

NEDERLANDS TIJDSCHRIFT VOOR
MEDISCHE MICROBIOLOGIE



VOORPUBLICATIE

Thema: COVID-19

Coronadashboard

Q-koorts en de ernst van COVID-19

Sars-CoV-2-immuunrepons B en T!



nederlandse vereniging voor medische microbiologie

Nederlands Tijdschrift voor Medische Microbiologie

Het officiële orgaan van de Nederlandse Vereniging voor Medische Microbiologie (NVMM) informeert lezers over zowel fundamentele als klinische relevante ontwikkelingen binnen het vakgebied. Ook biedt het plaats voor promoties, symposium- en congresverslagen en cursusaankondigingen.

NVMM-secretariaat

Postbus 21020, 8900 JA Leeuwarden
Tel. (058) 293 94 95
Fax (058) 293 92 00
E-mail: secretariaat@nvmm.nl
Internet: www.nvmm.nl

Hoofredactie

Dr. Esther Heikens, dr. Bert Mulder

Redactie

Dr. Jarne M. van Hattem, Nicolien M. Hanemaaijer, dr. Jaap J. van Hellemond, Maarten Heuvelmans, Jan A. Kaan, dr. Bob Meek, dr. Janette C. Rahamat-Langendoen, Gro L. Vlaspolder, dr. René te Witt

Redactiesecretariaat

Alphatekst, Marina Kapteyn
Baronie 42
2405 XG Alphen aan den Rijn
tel. 06 12076835
marina@alphatekst.nl

Frequentie 4 x per jaar. Alle rechten voorbehouden. Op deze uitgave is het redactiereglement van toepassing.

Niets uit deze uitgave mag worden vervoelvoudigd, opgeslagen in een geautomatiseerd gegevensbestand of openbaar gemaakt, in enige vorm of op enige wijze, hetzij elektronisch, mechanisch, door fotokopieën, opnamen, of enige andere manier, zonder voorafgaande schriftelijke toestemming van de redactie. De redactie verklaart dat deze uitgave op zorgvuldige wijze en naar beste weten is samengesteld; evenwel kan de redactie op geen enkele wijze instaan voor de juistheid of volledigheid van de informatie. De redactie aanvaardt dan ook geen enkele aansprakelijkheid voor schade, van welke aard ook, die het gevolg is van bedoelde informatie. Gebruikers van deze uitgave wordt met nadruk aangeraden deze informatie niet geïsoleerd te gebruiken, maar af te gaan op hun professionele kennis en ervaring en de te gebruiken informatie te controleren.

Inhoud

Covid-19

Lokale verschillen van de corona-epidemiologie in beeld met een dashboard 150
Eric Hazenberg, Peter Wever, Peter Schneeberger

Doorgemaakte Q-koorts geassocieerd met ernstige ziekte of sterfte van COVID-19-patiënten? 157
Bert Mulder, Jona Walk, Mirjam Dautzenberg, Alfons Olde Lohuis, Marringje Nabuurs, Ton Dofferhoff

Thema: COVID-19

De immunologie achter SARS-CoV-2-afweerrespons, B en T! 161
Michiel Heron, Ailko Bossink, Hendrik Gremmels, Chantal Reusken, Johan Reimerink, Gijs Limonard, Kristin Kremer, Steven Thijsen

Lokale verschillen van de corona-epidemiologie in beeld met een dashboard

Eric Hazenberg, Peter Wever, Peter Schneeberger

Samenvatting

Onder tijdsdruk worden in het Jeroen Bosch Ziekenhuis en het Ziekenhuis Bernhoven de Corona Result Viewer en het Corona Dashboard ontwikkeld. Met behulp van laboratorium- en ziekenhuisdata wordt de epidemiologische informatie rondom patiënten met een positieve uitslag voor SARS-CoV-2 toegankelijk voor artsen-microbioloog, hygiëne- en infectiepreventiewerkers, aanvragers en supportteams. De systemen bieden geaggregeerde laboratoriumuitslagen en een grafische weergave van de dynamiek.

Abstract

The development of two databases is described in two Dutch hospitals situated in the epicentre of the SARS-CoV-2 pandemic. Test results are combined with epidemiological information and presented graphically in order to render insight in the hospital orientated dynamics to clinical microbiologists, support teams and applicants of the test.

Inleiding

Eind februari wordt na verontrustende berichten uit China en Noord-Italië in Nederland de eerste COVID-19-patiënt gediagnosticeerd. Om onopgemerkte SARS-CoV-2-transmissie vroegtijdig op te sporen, wordt in week 10 in het Jeroen Bosch Ziekenhuis (JBZ, Den Bosch) en in Ziekenhuis Bernhoven (BNH, Uden) naast de influenzadiagnostiek, ook COVID-19-diagnostiek ingezet bij patiënten met verdenking griep (figuur 1). Begin maart is 35 procent van de testaanvragen positief voor influenza en worden de eerste positieve monsters met het SARS-CoV-2-virus vastgesteld. Een week later blijkt dat de omgeving van Bernhoven een COVID-19-hotspot is. In de eerste week van maart testen in BNH (130 bedden, adherentie 280.000 personen) 18 van de 108

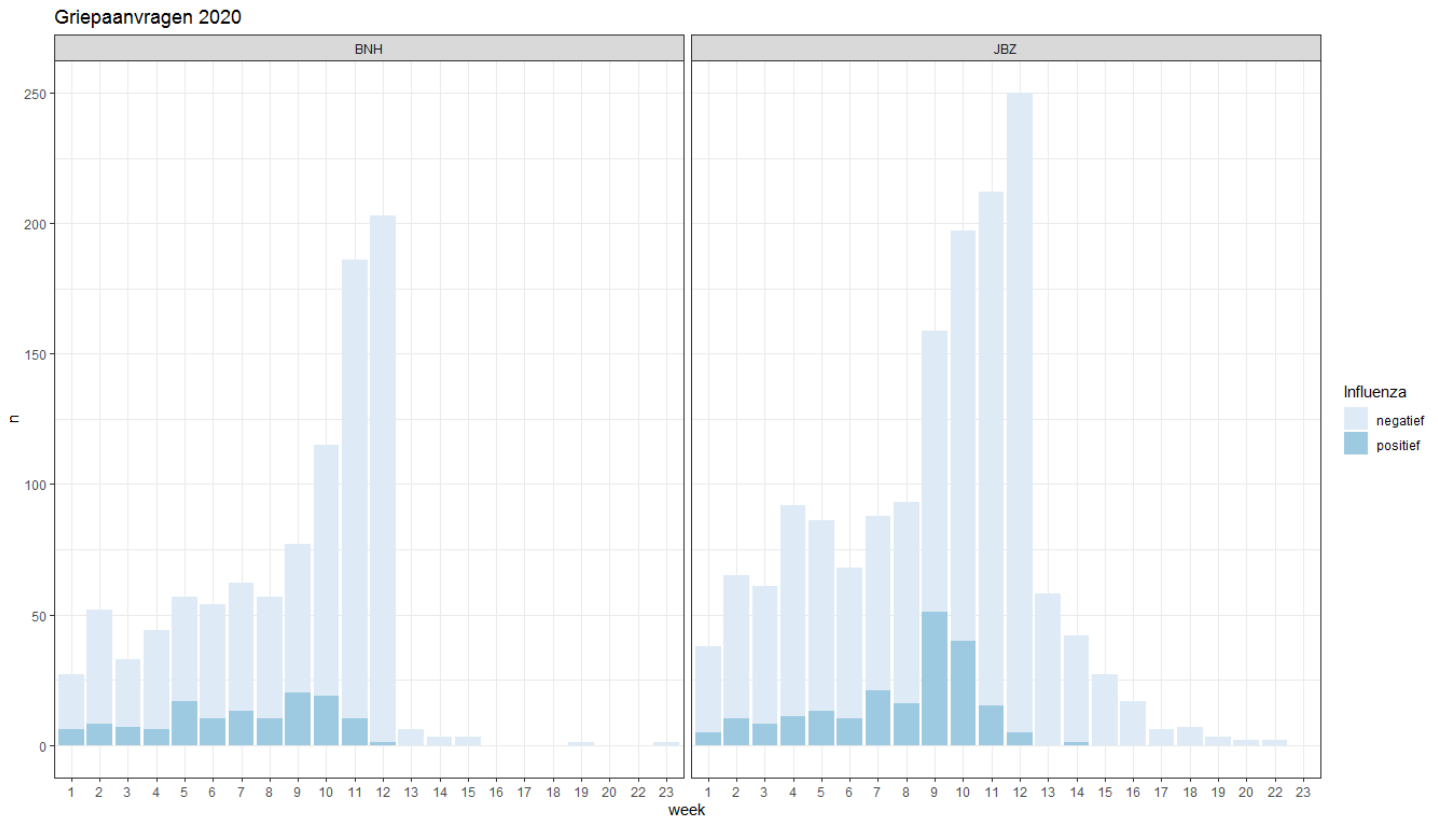
geteste patiënten positief voor SARS-CoV-2, in het naburige JBZ (600 bedden, adherentie 450.000 personen) 3 van de 184 patiënten. Om de toename van de vraag naar overzichtelijke en geaggregeerde resultaten digitaal te ondersteunen wordt een applicatie ontwikkeld. Hierna beschrijven we enkele toepassingen van deze applicatie tijdens de recente COVID-19-uitbraak in de regio's rondom Den Bosch en Uden.

Corona Result Viewer

Door de reguliere standaardrapportage komen de resultaten van een COVID-PCR in de grote vergaarbak met de andere resultaten van de betreffende patiënt, terwijl er juist een behoefte is om COVID-19-data gescheiden te analyseren. De data moeten niet op patiënt- maar op testniveau worden geaggregeerd en dienen geactualiseerd beschikbaar te zijn voor de eindgebruikers. Dat zijn de verschillende ziekenhuisorganisaties, de coronasupportteams, de ziekenhuishygiëneteam, de bedrijfsartsen en de GGD. Om dit te realiseren wordt de Corona Viewer ontwikkeld. Aanvankelijk, eind februari, is het de bedoeling de COVID-19-data op te nemen in de Influenzamonitor, die er binnen het JBZ is. De COVID-19-data kunnen op eenzelfde wijze als de RSV-data aan de Influenzamonitor worden toegevoegd, te weten met een duiding in de kantlijn. Al na enkele dagen blijkt dat een aparte monitor gemaakt moet worden. Deze Corona Result Viewer (CRV) geeft alle geaggregeerde COVID-19-PCR-

Ziekenhuis Bernhoven, Uden, Jeroen Bosch Ziekenhuis, Den Bosch, afdeling Medische microbiologie, dr. P.M. Schneeberger, arts-microbioloog, P.C. Wever, arts-microbioloog, E. Hazenberg, data- en Informatiemanager. Regionaal Laboratorium Medische Microbiologie en Infectiepreventie, Den Bosch.
Correspondentieadres: p.schneeberger@jbz.nl

Figuur 1. Toename griep testen bij het begin van de afname van het aantal positieve griep testen. Vanaf week 10 werden de negatieve griep testen ook ingezet op COVID-19.



gerelateerde data per dag per patiënt weer. Vanuit het laboratoriuminformatiesysteem worden ieder half uur, alle COVID-19-testen (wel en niet afgeronde testen) geëxporteerd naar het beveiligde netwerk van het JBZ. Software (R-script) transformeert de gegevens naar zinvolle informatie op patiëntniveau. Per patiënt per dag wordt één regel weergegeven in de CRV, waarbij drie uitslagen mogelijk zijn: ‘negatief’ indien alle testen met dezelfde afnamedatum negatief en afgerond zijn, ‘positief’ indien één test positief is, en ‘in behandeling’ als er nog niet afgeronde testen zijn én er geen afgeronde positieve test is. De relevante data worden vervolgens zichtbaar gemaakt via een HTML5-website opgeslagen in het netwerk van het JBZ, en beschikbaar gesteld voor specifieke gebruikers in en buiten het JBZ, dus ook voor BNH en de GGD. Per gebruiker/gebruikersgroep worden uitsluitend gerelateerde uitslagen aangeboden.

Privacy

De AVG stelt dat toegang tot uitslagen van testen alleen mag worden verleend indien men een behandelrelatie met de patiënt heeft. Het Outbreak Management Team (OMT) heeft per decreet

verordend dat dit in deze situatie geen grond heeft. In samenspraak met juridische zaken wordt een disclaimer in de CRV opgenomen die de verantwoordelijkheid voor juist gebruik bij de eindgebruiker legt. Dit is aan alle interne (JBZ) en externe gebruikers (BNH/GGD) meegedeeld. Voor externe partijen zijn ook op bestuurlijk niveau (RvB) de verantwoordelijkheden voor het gebruik afgestemd en overgedragen.

Dataveiligheid

De technische veiligheid is afgestemd met de dataveiligheidsexpert van de afdeling ICT. Omdat de CRV binnen het netwerk van het JBZ wordt opgeslagen, moet voor externe partijen toegang worden geregeld tot het JBZ-netwerk. Dit wordt gerealiseerd door op naam gestelde gebruikersaccounts aan te maken waarmee uitsluitend toegang wordt geboden aan de CRV. In deze constructie worden twee beveiligingen aangebracht, authenticatie in twee stappen en het loggen van de gebruikersnaam, zoals de standaard is voor de JBZ-accounts. Wegens tijdsgebrek wordt ‘wie-ziet-wat-wanneer’ niet geborgd. Daarbij zal het antwoord op het ‘wat’-gedeelte in de ‘wie-ziet-wat-wanneer’-vraag altijd zijn ‘alles wat er in de

CRV staat' en de 'wie en wanneer' zal te herleiden zijn uit het log-register van de betreffende account.

De Corona Result Viewer in de praktijk

Op 9 maart wordt de CRV in gebruik genomen, aanvankelijk door de bedrijfsartsen, korte tijd later door de Dienst hygiëne en infectiepreventie (later overgenomen door het coronasupportteam) en eind maart de GGD.

De elkaar snel opvolgende vragen om een CRV leidt vervolgens tot 'klantspecifieke' CRV's. Hierdoor kunnen heel precies de juiste patiënten, cliënten en medewerkers worden geraadpleegd. Een nadeel is dat onderhoud van de diverse CRV's en doorontwikkeling van de brondata een tijdrovende klus wordt. De optimale werkwijze op het laboratorium is begin maart nog niet gevonden, waardoor datastructuren subtiel veranderen, wat consequenties heeft voor de data. De eerste CRV's worden gevoed met klantspecifieke data. Dit blijkt al snel niet houdbaar, waarna ervoor wordt gekozen om de CRV's te gaan voeden vanuit één bronbestand. Nu ontstaan er nieuwe uitdagingen omdat er klantspecifieke vragen zijn. Zo wil bijvoorbeeld de GGD graag de telefoonnummers van de patiënten en heeft het coronasupportteam van Bernhoven behoefte aan het lokale

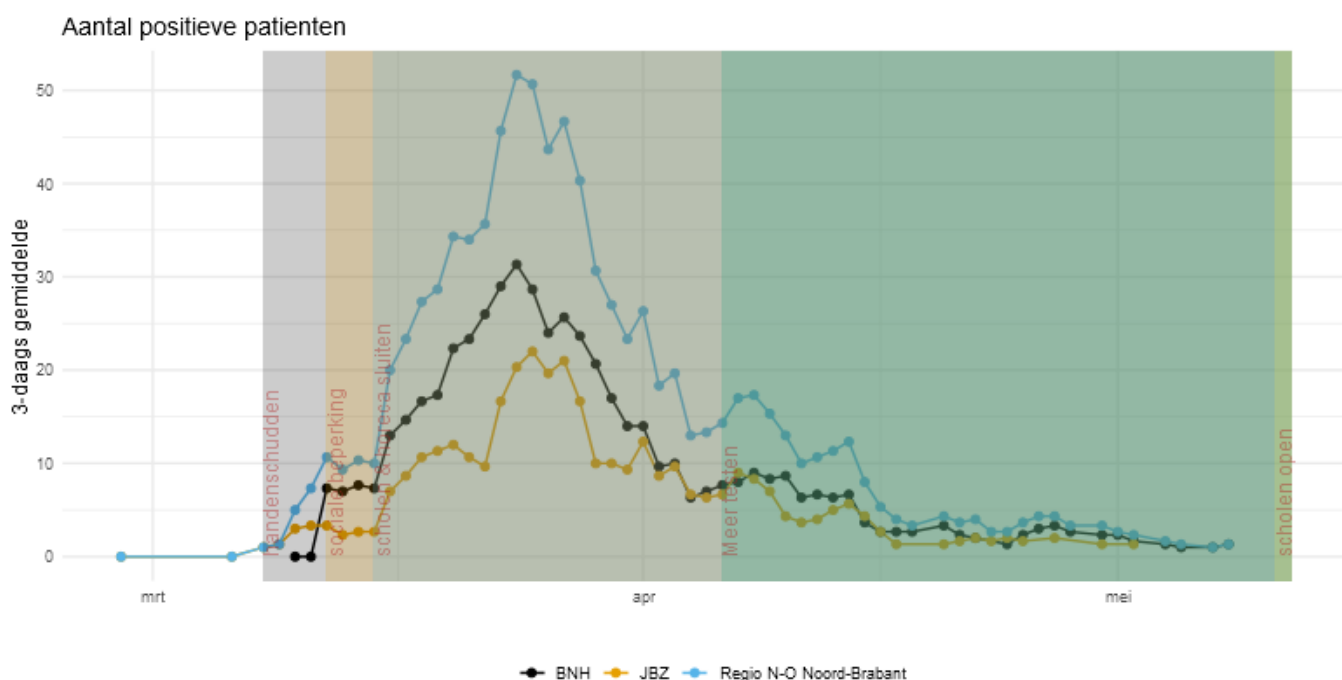
patiëntnummer. Data voor de klantspecifieke vragen komen uit andere tabellen en moeten worden samengevoegd met bronbestand. Ondanks het karakter van improvisatie, een beperkt omschreven opdracht onder grote druk, is er door goede samenwerking tussen applicatiebeheer (laboratorium), ICT (ziekenhuis), juridische zaken (JBZ) en data- en informatiemanager een effectief systeem neergezet dat bij diverse interne en externe partijen de administratieve druk flink heeft verlicht.

Het Corona Dashboard

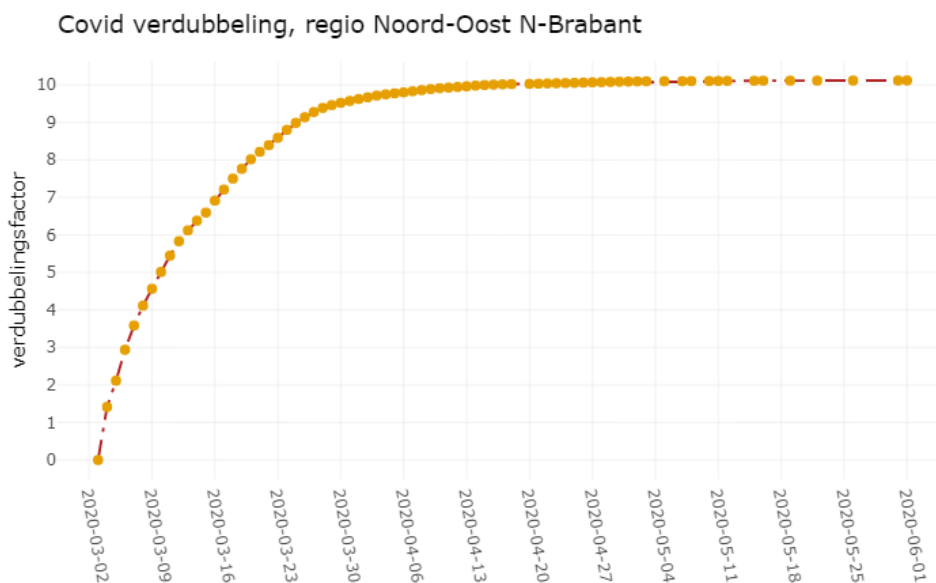
Parallel aan de ontwikkeling van de CRV wordt een Corona Dashboard ontwikkeld. In tegenstelling tot de dataverzameling voor de CRV's worden de data niet geaggregeerd op testniveau maar op herkomst van de patiënt. Op deze manier wordt bijvoorbeeld de problematiek per ziekenhuis in kaart gebracht. Het Corona Dashboard wordt beschikbaar gesteld aan de arts-microbioloog en levert via hen gegevens aan het OMT van beide ziekenhuizen. Voor de RvB van de ziekenhuizen wordt een dagelijks rapport gemaakt op basis van deze dataverzamelaar. In de latere fase van de epidemie kunnen de bedrijfsarts en de GGD aanhaken om gebruik te maken van de geaggregeerde data.

Het gebruik van Corona Result

Figuur 2. Aantal COVID-19-patiënten in het Jeroen Bosch Ziekenhuis, Ziekenhuis Bernhoven en beide ziekenhuizen samen, uitgezet in de tijd met aanduiding van de door de overheid genomen beheersingsmaatregelen. De extreem snelle stijging maar ook de snelle daling zijn duidelijk te zien.



Figuur 3. Verdubbelingsfactor (het aantal positieve patiënten uitgedrukt in 2^Y , waarbij Y de verdubbelingsfactor is) van het aantal COVID-19 patiënten voor het Jeroen Bosch Ziekenhuis en Ziekenhuis Bernhoven tezamen uitgezet in de tijd.



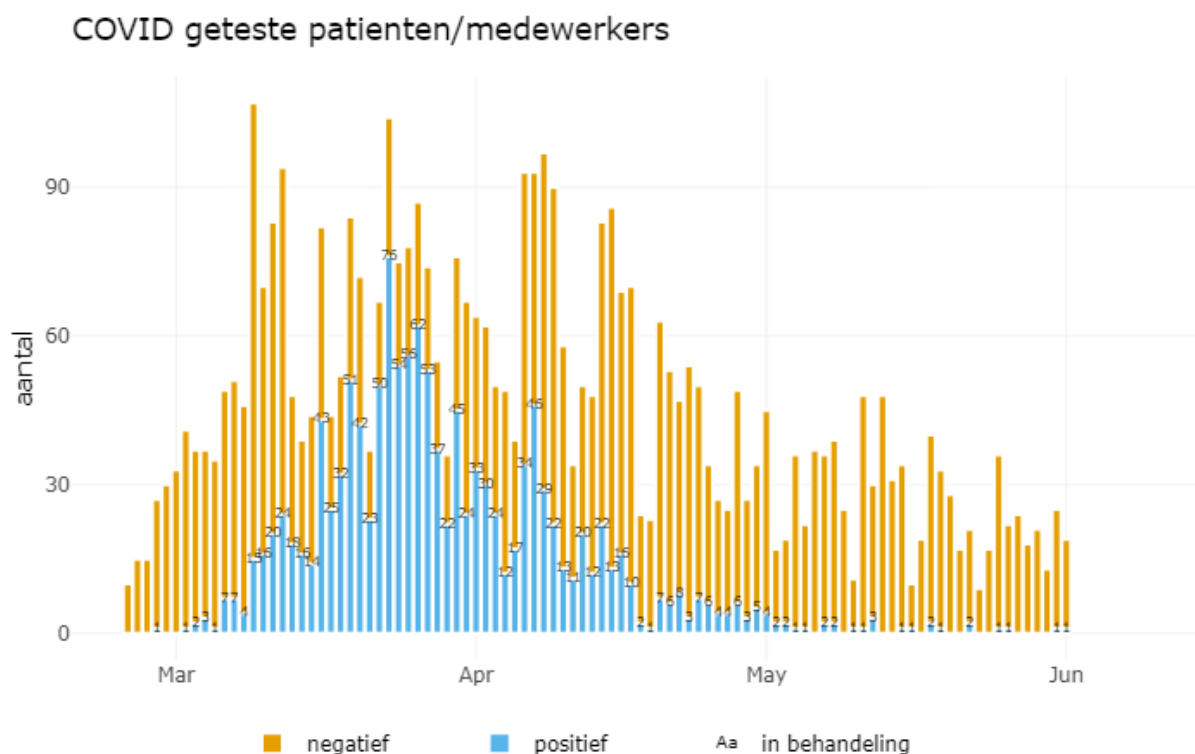
Viewer en Dashboard

De viewer is aanvankelijk ontwikkeld om lokale epidemiologie van influenza inzichtelijk te maken. Een opmerkelijk staartje aan het eind van de influenzapieak wordt zichtbaar in figuur 1. Er is een behoorlijke toename in influenza-aanvragen in week 10, 11 en 12. Dit is het moment dat juist het aantal influenzagevallen afneemt, maar dit moment valt samen met het begin van de

COVID-19-epidemie (figuur 2). In week 10 (2 maart) wordt in ons laboratorium gestart met COVID-19-diagnostiek met PCR bij influenzanegatieve aanvragen. Ook worden in week 10 de eerste COVID-19-gevallen gediagnosticeerd in Uden en Den Bosch.

De snelle stijging van aantal COVID-19-diagnoses in Uden is opmerkelijk. In het begin is

Figuur 4. COVID-19-positief- en -negatiefgeteste patiënten en medewerkers uitgezet in de tijd.



Figuur 5. De lokale COVID-19-epidemiologie in het adherentiegebied van het Jeroen Bosch Ziekenhuis (rood) versus het adherentiegebied van Ziekenhuis Bernhoven (blauw).



8 maart



15 maart

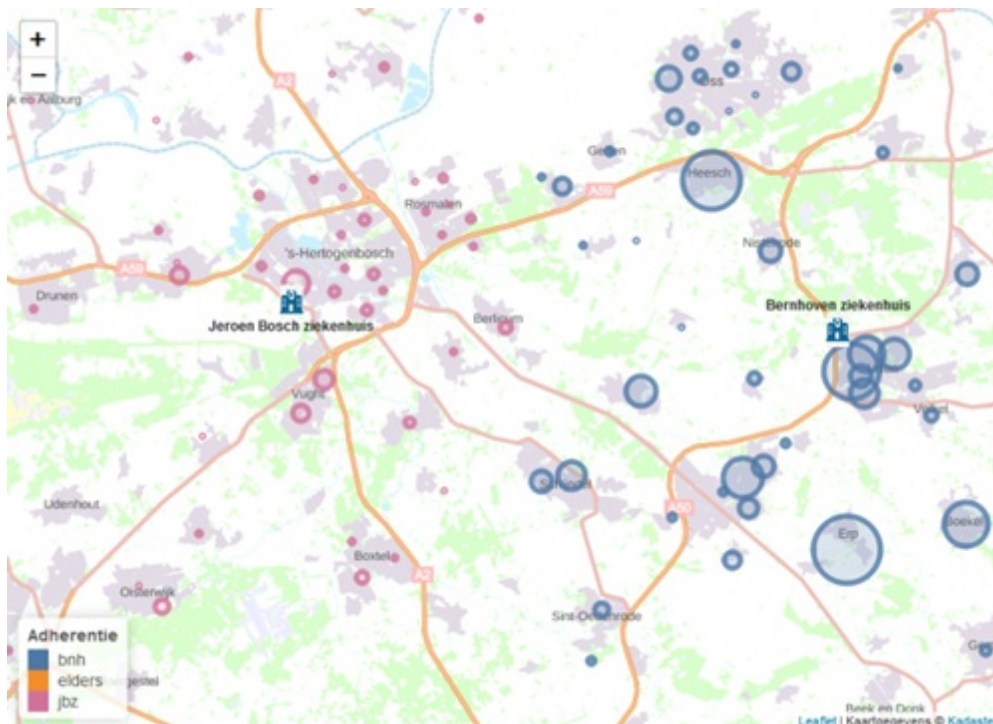
er een verdubbelingstijd van drie dagen (figuur 3). Het valt op dat als de data van twee ziekenhuizen worden samengevoegd, de pieken minder geprononceerd zijn (figuur 2). Waarschijnlijk wordt dit mitigerende effect versterkt als de data landelijk worden samengevoegd. Dit leidt tot verlies

aan inzicht van de lokale epidemiologie.

De oorzaak voor de snelle stijging in Uden is niet bekend. Meervoudige introductie door besmette vakantiegangers in het carnavalsgedruis lijkt het meest aannemelijk.

De verschillen tussen Bernhoven en JBZ in

Vervolg figuur 5. De lokale COVID-19-epidemiologie in het adherentiegebied van het Jeroen Bosch Ziekenhuis (rood) versus het adherentiegebied van Ziekenhuis Bernhoven (blauw).



22 maart



31 maart

aantallen van geregistreerde besmettingen zijn wel heel opmerkelijk, met name omdat de afstand (20 km) tussen de twee locaties beperkt is (figuur 5).

De snelle daling, die vooral in Bernhoven zeer

kort op de maatregelen volgde, kan niet volledig worden verklaard door het effect van die landelijke maatregelen (figuur 2 en 4). Mogelijk is de snelle daling mede veroorzaakt door het einde van het carnaval en doordat de focus van de media gericht was op Noord-Brabant en specifiek

op de regio Bernhoven. Misschien heeft ook een rol gespeeld dat eerst regionale maatregelen werden afgekondigd door de burgemeesters van Noord-Brabant. Dit heeft wellicht geleid tot een verhoogd bewustzijn in de regio, waardoor adviezen en maatregelen sneller zijn opgevolgd dan in andere delen van Nederland.

Doorgemaakte Q-koorts geassocieerd met ernstige ziekte of sterfte van COVID-19-patiënten?

Bert Mulder, Jona Walk, Mirjam Dautzenberg, Alfons Olde Lohuis, Marringje Nabuurs, Ton Dofferhoff

Samenvatting

In februari 2020 verspreidde de COVID-19-epidemie zich in Nederland vooral vanuit Brabant. De ziekenhuisopnames en de sterfte in Brabant (en Limburg) vertoonden een opvallende overeenkomst met de epidemiologische brandhaard van Q-koorts. Wij hebben in het serum van vijftig opgenomen COVID-19-patiënten Q-koorts fase II-IgG bepaald. Wij vonden een opvallend hoge seroprevalentie, namelijk 16 procent, met 18,5 procent bij Brabantse en 13 procent bij Gelderlandse patiënten. De huidige groep is te klein om definitieve conclusies te trekken. In een eventuele toekomstige studie naar de luchtkwaliteit, met name naar fijnstof als risicofactor, is het wellicht zinvol om ook doorgemaakte Q-koorts in de serologische onderzoeken mee te nemen.

Abstract

In February 2020, the COVID-19 epidemic in the Netherlands started mainly in Brabant. The hospital admissions and deaths in Brabant (and Limburg) showed a striking similarity with the epidemiologic hearth of the Q fever outbreak. We have determined Q fever phase II IgG in the serum of fifty COVID-19 patients. We found a remarkably high seroprevalence, almost 16 per cent, with 18.5 per cent in patients in Brabant and 13 per cent in Gelderland. The current group is too small to make definite conclusions. In future studies, on air quality, it is meaningful to include Q fever as risk factor in scientific research too

Inleiding

Sinds februari 2020 verspreidde de COVID-19-epidemie zich in Nederland vooral vanuit Brabant. Hoewel het RIVM van meet af aan een zeer terughoudend testbeleid hanteerde, bleek al snel dat het virus wijdverspreid was onder inwoners van Noord-Brabant. Dit werd enerzijds veroorzaakt door de terugkeer van Nederlanders uit met

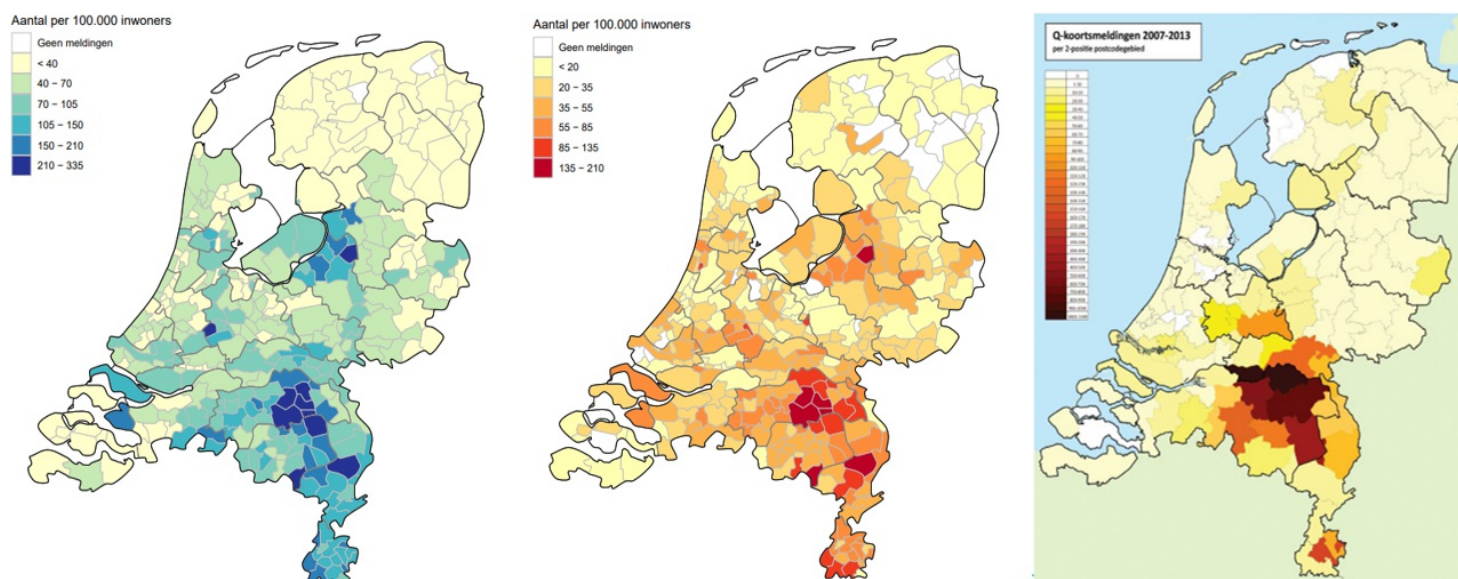
name Italiaanse en Oostenrijkse vakantiegebieden en anderzijds door zogenaamde 'superspreading events' met zeer efficiënte transmissie tijdens carnaval. In het weekend van 6-8 maart werden 1097 medewerkers in Noord-Brabantse ziekenhuizen onderzocht op SARS-CoV-2.[1]. In Tilburg bleek 9,5 procent van de onderzochte medewerkers positief. De meesten hadden geen contact gehad met op dat moment opgenomen COVID-19-patiënten, wat suggereert dat de verspreiding van het virus aanzienlijk groter was dan tot dan toe werd aangenomen. Het aantal opgenomen COVID-19-patiënten en het aantal sterfgevallen in Noord-Brabant nam daarna een grote vlucht. Op 10 juni 2020 waren er 48.087 ziekte- en 6.042 sterfgevallen gerapporteerd in Nederland, waarvan 9439 (19,6 procent) ziekte- en 1523 (25,2 procent) sterfgevallen in Noord-Brabant.[2]

Hoewel in heel Brabant en Limburg uitgebreid carnaval werd gevierd en mensen van wintersportgebieden terugkeerden in diezelfde vakantieperiode, kon dat het extreme aantal patiënten en sterfgevallen in Noordoost Brabant vergeleken met de rest van die provincie niet eenvoudig verklaren. Enerzijds zou het terughoudende testbeleid kunnen bijdragen aan een onderschatting van de werkelijke verspreiding in dit gebied. Anderzijds vertoonden de meldingen en de sterfte in Brabant (en Limburg) een opvallende overeenkomst met de epidemiologische brandhaard van

Canisius Wilhelmina Ziekenhuis, Nijmegen, dr. B. Mulder, arts-microbioloog, J. Walk, aios interne geneeskunde, M. Dautzenberg, aios medische microbiologie; A. Olde Lohuis, huisarts; dr. M. Nabuurs, arts-microbioloog, dr. T. Dofferhoff, internist-infectioloog.
Correspondentieadres: b.mulder@cwz.nl.

Figuur 1. Prevalentie van COVID-19 en Q-koorts in Nederland

Links: Aantal in het ziekenhuis opgenomen COVID-19-patiënten per 100.000 inwoners, tussen 23 februari en 10 juni 2020. Midden: Aantal overleden COVID-19-patiënten per 100.000 inwoners, tussen 23 februari en 10 juni 2020. Rechts: Aantal Q-koortsmeldingen van 2007 tot en met 2013. Bron: Rijksinstituut voor Volksgezondheid en Milieu.



een eerdere zoönotische uitbraak in dezelfde provincies: die van Q-koorts (figuur 1). Deze Q-koortsuitbraak was destijds de grootste ter wereld.[3] Een groot deel van het verzorgingsgebied van

het Canisius Wilhelmina Ziekenhuis (CWZ) bevindt zich in het voormalige Q-koortsgebied. Bovendien werd een deel van de patiënten in het werkgebied van ziekenhuis Bernhoven overgeplaatst naar het CWZ. Wij onderzochten of met

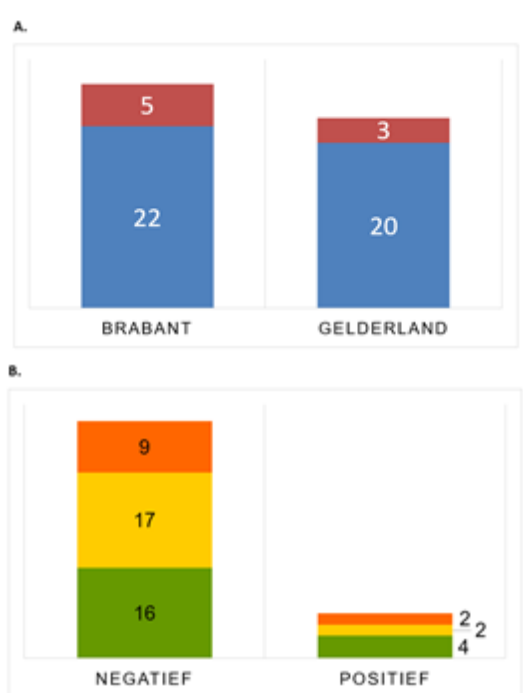
Figuur 2. Baselinetabel

	Q-koorts fase II-IgG	
	Negatief	Positief
Totaal	42	8
Man	32 (76 procent)	5 (63 procent)
Leeftijd (jaren)	70 (SD 12)	67 (SD 14)
Comorbiditeit (n, procent)		
Diabetes mellitus	11 (26 procent)	1 (13 procent)
Hypertensie	13 (31 procent)	5 (63 procent)
HVZ of cardiale afwijking	13 (31 procent)	4 (50 procent)
Astma/COPD	8 (19 procent)	2 (25 procent)
Overige longziekten	6 (14 procent)	1 (13 procent)
Immuungecompromitteerd	2 (4,8 procent)	0
Dialyseafhankelijk	1 (2,4 procent)	0
Actieve maligniteit	3 (7,1 procent)	0

Figuur 3. Q-koortsprevalentie en klinische uitkomst van COVID-19-patiënten in het CWZ.

(A) Prevalentie van Q-koorts fase II-IgG in serum van COVID-19-patiënten opgenomen in het CWZ, woonachtig in de provincie Noord-Brabant (n = 27) of in andere provincies (n = 23). Rood: Q-koorts fase II-IgG positief; blauw: negatief.

(B) Klinische uitkomst bij patiënten met negatieve (eerste kolom) en positieve (tweede kolom) Q-koorts fase II-IgG. Patiënten werden onderverdeeld in opgenomen en ontslagen vanaf de verpleegafdeling (groen), opgenomen op de IC (geel) en overleden op de verpleegafdeling zonder IC opname (oranje).



name bij onze Brabantse patiënten sprake was van doorgemaakte Q-koorts als additionele risicofactor voor ernstige COVID-19 en sterfte, naast de bekende risicofactoren als mannelijk geslacht, obesitas en diabetes mellitus.

Methoden

In het serum van vijftig patiënten die in het Canisius Wilhelmina Ziekenhuis waren opgenomen met een PCR-bevestigde SARS-CoV-2-infectie werden Q-koorts fase II-IgG-titers bepaald met IFA-techniek (Focus diagnostics, Diasorin USA).

Ziekte-uitkomst werd gedefinieerd als: 1) opgenomen op de COVID-19-afdeling in het ziekenhuis en ontslagen zonder intensivereopname; 2) opgenomen op de intensivereafdeling van het

CWZ; 3) overleden op de COVID-19-afdeling. Gegevens over comorbiditeiten werden opgevraagd uit het patiëntendossier.

Voor dit onderzoek werd toestemming verleend door de medisch-ethische toetsingscommissie van het CWZ (CWZ-nr. 027-2020; datum toestemming 12 maart 2020). Er werd geen schriftelijke toestemming gevraagd, maar patiënten konden kiezen om niet deel te nemen aan de studie nadat zij mondeling waren geïnformeerd.

Resultaten

In dit onderzoek werden 50 patiënten geïncludeerd, 37 (74 procent) mannen met een gemiddelde leeftijd van 70 jaar (figuur 2). Van hen waren 27 (54 procent) op het moment van opname woonachtig in Brabant en 23 (46 procent) in andere provincies, met name Gelderland.

De seroprevalentie van fase II-IgG (doorgemaakte Q-koorts) was 16 procent, met een serologisch aangetoonde prevalentie van 18,5 procent bij Brabantse en 13 procent bij Gelderlandse patiënten.

Onder de 20 patiënten opgenomen en ontslagen vanaf de COVID-19-afdeling zonder intensivereopname, waren er vier (20 procent) seropositief. Bij de IC-patiënten waren dit er drie van de 19 (15,7 procent) en van de overleden patiënten één van de 11 (9 procent) (figuur 3). Binnen de verschillende patiëntencategorieën was per provincie geen opvallend verschil waarneembaar.

Discussie

Het is onduidelijk of doorgemaakte Q-koorts een additionele risicofactor vormt voor het doormaken of de ernst van COVID-19. Bij deze preliminaire studie onder patiënten in een ziekenhuis buiten de Q-koortsregio werd wel een hoge seroprevalentie van Q-koorts onder COVID-19-patiënten vastgesteld.

Eerdere studies schatten de seroprevalentie op 12 tot 15 procent.[3-5] Deze zijn echter gebaseerd op serum verzameld onder populaties in hoogrisicogebieden. Er zijn nog weinig data over doorgemaakte Q-koorts in andere regio's. Gezien het relatief kleine aantal patiënten in de huidige studie en het ontbreken van een geschikte controlegroep zonder COVID-19 is het niet mogelijk te concluderen of Q-koorts een risicofactor vormt, of dat er mogelijk andere risicofactoren een rol spelen.

Binnenkort start het RIVM een studie naar de

luchtkwaliteit, met name naar fijnstof als risicofactor. Tevens zullen er waarschijnlijk serologische studies worden verricht om de daadwerkelijke omvang van de COVID-19-epidemie in Noord Brabant beter in kaart te brengen. Wellicht is het, gezien de hoge prevalentie in dit onderzoek, zinvol om in dergelijke brede serologische studies ook doorgemaakte Q-koorts als risicofactor te evalueren.

Referenties

1. Reusken CB, Buiting A, Bleeker-Roovers C, et al. Rapid assessment of regional SARS-CoV-2 community transmission through a convenience sample of healthcare workers, the Netherlands. *Euro Surveill.* 2020;25:12.
2. RIVM, Epidemiologische situatie COVID-19 in Nederland. 2020.
3. van der Hoek W, Morry G, Renders MHN, et al. Epidemic Q fever in humans in the Netherlands. *Adv Exp Med Biol.* 2012;984:329-64.
4. Hogema BM, Slot E, Molier M, et al. Coxiella burnetii infection among blood donors during the 2009 Q-fever outbreak in The Netherlands. *Transfusion.* 2012;52:144-50.
5. van der Hoek W, Schneeberger PM, Oomen T, et al. Shifting priorities in the aftermath of a Q fever epidemic in 2007 to 2009 in The Netherlands: from acute to chronic infection. *Euro Surveill.* 2012;17:20059.

De immunologie achter SARS-CoV-2-afweerrespons, B en T!

Michiel Heron, Ailko Bossink, Hendrik Gremmels, Chantal Reusken, Johan Reimerink, Gijs Limonard, Kristin Kremer, Steven Thijsen

Samenvatting

Eind februari werd in Nederland de eerste COVID-19-patiënt gediagnosticeerd. Hoe het immuunsysteem de SARS-CoV-2-infectie precies bestrijdt en in hoeverre de respons adequaat is en langdurige bescherming biedt, is op dit moment nog niet duidelijk. In samenwerking met het RIVM is het Diaconessenhuis Utrecht een studie gestart om de immunrespons bij mensen met verschillende ernst van COVID-19 in kaart te brengen. In het laboratorium van de medische microbiologie van het Diaconessenhuis is een ELISpot ontwikkeld voor het meten van T-celreactiviteit tegen SARS-CoV-2-antigenen. Een recentelijk gepubliceerd artikel over de resultaten van de SARS-CoV-2-ELISpot wordt besproken, evenals de mogelijke rol van (geheugen) T-cellen in de afweer tegen SARS-CoV-2 (en gerelateerde virussen).

Abstract

The first COVID-19 patient was diagnosed in the Netherlands at the end of February. Exactly how the immune system fights the SARS-CoV-2 infection and to what extent the response is adequate, is not yet clear. The Diaconessenhuis Utrecht, in collaboration with the RIVM, has started a study to map the immune response in people with different severity of COVID-19 disease. In the medical microbiology laboratory of the Diaconessenhuis, an ELISpot has been developed for measuring T-cell reactivity against SARS-CoV-2 antigens. A recently published article on the results of the SARS-CoV-2-ELISpot is discussed, as well as the recent insights regarding the role of (memory) T-cells in the immune-defense against SARS-CoV-2 (and related viruses).

In Nederland zijn tot en met 1 september in totaal 71.129 COVID-19-patiënten gemeld en zijn 6230

mensen overleden.[1] Hoge leeftijd is een risicofactor voor een ernstig beloop van COVID-19; van de opgenomen patiënten was de helft 68 jaar of ouder en van de overleden patiënten was de helft 83 jaar of ouder. Zeventig procent van de mensen die jonger dan 70 jaar waren bij overlijden hadden onderliggend lijden, waarvan cardiovasculaire aandoeningen en hypertensie, diabetes en chronische longaandoeningen het vaakst voorkwamen.[1] In veel gevallen verloopt COVID-19 mild en/of symptomeloos. Naast deze risicofactoren speelt het humane afweersysteem waarschijnlijk een belangrijke rol in het beloop van de ziekte, die door het SARS-CoV-2-virus wordt veroorzaakt.

Hoe het immuunsysteem de SARS-CoV-2-infectie precies bestrijdt en in hoeverre de respons adequaat is en langdurige bescherming biedt, is op dit moment nog niet duidelijk. Ook is nog onbekend wat de rol en het belang is van de aangeboren en verworven humorale (B-lymfocyten, antistoffen) en cellulaire (T-lymfocyten, cytokines) afweer. Daarom zijn wij een studie gestart om de immunrespons bij mensen met verschillende ernst van COVID-19 in kaart te brengen. Daarnaast willen we inzicht krijgen in hoeverre de

Diakonessenhuis, Utrecht, afdeling Medische Microbiologie, M. Heron, medisch immunoloog, H. Gremmels, afdeling medische microbiologie, S. Thijsen, arts-microbioloog; Diaconessenhuis, Utrecht, afdeling Longziekten, A. Bossink, longarts, G. Limonard, longarts; Centrum Infectieziektebestrijding, WHO referentielaboratorium voor COVID-19, Rijksinstituut voor Volksgezondheid en Milieu (RIVM), Bilthoven, C. Reusken, viroloog, J. Reimerink, onderzoeker emerging en zeldzame virussen, K. Kremer, coördinator bacteriële serologie.
Correspondentieadres:
M. Heron (mheron@diakhuis.nl).

verworven humorale en cellulaire respons in de tijd aantoonbaar blijft. Mogelijk biedt dit aanknopingspunten om te beoordelen of deze respons bescherming biedt tegen herinfectie, en om de effectiviteit van een vaccin mede te kunnen beoordelen.

Interactie tussen B- en T-lymfocyten

Drainerende lymfeklieren vormen een ontmoetingsplek voor antigeenpresenterende cellen en B- en T-lymfocyten. De interactie tussen deze cellen maakt herkenning van lichaamsvreemde antigenen mogelijk en kan de aanzet vormen tot een afweerrespons tegen een nieuw coronavirus.

Elke B-lymfocyt heeft een unieke B-celreceptor, die door willekeurige genherschikking tot stand is gekomen. De B-celreceptoren herkennen zowel oplosbare antigenen als membraangebonden antigenen van micro-organismen en kunnen deze na internalisatie verwerken. Vervolgens komen peptidefragmenten van het antigeen terecht in het 'major histocompatibility'-complex (MHC) klasse II-complex. B-lymfocyten zullen na de eerste herkenning van het antigeen IgM-antistoffen gaan produceren. Om vervolgens tot IgG-antistofproductie te worden aangezet, moeten de door de B-lymfocyten in het MHC klasse II-complex gepresenteerde antigenen worden herkend door specifieke receptoren op geactiveerde CD4⁺ T_{helper}-lymfocyten, ook aanwezig in de lymfeklieren. De interactie tussen de B- en T-lymfocyten wordt versterkt door co-stimulerende signalen, en vindt plaats in aanwezigheid van specifieke cytokines (onder meer interleukine (IL)-6 en IL-21). Dit stelt de B-lymfocyten in staat tot het maken van de isotypeswitch van IgM- naar IgG-antistoffen.[2] Daarnaast vindt affiniteitsrijping van de B-lymfocyten plaats, door selectie op grond van bindingssterkte van de B-celreceptor met het antigeen, en de vorming van geheugen-B-lymfocyten. De specifieke CD4⁺ T_{helper}-lymfocyten zijn tevens noodzakelijk voor het activeren van antigeenspecifieke CD8⁺-T_{cytotoxische}-lymfocyten die zorgen voor het opruimen van virusgeïnfecteerde cellen. De productie van interferon-gamma (IFN-gamma) door de geactiveerde T-lymfocyten is essentieel voor de effectiviteit van de afweerrespons tegen intracellulaire bacteriële en virale infecties.

Humorale afweer tegen SARS-CoV-2

Voor het stellen van de diagnose COVID-19 wordt meestal gebruikgemaakt van de detectie van SARS-CoV-2-RNA via real-time polymerase chain reaction (RT-PCR). Voor detectie van SARS-CoV-2-specifieke antistoffen zijn in korte tijd verschillende testmethoden beschikbaar gekomen. Deze maken gebruik van verschillende, specifieke SARS-CoV-2-antigenen (S1-domein van het spike-eiwit, combinatie S1/S2-domein, receptorbindend domein van het spike-eiwit, nucleocapside-eiwit) die op unieke wijze gekoppeld zijn aan verschillende soorten vaste dragers (cellulose-strip, gecoat op een plastic plaat, gebonden aan beads). Verschillende substraatreacties worden gebruikt om de binding van antistoffen aan te tonen. Testen gebaseerd op het principe van laterale flow immuno assay (LFIA) en enzyme-linked immuno sorbent assay (ELISA) kwamen het eerst op de markt, gevolgd door onder meer chemoluminescentie immuno assay (CLIA)-testen op geautomatiseerde systemen.

Inmiddels zijn diverse wetenschappelijke publicaties verschenen waarin serologische testen met elkaar worden vergeleken, en waarin de sensitiviteit van deze testen ten opzichte van PCR-bewezen ziekte en ernst van de ziekte en de specificiteit ten opzichte van andere coronavirussen zijn vastgesteld. Bovendien is er steeds meer inzicht in de correlatie tussen serologische routinetesten en de aanwezigheid van functionele antistoffen zoals neutraliserende antistoffen.[3] De testspecificaties zijn verschillend, afhankelijk van de ziekteduur en de ernst van de ziekte. Dit hangt ook samen met het type immunoglobuline dat wordt aangetoond, IgM, IgA, IgG of totaal-Ig-antistoffen. Globaal blijken SARS-CoV-2-antistoffen tussen 7 en 14 dagen na begin van de ziektesymptomen aantoonbaar. Naarmate het aantal ziektedagen langer en de ziekte ernstiger is, nadert de sensitiviteit van de meeste laboratorium IgG-testen de 95 procent of hoger. In Nederland verzamelt en deelt de Taskforce Serologie validatiedata, die worden aangeleverd door deelnemende medisch-microbiologische laboratoria. De rapportage van deze data is vrij toegankelijk en regelmatig worden geactualiseerde versies uitgebracht.[4]

Cellulaire afweer tegen SARS-CoV-2

Over de verworven cellulaire T-celrespons gericht tegen SARS-CoV-2-eiwitten is nog weinig bekend. Verschillende studies suggereren een onderdrukte T-celimmunititeit bij patiënten met ernstige COVID-19, gebaseerd op een verlaagd absoluut aantal circulerende T-lymfocyten of afwijkende IFN-gamma-expressie door T-lymfocyten gemeten met behulp van flowcytometrie. [5,6]

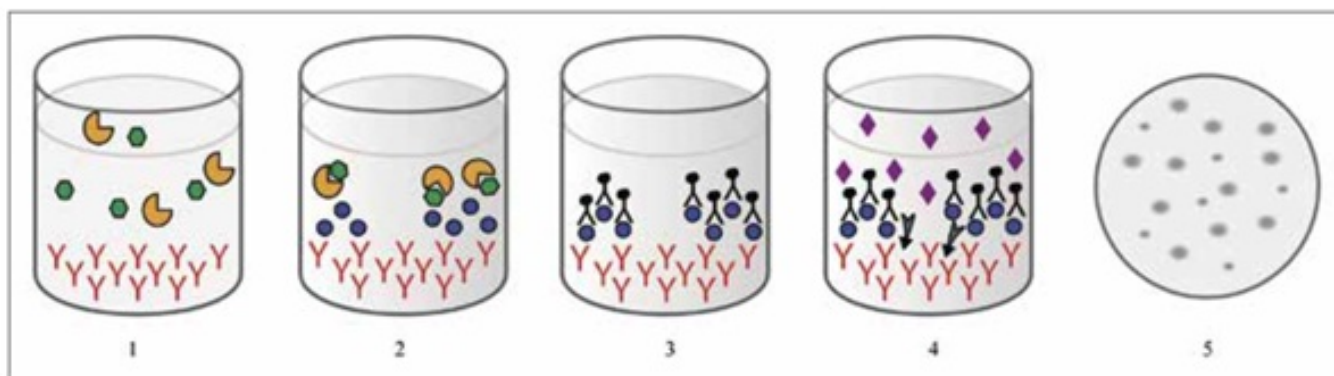
Zeer recent is een studie verschenen waarin SARS-CoV-2-eiwitpools zijn ingezet om te ontdekken welke SARS-CoV-2-eiwitten door specifieke T-lymfocyten van COVID-19-patiënten worden herkend, wederom gemeten met behulp van flowcytometrie. De resultaten lieten zien dat SARS-CoV-2-membraan-, spike- en nucleocapside-eiwitten codominant waren in herkenning door CD4⁺ T_{helper}-lymfocyten. Bij CD8⁺ T_{cytotoxische}-lymfocyten was de reactie tegen het spike-eiwit minder dominant en werd significante reactiviteit aangetoond tegen membraan-, nucleocapside- en andere SARS-CoV-2-eiwitten. [7] In een andere recente studie werd aangetoond dat CD4⁺ T_{helper}-lymfocyten van COVID-19-patiënten reageren met het SARS-CoV-2-spike-eiwit maar dat deze ook aantoonbaar waren bij SARS-CoV-2-seronegatieve gezonde donoren. [8] In beide artikelen wordt

gediscussieerd over de samenhang tussen aangetoonde T-celreactiviteit en gemeten antistoffen tegen het SARS-CoV-2-spike-eiwit en de mogelijke kruisreactiviteit met andere coronavirussen.

Een andere methode om de functionele T-celrespons tegen SARS-CoV-2-antigenen te bepalen is het meten van IFN-gamma-productie met behulp van een enzymelinked immunospot (ELISpot)-methode. In het laboratorium van de medische microbiologie van het Diaconessenhuis is een ELISpot ontwikkeld voor het meten van T-celreactiviteit tegen SARS-CoV-2- nucleocapside-antigenen en tegen een SARS-CoV-2-mozaïekproteïne, dat bestaat uit membraan-, nucleocapside- en spike-eiwitten (figuur 1).

De methode bestaat uit het isoleren van mononucleaire cellen uit het perifere bloed (peripheral blood mononuclear cells (PBMC's)) en het toevoegen van een bepaald aantal cellen in een well van een plaat die is gecoat met IFN-gammavangende antistoffen. De cellen worden gestimuleerd met een bepaalde concentratie SARS-CoV-2-specifieke antigenen, met medium als negatieve controle en een polyklonale activator als positieve controle (anti-humaan CD3-monoklonale antistof). Indien de antigenen worden herkend door de antigeenspecifieke

Figuur 1. Schematische weergave van het principe van de ELISpot test



- (1) De ELISpotplaat bestaat uit welltjes gecoat met antistoffen (rood) tegen IFN-gamma. Op de plaat worden mononucleaire cellen uit het perifere bloed ('peripheral blood mononuclear cells', PBMC's) (oranje) en SARS-CoV-2-eiwitten (groen) toegevoegd.
- (2) De PBMC's verwerken de SARS-CoV-2-eiwitten en presenteren stukjes van deze eiwitten aan de T-lymfocyten, die daarop IFN-gamma (blauw) produceren. De IFN-gamma wordt vervolgens gebonden aan de antistoffen tegen IFN-gamma op de bodem van de welltjes.
- (3) Na een incubatietijd van een nacht worden de welltjes gewassen, om ze van overvloedige PBMC's te ontdoen. Vervolgens wordt conjugaat toegevoegd (zwart), dat zich bindt aan het IFN-gamma-antistofcomplex.
- (4) Na opnieuw wassen wordt enzymsubstraat (paars) toegevoegd.
- (5) Na wassen en drogen zijn bij een positief resultaat stipjes zichtbaar op de bodem van de welltjes, waarbij elke stip overeenkomt met één SARS-CoV-2-specifieke IFN-gamma-producerende T-lymfocyt.

T-lymfocyten zullen ze IFN-gamma uitscheiden dat kan worden gevangen door de anti-IFN-gamma-antistoffen gecoat op de plaat. Na 16-20 uur stimulatie wordt het gebonden IFN-gamma gedetecteerd met behulp van een chromogeen substraat waardoor een gekleurde 'spot' ontstaat rond IFN-gamma producerende SARS-CoV-2-specifieke T-lymfocyten. Een groot voordeel van deze test is dat het relatief eenvoudig is om spotvormende units te kwantificeren.

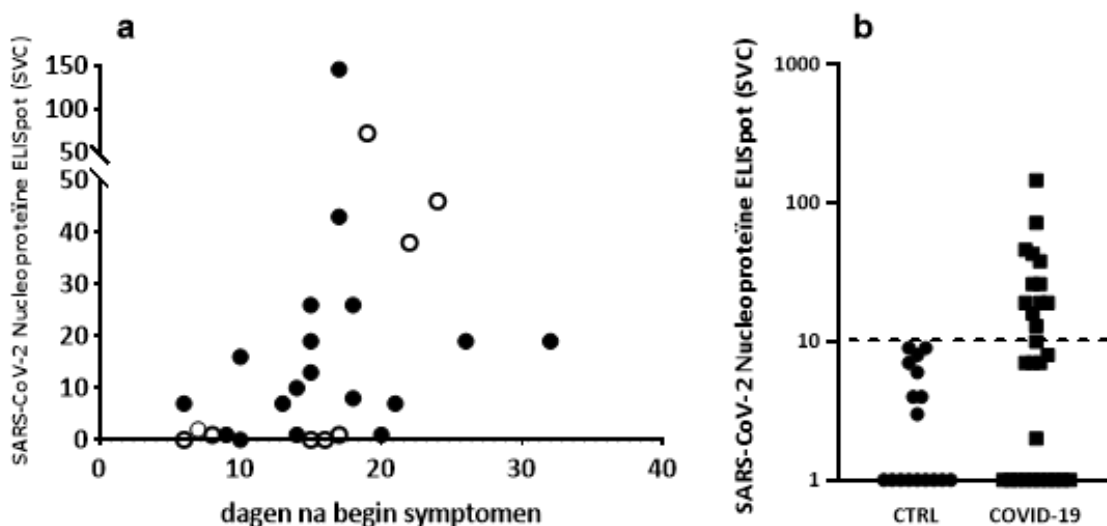
SARS-CoV-2-immunresponsstudie (SIR-studie)

Een recent in het *Journal of Infection* gepubliceerde studie, uitgevoerd in het Diakonessenhuis, toonde een robuuste T-celrespons tegen SARS-CoV-2-nucleocapside-eiwit meetbaar met behulp van de ELISpot test na circa 10 ziekte-dagen bij COVID-19-patiënten opgenomen op de intensive care (IC) of op de longafdeling (n = 27) (figuur 2a). In een gezonde controlegroep (n = 16) waren nooit meer dan negen spots meetbaar. Tien of meer spots tegen SARS-CoV-2-nucleocapside-eiwit werd dan ook beschouwd als diagnostisch voor COVID-19 (figuur 2b). Opvallend genoeg toonde een subset van de COVID-19-patiënten een vertraagde of onderdrukte respons. Vijf patiënten toonden vrijwel geen respons

en vier toonden een zwakke T-celrespons, aantoonbaar na 18 tot 32 ziekte-dagen.[9] De patiënten met de vertraagde of onderdrukte respons waren niet significant lymfopen, terwijl de respons op de positieve controle (polyklonale activator) wel significant lager was dan bij de COVID-19-patiënten zonder vertraagde of onderdrukte respons. Dit laatste zou kunnen wijzen op een vorm van uitputting van de T-lymfocyten.[10] In hoeverre dit correleert met ziekte-duur en ernst moet uit nader onderzoek blijken.

In samenwerking met het Rijksinstituut voor Volksgezondheid en Milieu (RIVM) zal in een vervolgstudie de waarde van de SARS-CoV-2-ELISpot verder worden onderzocht. In de SARS-CoV-2-immunresponsstudie (SIR-studie) zullen COVID-19-patiënten worden vergeleken met gezonde deelnemers. COVID-19-patiënten worden een jaar gevolgd, en op vijf momenten gedurende het jaar zullen niet alleen SARS-CoV-2- (virus-neutraliserende) antistoffen maar ook de functionele T-celrespons met de SARS-CoV-2-ELISpot worden bepaald en gekwantificeerd. Hiermee hopen we inzicht te krijgen in de ontwikkeling van de immunrespons tegen SARS-CoV-2 bij patiënten met ernstige, matige en milde COVID-19. Met name in deze laatste groep zijn er

Figuur 2. T-celrespons tegen SARS-CoV-2-nucleocapside-eiwit meetbaar met behulp van de ELISpot test, na circa 10 ziekte-dagen bij COVID-19 patiënten opgenomen op de intensive care (IC) of op de longafdeling



a) SARS-CoV-2-ELISpot nucleoproteïne IFN-gammaspotvormende cellen (SVC) in relatie tot het aantal dagen na begin van ziekte-symptomen. Open en gesloten rondjes betreffen COVID-19-patiënten opgenomen op respectievelijk de IC en de longafdeling.
 b) SARS-CoV-2-ELISpot nucleoproteïne IFN-gammaspotvormende cellen (SVC) bij een gezonde controlegroep (CTRL) en bij COVID-19-patiënten. De gestreepte lijn toont de afkapwaarde die is vastgesteld voor COVID-19.

aanwijzingen dat de humorale respons afwezig of vertraagd is en lijkt de virusneutraliserende capaciteit van het serum beperkt.[11] Het is echter opvallend dat in een Zweedse en een Franse studie (de laatste als preprint beschikbaar op internet) ook na langere tijd SARS-CoV-2-specifieke T-lymfocyten zijn gemeten bij seronegatieve familieleden van COVID-19-patiënten en bij individuen die asymptomatische of milde COVID-19 hebben doorgemaakt. Bij een deel van niet aan SARS-CoV-2 blootgestelde individuen uit de controlegroep bleken SARS-CoV-2-specifieke T-lymfocyten aantoonbaar specifiek voor het membraan en spike-eiwit, maar niet gericht tegen het nucleocapside-eiwit. [12,13] In een Singaporese studie werd echter aangetoond dat bij patiënten die hersteld waren van SARS of COVID-19, de specifieke T-lymfocyten juist gericht waren tegen het SARS-CoV-2-nucleocapside-eiwit. Bij hen waren er nauwelijks T-lymfocyten detecteerbaar die gericht waren tegen niet-structurele eiwitten (NSP), gecodeerd door ORF1-regio. In tegenstelling tot deze bevindingen bij herstelde patiënten, bleek bij donoren die niet aan SARS-CoV of SARS-CoV-2 waren blootgesteld, de specifieke T-celrespons voornamelijk gericht te zijn tegen niet-structurele eiwitten van SARS-CoV-2. Omdat de ORF1-regio van SARS-CoV, SARS-CoV-2 en andere dierlijke bètacoronavirussen vrijwel volledige homologie vertoont, leidt blootstelling aan dierlijke coronavirussen waarschijnlijk tot priming van deze T-lymfocyten. Dit is een mogelijke verklaring voor de aangetoonde kruisreactiviteit. In hoeverre kruisreactie van eventueel al aanwezige specifieke T-lymfocyten tegen het nucleocapside-eiwit of de NSP-ORF1-eiwitten van invloed zijn op SARS-CoV-2-infectie of COVID-19-ziektebeloop zal onderzoek moeten uitwijzen.[14] Er zijn al overzichtsartikelen verschenen van de gepubliceerde studies waarin SARS-CoV-2-specifieke T-cel-responsen zijn geanalyseerd.[15,16] De hierboven beschreven data laten zien dat blootstelling aan SARS-CoV-2 een virusspecifieke T-celrespons kan induceren met of zonder aantoonbare seroconversie. Detectie van SARS-CoV-2-specifieke T-lymfocyten in samples van voor de COVID-19-pandemie (niet blootgesteld aan SARS-CoV of SARS-CoV-2) wijst mogelijk op kruisreactiviteit ten gevolge van blootstelling aan gewone humane verkoudheids-coronavirussen (HCoV-OC43, HCoV-HKU1, HCoV-NL63 en

HCoV-229E) en/of dierlijke coronavirussen. T-celreactiviteit tegen het SARS-CoV-2-nucleocapside-eiwit wordt bij individuen die niet zijn blootgesteld aan SARS-CoV of SARS-CoV-2, in de verschillende studies niet of minder dominant aangetoond.

De in het Diaconessenhuis ontwikkelde SARS-CoV-2-ELISpot biedt dus mogelijk aanvullende diagnostische waarde voor het bepalen van blootstelling aan en de immunusstatus tegen SARS-CoV-2. Of de aanwezigheid van een duurzame specifieke T-celrespons met of zonder antistoffen bescherming biedt tegen herinfectie met SARS-CoV-2 zal vervolgonderzoek moeten uitwijzen.

Referenties

1. RIVM. Epidemiologische situatie COVID-19 Nederland 01-09-2020. https://www.rivm.nl/sites/default/files/2020-09/COVID-9_WebSite_rapport_wekelijks_20200901_1353_0.pdf
2. den Haan JMM, Arens R, Zelm MC. The activation of the adaptive immune system: Cross-talk between antigen-presenting cells, T cells and B cells. *Imm Lett.* 2014;162:103-12.
3. Geurts-van Kessel CH, Okba NMA, Igloi Z, et al. An evaluation of COVID-19 serological assays informs future diagnostics and exposure assessment. *Nat Comm.* 2020;11:3436.
4. Taskforce Serologie, Landelijke Coördinatiestructuur Testcapaciteit, Status of the validation of ELISA and auto-analyser antibody tests for SARS-CoV-2 diagnostics: considerations for use. 2 July, 2020.
5. Chen G, Wu D, Guo W, et al. Clinical and immunological features of severe and moderate coronavirus disease 2019. *J Clin Invest.* 2020;130(5):2620-9.
6. Xu B, Fan CY, Wang AL, et al. Suppressed T cell-mediated immunity in patients with COVID-19: A clinical retrospective study in Wuhan, China. *J Infect.* 2020;81(1):e51-e60.
7. Grifoni A, Weiskopf D, Ramirez SI, et al. Targets of T cell responses to SARS-CoV-2 coronavirus in humans with COVID-19 disease and unexposed individuals. *Cell.* 2020;181:1489-501.
8. Braun J, Loyal L, Frensch M, et al. Presence of SARS-CoV-2-reactive T cells in COVID-19 patients and healthy donors. Preprint at medRxiv doi.org/10.1101/2020.04.17.20061440 (2020).
9. Thijsen S, Heron M, Gremmels H, et al. Elevated nucleoprotein-induced interferon- γ release in COVID-19 patients detected in a SARS-CoV-2 enzyme-linked immunosorbent spot assay. *Journal of Infection.* 2020;81:452-82.
10. Diao B, Wang C, Tan Y, et al. Reduction and functional exhaustion of T cells in patients with Coronavirus disease 2019 (COVID-19). *Front Immunol.* 11:827.
11. Rijkers G, Murk JL, Wintermans B, et al. Differences in antibody kinetics and functionality between severe and mild SARS-CoV-2 infections. Preprint at medRxiv doi.org/10.1101/2020.06.09.20122036.
12. Sekine T, Perez-Potti A, Rivera-Ballesteros O, et al. Robust T cell immunity in convalescent individuals with asymptomatic or mild COVID-19. *Cell.* 2020; doi: <https://doi.org/10.1016/j.cell.2020.08.017>.

13. Gallais F, Velay A, Wendling MJ, et al. Intrafamilial exposure to SARS-CoV-2 induces cellular immune response without seroconversion. Preprint at medRxiv doi.org/10.1101/2020.06.21.20132449.
14. Le Bert N, Tan AT, Kunasegaran K, et al. SARS-CoV-2-specific T cell immunity in cases of COVID-19 and SARS, and uninfected controls. *Nature*. 2020;584:457-62.
15. Altmann M, Boyton RJ. SARS-CoV-2 T cell immunity: Specificity, function, durability, and role in protection. *Science Immunology*. 2020;5(49):eabd6160.
16. Chen Z, Wherry EJ. T cell responses in patients with COVID-19. *Nat Rev Immunol*. 2020;1-8.