

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

Kira Zachmann



TECHNISCHE  
UNIVERSITÄT  
DARMSTADT

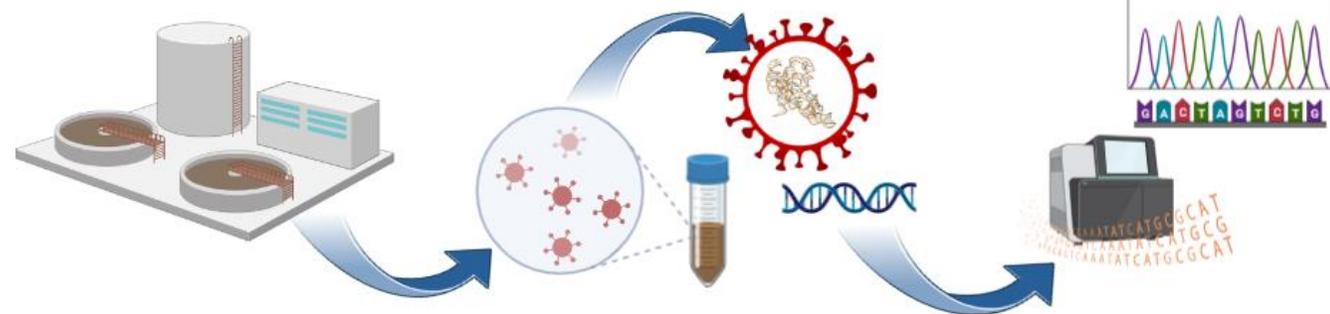
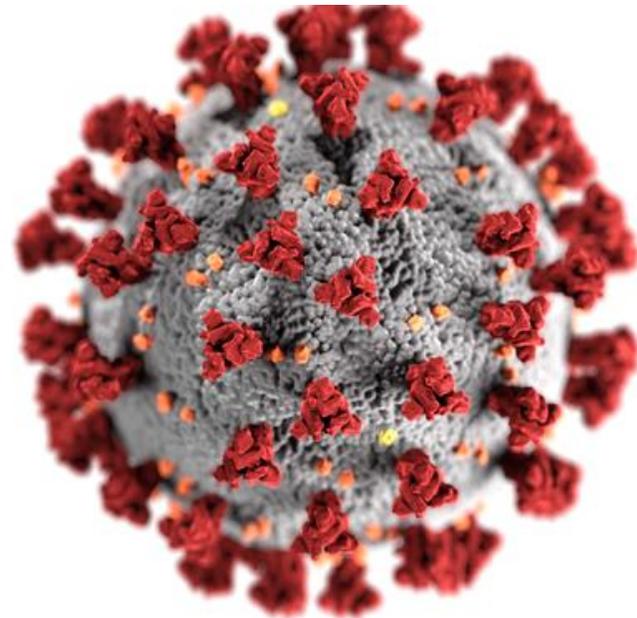
HESSEN



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

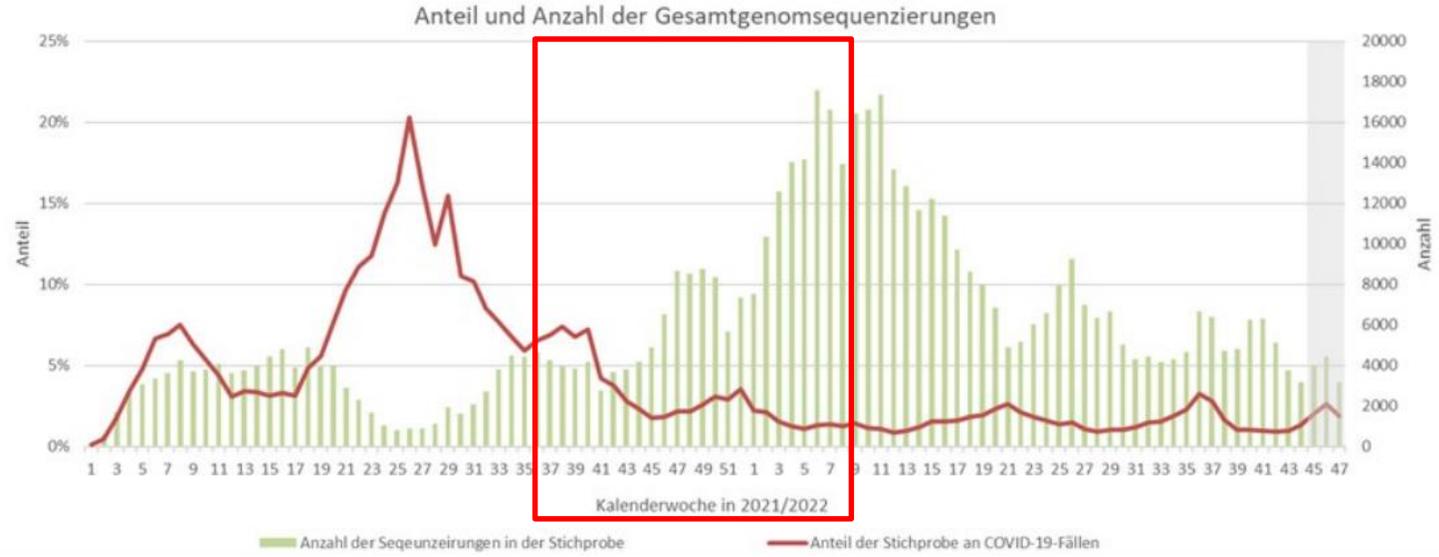


# Hintergrund (Stand: Ende Dezember 2022)

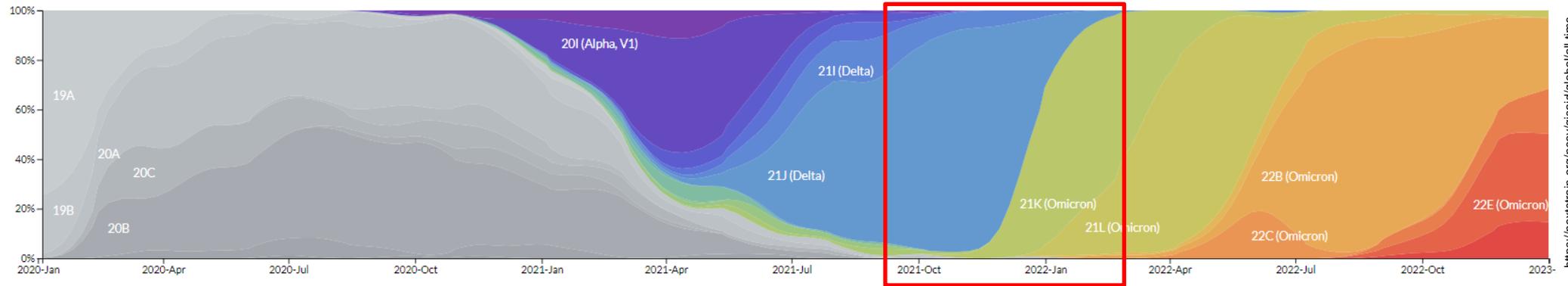
Masterarbeit Stand:  
Mitte Februar 2022!



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

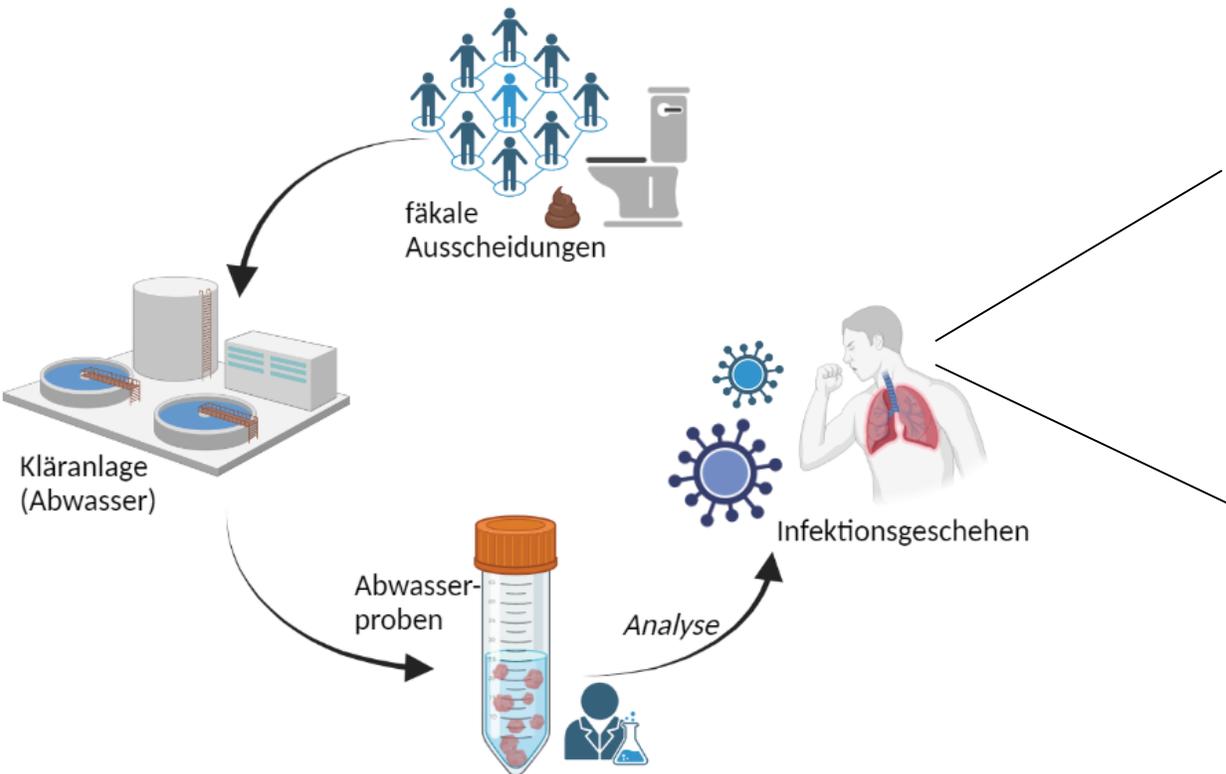


[https://www.rki.de/DE/Content/InfAZ/N/Neuartiges\\_Coronavirus/Situationsberichte/Wochenbericht/Wochenbericht\\_2022-12-08.pdf?\\_\\_blob=publicationFile](https://www.rki.de/DE/Content/InfAZ/N/Neuartiges_Coronavirus/Situationsberichte/Wochenbericht/Wochenbericht_2022-12-08.pdf?__blob=publicationFile)  
(Abgerufen am 29 Dezember 2022)

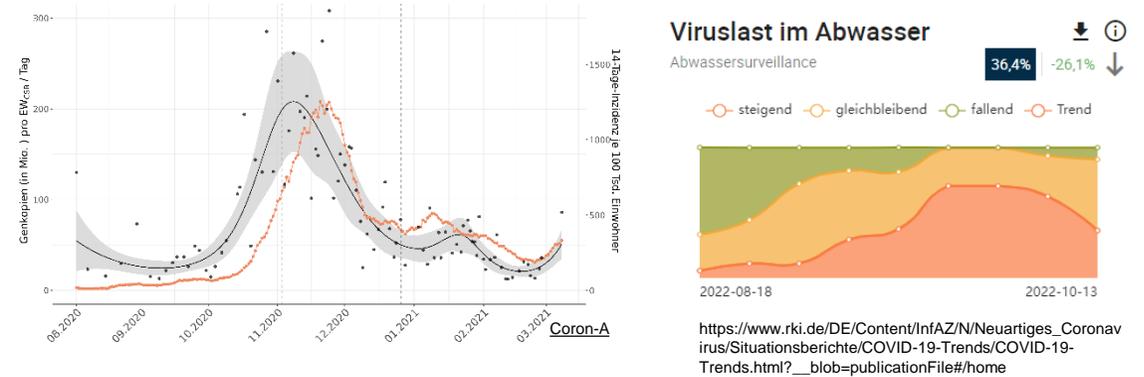


<https://nextstrain.org/ncov/gisaid/global/all-time>  
(Abgerufen am 29 Dezember 2022)

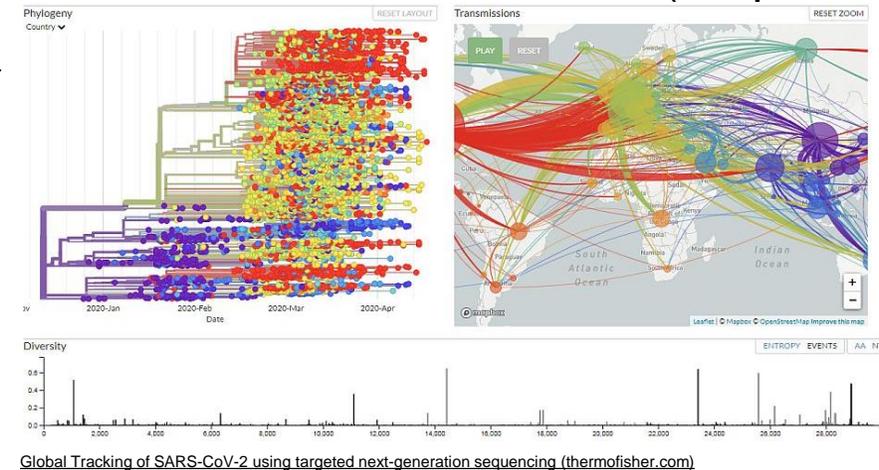
# Abwasserbasiertes Monitoring



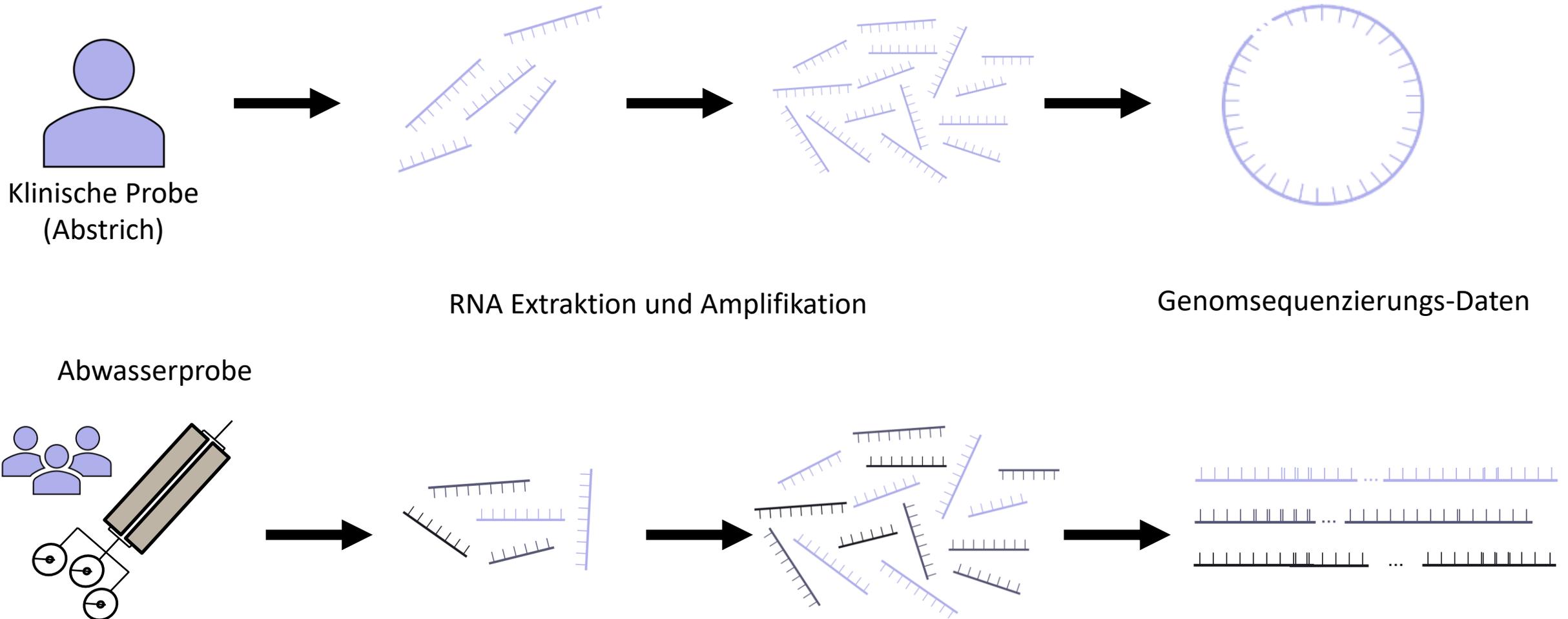
## → Trends des Infektionsgeschehens (PCR)



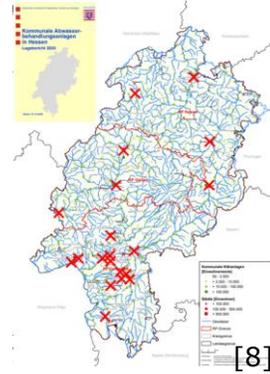
## → Virusvarianten, Mutationen (Sequenzierung)



# Ansatz der Genomsequenzierung

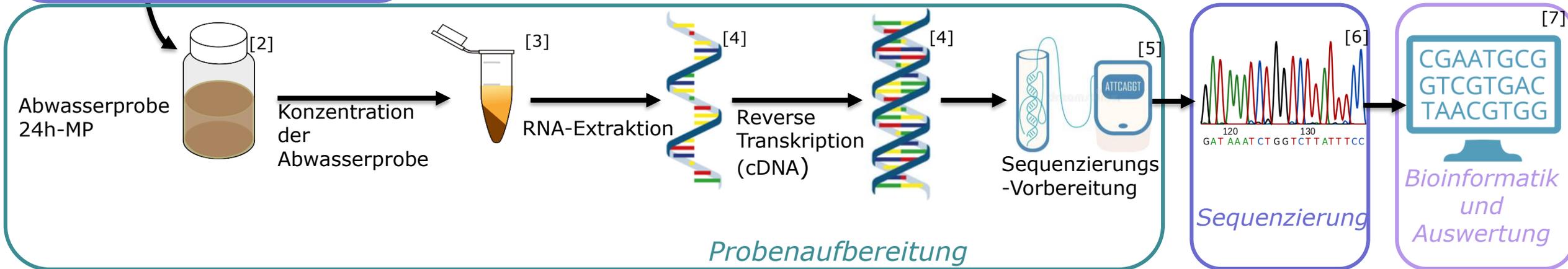


# Methodenschritte



## Projekt:

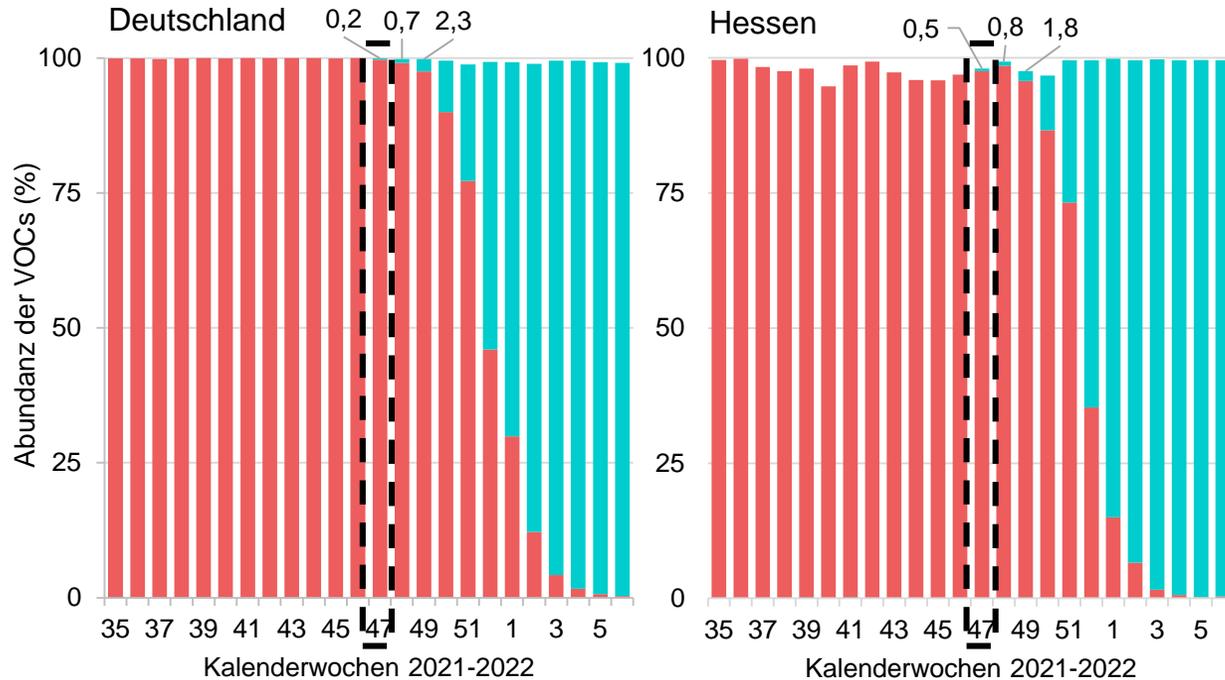
- Regelmäßige Beprobung von 22 hessischen Kläranlagen unterschiedlicher GKs
- Insgesamt über 2,6 Mio. Einwohner = ca. 42% der hessischen Bevölkerung



[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](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)



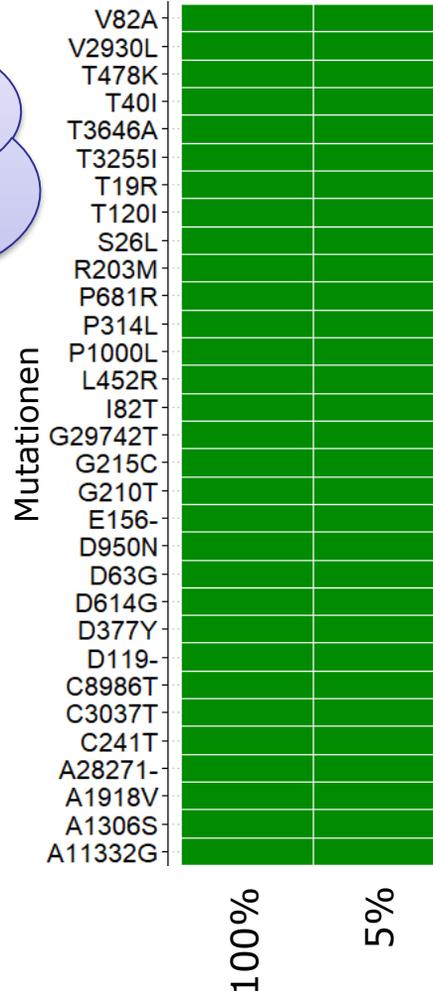
## Abwasserbasierte Daten



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

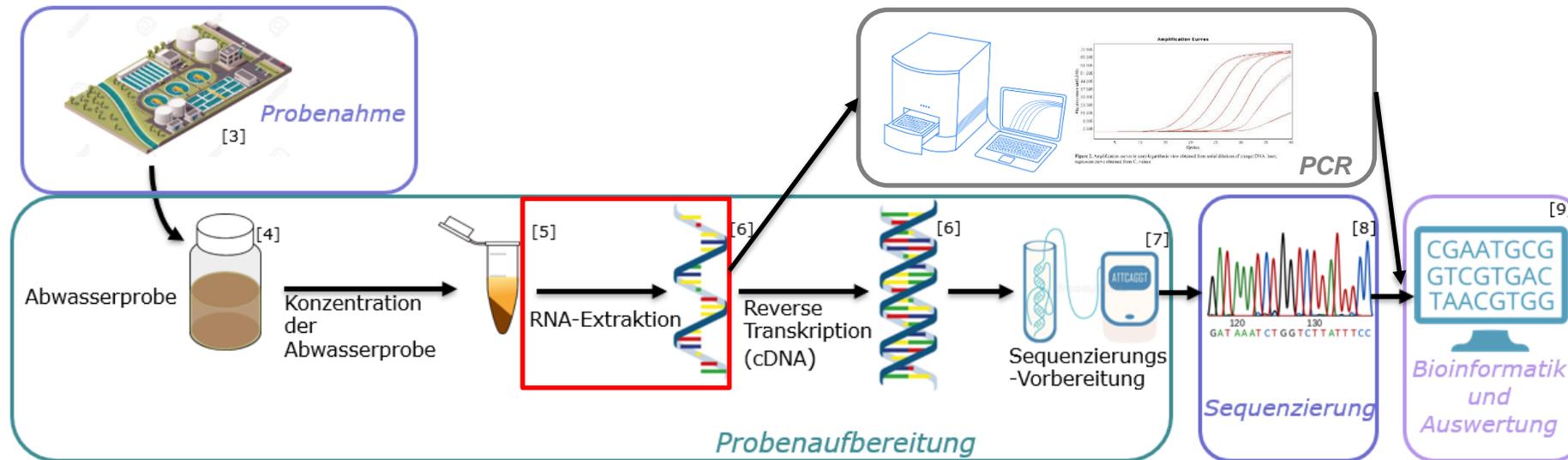
# Normalisierung der Konzentrationen

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

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

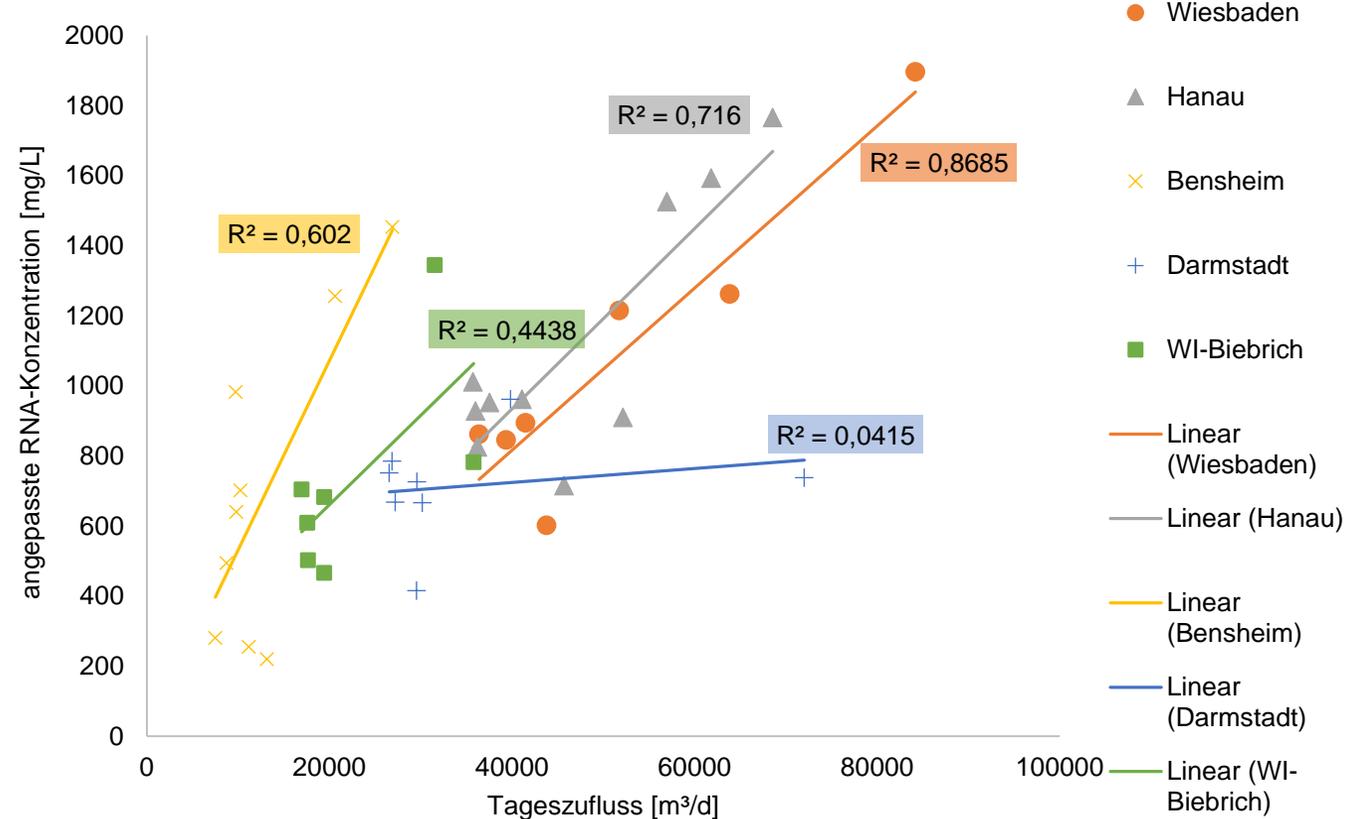
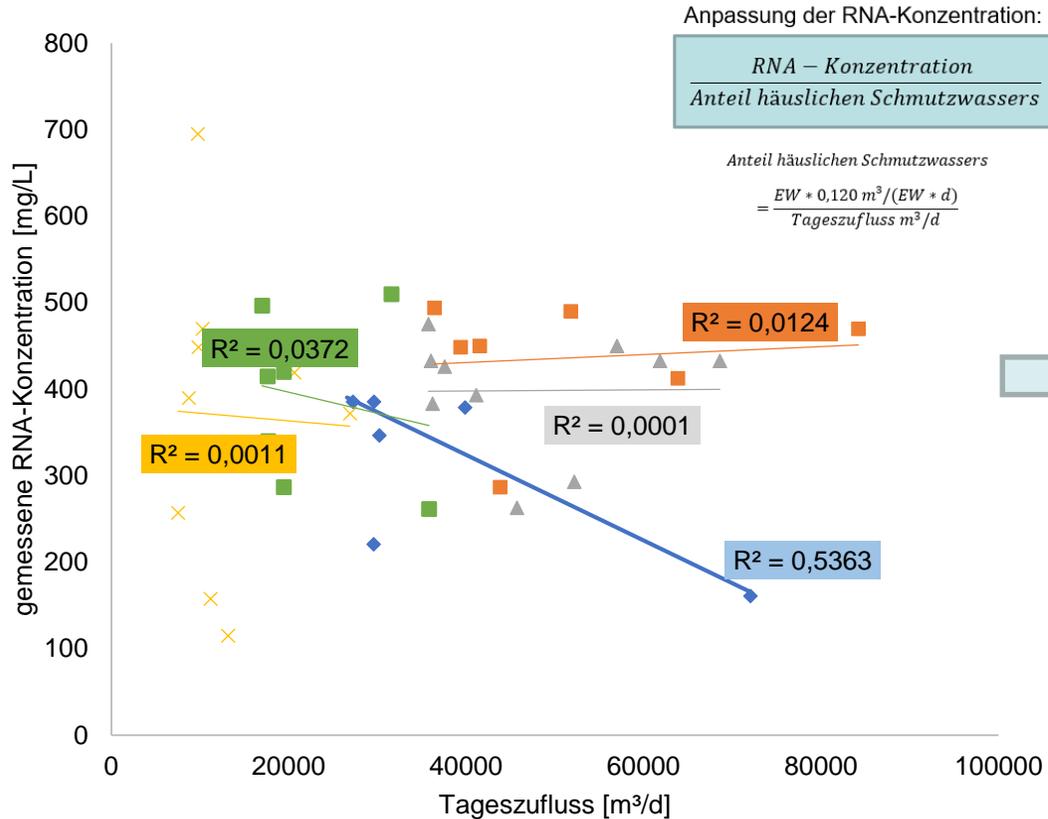
## Normalisierung der **RNA-Konzentration**

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!

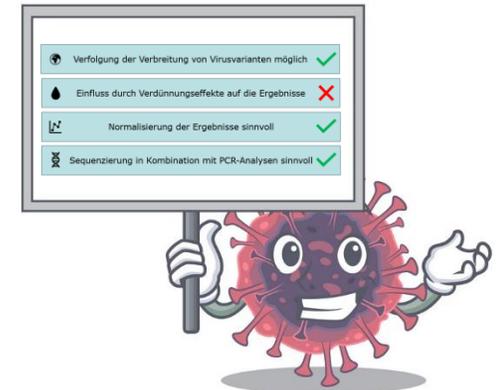
# Strategien für das Konzept des abwasserbasierten Monitorings

 Verfolgung der Verbreitung von Virusvarianten möglich ✓

 Einfluss durch Verdünnungseffekte auf die Ergebnisse ✗

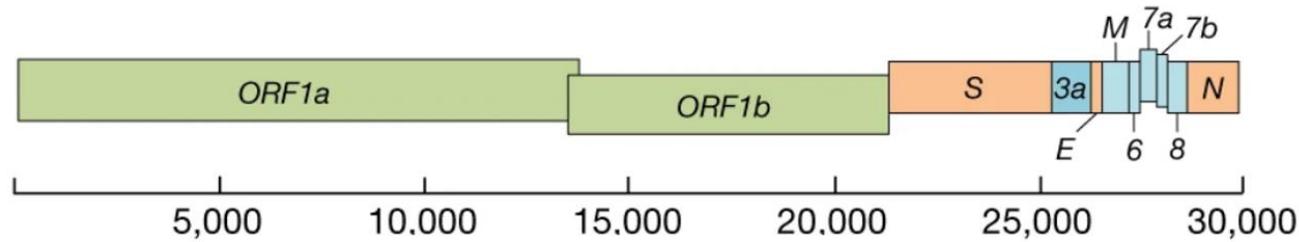
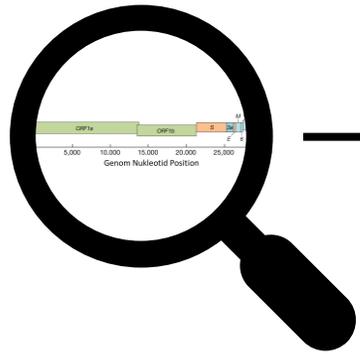
 Normalisierung der Ergebnisse sinnvoll ✓

 Sequenzierung in Kombination mit PCR-Analysen sinnvoll ✓

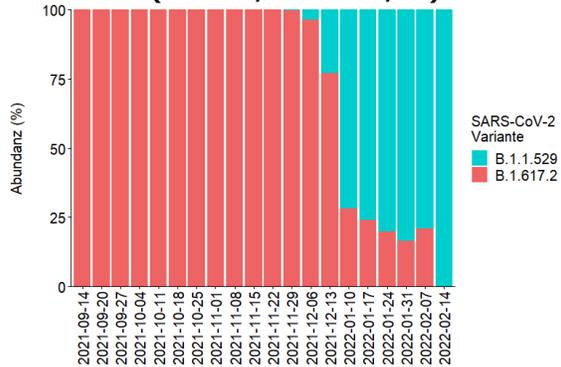




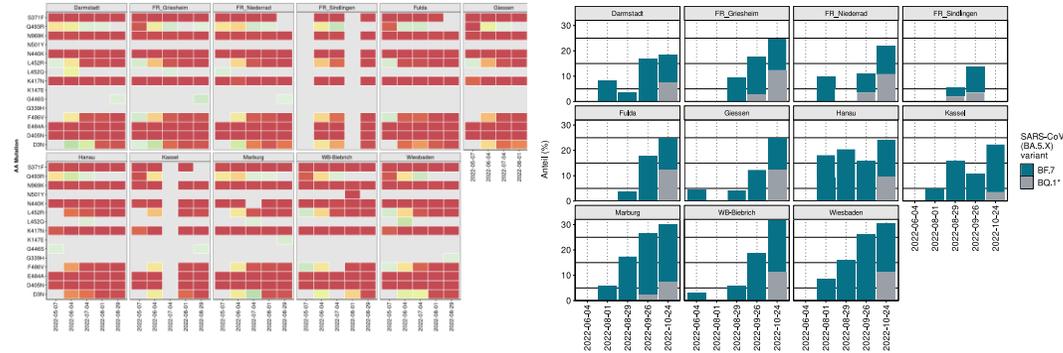
# Ausblick: Welche Informationen kann Sequenzieren liefern?



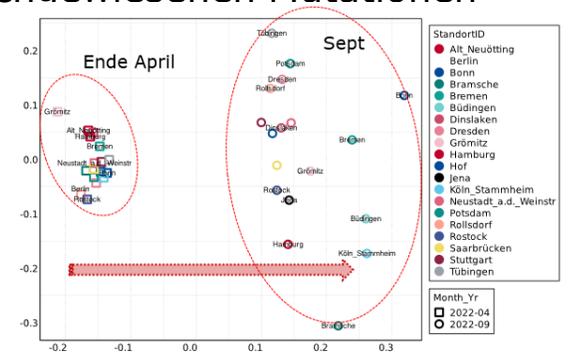
Verteilung und Entwicklung der VOCs (VOIs, VUMs,...)



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!

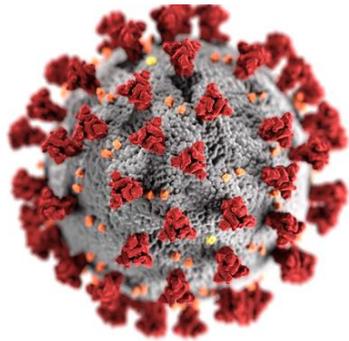


TECHNISCHE  
UNIVERSITÄT  
DARMSTADT

M.Eng. Kira Zachmann

Email: [k.zachmann@iwar.tu-darmstadt.de](mailto: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