

Düsseldorf/Berlin, 20. Oktober 2020

**Einführung von quantitativen Bezugsproben  
zur Verbesserung der Vergleichbarkeit und Bewertung  
von Laborergebnissen  
zum Virusgenom-Nachweis von SARS-CoV-2**

Sehr geehrte Frau Kollegin, sehr geehrter Herr Kollege,

in einer Kooperation zwischen

- dem Robert Koch-Institut, Abteilung für Infektionskrankheiten und Zentrum für Biologische Gefahren und Spezielle Pathogene/Hochpathogene Viren,
- dem Konsiliarlabor für Coronaviren am Institut für Virologie der Charité - Universitätsmedizin Berlin,
- INSTAND e.V. als Referenzinstitution der Bundesärztekammer für die externe Qualitätssicherung in medizinischen Laboratorien und
- der ad hoc-Gruppe der Gemeinsamen Diagnostikkommission der Deutschen Vereinigung zur Bekämpfung der Viruskrankheiten (DVV) und der Gesellschaft für Virologie (GfV).

bieten wir für alle deutschen Laboratorien für die Diagnostik zum Virusgenom-Nachweis von SARS-CoV-2 zwei unterschiedlich konzentrierte quantitative Bezugsproben mit den folgenden SARS-CoV-2-RNA-Lasten an:

Quantitative Bezugsprobe 1 (Ch07469)	ca. 10.000.000 Kopien/ml
Quantitative Bezugsprobe 2 (Ch07470)	ca. 1.000.000 Kopien/ml

Die aktuellen Diskussionen im Rahmen der SARS-CoV-2-Pandemie fokussieren u.a. auf die Frage, ob Untersuchungsmaterialien von Personen mit einem positiven Ergebnis in der SARS-CoV-2-PCR noch als infektiös zu bewerten sind (s.a. Anhang 1). In verschiedenen Untersuchungen konnte gezeigt werden, dass eine erfolgreiche Virusanzucht aus Patientenumaterial mit der Höhe der SARS-CoV-2-RNA-Last in dem entsprechenden Untersuchungsmaterial korreliert. Auf Basis dieser Untersuchungen wird nachfolgend ein Schwellenbereich für SARS-CoV-2-RT-PCRs vorgeschlagen, oberhalb dessen Untersuchungsmaterialien, die solche oder höhere SARS-CoV-2-RNA-Lasten aufweisen, als wahrscheinlich infektiös einzuschätzen sind (siehe auch Abschnitt 1.2 und Anhang 1).

Die beiden o.g. quantitativen Bezugsproben 1 und 2 sollen den Laboratorien in Deutschland, die den Virusgenom-Nachweis von SARS-CoV-2 routinemäßig durchführen, ermöglichen, die Bewertung der eigenen Ergebnisse zu standardisieren, die Vergleichbarkeit zu erhöhen und eine darauf basierende Befundung vorzunehmen. Dazu werden Formulierungen für eine 3-stufige Ergebnisbewertung und -befundung vorgeschlagen.

*Zu Bestellung und Kosten der quantitativen Bezugsproben für den Virusgenom-Nachweis von SARS-CoV-2, siehe Abschnitt 2.*

## **1. Quantitative Bezugsproben zum Virusgenom-Nachweis von SARS-CoV-2**

### **1.1 Eigenschaften der quantitativen Bezugsproben**

Die quantitativen Bezugsproben 1 und 2 basieren auf Zellkulturüberständen von Vero-Zellen, die mit SARS-CoV-2 infiziert wurden. Die SARS-CoV-2 positiven Zellkulturüberstände wurden hitzeinaktiviert und sind nicht mehr infektiös. Zur Verdünnung der SARS-CoV-2 positiven

Zellkulturüberstände wurde Zellkulturmedium verwendet. Die quantitativen Bezugsproben 1 und 2 wurden lyophilisiert und sind vor den Testungen in Aqua bidest. (steril, pyrogenfrei, PCR-Grade) bei Raumtemperatur zu resuspendieren (Tabelle 1).

Bitte beachten Sie:

Die quantitativen Bezugsproben 1 und 2 sind von vier Laboratorien hinsichtlich ihrer Homogenität überprüft worden. Die erhobenen Daten zeigen, dass die beiden quantitativen Bezugsproben jeweils homogen sind und hinsichtlich ihrer Messwerte im jeweils verwendeten Testsystem sicher voneinander abgegrenzt werden können.

Diese Daten werden zusammen mit einer Anleitung zur Vorbereitung und zum Gebrauch der quantitativen Bezugsproben 1 und 2 beim Probenversand zur Verfügung gestellt.

**Tabelle 1: Eigenschaften und Verwendungszweck der quantitativen Bezugsproben 1 und 2 zum Genomnachweis von SARS-CoV-2**

Probensatz enthält	Erreger / Matrix	SARS-CoV-2-RNA-Last	Verwendungszweck	Resuspendierung in
Bezugsprobe 1 Ch07469  (3 Röhrchen)	SARS-CoV-2 (hitzeinaktiviert; 4 Stunden bei 60 °C)  Strain: BetaCoV/ Munich/ ChVir984/2020	ca. 10 <sup>7</sup> Kopien/ml	2 Röhrchen: zur zeitnahen Schwellenbereichs- Ermittlung (s. 1.3)	1,1 ml Aqua bidest. (steril, pyrogenfrei, PCR-Grade bei Raum- temperatur)
			1 Röhrchen: optional zur parallelen Messung im INSTAND- Ringversuch 340 November 2020 (s. 1.6)	
Bezugsprobe 2 Ch07470  (3 Röhrchen)	lyophilisierte Zellkulturüberstände, verdünnt in Zellkulturmedium	ca. 10 <sup>6</sup> Kopien/ml	2 Röhrchen: zur zeitnahen Schwellenbereichs- Ermittlung (s. 1.3)	
			1 Röhrchen: optional zur parallelen Messung im INSTAND- Ringversuch 340 November 2020 (s. 1.6)	

## 1.2 Wissenschaftliche Studienlage zur Infektiosität in Bezug auf die SARS-CoV-2-RNA-Last im Untersuchungsmaterial

In einer Reihe von Studien und wissenschaftlichen Artikeln konnte gezeigt werden, dass eine erfolgreiche Virusanzucht aus Untersuchungsmaterialien von Patienten mit der Höhe der Virus-RNA-Last in dem entsprechenden Untersuchungsmaterial korreliert (s. Anhang 1).

Auf Basis dieser Untersuchungen wird ein Schwellenbereich für die Virus-RNA-Last von 10<sup>7</sup>-10<sup>6</sup> Kopien/ml vorgeschlagen, oberhalb dessen Untersuchungsmaterialien, die solche oder höhere Virus-RNA-Lasten aufweisen, als infektiös und die Patienten als wahrscheinlich kontagiös einzuschätzen sind (siehe auch

[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)).

### **1.3 Zuweisung eines testbezogenen Schwellenbereichs mit Hilfe der quantitativen Bezugsproben 1 und 2**

Die Virus-RNA-Last von SARS-CoV-2 wurde für die quantitative Bezugsprobe 1 auf ca.  $10^7$  Kopien/ml und für die quantitative Bezugsprobe 2 auf ca.  $10^6$  Kopien/ml eingestellt. Die Quantifizierung erfolgte mit Hilfe eines synthetischen RNA-Quantifizierungsstandards und wurde darüber hinaus aus Messungen mittels digitaler PCR (dPCR) abgeleitet.

Die Laboratorien werden gebeten:

- die Bezugsprobe 1 und Bezugsprobe 2 in ihren routinemäßig angewendeten RT-PCRs (für jede Genregionen von SARS-CoV-2 einzeln) zu messen.
- die für jede Genregion erhaltenen Ct (Cp, Cq)-Werte mit der vorgegebenen SARS-CoV-2-RNA-Last von Bezugsprobe 1 (ca.  $10^7$  Kopien/ml) und Bezugsprobe 2 (ca.  $10^6$  Kopien/ml) zu korrelieren.  
Die so ermittelten Ct-Werte markieren für die jeweilige Genregion der verwendeten RT-PCR den o.g. Schwellenbereich zur Abschätzung der Infektiosität des Untersuchungsmaterials bei der routinemäßigen Testung von Untersuchungsproben (s. Abschnitt 1.2).
- zukünftig die bei der routinemäßigen Testung von Untersuchungsproben ermittelten Ct-Werte in Relation zu dem definierten Schwellenbereich zu setzen.
- und zukünftig eine Abschätzung der Infektiosität der gemessenen Untersuchungsprobe in Bezug auf den o.g. Schwellenbereich zu geben.

Durch den Einsatz der quantitativen Bezugsproben 1 und 2 soll den deutschen Laboratorien ermöglicht werden, auch bei Einsatz unterschiedlicher Testsysteme zum SARS-CoV-2-Genomnachweis eine einheitliche Bewertungsgrundlage für die erhaltenen Ct-Werte in Bezug auf die einzelnen Genregionen einzuführen (unter der Voraussetzung einer korrekt durchgeführten präanalytischen Phase).

### **1.4 Vorschläge für diagnostische Laboratorien: 3-stufige Ergebnisbewertung und Befundung von Untersuchungsergebnissen zum Genomnachweis von SARS-CoV-2 für individuelle Untersuchungsmaterialien unter Berücksichtigung des testbezogenen Schwellenbereichs**

Nachdem das Laboratorium für seine/n verwendeten Genomnachweis/e von SARS-CoV-2 unter Verwendung der quantitativen SARS-CoV-2-Bezugsproben 1 und 2 einen testbezogenen Schwellenbereich festgelegt hat, wird vorgeschlagen, die erhaltenen SARS-CoV-2-RT-PCR-Ergebnisse für das individuelle Untersuchungsmaterial 3-stufig zu bewerten. Dabei sollte das Ergebnis zunächst qualitativ bewertet werden (Pkt. 1), gefolgt von einer quantitativen Bewertung (Pkt. 2) und schließlich einer medizinischen Bewertung (Befundung) (Pkt. 3).

Dieses 3-stufige Vorgehen soll den Laboratorien die Ergebnisbewertung und -befundung erleichtern und helfen, Fehlinterpretationen durch die Adressaten des Berichtes/ Befundes zu vermeiden.

#### 1) Qualitative Bewertung:

Nachweis von SARS-CoV-2 mittels RT-PCR im E-, N-, RDRP- und/oder ORF-Gen. Ergebnisse von mehreren Genregionen sind entsprechend dem verwendeten Test anzugeben.

#### 2) Quantitative Bewertung:

Das Ergebnis der RT-PCR ergibt in dem Untersuchungsmaterial eine SARS-CoV-2-RNA-Last, die unter Bezug auf einen Laborstandard *unterhalb* / *innerhalb* / *oberhalb* eines ermittelten Schwellenbereiches für die Infektiosität des Materials in der Zellkultur liegt.

Basis zur Definition des Schwellenbereichs bei einer SARS-CoV-2-RNA-Last von  $10^7$  bis  $10^6$  Kopien/ml ist eine Literatur- und Laboranalyse durch das RKI und das Konsiliarlabor für Coronaviren, in der Zeitverläufe von Übertragungswahrscheinlichkeiten, Zellkultur-Isolationsquoten und Viruslasten berücksichtigt wurden (siehe Anhang 1).

Bei Werten für die SARS-CoV-2-RNA-Last oberhalb des Schwellenbereichs des Laborstandards gelang in der Regel in entsprechenden Versuchen die in vitro-Anzucht der Viren aus dem Untersuchungsmaterial.

**Tabelle 2: Beispiel für ein Untersuchungsmaterial mit Messergebnissen *oberhalb* des Schwellenbereichs für die SARS-CoV-2-RNA-Last (ca.  $10^7$  bis  $10^6$  Kopien/ml) unter Berücksichtigung der Messergebnisse für die quantitativen Bezugsproben 1 und 2**

	Untersuchungs- material	Quantitative Bezugsprobe 1 (SARS-CoV-2-RNA-Last $10^7$ Kopien/ml)	Quantitative Bezugsprobe 2 (SARS-CoV-2-RNA-Last $10^6$ Kopien/ml)
	Ct-Wert	Ct-Wert	Ct-Wert
RT-PCR in der E-Genregion	22,4	23,2	27,0
RT-PCR in der ORF-Genregion	24,2	25,1	28,5

Ein niedriger Ct-Wert und damit eine hohe SARS-CoV-2-RNA-Last im Untersuchungsmaterial weisen auf eine Infektiosität des Untersuchungsmaterials hin (siehe Beispiel Tabelle 2). Im Umkehrschluss ist es nicht zulässig, aus einem hohen Ct-Wert und damit aus einer niedrigen SARS-CoV-2-RNA-Last im Untersuchungsmaterial ohne weitere Kenntnisse zum konkreten Fall prinzipiell auf eine niedrige oder keine Infektiosität des Untersuchungsmaterials und somit auf eine niedrige oder keine Kontagiosität des Patienten zu schließen.

### 3) Medizinische Bewertung (Befundung):

Im Hinblick auf die klinische Gesamteinschätzung und ggf. auf die Kontagiosität des Patienten müssen die Laborergebnisse für das individuelle Untersuchungsmaterial sowohl unter Berücksichtigung der **anamnestischen Angaben** (z.B. Zeitpunkt, Art und Qualität der Probenahme nach Exposition bzw. Symptombeginn) als auch der **klinischen Begleitumstände** interpretiert werden. Insbesondere ist zu berücksichtigen, dass es bei niedrigen SARS-CoV-2-RNA-Lasten ohne weitere Kenntnisse zu den Umständen der Probenahme nicht möglich ist, eine Aussage darüber zu treffen, ob sich der Patient in der frühen Phase des Infektionsgeschehens befindet und an den folgenden Tagen höhere Virusmengen produzieren könnte.

Zusammenfassung: Die erfolgte Abschätzung zur Infektiosität von Untersuchungsmaterialien befreit weder das untersuchende Laboratorium noch den behandelnden Arzt von einer anamnestischen Einschätzung des Infektionsverlaufs und setzt immer eine fachgerechte Probenahme voraus.

### **1.5 Rückmeldung der Ergebnisse für Bezugsprobe 1 und 2 im RV-Online-System von INSTAND e.V.**

Die Laboratorien werden gebeten, die Ergebnisse aus den Untersuchungen der quantitativen Bezugsproben 1 und 2 im INSTAND RV-Online-System unter der Gruppe 7340 „Quantitative Bezugsproben zum Virusgenom-Nachweis von SARS-CoV-2“ mit Datum der Messung und den dazu verwendeten Methoden einzutragen. Dazu wird zusammen mit den Proben eine Anleitung zur Ergebnismeldung zur Verfügung gestellt.

**1.6 Zusätzlich: Analyse von je einem Röhrchen von Bezugsprobe 1 und 2 parallel mit den Proben des Ringversuchs 340 Virusgenom-Nachweis Coronaviren inkl. SARS-CoV-2 im November 2020**

Laboratorien, die am INSTAND Ringversuch (340) Virusgenom-Nachweis Coronaviren inkl. SARS-CoV-2 November 2020 (Versand der Ringversuchsproben am 11. November 2020) teilnehmen, werden gebeten, das **jeweils dritte Röhrchen der quantitativen Bezugsprobe 1 und 2 zusammen mit den Ringversuchsproben zu analysieren**. Die Ergebnisse für die quantitativen Bezugsproben sind unter der Gruppe 7340 zu berichten, und die Ergebnisse der Ringversuchsproben sind unter der Gruppe 340 zu berichten.

**2 Bestellung und Versand der quantitativen Bezugsproben zum Virusgenom-Nachweis von SARS-CoV-2 (Gruppe 7340)**

Deutsche Laboratorien können nach Anmeldung bei INSTAND e.V. einen Probensatz mit quantitativen Bezugsproben für den Virusgenom-Nachweis von SARS-CoV-2 bestellen.

Die Bestellung erfolgt im INSTAND RV-Online-System (<https://rv-online.instandev.de/index.shtml>) unter „Anmeldung“, „Ringversuche – Jahr 2020“, „Virusdiagnostik“, „Quantitative Bezugsproben Virusgenom-Nachweis SARS-CoV-2“ (Gruppe 7340, siehe Anhang 2).

Für den **Versandtermin am 03. November 2020** ist eine **Bestellung der quantitativen Bezugsproben 1 und 2 bis zum 27. Oktober 2020** notwendig.

Über das Vorgehen zu Bestellungen nach dem 27. Oktober 2020 werden Sie von INSTAND e.V. gesondert informiert.

**Von Bezugsprobe 1 und 2 kann jeweils nur ein Probensatz bestellt werden (1 Probensatz = Bezugsprobe 1 und 2 mit je 3 Röhrchen à 1,1 ml).**

**Die Kosten für 1 Probensatz betragen 190,00 EUR (zuzüglich Versandkosten).**

**Das Bundesministerium für Gesundheit erwägt, ob und inwieweit es zu einer einmaligen Unterstützung bzgl. der Finanzierung dieser quantitativen Bezugsproben zum Virusgenom-Nachweis von SARS-CoV-2 beitragen kann.**

**In Abhängigkeit dieser Entscheidung kann es zu einer einmaligen Reduzierung der o.g. Kosten für die teilnehmenden medizinischen Laboratorien kommen.**

Koordinatoren

Robert Koch-Institut, Abteilung für Infektionskrankheiten und Zentrum für Biologische Gefahren und Spezielle Pathogene/Hochpathogene Viren

Prof. Dr. Martin Mielke, Prof. Dr. Andreas Nitsche

Konsiliarlabor für Coronaviren, Charité – Universitätsmedizin Berlin, Institut für Virologie

Prof. Dr. Christian Drosten, Dr. Victor Corman

Leitung der Referenzinstitution INSTAND e.V.

Prof. Dr. Michael Spannagl, Prof. Dr. Ingo Schellenberg

INSTAND-Ringversuchsleiter für die virologischen Ringversuche

Prof. Dr. Heinz Zeichhardt, Dr. Martin Kammel

ad hoc-Gruppe der Gemeinsamen Diagnostikkommission der Deutschen Vereinigung zur Bekämpfung der Viruskrankheiten (DVV e.V.) und Gesellschaft für Virologie (GfV e.V.)

Prof. Dr. Holger F. Rabenau, Prof. Dr. Heinz Zeichhardt, Dr. Rolf Kaiser,

Dr. Martin Obermeier, Prof. Dr. Jonas Schmidt-Chanasit

Ansprechpartner

INSTAND-Ringversuchsleiter für die virologischen Ringversuche

Prof. Dr. Heinz Zeichhardt ([Heinz.Zeichhardt@iqvd.de](mailto:Heinz.Zeichhardt@iqvd.de)) und

Dr. Martin Kammel ([M.Kammel@iqvd.de](mailto:M.Kammel@iqvd.de))

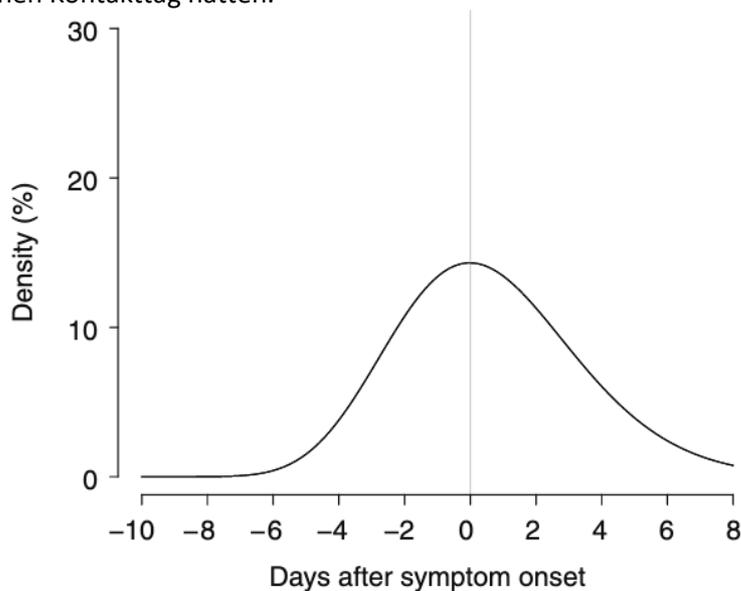
## Anhang 1

### zur „Einführung von quantitativen Bezugsproben zur Verbesserung der Vergleichbarkeit und Bewertung von Laborergebnissen zum Virusgenom-Nachweis von SARS-CoV-2“

#### HINTERGRUND: Zur Korrelation zwischen klinisch-virologischen Laborparametern (Viruslast im Untersuchungsmaterial, *In vitro*-Isolationsrate) und Ansteckungsfähigkeit bei SARS-CoV-2 Infektion

Bei der Bewertung der Ergebnisse von Labortests auf SARS-CoV-2 stellt sich oft die Frage nach der Aussagekraft der RT-PCR-Testung hinsichtlich der Kontagiosität des Patienten zum Zeitpunkt der Probenentnahme. Gegenwärtig können hierauf zunächst nur grobe und pragmatische Antworten gegeben werden, die dessen ungeachtet wichtig sind.

Basis für die Überlegungen wären idealerweise empirische Daten zur Übertragungshäufigkeit im Zeitverlauf der Infektion. Diesen Daten kann man den Zeitverlauf klinisch-virologischer Laborparameter gegenüberstellen. So liegt beispielsweise eine gut dokumentierte Beobachtungsstudie mit Analyse der Wahrscheinlichkeitsverteilung von Übertragungen von He et al. vor (He et al., 2020a, b). Bild 1 wurde aus diesem Artikel entnommen; es zeigt eine Wahrscheinlichkeitsverteilung der Zeitpunkte des jeweiligen Übertragungsereignisses bei 77 gut dokumentierten Übertragungspaaren. Hier handelt es sich um mehrere größere Haushalts- bzw. Familien-Übertragungscluster, in denen Übertragungspartner ausgesucht wurden, die (meist) nur einen Kontakttag hatten.



**Bild 1: Wahrscheinlichkeitsverteilung der Übertragungen in 77 Übertragungspaaren vor allem aus Guangzhou (He et al., 2020a, b)**

Diese Publikation legt auf Basis einer Wahrscheinlichkeitsverteilung eine deutliche Abnahme der durchschnittlichen Kontagiosität gegen Ende der ersten Symptomwoche nahe.

Das virologische Surrogat für Infektiosität ist die erfolgreiche Virusisolierung (Anzucht) aus relevanten Sekreten. Standard im Feld ist hierbei die Virusanzucht auf Vero-Zellen. Diese muss aber in einem Sicherheitslabor der Klasse BSL3 erfolgen und ist deswegen für den Routineeinsatz nicht praktikabel. Die Anzuchtwahrscheinlichkeit korreliert mit der Anzahl infektiöser Partikel, die wiederum mit der SARS-CoV-2-RNA-Last im Untersuchungsmaterial korreliert. Zudem variiert die Anzuchtwahrscheinlichkeit in Abhängigkeit von u. a. der Qualität der Probenahme und des Untersuchungsmaterials (Abnahmesystem, Transportzeit), doch es liegen mittlerweile mehrere Studien vor, die in wesentlichen Aussagen hohe Übereinstimmung aufweisen:

Es wurde gezeigt, dass die Anzuchtswahrscheinlichkeit aus Sekreten des oberen Respirationstrakts innerhalb der ersten Woche nach Symptombeginn deutlich absinkt (Singanayagam et al., 2020; Wolfel et al., 2020). Bei Vorliegen einer mild-moderaten Erkrankung gilt die erfolgreiche Anzucht mehr als 10 Tage nach Symptombeginn als unwahrscheinlich (Arons et al., 2020; Bullard et al., 2020; Covid-Investigation Team, 2020; Perera et al., 2020; Wolfel et al., 2020) und kommt nur in Einzelfällen vor (Liu et al., 2020; National Centre for Infectious Diseases and Chapter of Infectious Disease Physicians / Academy of Medicine in Singapore, 2020). Schwer erkrankte Patienten und immundefiziente Personen<sup>1</sup> stellen eine Ausnahme von dieser Regel dar mit erfolgreicher Virusanzucht bis maximal 20 Tage nach Symptombeginn<sup>2</sup> (Jeong et al., 2020; van Kampen et al., 2020, Koff et al., 2020).

Die in der Literatur kursierenden Daten deuten darauf hin, dass unterhalb einer Virus-RNA-Last von  $10^6$  bis  $10^7$  Kopien/ml in der Probe die Anzuchtswahrscheinlichkeit (insbesondere aus Material nach Symptombeginn) recht niedrig (konservativ geschätzt ca. 20%) ist (Arons et al., 2020; Perera et al., 2020; van Kampen et al., 2020; von Kleist et al., 2020; Wolfel et al., 2020).

Aus diesen Daten leiten sich auch die in Deutschland gültigen Empfehlungen zur Isolierungsdauer ab (von Kleist et al., 2020): Mild-moderat erkrankte Personen können 10 Tage ab Symptombeginn entisoliert werden, vorausgesetzt, es bestehen 48 Stunden Symptombefreiheit. Bei Patienten mit schwerer Erkrankung ist eine Entisolierung nach diesen Zeitkriterien nur dann möglich, wenn eine Laboruntersuchung der Virus-RNA-Last darauf hinweist, dass keine Ansteckungsfähigkeit mehr besteht.

Als korrelatives Maß für die Viruslast kam bisher der Ct (Cycle threshold) -Wert oder Cq (Cycle quantification) -Wert zum Einsatz: Hierbei handelt es sich um den Zyklus, bei dem das während der PCR erzeugte Fluoreszenzsignal die Schwelle der Detektierbarkeit überschreitet (von Kleist et al., 2020). Obwohl bei verschiedenen real-time PCR-Untersuchungsverfahren eine definierte Menge SARS-CoV-2-Genom sehr gut vergleichbare Ct-Werte ergeben sollte, können Schwankungen durch unterschiedliche Protokolle der Probenaufarbeitung und durch die Verwendung unterschiedlicher Reagenzien und PCR-Zykler entstehen (Matheussen et al., 2020). Besser ist daher die Umrechnung von Ct / Cq-Werten in Virus-RNA-Lasten (RNA-Kopien pro Probenvolumen) durch Kalibration mit Hilfe einer standardisierten Virus-RNA-Präparation.

Im Hinblick auf die klinische Gesamteinschätzung der Kontagiosität von Patienten müssen die Laborergebnisse für das individuelle Untersuchungsmaterial sowohl unter Berücksichtigung der anamnestischen Angaben (z.B. Zeitpunkt, Art und Qualität der Probenahme nach Exposition bzw. Symptombeginn) als auch der klinischen Begleitumstände interpretiert werden.

Insbesondere ist zu berücksichtigen, dass es bei niedrigen Virus-RNA-Lasten ohne weitere Kenntnisse zu den Umständen der Probennahme nicht möglich ist, eine Aussage darüber zu treffen, ob sich der Patient in der frühen Phase des Infektionsgeschehens befindet und an den folgenden Tagen höhere Virusmengen produzieren könnte.

## Referenzen

Arons, M.M., Hatfield, K.M., Reddy, S.C., Kimball, A., James, A., Jacobs, J.R., Taylor, J., Spicer, K., Bardossy, A.C., Oakley, L.P., *et al.* (2020). Presymptomatic SARS-CoV-2 Infections and Transmission in a Skilled Nursing Facility. *N Engl J Med* 382, 2081-2090.

Bullard, J., Dust, K., Funk, D., Strong, J.E., Alexander, D., Garnett, L., Boodman, C., Bello, A., Hedley, A., Schiffman, Z., *et al.* (2020). Predicting infectious SARS-CoV-2 from diagnostic samples. *Clin Infect Dis*.

Covid-Investigation Team (2020). Clinical and virologic characteristics of the first 12 patients with coronavirus disease 2019 (COVID-19) in the United States. *Nat Med* 26, 861-868.

---

<sup>1</sup> Virusanzucht aus BAL an Tag 20+ in einer 71-jährigen Patientin mit Hypogammaglobulinämie (Koff et al., 2020).  
Virusanzucht > 56 Tage in einer Patientin mit Immundefekt (ZBS-1, unpublished).

<sup>2</sup> Median 8 Tage (van Kampen et al., 2020).

He, X., Lau, E.H.Y., Wu, P., Deng, X., Wang, J., Hao, X., Lau, Y.C., Wong, J.Y., Guan, Y., Tan, X., *et al.* (2020a). Author Correction: Temporal dynamics in viral shedding and transmissibility of COVID-19. *Nat Med* 26, 1491-1493.

He, X., Lau, E.H.Y., Wu, P., Deng, X., Wang, J., Hao, X., Lau, Y.C., Wong, J.Y., Guan, Y., Tan, X., *et al.* (2020b). Temporal dynamics in viral shedding and transmissibility of COVID-19. *Nat Med* 26, 672-675.

Jeong, H.W., Kim, S.M., Kim, H.S., Kim, Y.I., Kim, J.H., Cho, J.Y., Kim, S.H., Kang, H., Kim, S.G., Park, S.J., *et al.* (2020). Viable SARS-CoV-2 in various specimens from COVID-19 patients. *Clin Microbiol Infect.*

Koff, A., Laurent-Rolle, M., Hsu, J.C., and Malinis, M. (2020). Prolonged incubation of SARS-CoV-2 in a Patient on Rituximab Therapy. *Infect Control Hosp Epidemiol*, 1-10.

Liu, W.D., Chang, S.Y., Wang, J.T., Tsai, M.J., Hung, C.C., Hsu, C.L., and Chang, S.C. (2020). Prolonged virus shedding even after seroconversion in a patient with COVID-19. *J Infect* 81, 318-356.

Matheeussen, V., Corman, V.M., Donoso Mantke, O., McCulloch, E., Lammens, C., Goossens, H., Niemeyer, D., Wallace, P.S., Klapper, P., Niesters, H.G., *et al.* (2020). International external quality assessment for SARS-CoV-2 molecular detection and survey on clinical laboratory preparedness during the COVID-19 pandemic, April/May 2020. *Euro Surveill* 25.

National Centre for Infectious Diseases and Chapter of Infectious Disease Physicians / Academy of Medicine in Singapore (2020). Position Statement: Period of Infectivity to Inform Strategies for De-isolation for COVID-19 Patients.

Perera, R.A., Tso, E., Tsang, O.T., Tsang, D.N., Fung, K., Leung, Y.W., Chin, A.W., Chu, D.K., Cheung, S.M., Poon, L.L., *et al.* (2020). SARS-CoV-2 virus culture from the upper respiratory tract: Correlation with viral load, subgenomic viral RNA and duration of illness. medRxiv, 2020.2007.2008.20148783.

Singanayagam, A., Patel, M., Charlett, A., Lopez Bernal, J., Saliba, V., Ellis, J., Ladhani, S., Zambon, M., and Gopal, R. (2020). Duration of infectiousness and correlation with RT-PCR cycle threshold values in cases of COVID-19, England, January to May 2020. *Euro Surveill* 25.

van Kampen, J.J.A., Vijver, D.A.M.C.v.d., Fraaij, P.L.A., Haagmans, B.L., Lamers, M.M., Okba, N., Akker, J.P.C.v.d., Endeman, H., Gommers, D.A.M.P.J., Cornelissen, J.J., *et al.* (2020). Shedding of infectious virus in hospitalized patients with coronavirus disease-2019 (COVID-19): duration and key determinants. medRxiv.

von Kleist, M., Ruehe, B., Oh, D.-J., Nitsche, A., Haas, W., Stoliaroff-Pépin, A., Eckmanns, T., Abu Sin, M., van der Toorn, W., Jenny, M., *et al.* (2020). Abwägung der Dauer von Quarantäne und Isolierung bei COVID-19. 3--11.

Wolfel, R., Corman, V.M., Guggemos, W., Seilmaier, M., Zange, S., Muller, M.A., Niemeyer, D., Jones, T.C., Vollmar, P., Rothe, C., *et al.* (2020). Virological assessment of hospitalized patients with COVID-2019. *Nature* 581, 465-469.

## Anhang 2

zur „Einführung von quantitativen Bezugsproben zur Verbesserung der Vergleichbarkeit und Bewertung von Laborergebnissen zum Virusgenom-Nachweis von SARS-CoV-2“:

Vorgehen für Bestellung der quantitativen Bezugsproben 1 und 2

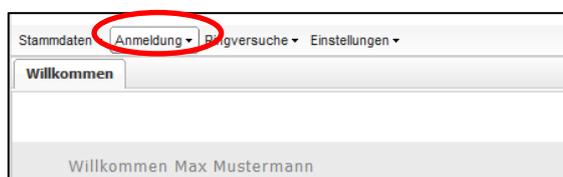


### Bestellung „Quantitative Bezugsproben Virusgenom-Nachweis SARS-CoV-2“

- Benutzen Sie den Button „Anmeldung“.



- Alternativ können Sie den Reiter „Anmeldung“ verwenden.



- Wählen Sie in der folgenden Maske das Jahr 2020 und die RV-Gruppe 7340 aus und klicken Sie auf „Filter“.

The screenshot shows the 'Anmeldung' (Registration) interface. At the top, there are navigation tabs: 'Home' and 'Anmeldung'. Below this is a section titled 'Schritt 1 - Auswahl' (Step 1 - Selection). A 'Filter (aktiv)' (Filter active) section contains several input fields: 'Jahr:' (Year) with a dropdown menu set to '2020', 'Parameter:' (Parameter) with a dropdown menu set to 'Bitte wählen...' (Please select...), 'RV-Name:' (RV Name) with an empty text field, and 'RV-Gruppe:' (RV Group) with a dropdown menu set to '7340'. There is also a checkbox for 'Angemeldete Gruppen anzeigen' (Show registered groups). Below these fields are three buttons: 'Anmeldungen anzeigen' (Show registrations), 'Zurücksetzen' (Reset), and 'Filter' (Filter). The 'Filter' button is circled in red. Below the filter section, there are two main panels. The left panel is titled 'Ringversuche - Jahr: 2020' (Ring trials - Year: 2020) and contains a list of trial types: 'Virusdiagnostik' (Virus diagnostics) and 'Quantitative Bezugsproben Virusgenom-Nachweis SARS-CoV-2' (Quantitative reference samples for virus genome detection SARS-CoV-2). The right panel is titled 'Quantitative Bezugsproben Virusgenom-Nachweis SARS-CoV-2' and contains a table with the following data:

RV-Name	RV-Gruppe	Infektiös	November (6)
An-/Abmeldefrist			28.10.2020
Versandtermin			02.11.2020
Rücksendetermin			27.11.2020
Quantitative Bezugsproben Virusgenom-Nachweis SARS-CoV-2	7340		1

The value '1' in the last row is circled in red.

- Tragen Sie die Bestellmenge 1 in das Feld der Gruppe 7340 und setzen die Bestellung über „Weiter“ fort.
- In folgendem Schritt bestätigen Sie bitte die AGB und die Datenschutzerklärung und schließen die Anmeldung über „Kostenpflichtig bestellen“ ab.

The screenshot shows the terms and conditions acceptance screen. It contains two checkboxes, both of which are checked and circled in red:  Ich akzeptiere die [Allgemeinen Geschäftsbedingungen für die Teilnahme an IN STAND-Ringversuchen](#) and  Ich habe die [Datenschutzbestimmungen](#) gelesen. Below the checkboxes are three buttons: 'Zurück' (Back), 'Anmeldeübersicht-PDF' (Registration overview PDF), and 'Kostenpflichtig bestellen' (Place order). The 'Kostenpflichtig bestellen' button is circled in red.

- Im Anschluss erhalten Sie eine Auftragsbestätigung per E-Mail