



Dr. Claudia Bagutti

Nachweis des Coronavirus im Abwasser

SARS-CoV-2 RNA, SARS-CoV-2 Virus Varianten

Anzahl untersuchte Proben: ca. 200



Ausgangslage

Viele Pathogene werden über einen längeren Krankheitsverlauf mit dem Stuhl infizierter Menschen in das Abwasser abgegeben. Dort können sie, meist über deren DNA/RNA, sensitiv nachgewiesen werden. Das Abwasser kann so als Frühwarnsystem dienen und bietet ein von der Patiententestung unabhängiges Mittel, einen Infektionsverlauf beurteilen zu können. Dieses bereits vor der COVID-19 Pandemie bekannte Verfahren der Abwasser-basierten Epidemiologie findet nun für den Nachweis von SARS-CoV-2 auf allen Kontinenten¹ und in der Schweiz² statt. Von Vorteil ist auch, dass aufbewahrte Proben noch retrospektiv untersucht werden können. In Norditalien konnte im Nachhinein festgestellt werden, dass SARS-CoV-2 bereits im Dezember 2019 zirkuliert ist, zu einer Zeit als noch lange keine klinischen Fälle diagnostiziert waren. Wären die Proben zeitnah analysiert worden, hätte dies einen Zeitvorsprung von drei Monaten bedeutet³. Ebenfalls ist die Identifizierung der zirkulierenden SARS-CoV-2 Varianten über das Abwasser extrem aufschlussreich.

Untersuchungsziele

In jeder Probe wird der Virentiter anhand der Anzahl SARS-CoV-2 RNA Kopien im Abwasser bestimmt. In ausgewählten Proben werden die vorhandenen SARS-CoV-2 Varianten durch Sequenzierung identifiziert.

Probenbeschreibung

An Werktagen wird täglich eine repräsentative 24-Std. Sammelprobe des Rohabwassers (Zulauf) des Einzugsgebiets der ProReno AG, ARA Basel genommen. Die Zulaufprobe der beiden Wochenendtage wird

SARS-CoV-2 im Abwasser

Studien zeigten, dass SARS-CoV-2 über einen langen Zeitraum (Median drei Wochen ab Symptombeginn) und unabhängig von einem symptomatischen oder asymptomatischen COVID-19 Krankheitsverlauf im menschlichen Stuhl ausgeschieden wird. Pro Tag scheidet eine Person 10⁶ – 10⁹ SARS-CoV-2 RNA Kopien aus, die Zahlen schwanken allerdings sehr stark. Theoretisch würden somit ein paar wenige COVID-19 Fälle für den Nachweis im Abwasser der Grösse des Einzugsgebiets der ProReno für einen Nachweis in der Zulaufprobe reichen. Für die Omicron Variante liegen entsprechende Daten noch nicht vor.

Die aus dem Abwasser extrahierbare SARS-CoV-2 RNA stammt grossmehrheitlich nicht von Viren mit intakter Hülle und somit auch nicht von infektiösen Viren. Es handelt sich meist um Virenbruchstücke, Konglomerate von Proteinen und RNA. In dieser Form ist die RNA relativ stabil und über einen längeren Zeitraum nachweisbar. Infektiöse SARS-CoV-2 wurden im Abwasser noch nie nachgewiesen. Schon der Nachweis im menschlichen Stuhl gelingt nur selten, was darauf hindeutet, dass sich bereits im Stuhl nur noch wenige nachweisbar infektiöse Viren befinden.

¹ [Collaborators | covid19wbec.org](https://collaborators.covid19wbec.org)

² [SARS-CoV2 in Wastewater | Eawag](https://www.eawag.ch/en/research/infrastructure/sars-cov-2-in-wastewater)

³ La Rosa, G., et al., SARS-CoV-2 has been circulating in northern Italy since December 2019: Evidence from environmental monitoring. Science of the total environment, 2021. 750: p. 141711 (<https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.141711>)

gepooht gesammelt. Das Einzugsgebiet der ProRho AG⁴ umfasst den Kanton Basel-Stadt, sowie sechs Gemeinden von Basel-Landschaft, eine von Frankreich und eine Gemeinde und ein Quartier von Deutschland (insgesamt ca. 270'000 Einwohner).

Prüfverfahren

Zweimal wöchentlich wurde virale RNA mit dem Maxwell RSC Environ Wastewater TNA Kit der Firma Promega aus 40 ml Abwasser extrahiert. Die Bestimmung der Anzahl SARS-CoV-2 RNA Kopien erfolgte mittels quantitativer Reverser Transkriptase Polymerase Kettenreaktion (RT-qPCR) und dem Wastewater SARS-CoV-2 RT-qPCR Systems Kit (Promega). Für die Quantifizierung wurde das Mittel aus zwei SARS-CoV-2 spezifischen Genabschnitten des Envelope (E) Gens und der N2 Region des Nucleocapsid (N) Gens, welche im Duplikat gemessen wurden, berechnet. Um die nachgewiesene Zahl der SARS-CoV-2 Kopien pro Liter in Beziehung zur Anzahl zum Probenahmezeitpunkt Abwasser produzierender Personen zu erhalten, wurde eine Normierung auf Zuflussmenge des Abwassers (Liter ARA Zulauf pro Tag) vorgenommen. Die Nachweisgrenze liegt bei 500 RNA Kopien pro Liter Abwasser.

Die RNA ausgewählter Proben wurde mittels Next generation sequencing (NGS) am Functional Genomics Center Zürich sequenziert und am Departement Biomedizin der ETHZ in Basel⁵ bioinformatisch analysiert, um die Zusammensetzung der SARS-CoV-2 Virenvarianten zu bestimmen. Details zu dieser Methode siehe Link in Fussnote.

Ergebnisse

Die Ergebnisse des SARS-CoV-2 RNA Nachweises im Abwasser (normiert auf die Zuflussmenge von 100'000 Einwohnern des Einzugsgebiets) sind in der Figur dargestellt. Die Konzentration von SARS-CoV-2 im Abwasser korrelierte dabei sehr gut mit den bestätigten COVID-19 Fallzahlen (sieben-Tageinzidenz (Median), der täglich neu bestätigten Fälle im Einzugsgebiet; Spearman's rank Korrelationskoeffizient 0.931; 1.7. bis 31.12.2021, Abb. 1).

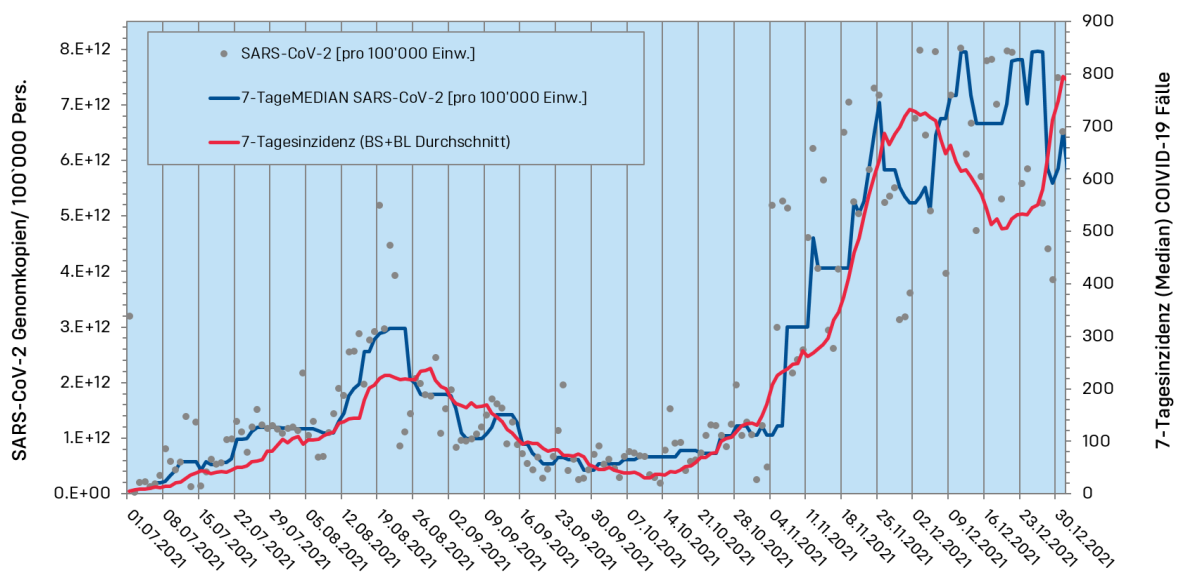


Abbildung 1: Gegenüberstellung SARS-CoV-2 Titer im Abwasser und COVID-19 Fallzahlen während des gesamten Monitoringzeitraums 1.7.2021 bis 14.2.2022. Mit der linken Achse sind die SARS-CoV-2 Genomkopien im Abwasser (normiert auf die Abwassermenge von 100'000 Personen) im Einzugsgebiet der ProRho als Einzelwerte (graue Punkte) und als sieben-Tage-Median (blaue Linie) dargestellt. Mit der rechten Achse sind die sieben-Tageinzidenzen der COVID-19 Fälle als Median abgebildet (rote Linie).

Die Sequenzierungen der RNA Extrakte aus den Abwasserproben wiesen bis zum 19. November ausschliesslich SARS-CoV-2 B.1.617.2 (Delta) nach. Vom 21. November an konnte ein sehr kleiner – später zunehmender – Anteil SARS-CoV-2 B.1.1.529 (Omicron) identifiziert werden.

⁴ [ARA Basel | ProRho](#)

⁵ [Surveillance of SARS-CoV-2 genomic variants in wastewater – Computational Biology Group | ETH Zurich](#); Jahn, K. et al. Detection of SARS-CoV-2 variants in Switzerland by genomic analysis of wastewater samples. medRxiv, 2021 (<https://doi.org/10.1101/2021.01.08.21249379>)

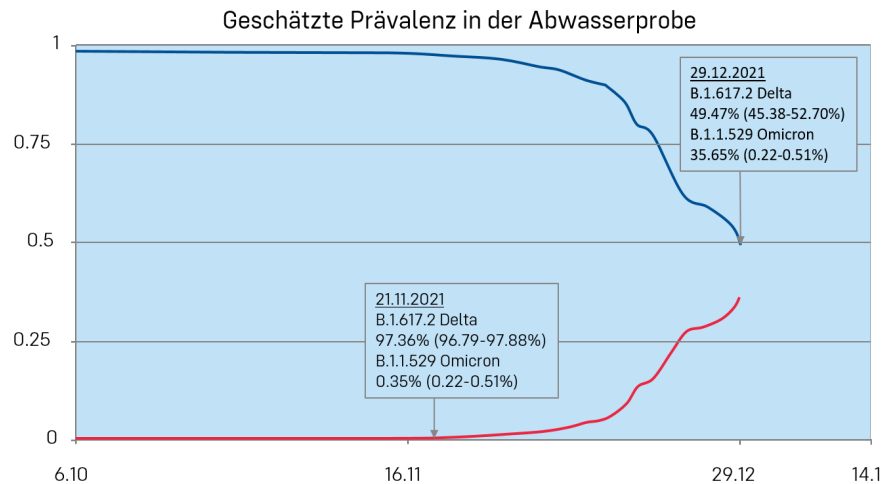


Abbildung 2: Geschätzter Anteil der SARS-CoV-2 Varianten im Abwasser zu den angegebenen Zeitpunkten (siehe [Surveillance of SARS-CoV-2 genomic variants in wastewater – Computational Biology Group | ETH Zurich](#)).

Schlussfolgerungen

Die Konzentration von SARS-CoV-2 im Abwasser korreliert sehr gut mit den bestätigten COVID-19 Fallzahlen im Einzugsgebiet. Selbst in einer Zeit, während der in der Bevölkerung viele Tests gemacht werden, kann die Abwasser-basierte Epidemiologie zusätzliche Informationen liefern. Beispielsweise konnte festgestellt werden, dass die SARS-CoV-2 Variante Omicron bereits seit 21. November in Basel präsent gewesen sein muss, was mehrere Tage vor dem ersten bestätigten COVID-19 Fall in Basel mit Omicron war. Solche Informationen können für die Eruiierung der Infektionsquelle sehr wertvoll sein. Insbesondere aber bei reduzierten oder fehlenden Patiententestungen kann der Nachweis von in der Bevölkerung zirkulierender Mikroorganismen im Idealfall als Frühwarnsystem genutzt werden – beispielsweise für neu auftretende pathogene Viren und Bakterien.

Danksagung

Wir danken der ProRhen AG, Sarah Tschudin Sutter (Leiterin Spitalhygiene, Universitätsspital Basel), Simon Fuchs (Kantonsarzt, Gesundheitsdepartements BS), Niko Beerenwinkel und Ivan Topolsky (Computational Biology, D-BSSE ETH), Christoph Ort (EAWAG), Catharina Aquino (Functional Genomic Centre Zurich) für ihre Unterstützung und die ausgezeichnete Zusammenarbeit.