



Österreichische Gesellschaft für Laboratoriumsmedizin und Klinische Chemie

Detektion von SARS-CoV-2 Variants of Concern

Stand: 17.02.2021 (Version 2)

Die molekulargenetische Detektion von SARS-CoV-2 Varianten ist essentiell, um die Ausbreitung von Variants of Concern (VOC) zu beobachten und durch geeignete Maßnahmen einzudämmen. Von praktischer Relevanz sind derzeit vor allem B.1.1.7 - „britische“ VOC, B.1.351 - „südafrikanische“ VOC, B.1.1.28 - „brasilianische“ VOC. **Die Anordnung alle Proben mit erstmalig positivem SARS-CoV-2 PCR-Befund auf das Vorliegen von Mutationen zu untersuchen, wird von der ÖGLMKC und der ÖQUASTA vollinhaltlich unterstützt.**

Für den Verdacht oder den Nachweis von VOC stehen derzeit folgende molekulargenetische Verfahren zur Verfügung, die von der ÖGLMKC und der ÖQUASTA wie folgt beurteilt werden:

- 1) **Auffälligkeiten in der konventionellen SARS-CoV-2 PCR** wie ein S-Target-Verlust sind nicht geeignet, um eine VOC zu diagnostizieren. Ein S-Target-Verlust wurde insbesondere für den TaqPath™ COVID-19 Combo Kit diagnostic assay (Thermo Fisher) in Zusammenhang mit einer Deletion der Positionen 21765-21770 (HV 69-70) beschrieben. Diese Deletion findet sich bei B.1.1.7, jedoch häufig auch bei anderen SARS-CoV-2 Varianten, die zumindest derzeit nicht zu den VOC gehören. Die entsprechenden Assays sind typischerweise nicht für die Identifikation von VOC validiert und zugelassen. Aus solchen Auffälligkeiten in der konventionellen SARS-CoV-2 PCR ergibt sich daher nur ein Verdacht auf das Vorliegen einer Variante (siehe unten), jedoch nicht der Nachweis einer VOC.
- 2) **Mutationsspezifische PCRs** weisen die charakteristischen genetischen Veränderung der VOCs nach. Aus dem Muster der genetischen Veränderungen kann die VOC mit hoher Wahrscheinlichkeit identifiziert werden (Tabelle 1). Mehrere Hersteller bieten mittlerweile entsprechende PCR Assays an, die spezifische für diese Fragestellung validiert und zugelassen sind und für die entsprechende Leistungsdaten für die Diagnose einer SARS-CoV-2 VOC vorliegen. Aktuell wird zur Identifikation von VOC in Österreich empfohlen alle Proben zumindest auf die Mutationen N501Y und E484K zu untersuchen. Zur weiteren Charakterisierung sollen die Mutationen K417N, V1176F und Deletion 69/70 herangezogen werden (Tabelle 1), wobei ein Algorithmus je nach regionaler epidemiologischer Lage zur Anwendung kommen kann (siehe auch Hinweise zur Testung

VORSTAND:

G. Mustafa
(Präsident)

A. Haushofer
(Past Präsident)

Th. Szekeres
(Vizepräsident)
(ärztl. Standespolitik)

G. Hörmann
(Vereinsmanager)

A. Perné
(Vereinsmanager-Stellvertreter)

G. Greiner
(Finanzreferent)

E. Einwallner
(Finanzreferent-Stellvertreter)

G. Baumann
(Ausbildung)

M. Exner
(Industriekontakte)

A. Griesmacher
(Qualitätssicherung &
Standardisierung)

H. Kessler
(internat. Beziehungen)

J. Perné
(Organisationsstrukturen)

G. Schobesberger
(Kammerpolitik/niedergel.Ä.)

O. Wagner
(Wissensch. & Forschung)

von Patienten auf Infektion mit dem neuartigen Coronavirus SARS-CoV-2 des Robert Koch Instituts). Eine isolierte Untersuchung auf Deletion 69/70 wird nicht empfohlen. Aufgrund der dynamischen Entwicklung der epidemischen Lage kann eine Anpassung der Variantenpanels bzw. der Empfehlungen zur Sequenzierung notwendig werden (siehe unten).

SARS-CoV-2 Variante	N501Y	E484K	Del69/70 §	K417N	V1176F	Y453F *
B1.1.7 UK (Britische VOC)	+	- #	+	-	-	-
B1.351 ZA (Südafrikanische VOC)	+	+	-	+	-	-
B.1.1.28 (Brasilianische VOC)	+	+	-	-	+	-
DK mink ClusterV *	-	-	+	-	-	+

Tabelle 1. Genetische Veränderungen der wesentlichen VOC. * Routinemäßiges Screening wird nicht empfohlen. § In einigen PCR Systemen mit S-Target-Verlust assoziiert (typisch bei TaqPath™ COVID-19 Combo Kit diagnostic assay (Thermo Fisher)). Eine isolierte Untersuchung auf Deletion 69/70 wird nicht empfohlen. Sollte eine Deletion 69/70 ohne N501Y detektiert werden, ist dies nicht direkt als VOC zu werten. Auf eine mit dieser Konstellation kompatible DK mink ClusterV Variante kann nur geschlossen werden, wenn auch die Y453F Mutation vorliegt. # Vereinzelt Fälle, die diese Veränderung zusätzlich tragen, wurden in Großbritannien beschrieben.

Die einfache Suche nach den derzeit relevanten VOC kann daher durch geeignete, qualitätsgeprüfte mutationspezifische PCRs mit hinreichender diagnostischer Sicherheit erfolgen. Der Nachweis einer eindeutigen Mutationskonstellation bedarf in der Regel keiner Bestätigung durch eine weitere Sequenzierung. Aus praktischer Sicht ist der wesentliche Unterschied zu den Sequenzierverfahren, dass mutationspezifische PCRs mit einer Turn-Around-Time von wenigen Stunden durchführbar sind, das Ergebnis daher typischerweise tagesaktuell vorliegt und eine unmittelbare Reaktion bei zeitkritischen Fragestellungen möglich ist. Darüber hinaus kann bei Proben mit niedriger Viruslast die Sequenzierung nicht immer erfolgreich durchgeführt werden.

- 3) **Sequenzierverfahren (Teil- oder Ganz-Genom-Sequenzierung)** lesen die gesamte Sequenz des S-Gens bzw. aller Gene von SARS-CoV-2 aus. Das Virus kann damit eindeutig einem phylogenetischen Stamm zugeordnet werden. Sequenzierverfahren sind daher der Goldstandard für die zweifelsfrei Zuordnung von Virusvarianten in unklaren Fällen und für die Identifikation von neuen, bisher unbekanntem Varianten. Sequenzierverfahren eignen sich jedoch aufgrund ihrer Turn-Around-Time von mehreren Tagen bis zu einer Woche nicht für eine zeitkritische VOC Identifikation. Für die einfache Identifikation der bekannten VOC sind Sequenzierverfahren nicht notwendig, diese kann bereits durch geeignete, qualitätsgeprüfte mutationspezifische PCRs erfolgen (siehe Punkt 2). Dennoch ist es unerlässlich, die SARS-CoV-2 Sequenzierung in Österreich routinemäßig einzusetzen. Die wichtigsten Anwendungsgebiete von SARS-CoV-2 Sequenzierung aus Sicht der ÖGLMKC und ÖQUASTA sind:
 - Regelmäßige Untersuchung einer geeigneten Stichprobe aller SARS-CoV-2 Neuinfektionen (unabhängig vom konkreten VOC-Verdacht) zur Surveillance und Identifikation neuer Varianten

- Qualitätssicherung von mutationsspezifischen PCRs im Rahmen von Ringversuchen und anderen Verfahren der externen Qualitätskontrolle
- Erweiterte Abklärung von Proben mit Verdacht auf eine Virusvariante ohne entsprechende Identifikation der Variante in mutationsspezifischen PCRs, wie zum Beispiel:
 - Ungewöhnliche Kombinationen von genetischen Veränderungen in den mutationsspezifischen PCRs
 - Auffällige Muster / Schmelzkurven in den mutationsspezifischen PCRs, welche nicht der typischen Mutation entsprechen
 - Target-Gen-Verlust oder auffällige Diskrepanz in den CT-Werten der Targets bei der konventionellen SARS-CoV-2 PCR ohne entsprechendes Korrelat in den mutationsspezifischen PCRs
 - Klinischer Verdacht auf Infektion mit einer neuen VOC ohne entsprechendes Korrelat in den mutationsspezifischen PCRs (wie zum Beispiel Infektion von Personen mit komplettem Impfschutz oder zeitnahe Re-Infektion)
 - Epidemiologischer Verdacht auf Infektion mit einer neuen VOC, welche bislang nicht in den mutationsspezifischen PCRs abgedeckt ist

ÖGLMKC und ÖQUASTA empfehlen folgende Vorgangsweise zum effizienten Nachweis von VOC: Dezentrale Untersuchung aller Proben mit erstmalig positivem SARS-CoV-2 PCR-Befund (oder Reinfektion) mittels geeigneter, qualitätsgeprüfter mutationsspezifischer PCRs innerhalb von 24 Stunden (siehe Punkt 2). Damit können die wichtigsten aktuell bekannten VOC zeitnah identifiziert werden. Das Ergebnis ist strukturiert (und automatisiert) im EMS zu erfassen; die derzeit verwendete Maske mit Freitexteingabe ist hierfür nicht geeignet. Ebenso ist eine unmittelbare, strukturierte und allgemein verständliche Meldung an die Landessanitätsbehörden erforderlich. Der PCR-basierte Nachweis dieser VOC nach oben genannten Kriterien ist hinreichend, um ein intensiviertes Contact-Tracing und ggf. weiterführende Maßnahmen zu rechtfertigen, das Abwarten einer Bestätigungsanalyse durch Sequenzierverfahren ist hierfür typischerweise nicht erforderlich. In der Grundaussage folgt die Empfehlung der ÖGLMKC damit der Vorgangsweise des Schweizerischen Bundesamts für Gesundheit (BAG). Zusätzlich und unabhängig davon soll die SARS-CoV-2 Sequenzierung zur Surveillance, zur Qualitätskontrolle und bei Verdacht auf neue Virusvarianten zum Einsatz kommen (siehe Punkt 3).