

## Positivenanteile, RNA-Kopien und Anzuchtbarkeit von Proben zum Isolationsende von SARS-CoV-2 VOC B.1.1.7 („Alpha“) positiven Fallpersonen; LK Bergstraße; März 2021

### Zusammenfassung

Die Virusvariante (VOC, *Variant of Concern*) B.1.1.7 („Alpha“), die seit etwa Ende Februar 2021 das Infektionsgeschehen in Deutschland dominiert, gilt als transmissibler als die bis dato zirkulierenden Varianten. Unklar ist, ob sie sich auch deshalb in der Population durchsetzt, weil infizierte Personen länger vermehrungsfähige Viren ausscheiden, d. h. länger ansteckend sind. Bei korrekter Probennahme gilt eine RNA-Last von  $10^6$  bis  $10^7$  Kopien/ml in Severe Acute Respiratory Syndrome Corona Virus Type 2 (SARS-CoV-2)-Proben als Orientierungswert, unter dem die Anzuchtwahrscheinlichkeit des Virus aus dem Probenmaterial deutlich reduziert ist.

Im Rahmen der Corona-Quarantäne-Verordnung des Landes Hessen wurden alle positiv getesteten Personen verpflichtet, sich für 14 Tage nach erstem positiven Testdatum in häusliche Absonderung zu begeben. Gemäß den Empfehlungen des Robert Koch-Instituts (RKI) zur Entisolierung gaben die Personen bei einem VOC-Hinweis oder -Nachweis zusätzlich am Ende der Isolationszeit (Tag 13 der Isolierung) eine weitere Probe ab und wurden erst bei einem negativen PCR-Befund entisoliert. Im Rahmen eines Amtshilfersuchens des Landkreises (LK) Bergstraße ließ ein Team des RKI von 53 B.1.1.7-infizierten Fallpersonen zum Ende ihrer Isolationszeit ( $n=47$  Proben zwischen Erkrankungsstag 12–14) eine Probe abnehmen und am RKI untersuchen. Mehr als 80% (46/53) der Proben waren bis einschließlich Tag 14 noch PCR-positiv, der Interquartilsbereich der Anzahl an RNA-Kopien/ml lag bei 597–14.464. Aus keiner der 53 Proben konnte Virus angezchtet werden. Basierend auf diesen Daten erscheint eine Isolationsdauer von 14 Tagen mit einem abschließenden negativen Antigentest bei Fallpersonen mit einem Verdacht oder einem Nachweis von B.1.1.7 als ausreichend sicher.

### Hintergrund

Seit Dezember 2020 zirkuliert in Deutschland die „besorgniserregende“ SARS-CoV-2-Virusvariante VOC B.1.1.7. Der Anteil der B.1.1.7-positiven Proben erreichte in der zweiten Märzhälfte 72% und lag in Kalenderwoche (KW) 21 bei 94%.<sup>1</sup> Die Auswertung von Tausenden Patientinnen- und Patientenproben durch das Konsiliarlabor für Coronaviren in Deutschland führte zum Ergebnis, dass sogenannte „erste“ Proben bei B.1.1.7-infizierten Personen eine um etwa 10-fach höhere Viruslast (RNA-Kopien) aufweisen im Vergleich zum Wildtyp.<sup>2</sup> Bis zur Zirkulation von B.1.1.7 galt, dass SARS-CoV-2-Infizierte nach dem 10. Erkrankungsstag mit hoher Wahrscheinlichkeit nicht mehr ansteckend sind.<sup>3</sup> Es ist aber für die Variante B.1.1.7 nicht klar, ob die höhere Viruslast auch mit einer längeren Übertragbarkeit assoziiert ist.

Zur **Bestimmung der Dauer der Ansteckungsfähigkeit (Infektiosität, Kontagiosität)** können grundsätzlich verschiedene Indikatoren mit absteigender Wertigkeit herangezogen werden: Die größte Aussagekraft haben Daten aus Untersuchungen zur Infektionsquelle bzw. Kontaktnachverfolgung, bei denen tatsächlich erfolgte Übertragungsereignisse dokumentiert werden (z. B. im Rahmen von Haushaltskontakten). Hierbei wird dokumentiert, wann eine Fallperson an einem Tag  $x$  nach Erkrankungsbeginn Kontakt mit einer anderen Person hatte, ob dieser Kontakt zu einer Übertragung führte und ob andere Möglichkeiten einer Übertragung ausgeschlossen werden konnten. Da diese Belege häufig schwer zu führen sind, gibt es auch labordiagnostische Indikatoren, die als Näherung herangezogen werden können. Dabei gilt der Anzuchterfolg des Virus in Zellkultur aus relevantem Probenmaterial als verlässlichster *in vitro*-Hinweis auf eine Infektiosität des Erregers, ist allerdings methodisch aufwendig.<sup>4</sup> Da es einen Zusammenhang der Anzucht-

barkeit mit der Höhe der in der PCR nachgewiesenen Zahl an RNA-Kopien und der Zeit nach Beginn der Infektion gibt,<sup>4</sup> kann, bei Beachtung von Rahmenbedingungen, auch die Anzahl an RNA-Kopien in einer Probe als Proxy für die Infektiosität des untersuchten Sekretes verwendet werden. Eine RNA-Last von  $10^6$  bis  $10^7$  Kopien/ml in SARS-CoV-2-Proben gilt nach aktuellem Wissensstand als ein Orientierungswert, unter dem eine Anzuchtwahrscheinlichkeit deutlich reduziert ist.<sup>3–6</sup> Während vor und in den ersten Tagen nach Erkrankungsbeginn davon auszugehen ist, dass eine Fallperson mit positivem PCR-Test auch infektiös ist, sinkt die Wahrscheinlichkeit, dass PCR-positive Personen jenseits des 10. Erkrankungstages weiterhin infektiös sind, erheblich. Bei leichtem Erkrankungsverlauf kann die PCR noch Wochen nach Erkrankungsbeginn positiv sein, obwohl im Regelfall keine Infektiosität mehr gegeben ist.<sup>7</sup> Neben dem Nachweis von Viruswachstum in Zellkultur und dem RNA-Nachweis mittels PCR sind darüber hinaus noch Antigenteste zu erwähnen. Diese haben zwar sehr variable Nachweisgrenzen, jedoch hat sich gezeigt, dass 84 % von 31 getesteten Antigentests hohe, als wahrscheinlich infektiös geltende Viruslasten von  $10^6$  Kopien/ml mit einer Wahrscheinlichkeit von 80 % erkennen.<sup>8</sup>

Die **Dauer der Ansteckungsfähigkeit** von Personen ist individuell variabel und vom Immunstatus sowie der Schwere der Erkrankung abhängig. Vor der Zirkulation von B.1.1.7 in Deutschland hatte das RKI empfohlen, Fallpersonen mit leichter Erkrankung 10 Tage nach Symptombeginn und ab Symptombefreiheit für mindestens 48 h aus der Isolation zu entlassen.

Im Rahmen eines **Amtshilfeersuchens** des Gesundheitsamtes (GA) Heppenheim Anfang Februar 2021 wurde das RKI gebeten, bei den Ermittlungen von drei Ausbrüchen in Kindertagesstätten mit B.1.1.7 im LK Bergstraße zu unterstützen. Im Rahmen der Corona-Quarantäne-Verordnung des Landes Hessen galt seit dem 01.12.2021 eine verpflichtende Isolationsdauer von 14 Tagen.<sup>9</sup> Aufgrund der zunehmenden B.1.1.7-Ausbreitung und der beobachteten Ausbrüche wurden zusätzlich Fallpersonen mit VOC-Hinweis oder -Nachweis nur mit negativer PCR aus der Isolation entlassen. Für den 13. Erkrank-

ungstag ließ das GA eine Beprobung und PCR-Testung der zu diesem Zeitpunkt asymptomatischen (bzw. deutlich in der Symptomatik gebesserten) Fälle durchführen. Im Falle eines positiven Ergebnisses wurde die Isolierung um 5 Tage verlängert. Im Rahmen der Ausbruchsuntersuchungen wurde bei diesen Fallpersonen nach erfolgter Einwilligung eine zusätzliche Probe abgenommen und am RKI auf Viruslast und Anzuchtbarkeit in Zellkultur untersucht. Die Ergebnisse sollten Aufschluss darüber geben, ob es gegen Ende der Isolationsphase, also am 14. Tag nach Beginn der Symptomatik, Hinweise darauf gibt, dass Fallpersonen mit B.1.1.7 noch ansteckend sind.

## Methoden

Auf Basis der beim Gesundheitsamt des LK Bergstraße vorliegenden Unterlagen identifizierten wir B.1.1.7-positive Fallpersonen, die im Zeitraum vom 2.–10. März 2021 und 25.–31. März 2021 zur Testung zum Isolationsende in das lokale Testzentrum der Kassenärztlichen Vereinigung Hessen (KVH) kommen sollten. Angestrebt wurde der 13. Erkrankungstag. Zusätzlich zu der angeordneten Testung informierten wir sie telefonisch über die hier beschriebene Untersuchung, mit der Möglichkeit, freiwillig eine zweite Probe abnehmen zu lassen. Vor Ort klärten wir die Personen erneut auf und baten sie um eine schriftliche Einverständniserklärung. Für alle Teilnehmenden nahmen wir Daten, wie Alter, Symptombeginn und/oder Datum des ersten Testes auf. Die vom Personal im Testzentrum entnommene erste Probe im Rahmen der Testung zum Isolationsende ging an lokale Labore. Die zweiten Proben, welche direkt im Anschluss vor Ort entnommen wurden, wurden gesammelt und am Tagesende per Kurierdienst an das Labor des Zentrums für Biologische Gefahren & Spezielle Pathogene, Fachgebiet für „Hochpathogene Viren“ (ZBS1) des RKI versandt. Das ZBS1-Labor führte eine PCR auf das SARS-CoV-2-spezifische E-Gen und ORF1ab-Gen durch und berechnete die Viruslast als Zahl der RNA-Kopien/ml Probe. Wenn möglich, wurde zusätzlich eine sogenannte Target-PCR mit Detektion der Deletion 69/70 und der Mutation N501Y durchgeführt. Bei genügend hoher Viruslast wurde eine Sequenzierung sowie bei einem Ct-Wert von  $<30$  eine Anzucht der Proben in Zellkultur versucht.

Bei Fallpersonen mit fehlenden Angaben zum Symptombeginn oder bei symptomlosen Fallpersonen wurde der Symptombeginn imputiert, wenn das zur Diagnose führende Testdatum bekannt war. Dies erfolgte durch die Verwendung der medianen Differenz der Tage zwischen Symptombeginn und erstem Testdatum von Fallpersonen mit vorhandenen Angaben zu Testdatum und Symptombeginn. Bei Fallpersonen ohne bekannten Symptombeginn oder symptomlosen Fallpersonen wurde dieses Zeitintervall vom zur Diagnose führenden Testdatum subtrahiert, um so einen geschätzten Symptombeginn zu erhalten. Dieses Datum entspricht bei asymptomatischen Fallpersonen einem fiktiven Datum, an dem ein Symptombeginn, im Falle einer symptomatischen Erkrankung, angenommen wird.

Für die hier dargestellten Auswertungen wurden die Proben von Personen einbezogen, die sich nach dem anfänglichen zur Diagnose führenden Test zur ersten Nachtstung am Ende der Isolationsperiode im Testzentrum vorstellten. Proben vom 15. oder späteren Erkrankungsstag wurden ausgeschlossen.

Darüber hinaus wurden für die Auswertung zur Ansteckungsfähigkeit nur Proben mit Hinweis auf B.1.1.7 verwendet. Falls aufgrund eines negativen SARS-CoV-2-Nachweises an Tag 13 weder eine Target-PCR noch eine Sequenzierung durchgeführt werden konnte, wurden Proben, die im Gesundheitssamt einen positiven B.1.1.7-Hinweis oder B.1.1.7-Nachweis hatten, als Proben mit B.1.1.7-Hinweis gewertet.

## Ergebnisse

Die Proben wurden im Zeitraum vom 2.–10. März 2021 und 25.–31. März 2021 im Testzentrum Hepenheim abgenommen. In den zwei Zeiträumen wurden insgesamt von 187 Personen jeweils eine Probe zum Ende der Isolationsperiode genommen, die im Labor des RKI weiterführend untersucht wurde.

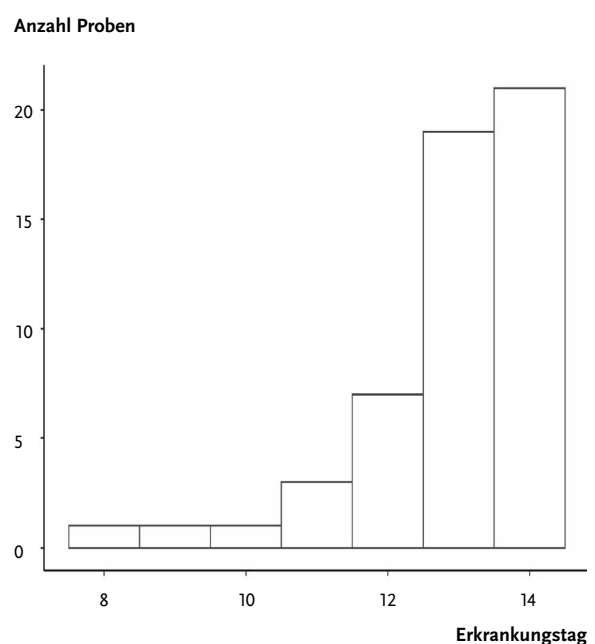
Für die vorliegenden Analysen wurden von den ursprünglich 187 Proben insgesamt 134 Proben ausgeschlossen, da es entweder nicht die erste Probe im Rahmen der Testung zum Isolationsende war, kein B.1.1.7-Hinweis vorlag oder der Erkrankungsstag un-

bekannt oder nicht imputiert werden konnte. Von den 53 eingeschlossenen Proben (in [Abbildung 1](#) dargestellt nach Erkrankungsstag), waren insgesamt 46 Proben von Erwachsenen, die restlichen sieben von Kindern und Jugendlichen unter 18 Jahren.

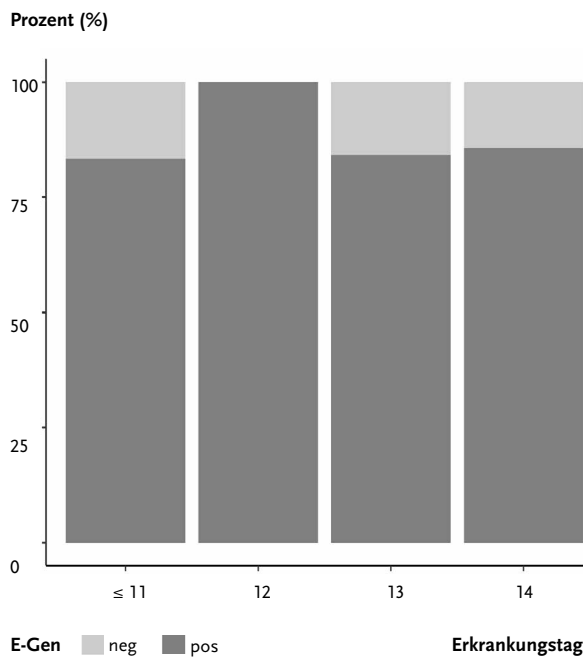
Sechsvierzig der 53 Proben (87%) waren PCR-positiv. Der Anteil positiver Proben nach Erkrankungsstag ist in [Abbildung 2](#) dargestellt.

In [Abbildung 3](#) sind die Virus-RNA-Kopien/ml nach Erkrankungsstag bei B.1.1.7-positiven Proben dargestellt. Insgesamt 3 Proben hatten einen Wert von  $>10^6$  RNA-Kopien/ml (Erkrankungsstage 12 (1 Probe) und 14 (2 Proben)). Die durchschnittliche RNA-Viruslast der 53 Proben unterschied sich leicht zwischen Kindern (Median: 93, IQR: 1–1.070; n=7) und Erwachsenen (Median: 2.081, IQR: 664–20.738; n=46; p=0,02).

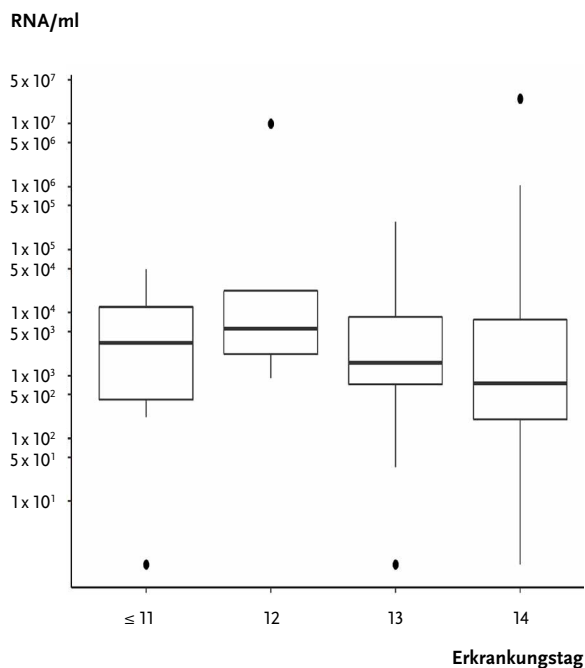
Aus 14 Proben mit einem Ct-Wert von  $<30$  wurde versucht, das Virus anzuzüchten, dies gelang jedoch bei keiner Probe. Somit konnte bei keiner der 53 Fallpersonen (0%, 95%-KI: 0%–7%), bei denen spätestens am 14. Erkrankungsstag eine Probe genommen wurde, vermehrungsfähiges Virus nachgewiesen werden.



**Abb. 1** | Anzahl der Proben mit B.1.1.7-Nachweis bis zum 14. Erkrankungsstag (n=53); Landkreis Bergstraße, März 2021



**Abb. 2** | Anteil positiver Proben mit B.1.1.7-Nachweis nach Erkrankungstag (n=53); Landkreis Bergstraße, März 2021



**Abb. 3** | Boxplot mit Ausreißern (Punkte) der RNA-Kopien von Proben mit B.1.1.7-Nachweis nach Erkrankungstag (n=53). Zur Berechnung der medianen Anzahl RNA-Kopien wurden E-Gen-negative Proben auf 1 gesetzt; Landkreis Bergstraße, März 2021

## Schlussfolgerung

Basierend auf diesen Daten erscheint eine Isolationsdauer von 14 Tagen bei Fallpersonen mit einem Verdacht oder einem Nachweis von B.1.1.7 als ausreichend. Es konnte gezeigt werden, dass gegen Ende der Isolation zwar noch ein hoher Anteil von Proben PCR-positiv ist, jedoch aus keiner Probe Virus angezüchtet werden konnte. Somit ist ein negatives PCR-Ergebnis zum Ende der Isolation bei leichten Verläufen keine sinnvolle Grundlage für die Entscheidung einer Entlassung aus der Isolation. Vielmehr können dafür die Eigenschaften der Antigentests genutzt werden. Da die meisten Antigenteste vor allem dann positiv sind, wenn die Viruslast hoch ist, sind sie indirekt auch ein Test auf Infektiosität.<sup>10</sup> Inzwischen wurden auch die Entlasskriterien des RKI für aus der Isolation entlassene infizierte Fälle auf 14 Tage heraufgesetzt.<sup>10</sup> Eine Entlassung aus der 14-tägigen Isolation kann demgemäß erfolgen, wenn mindestens 48 Stunden Symptomfreiheit bzw. eine nachhaltige Besserung der akuten COVID-19-Symptomatik gemäß ärztlicher Beurteilung, bestehen. Zudem gilt dies frühestens 14 Tage nach Symptombeginn unter der Bedingung, dass ein negativer Antigentest (bei leichtem/asymptomischen Verlauf) oder negativem PCR-Test (bei schwerem Verlauf) vorliegen. Dieses Vorgehen wird entsprechend der Empfehlung des RKI auch im LK Bergstraße umgesetzt.

## Literatur

- 1 Robert Koch-Institut (RKI): Bericht zu Virusvarianten von SARS-CoV-2 in Deutschland. Verfügbar unter: [https://www.rki.de/DE/Content/InfAZ/N/Neuartiges\\_Coronavirus/DESH/Bericht\\_VOC\\_2021-06-09.pdf?\\_\\_blob=publicationFile](https://www.rki.de/DE/Content/InfAZ/N/Neuartiges_Coronavirus/DESH/Bericht_VOC_2021-06-09.pdf?__blob=publicationFile). Zugegriffen am: 15.06.2021.
- 2 Jones TC, Biele G, Muhlemann B, Veith T, Schneider J, Beheim-Schwarzbach J et al.: Estimating infectiousness throughout SARS-CoV-2 infection course. *Science*. 2021.
- 3 Walsh KA, Spillane S, Comber L, Cardwell K, Harrington P, Connell J et al.: The duration of infectiousness of individuals infected with SARS-CoV-2. *The Journal of infection*. 2020;81(6):847-56.
- 4 von Kleist M, Ruehe B, Oh DY, Nitsche A, Haas W, Stoliaroff-Pepin A et al.: Abwägung der Dauer von Quarantäne und Isolierung bei COVID-19. *Epid Bull* 2020;39:3-11.
- 5 Robert Koch-Institut (RKI): Hinweise zur Testung von Patienten auf Infektion mit dem neuartigen Coronavirus SARS-CoV-2. Verfügbar unter: [https://www.rki.de/DE/Content/InfAZ/N/Neuartiges\\_Coronavirus/Vorl\\_Testung\\_nCoV.html](https://www.rki.de/DE/Content/InfAZ/N/Neuartiges_Coronavirus/Vorl_Testung_nCoV.html). Zugegriffen am: 18.05.2021.
- 6 Wölfel R, Corman VM, Guggemos W, Seilmaier M, Zange S, Müller MA et al.: Virological assessment of hospitalized patients with COVID-2019. *Nature*. 2020.
- 7 Perera R, Tso E, Tsang OTY, Tsang DNC, Fung K, Leung YWY et al.: SARS-CoV-2 Virus Culture and Subgenomic RNA for Respiratory Specimens from Patients with Mild Coronavirus Disease. *Emerging infectious diseases*. 2020;26(11).
- 8 Puyskens A, Krause E, Michel J, Nubling M, Scheiblaue H, Bourquain D et al.: Establishment of an evaluation panel for the decentralized technical evaluation of the sensitivity of 31 rapid detection tests for SARS-CoV-2 diagnostics. *MedRxiv*, 2021. DOI: <https://www.medrxiv.org/content/10.1101/2021.05.11.21257021v1.full.pdf>.
- 9 Hessischer Landtag: Verordnung zur Bekämpfung des Corona-Virus (Corona-Quarantäneverordnung), (26. November 2020). *GVBl*. 2020, 826. Verfügbar unter: [https://www.hessen.de/sites/default/files/media/corona-einrichtungsschutzverordnung\\_stand\\_01.12\\_barrierefrei.pdf](https://www.hessen.de/sites/default/files/media/corona-einrichtungsschutzverordnung_stand_01.12_barrierefrei.pdf). Zugegriffen am: 15.06.2021.
- 10 Robert Koch-Institut (RKI): COVID-19: Entlassungskriterien aus der Isolierung. Verfügbar unter: [https://www.rki.de/DE/Content/InfAZ/N/Neuartiges\\_Coronavirus/Entlassmanagement.html](https://www.rki.de/DE/Content/InfAZ/N/Neuartiges_Coronavirus/Entlassmanagement.html). Zugegriffen am: 31.05.2021.

## Autorinnen und Autoren

<sup>a)</sup>Anna Loenenbach | <sup>a)</sup>Inessa Markus | <sup>a)</sup>Janina Stauke | <sup>b)</sup>Dr.-Ing. Janine Michel | <sup>b)</sup>Prof. Andreas Nitsche | <sup>c)</sup>Dr. Barbara Unger-Goldinger | <sup>c)</sup>Cornelius Weidenauer | <sup>c)</sup>Dr. Helen Schlosser | <sup>c)</sup>Dr. Alexander Beile | <sup>a)</sup>Dr. Udo Buchholz

<sup>a)</sup>Robert Koch-Institut, Abt. 3 Infektionsepidemiologie

<sup>b)</sup>Robert Koch-Institut, Zentrum für Biologische Gefahren und Spezielle Pathogene

<sup>c)</sup>Gesundheitsamt Kreis Bergstraße, Hessen

**Korrespondenz:** [BuchholzU@rki.de](mailto:BuchholzU@rki.de)

## Vorgeschlagene Zitierweise

Loenenbach A, Markus I, Stauke J, Michel J, Nitsche A, Unger-Goldinger B, Weidenauer C, Schlosser H, Beile A, Buchholz U: Positivenanteile, RNA-Kopien und Anzuchtbarkeit von Proben zum Isolationsende von SARS-CoV-2 VOC B.1.1.7 („Alpha“) positiven Fallpersonen; LK Bergstraße; März 2021

*Epid Bull* 2021;25:14-18 | DOI 10.25646/8681

## Interessenkonflikt

Alle Autorinnen und Autoren geben an, dass kein Interessenkonflikt besteht.

## Danksagung

Wir möchten uns bei den Mitarbeiterinnen und Mitarbeitern des Gesundheitsamtes Bergstraße sowie bei Herrn Foppa vom Hessischen Landesprüfungs- und Untersuchungsamt im Gesundheitswesen (HLPU) für die ausgezeichnete Zusammenarbeit bedanken. Darüber hinaus gilt unser Dank der Kassenärztlichen Vereinigung Hessen und insbesondere Frau Cortese und Ihrem Team im Testzentrum Heppenheim, sowohl für die grundsätzliche Bereitschaft, diese Studie am Testzentrum durchführen zu lassen, als auch die konkrete organisatorische und technische Unterstützung per Telefon und vor Ort. Ganz besonders möchten wir uns auch bei allen Teilnehmenden bedanken, die sich dazu bereit erklärt haben, im Testzentrum Heppenheim eine zweite Probe nehmen zu lassen und somit die vorliegenden Analysen erst ermöglichten. Wir bedanken uns beim gesamten SARS-CoV-2-Diagnostik Team des RKI (ZBS1) für ihre Arbeit und die Testungen der Tag 13-Proben, sowie Herrn Haas und Frau Niebank für ihren fachlichen Input.