

SARS-CoV-2-Diagnostik

Neue Möglichkeiten zur Diagnostik von Mutationen und Virusvarianten

Sehr geehrte Einsender,
sehr geehrte Damen und Herren,

nach bisherigem Stand der Wissenschaft stellen Mutationen des SARS-CoV-2 derzeit eine ernstzunehmende Gefahr für eine zunehmende Ausbreitung von COVID-19-Fällen in Europa und damit auch in Deutschland dar.

Seit Beginn der SARS-CoV-2-Pandemie wurden zahlreiche Virusvarianten mit einer Häufung spezieller Mutationen beschrieben. Schon früh in der Pandemie begannen sich bestimmte Virusvarianten (D614G) durchzusetzen und verdrängten z. T. den ursprünglichen Erreger. Ein bekanntes Phänomen, welches - insbesondere bei RNA-Viren - häufig beobachtet wird. Ende Dezember 2020 fiel in Großbritannien eine neue Virusvariante (B.1.1.7) mit insgesamt 26 Mutationen auf, die in bestimmten Regionen des Landes innerhalb kürzester Zeit zur dominanten Virusvariante wurde. Die aktuellen Daten sprechen dafür, dass sich die neue Virusvariante B.1.1.7 (Alpha) durch eine erhöhte Übertragbarkeit im Vergleich zum Wildtyp auszeichnet. Auch in Deutschland wurde die Corona-Mutation B.1.1.7 inzwischen vielfach nachgewiesen.

Vergleichbar zur Variante B.1.1.7 (VOC Alpha) wurden auch in Südafrika (B.1.351, VOC Beta) und Brasilien (B.1.1.28, VOC Gamma) Virusvarianten nachgewiesen, die sich dort mit einer hohen Geschwindigkeit verbreiten. Im Unterschied zur Virusvariante B.1.1.7. deuten erste Daten darauf hin, dass bei diesen beiden Virusvarianten Veränderungen an den Spike-Proteinen in der Virushülle auftreten, die zu einer verminderten Affinität der Antikörper führen können, die im Rahmen einer Infektion mit der ursprünglichen Virusvariante gebildet wurden. Hierdurch könnte das Risiko für eine Reinfektion zunehmen. Die drei oben beschriebenen Virusvarianten von SARS-CoV-2 werden aufgrund ihres möglichen Gefährdungspotentials als „Variants of Concern (VOC)“ bezeichnet.

NACHWEIS VON MUTATIONEN UND VIRUSVARIANTEN

Für die Detektion von Mutationen und Virusvarianten stehen verschiedene Möglichkeiten zur Verfügung. Zum einen die aufwändige, teure und relativ langwierige Gesamtgenom-Sequenzierung des Virus, andererseits das schnelle und verhältnismäßig kostengünstige Mutationsscreening mittels PCR.

SARS-CoV-2-Mutationsscreening mittels Target-PCR – schnell und kosteneffektiv

Für die Variante B.1.1.7 ist das Vorhandensein der klinisch relevanten Mutation N501Y und der Deletion H69/V70 charakteristisch. Die erstgenannte Mutation N501Y ist auch bei der Virusvariante B.1.351 und Virusvariante B.1.1.28 nachweisbar (siehe auch Tabelle 1).

Tabelle 1: Vorkommen der Mutation N501Y und Deletion H69/V70 bei den aktuell relevanten SARS-CoV-2-Mutationen

Spike-Protein-Variation	Genetische Variation	Alpha B.1.1.7	Beta B.1.351	Gamma B.1.1.28
Deletion H69/V70	del21765-70	●		
N501Y	A23063T	●	●	●

*zusätzlich Mutation Y453F vorhanden

>>> weiter auf Seite 2 >>>

Umsetzung im MVZ Labor Ravensburg

Für den Nachweis einer der o.g. Mutationsvariante kann bei einer SARS-CoV-2-positiven PCR-Probe in unserem Labor gezielt mit einer zweiten PCR analysiert werden, ob die Mutation N501Y vorliegt. Ist dies der Fall, wird in einer ange- schlossenen weiteren PCR nach der Deletion H69/V70 für den Nachweis der Virusvariante B.1.1.7 gesucht.

Dieses Screening auf die Virusvarianten Alpha, Beta und Gamma erfolgt bei uns direkt im MVZ Labor Ravensburg. Für die Veranlassung dieser Untersuchung nach der aktuellen Coronavirus-Testverordnung (TestV vom 27. Januar 2021) ist nach aktuellem Kenntnisstand eine formlose Beauftragung (z.B. Muster 10) oder eine simultane Mitbeauftragung zur SARS-CoV-2-PCR möglich ('*wenn positiv, dann Mutationsscreening*').

Mit einem Ergebnis der PCR-Mutationsanalyse ist in der Regel innerhalb von 48 Stunden nach Probeneingang bzw. Beauftragung zu rechnen. Zusätzlich besteht die Möglichkeit, die im Mutationsscreening auffälligen und nicht als VOC Alpha diagnostizierten Proben anschließend durch eine Gesamtgenom-Sequenzierung umfänglicher zu charakterisieren. Wir leiten derzeit alle auffälligen Virusvarianten, die nicht als VOC Alpha identifiziert werden, dieser Sequenzierung zu.

Gesamt-Genomsequenzierung – tiefgreifender aber zeitaufwändiger

Um einen besseren Überblick über die in Deutschland zirkulierenden Varianten des Coronavirus zu bekommen, fördert die Bundesregierung die Genomsequenzierung von SARS-CoV-2 im Rahmen einer Surveillance gemäß der neuen **Coronavirus-Surveillanceverordnung (CorSurV)**.

Bei dieser Gesamtgenom-Sequenzierung wird das komplette Genom von SARS-CoV-2 mittels *Next Generation Sequencing* (NGS) analysiert. Mit Hilfe der Sequenzdaten können die Evolution der Viren und das Auftreten neuer Varianten frühzeitig entdeckt werden. Allerdings ist die Gesamtgenom-Sequenzierung des Virus ein sehr zeitaufwändiger Prozess, so dass aktuell mit einem Ergebnis in der Regel nach etwa 1 Woche zu rechnen ist. Ist die Fragestellung nach einer SARS-CoV-2-Mutation zeitkritisch, z. B. bei Verdacht auf ein Super-Spreading-Event oder bei Ausbruchsuntersuchungen, empfiehlt sich das oben erläuterte PCR-Mutationsscreening.

Die wesentlichen Regelungen der Coronavirus-Surveillanceverordnung sind:

- Einrichtungen und Laboratorien, die eine SARS-CoV-2 Diagnostik durchführen jedoch selbst keine Genomsequenzierung vornehmen, sollen einen bestimmten Anteil der positiv auf SARS-CoV-2 getesteten Proben in andere Laboratorien und Einrichtungen zur Durchführung der Sequenzierung einschicken.
- Der Anteil der positiv auf SARS-CoV-2 getesteten Proben, die an sequenzierende Laboratorien und Einrichtungen eingesendet werden können, hängt ab von der bundesweiten Anzahl der Neuinfektionen in der jeweils vergangenen Kalenderwoche. Übersteigt diese Zahl 70.000, so können 5 % der positiv getesteten Proben zur Sequenzierung eingesendet werden. Bei einer niedrigeren Zahl an Neuinfektionen erhöht sich dieser Anteil auf 10 %.
- Laboratorien und Einrichtungen, die Sequenzierungen von SARS-CoV-2 vornehmen, sind verpflichtet, die erhobenen Genomsequenzdaten an das Robert Koch-Institut zu übermitteln.

Das RKI hat eine Handlungsanleitung für uns als primärdiagnostizierendes Labor zur Auswahl von SARS-CoV-2-positiven Proben für die Sequenzierung im Rahmen der CorSurV erlassen. Nach den dort festgelegten Kriterien erfolgt die **Auswahl der Proben, die zur Gesamtgenom-Sequenzierung im Rahmen der Surveillance versandt werden**:

1. Sequenzierung zufällig ausgewählter Proben der jeweiligen Woche mit Ct-Wert ≤ 25
2. Sequenzierung von Proben mit einem epidemiologischen oder labordiagnostischen Verdacht auf das Vorliegen einer neuen Variante von SARS-CoV-2 (VOC):
 - Laborergebnisse mit Hinweis auf Variante (o.g. SARS-CoV-2-Mutationsscreening mittels PCR)
 - Hinweise auf eine Exposition gegenüber neuartigen Varianten von SARS-CoV-2
 - ein erhöhtes Übertragungspotenzial (z.B. Fall war selbst Kontaktperson eines Falles mit Mutationsnachweis)
 - unerwartete Krankheitsschwere
 - Impfdurchbrüche (Erkrankungsfälle bei Geimpften)
 - ungewöhnliches Ausbruchsgeschehen
 - vermutete zoonotische Infektion
 - Verdacht auf Reinfektion
 - Reiseanamnese (Aufenthalt in Ländern, in denen das Auftreten neuer Varianten bekannt geworden ist)

>>> weiter auf Seite 3 >>>

Umsetzung im MVZ Labor Ravensburg

Das MVZ Labor Ravensburg wird nach der oben angeführten Handlungsanweisung des RKI die Proben zur Sequenzierung an ein Partnerlabor in der Limbach Gruppe weiterleiten. Die dort erhobenen Genomsequenzdaten werden einerseits digital an das Robert Koch-Institut und das zuständige regionale Gesundheitsamt übermittelt und andererseits über unser Labor auch dem Zuweiser der ursprünglichen Probe per schriftlichem Befundbericht zur Kenntnis gegeben.

Neben der Sequenzierung im Rahmen der Coronavirus-Surveillanceverordnung (CorSurV) besteht die Möglichkeit der Direktanforderung der Sequenzierleistung. Diese empfehlen wir jedoch nur ergänzend **nach** Durchführung eines PCR-Mutations screenings (siehe oben).

ABRECHNUNG UND KOSTEN

Für die PCR-Mutationsanalysen erlaubt die geänderte Coronavirus-Testverordnung (TestV) vom 27. Januar 2021 zum jetzigen Kenntnisstand eine Abrechnung gemäß § 4 TestV. Die Abrechnung der Gesamtgenom-Sequenzierungen erfolgt gemäß der Coronavirus-Surveillanceverordnung (CorSurV) vom 19. Januar 2021 und wird vom Bund getragen.

MELDEPFLICHT UND BEFUNDÜBERMITTLUNG

Bei Nachweis einer Mutation oder Virusvariante mittels PCR-Mutationsanalyse erfolgt eine Meldung an das zuständige Gesundheitsamt per Fax. Das Ergebnis wird außerdem dem Einsender schriftlich auf dem Befund mitgeteilt. Eine Meldung der Ergebnisse über die DEMIS-Schnittstelle ist zum aktuellen Zeitpunkt noch nicht möglich, befindet sich in unserem Labor aber bereits in der Entwicklung.

Das Ergebnis der Genomsequenzierungen gemäß der CorSurV wird entsprechend der Surveillanceverordnung elektronisch an das RKI überspielt. Zusätzlich erfolgt bei Nachweis einer VOC eine Meldung an den Einsender und das zuständige Gesundheitsamt.

Mit freundlichen Grüßen

Ihr MVZ Labor Ravensburg

Literatur:

1. Neue Coronavirus-Surveillanceverordnung des Bundesministeriums für Gesundheit (Stand: 19. Januar 2021)
2. Aktualisierte Coronavirus-Testverordnung (TestV) vom 27. Januar 2021
3. Handlungsanleitung für primärdiagnostizierende Labore zur Auswahl von SARS-CoV-2-positiven Proben für die Sequenzierung im Rahmen der Coronavirus-Surveillanceverordnung (CorSurV), https://www.rki.de/DE/Content/InfAZ/N/Neuartiges_Coronavirus/DESH/Handlungsanleitung_Labore.html