

SARS-CoV-2 genoombepaling

Logist Anne-Sophie, Vanmechelen Bert, Wawina Tony, Marti-Carreras Joan, Maes Piet

INLEIDING

Het 'Severe Acute Respiratory Coronavirus 2' (SARS-CoV-2 virus) dat voor de ziekte 'Coronavirus disease 2019' zorgt, wordt van mens op mens overgedragen sinds december 2019. Zoals elk virus accumuleert het over tijd mutaties (1). Als aanvulling op detectie om de pandemie in kaart te brengen, kan ook sequencerij gedaan worden, wat toelaat om circulerende stammen van het virus op te volgen en mutaties te vinden die een effect hebben op detectie, transmissie en pathogeniciteit van het virus (2).

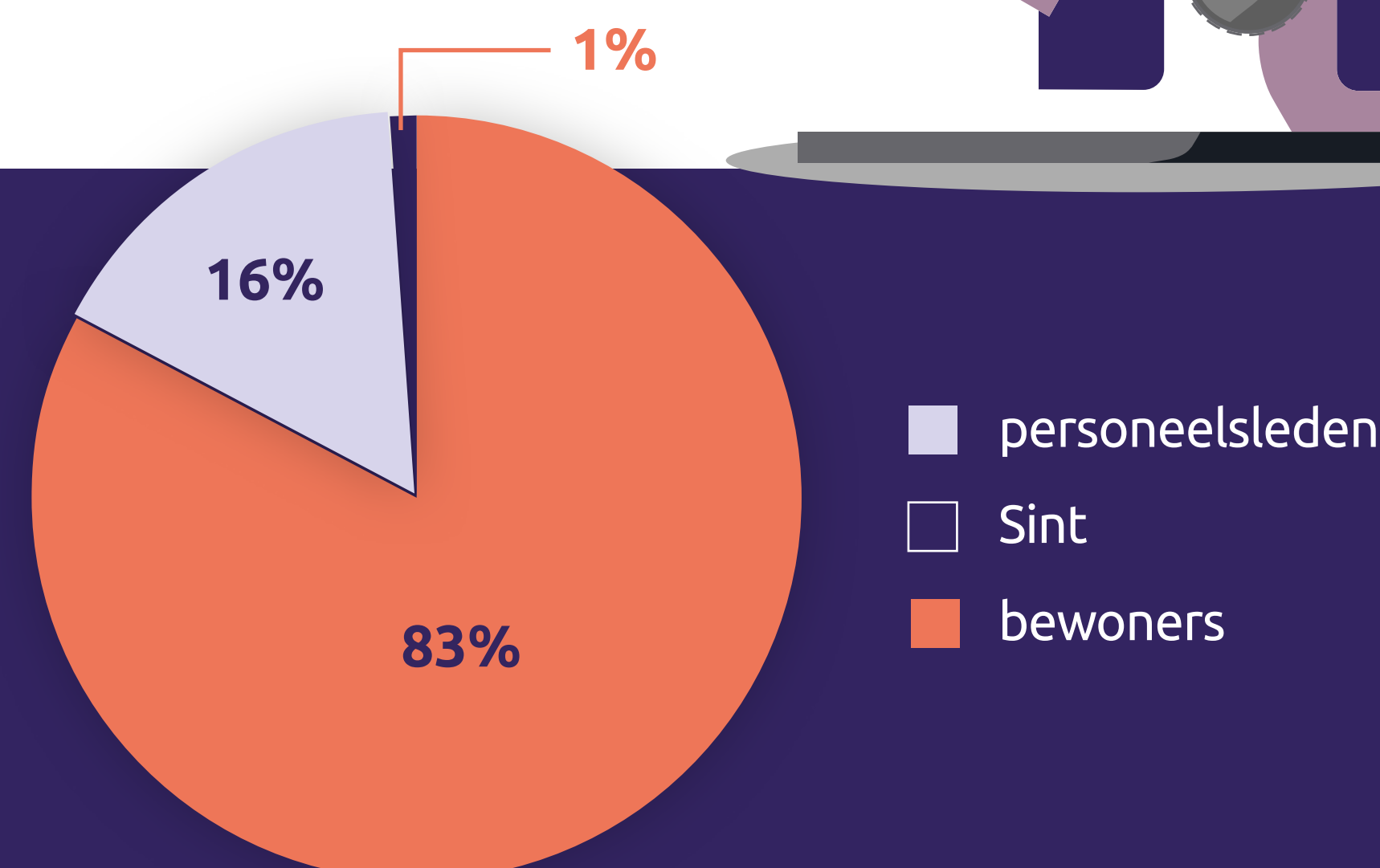
Op 15 december is er in een woonzorgcentrum in Noord-België een uitbraak ontstaan waar 131 mensen besmet zijn geraakt met het SARS-CoV-2 virus (3). Kort hiervoor was de Sint op bezoek geweest, die kort na zijn bezoek positief testte, wat deed vermoeden dat hij de bron was van de uitbraak (4).

Door via genoomsequencerij de volledige sequentie van elk Covid-positief staal uit het woonzorgcentrum te bepalen, kon worden nagegaan of er verschillende stammen circuleerden en of de uitbraak veroorzaakt was door een meer besmettelijke stam.

RESULTATEN

Van de 117 stalen zijn er 115 stalen die succesvol gesequeneerd werden. Van deze 115 stalen was 83% afkomstig van de bewoners van het woonzorgcentrum, 16% van het personeel en 1 staal van de sint zoals te zien in figuur 2.

Al deze stalen werden geanalyseerd met Nextclade (5) en hieruit blijkt dat de stalen behoorden tot de B.1.1 'lineage', zie figuur 3.



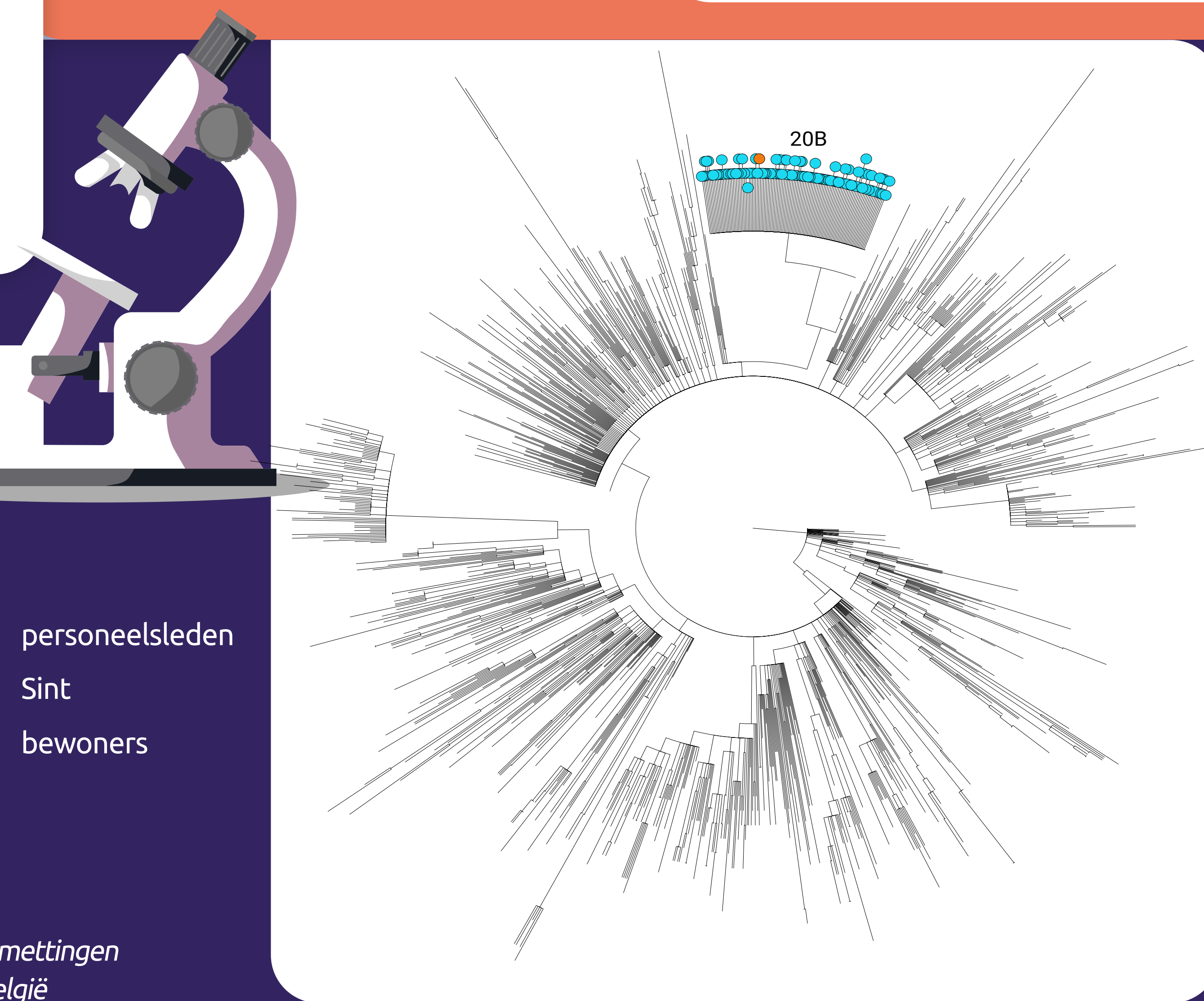
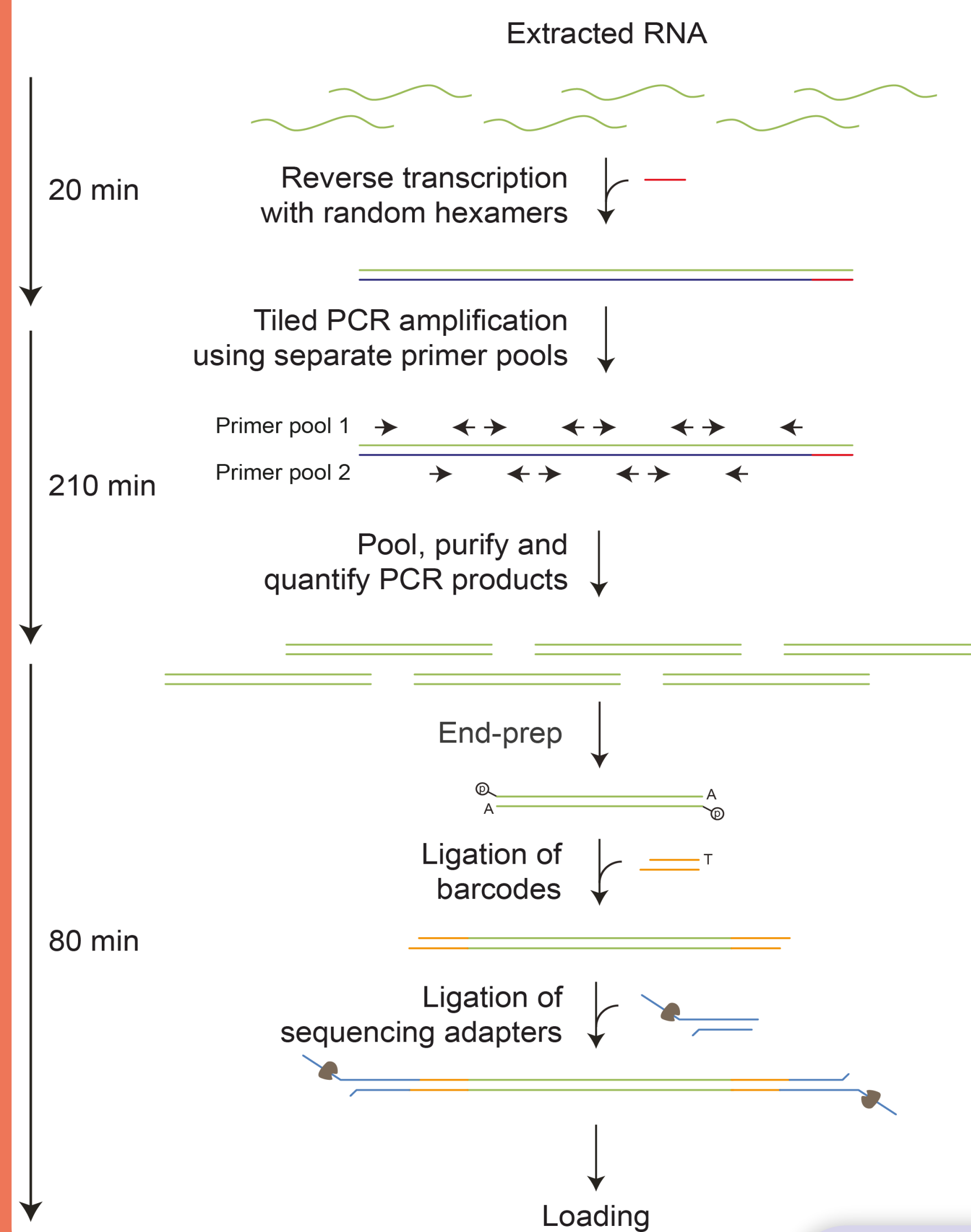
▲ Figuur 2: Figuur 2: Verdeling van besmettingen in het woonzorgcentrum in Noord-België

MATERIALEN EN METHODEN

Het RNA-extract van de 117 ontvangen stalen werd via het Superscript IV Reverse Transcriptase tot cDNA omgevormd. Op dit cDNA werd met Q5 Hotstart High-Fidelity Polymerase een multiplex 'polymerase chain reaction' (PCR) uitgevoerd. De PCR gebeurde aan de hand van 2 primerpools, die via amplicon-tiling het hele genoom zullen amplificeren, zoals te zien in figuur 1.

Na dit PCR-product op te zuiveren, werden de 'sticky-ends' van het DNA "blunt" gemaakt en ge-'A-tailed', om een barcode en een sequencerij adaptor vast te kunnen hechten. Deze 'library' werd dan gesequeneerd door middel van 'nanopore sequencerij'.

Figuur 1: Het proces dat het RNA-extract ondergaat



CONCLUSIE

Omdat er op zeer korte tijd een grote SARS-CoV-2 uitbraak was ontstaan in een woonzorgcentrum in Noord-België, was besloten om via genoomsequencerij te achterhalen of dit te wijten was aan een nieuwe mutatie en of de bron achterhaald kon worden. Aan de hand van de resultaten is zichtbaar dat slechts één, reeds gekende, stam aanwezig was. De verspreiding van deze stam is dus hoogstwaarschijnlijk afkomstig van een enkele bron, hoewel de identiteit van deze bron niet achterhaald kan worden louter op basis van sequentie-data.

◀ Figuur 3: SARS-CoV-2 ML fylogenetische boom gebaseerd op 1467 'full-length' sequenties van variabele locaties, waarbij 20B overeenkomt met de B.1.1 'lineage'

DISCUSSIE

Op 15 december werd een SARS-CoV-2 uitbraak ontdekt in een woonzorgcentrum in Noord-België, waar 131 mensen het virus hadden opgelopen. Vermoed werd dat deze uitbraak verbonden was aan het bezoek van de Sint (3,4).

Om dit na te gaan, werd beslist om genoomsequencerij uit te voeren. Verder kan genoomsequencerij ook uitwijzen of deze uitbraak mogelijks te wijten was aan een nieuwe variant die misschien besmettelijker was, aangezien op korte tijd zeer veel mensen werden besmet.

Van de 117 stalen die ontvangen waren, zijn er 115 waarvan een (bijna) volledige sequentie is gekomen. Uit fylogenetische analyse blijkt dat ze allemaal afkomstig zijn van dezelfde stam en dus hoogstwaarschijnlijk één bron. De limitatie is echter dat er niet met zekerheid kan gezegd worden van welke bron de stam afkomstig is en of misschien meerdere bronnen dezelfde stam hebben verspreid.

Een tweede onderzoeksvraag is of deze stam mogelijk een meer besmettelijke variant is van het SARS-CoV-2 virus, zoals bijvoorbeeld de 'Britse variant' (B.1.1.7 'lineage') (6). Dit blijkt echter niet zo te zijn, aangezien de gevonden stam afkomstig is van de B.1.1 'lineage'.

REFERENTIES

1. Rijksinstituut voor Volksgezondheid en Milieu. Beschikbaar op: <https://www.rivm.nl/coronavirus-covid-19/virus>.
2. World Health Organisation. Beschikbaar op: <https://covid19.who.int/>.
3. VRT. Beschikbaar op: <https://www.vrt.be/vrtws/nl/2021/01/18/bewoners-woonzorgcentrum-hemelrijck-in-mol-krigen-coronavirus/>.
4. Het Nieuwsblad. Beschikbaar op: https://www.nieuwsblad.be/cnt/dmf20201214_92104139?ad=8&mail=8&h_id=&mail=&articlehash=007DBB.1.1A5E60D78DC027FFAC9319A09DDAD24213F36ABAC3DF44B6E6F5A66B1D8373A6F4022357C3399319B5F75039F5090520FB095B84D9A571B0DE48D2.
5. Nextclade. Beschikbaar op: <https://clades.nextstrain.org/>.
6. Centers for Disease Control and Prevention. Beschikbaar op: <https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncv/transmission/variant.html>.
7. Tatjana Yagudina. Illustratie microscoop. Beschikbaar op: <https://www.istockphoto.com/nl/vector/het-ontwerp-van-de-webpagina-met-microscop-bloedbuizen-en-virusen-geneeskunde-gm1214485125-353368687?cid=IwAR1LzQDuYGNVHmMj44cvU7Jc5i47YBj-VmNcQyP2LpFKV6qkAnuqXy9A1M>.
8. Ilyna Reshetnik. Illustratie geïnfecteerde longen. Beschikbaar op: <https://www.istockphoto.com/nl/vector/het-ontwerp-van-de-webpagina-met-microscop-bloedbuizen-en-virusen-geneeskunde-gm1214485125-353368687?cid=IwAR1LzQDuYGNVHmMj44cvU7Jc5i47YBj-VmNcQyP2LpFKV6qkAnuqXy9A1M>.
9. Figuur 1: Oxford Nanopore Technologies