

Analyse von Mutationen des SARS-CoV-2-Virus (Stand 22.02.2021)

Bei zunehmender Verbreitung von SARS-CoV-2 ist die schnelle Erkennung solcher Virus-Varianten von Bedeutung, deren Mutationen möglicherweise ein zusätzliches Risiko darstellen. Die Detektion von typischen Marker-Mutationen mittels PCR und Sequenzierungen bieten die Möglichkeit, Hinweise auf aktuell zirkulierende Viruslinien zu erhalten und neue Virus-Varianten nachzuweisen.

1. PCR-Assays zur Detektion von Marker-Mutationen

Zur schnellen Erfassung der Verbreitung bereits bekannter, unter Beobachtung stehender Virus-Linien (*Variants Of Concern*) wie die englische, südafrikanische oder die brasilianische Variante, eignet sich die Analyse auf hierfür typische Marker-Mutationen mittels PCR.

Ausgehend von einer positiv auf SARS-CoV-2 getesteten Probe wird eine „Screening“-PCR zum Nachweis der Mutation N501Y im Gen für das Spike Protein durchgeführt. Diese Marker-Mutation kommt bei allen drei genannten Varianten vor. Sollte N501Y nachgewiesen werden, erfolgt in zusätzlichen PCR-Untersuchungen die Detektion weiterer Marker-Mutationen als Hinweis auf die englische Variante B.1.1.7 oder für die südafrikanische Variante B.1.351 oder die brasilianische Variante B.1.1.28 P.1. Die endgültige Bestätigung der Viruslinie müsste dann mittels Sequenzierung erfolgen. Voraussetzung für die Mutations-Detektion ist eine ausreichende Menge an RNA, so dass stark positive Proben besser geeignet sind.

Nach Vorliegen eines positiven Testergebnisses der SARS-CoV-2-PCR kann die Detektion von Marker-Mutationen gezielt vom ursprünglichen Einsender bzw. von der ursprünglich beauftragenden Einrichtung nachgefordert werden. Die Leistung ist durch die Coronavirus-Testverordnung (TestV) abgedeckt, sofern die Untersuchung im Rahmen der §§2-4 TestV oder einer Krankenbehandlung erfolgt.

2. Sequenzierung des Virusgenoms

Die Sequenzierung des SARS-CoV-2-Virusgenoms für die routinemäßige Coronavirus-Surveillance gemäß CorSurV zur Überwachung bereits bekannter Mutationen sowie ggf. weiterer, neuer Virus-Varianten ist bei uns im Labor seit der 4. KW 2021 etabliert.

Neben der Genomanalyse von bis zu 5% (bzw. 10%) zufällig ausgewählter, positiver Corona-PCR-Proben unseres Labors im Rahmen der *Integrierten Molekularen Surveillance* (IMS), kann gemäß *Corona-Surveillanceverordnung* (CorSurV) eine Sequenzierung auch auf Anforderung bei begründeten Verdacht auf Vorliegen einer neuen Variante von SARS-CoV-2 (u.a. bei Nachweis der N501Y-Mutation durch PCR, Reinfektion, ungewöhnlichem Krankheitsverlauf etc.) als sogenannte *Variant of Concern* (VOC) vorgenommen werden. In diesem Fall wird dann die Anzahl der zufällig ausgewählten Proben für die Surveillance entsprechend reduziert.

Darüber hinaus verfügen wir über ausreichend Kapazitäten, so dass Labore mit eigener SARS-CoV-2-PCR-Diagnostik ihre jeweilige 5% bzw. 10%-Zufallsstichprobe im Rahmen der IMS nach Absprache an uns zur Genomanalyse übersenden können. Dabei sind die aktuellen [Vorgaben des RKI](#) zu beachten. Die einsendenden Labore erhalten bei erfolgreicher Sequenzierung in der Regel innerhalb von 7-10 Tagen Befunde mit den ermittelten Viruslinien gemäß Pango-Nomenklatur [1]. Außerdem werden die Sequenzdaten von uns an den Deutschen Elektronischen Sequenzdaten-Hub (DESH) des RKI übermittelt. An die zuständigen Gesundheitsämter erfolgt eine Meldung via DEMIS.

Vor Probeneinsendung zur Vollgenomsequenzierung ist eine Absprache zwischen den Laboren zur Probenlogistik und Übermittlung der Metadaten zu den Proben zwingend notwendig.

Literatur:

- [1] A. Rambaut, E.C. Holmes, Á. O'Toole, V. Hill, J.T. McCrone, C. Ruis, L. du Plessis, O.G. Pybus, A dynamic nomenclature proposal for SARS-CoV-2 lineages to assist genomic epidemiology, *Nat. Microbiol.* 5 (2020) 1403–1407. <https://doi.org/10.1038/s41564-020-0770-5>.