

Für Mensch & Umwelt

Online Fortbildung für den Öffentlichen Gesundheitsdienst

24.-26.03.2021

Nachweise von SARS-CoV-2 im Abwasser – Gefahr oder Frühwarnsystem?

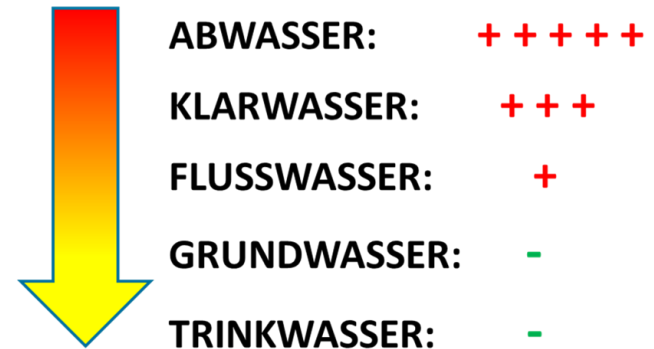
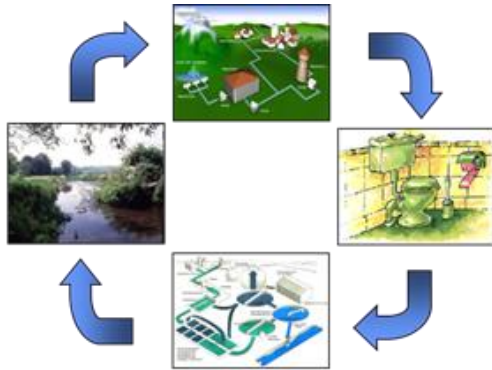
PD Dr. Hans-Christoph Selinka

FG II1.4 Mikrobiologische Risiken

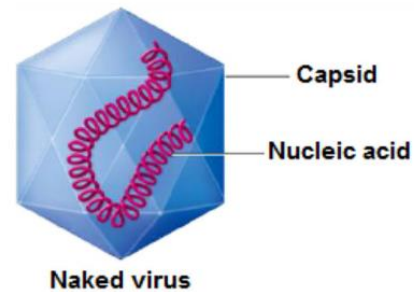
Abt. Umwelthygiene

Umweltbundesamt, Berlin

Humanpathogene Viren in der Umwelt

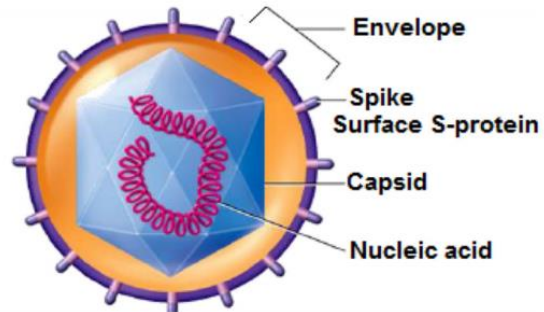


Unbehüllte Viren



Naked virus

Lahrich et al, 2021



Enveloped virus

Behüllte Viren

Adenoviren, Noroviren, Enteroviren,
Hepatitis-E Viren, Rotaviren, Polyomaviren ...

Coronaviren,
Influenzaviren ...

Primäre Aufkonzentrierung der Viren aus aquatischen Umweltproben

Magermilch Flockung (SMF)



Ultrazentrifugation



PEG Präzipitation



Glaswollefiltration



Rexeed Ultrafiltration



CentriconPlus 70 Filter

Jumbosep Filter



Abwasserprobe
(200 ml)



Rühren (15 min)



Zentrifugation
($>6.700 \times g$, 30 min)



Vorfiltration (45 μm)
des Überstandes



CentriconPlus70 oder
Jumbosep-Filtration



1-10 ml



Extraktion der viralen Nukleinsäuren
(NucliSENS), Eluate 100-200 μl



SARS-CoV-2 Real-time RT-PCR (10 μl)

SARS-CoV-2

⇒ Direktprobe
(5 ml)



Virenextraktion
aus dem Pellet



Nachweis von SARS-CoV-2 Genfragmenten im Abwasser



Wöchentliche Proben
aus dem Zufluss und dem Abfluss
der Kläranlage
(0,5-2 Liter)



Aufkonzentrierung der Viren
auf ein Volumen von
1-5 ml



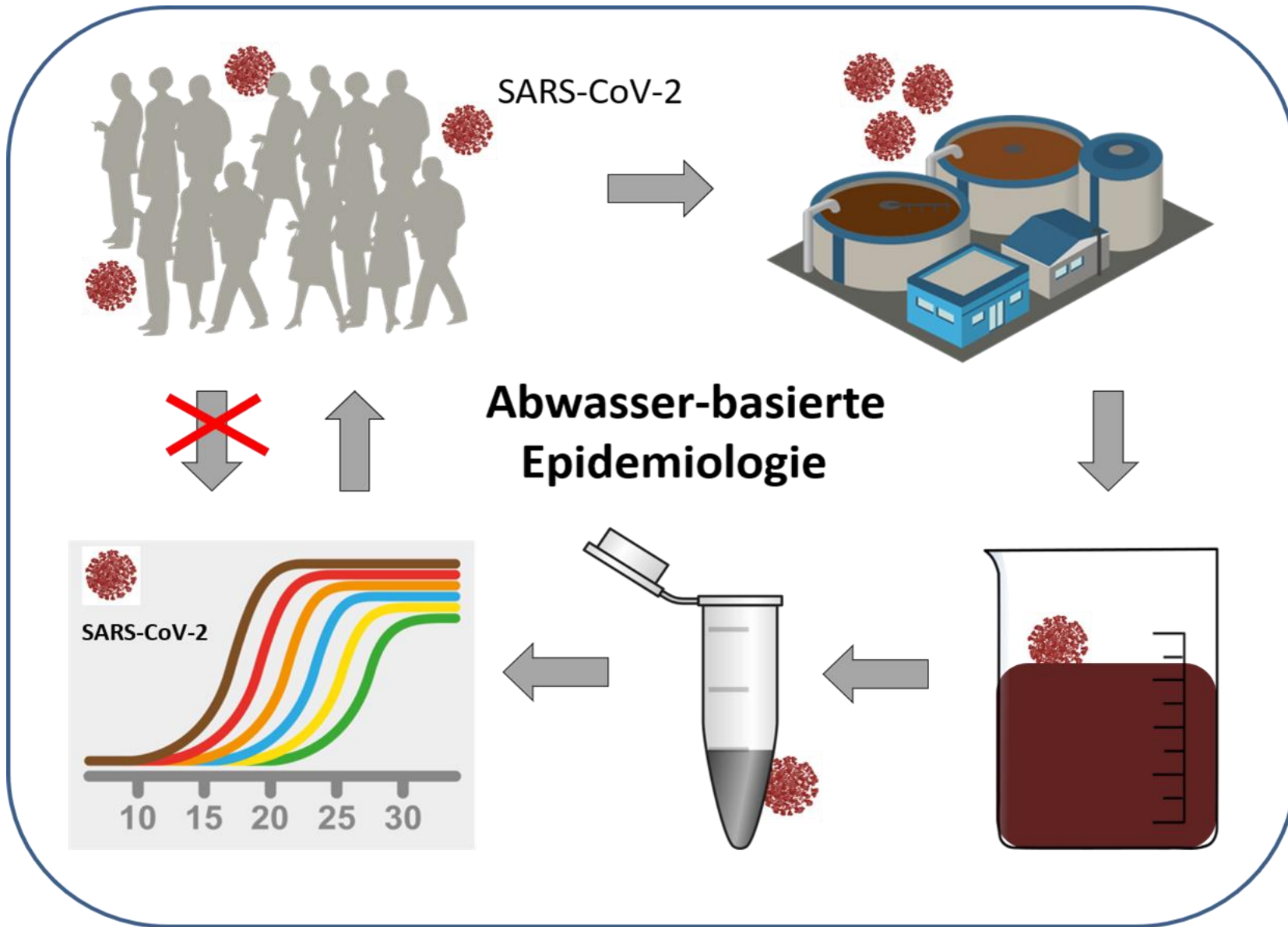
Extraktion der viralen
Nukleinsäuren
100-200 µl



SARS-CoV-2
Real-time RT-PCR
10 µl

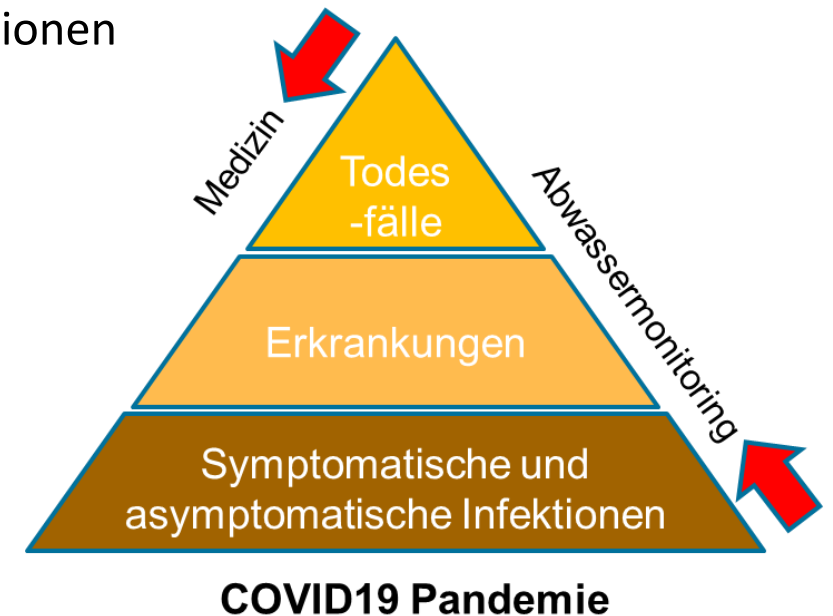
**Allgemeine Ausgangslage: Infektionsrisiko gering,
Chancen für Gesundheitsschutz hoch**

- Obwohl das SARS-CoV2 ein respiratorisches ist , konnten in Stuhlproben von Patienten infektiöse Viren nachgewiesen (Xiao et al, 2020; Wölfel et al., 2020)
- **WHO (April 2020): Das Abwasser ist kein relevanter Infektionspfad,** da die SARS-CoV-2 Viren bereits auf dem Weg in die Kläranlage inaktiviert werden. (T_{99.9} = 48-72 hrs; Gundy et al., 2009)
- In der wässrigen und in der festen Phase des Abwassers können aber Bruchstücke der viralen Nukleinsäuren nachgewiesen werden und die Präsenz des Virus in einer Population belegen (Medema et al., 2020)

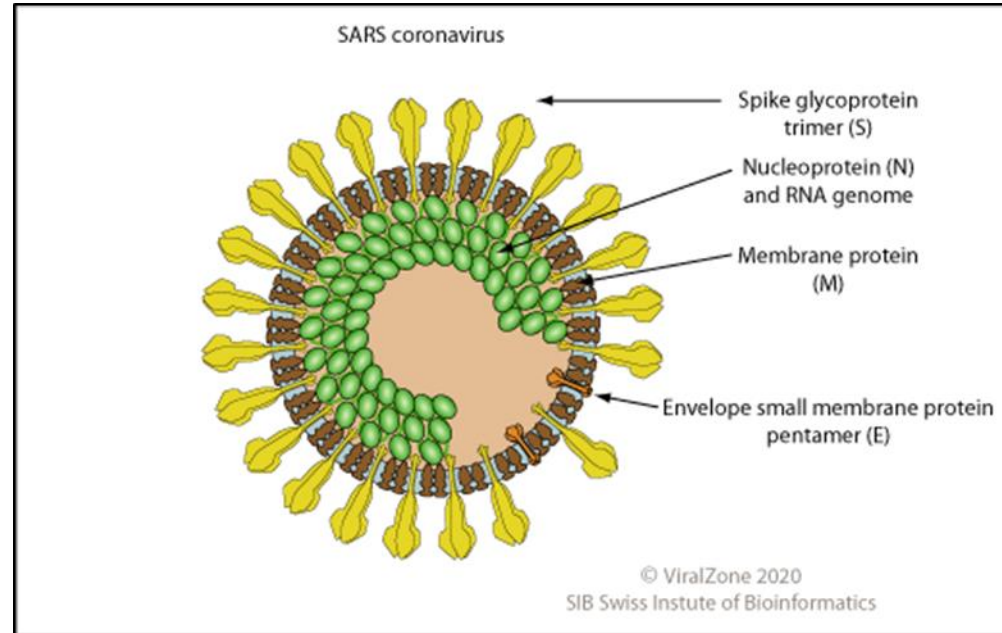
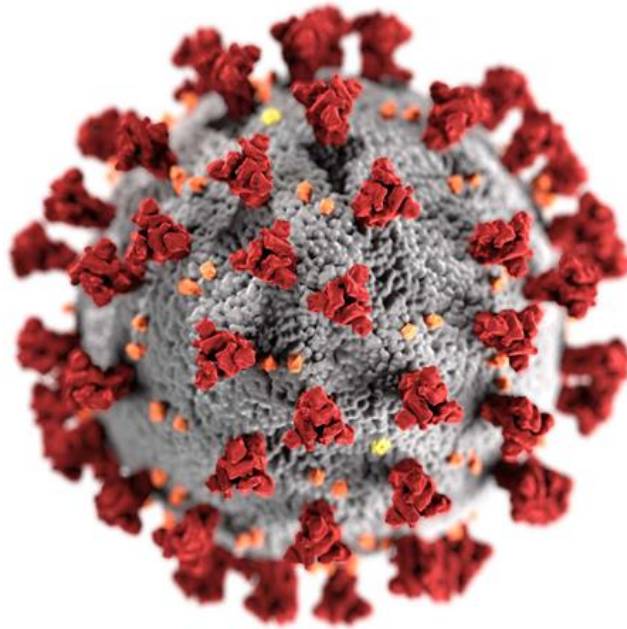


Das SARS CoV-2 Abwassermonitoring-Projekt in Berlin

- UBA in Zusammenarbeit mit den Berliner Wasserbetrieben
- Das Projekt startete im März 2020 vor der ersten SARS-CoV-2 Welle
- In einer großen Kläranlage in Berlin, die das Abwasser von ca. 1,6 Millionen Einwohnern aufnimmt, wurden wöchentlich Proben aus dem Zulauf und dem Ablauf der Kläranlage entnommen
- **Ziele:**
 - Etablierung eines molekularen Testsystems für SARS-CoV-2
 - Anpassung etablierter Methoden für die Virenaufkonzentrierung behüllter Viren
 - Überblick über die Infektionslage in Berlin
 - Welche Ergebnisse kann durch eine wöchentliche Analyse von Stichproben erhalten?

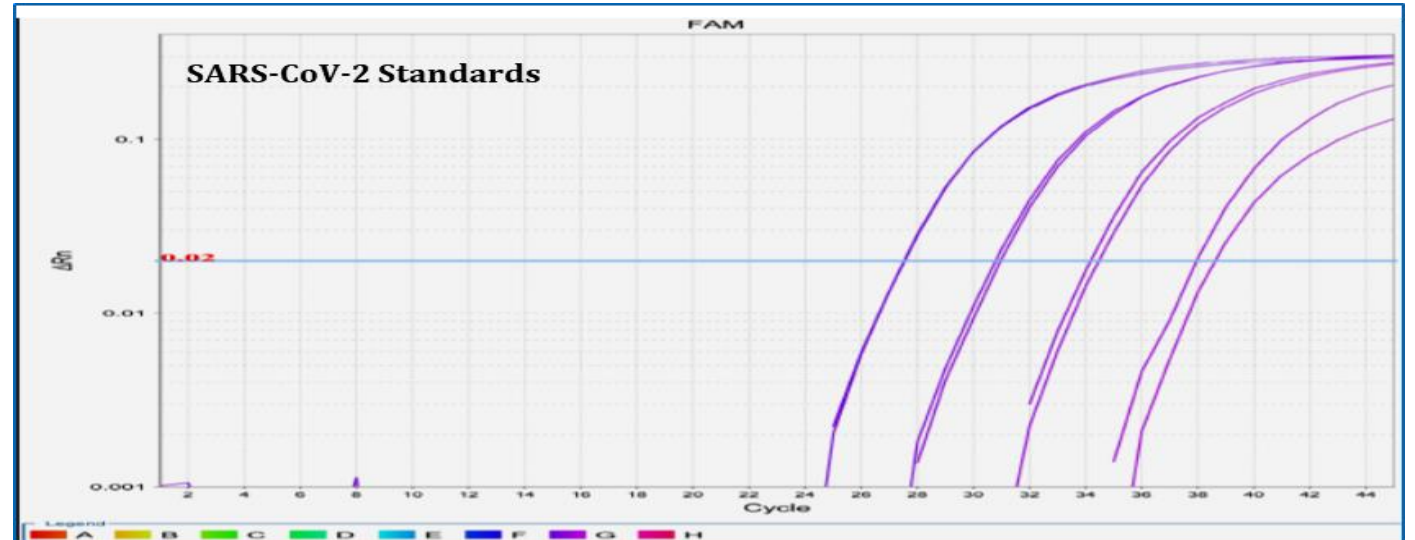
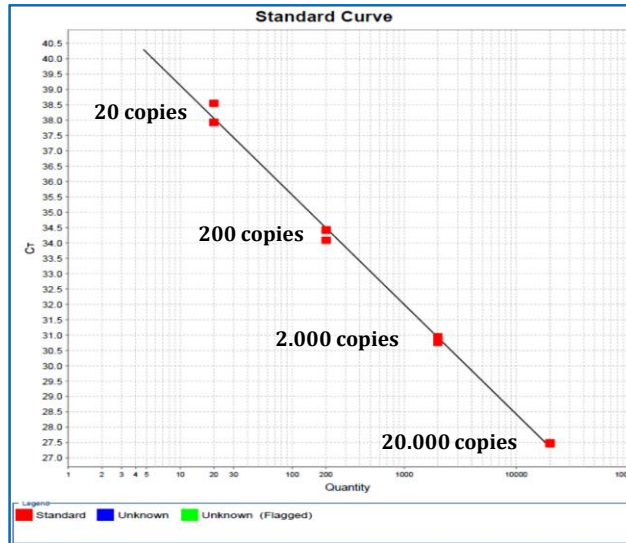


SARS-CoV-2



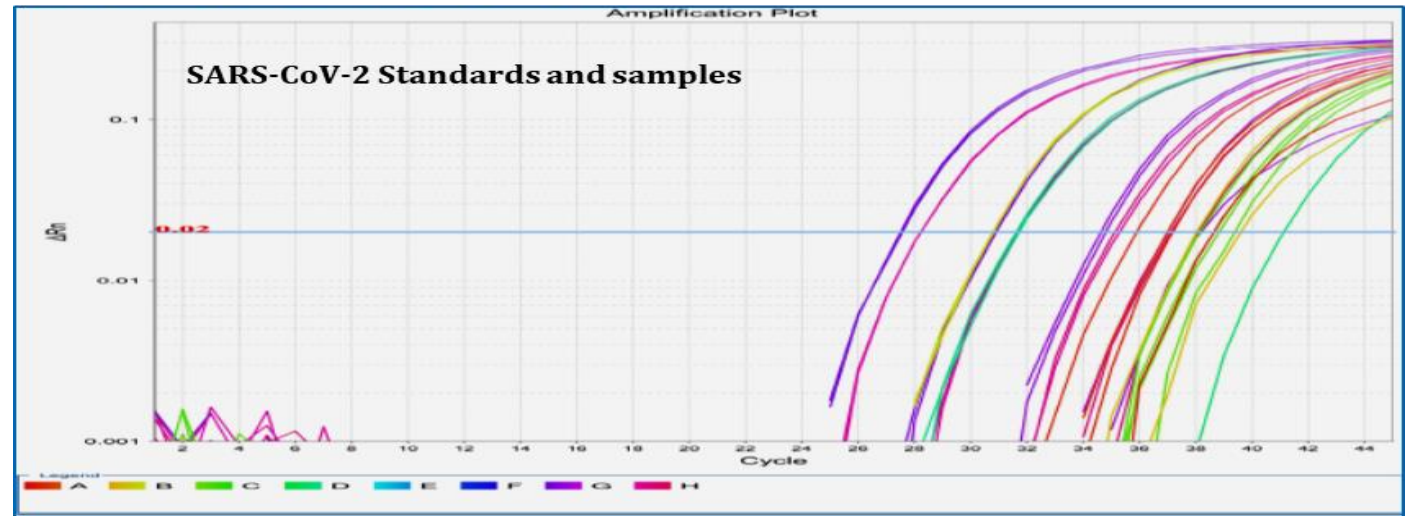
https://externalcontent.duckduckgo.com/iu/?u=https%3A%2F%2Fviralzone.expasy.org%2Fresources%2FSARS2_rawgenome.png&f=1&nofb=1
https://viralzone.expasy.org/resources/Coronavirus_virion2.png

SARS-CoV-2 Real-time qRT-PCR im Bereich des Nucleocapsidgens (N1 und N2 Primer)



Sars-CoV-2	N1	N2
Primer:	2019-nCoV _N1-F 2019-nCoV _N1-R	_N2-F _N2-R
TaqMan-Sonde:	2019-nCoV _N1-P	_N2-P
Standard:	2019-nCoV_N Positives Kontrollplasmid	

SARS-CoV-2 PCR: S-2 Labor
 SARS-CoV-2 Virusanzucht: S-3 Labor



Wird SARS-CoV-2 in der Kläranlage weiter eliminiert?



Kläranlagenzulauf			Kläranlagen Ablauf		
Probe	Sars-CoV-2 (N1)	Sars-CoV-2 (N2)	Probe	Sars-CoV-2 (N1)	Sars-CoV-2 (N2)
MR 78-20	positiv	positiv	MR 79-20	negativ	negativ
MR 82-20	positiv	positiv	MR 23-20	negativ	negativ
MR 05-21	positiv	positiv	MR 06-21	negativ	negativ
MR 09-21	positive	positiv	MR 10-21	negativ	negativ
MR 13-21	positiv	positiv	MR 14-21	negativ	negativ
MR 17-21	positiv	positiv	MR 18-21	negativ	negativ
MR 21-21	positiv	positiv	MR 22-21	negativ	negativ
MR 24-21	positiv	positiv	MR 25-21	negativ	negativ
MR 27-21	positiv	positiv	MR 28-21	negativ	negativ

**Aufkonzentrierte Probe
(100-250 ml)**

KA Zulauf: positiv

KA Ablauf: negativ



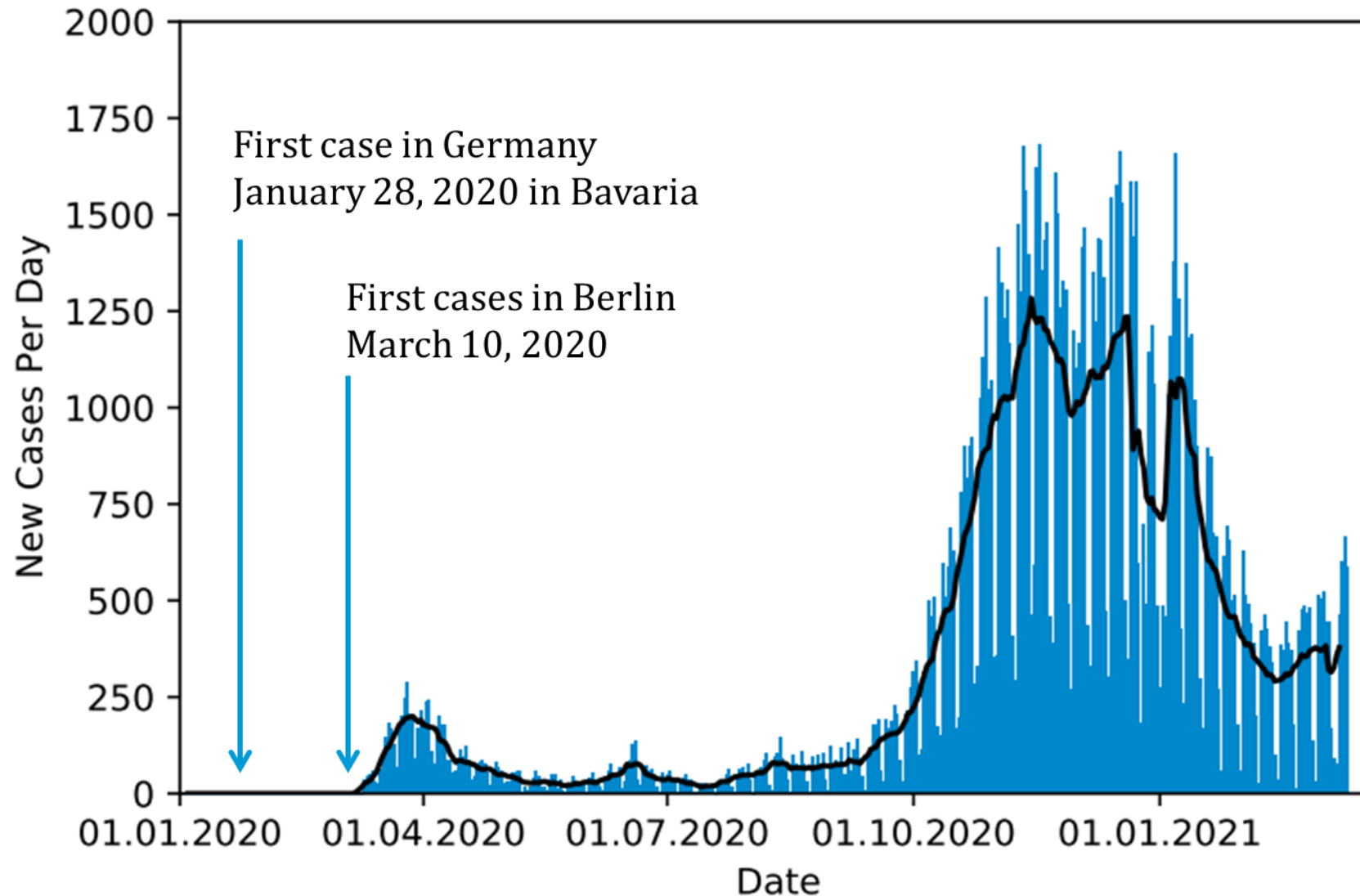
Kläranlagenzulauf			Kläranlagen Ablauf		
Sample	Sars-CoV-2 (N1)	Sars-CoV-2 (N2)	Sample	Sars-CoV-2 (N1)	Sars-CoV-2 n (N2)
MR 78-20	positiv	positiv	MR 79-20	negative	negativ
MR 82-20	positiv	positiv	MR 23-20	negativ	negativ
MR 05-21	negativ	negativ	MR 06-21	negativ	negativ
MR 09-21	positiv	positiv	MR 10-21	negativ	negativ
MR 13-21	positiv	negativ	MR 14-21	negativ	negativ
MR 17-21	positiv	positiv	MR 18-21	negativ	negativ
MR 21-21	positiv	positiv	MR 22-21	(positiv)	negativ
MR 24-21	positiv	positiv	MR 25-21	negativ	negativ
MR 27-21	negativ	negativ	MR 28-21	negativ	negativ

**Direktprobe
(5 ml)**

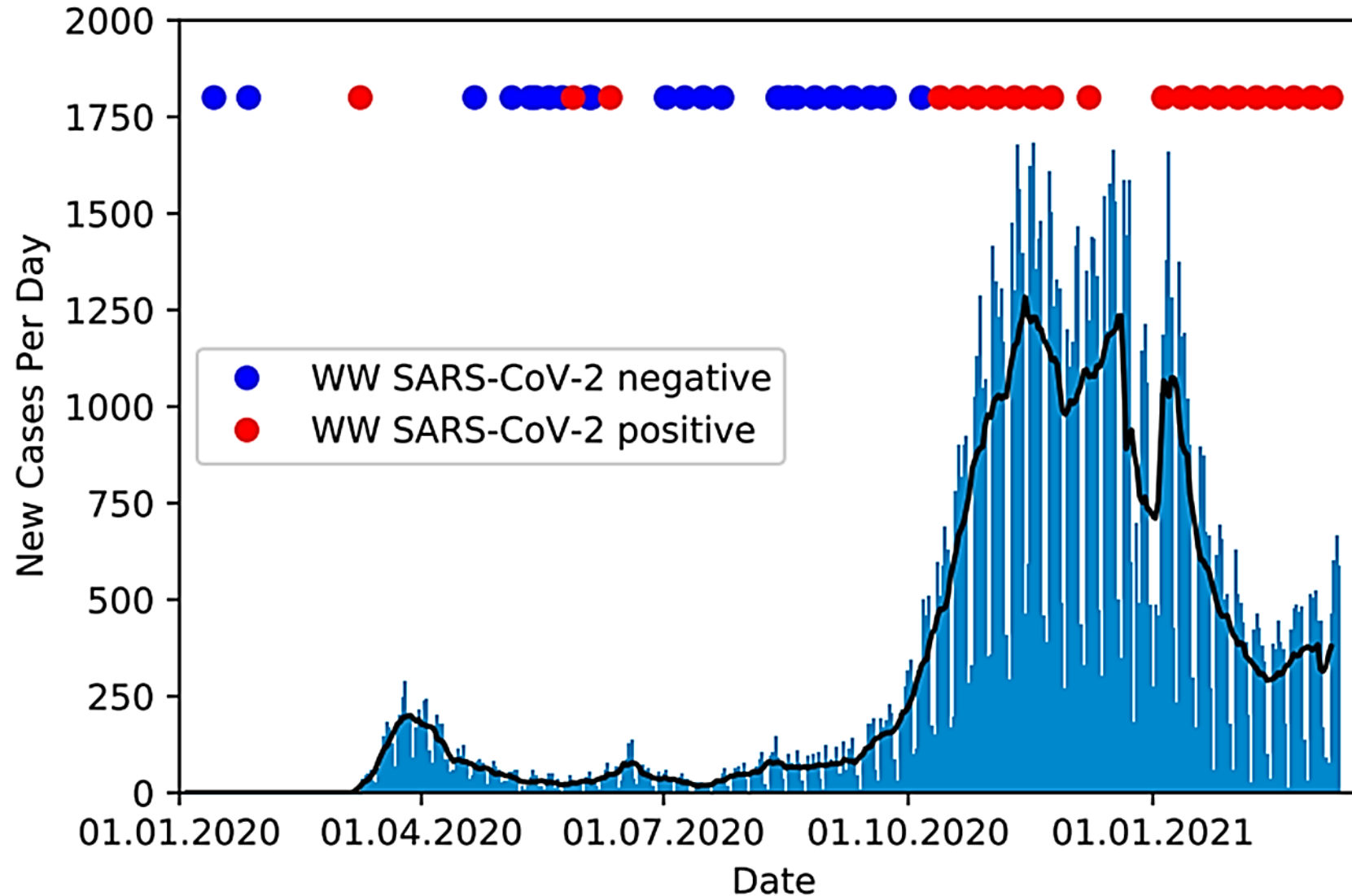
KA Zulauf: positiv

KA Ablauf: negativ

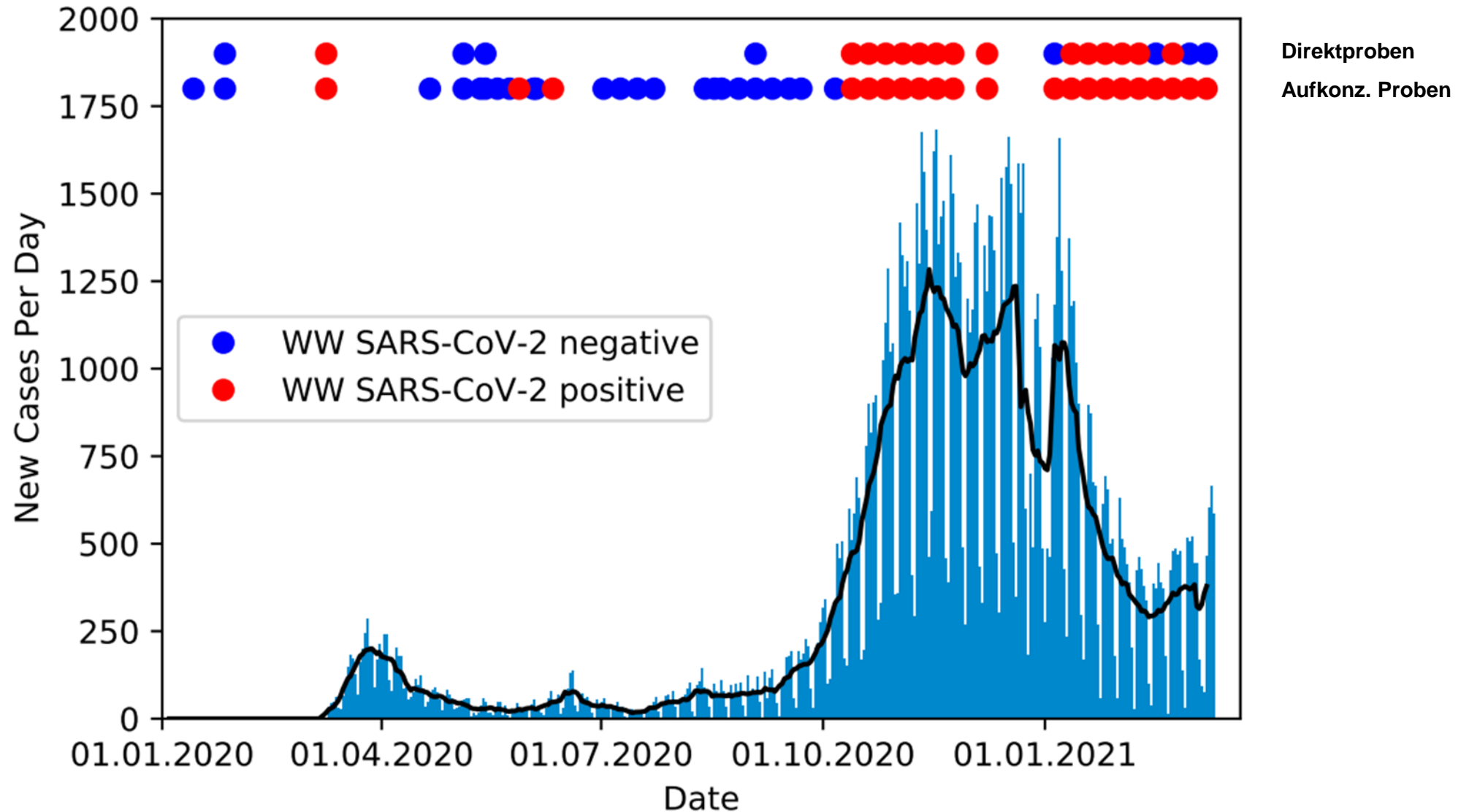
Tägliche SARS-CoV-2 Infektionsfälle in Berlin



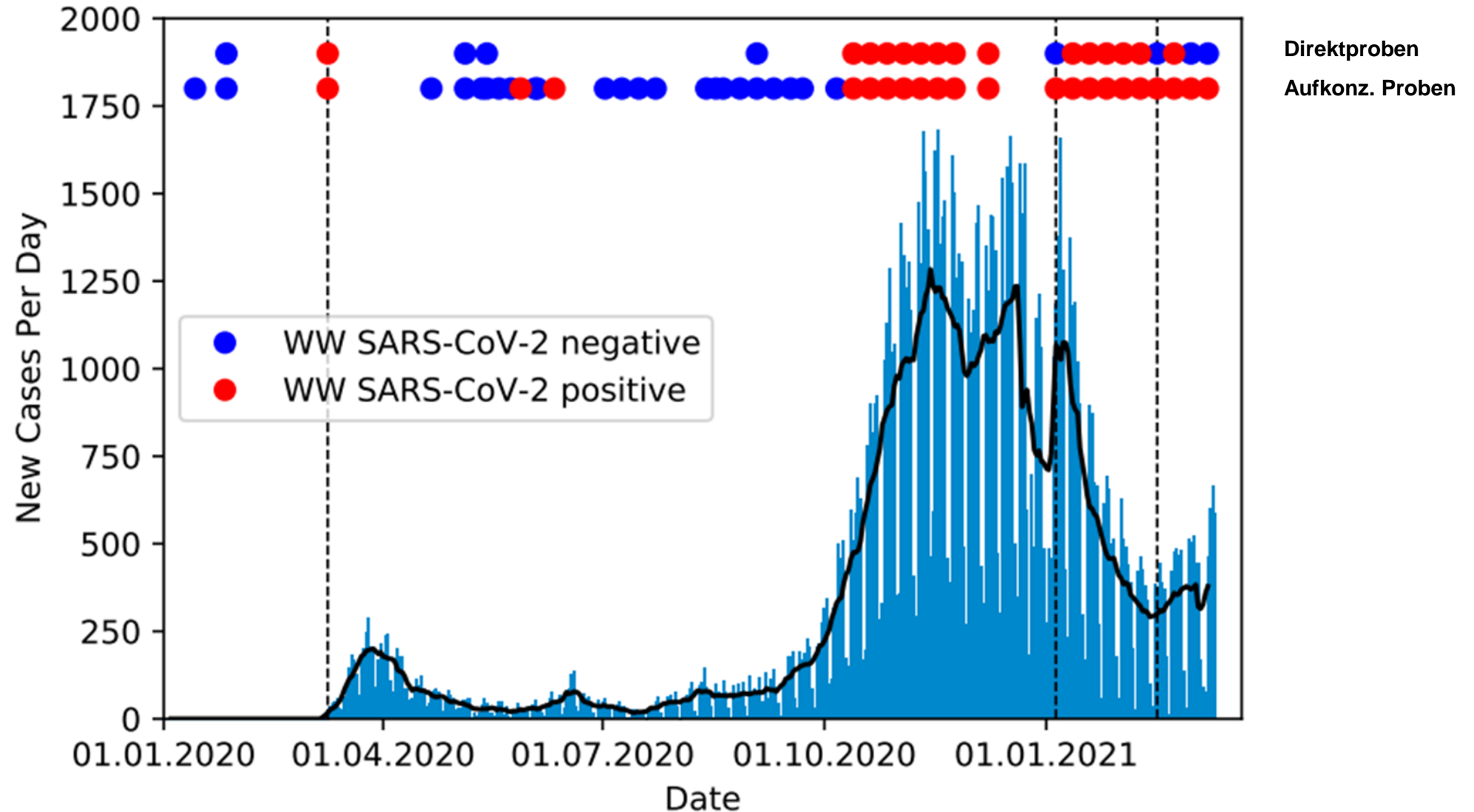
Tägliche SARS-CoV-2 Infektionsfälle in Berlin und RT-qPCR Resultate (N1 and N2) aus Abwasserproben



Tägliche SARS-CoV-2 Infektionsfälle in Berlin und RT-qPCR Resultate (N1 and N2) aus Abwasserproben

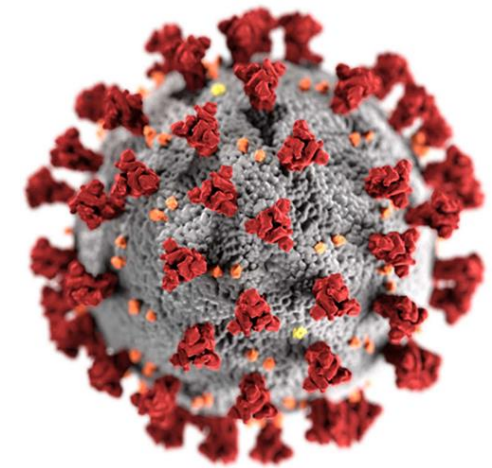
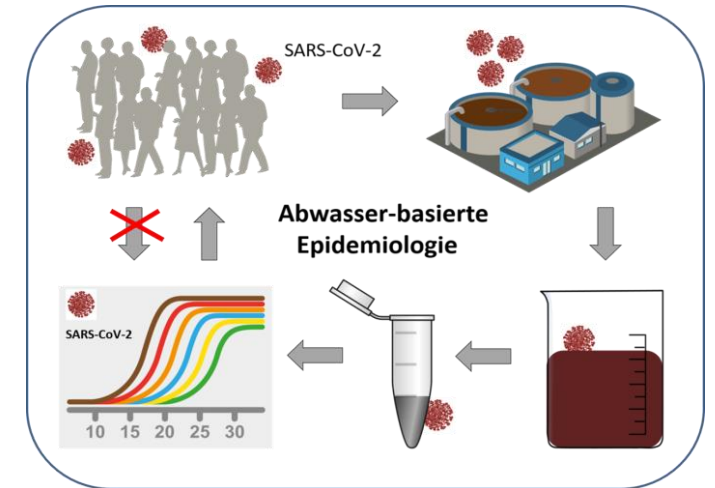


Tägliche SARS-CoV-2 Infektionsfälle in Berlin und RT-qPCR Resultate (N1 and N2) aus Abwasserproben

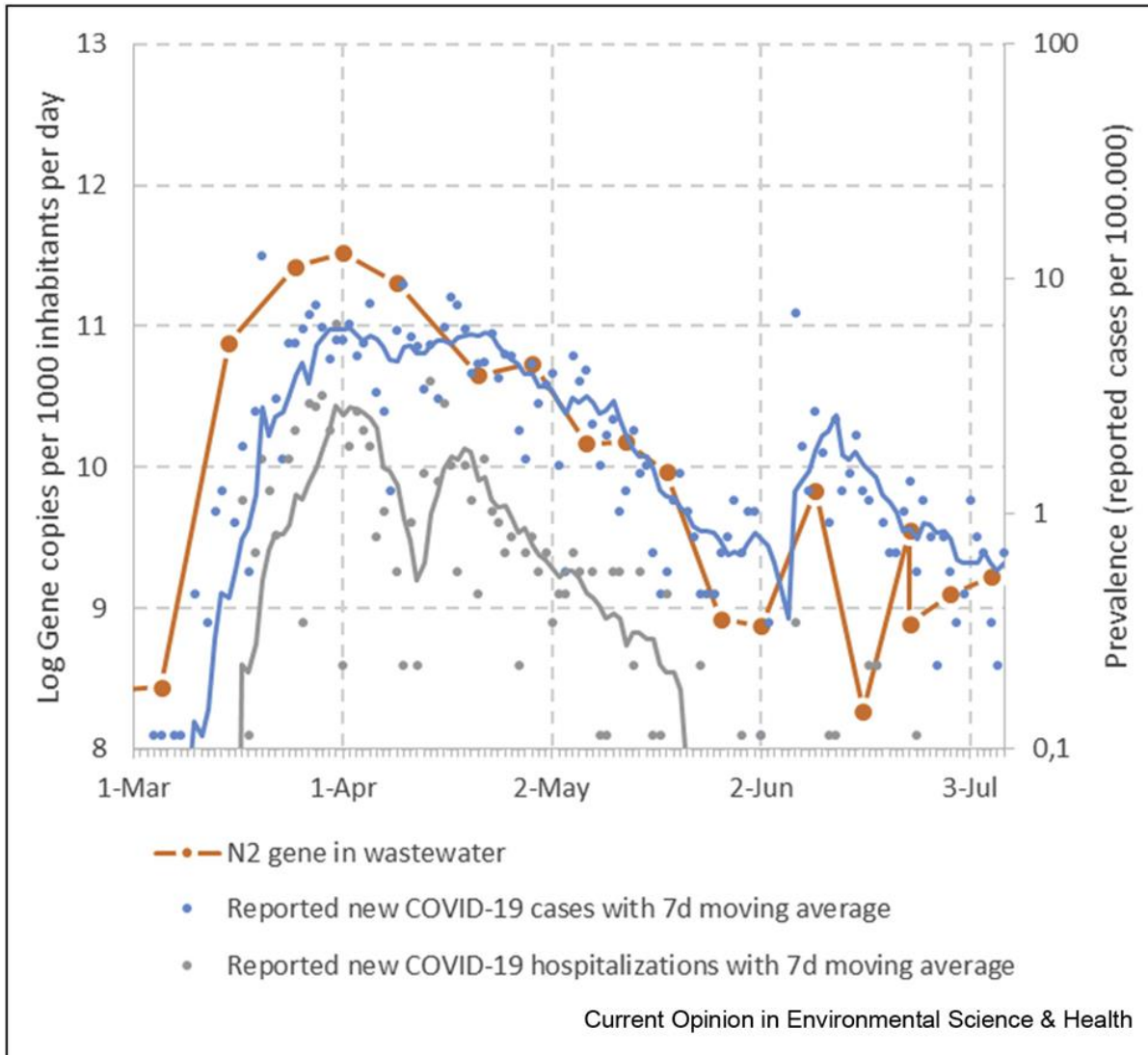


Weiteres Vorgehen zur Etablierung eines Frühwarnsystems:

1. Bestimmung der **Viruskonzentrationen (Genkopien/L)**
2. **Normierung** der Konzentrationen (Vergleich mit Kontrollvirus)
3. Berechnung der **Viruslasten (Genkopien/L x Abwasservolumen/Tag)**
4. Vergleich mit lokalen Inzidenzzahlen (Fälle/100.000 Einwohner)
5. **Modellierung und Trendanalysen**
6. **Vernetzung mit Politik und Gesundheitssystem**



Beispiel für die Nutzung der Abwasser-basierten Epidemiologie als Frühwarnsystem in Amsterdam, NL



Available online at www.sciencedirect.com

ScienceDirect

Current Opinion in
Environmental Science & Health

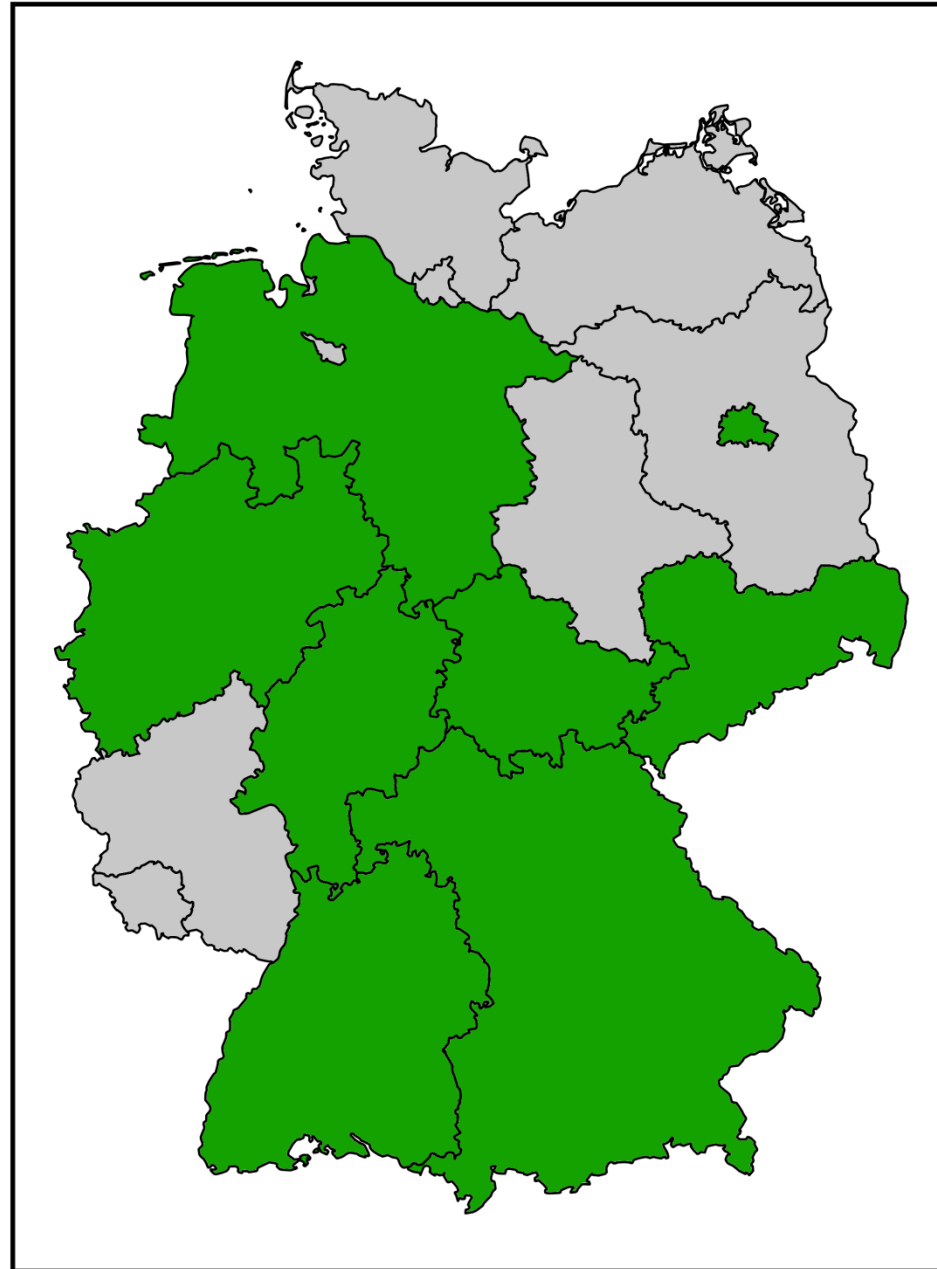
Implementation of environmental surveillance for SARS-CoV-2 virus to support public health decisions: Opportunities and challenges

Gertjan Medema^{1,2,3}, Frederic Been¹, Leo Heijnen¹ and Susan Petterson^{4,5}

Current Opinion in Environmental Science & Health 2020, 17:49–71

Figure 7: Comparison of sewage surveillance data and prevalence data for Amsterdam, The Netherlands, from Mar 1 to Jul 8, 2020. Load of SARS-CoV-2 RNA (N2 gene assay) in wastewater at the inlet of the Amsterdam WWTP (orange line and points). Prevalence of laboratory-confirmed COVID-19 cases (blue points), with 7d moving average (blue line) and of COVID-19 hospitalizations (grey points, grey line).

Bauhaus Univ. Weimar
HS Hamm-Lippstadt
LU Hannover
RWTH Aachen
Stadtentw. Köln
Stadtentw. Dresden
TU München
TU Darmstadt
TU Dresden
TZW Karlsruhe
UFZ Leipzig
Univ. Frankfurt
UBA
...



**In Deutschland
sind derzeit
Arbeitsgruppen aus
8 der 16
Bundesländer
aktiv am
Aufbau eines
SARS-CoV-2
Monitoring-Systems
beteiligt.**

- Probenahmen
- Analysen/Ringversuche
- Modellierungen
- Umsetzung in die Praxis
- Grundlagen für zukünftige Pandemien

Fazit

Eine landesweite Anwendung des SARS-CoV-2 Monitorings im Abwasser ist nicht einfach in einem Land mit **mehr als 9.000 Kläranlagen**, aber bereits etablierte lokale Anwendungen in Deutschland sind vielversprechend hinsichtlich des **Aufbaus eines WBE Netzwerks**.

Das vom UBA getestete minimale Screening-Verfahren mit wöchentlichen Stichproben und **positiv/negativ Ergebnissen** kann bereits **erste Trends** im lokalen Infektionsgeschehen anzeigen und könnte nach einfachen schrittweisen Verbesserungen z.B. in kleinen kommunalen Kläranlagen erste Messungen im Verlauf der Pandemie ermöglichen.

Das **komplexere SARS-CoV-2 WBE Monitoring** nach dem niederländischen Modell , das auch schon in Deutschland vereinzelt erfolgreich angewandt wird, hat das **Potenzial zu einem lokalen Frühwarnsystem** und könnte zu einem hilfreichen zusätzlichen Tool für die Gesundheitsvorsorge werden, nicht nur während der Pandemie sondern auch in der post-pandemischen Phase.

Dieses Potenzial hat die EU früh erkannt:



2020-05-08

CALL NOTICE

Feasibility assessment for an EU-wide Wastewater Monitoring System for SARS-CoV-2 Surveillance

The European Commission's Joint Research Centre and the Directorate-General for Environment, are teaming up with the EU Hackathon's winners SEWERS4Covid (the Dutch Water Research Institute KWR, Eurecat – Technology Centre of Catalonia (Spain), University of Thessaly and National Technical University of Athens (Greece), and University of Exeter (UK) and the Rheinisch-Westfälische Technische Hochschule in Aachen RWTH (DE). Assisted by Water Europe and EurEau we call for participation in an *adhoc* pan-European Feasibility Assessment aiming at exploring the development of a wastewater-based monitoring exercise for SARS-CoV-2 and exchange of experiences in SARS-CoV-2 monitoring in wastewater.

Evidence is increasing that untreated wastewater is a good indicator of the presence of the virus in a population. The ability to detect the current SARS-CoV-2 in wastewater is increasingly being reported independently by various research groups as a possible way to better quantify and understand its approximate overall presence in the population. Upon the first confirmation of the virus RNA appearing in stools of COVID-19 patients, research groups in the Netherlands, Australia, United States, France, Italy, Austria and elsewhere have successfully established a relationship between the virus's concentration in influents to wastewater treatment plant and the level of infection in the population in question. Thus, wastewater surveillance of SARS-CoV-2 eventually combined with the monitoring of pharmaceuticals used in the treatment of COVID-19 is likely to be a valuable and efficient tool to monitor virus circulation in EU cities and towns and could serve as early warning for re-emergence in Europe and beyond, providing also specific data analytics on the monitoring. In order to gather the ongoing efforts and to streamline protocols while facilitating the exchange of knowledge, interested research groups are invited to contact **immediately** the Joint Research Centre at JRC-WATERLAB@ec.europa.eu.

2021-03-17

COMMISSION RECOMMENDATION

of 17.3.2021

on a common approach to establish a systematic surveillance of SARS-CoV-2 and its variants in wastewaters in the EU

THE EUROPEAN COMMISSION,

Having regard to the Treaty on the Functioning of the European Union, and in particular Article 292 thereof,

Whereas:

- (1) According to Article 168(7) of the Treaty on the Functioning of the European Union¹, the 'definition of health policy', as well as the 'organisation and delivery of health services and medical care' remain a national power. Member States are therefore responsible for deciding on the strategies to track the presence of SARS-CoV-2 in their populations, taking into consideration their epidemiological and social situations.
- (2) As announced on 11 November 2020², the Commission intends to propose the establishment of a Health Emergency Preparedness and Response Authority (HERA) that will strengthen the Union's preparedness and response capability for new and emerging cross-border threats to human health. HERA's mission will be to enable the Union and its Member States to rapidly deploy the most advanced medical and other counter measures in the event of a public health emergency, by covering the whole value chain from conception to distribution and use.
- (3) This year the Commission is launching several preparatory actions that will lay the groundwork for HERA and serve as a blueprint for the Union's long-term preparedness for public health emergencies. On 17 February 2021, the Commission adopted a European bio-defence preparedness plan 'HERA Incubator', which sets out a proposal for immediate action to prepare Europe against the increased threat of SARS-CoV-2 variants³.

COMMISSION RECOMMENDATION OF 17.3.2021
COMMON APPROACH TO ESTABLISH A SYSTEMATIC SURVEILLANCE
OF SARS-COV-2 AND ITS VARIANTS IN WASTEWATERS IN THE EU

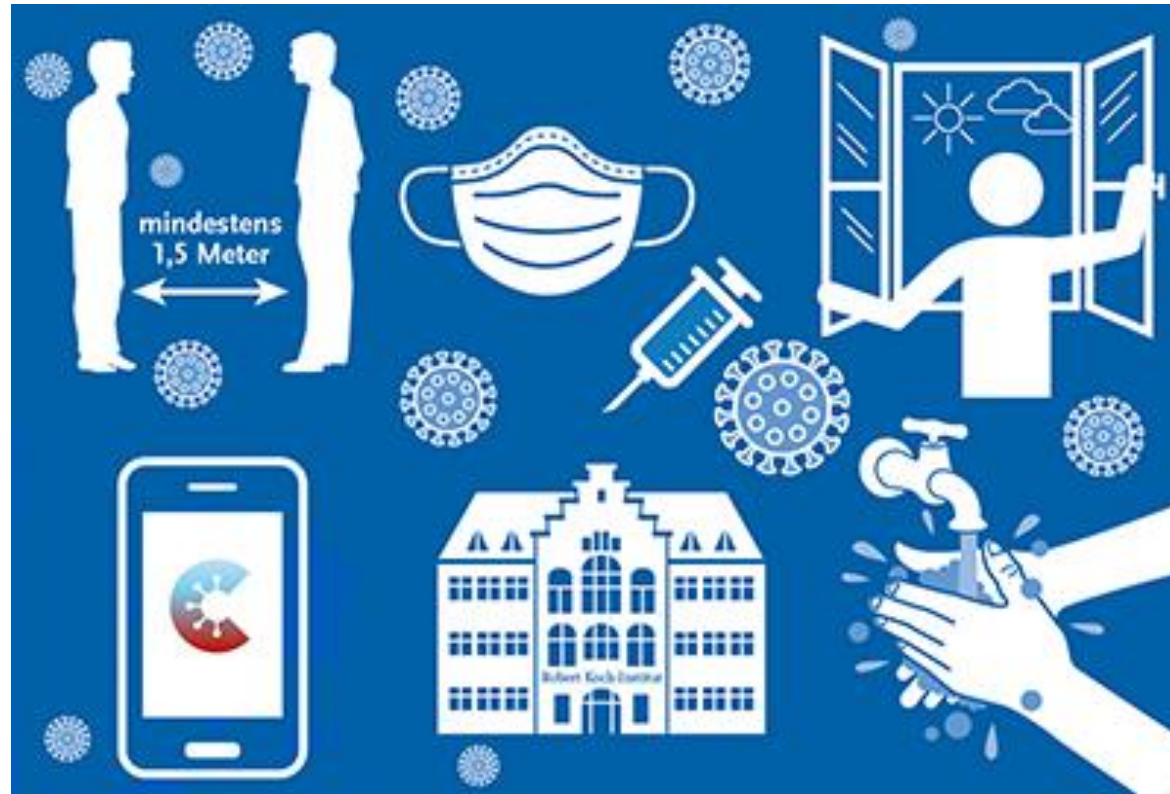


Was **solte** gemacht werden:

1. **Nationale Überwachungssysteme für Viren/Virusvarianten im Abwasser** sollten möglichst bis zum **01. Oktober 2021** etabliert werden
2. Die Abwasser-Überwachung sollte einen Großteil der Bevölkerung betreffen.
3. Zumindest das Abwasser von **Städten mit >150.00 Einwohner** sollte überwacht werden (möglichst 2x pro Woche)
4. Die Probenahmefrequenz sollte der epidemiologischen Situation angepasst werden
5. Die Messergebnisse sollten möglichst **innerhalb von 48 Stunden** an die Gesundheitsbehörden bzw. an die **europäische Informationsplattform** gemeldet werden

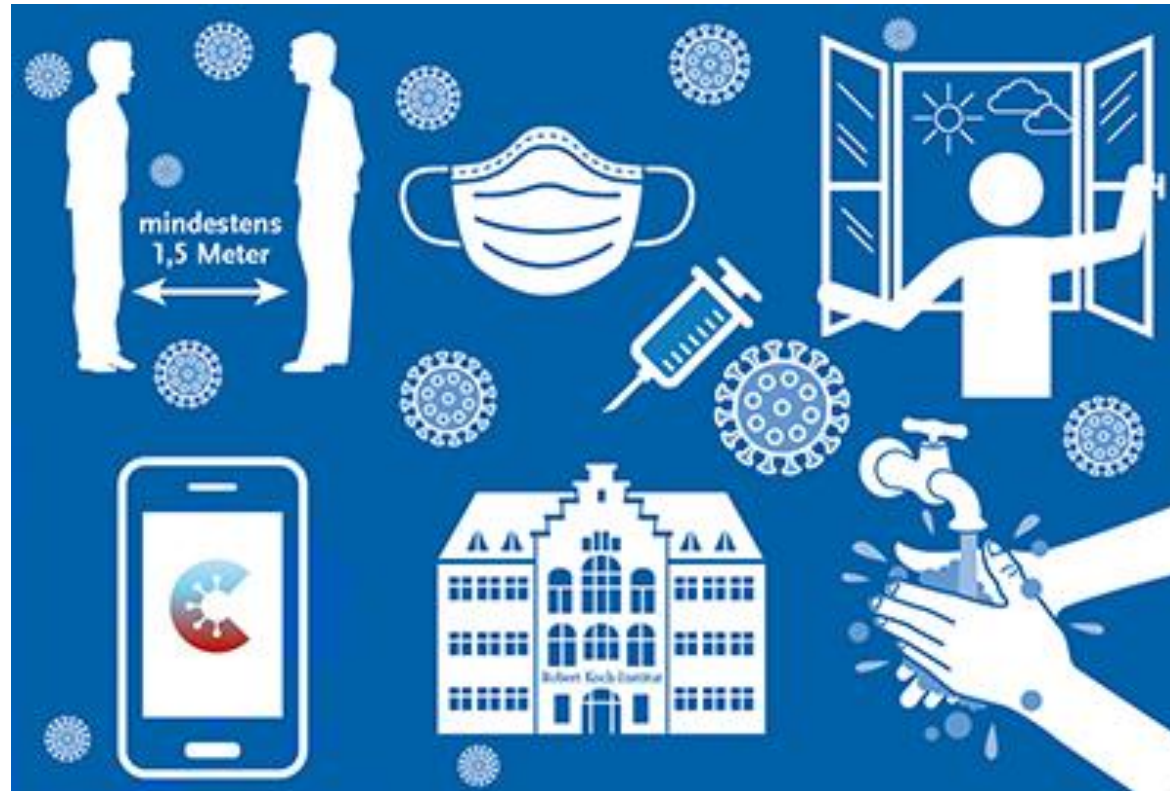
(Maßnahmen im Rahmen des 'European bio-defence preparedness plan: **HERA Incubator**)
(HERA: Health Emergency and Preparedness and Response Authority)

Maßnahmen zum Gesundheitsschutz während der Pandemie



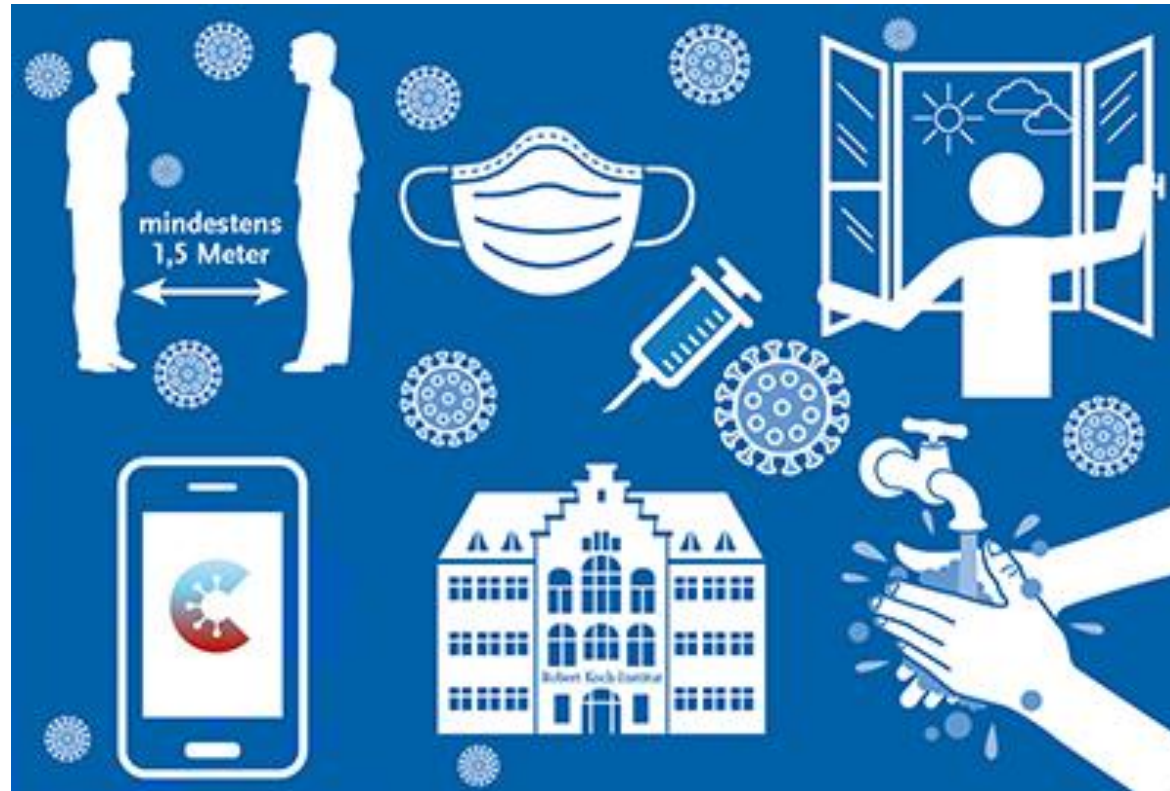
https://www.rki.de/DE/Home/homepage_node.html

Maßnahmen zum Gesundheitsschutz während der Pandemie



https://www.rki.de/DE/Home/homepage_node.html

Maßnahmen zum Gesundheitsschutz während der Pandemie



https://www.rki.de/DE/Home/homepage_node.html

Vielen Dank für ihre Aufmerksamkeit

Hans-Christoph Selinka

hans-christoph.selinka@uba.de

Besonderen Dank an:

Regine Szewzyk

Steffi Hannemann, Till Fretschner, Christine Arndt, Bettina Süßenbach,
and allen Kollegen und Kolleginnen am UBA und den Berliner Wasserbetrieben