

Entwicklung neuer Strategien für das Konzept des abwasserbasierten Monitorings am Beispiel von SARS-CoV 2

Kira Zachmann



TECHNISCHE
UNIVERSITÄT
DARMSTADT

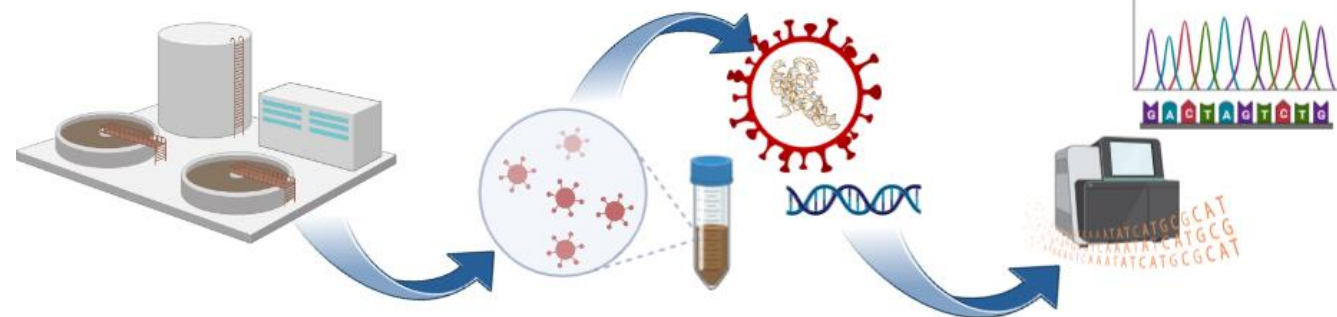
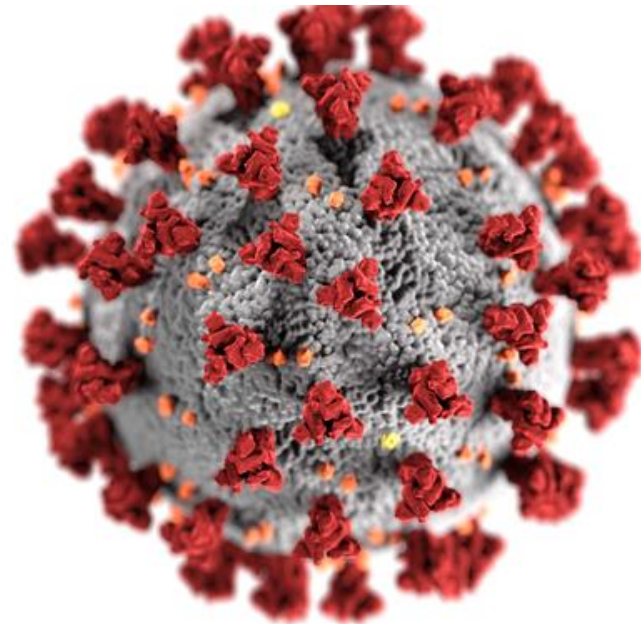
HESSEN



Hessisches Ministerium für Wirtschaft,
Energie, Verkehr und Wohnen
Hessisches Ministerium für
Wissenschaft und Kunst



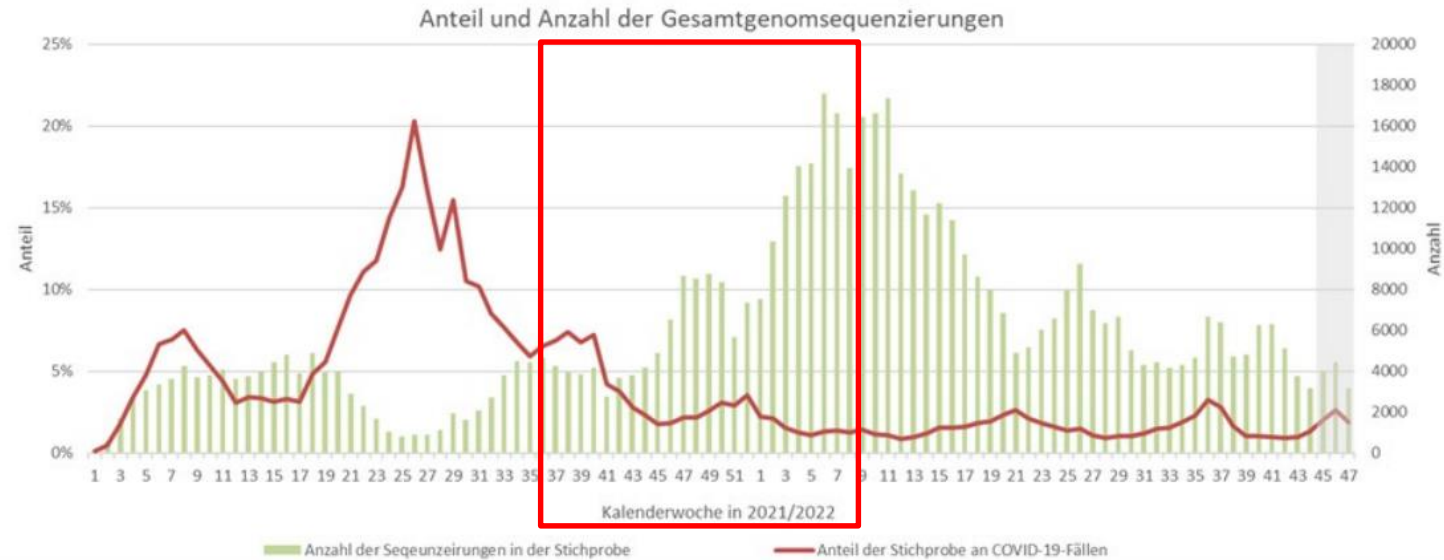
EUROPÄISCHE UNION:
Investition in Ihre Zukunft
Europäischer Fonds für regionale Entwicklung



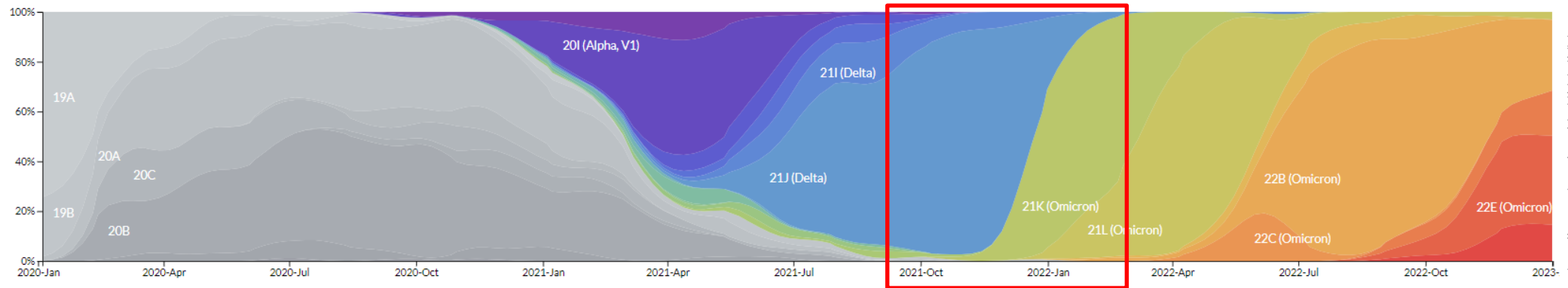
Hintergrund (Stand: Ende Dezember 2022)

Masterarbeit Stand:
Mitte Februar 2022!

| | WHO | Pangolin | Erstmaliger Nachweis | Datum der Benennung |
|-------------|----------------|-------------------------|---------------------------------------|--|
| VOC | Omikron | B.1.1.529 | Südafrika und Botswana, November 2021 | VUM: 24-Nov-2021 VOC: 26-Nov-2021 |
| Frühere VOC | Alpha | B.1.1.7 | Großbritannien, September 2020 | VOC: 18-Dez-2020 Frühere VOC: 09-Mar-2022 |
| Frühere VOC | Beta | B.1.351 | Südafrika, Mai 2020 | VOC: 18-Dez-2020 Frühere VOC: 09-Mar-2022 |
| Frühere VOC | Gamma | P.1 (B.1.1.28.1) | Brasilien, Dezember 2020 | VOC: 11-Jan-2021 Frühere VOC: 09-Mar-2022 |
| Frühere VOC | Delta | B.1.617.2 | Indien, Dezember 2020 | VOI: 4-Apr-2021 VOC: 11-Mai-2021 Frühere VOC: 7-Jun-2022 |

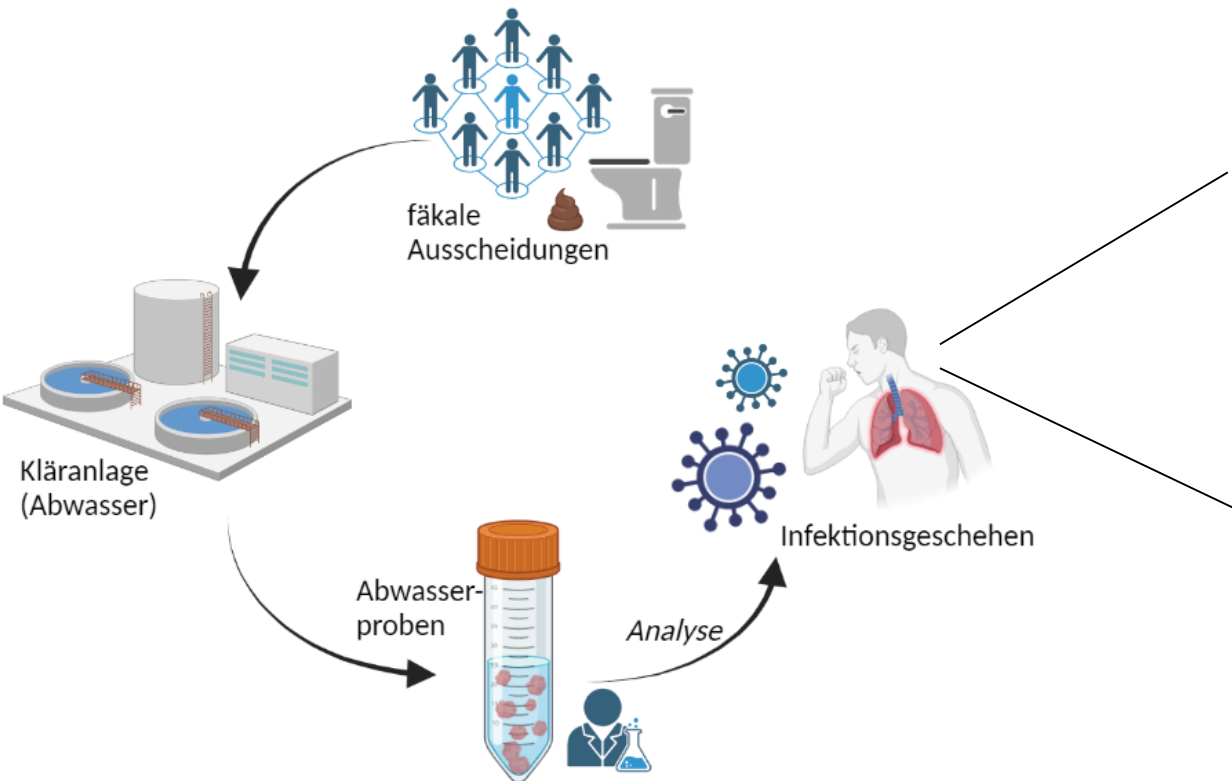


https://www.rki.de/DE/Content/InfAZ/N/Neuartiges_Coronavirus/Situationsberichte/Wochenbericht/Wochenbericht_2022-12-08.pdf?__blob=publicationFile
(Abgerufen am 29 Dezember 2022)

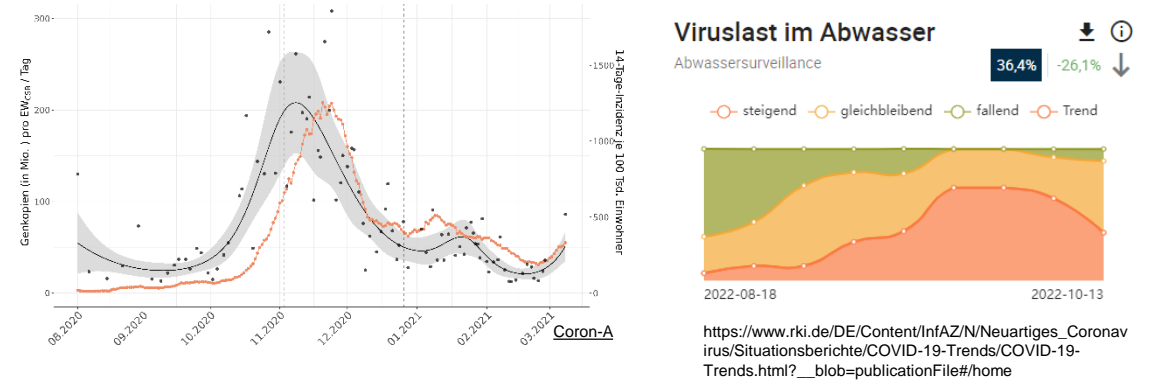


https://nextstrain.org/ncov/gisaid/global/all-time (Abgerufen am 29 Dezember 2022)

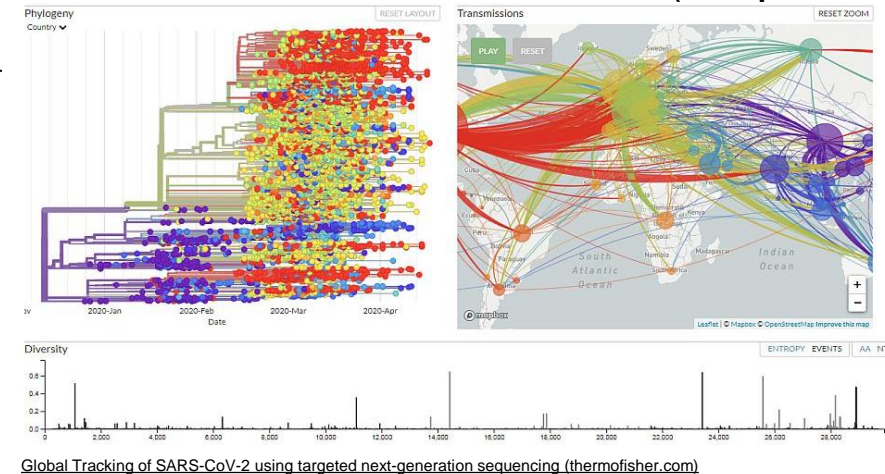
Abwasserbasiertes Monitoring



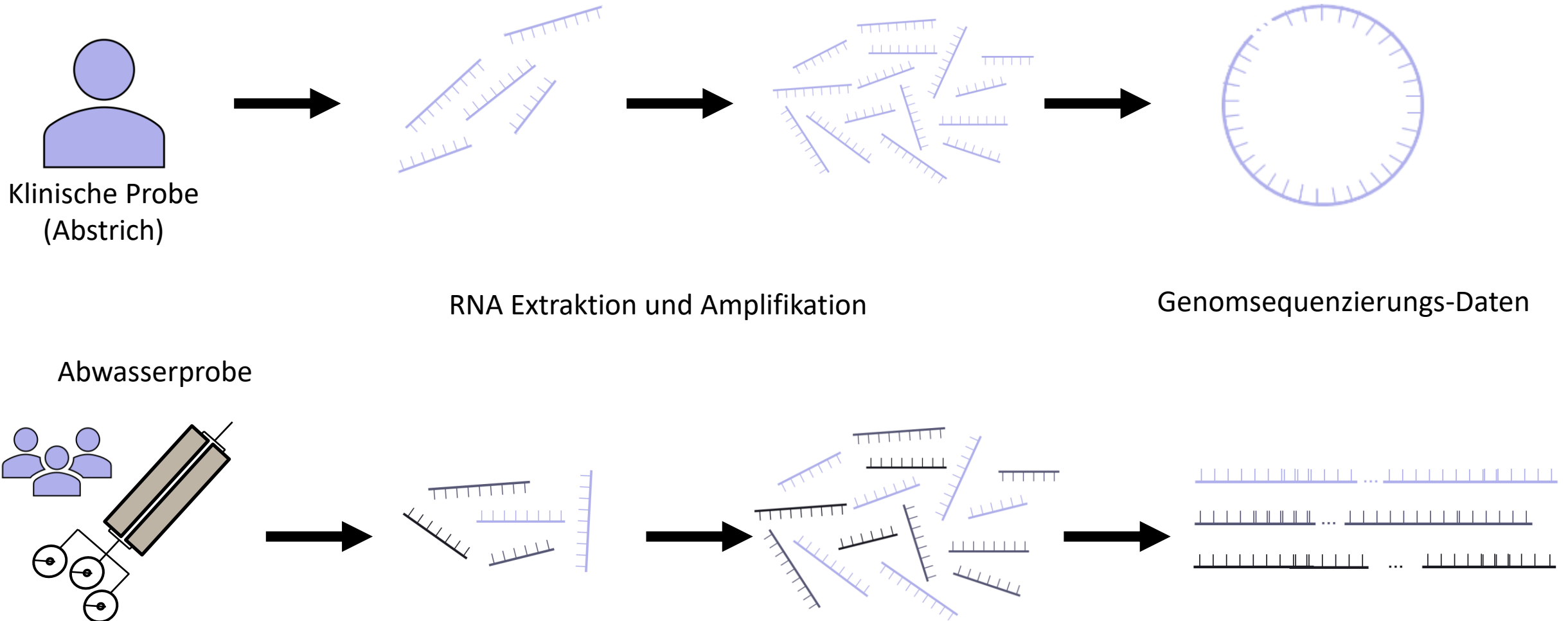
→ Trends des Infektionsgeschehens (PCR)



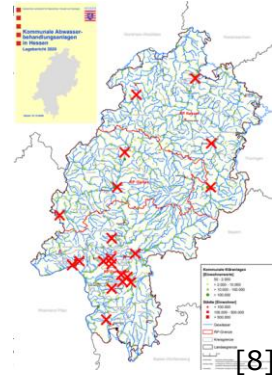
→ Virusvarianten, Mutationen (Sequenzierung)



Ansatz der Genomsequenzierung

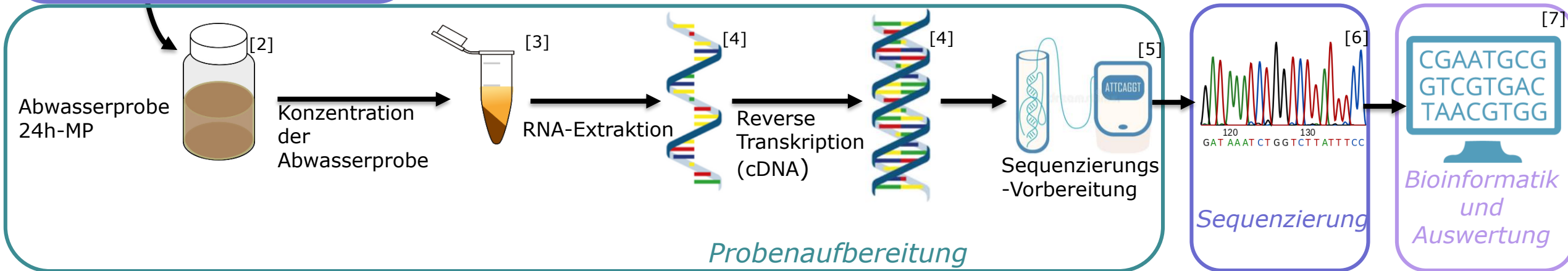


Methodenschritte



Projekt:

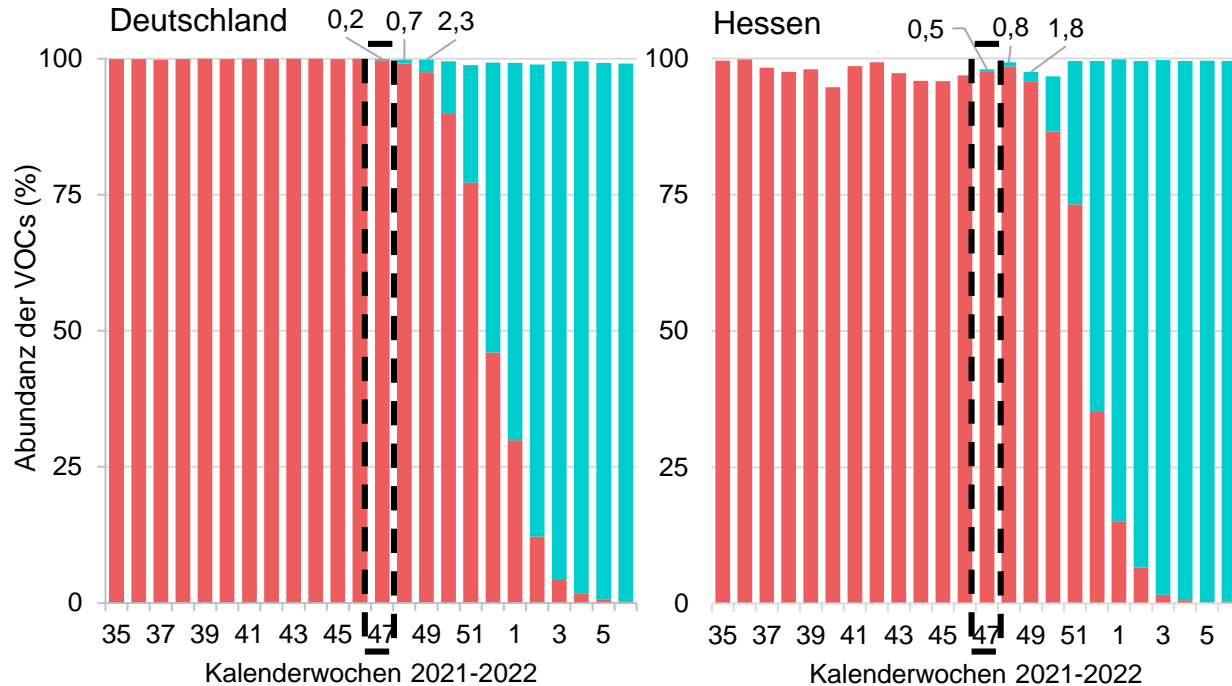
- Regelmäßige Beprobung von 22 hessischen Kläranlagen unterschiedlicher GKs
- Insgesamt über 2,6 Mio. Einwohner = ca. 42% der hessischen Bevölkerung



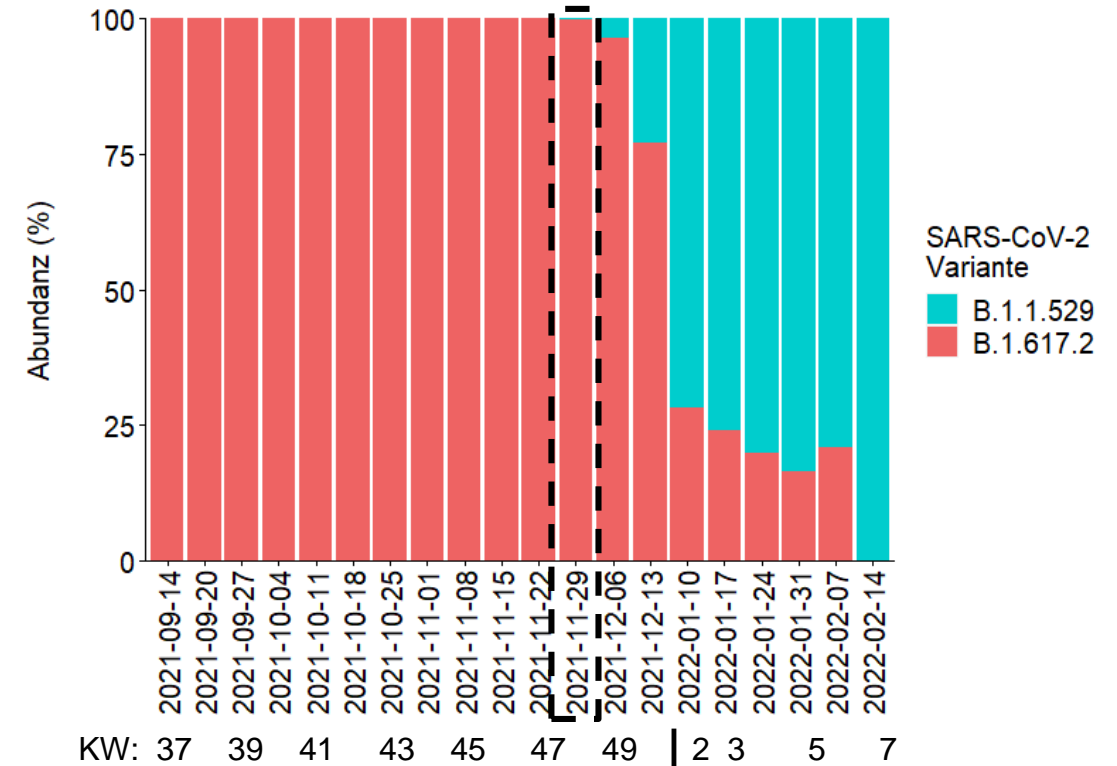
[1] Vector Isometric Water Treatment Plant Royalty Free Cliparts, Vectors, And Stock Illustration. Image 42782936. (123rf.com) [Abgerufen am 03.03.2022]
[2] Sample Vial 20ml Clip Art At Ciker - Clip Art Sample Bottle - Free Transparent PNG Clipart Images Download (clipartmax.com) [modifizierte Grafik] [Abgerufen am 03.03.2022]
[3] Eppendorf Sample Centrifuge Clip Art - Eppendorf Tube Png - (414x596) Png Clipart Download (clipartmax.com) [Abgerufen am 03.03.2022]
[4] Detailansicht | molecocool.ch | Molecocool Kosmos RNA [Abgerufen am 03.03.2022]
[5] Dna Sequencing Genome Information Saving Stock Vector - Illustration of research. gene: 96048934 (dreamstime.com) [Abgerufen am 03.03.2022]
[6] File:DNA sequence.svg - Wikimedia Commons [Abgerufen am 03.03.2022]
[7] Genomics & Bioinformatics | Admera Health [Abgerufen am 03.03.2022]
[8] https://www.hlnug.de/fileadmin/dokumente/wasser/abwasser/kommunales_abwasser/Lageberichte/Lagebericht_Hessen_2020_Karte.pdf [Abgerufen am 16.12.2022]

Verbreitung der Virusvarianten (VOCs)

Klinische Daten (RKI)



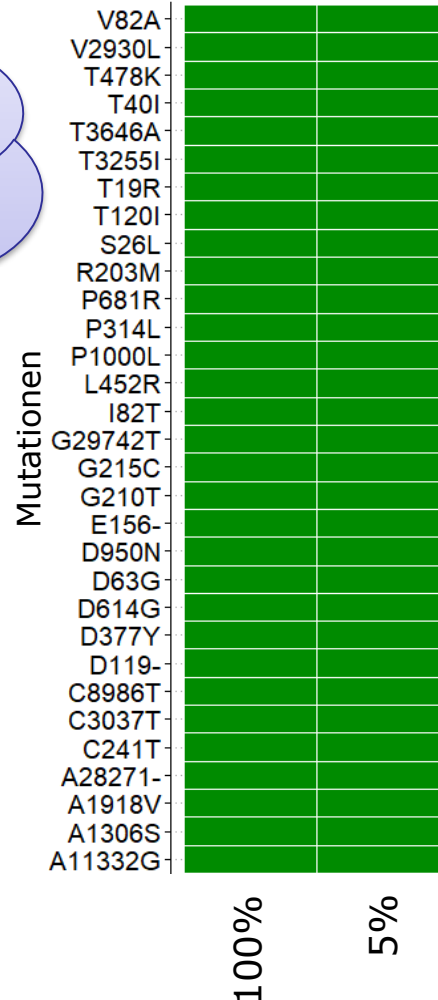
Abwasserbasierte Daten



Erster Nachweis der Omikron-Variante im Abwasser bereits am 29.11.2021 möglich
(26.11.2021 als VOC von der WHO erklärt)

Einfluss von Verdünnungen auf die Sequenzierungsergebnisse

These:
Bei stark verdünnten Proben ist der Nachweis von SARS-CoV-2 und dessen Varianten (Mutationen) im Abwasser schwieriger



Beispiel Verdünnung:

5% = 5% (=10mL) Abwasserprobe
+ 95% (=190mL) Nuklease-freies Wasser (NFW)

100% = 100% (=200mL) Abwasserprobe

➔ Selbst bei stark verdünnten Proben (niedrigen SARS-CoV-2 Konzentrationen) ist der Nachweis von SARS-CoV-2 und dessen Mutationen im Abwasser durch Sequenzierungen möglich

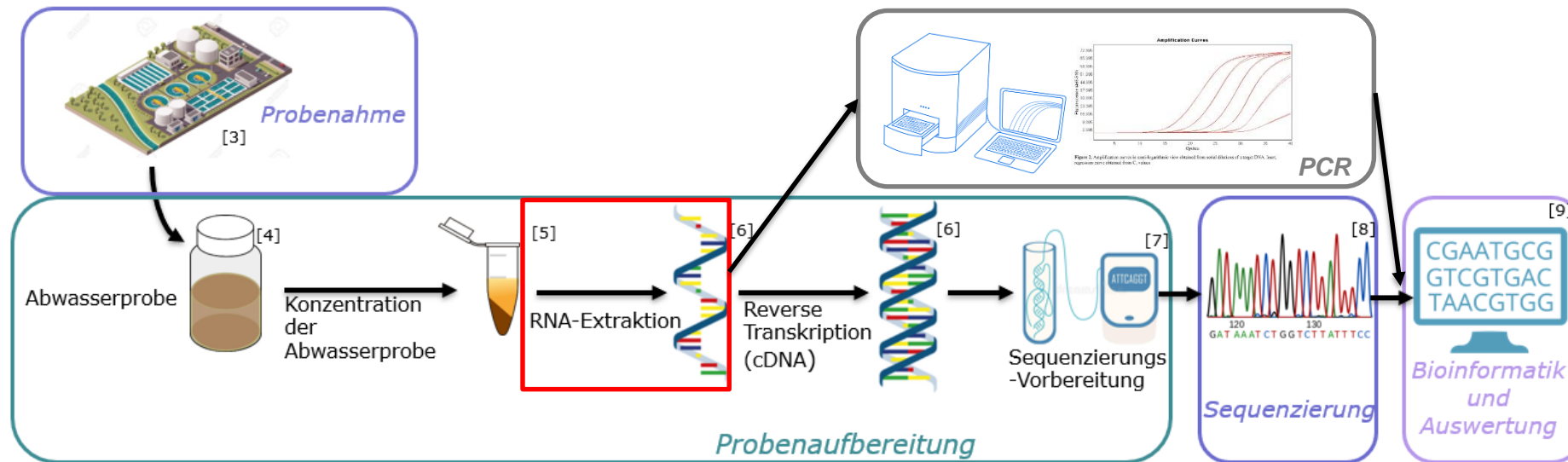
Normalisierung der Konzentrationen

Normalisierung der **SARS-CoV-2 Konzentration**

Fokus: **SARS-CoV-2 PCR-Daten** mit Tageszufluss, Surrogatparameter (PMMoV, CrAssphagen)...

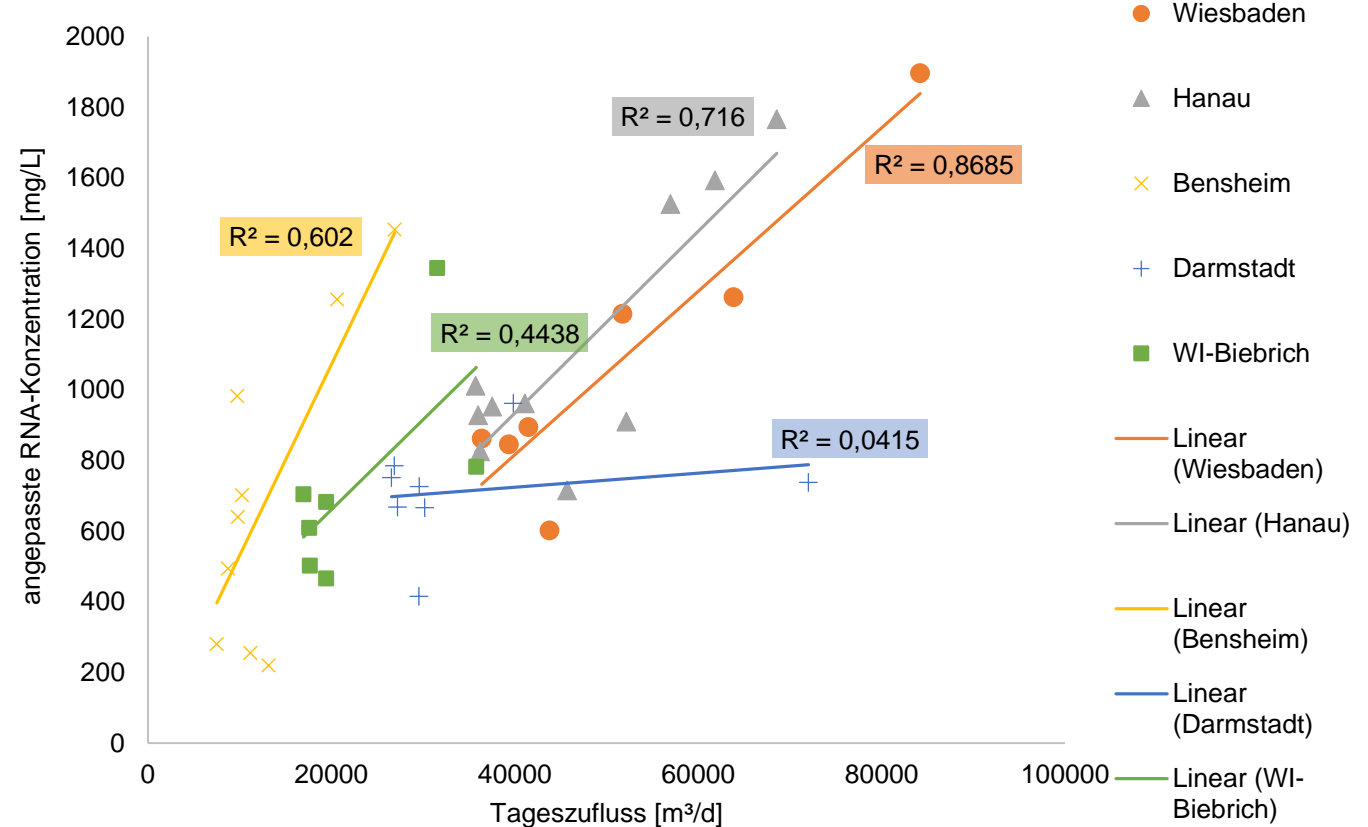
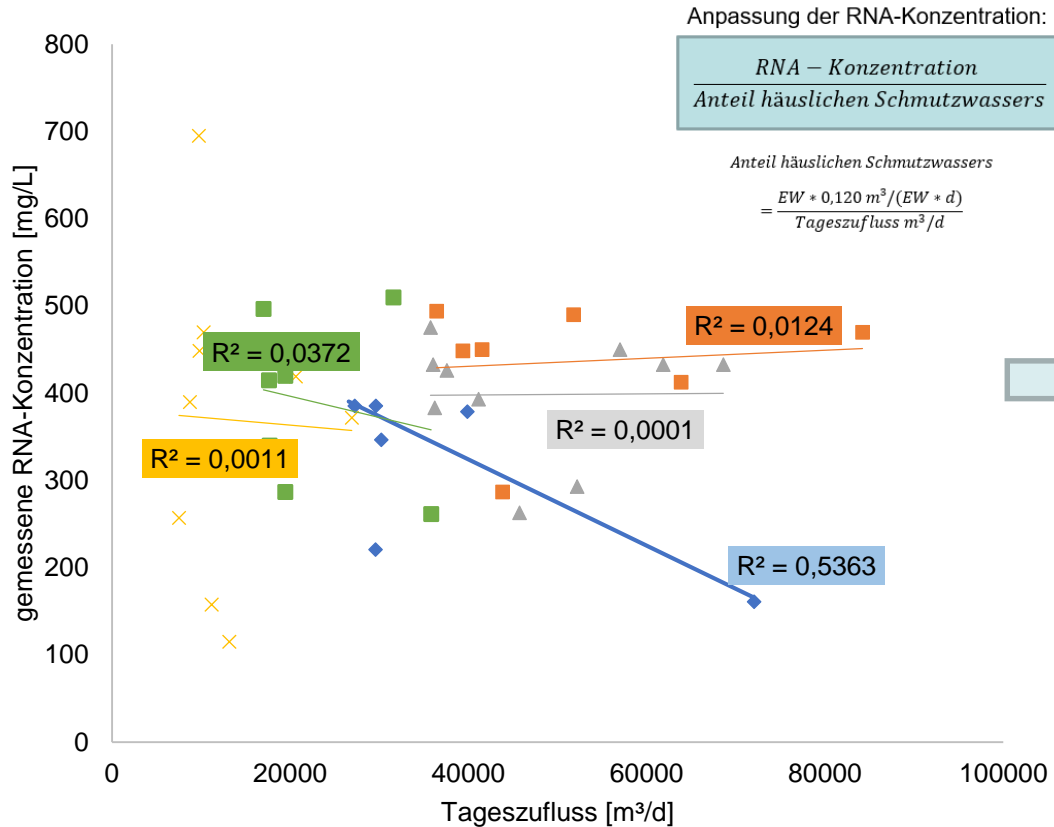
Normalisierung der **RNA-Konzentration**

Fokus: Konzentration **aller RNA-Fragmente** im Abwasser mit „Kläranlagen-typischen“ Parametern (z.B. Tageszufluss, CSB,...)



RNA ist das „Start-Material“ für alle Analysen (PCR, Sequenzierungen, usw.)

Normalisierung der Konzentrationen



Anpassung der RNA-Konzentration an Tageszufluss ist sinnvoll!

Strategien für das Konzept des abwasserbasierten Monitorings



Verfolgung der Verbreitung von Virusvarianten möglich



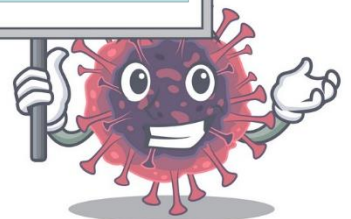
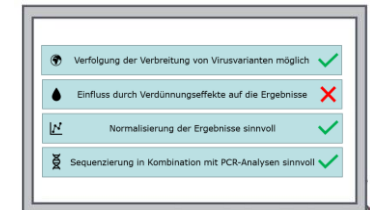
Einfluss durch Verdünnungseffekte auf die Ergebnisse



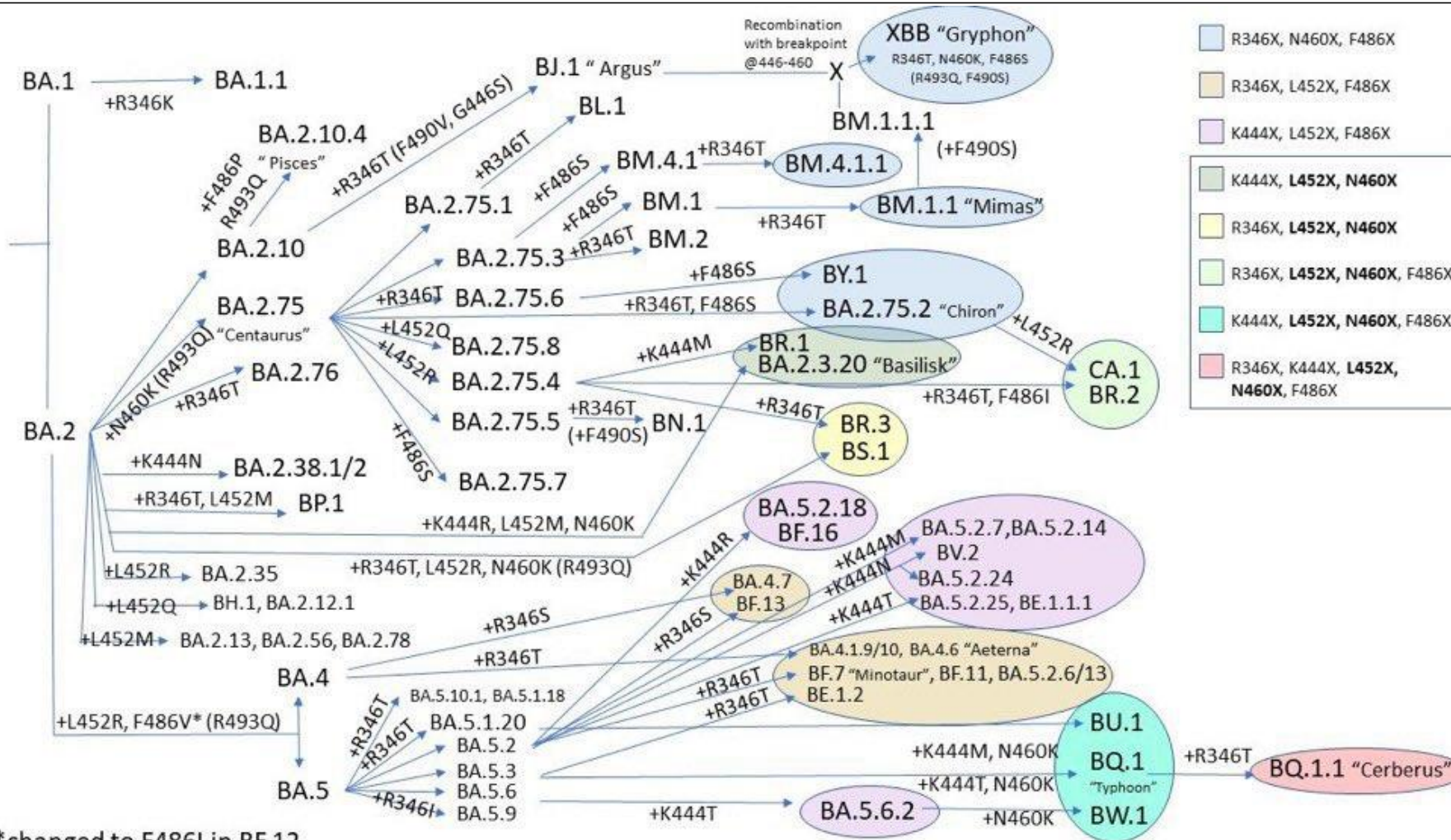
Normalisierung der Ergebnisse sinnvoll



Sequenzierung in Kombination mit PCR-Analysen sinnvoll



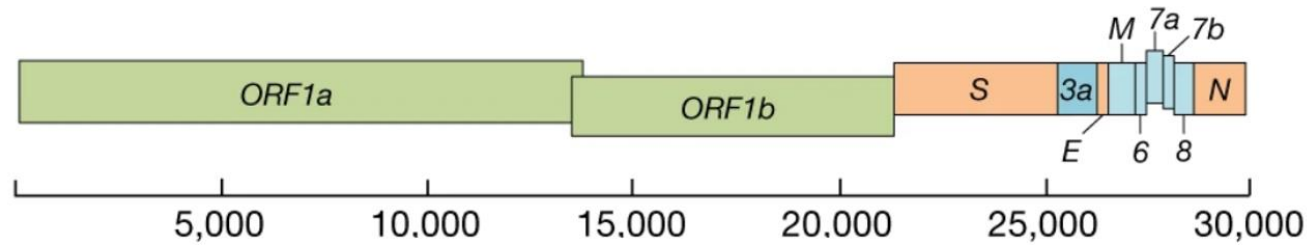
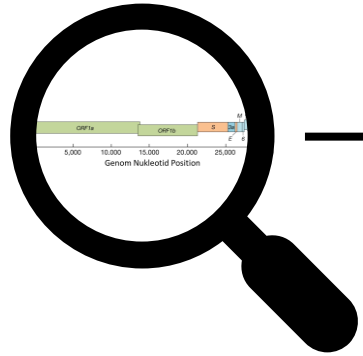
Ausblick: aktuelle Lage



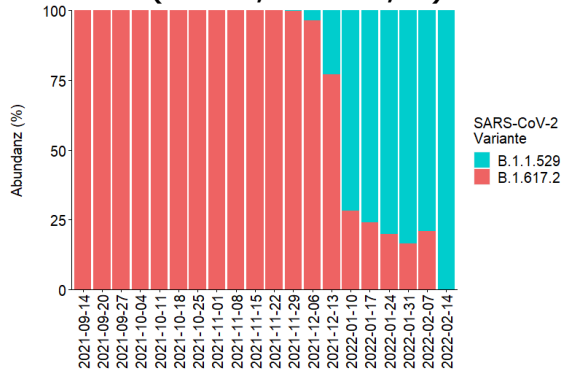
*changed to F486I in BF.12

? Wie soll das in Zukunft weitergehen?

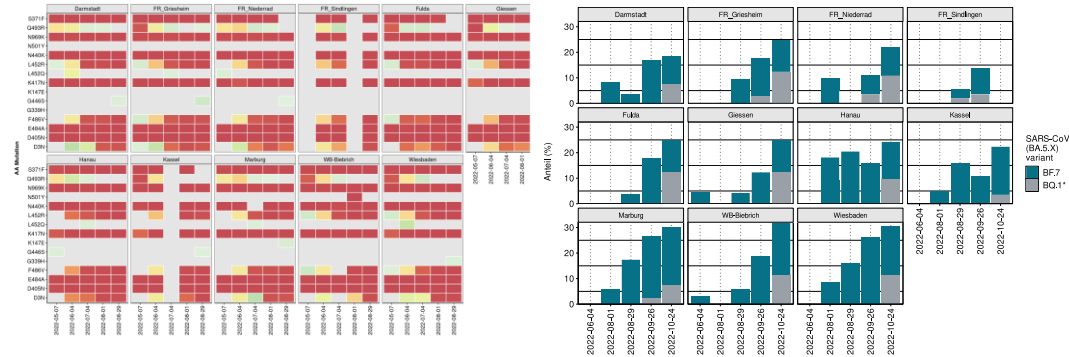
Ausblick: Welche Informationen kann Sequenzieren liefern?



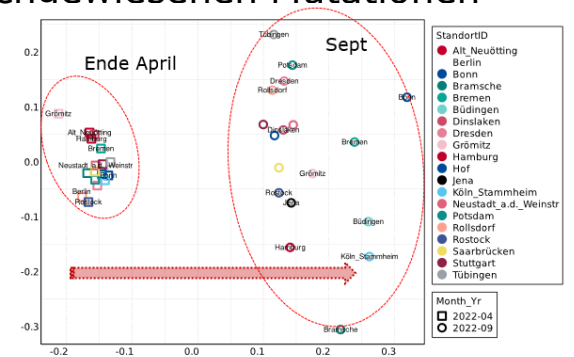
Verteilung und Entwicklung der VOCs (VOIs, VUMs,...)



Verteilung und Entwicklung der klinisch-relevanten Mutationen



Ansatz als Frühwarnsystem: Verteilung und Entwicklung aller im Abwasser nachgewiesenen Mutationen



Abhängigkeit von klinischen Daten!



Abhängigkeit von klinischen Daten!



Unabhängig von klinischen Daten!

Vielen Dank für Ihre Aufmerksamkeit!

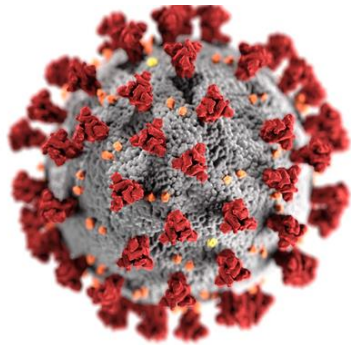


TECHNISCHE
UNIVERSITÄT
DARMSTADT

M.Eng. Kira Zachmann

Email: k.zachmann@iwar.tu-darmstadt.de

Telefon: +49 6151 16-20316



Besonderer Dank an:

Prof. Dr. Susanne Lackner, Dr.-Ing. Shelesh Agrawal, Dr.rer.nat. Laura Orschler
und das Team des IWAR der TU Darmstadt