auch) aus Kapillarblut

### Stoffwechseldiagnostik und Medikamentenspiegel

In zunehmendem Maße werden Fragen zu angeborenen und erworbenen Stoffwechselstörungen sowie toxisch wirkenden Metaboliten an uns gerichtet. Zusätzlich sind Fragestellungen über die Wirkstoffe von Medikamenten und deren Verstoffwechslung sowie zu Inhaltsstoffen von Nahrungs- und Nahrungsergänzungsmitteln und deren Auswirkungen auf den Zellstoffwechsel von Interesse. Aus diesem Anlass haben wir unsere diagnostischen Aktivitäten auf diesen Sektoren intensiviert und sind heute in der Lage zahlreiche Parameter mit modernsten chromatographischen und (tandem)massenspektrometrischen Analysentechniken direkt bestimmen zu können. So können Fragen nach eventuell vorliegenden Stoffwechselstörungen schnell und effizient beantwortet werden. Weiterhin lassen sich mit daraus abgeleiteten Verfahren Fragen nach funktionellen Defiziten, zum Beispiel von Vitamin B<sub>12</sub>, beantworten. Auf Ihren Wunsch kombinieren wir Ergebnisse des zunächst durchgeführten Basisscreenings mit Ihren Angaben zur vorliegenden Symptomatik und führen eine umfangreiche Datenbankrecherche zu möglichen metabolischen Ursachen durch. Ausgewählte, oft wegweisende Symptome und Routineparameter haben wir auf der Rückseite zusammengefasst.

Ein aktueller Forschungsschwerpunkt unseres Instituts ist die Analytik von **Metaboliten** und **Medikamentenspiegeln** aus **Kapillarblut**, das **bei schwieriger Blutentnahme** oder **bei sehr kleinen Patienten** oft eine hilfreiche Alternative ist.

Wir sind Ihnen und Ihren Patienten daher jederzeit ein kompetenter und zuverlässiger Begleiter für die Bestimmung von Medikamentenspiegeln ebenso wie für die Diagnostik von Stoffwechselerkrankungen und deren Therapiemonitoring.

### Parameter aus diesem Themenkomplex mit Hinweisen zum Untersuchungsmaterial

Acylcarnitine und L-Carnitin (1,2,3) \* Aminosäuren (1,2,3) \* ausgewählte Antiepileptika (1,2) \* Cholesterol & Präkursoren (2) \* Glykosylierungsstörungen (CDG-Syndrome, Screening, 2) \* Homocystein (1,2) \* Homocystin (3) \* Immunsuppressiva (4) \* organische Säuren (3) \* überlangkettige Fettsäuren (=VLCFA, 2)

- (1) 2-3 Kreise einer Trockenblutkarte (Filter-, Guthriekarte)
- (2) 0,5 ml Serum / Plasma
- (3) 5-10 ml (Spontan-)Urin
- (4) EDTA-Blut

Bereich Stoffwechselanalytik  
Selektives Screening  
Therapeutic Drug Monitoring  
Zentrale:  
Homepage:

Dipl.-Ing.(FH) Siegfried Wallner  
Stoffwechsellabor  
Tel.: 07731/9956 123  
Tel.: 07731/9956 0  
www.labor-blessing.de

siegfried.wallner@labor-blessing.de  
stoffwechsel@labor-blessing.de  
info@labor-blessing.de

Postfach 1260  
78211 Singen  
Fax: 07731/9956-923

**Möglichst umfassende anamnestische und klinische Angaben sind wesentliche Voraussetzungen für eine wegweisende Befundinterpretation und Datenbankrecherche.**

**Von besonderem Interesse sind Angaben zu:**

***(familiäre) Anamnese***

Frühgeburtlichkeit (SSW), Herzvitium, Konsanguinität der Eltern, Mangelgeburtlichkeit, unklare Todesfälle in der Familie, etc.

***allgemeine Auffälligkeiten***

Akute metabolische Entgleisung, ALTE (**A**pparently **L**ifethreatening **E**vent), auffälliger Geruch (wonach?), autistische Züge, AZ-Verschlechterung, Dysmorphien, Gedeihstörung, Koma, Lethargie, Makrozephalie, Mikrozephalie, Sprachentwicklungsstörung, Trinkschwäche

***ZNS***

Ataxie, Dystonie, Entwicklungsrückschritte, Entwicklungsverzögerung, Epilepsie / Krampfanfälle, Leigh-like Syndrom, Muskelhypotonie, Stroke-like Episoden, Unklare Enzephalopathie

***Auge und Ohr***

Hornhauttrübung, Hörverlust, Katarakt, Optikusatrophie, Ptosis, Sehstörung

***neuromuskulär***

Belastungsintoleranz, Muskelschwäche, Rhabdomyolyse

***Magen-Darm-Trakt und Leber***

Diarrhö, Erbrechen, Hepatomegalie, Hepatopathie

***Niere***

Nephrolithiasis, Nephropathie, Tubulopathie

***Hämatopoese***

Anämie, Neutropenie, Thrombozytopenie

***Auffälligkeiten im Routinelabor (bitte Werte mit angeben)***

Anämie, Ammoniak erhöht, Anionenlücke erhöht, Cholesterin erniedrigt, CK erhöht, Harnsäure, Hypoglykämie, Ketose, Kreatinin, Laktat, metabolische Azidose / Alkalose, Myoglobininurie, Transaminasen erhöht, etc.

***Medikamente / besondere Ernährung vor der Probengewinnung***

Antiepileptika, besondere Ernährung (z.B. Diät, vegan, vegetarisch), Glucose, (Teil-) parenterale Ernährung