



INFOBRIEF 53 (22.01.2021, AKTUALISIERT 14.06.2021) FÜR
GESUNDHEITSÄMTER

Genomsequenzierung von SARS-CoV-2-positiven Proben bei Verdacht auf das Vorliegen einer *Variant of Concern (VOC)*

Änderungshistorie

22.01.2021	Erstmaliger Versand und Veröffentlichung auf Webseite
15.02.2021	Ergänzung um Hinweise zur Erfassung in der Software im Gesundheitsamt am Beispiel SurvNet@RKI-Version 0.9.33
19.04.2021	Auswahlkriterien für Proben für Gesamtgenomsequenzierung angepasst; Ergänzung um Hinweise zur Erfassung in der Software im Gesundheitsamt am Beispiel SurvNet@RKI-Version 0.9.34
18.05.2021	Ergänzung der Erfassung von B.1.617 (und Subvarianten B.1.617.1, B.1.617.2, B.1.617.3) als VOC am Beispiel SurvNet@RKI-Version 0.9.35
14.06.2021	Umgang mit der neuen WHO-Nomenklatur für VOC und Ergänzung der Erfassung von B.1.617.2 als VOC am Beispiel SurvNet@RKI-Version 0.9.35

Hintergrund

Die Verbreitung von SARS-CoV-2 und die aktuelle Dynamik der Pandemie sowie das Auftreten neuer Virusvarianten mit gesteigerter Übertragbarkeit, wie z.B. B.1.1.7 oder B.1.351, verdeutlichen die Notwendigkeit einer zeitnahen Analyse der zirkulierenden Virusstämme. Nur durch umfangreichere Genomsequenzierungen verbunden mit der epidemiologischen Analyse der Daten können neue Virusvarianten detektiert, Veränderungen hinsichtlich ihres Transmissionsverhaltens und der Schwere der durch sie verursachten Erkrankungen und der Krankheitslast gemessen und ggf. zielgerichtete Maßnahmen ergriffen werden.

Um die molekulare Surveillance in Deutschland auszubauen und die Anzahl der Genomsequenzierungen von Coronaviren zu erhöhen, wird im Rahmen der [Coronavirus-Surveillanceverordnung \(CorSurV\)](#) die Sequenzierung von Erregergenomen unterstützt. Die CorSurV zielt darauf ab, dass in Deutschland ca. 5% der positiv getesteten Proben sequenziert werden. Bei weniger als 70.000 Neuinfektionen in ganz Deutschland pro Woche erhöht sich dieser Anteil auf 10%.

Neben zufällig für die Sequenzierung ausgewählten Proben wird empfohlen, dass auch Proben, bei denen Hinweise auf Besonderheiten, wie beispielsweise eine neue Variante, Impfdurchbrüche, Varianten unter Beobachtung, sogenannte *Variant of Interest (VOI)* oder besorgniserregende Virusvarianten, sogenannte *Variants of Concern (VOC)*, weiterführend in Laboren der Spezialdiagnostik mittels Genomsequenzierung untersucht werden.

Am 31.05.2021 stellte die Weltgesundheitsorganisation (WHO) eine zusätzliche Nomenklatur für Virusvarianten von SARS-CoV-2 vor: <https://www.who.int/en/activities/tracking-SARS-CoV-2-variants/>. Danach sollen **Varianten, die nach WHO als VOC oder VOI gelten**, nach **Buchstaben des griechischen Alphabets** benannt werden.

Zum einen soll dies die Kommunikation erleichtern, da die griechischen Buchstaben leichter auszusprechen und weniger anfällig für Verwechslungen sind als die aus Buchstaben und Zahlen bestehenden wissenschaftlichen Bezeichnungen. Zum anderen soll vermieden werden, dass Virusvarianten nach dem Land des ersten Nachweises benannt werden, was Stigmatisierung und Diskriminierung nach sich ziehen kann.

Diese neuen Bezeichnungen ersetzen nicht die etablierten wissenschaftlichen Bezeichnungen [z.B. gemäß der Pangolinnomenklaturen (z.B. B.1.1.7)], die wichtige wissenschaftliche Informationen vermitteln und weiterhin für den fachlichen Austausch und die fachöffentliche Kommunikation genutzt werden.

Die Übermittlung der Variantenlinien soll durch die Labore an die Gesundheitsämter und damit auch im Meldesystem weiterhin in Pangolinnomenklatur erfolgen.

In Deutschland werden im Moment die Varianten B.1.1.7 (Alpha), B.1.351 (Beta), P.1 (Gamma) und B.1.617.2 (Delta) als *VOC* eingestuft. Als *VOI* klassifiziert die WHO eine Variante, die eine Phänotypänderung aufweist und mehrere Fallcluster oder Fälle in verschiedenen Ländern verursacht hat. Eine Übersicht ist unter <https://www.rki.de/covid-19> abrufbar.

Pangolin	WHO (NEU)	Erstmalig nachgewiesen	Hinweisende Aminosäureaustausche im Spike Protein
B.1.1.7	<i>Alpha</i>	Sep 20	del69/70, del144, N501Y, A570D, D614G, P681H, T716I, S982A, D1118H
B.1.351	<i>Beta</i>	Mai 20	L18F, D80A, D215G, R246I, K417N, E484K, N501Y, D614G, A701V
P.1 alias B.1.1.28.1	<i>Gamma</i>	Nov 20	L18F, T20N, P26S, D138Y, R190S, K417T, E484K, N501Y, H655Y, T1027I, V1176F
B.1.617.2	<i>Delta</i>	Okt 20	T19R, del157-158, L452R, T478K, D614G, P681R, D950N

Auswahl von SARS-CoV-2-positiven Proben zur Sequenzierung

Bislang wurde empfohlen, Proben, bei denen der Verdacht auf das Vorliegen einer neuen besorgniserregenden Variante von SARS-CoV-2 (*Variant of Concern*) besteht, unabhängig von den zufällig ausgewählten Proben, zur Sequenzierung, Analyse und Befundung an kooperierende Einrichtungen und Labore der Spezialdiagnostik zu senden. Aufgrund der Häufigkeit der zuerst in Großbritannien detektierten VOC B.1.1.7 (Alpha) wird nicht mehr empfohlen, Proben, die auf das Vorliegen dieser VOC hinweisen (bspw. durch eine variantenspezifische PCR), für die Gesamtgenomsequenzierung einzusenden. Ausnahme sind Proben, die zusätzlich die Mutation E484K enthalten.

Indikatoren für das mögliche Vorliegen einer Variante, die für die Sequenzierung von Interesse ist

Die wichtigsten Indikatoren für das Vorliegen einer Virusvariante, für die eine weiterführende Untersuchung, insbesondere Sequenzierung, empfohlen wird, sind:

- **Laboregebnisse**, die auf Vorliegen der **VOC** (z.B. B.1.1.7+E484K, B.1.351, P.1 oder B.1.617.2) hindeuten oder auf Varianten unter Beobachtung, sogenannte *Variant of Interest (VOI)* (z.B. durch PCR-Nachweis variantenspezifischer Mutationen), sowie andere auffällige Ergebnisse oder Probleme beim labordiagnostischen Nachweis. In diesen Fällen sollte bereits das primärdiagnostizierende Labor die Sequenzierung empfehlen.
- Hinweise auf eine **Exposition** gegenüber Varianten von SARS-CoV-2, mit z.B. veränderter Übertragbarkeit, Immunantwort oder Krankheitsschwere. Diese können sein:
 - o Impfdurchbrüche (Erkrankungsfälle bei Geimpften)
 - o Verdacht auf Reinfektion (https://www.rki.de/DE/Content/InfAZ/N/Neuartiges_Coronavirus/Reinfektion.html)
 - o Reiseanamnese (Flugreisen, insbesondere aus Ländern mit hohem Infektionsgeschehen, insbesondere Risikogebiete oder Virusvariantengebiete) www.rki.de/covid-19-risikogebiete
 - o Aufklärung eines komplexen Infektionsgeschehens (z.B. mehrere mögliche Expositionen, unerwartete Altersgruppenbetroffenheit, unerwartete Übertragungsmodi oder -muster)
 - o ungewöhnliches Ausbruchsgeschehen (z.B. starke Zunahme der Fallzahlen innerhalb eines kurzen Zeitraums)
 - o unerwartete Krankheitsschwere oder unerwarteter klinischer Verlauf
 - o zoonotische Infektion

Beauftragung der Sequenzierung von SARS-CoV-2-positiven Proben mit Verdacht auf das Vorliegen einer *Variant of Concern (VOC)*

Besteht der Verdacht auf das Vorliegen einer *Variant of Concern (VOC)* außer B.1.1.7, kann die Genomsequenzierung durch das Gesundheitsamt beauftragt werden. Die Sequenzierung kann das primärdiagnostizierende Labor durchführen, sofern es über die notwendigen Voraussetzungen verfügt. Alternativ kann die Einsendung durch das primärdiagnostizierende Labor an eine kooperierende Einrichtung/ein Labor der Spezialdiagnostik erfolgen.

Die Vergütung sowohl der Transport- und Verpackungskosten beim primärdiagnostizierenden Labor, als auch die Kosten der Genomsequenzierung erfolgt im Rahmen der CorSurV gemäß §2 Abs. 1.

Durchführung der Sequenzierung und Übermittlung des Befundes sowie der IMS-ID (Typisierungs-ID)

Nach Auswahl der Probe, sollte das Gesundheitsamt über das primärdiagnostizierende Labor folgende Schritte anstoßen (sofern das primärdiagnostizierende Labor selbst die Sequenzierung durchführt, entfällt Schritt 2):

1. Das Gesundheitsamt beauftragt eine Sequenzierung beim primärdiagnostizierenden Labor.
2. Das primärdiagnostizierende Labor beauftragt ein kooperierendes Labor der Spezialdiagnostik mit der Sequenzierung. Das Probenmaterial und die Informationen (u.a. Indikatoren für Verdacht) für eine Meldung gemäß § 7 IfSG werden vom primärdiagnostizierenden Labor an das Labor der Spezialdiagnostik übermittelt.
3. Die Sequenzierung und Genomanalyse werden durchgeführt.
4. Die erzeugte Sequenz und die Information zu Indikatoren für den Verdacht werden vom Labor der Spezialdiagnostik auf die DESH-Plattform hochgeladen. Dafür erhält es eine IMS-ID von der DESH-Plattform. ([Deutscher Elektronischer Sequenzdaten-Hub](#))
5. Das sequenzierende Labor übermittelt den Befund der Typisierung (Variante/Linie) an das primärdiagnostizierende Labor und meldet über DEMIS die IMS-ID und die Informationen zur vorliegenden Variante an das zuständige Gesundheitsamt im Rahmen der gesetzlichen Labormeldung gemäß § 7 IfSG. Hinweise zur Labormeldung finden sich hier:
6. <https://wiki.gematik.de/display/DSKB/Meldung+von+SARS-CoV-2-Varianten+und+Mutationen+in+DEMIS>
7. Das Gesundheitsamt ergänzt die IMS-ID und die Angaben zur Virusvariante im COVID-19-Fall.
8. Der COVID-19-Fall wird an die zuständige Landesbehörde und an das RKI übermittelt.
9. Analyse und Bewertung im Rahmen der integrierten molekularen Surveillance am RKI und Bereitstellung der Informationen für den ÖGD.

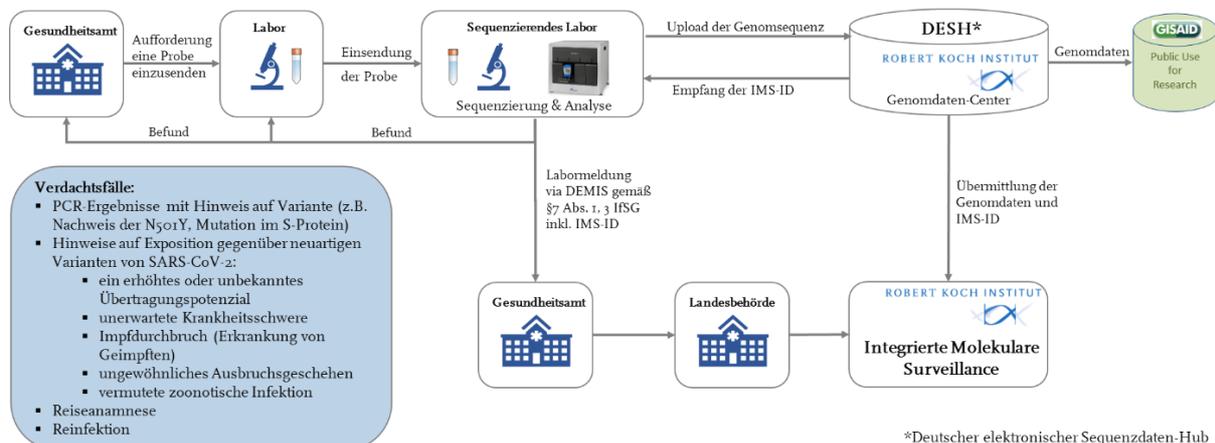


Abbildung 1: Ablauf der Einsendung von Verdachtsproben und Informationsübermittlung im Rahmen der Corona-Surveillanceverordnung (CorSurV).

Erfassung der Sequenzergebnisse in der Software

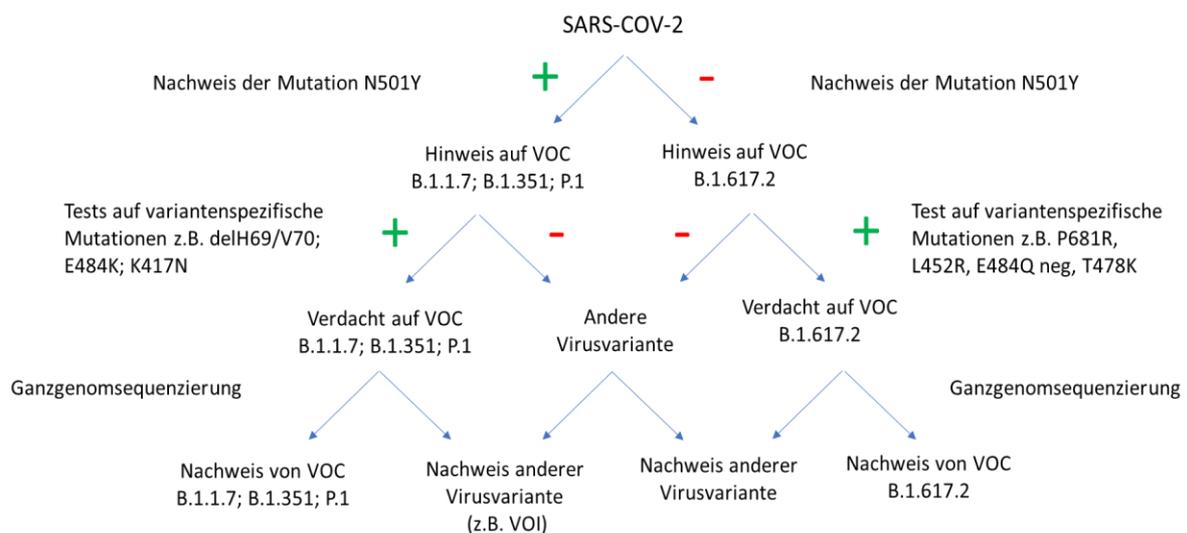
Informationen zur Virusvariante

Seit der SurvNet-Version 0.9.32 können Angaben zu Virusvarianten (insbesondere *Variants of Concern* (VOC)) erfasst werden. Mit Version 0.9.35 wird die Erfassung der Variante B.1.617 und deren Subvarianten B.1.617.1, B.1.617.2 und B.1.617.3 unter Virusvarianten ermöglicht. Von den Subvarianten wird seit 01.06.2021 nur B.1.617.2 als VOC und B.1.617.1 als VOI eingestuft.

Die Situation (Entwicklung und Erfassung) der VOC ist sehr dynamisch. Bislang kann durch sequenzielle Labordiagnostik ein Verdacht auf eine Virusvariante bestätigt werden. Mit der starken Verbreitung der VOC B.1.1.7 und dem Nichtvorhandensein der Mutation N501Y in den Subgruppen der Variante B.1.617 ist die Detektion der Mutation N501Y nicht hinreichend für den Hinweis auf eine VOC. Ihre Nicht-detektion ist somit nicht mehr gleichzusetzen mit dem Verdacht auf das Vorliegen einer anderen Variante als VOC. Nur der Nachweis variantenspezifischer Mutationen begründet den Verdacht auf das Vorliegen einer VOC (oder VOI).

Der Nachweis auf B.1.617.2 lässt sich noch nicht von allen Laboren mittels Punktmutationsanalyse/PCR ermitteln. Die unspezifische Bestimmung von B.1.617 wird als Verdacht auf B.1.617.2 gewertet und sollte durch Sequenzierung bestätigt werden.

- Mit dem Nachweis der Mutation N501Y kann ein Hinweis auf eine VOC der Gruppe B.1.1.7, B.1.351 oder P.1 vorliegen, das Fehlen der Mutation kann ein Hinweis auf das Vorliegen auf die VOC B.1.617.2 sein.
- Erst nach Testung auf verschiedene variantenspezifische Mutationen (z.B. Nachweis, Abwesenheit von delH69/V70, E484K, K417N, T478K) liegt ein labordiagnostischer Verdacht auf eine VOC (z.B. B.1.1.7, B.1.351, B.1.617.2) vor. Die Befundung (Linienangabe (+Mutationen)) sollte durch die Labore erfolgen.
- Eine „andere/sonstige“ Variante liegt vor, wenn die Testung auf verschiedene variantenspezifische Mutationen keinen Verdacht auf VOC ergibt. Diese muss von den meldenden Laboren entsprechend angegeben werden.
- Erst mit der Gesamtgenomsequenzierung liegt ein Nachweis für eine Virusvariante vor.



Es kann zwischen den derzeit als VOC eingestufteten Varianten B.1.1.7, B.1.351, P.1 und B.1.617.2 ausgewählt werden. Für B.1.617 sowie deren weitere Varianten B.1.617.1 und B.1.617.3, besteht ebenfalls die Möglichkeit diese anzugeben, um zwischen diesen und der VOC B.1.617.2 zu differenzieren. Sollte eine andere Virusvariante als eine der gelisteten VOC nachgewiesen werden, dann sollte „andere/sonstige“ ausgewählt und im Feld Details die Virusvariante mit [Pangolin](#)-Nomenklatur eingetragen werden (analog zu den Bezeichnungen der Virusvarianten B.1.1.7 usw.). Soweit die Angaben zu den Virusvarianten von den Laboren korrekt gemeldet werden, können sie automatisiert in den Fall übernommen werden.

Es werden nur die positiven Nachweismethoden angekreuzt. Liegt lediglich die Laborinformation zum positiven Nachweis der **Mutation N501Y** vor, wird das Häkchen bei Nukleinsäurenachweis (z.B. PCR) sowie im untergeordneten Feld „Nachweis von N501Y“ gesetzt. Weitere Angaben zur Virusvariante erfolgen nicht.

Um unterscheiden zu können, ob die Ergebnisse auf dem Nachweis einer variantenspezifischen Mutation oder einer Genomsequenzierung beruhen, sollte im Fall eines positiven Nachweises einer **variantenspezifischen Mutation** (z.B. delH69/V70, E484K) das Häkchen bei Nukleinsäurenachweis (z.B. PCR) sowie im untergeordneten Feld „Nachweis variantenspezifische Mutation(en)“ gesetzt werden. Unter „Virusvariante“ kann die entsprechende VOC ausgewählt werden (Abbildung 2). Wenn der Befund die Information auf einen Verdacht auf eine Variante aufgrund neuer nicht-PCR-Labormethoden enthält, sollte auch „Nachweis variantenspezifische Mutation(en)“ ausgewählt werden und die entsprechende VOC unter Virusvariante ausgewählt werden. Wird ein Verdacht auf B.1.1.7 vom Labor aufgrund von Ausschlusskriterien nach der Durchführung Variantenspezifischer PCRs gemeldet, so wird ein Häkchen bei „Nachweis variantenspezifische Mutation(en)“ gesetzt und B.1.1.7 als Virusvariante ausgewählt.

Eine VOC darf nicht im Virusvariantenfeld ausgewählt werden, wenn lediglich der Nachweis der Mutation N501Y erfolgt ist. Wenn die Tests auf variantenspezifische Mutationen für alle bekannten VOC negativ ausgefallen sind, so liegt eine **andere Variante, also „keine VOC“** vor. Dies sollte so von den meldenden Laboren explizit gemeldet werden. Virusvariante kann auf „andere/sonstige“ gesetzt werden. Weitere Angaben sind nicht zu machen (Abbildung 3).

Im Falle einer **Genomsequenzierung** wird unter Labormethoden „Gesamtgenomsequenzierung“ ausgewählt und zusätzlich die IMS-ID (Feld: Typisierungs-ID) angegeben. Unter Virusvariante kann die VOC-Linie ausgewählt werden (Abbildung 4) oder beim Nachweis einer anderen Variante als VOC „andere/sonstige“ ausgewählt und die Linie in Pangolin-Nomenklatur unter Details eingetragen werden (Abbildung 5). Das Ergebnis der Genomsequenzierung ist final, ggf. müssen bereits erfolgte Eintragungen überschrieben werden.

Die Auswahlmöglichkeit „keine VOC“ ist seit der SurvNet-Version 0.9.34 nicht mehr auswählbar. Es erfolgt nur noch die Eingabe der VOC (internationale Definition/Einstufung) oder „andere/sonstige“. Bei der Eingabe „andere/sonstige“ ist impliziert, dass es sich nicht um eine VOC handelt.

Zusätzlich zu VOC gibt es auch Varianten unter Beobachtung (Variant of Interest, VOI). Diese werden in SurvNet nicht explizit erfasst. Die Einstufung einer Variante als VOI kann stark fluktuieren. Für VOC charakteristische Mutationen können auch in VOI auftreten, die Gesamtgruppe der Mutationen ist jedoch von denen der als VOC eingestufteten Varianten abweichend. VOI werden unter „andere/sonstige“ erfasst.

Informationen zum labordiagnostischen Nachweis

Laborangaben verfügbar: Ja

Labormethoden: Antigennachweis
 Erregerisolierung (kulturell)
 Nukleinsäure-Nachweis (z.B. PCR)
 Nachweis von N501Y
 Nachweis variantenspezifische Mutation(en)
 Gesamtgenomsequenzierung

Virusvariante:

Typisierungs-ID (Molekulare Surveillance):

Informationen zum Serostatus bekannt:

Serostat

Bei Reinfektion Verweis zum ersten Fall:

Abbildung 2: Eingabe von Verdacht auf VOC nach variantenspezifischer PCR

Informationen zum labordiagnostischen Nachweis

Laborangaben verfügbar: Ja

Labormethoden: Antigennachweis
 Erregerisolierung (kulturell)
 Nukleinsäure-Nachweis (z.B. PCR)
 Nachweis von N501Y
 Nachweis variantenspezifische Mutation(en)
 Gesamtgenomsequenzierung

Virusvariante:
 Details:

Typisierungs-ID (Molekulare Surveillance):

Informationen zum Serostatus bekannt:

Serostatus: -keine Einträge vorhanden-

Reinfektion

Bei Reinfektion Verweis zum ersten Fall:

Abbildung 3: Eingabe für andere Varianten als VOC, wenn spezifische PCR-Untersuchungen negativ waren.

Informationen zum labordiagnostischen Nachweis

Laborangaben verfügbar: Ja

Labormethoden: Antigennachweis
 Erregerisolierung (kulturell)
 Nukleinsäure-Nachweis (z.B. PCR)
 Nachweis von N501Y
 Nachweis variantenspezifische Mutation(en)
 Gesamtgenomsequenzierung

Virusvariante:

Typisierungs-ID (Molekulare Surveillance):

Abbildung 4: Eingabe von Nachweis von VOC nach Genomsequenzierung

Informationen zum labordiagnostischen Nachweis

Laborangaben verfügbar: Ja

Labormethoden: Antigennachweis
 Erregerisolierung (kulturell)
 Nukleinsäure-Nachweis (z.B. PCR)
 Nachweis von N501Y
 Nachweis variantenspezifische Mutation(en)
 Gesamtgenomsequenzierung

Virusvariante:
 Details:

Typisierungs-ID (Molekulare Surveillance):

Informationen zum Serostatus bekannt:

Serostatus: -keine Einträge vorhanden-

Abbildung 5: Eingabe von Nachweis einer anderen Variante als VOC nach Genomsequenzierung

IMS-ID (Typisierungs-ID)

Nur die IMS-ID ermöglicht, dass die an die zuständigen Landesbehörden und das RKI übermittelten Fälle mit den zugehörigen Genomsequenzen verknüpft werden können. Dadurch können z.B. Ausbruchsgeschehen oder Virusimporte aus dem Ausland entdeckt werden.

Die IMS-ID muss im Feld Typisierungs-ID (Molekulare Surveillance) eingetragen werden (siehe Abbildung 3). Die IMS-ID setzt sich aus der folgenden Zeichenfolge zusammen:

"IMS-12345-CVDP-XXXXXXXX-XXXX-XXXX-XXXX-XXXXXXXXXXXXX "

- IMS: fester Präfix
- 12345: Labor-ID des sequenzierenden Labors, wie sie auch bei DEMIS verwendet wird
- CVDP: 4-stelliges DEMIS-Kürzel - Meldetatbestand (für COVID-19), später auch ggf. andere Erreger
- XXXXXXXX-XXXX-XXXX-XXXX-XXXXXXXXXXXXX: automatisch vom DESH-System generierte Zeichenfolge mit ASCII-Zeichensatz und dem Muster 8-4-4-4-12

Die IMS-ID ist auf den über DEMIS empfangenen Meldungen vorhanden und kann beim Anlegen eines Falls automatisiert aus der Meldung übernommen werden. Sollte die IMS-ID nicht elektronisch gemeldet worden sein, muss sie manuell im Fall nachgetragen werden.

Hinweis: Die IMS-ID muss immer eingegeben werden, auch wenn keine besorgniserregende Virusvariante (VOC) vorliegt. Sie dient der Zusammenführung von epidemiologischen Informationen und Typisierungsergebnissen und ermöglicht darüber neben der Zuordnung von VOC auch die Erkennung von Infektionsketten und Ausbrüchen, auch wenn keine VOC vorliegt. Für die Zusammenführung ist es wichtig, dass die IMS-ID immer vollständig und korrekt eingegeben wird.

Eingabe in Softwareprodukten, bei denen die Felder für die IMS-ID und Angaben zu Mutationen und Virusvarianten nicht verfügbar sind

Es sollte stets die aktuellste Softwareversion genutzt werden. Sollte es keine eigenen Felder für die IMS-ID und die Angaben zu Mutationen und Virusvarianten geben, sollten die Informationen im Kommentar eingegeben werden. Die Kommentarfelder sollten folgendermaßen strukturiert sein:

- Betreff: Virusvariante
Text: Virusvariante: VOC [Pangolin-Nomenklatur (s.o.)] (z.B. B.1.1.7); Methode [Seq oder PCR]; nachgewiesene Mutationen: [(z.B. N501Y, E484K, delH69/V70)] oder bei Sequenzierung IMS-ID: [IMS-5-stellige Laborkennung-CVDP- *hash-Wert* (s.o.)]

Beispieltext:

- Virusvariante: VOC B.1.1.7; Methode Seq; IMS-ID: IMS-12345-CVDP-616FAIFB-9B9L-4E7K-9486-640RE28C2358
- Virusvariante: VOC B.1.1.7; Methode PCR; Mutationen: N501Y, delH69/V70
- Virusvariante: andere; B.1.525; Methode Seq; IMS-ID: IMS-12345-CVDP-616FAIFB-9B9L-4E7K-9486-640RE28C2358
- Virusvariante: andere; Methode PCR; keine Mutationen

Bzw. wenn lediglich der Nachweis der Mutation N501Y erfolgt ist:

- Betreff: Mutation
Text: Mutation: [N501Y]