

SARS-CoV-2 – Möglichkeiten zur Diagnostik von Mutationen/Varianten

Nach bisherigem Stand der Wissenschaft stellen Mutationen des SARS-Coronavirus-2 derzeit eine ernst zu nehmende Bedrohung für eine zunehmende Ausbreitung von Covid-19-Fällen in Europa und damit auch in Deutschland dar.

Für die Detektion der zirkulierenden Mutationen, auch *Variants of Concern* (VOC) genannt, stehen unterschiedliche Möglichkeiten zur Verfügung. Zum einen die aufwendige, teure und relativ langwierige Ganzgenom-Sequenzierung des Virus, andererseits das schnelle und verhältnismäßig kostengünstige PCR-Mutationscreening, die im Folgenden dargestellt sind. Für beide Möglichkeiten wurde die Übernahme der Kosten durch den Bund inzwischen geregelt. Für die Sequenzierungsuntersuchungen erschien am 19.01.21 die neue Coronavirus-Surveillance-Verordnung (CorSurV); für die PCR-Mutationsanalysen gilt die am 27.01.21 geänderte Coronavirus-Testverordnung (TestV).

PCR-Mutationscreening – schnell und kosteneffektiv

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

Für den Nachweis einer der o. g. Varianten kann bei einer SARS-CoV-positiven PCR-Probe gezielt mit einer zweiten PCR analysiert werden, ob die Mutation N501Y vorliegt. Ist dies der Fall, wird in einer angeschlossenen weiteren PCR nach der Deletion H69/V70 für die britische Virusvariante gesucht:

Spike-Protein-Variation	Genetische Variation	UK B.1.1.7	Südafrika B.1.351	Brasilien B.1.1.28	DK mink Clust V
H69/70V	del21765-70	x			x
N501Y	A23063T	x	x	x	

Vorkommen der Mutation N501Y und Deletion H69/70V bei den aktuell relevanten SARS-CoV-2-Mutationen

Dieses Screening auf die britische, südafrikanische und brasilianische Variante erfolgt bei uns direkt im MVZ Gemeinschaftslabor Cottbus. Für diese Folgeanalyse ist es allerdings erforderlich, dass bei der Probe ein Ct-Wert kleiner 30 vorliegt. Für die Veranlassung dieser Untersuchung nach TestV ist nach aktuellem Kenntnisstand eine telefonische oder „formlose“, schriftliche Nachbeauftragung (z. B. Muster 10) oder eine simultane Mitbeauftragung zur SARS-CoV-2-PCR möglich („wenn positiv, dann Mutationscreening“). Da die Handlungsempfehlung zur Beauftragung bisher noch nicht schriftlich vorliegt, empfiehlt es sich aus unserer Sicht, das Einverständnis bzw. die direkte Beauftragung des Gesundheitsamtes einzuholen.

Mit einem Ergebnis der PCR-Mutationsanalyse ist in der Regel innerhalb von 48 Stunden nach Probeneingang bzw. Beauftragung zu rechnen.

Im epidemiologisch begründeten Fall besteht die Möglichkeit, die im Mutationscreening auffälligen Proben anschließend durch eine Gesamt-Genomsequenzierung umfänglich zu charakterisieren und damit genauer zu den weltweit zirkulierenden Virusvarianten durch das Nationale Konsiliarlabor zuzuordnen.

Gesamt-Genomsequenzierung – tiefgreifender und zeitaufwendig

Um einen besseren Überblick über die in Deutschland zirkulierenden Varianten des Coronavirus zu bekommen, fördert die Bundesregierung die bundesweite Genomsequenzierung der Viren. Mit Hilfe der Sequenzdaten kann die Evolution der Viren und das Auftreten neuer Varianten frühzeitig entdeckt werden. Auch der Eintrag neuer Varianten aus dem Ausland soll so zeitnah festgestellt werden. Allerdings ist die Gesamt-Sequenzierung der viralen RNA ein sehr zeitaufwendiger Prozess, sodass aktuell mit einem Ergebnis in der Regel erst nach 5 - 7 Tagen zu rechnen ist. Ist die Fragestellung nach einer SARS-CoV-2-Mutation zeitkritisch und muss zügig beantwortet werden, empfiehlt sich zusätzlich auch das oben erläuterte PCR-Mutationscreening.

Der Anteil der positiv auf SARS-CoV-2 getesteten Proben, die sequenziert werden sollen, hängt von der bundesweiten Anzahl der Neuinfektionen in der jeweils vergangenen Kalenderwoche ab. Übersteigt diese Zahl 70.000, so können 5 % der positiv getesteten Proben zur Sequenzierung eingeschendet werden. Bei einer niedrigeren Zahl an Neuinfektionen erhöht sich dieser Anteil auf 10 %.

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 (https://www.rki.de/DE/Content/InfAZ/N/Neuartiges_Coronavirus/DESH/Handlungsanleitung_Labore.html).

Nach den dort festgelegten Kriterien erfolgt durch uns als primärdiagnostizierendes Labor die Auswahl der Proben, die zur Genomsequenzierung 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
 - Laborergebnisse mit Hinweis auf Variante (z. B. o. g. PCR-Mutationsanalyse)
 - 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)

Das Gemeinschaftslabor Cottbus wird nach der oben angeführten Handlungsanweisung des RKI die Proben zur Sequenzierung an Partnerlabore 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.