

Strategie zur Virusvariantensurveillance

01.12.2021

Allgemeines

Im Allgemeinen ist zu unterscheiden zwischen der **selektiven Surveillance** von bekannten Virusvarianten und der **Sentinel-Surveillance**.

Selektive Surveillance

- Grundlage stellt die Testung SARS-CoV-2 positiver Proben mittels spezieller PCR-Untersuchungen auf Mutationen, die Hinweise auf Virusvarianten liefern können (z.B.: N501Y, HV69-70del), dar.
- Ziel ist
 - das rechtzeitige Auffinden von bereits bekannten Virusvarianten, die gegebenenfalls eine gesonderte behördliche Vorgehensweise erfordern (z.B.: **Variants Of Concern; VOC**),
 - die verlässliche Einschätzung der Verbreitung von neuen SARS-CoV-2 Varianten nach Zeit und Ort, u.a. auch für Prognosemodelle,
 - eine vertiefte Abklärung von Transmissionsketten.
- Vorgehen bei Vorliegen von Mutation(en):
 - a) Bei PCR-basiertem Nachweis von Kombinationen von Mutationen bzw. Wildtyp, die hinweisend auf eine VOC sind, ist eine Sequenzierung angebracht; bei gehäuftem Auftreten dieser VOC ist eine Sequenzierung im Regelfall nicht mehr notwendig
 - b) Teil- oder Ganzgenomsequenzierung (inkludiert auch Sanger-Sequenzierung):
 - i) Zentral über die AGES und die Institute CeMM und IMBA
 - ii) Gegebenenfalls dezentral in bestimmten Laboren in den Bundesländern; Methode soll durch das CeMM validiert werden.

In regelmäßigen Abständen werden die behördlichen Vorgaben zur detaillierten Vorgehensweise in der selektiven Surveillance an die infektionsepidemiologische Lage strategisch angepasst.

Sentinel-Surveillance

- Ziel ist die Überwachung von SARS-CoV-2, um deren zirkulierenden Varianten, die von epidemiologischer und medizinischer Relevanz sind oder werden könnten, verlässlich zu detektieren. Die operativen Komponenten des Sentinel-Surveillance-Systems sind repräsentativ bundesweit verteilte Laboratorien, die von der AGES zu **Sentinel-Laboratorien ernannt sind**.
- Es ist eine ausreichend große Stichprobe von SARS-CoV-2 positiven PCR-Proben wöchentlich in einer Größenordnung wie von ECDC vorgegeben (nach ECDC für ein Detektions-Niveau von 2,5%) zur Sequenzierung von den ernannten Sentinel-Laboratorien zur Verfügung zu stellen.
- Die Sequenzierung erfolgt in den Instituten CeMM/IMBA, die Proben werden durch die AGES aufbereitet und an die Institute übermittelt. Die Ergebnisse werden durch die AGES in das EMS in das Eingabefeld „SARS-CoV-2 Lineage“ eingepflegt.
- Die Sequenzierungsergebnisse sollen von den sequenzierenden Instituten in die **GISAID-Datenbank** eingemeldet werden. Diese stellt eine weltweite Wissenschaftsinitiative dar, die freien Zugang zu Genomdaten von Influenza- und SARS-CoV-2-Viren fördert, um den wissenschaftlichen Austausch zu ermöglichen.

Aktuelle Vorgaben

Variants of Concern (VOC) – besorgniserregende Varianten

- B.1.351 (Beta/ZA-Variante)
 - P.1 (Gamma/BR-Variante)
 - B.1.617.2 (Delta/IN-Variante)
 - B.1.1.529 (Omicron/ZA-BW-Variante)
-
- Möglichst viele SARS-CoV-2 positive PCR-Proben sollen **entsprechend den Kapazitäten der Labore** möglichst vor Ort zusätzlich mittels spezieller PCR-Testverfahren (= PCR-basierte Genotypisierung [vulgo: „Mutationscreening“, „Vorselektion“], welche auf eine der unten ausgewiesenen Varianten hinweisen (bzw. selbige bestätigen) untersucht werden. Dabei ist auf effizienten Einsatz der Mittel zu achten.
 - Aktuell sind folgende Mutationen verdächtig für besorgniserregende Varianten:

Tabelle 1: Mutationen mit Variantenverdacht

Mutationen mit Variantenverdacht
N501Y
E484K
L452R
P681R
T478K
HV69-70del
K417N
E484A
S371L/S373P

- Aufgrund der weitgehenden Ausbreitung der Delta-Variante, sowie der Einstufung der Omicron-Variante als VOC, ist es unverzichtbar auf Mutationen gemäß Tabelle 1 zu untersuchen.
- Je nach Teststrategie der Labore, soll der Testfokus jedenfalls auf die Unterscheidung der Delta- von der Omicron-Variante gelegt werden, wobei die Delta-Variante weiterhin identifiziert werden soll (Tabellen 2 und 3).
- Die Einpflege in das EMS erfolgt wie üblich betreffend die Ergebnisse der Mutations-PCR Analysen in das Feld-S-Gen Mutationen: z.B. N501Y, HV69-70del, K417N, und sofern schon einer der Omicron-Var-PCR-Assays etabliert E484A oder S371L/S373P.
- Sämtliche SARS-CoV-2 positive Proben, die sich durch die Mutations-spezifischen PCR-Testverfahren nicht eindeutig einer der unten angeführten Varianten (siehe Tabellen 2-4) zuordnen lassen, sollen der Teil- oder Ganzgenomsequenzierung unterzogen werden.
- Für die Teil- und Ganzgenomsequenzierung sind die Proben an die AGES mit den für die Rückverfolgung notwendigen Daten zu übermitteln.
- Nur bei nicht ausreichender Kapazität für die Teil- und Ganzgenomsequenzierungen seitens AGES/CeMM/IMBA sollen die SARS-CoV-2 positiven Proben auch von Laboratorien in den BL sequenziert werden. Qualitätssichernde Maßnahmen sind mit dem CeMM zu vereinbaren.
- Zusätzlich sollen Proben einer Sequenzierung zugeführt werden, wenn folgende Bedingungen vorliegen:
 - bestimmte Variantenfälle für molekular-epidemiologische Untersuchungen im Rahmen einer Cluster-/Ausbruchsabklärung
 - Impfdurchbrüche (Erkrankungsfälle bei Geimpften)
 - Verdacht auf Reinfektion
 - Reiseassoziation (v.a. Reiserückkehrer aus südlichem Afrika und anderen Gebieten, in denen sich die Omicron-Variante ausbreitet)
- Die PCR-Screeningmethoden und Sequenzierungsmethoden unterliegen einer Qualitätskontrolle (insbesondere Teilnahme an Ringversuchen); organisiert von der Referenzzentrale zusammen mit ÖQUASTA unter Beihilfe von AGES und CeMM.

Im Folgenden werden angeführt:

1. Die Kombinationen von Mutationen bzw. Wildtyp, durch die das Vorliegen einer international definierten Variante als bestätigt bzw. wahrscheinlich eingestuft werden soll.
2. Die Vorgabe hinsichtlich der Notwendigkeit einer Sequenzierung in Abhängigkeit des Vorliegens einer bestätigten/wahrscheinlichen VOC oder VOI.

Tabelle 2: Bestätigte Variants of Concern (VOC)

Aminosäurekombination	Bestätigte Variants of Concern (VOC)	Untersuchung mittels Sequenzierung
N501Y +E484K +K417N	Beta-Variante	Ja
N501Y +E484K +V1176F + K417T	Gamma-Variante	Ja
N501 + E484 + (L452R oder P681R oder T478K)	Delta-Variante	Nein
HV69-70del* + E484A oder K417N oder S371L/S373P	Omicron-Variante	Ja

*Aufgrund der benachbarten Mutation A67V kann es zu einem Schmelzkurven-Peak-Shift kommen.

Tabelle 3: Wahrscheinliche VOC

Aminosäurekombination	Wahrscheinliche VOC	Untersuchung mittels Sequenzierung
N501Y +E484K	Beta/Gamma/Omicron-Variante [#]	Ja*
HV69-70del [§]	Omicron-Variante	Ja
N501 + (L452R oder P681R oder T478K)	Delta-Variante	Nein

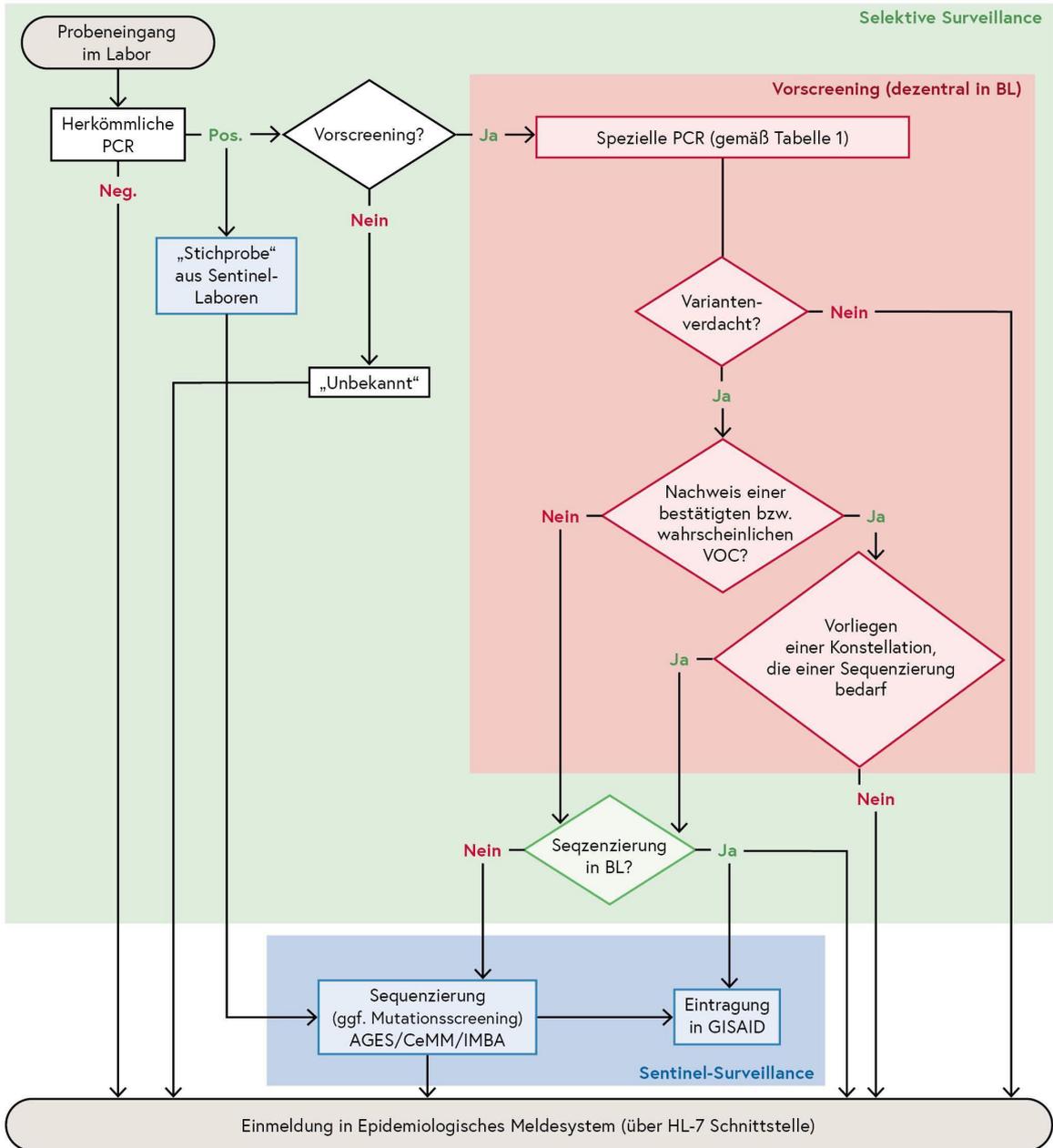
[#] Die Omicron-Variante weist die N501Y Mutation auf, allerdings wurden untypische Schmelzkurven (wie z.B. Peak-shift) bzw. PCR-„failure“, vermutlich aufgrund benachbarter Mutationen, bereits beschrieben. Des Weiteren liegt bei der Omicron-Variante keine E484K Mutation vor sondern eine E484A Mutation, aber eine Amplifikation mit Schmelzkurven-Peak-Shift kann sich in der Schmelzkurven-PCR-Analyse darstellen.

*Grundsätzlich ist eine weitere Differenzierung mittels PCR anzustreben.

[§] Aufgrund der benachbarten Mutation A67V kann es zu einem Schmelzkurven-Peak-Shift kommen.

Tabelle 4: Variants of Interest (VOI)

Aminosäurekombination	Variants of Interest (VOI)	Untersuchung mittels Sequenzierung
N501Y oder E484K, aber ohne VOC typisches Muster	B.1.621 (Mu)	Ja
N501, aber ohne Delta Muster	C.37 (Lambda)	Ja
Y145H oder A22V	AY.4.2	Ja





**Bundesministerium für
Soziales, Gesundheit, Pflege
und Konsumentenschutz**

Stubenring 1, 1010 Wien

+43 1 711 00-0

[sozialministerium.at](https://www.sozialministerium.at)