

# Laborfachinformation

Empfehlungen für eine rationale Diagnostik

## SARS-CoV-2 Diagnostik im Labor Dr. Fenner und Kollegen

Seit der Erstbeschreibung des neuartigen Coronavirus SARS-CoV-2 im Dezember 2019 hat sich die Labordiagnostik rasant entwickelt. Es stehen zahlreiche Tests und Methoden zum direkten und indirekten Erregernachweis zur Verfügung. Im Folgenden wird ein Überblick über die im Labor Dr. Fenner und Kollegen zur Verfügung stehenden Methoden gegeben.

### 1. Direkter Erregernachweis mittels PCR-Test

Zur Klärung des Verdachts auf eine Infektion mit dem SARS-CoV-2 gilt die RT-PCR als Goldstandard. Primär geeignetes Probenmaterial stammt aus den oberen Atemwegen (nasopharyngealer oder oropharyngealer Abstrich mit einem zum Virusnachweis geeigneten trockenen Tupfer) und wenn möglich und klinisch notwendig auch aus den tiefen Atemwegen (bronchoalveoläre Lavage, Trachealsekret). Nasopharyngeale Abstriche sind optimal, jedoch sind oropharyngeale Abstriche bei gleichwertiger bzw. etwas niedrigerer diagnostischer Sensitivität durch den Patienten leichter tolerierbar.

Für Rachenspülwasser wird eine ähnliche diagnostische Sensitivität wie für die Abstriche angenommen, jedoch sollte die Diagnostik stets in Absprache mit dem Labor erfolgen (spezielle Transportgefäße, Gefahr der Aerosolbildung).

Der Versand aller Proben muss als „Biologischer Stoff, Kategorie B“ UN-Nr. 3373 und nach Maßgabe der Verpackungsanweisung P650 erfolgen.

In unserem Labor stehen zwei verschiedene PCR Testsysteme zur Verfügung. Der Test der Firma Anchor Diagnostics weist spezifisch die S- und N-Genabschnitte des SARS-CoV-2 nach. Der Test der Firma Roche Diagnostics weist spezifisch das ORF1a/b-Gen von SARS-CoV-2 und das E-Gen aller Betacoronaviren nach.

Die ermittelten Ct-Werte positiver Patienten werden anhand eines quantifizierten Standards in Relation zu der Bezugsprobe (Zellkulturüberstand  $10^6$  Kopien/ml) vom RKI gesetzt.

Bei beiden durch uns verwendeten PCR-Testen ist nicht mit falsch-negativen PCR-Ergebnissen zu rechnen, falls es sich um eine der derzeit beschriebenen besorgniserregenden SARS-CoV-2-Varianten (Variants of concern, VOC) handelt:

Alpha (britische Variante B.1.1.7)

Beta (südafrikanische Variante B.1.351)

Gamma (brasilianische Variante B.1.1.28 P.1)

Delta (indische Variante B.1.617.2)

### 2. Direkter Erregernachweis mittels Antigentest

Antigenteste weisen virales Protein in respiratorischem Material nach. Die analytische Sensitivität liegt aufgrund des Testprinzips unterhalb der analytischen Sensitivität der als Referenzmethode geltenden RT-PCR. Diverse Point-of-Care Tests stehen zur Verfügung und können bei Erfüllung definierter Anforderungen eine sinnvolle Ergänzung der PCR-Testkapazitäten darstellen. In großen Laboratorien bleibt die RT-PCR Methode der Wahl zum direkten Erregernachweis, weshalb wir derzeit keinen Antigentest im Labor durchführen.

## SARS-CoV-2 Diagnostik im Labor Dr. Fenner und Kollegen

### 3. Indirekter Erregernachweis mittels Antikörpertest

In unserem Labor stehen verschiedene Antikörperteste zur Verfügung, welche je nach Fragestellung gezielt angefordert werden können. Das Untersuchungsmaterial ist Serum. Zu unterscheiden ist die Antikörperdiagnostik zum Nachweis einer frischen Infektion von der Antikörperdiagnostik zum Nachweis einer durchgemachten Infektion bzw. einer möglicherweise bestehenden Immunität.

In der Frühphase der Infektion ist der Antikörperrnachweis von untergeordneter Bedeutung. Hier gelten der Antigennachweis als Schnelltest vor Ort und die RT-PCR im Labor als Methoden der Wahl.

Die primäre Indikation einer Antikörpertestung ist die Frage nach einem stattgefundenen Erregerkontakt und möglicherweise bestehender Immunität.

Das immundominante Protein von SARS-CoV-2 ist das Nukleocapsidprotein (NCP). Der Nachweis von NCP-IgG-Antikörpern beantwortet somit die Frage, ob bereits eine Infektion stattgefunden hat. Das NCP liegt im Inneren des Virus. Die Antikörper haben daher keine direkte Schutzfunktion. IgG Antikörper gegen NCP beweisen jedoch indirekt eine abgelaufene Infektion.

Zum Nachweis einer Immunität können zusätzlich IgG-Antikörper gegen das Spikeprotein (S) bestimmt werden. Nicht alle Antikörper gegen S sind neutralisierend, aber alle neutralisierenden Antikörper richten sich gegen das S Antigen.

Die aktuell in der EU zugelassenen Impfstoffe (BioNtech, Moderna, AstraZeneca sowie Janssen-Cilag) induzieren ausschließlich S Antikörper. Entsprechend könnte bei vorliegender Indikation (z.B. immunsupprimierter Patient) mit dem Nachweis von S-IgG Antikörpern ein Impferfolg dokumentiert werden (analog zu anti-HBs-Antikörpern bei der Hepatitis-B-Impfung). NCP-IgG Antikörper dagegen zeigen die durchgemachte Infektion an (wie anti-HBc-Antikörper bei der Hepatitis B-Infektion). Patienten, die mit den chinesischen Ganzvirusimpfstoffen geimpft wurden, bilden S- und NCP-Antikörper.

Momentan bieten wir den semiquantitativen Anti-SARS-CoV-2 S1 IgG Test der Firma Euroimmun an. Mittlerweile stehen auch quantitative Assays zur Bestimmung von neutralisierenden Antikörpern, welche zum Beispiel gegen die RBD-Region des Spike Proteins binden, zur Verfügung. Ein solcher Assay wird derzeit eingeführt und steht in Kürze zur Verfügung.

### 4. Sequenzierung von SARS-CoV-2 und gezielte Mutationsanalyse

Die Sequenzierung der Erbinformation von SARS-CoV-2 ist von zunehmender Relevanz. Mit dieser Methode können Infektketten und die Verbreitung von Virus-Varianten überwacht werden (Molekulare Surveillance). Nach einem Referentenentwurf des Bundesgesundheitsministeriums sollen 5-10% (je nach Infektionslage) aller PCR positiven SARS-CoV-2-Proben einer Sequenzierung unterzogen werden.

Für die zuvor beschriebenen VOC steht die Analyse verschiedener Markermutationen als Stufendiagnostik unter der Anforderung „gezielte Mutationsanalyse“ zur Verfügung. Der positive Nachweis einzelner Markermutationen erlaubt einen starken Verdacht auf das Vorliegen der entsprechenden Variante, beweisend ist jedoch nur die Sequenzierung.

Eine Sequenzierung und /oder die gezielte Analyse der o.g. Markermutationen können im Falle eines positiven Befundes direkt angefordert werden bzw. als Nachforderung erfolgen. Zusätzliches Material wird nicht benötigt. Die Diagnostik erfolgt aus der uns bereits vorliegenden Probe.

# Laborfachinformation

Empfehlungen für eine rationale Diagnostik

## SARS-CoV-2 Diagnostik im Labor Dr. Fenner und Kollegen

Untersuchung	Indikation	Methode	Material	Dauer
SARS-CoV-2 RT-PCR	V.a. akute Infektion	RT-PCR	Abstrich, Rachen- spülwasser	24-48 Std.
Anti-SARS-CoV-2-NCP-IgG- Antikörper	Hat bereits eine Infektion stattgefunden?	ELISA	Serum	24 Std.
Anti-SARS-CoV-2-S1-IgG-Antikörper	Besteht Immunität?	ELISA	Serum	freitags
Anti-SARS-CoV-2-S1/2-Antikörper IgG/A/M	Kombitest zum schnellen Überblick	CLIA	Serum	24 Std.
Anti-SARS-CoV-2-S1/2-IgM- Antikörper	V.a. akute Infektion, teil- weise vor Reisen gefordert	CLIA	Serum	24 Std.
SARS-CoV-2 gezielte Mutationsana- lyse und Stufendiagnostik	Gezielte Mutationsanalyse	RT-PCR	Abstrich, Rachen- spülwasser	48-72 Std (negativ) 7 Tage (positiv)
SARS-CoV-2 Vollsequenzierung	Genotypisierung, Nach- weis aller Varianten	NGS	Abstrich, Rachen- spülwasser	3 Wochen
SARS-CoV-2 Spike-Sequenzierung	Genotypisierung, ggf. Bestätigung der gezielten Mutationsanalyse	Sanger	Abstrich, Rachen- spülwasser	4-7 Tage

Informationen zu Preisen erhalten Sie unter:  
+49 (0)40 30955 - 488

### Literatur:

Website des Robert Koch Instituts ([www.rki.de](http://www.rki.de))

Stand der Informationen: 18. Juni 2021



### Ansprechpartner

**Dr. Heiko Petersen** (PCR-Diagnostik)

Tel.: +49(0) 40 30955 - 520

Email: hpetersen@fennerlabor.de



**Dipl.-Biol. Friederike Hein** (Sequenzierung)

Tel.: +49(0)40 30955 - 553

Email: fhein@fennerlabor.de

### Arzt vom Dienst

Tel.: +49(0) 40 30955 - 889

Email: fennerlabor@fennerlabor.de

Dr. med. Claus Fenner  
Dr. med. Thomas Fenner  
Dr. med. Ernst Krasemann  
Dr. med. Ines Fenner  
Prof. Dr. med. Holger Andreas Elsner  
Prof. Dr. med. Jörg Steinmann  
Dr. med. Carmen Lensing  
PD Br. med. Moritz Hentschke  
Dr. med. Ellen Jessen  
Dr. med. Christiane Kling  
Dr. med. Daniel Lehnhoff  
Dr. med. Caroline Fenner  
Dr. med. Claudia Schnabel  
Dr. med. Verena Limperger  
Dr. med. Dr. rer. nat. Jessica Spreu  
Dr. med. Silvia Stobbe

### In Kooperation mit:

Dr rer. nat. Eckart Schnakenberg  
Pharmako- und Toxikogenetik