

GEFÖRDERT VOM



Bundesministerium
für Bildung
und Forschung

DWA 

Klare Konzepte. Saubere Umwelt.

C  **ROMONI**

Videokonferenzen aller Forschungsakteure



Inhaltsverzeichnis

Videokonferenzen aller Forschungsakteure

| | |
|---|------------|
| 1. CoroMoni – Video-Konferenz 1 / 25.01.2021 | 2 |
| 1.1 Bericht | 2 |
| 1.2 Aufzeichnung der 1. Video-Konferenz..... | 19 |
| 2. CoroMoni – Video-Konferenz 2 / 04.05.2021 | 20 |
| 2.1 Bericht | 20 |
| 2.2 Aufzeichnung der 2. Video-Konferenz..... | 37 |
| 3. CoroMoni – Video-Konferenz 3 / 03.08.2021 | 38 |
| 3.1 Bericht | 38 |
| 3.2 Aufzeichnung der 3. Video-Konferenz..... | 55 |
| 4. CoroMoni – Video-Konferenz 4 / 04.11.2021 | 56 |
| 4.1 Bericht | 56 |
| 4.2 Aufzeichnung der 4. Video-Konferenz..... | 68 |
| 5. CoroMoni – Video-Konferenz 5 / 11.02.2022 | 69 |
| 5.1 Bericht | 69 |
| 5.2 Aufzeichnung der 5. Video-Konferenz..... | 83 |
| 6. CoroMoni – Video-Konferenz 6 / 05.04.2022 | 84 |
| 6.1 Bericht | 84 |
| 6.2 Aufzeichnung der 6. Video-Konferenz..... | 101 |
| 7. CoroMoni – Video-Konferenz 7 / 22.09.2022 | 102 |
| 7.1 Bericht | 102 |
| 7.2 Aufzeichnung der 7. Video-Konferenz..... | 114 |
| 8. CoroMoni – Video-Konferenz 8 / 01.02.2023 | 115 |
| 8.1 Bericht | 115 |
| 8.2 Aufzeichnung der 8. Video-Konferenz..... | 130 |

1. CoroMoni – Video-Konferenz 1 / 25.01.2021

1.1 Bericht

Die erste Video-Konferenz zum BMBF-Projekt „Aufbau einer Kommunikationsplattform zum Thema „Abwassermonitoring zur Bestimmung des SARS-CoV-2-Infektionsgrades der Bevölkerung, Vernetzung der Forschungsakteure in Deutschland – *CoroMoni*“ fand am 25.01.2021 online statt. Insgesamt nahmen 42 Personen teil. Zusätzlich zu den deutschen Forschungsgruppen, die alle vertreten waren, nahmen Österreich, die Schweiz und die Niederlande teil. Zudem waren die Europäische Kommission, das Robert-Koch-Institut und das Umweltbundesamt vertreten. Alle Teilnehmer blieben bis zum offiziellen Ende der Video-Konferenz dabei.

Dr. Friedrich Hetzel, Leiter der DWA-Abteilung Wasserwirtschaft, moderierte die Veranstaltung. Johannes Lohaus, Bundesgeschäftsführer der DWA, begrüßte die Teilnehmer offiziell und stellte die Vorgeschichte des Projektes dar. Sabine Thaler präsentierte das BMBF-Projekt.

Folgende Forschungsgruppen aus Deutschland haben vorgetragen:

1. Konsortium Aachen / Frankfurt (ISA, RWTH Aachen, FiW e.V. Aachen, Goethe-Universität Frankfurt),
2. Konsortium Dresden (TU Dresden, UFZ Dresden),
3. UFZ Helmholtzzentrum für Umweltforschung Leipzig
4. Konsortium München / Karlsruhe (TU München, TZW Karlsruhe, Blue Biolabs GmbH Berlin),
5. Konsortium Suderburg / Hannover (Ostfalia Hochschule für angewandte Wissenschaften Suderburg, ISAH, Leibnitz-Universität Hannover),
6. Konsortium Darmstadt / Frankfurt (TU Darmstadt, Stadtentwässerung Frankfurt).

Folgende Forschungsgruppen aus dem Ausland haben vorgetragen:

7. Niederlande (Dutch Water Research Institute KWR),
8. Österreich (Universität Innsbruck, TU Wien, Umweltbundesamt Österreich),
9. Österreich (Amt der Tiroler Landesregierung, Medizinische Universität Innsbruck).

Der Schweizer Vertreter hatte keine Präsentation vorbereitet.

1. SARS-CoV-2 Viren im Abwasser: Monitoring des COVID-19 Infektionsgeschehens

Konsortium:

- Dr. Frank-Andreas Weber (FiW e.V., Aachen)
- Univ.-Prof. Thomas Wintgens (ISA der RWTH Aachen)
- apl. Prof. Volker Linnemann (ISA der RWTH Aachen)
- Dr. Sandra Westhaus (KGU, Goethe-Universität Frankfurt)
- Dr. Marek Widera (KGU, Goethe-Universität Frankfurt)
- Prof. Henner Hollert (OED, Goethe-Universität Frankfurt)
- Prof. Sandra Ciesek (KGU, Goethe-Universität Frankfurt)

Vortragender: Dr. Frank-Andreas Weber

Die NRW-Studie, über die in diesem Vortrag berichtet wird, wurde im *Science of The Total Environment* (August 2020) publiziert und kann unter folgendem Link heruntergeladen werden:

<https://www.doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.141750>

Folgende SARS CoV-2-Gene erwiesen sich als spezifisch und sensitiv genug und eignen sich für den Virus-Nachweis in Abwasser:

- M-Gen,
- RdRP-Gen.

Neun Kläranlagen in NRW wurden im Zu- und Ablauf beprobt, darunter auch eine Anlage mit Ozonung und anschließender Sandfiltration. Der Nachweis der Gene erfolgte über RT-PCR und Sequenzierung.

Replikationstests (in vitro) gaben keinen Hinweis darauf, dass das Virus in Abwasser noch infektiös ist. Die Aussage bezieht sich aber auf 1 bis 5 Genkopien, während im Abwasser $6 \cdot 10^{10}$ bis $6 \cdot 10^{12}$ Genkopien pro Tag enthalten sind.

Die Gen-Konzentrationen im Zu- und Ablauf waren ähnlich hoch, z. T. aber im Ablauf höher, was vermutlich daran liegt, dass im Laufe der Abwasserbehandlung an Feststoffe gebundene Gene freigesetzt werden. Die nach Ozonierung entnommene Probe wies die niedrigste Gen-Konzentration auf.

Die errechnete Genfracht im Abwasser wurde mit den gemeldeten Fallzahlen (Fallzahlen der Gesundheitsämter, hochgerechnet auf den Kreis) korreliert. Eine Genfracht von 10^{12} RNA-Kopien korreliert mit einer Fallzahl von 300. Allerdings lag das Konfidenzintervall mit 90% noch sehr hoch, so dass die Fallzahl zwischen 95 und 950 schwanken kann und die Vorhersage entsprechend unpräzise ausfällt.

Die untere Nachweisgrenze des SARS-CoV-2-Gene im Abwasser lag bei 3 bis 20 Genkopien pro ml Rohabwasser.

Fazit:

- SARS-CoV-2-Gene sind im Abwasser nachweisbar.
- Die Festphase darf als Genreservoir nicht vernachlässigt werden, d.h. eine alleinige Betrachtung der Wasserphase liefert unvollständige Ergebnisse.
- Auch nach Vollstrom-Ozonung sind noch SARS-CoV-2-Genfragmente im Ablauf nachweisbar.
- Das Abwassermonitoring liefert ein integrales Bild des Infektionsgeschehens und ist daher besser als Hunderttausende von Einzeltests.
- Man sollte nicht nur an ein Frühwarnsystem denken, sondern auch den Einsatz als Entwarnsystem in den Fokus nehmen, um die Effizienz der Maßnahmen zeitnah zu bewerten.
- Derzeit rückt die Früherkennung von Virus-Mutationen in den Mittelpunkt des Interesses.
- Die nächsten Schritte sind die Standardisierung und Operationalisierung. Die Wasserverbände haben bereits großes Interesse geäußert.
- Notwendig ist auch die Abstimmung mit den Gesundheitsämtern, um alle Möglichkeiten der abwasserbasierten Epidemiologie auszuschöpfen.

2. Abwasser-CoV-2-Tracking – Abwassermonitoring zur Bestimmung des SARS-CoV-2- Infektionsgrads der Bevölkerung: Aufbau eines flächendeckenden Warn- und Trackingsystems für Pandemien

Konsortium:

- TU Dresden, Institute: Hydrobiologie Klinische Pharmakologie Med. Mikrobiologie u. Virologie Siedlungs- und Industrierwasserwirtschaft
Prof. Peter Krebs
Björn Helm
Dr. rer. nat. Reinhard Ortel
Dr. rer. nat. Roger Dumke
- UFZ Helmholtzzentrum Dresden, Departments: Hydrosystemanalyse Umwelt- und Biotechnologisches Zentrum Umweltmikrobiologie
Prof. Justin Calabrese
- In Zusammenarbeit mit der DWA

Vortragender: Björn Helm

Das Projekt wird durch die Sächsische Aufbaubank gefördert. Die DWA unterstützt bei der Implementierung des Systems und der Schulung des Betriebspersonals. Damit die Anwendung in der Praxis gelingen kann, ist es wichtig die Praxispartner einzubeziehen und ein Bewusstsein für die Vorgehensweise herzustellen. Das geschieht durch Workshops und Erfahrungsaustausche.

Ziele des Projektes sind:

- Anzahl viraler Genkopien quantifizieren und auf den Epidemieverlauf rückschließen
- Gesamte Kette des Abwassermonitorings von SARS-CoV-2 validieren und optimieren
- Vergleich mit epidemiologischen Ansätzen für eine kontinuierliche Risikoeinschätzung auf kommunaler Ebene
- Modularer, transferierbarer Workflow für das lokale Pandemiemanagement
- Reaktionszeit auf künftige Epidemie- und Pandemieausbrüche durch Pathogene mit Vorkommen im Abwasser verbessern
- Epidemiologie endemischer Krankheitserreger großflächig besser verstehen
- Untersuchungen mit Schwerpunkt auf Sachsen und transferierbar auf Deutschland

Es wurden unterschiedliche Varianten der Probenahme untersucht und ein mobiles Probenahmesystem entwickelt. Neben logistischen Fragen zum Probentransport und zur Lagerung spielte auch die Archivierung der Proben für retrospektive Untersuchungen eine Rolle. Eine besondere Herausforderung bestand in der Arbeit an zwei Forschungsstandorten, Leipzig und Dresden. Der Austausch der Proben musste koordiniert und die Dokumentation der Arbeitsschritte sorgfältig durchgeführt werden, um sie beiden Standorten zur Verfügung zu stellen und zu einer repräsentativen, standardisierten und damit vergleichbaren Probenahme von SARS-CoV-2 in Abwasser zu gelangen. Zudem geht es darum, Werkzeuge einer automatisierten Auswertung der Daten zu entwickeln (Systeme zur Datenerfassung für die auswertungsrelevanten Rahmenbedingungen der Probenahme).

Abhängig von den Lagerungsbedingungen (Dauer, Temperatur) wies die SARS-CoV-2-RNA z.T. verkürzte Halbwertszeiten auf. Auch die Probenmatrix nimmt Einfluss auf das Messergebnis. In einem Spike-Experiment (MS-Phage, porcines Coronavirus, (inaktiviertes) SARS-CoV-2) wurde die Wiederfindungsrate der SARS-CoV-2-RNA bestimmt. Ziel ist es, die Nachweisgrenze zu verbessern und die Arbeitsschritte zu automatisieren. Zur Optimierung der Nachweisbarkeit gehört auch, inhibierende Substanzen aus der Abwassermatrix zu entfernen.

Die molekularbiologische Untersuchung erfolgte mit verschiedenen Ansätzen (qPCR, ddPCR und ddPCT), um die Sensitivität der Methoden zu vergleichen und ein Standardprotokoll für den Nachweis von SARS-CoV-2 abzuleiten.

Zur Bestimmung der genomischen Diversität der Viren und zur Detektion von Virus-Mutanten kam zusätzlich eine Sequenzierung von SARS-CoV-2 aus positiven Abwasserproben zum Einsatz.

Um eine Korrelation zwischen den Abwassermonitoring-Ergebnissen und den gemeldeten Fallzahlen herzustellen, wurde die räumliche Modellierung des Abwassermonitoring-Systems mit epidemiologisch relevanten Daten verschnitten. So kann aus der gemessenen Viruslast eine Bewertung der wahrscheinlichen Infektionszahlen erfolgen.

Auf der Grundlage der flächendeckenden Informationen zum Abwassersystem können im nächsten Schritt vereinfachte Transportmodelle entworfen werden, die schließlich gemeinsam mit epidemiologischen Modellen zu kalibrieren sind, um eine gekoppelte Nutzung zu erlauben.

3. Abwassermonitoring zur Bestimmung des SARS-CoV-2-Infektionsgrads der Bevölkerung: Aufbau eines flächendeckenden Warn- und Trackingsystems für Pandemien

Konsortium:

- UFZ Helmholtzzentrum Leipzig
Dr. Roland A. Müller
Dr. René Kallies
Dr. Manfred van Afferden
Nadine Sossalla
Katy Bernhard
Antonis Chatzinotas
- In Kooperation mit der TU Dresden (Peter Krebs, Björn Helm)

Vortragende: Dr. Roland A. Müller, Dr. René Kallies

Der Schwerpunkt des Vortrages liegt auf den Themen, die es zwischen den Forschungsgruppen abzustimmen gilt, um erfolgreich eine langfristige Monitoring-Methode für SARS-CoV-2 in Abwasser zu etablieren. Hier geht es zum Beispiel um Unsicherheiten im Zusammenhang mit Probenahme, Logistik und Probentransport. Zudem steht die Entwicklung eines ereignisbezogenen mobilen Probenahmesystems für Hotspots im Fokus. Insgesamt wäre eine standardisierte Probenahme wünschenswert.

Das Ziel des Projektes besteht darin, ein qualitatives Warnsystem für Sachsen zu etablieren, das schon niedrige Infiziertenzahlen in Echtzeit anzeigt. Es gilt den Schwellenbereich für ein positives Signal zu ermitteln, das spezifisch für Kläranlagen ist. Wenn positive Befunde im Abwasser vorliegen, sind eingehendere Untersuchungen erforderlich.

Entscheidend für das Ergebnis ist die Art der Probenahme. Beprobte man Abwasser oder Primärschlamm? Die Primärschlamm-Proben lieferten z.T. deutlichere Messsignale als die Abwasserproben. Wird die Probe kontinuierlich oder diskontinuierlich entnommen? Hieraus und aus den standortspezifischen Faktoren ergeben sich Unterschiede, die Einfluss auf das Ergebnis nehmen. So gelang es

beispielsweise mit der kontinuierlichen Probenahme, einen Corona-Hotspot mit einer Erkrankenzahl von 50 pro 100.000 EW zu identifizieren, nicht jedoch mit der diskontinuierlichen Probenahme.

Wie genau die Anzahl der Infizierten quantifiziert werden kann hängt von verschiedenen standortspezifischen Faktoren ab, wie Kläranlagengröße und -typ, Art des Entwässerungssystems (Misch- oder Trennsystem) sowie Probenahmeorte auf der Anlage und im Kanalnetz.

Bei Untersuchungen in Leipzig und Rosenheim zeigte sich, dass die Messwerte der PCR-Tests von Abwasser-/ Primärschlamm-Proben bereits zwei Wochen vor dem Anstieg des Inzidenzwertes zunahmen.

Mit Unterstützung der DWA startete im Oktober 2020 eine weitere Projektphase, in deren Rahmen 50 Kläranlagen im ganzen Bundesgebiet beprobt werden (24h-Mischproben und Primärschlamm an 5 Tagen pro Woche). Neben der systematischen Erfassung der Virus-RNA-Konzentrationen im Abwasser, finden als weitere Parameter Sauerstoffbedarf, Stickstoff- und Phosphatlast, pH-Wert, Temperatur und Leitfähigkeit Berücksichtigung. Ziel ist es auch, den Effekt des Lockdowns zu bestimmen und Virus-Varianten aufzuspüren.

Die Logistik für Probenahme und Transport erforderte die Bewältigung zahlreicher Hürden, angefangen bei der Kommunikation mit den Betreibern von Abwasseranlagen, um Probenahmebedingungen und Materialversand zu klären, bis hin zur Datenerfassung einschließlich auswertungsrelevanter Rahmenbedingungen (Gebietscharakteristik, zusätzliche Messwerte, Art der Anlage, Einzugsgebiet Niederschlag).

Um die Abstimmungs- und Arbeitsprozesse zu erleichtern, wurden in Kooperation mit der DWA und dem UFZ Dresden ein Online-Fragebogen zur Erfassung von Gebiets- und Proben-Eigenschaften sowie ein Protokollformular für eine standardisierte Probenahme entwickelt.

Rahmeninformationen zur Probenahme und Analytik:

- 24 h-Mischprobe und Primärschlamm, je 40 ml
- PEG-Fällung
- Nukleinsäure-Extraktion
- RT-qPCR (E-Assay, Charité), N1-Assay (CDC) und Nachweis B.1.1.7 und 69/70 del-Varianten

Fazit:

- Es gibt zahlreiche Unsicherheiten zum COVID-19-Monitoring in Abwasser, die den gesamten Weg betreffen, angefangen vom Infizierten, der die Viren mit seinem Stuhl ausscheidet, über den Transport im Kanalnetz, die Probenahme in der Kläranlage, Proben transport, -aufbereitung und schließlich die Analytik. Zu jedem Schritt sind zahlreiche Fragen zu klären.

- Für manche der beprobten Kläranlagen erwies sich die Beprobung von Primärschlamm als erfolgreicher, für andere die Abwasserbeprobung. Bei einigen machte es keinen Unterschied, ob Abwasser oder Primärschlamm verwendet wurden.
- Die PEG-Fällung hatte eine höhere Sensitivität als die Ultrafiltration.

4. Abwasserepidemiologie am Beispiel eines SARSCoV-2 Biomarkers für die Abschätzung von COVID-19-Infektionen auf der Populationsskala

Konsortium:

- Prof. Jörg E. Drewes, TU München
- Christian Wurzbacher, TU München
- Marion Woermann, TU München
- Prof. Andreas Tiehm, TZW, DVGW-Technologiezentrum Wasser, Karlsruhe
- Claudia Stange, TZW, DVGW-Technologiezentrum Wasser, Karlsruhe
- Dr. Johannes Ho, TZW, DVGW-Technologiezentrum Wasser, Karlsruhe
- Oliver Thronicker, Blue Biolabs GmbH Berlin

Vortragende: Prof. Jörg E. Drewes, Claudia Stange

Im Rahmen der Studie wurden Kläranlagen in 6 bayerischen Kommunen beprobt. In Augsburg sind im Rahmen des Stadtgebietsmonitorings auch Pumpwerke einbezogen worden. Im Berchtesgadener Land konnten im Rahmen der Beprobung 90% der Bevölkerung des Landkreises erfasst werden. Seit dem 1.11.20 wird das Projekt vom BMBF gefördert, Zeitrahmen 1 ½ Jahre. Ziele der Studie sind:

- die umfassende Überwachung des COVID-19-Infektionsgeschehens auf Bevölkerungsebene durch abwasserbasierte Epidemiologie unter Verwendung eines neuartigen SARS-CoV-2-Biomarkermodells,
- die Entwicklung von Methoden zur quantitativen Bestimmung von SARSCoV-2 und viralen Surrogaten aus Rohabwasser,
- die Entwicklung und Prüfung von Strategien zur Identifikation von lokalen Infektions-Hot-Spots in einer Kommune,
- die genaue Abschätzung und Vorhersage von COVID-19-Infektionen in einer Kommune auf der Grundlage des Vorkommens behüllter Viren in kommunalen Abwässern, sowie
- die Übertragbarkeit der entwickelten Methodik und des Biomarkermodells auf andere pathogene Viren.

Zunächst geht es darum, stabile Zielgene / virale Surrogate im Rohwasser zu identifizieren, die sich für das Abwasser-Monitoring eignen. Die Methodik muss optimiert und ggf. müssen Korrekturfaktoren eingeführt werden, um plausible Ergebnisse zu erhalten. Lassen sich Änderungen im Infektionsgeschehen über den Nachweis im Abwasser identifizieren? Hotspots können nur durch hoch aufgelöste

Probenahme im Kanalnetz einzelner Stadtgebiete bestimmt werden, was einen großen Aufwand bedeutet. Wichtig für die Interpretation der Messwerte ist es, zunächst die Dynamik des Auftretens von SARS CoV-2-spezifischer RNA im Abwasser zu verstehen. Die Größe des Einzugsgebietes (Wie nah am Infektionsgeschehen?) und die Qualität der Probenahme (Stabilität der Virus-RNA in Abwasser) nehmen Einfluss auf die Ergebnisse.

Um auch Virus-Mutationen zu detektieren, ist es wichtig, das Metagenom in den Abwasserproben zu untersuchen.

Die Ergebnisse sollen in ein COVID-19-Biomarkermodell für Abwassersysteme münden. Ein Teilaspekt des Projektes richtet sich auch darauf zu prüfen, ob das Modell auf andere enterogene Viren übertragbar ist.

Generell wurden nur die Kläranlagen-Zuläufe und kein Primärschlamm beprobt. Die Beprobung erfolgte zweimal pro Woche als 2h-, 4h-qualifizierte Stichprobe oder 24h-Mischprobe.

Ein Abgleich der Ergebnisse mit den RKI-Fallzahlen zeigte, dass die Belastung im Abwasser bereits 4 bis 5 Tage vorher sichtbar wird.

Hinsichtlich der Analytik war es selbst innerhalb des Projektes schwierig, die Methoden zu vereinheitlichen. Jedes Labor arbeitet mit der Ausstattung, die es zur Verfügung hat und richtet auch die Methodik danach aus.

Das TZW wählte mangels Zentrifugaleinheiten die PEG-Fällung für die Probenaufbereitung anstatt der Ultrafiltration. Danach folgte eine automatisierte Extraktion mit Magnetpartikelseparation, Elutionsvolumen 100 µl. Die anschließende one step RT PCR mit digitalem droplet PCR-System (dd PCR) bot den Vorteil, direkt eine absolute Quantifizierung zu ermöglichen. Es mussten keine Kontrollen mitgeführt werden und der Einfluss durch Inhibitoren war geringer. Verwendete Gene: N1 und E.

Die TU München führte keine PEG-Fällung durch, sondern extrahierte die Proben direkt manuell mit Phenol / Chloroform (Elutionsvolumen 50 µl). Danach erfolgte eine one step quantitative PCR. Verwendete Gene: N1, N2 und E.

Fazit:

Die Ergebnisse sind vielversprechend, aber die Frage der Normierung ist noch zu klären. Je kleiner das Einzugsgebiet, umso größer ist die Variation der Ergebnisse.

Folgende Anknüpfungspunkte an andere Studien werden gesehen:

- Probenahmestrategien (wo, wie, wie lange?)
- Lagerung und Stabilisierung; Probenaufbereitung
- Methodenharmonisierung (Ringversuche)
- Korrelation mit positiven Fallzahlen in den Kommunen
- Auftreten von CoV-2 in Stuhlproben; Normalisierungsansätze

5. SCREENING – Frühwarnsystem Kanalnetz am Beispiel SARS-CoV-2 Ein quartierssscharfes Frühwarnsystem basierend auf Kanalnetzen zur Eindämmung von Epidemien

Konsortium:

- Prof. Dr.-Ing. Artur Mennerich, Ostfalia Hochschule für angewandte Wissenschaften Fakultät Bau-Wasser-Boden / Siedlungswasserwirtschaft
- Prof. Dr.-Ing. Markus Wallner, Ostfalia Hochschule für angewandte Wissenschaften Fakultät Bau-Wasser-Boden / Siedlungswasserwirtschaft
- Dr. rer. nat. Urda Düker, Ostfalia Hochschule für angewandte Wissenschaften Fakultät Bau-Wasser-Boden / Siedlungswasserwirtschaft Dienstort: Institut für Siedlungswasserwirtschaft und Abfalltechnik
- Dipl.-Geol. Ingeborg Joost, Ostfalia Hochschule für angewandte Wissenschaften Fakultät Bau-Wasser-Boden / Siedlungswasserwirtschaft
- Yibo Zhu M.Sc., Ostfalia Hochschule für angewandte Wissenschaften Fakultät Bau-Wasser-Boden / Siedlungswasserwirtschaft
- Prof. Dr.-Ing. Regina Nogueira, Leibniz Universität Hannover Institut für Siedlungswasserwirtschaft und Abfalltechnik

Vortragender: Prof. Dr.-Ing. Artur Mennerich

Das Projekt ist am 1.12.20 (Laufzeit: 2 Jahre) mit einer Förderung durch die EU und das Land Niedersachsen gestartet und verfolgt die nachfolgenden Ziele:

- Aufbau von Kompetenzen im Bereich der abwasserbasierten Epidemiologie
- Positionierung der Ostfalia und der LUH als zukünftige Ansprechpartner im Bereich der abwasserbasierten Epidemiologie in Niedersachsen
- Beratung von Kommunen, Gesundheitsämtern und Abwasserbetrieben hinsichtlich der Nutzung von Kanalnetzen als Frühwarnsysteme
- Leitfaden zur Nutzung von Kanalsystemen als Frühwarnsystemen bei Epidemien
- Halten von einem Workshop in der Mitte der Projektlaufzeit (evtl. auch größer auslegen und die nationalen Initiativen mit einladen)
- Erstellen eines Leitfadens, um Kommunen, Gesundheitsämter und Abwasserbetriebe einen Wegweiser an die Hand zu geben

Praxispartner sind die Stadtentwässerungsämter der drei Kommunen, Hildesheim, Celle und Uelzen sowie das Gesundheitsamt Hildesheim.

Über die Probenahme im Kanalnetz sollen Hotspots identifiziert werden. Das System soll sowohl als Frühwarnsystem fungieren als auch als Entwarnsystem dienen.

Zunächst geht es darum, die optimalen Standorte für die Probenahme im Kanalnetz zu finden. Die Gesundheitsämter unterstützen bei der Standortwahl. Mit Hildesheim ist eine Stadt im Projekt vertreten, die sowohl über ein Misch- als auch ein Trennsystem verfügt. Das erlaubt eventuelle Einflüsse des Entwässerungssystems auf die Viruslast

im Abwasser zu untersuchen. Es gibt aber auch andere Einflussfaktoren, die es zu berücksichtigen gilt (Fremdwasser / Dränagewasser, Regenwasser). Die Ergebnisse der Analyse des Einzugsgebietes dienen dem Aufbau von Kanalnetz-Modellen, um durch Modellierung mit den Zahlen aus der Labormessung auf das Infektionsgeschehen zurückzuschließen.

Die Analyse von SARS-CoV-2 ist in Abwasserproben und an Feststoffpartikeln im Abwasser vorgesehen. Im Zusammenhang mit der Analytik soll auch der Einfluss von Umweltfaktoren (Temperatur, pH-Wert, Leitfähigkeit) auf das Analyseergebnis untersucht werden. Wie stark sind diese Faktoren für schwankende Ergebnisse verantwortlich. Eine Herausforderung sind auch die Schwankungen der Ausscheidungen (Hauptlast in den Vormittagsstunden). Es stellt sich die Frage, ob ein automatischer Probenehmer erforderlich ist oder Stichproben (2h-Mischprobe) ausreichen. Manche Einzugsgebiete sind zudem stark durch Berufspendler, Schulen etc. geprägt. Welchen Einfluss haben ein- und auspendelnde Personen auf die Viruslast in den Proben.

Fazit:

Im Mittelpunkt steht die Frage nach einem Biomarker. Welche Leitparameter im Abwasser können genutzt werden, um die gefundene Virenlast zu skalieren, auf Einzugsgebietsebene hochzurechnen und dann aus der Virenzahl das Infektionsgeschehen abzuleiten? Das stellt eines der größten Probleme dar.

6. Abwasserströme intelligent nutzen – Abwasser als Frühwarnsystem für die Ausbreitung von SARS-CoV-2 am Beispiel Frankfurt am Main

Vortragende: Prof. Susanne Lackner, IWAR-Institut, TU Darmstadt

Das Projekt wird vom Land Hessen und durch die EU gefördert. Projektstart war am 15.06.20. In der Stadt Frankfurt / Main wurden Kläranlagenzuläufe (Kläranlagen Niederrad, Griesheim und Sindlingen) und auf Teileinzugsgebietsebene Übergabepunkte im Kanalnetz beprobt. Die Probenahme (24h-Mischproben) erfolgte zweimal wöchentlich. Das Probenvolumen von 2 L wurde zu gleichen Teilen aufgeteilt und zunächst aufkonzentriert, eine Teilprobe mittels Membranfiltration, die andere mittels Ultrafiltration. Bei der anschließenden RNA-Extraktion liefen MS 2-Phagen als Standard mit. Als Zielgene der RTq-PCR dienten N, S und ORF1ab.

Ein Vergleich der RKI-Inzidenzen für Frankfurt im April und August zeigte, dass das Niveau im Gegensatz zu den Zahlen für Gesamt-Deutschland in beiden Phasen der Pandemie ähnlich hoch war. Hierdurch war es möglich zu analysieren, ob sich bei der Korrelation mit den Abwasserbefunden Unterschiede durch das höhere Testaufkommen im August gegenüber April ergeben. Die auf die Fracht umgerechneten qPCR-Ergebnisse der Kläranlagenzuläufe zeigen für beide Beprobungszeiträume ein ähnlich hohes Niveau, was darauf schließen lässt, dass die Dunkelziffer nicht getesteter Infizierten vielleicht im April doch nicht so hoch lag wie

vermutet. Diese Aussage ist jedoch wegen der wenigen Datenpunkte mit Unsicherheiten behaftet.

Der Anstieg der Inzidenzen im Sommer konnte durch die Abwasseranalytik in den Kläranlagen Niederrad (größte KA in Frankfurt) und Griesheim (7.000 EW) gut abgebildet werden. Allerdings gab es in Griesheim auch Negativ-Befunde, weil diese Proben sich entweder unterhalb Nachweisgrenze bewegten oder andere Faktoren Einfluss genommen haben (z.B. Abwasserzusammensetzung, Rahmenbedingungen des Einzugsgebietes). In den als Fracht dargestellten summierten Werten beider Klärwerke lässt sich der Anstieg der Inzidenzen mit einem Vorlauf von etwa 5 Tagen darstellen.

Fazit:

- SARS-CoV-2 kann im Abwasser nachgewiesen werden.
- Das Abwassersignal ist den gemeldeten Infektionen ca. 5 Tage voraus.
- Da bislang unklar ist, wieviel Viren eine Person ausscheidet, fällt es noch schwer, von den PCR-Ergebnissen auf die Zahl der Infizierten zu schließen.
- Es wird Abstimmungsbedarf bei der Probenahme, Probenaufbereitung und beim RNA-Nachweis gesehen.

7. The use of wastewater monitoring for COVID-19 surveillance

Konsortium:

- Prof. Gertjan Medema, KWR Water Cycle Research Institute
- Delft University of Technology
- Michigan State University

Vortragender: Prof. Gertjan Medema

Seit Februar 2020, bereits bevor das Virus in den Niederlanden angekommen war, findet der Nachweis von SARS-CoV-2 in Abwasser in den Städten Amsterdam und Utrecht statt. Während der ersten Infektionswelle im Frühjahr 2020 wurden noch wenige Erkrankte auf SARS-CoV-2 getestet. Man sieht deutlich, dass die Werte im Abwasser über den gemeldeten Fallzahlen lagen. Während der zweiten Infektionswelle haben die Abwassermesswerte ein ähnliches Niveau wie die Fallzahlen. Vergleicht man den Prozentsatz der positiv Getesteten mit den Abwasserwerten, nehmen die Kurven ebenfalls einen ähnlichen Verlauf.

Durch regelmäßige Probenahme im Abwasser der Kläranlagen in niederländischen Städten ist es möglich, frühzeitig Trends der SARS-CoV-2-Verbreitung zu erkennen – im ganzen Land und heruntergebrochen auf die Region. In der Phase niedriger Fallzahlen eignet sich das Abwassermonitoring, um Hotspot-Regionen zu identifizieren und Lockdown-Maßnahmen gezielter einzusetzen. Zusätzlich erhält man Informationen zur Entwicklung und Verbreitung von Virus-Genotypen und damit zu neuen Mutationen. Bei der Sequenzierung findet man auch Virus-Varianten, die in Patienten nicht nachgewiesen wurden. Derzeit liegt der Fokus auf der britischen Virus-

Variante. In Rotterdam werden die Kläranlage und Abwasserpumpwerke dreimal wöchentlich beprobt.

Die Daten aus dem Abwasser werden den gemeldeten Fallzahlen gegenübergestellt. Um von den Abwasserdaten auf die Fallzahlen zurückzuschließen, wird ein Kanalnetzmodell genutzt. Dass das Abwassersignal früher messbar ist als die Fallzahlen gemeldet werden, liegt vermutlich an der zeitlichen Verzögerung durch den Test. Mit Hilfe des Abwassersignals lässt sich auch ermitteln, in welchen Stadtgebieten zu wenig getestet wurde.

In den Niederlanden gibt es ein nationales Überwachungsprogramm durch das *National Institute of Public Health and the Environment*. Alle 318 Kläranlagen im Land sind daran beteiligt und werden wöchentlich bis zu täglich beprobt. Die Daten stehen auf einem Dashboard öffentlich im Internet zur Verfügung (<https://coronadashboard.government.nl/landelijk/rioolwater>). Man kann in die einzelnen Kommunen zoomen.

Die Niederlande beteiligen sich zudem an der Umbrella-Studie des JRC der Europäischen Kommission, in deren Rahmen alle europäischen Initiativen zum SARS-CoV-2-Monitoring in Abwasser vernetzt sind.

Fazit:

Anwendungsfälle für das Abwassermonitoring sind:

- Frühwarnsystem
- Beurteilung von Lockdown-Maßnahmen
- Verbreitung von neuen Virus-Varianten
- Entwarnsystem

8. Austrian Research Cooperation on SARS-CoV-2 in wastewater

Konsortium:

- Norbert Kreuzinger, Technische Universität Wien, Institut für Wassergüte und Ressourcen Management
- Rudolph Markt, Universität Innsbruck
- Wolfgang Rauch, Universität Innsbruck, Institut für Infrastruktur
- Heribert Insam, Universität Innsbruck, Institut für Mikrobiologie
- Herbert Oberacher, Medizin-Universität Innsbruck, Institut für Gerichtliche Medizin
- Hans-Peter Stüger und Markus Wögerbauer, AGES - Österreichische Agentur für Gesundheit und Ernährungssicherheit, Fachbereich Integrative Risikobewertung, Daten und Statistik
- Robert Konecny und Dennis Worgull, Umweltbundesamt

Vortragende: Prof. Norbert Kreuzinger, Rudolph Markt, Prof. Wolfgang Rauch

Ziel des Projektes ist es, die wissenschaftlichen Grundlagen für ein abwasser-epidemiologisches Frühwarnsystem zu erarbeiten:

- Etablierung eines Analyseverfahrens zum Nachweis von SARS-CoV-2-RNA in Abwässern
- Untersuchung der Stabilität und Nachweisbarkeit von SARS-CoV-2-RNA in Kläranlagen-relevanten Proben
- Etablierung der für ein nationales Monitoringprogramm notwendigen Ressourcen und Logistik
- Erprobung der Abläufe in Form von retrospektiven und prospektiven Längs- und Querschnittstudien in ausgewählten Regionen zur Ableitung des Zusammenhangs zwischen vorliegenden Prävalenzzahlen und der im Abwasser nachgewiesenen Menge an Virus-RNA
- Entwicklung eines statistischen Prognosesystems
- Bewertung des Monitoringkonzepts durch Vergleich mit anderen epidemiologischen Methoden

Zur Abstimmung der Methoden zur Probenahme und Analytik fand ein Ringtest der beteiligten Labore statt.

Alle erhobenen Daten fließen in eine zentrale Datenbank. Insgesamt 27 Kläranlagen werden regelmäßig beprobt. Die Frequenz der Beprobung variiert je nach Größe der Kläranlage, der zugrundeliegenden Fragestellung und den Wünschen der Epidemiologie zwischen täglich und 14-tägig.

In Wien (größte Kläranlage) begann die Beprobung des Kläranlagenzulaufs bereits im März 2020. Zusätzlich wurden vier Hauptsammelkanäle der Stadt beprobt. Tritt dort ein erhöhtes Signal auf, können die Teileinzugsgebiete durch Clusterung näher betrachtet werden. Ganz Wien ist mit einem Netzwerk von Probenahmestellen überzogen.

Das Beispiel Wien zeigt, dass anfängliche Probleme mit der Probenaufbereitung und -lagerung, die zu Messwertschwankungen geführt haben, inzwischen behoben sind. Seit Oktober 2020 können die Fallzahlen und Inzidenzen mit dem Abwassermonitoring gut nachverfolgt werden.

In jüngster Zeit sinken die Fallzahlen zwar, aber die im Abwasser gemessenen Werte bleiben auf hohem Niveau. Das wird darauf zurückgeführt, dass die Virus-Mutante auf dem Vormarsch ist. Die Sequenzierung mit ausgewählten Abwasserproben gibt erste Hinweise auf eine Korrelation mit der Variante B 117.

Bei der Gesamtgenom-Sequenzierung von SARS-CoV-2 aus Abwasserproben erfolgt die Analyse analog zum Vorgehen bei Individualproben in der Humanmedizin. Es sind relativ hohe Viruskonzentrationen erforderlich. Der ct-Wert (Anzahl der PCR-Zyklen) sollte unter 32 liegen. Bei einem Virus-Titer unter 350 Genkopien/ ml funktioniert die

Sequenzierung nicht mehr. Die Potentiale der Sequenzierung bestehen in dem zusätzlichen Nachweis von SARS-CoV-2 (N1-Gen). Zudem lässt sich testen, ob die Primer noch passen oder ob es bereits Mutationen gibt. Es lassen sich spezifische Mutationen oder ganze Mutationslinien nachweisen und ein Linien- bzw. Variantenprofil ablesen. Außerdem ist es möglich, die quantitative Linienzusammensetzung zu erfassen. Nicht alle Virus-Varianten lassen sich in voller Länge erfassen. Trägt man die Lesetiefe gegen die Position im RNA-Genom auf, wird deutlich, dass es an den Enden der RNA zu Fragmentierungen kommt, vermutlich bedingt durch Kontamination der Proben mit RNAsen. Dadurch lassen sich falsch negative Ergebnisse (β -Fehler) nicht ausschließen. Die Rahmenbedingungen haben einen Einfluss auf den Zustand der Proben und müssen bei der Ableitung von Hypothesen Berücksichtigung finden.

Am Beispiel einer Kläranlage (40.000 EW) wird anhand von spezifischen Marker-Mutationen die relative mittlere Abundanz von ausgeschiedenem genetischen Virus-Material dargestellt, das bereits bestimmten Viruslinien zuwiesen wurde (Dekonvultion). Es zeigt sich, dass bekannte Viruslinien gut nachweisbar sind, unbekannte hingegen eher schwierig, weil es häufig zu β -Fehlern kommt.

Im zeitlichen Verlauf von September 2020 bis Januar 2021 ist bei den Ergebnissen der Sequenzierung zunächst eine Diversifizierung in zahlreiche Mutanten zu beobachten. Ab Dezember 2020 ist jedoch die Variante B 117 auf dem Vormarsch und entwickelt sich im Januar 2021 zu einer dominanten Variante bei den ausgeschiedenen Virus-Mutanten. Der relative Anteil der ausgeschiedenen Virus-Varianten muss nicht dem relativen Anteil der bei den Tests in der Bevölkerung gefundenen Virus-Varianten entsprechen. Es bleibt noch zu klären, ob die Infektion mit unterschiedlichen Virus-Varianten verschiedene Ausscheidungsmengen der Variante zur Folge hat. Dies hat großen Einfluss auf die Prävalenzmodelle.

In Österreich ist die Prävalenz (ausgeschiedene Virenfracht infizierter Personen im Verhältnis zur ausgeschiedenen Virenfracht der Gesamtpopulation) nur für 4 Untersuchungszeitpunkte bekannt. Für 3 Zeitpunkte der 1. Infektionswelle und einen Zeitpunkt auf dem Höhepunkt der 2. Welle ist im Rahmen der Unsicherheiten die wirkliche Anzahl der infizierten Personen und damit auch der Dunkelziffer bekannt. Der Faktor der Dunkelziffer bewegt sich zwischen 2 und 4,5 und hängt von der Teststrategie ab. Ein Problem bei der Bestimmung der Gesamtpopulation, einschließlich Pendlern stellen Biomarker (Leitparameter im Abwasser, z.B. CSB und NH_4) dar, mit denen die Anzahl der Personen im Einzugsgebiet bestimmt werden soll. CSB- und NH_4 -Frachten sind stark vom Abfluss und Niederschlägen beeinflusst, was eine Aussage erschwert. Dem Stochastischen Prävalenzmodellen wurden bekannte Modelle der Virenausscheidung zu Grunde gelegt und so ein Modell für Wien kalibriert, mit dem die Prognose der effektiven Anzahl an Krankheitsfällen im Gebiet gelingt.

Fazit:

- Zahlreiche Herausforderungen
- Konkrete, abgesicherte Ergebnisse werden sofort erwartet
- Sensitivität für Kommunikation von Ergebnissen
- Ansatz und Thema ist bis in oberstes nationales Pandemiemanagement „vorgedrungen“
- Neue Bedeutung / Sichtweise des Themas „Abwasser

9. SARS-CoV-2-Abwasser-Monitoring Tirol

Konsortium:

- Prof. Herbert Oberacher, Institute of Legal Medicine and Core Facility Metabolomics Medical University of Innsbruck
- Dr. Stefan Wildt, Abteilung Wasserwirtschaft Amt der Tiroler Landesregierung Innsbruck

Vortragende: Dr. Stefan Wildt, Prof. Herbert Oberacher

Im Auftrag der Tiroler Landesregierung wird in Tirol ein flächendeckendes Monitoringsystem entwickelt, an dem 43 von 53 Kläranlagen beteiligt sind, wodurch 90% der Tiroler Bevölkerung erfasst werden. Die Probenahme erfolgt wöchentlich. Alle Ergebnisse werden gemeinsam mit den Daten aus dem epidemiologischen Meldesystem zentral erfasst und visualisiert (Dashboard), um so als Grundlage für die Entscheidungen der Gesundheitsbehörde zu dienen. Das Projekt startete im Mai 2020 mit einer Machbarkeitsstudie. Ende September 2020 begann die Beprobung (Tagesmischproben) der Kläranlagen. Parallel wurden die Methoden weiterentwickelt und optimiert. Die Probenaufbereitung erfolgte durch PEG-Fällung, automatisierte Extraktion und Lyse. Für die Analytik kam RT-qPCR zum Einsatz. Für die einzelnen Kläranlagen wurden Zeitlinien generiert und mit den Daten des epidemiologischen Meldesystems verschnitten.

Die Untersuchungen an der Kläranlage Innsbruck (repräsentiert 23,2% aller Einwohner in Tirol), die seit Mai 2020 täglich beprobt wird, zeigen, dass das Abwassersignal den gemeldeten Fallzahlen um 5 bis 7 Tage voraus ist. Für den Nachweis der Virus-RNA in Abwasser ist mindestens eine infizierte Person unter 10 bis 20 Tausend Einwohnern erforderlich.

Fazit:

- Das Abwassermonitoring eignet sich als Frühwarnsystem.
- Der Erfolg von Lockdown-Maßnahmen kann gut abgebildet werden.

10. Ergebnis der Diskussion und Fazit der Veranstaltung

Alle Forschungsakteure sehen in dem abwasserbasierten Überwachungssystem große Chancen für eine wertvolle zusätzliche Informationsquelle, die für die Pandemiebekämpfung genutzt werden kann. Die Ergebnisse aller Projekte sind vielversprechend. Es können bereits ein bis zwei Wochen vor Anstieg der Infektionszahlen Tendaussagen getroffen werden. Die quantitative Ableitung von Infizierten-Zahlen aus den im Abwasser gemessenen RNA-Kopien bereitet noch Schwierigkeiten, zumal man nicht weiß, wie viele Viren ein Infizierter ausscheidet. Die Ausscheidung kann sich für die verschiedenen Virus-Varianten unterscheiden. Dazu kommt, dass die Messwerte von zahlreichen Faktoren und Rahmenbedingungen abhängen, deren Einfluss noch zu klären ist.

Von der EU wird das deutsche Vernetzungs-Projekt sehr begrüßt. Nach Meinung von Bernd Manfred Gawlik, DG Joint Research Center sei diese Initiative längst überfällig. Er koordiniert eine europäische Umbrella-Studie zum gleichen Thema und bietet an, die Ergebnisse aus Deutschland in die europäische Studie einzubringen. Die Kommission richtet ihren Fokus derzeit auf den Nachweis der UK-Mutation über Abwasser-Monitoring. Am erfolgreichsten waren diejenigen europäischen Initiativen, die von Beginn an den Gesundheitssektor in ihre Arbeiten einbezogen haben.

Dr. Hans-Christoph Selinka vom Umweltbundesamt betonte, dass das UBA und das BMU sehr an einem auf dem Abwassermonitoring basierenden Pandemiebegleitendem System interessiert sind, das über die Frühwarnung hinausgeht. Interessante Anwendungsbereiche sind zusätzlich die Detektion von Virus-Mutationen, die Beurteilung des Erfolges von Lockdown-Maßnahmen und die Entwarnung.

Auch das RKI, vertreten durch Sindy Böttcher, äußerte sich sehr positiv über die Vernetzungsinitiative und die Veranstaltung. Das RKI ist sehr an einer Zusammenarbeit interessiert. Frau Böttcher würde es begrüßen, wenn es eine Übersicht aller Forschungsakteure und beprobten Abwasseranlagen in einer interaktiven Deutschlandkarte gäbe. Der Königsweg wäre ein Dashboard nach niederländischem Vorbild, in das nicht nur die Beprobungsstandorte, sondern auch die Ergebnisse des Abwassermonitorings eingepflegt würden. Um Sequenzdaten mit klinischen Daten verknüpfen zu können (integrierte molekulare Surveillance), sollten die gewonnenen Vollgenomsequenzen in gängige Datenbanken (z.B. GISAID) eingestellt werden. Zudem wäre eine Übersicht der im Netzwerk publizierten Veröffentlichungen wünschenswert.

11. Weiteres Vorgehen

Zu vier Themen besteht derzeit besonderer Abstimmungsbedarf, weshalb hierzu Arbeitsgruppen gebildet werden sollen:

- 1) Probenahme (Probenahmeroutinen, Probenlagerung, Transport, Aufbereitung)
- 2) Analytik (Aufbereitung, Konzentrierung, Extraktion, Methodik)
- 3) Modellierung (Art der Modelle, Kalibrierung, Berechnung Zahl der Infizierten)
- 4) Arbeitsgruppe 4: Anwendung von Abwassermonitoring in der Praxis - Bedarfe

Die Bearbeitung der Themen erfolgt in Video-Konferenzen.

12. Rückmeldungen von der digitalen Pinwand (Padlet)

Um bereits Themen für die folgenden Video-Konferenzen zu sammeln, nutzte die DWA eine digitale Pinwand (Padlet), die alle Teilnehmer bereits einige Tage vor, während und auch noch nach der ersten Videokonferenz mit Inhalten füllen konnten. Folgende Pinwand-Rubriken waren vorgegeben:

- Themen, zu denen ich mir im Rahmen der beiden kommenden Video-Konferenzen einen vertieften Erfahrungsaustausch wünsche,
- Schwierigkeiten, mit denen ich bisher im Projekt zu kämpfen hatte,
- Themen, zu denen ich dringenden Harmonisierungsbedarf sehe (Bitte priorisieren!).

Die nachfolgende Tabelle enthält die Einträge der Teilnehmer.

Tabelle 2: Einträge auf der digitalen Pinwand

| Themen, zu denen ich mir im Rahmen der beiden kommenden Video-Konferenzen einen vertieften Erfahrungsaustausch wünsche ... | Schwierigkeiten, mit denen ich bisher im Projekt zu kämpfen hatte ... | Themen, zu denen ich dringenden Harmonisierungsbedarf sehe (Bitte priorisieren! Prio. 1, 2 od. 3) ... |
|--|---|---|
| Ethische Fragestellung: Es gibt in der Tat einige Fragen ethischer Art, die bei einer zielgerichteten Überwachung sondiert werden sollten. Die WHO hat dieses Thema bereits angesprochen... (Bernd Gawlik, Europäische Kommission, DG JRC, Ispra, Italien) | Gesundheitssektor: Anbindung und Zusammenarbeit mit den lokalen Gesundheitsbehörden. (Bernd Gawlik, Europäische Kommission, DG JRC, Ispra, Italien) | Fehlerfortpflanzung... (Roland Müller, UFZ Leipzig) |
| EU Sentinel System: Anbindung ihrer Initiative an das Europäische Sentinel System der EU Kommission. (Bernd Gawlik, Europäische Kommission, DG JRC, Ispra, Italien) | Manche Methoden leiden unter Lieferschwierigkeiten des Materials. (Hans-Christoph Selinka, UBA Dessau) | Probenahme: Wo, Wie, Transport und Lagerung, PCR Methodik, Quantifizierung der PCR? (Roland Müller, UFZ Leipzig) |
| Morphologische Unterschiede zwischen behüllten und nicht-behüllten Viren (Viren-ähnlichen-Partikel) und der Einsatz als Prozesskontrollen. (Rudolf Markt, Universität Innsbruck, Österreich) | Umgehen mit Ausreißern: Einzelne gravierende Ausreißer (als solche idR erst mit Folgemessungen als solche einzustufen - mögliche Ursachen?) (Stafan Wildt, Amt der Tiroler Landesregierung, Innsbruck, Österreich) | Benutzung der Daten: Aufbau einer einheitlichen Metrik zur Bewertung der gemessenen Daten. Wichtig ist hierbei eine grenzüberschreitende Zusammenarbeit. (Bernd Gawlik, Europäische Kommission, DG JRC, Ispra, Italien) |
| Gesamtgenom Sequenzierung aus Abwasserproben: quantitative Analyse und Dekonvolution der Virus-Varianten. (Rudolf Markt, Universität Innsbruck, Österreich) | Systematische Schwankungen: Manche Anlagen zeigen systematisch deutlich auffälligere Schwankungen zwischen einzelnen Messungen als andere Anlagen – Anhaltspunkte dafür? (Stefan Wildt, Amt der Tiroler Landesregierung, Innsbruck, Österreich) | Die ermittelten Konzentrationen schwanken je nach Probenvolumen und Methoden. Genaue Regeln für die Meldung von Konzentrationen erforderlich! (Hans-Christoph Selinka, UBA Dessau) |
| | | Normierung: Worauf wird normiert? (angeschlossene Einwohner oder gemessene CSB-Frachten, also EW120, ...) – nicht dringend, d.h. Prio. 3 (Stafan Wildt, Amt der Tiroler Landesregierung, Innsbruck, Österreich) |
| | | Ich denke bei Harmonisierung sollten wir dann konkret werden, wenn wir untereinander Proben ausgetauscht und gemessen haben (Ringversuche). (Rudolf Markt, Universität Innsbruck, Österreich) |

1.2 Aufzeichnung der 1. Video-Konferenz

Die Aufzeichnung der Videokonferenz befindet sich auf der Onlineplattform/DWAdirekt/Ausschüsse Online/übergreifende Gremien/sonstige Ausschüsse/CoroMoni/Videokonferenzen/

Link: <https://edp.dwa.de/edpdwa/dkt/object?id=264877>

2. CoroMoni – Video-Konferenz 2 / 04.05.2021

2.1 Bericht

Die zweite Video-Konferenz zum BMBF-Projekt „Aufbau einer Kommunikationsplattform zum Thema „Abwassermonitoring zur Bestimmung des SARS-CoV-2-Infektionsgrades der Bevölkerung, Vernetzung der Forschungsakteure in Deutschland – *CoroMoni*“ fand am 04.05.2021 online statt. Insgesamt nahmen 53 Personen teil. Zusätzlich zu den deutschen Forschungsgruppen, nahmen Österreich und die Schweiz teil. Zudem waren das Robert-Koch-Institut und das Umweltbundesamt vertreten. Alle Teilnehmer blieben bis zum offiziellen Ende der Video-Konferenz dabei.

Dr. Friedrich Hetzel, Leiter der DWA-Abteilung Wasserwirtschaft, moderierte die Veranstaltung. Johannes Lohaus, Bundesgeschäftsführer der DWA, begrüßte die Teilnehmer offiziell.

Folgende, seit der letzten Video-Konferenz am 25.01.2021 neu hinzugekommenen Forschungsprojekte wurden präsentiert:

1. Prof. Dr. Susanne Lackner, TU Darmstadt, Fachgebiet Abwasserwirtschaft:
„Das SARS-CoV-2 Genom im Abwasser – Monitoring der Pandemieentwicklung mittels Sequenzierung“
2. Emanuel Wyler, Max-Delbrück-Centrum Berlin/ Berlin Institut für Medizinische Systembiologie:
„Abwassermonitoring in Berlin seit Februar 2021: SARS-CoV-2 und andere RNA-Viren“
3. Prof. Silvio Beier, Bauhaus-Institut für zukunftsweisende Infrastruktursysteme:
„Dezentrales Abwassermonitoring von SARS-CoV-2 am Fallbeispiel eines Krankenhauses“
4. Robert Möller, Analytik Jena: „Nachweis von SARS-CoV-2 in Abwasserproben“

Außerdem wurde im Rahmen der Konferenz über die Zwischenergebnisse der vier CoroMoni-Arbeitsgruppen berichtet. Dies sind:

1. CoroMoni-AG 1 „Probenahme“
2. CoroMoni-AG 2 „Analytik“
3. CoroMoni AG 3 „Modellierung“
4. CoroMoni AG 4 „Roll out“

Die Diskussionen der AG 4 mündeten in der Initiative, das Gespräch mit den zuständigen Bundesministerien BMU, BMG und BMBF sowie ihren untergeordneten

Behörden UBA und RKI zu suchen. Inzwischen haben Gespräche auf unterschiedlichen Ebenen stattgefunden, über deren Ergebnisse ebenfalls informiert wird.

13. Das SARS-CoV-2 Genom im Abwasser – Monitoring der Pandemieentwicklung mittels Sequenzierung

Konsortium:

- TU Darmstadt, IWAR
- Emschergenossenschaft / Lippeverband (EG / LV)
- ThermoFischer Scientific (TF)
- Endress & Hauser (E&H)

Vortragende: Prof. Susanne Lackner

Das Projekt gliedert sich in vier Arbeitspakete (AP).

AP1 Optimierung der Probenahme:

- Probenvolumen und die Art der Probennahme
- Einfluss der Probenaufbereitung
- Möglichkeiten der Automatisierung der Probenaufbereitung vor Ort, um Sequenzierung zu beschleunigen

AP2 Genomsequenzierung:

- Genomsequenzierung, Methodenoptimierung
- Methodenvergleich (TF: Ampliseq Sequencing, E&H: Nanopore Sequencing) und Auswahl der am besten geeigneten Sequenzierplattform
- Methodenanwendung der Genomsequenzierung

AP3 Einzugsgebietsskalierung für die Genomanalytik:

- Anwendung in Einzugsgebieten der EG / LV (Kläranlagen und Kanalnetz)
- Ermittlung geeigneter Probenahmestellen für ein Einzugsgebiet
- Import von Virenmutationen (aus Flugzeugen am Flughafen, Herausforderung: Matrixeffekte Flugzeugtoiletten-Abwasser)

AP4 Bewertung und Transfer:

- Aufbereitung der Sequenzierungsergebnisse in einer Form, dass Sie von den handelnden Personen genutzt werden können und Darstellung auf Dashboard der EG / LV

- Transfer der Ergebnisse in den Gesundheitssektor und Workshop mit den Stakeholdern

Das Projekt startete am 1.04.2021 mit einer Laufzeit von einem Jahr und wird durch das BMBF gefördert.

14. Abwassermonitoring in Berlin seit Februar 2021: SARS-CoV-2 und andere RNA-Viren

Konsortium:

- Max-Delbrück-Centrum Berlin / Berlin Institut für Medizinische Systembiologie
Prof. Markus Landthaler, Emanuel Wyler, Miriam Foxel, Vic-Fabienne Schumann, Claudia Quedenau, Aylina Deter, Tatiana Borodina, Altuna Akalin, Nikolaus Rajewsky
- Helmholtz-Zentrum für Umweltforschung (UFZ Leipzig)
René Kallies, Antonis Chatzinotas
- Berliner Wasserbetriebe
Frederik Zietzschmann, Regina Gnirss, Uta Böckelmann

Vortragender: Emanuel Wyler

Es gibt sechs Klärwerke in Berlin. Wegen des großen Kanalnetzes liegt der Zeitverzug bis das Abwasser von den Haushalten in die Klärwerke gelangt im Schnitt bei etwa 12 Stunden. Dieser relativ lange Zeitraum kann sich negativ auf die Probenqualität auswirken. Es werden zwei-Stunden-Mischproben entnommen im Zeitraum 20:00 bis 22:00 oder 24:00 Uhr entnommen. Der Transport und die Analyse erfolgen direkt am Tag danach.

Für die Probenaufbereitung wird filtriert (2 und 0,2 μm), 60ml des Filtrates werden aufkonzentriert und die RNA mit Trizol/DirectZol-Kit von Zymo extrahiert. Die Quantifizierung der RNA geschieht mit qPCR. Quantitative Aussagen zur Virusmenge sind jedoch derzeit nicht möglich, sondern nur Ja-/ Nein-Aussagen. Die Ct-Werte von SARS-CoV-2 werden mit dem Pepper Mild Mottle Virus (PMMV, ein abundantes Pflanzenvirus) normalisiert.

Von besonderem Interesse ist beim zu erwartenden Abflauen der Inzidenzen, wo die untere Grenze der Virusmengen für einen Nachweis in Abwasser liegt bzw. welcher Inzidenzwert entspricht der Detektionsgrenze entspricht.

Mit Hilfe von Gesamtgenomsequenzierung wird die B 1.1.7-Variante aufgespürt. Dazu kommt das ARTIC-seq-Protokoll (98 amplicons) zum Einsatz. In schwachen Proben konnten nur 20-50 amplicons identifiziert werden, in den meisten aber alle 98 amplicons, d.h. die volle Abdeckung des viralen Genoms war gewährleistet.

Mit dem Anstieg der Fallzahlen zu Beginn des ersten Quartals 2021 könnte eine Zunahme des Anteils der B 1.1.7-Variante beobachtet werden, der Mitte März bereits bei 100% lag.

Von besonderem Interesse sind Mutationen am Spikeprotein (K484 und L452), die zu einer leichten Verminderung der Impfstoffwirkung führen.

Die zusätzlich durchgeführte Total-RNA-Sequenzierung in der Probe zeigte auch Befunde für weitere Mikroorganismen. Bakterien machen – trotz Abreicherung durch Filtrierung – 60% der Sequenzierdaten aus. 95% gehen jedoch auf Viren zurück, Pflanzenviren und humanpathogene Viren. Pflanzenviren sind für die Landwirtschaft interessant, z.B. PMMV, Tomato brown rugose fruit virus und Tobacco mosaic virus.

Bei den humanpathogenen Viren sind vor allem Gastroenteritis-Viren, wie Noro-, Picobirna- und Astroviren vertreten, aber interessanterweise war sich auch das Hepatitis E-Virus nachweisbar.

SARS-CoV-2-Viren sind durch Total-RNA-Sequenzierung nicht in den Proben nachweisbar, weil sie ungefähr 1000mal geringer konzentriert sind und nur mit starker Anreicherung durch PCR auffindbar sind.

Fazit:

- Auch bei großen Kanalnetzen wie in Berlin ist die Detektion von SARS-CoV-2 möglich, wenn auch weniger sensitiv als bei kleineren Kanalnetzen, weil mit Abbau durch lange Wegezeiten zu rechnen ist.
- Durch das Optimieren von Entnahmeorten, -zeiten und -methoden (Stich- vs. Mischproben) und Entnahme näher bei den Haushalten versuchen die BWB die Wiederfindung zu verbessern.
- Auch die Aufbereitung der Abwasserproben soll weiter optimiert werden (Effizienz / Kosten / Bakterien oder Viren).
- Die SARS-CoV-2-Genomsequenzierungen ist ohne weiteres möglich. Offen bleibt die Frage, welchen prozentualen Anteil die Varianten in der Probe ausmachen. Hier gilt es noch, die Methodik zu verfeinern.
- Die Total-RNA-Sequenzierung bietet viele Möglichkeiten zur (molekularen) Epidemiologie, insbesondere von Magen-Darm-Viren. Es könnten spezifische PCR-Assays entwickelt und genutzt sowie verfügbare kommerzieller Assays.
- Zurzeit werden Programme für Datenanalyse und –darstellung entwickelt. Ziel ist es eine kompakte Analysepipeline kostenlos zur Verfügung zu stellen.

15. Dezentrales Abwassermonitoring von SARS-CoV-2 am Fallbeispiel eines Krankenhauses

Konsortium:

- Bauhaus-Universität Weimar, Prof. Silvio Beier
- RWTH Aachen, Prof. Johannes Pinnekamp, Prof. Wintgens, Prof. Linnemann
- Hochschule Hamm-Lippstadt, Prof. Claudia Klümper, Fr. Häußer
- Aggerverband, Hr. Weber
- Analytik Jena GmbH, Dr. Robert Möller

Vortragender: Prof. Silvio Beier

In Waldbröl besteht die Möglichkeit, reines Krankenhausabwasser zu beproben und zu untersuchen. Das Krankenhaus verfügt über eine krankenhauseigene Kläranlage. Das Niederschlagswasser wird getrennt abgeleitet, wodurch bei Regenwetter keine Verdünnung durch Niederschlagswasser gegeben ist. Die Krankenhauskläranlage ist als Membranbioreaktor ausgeführt. An der Membrankläranlage, erfolgen auch Untersuchungen zur Eliminations- bzw. Reinigungsleistung. Darüber hinaus werden Proben an einer Probenahmestelle der kommunalen Kläranlage entnommen.

Derzeit liegt die Inzidenz im Oberbergischen Kreis bei 200, weshalb davon ausgegangen wird, dass noch einige Zeit Patienten mit Corona-Erkrankung im Krankenhaus behandelt werden. Im Projekt soll die SARS-CoV-2-Belastung des Krankenhausabwassers mit der Belastung des kommunalen Abwassers verglichen und bilanziert werden.

Der Fokus richtet sich zusätzlich auf Abwasserinhaltsstoffe, z.B. Desinfektionsmittel, die zu einem Abbau der RNA führen oder die qPCR inhibieren könnten.

Das analytisch-methodische Vorgehen ist wie nachfolgend dargestellt geplant.

Probennahmepunkte:

- Zulauf und nach den einzelnen Behandlungsstufen ggf. auch Schlamm aus dem MBR

Probennahme:

- Aktuell 24 h Mischproben durchflussproportional / volumenproportional (lassen gute Korrelation zur Bilanzierungsbetrachtung zu)
- ggf. auch angepasste Zeitfenster
- mehrfach die Woche (zwei- bis dreimal)
- Lagerung und Transport bei 4 C; Untersuchung innerhalb von 48 h vorgesehen

Probenaufkonzentration:

- PEG-Precipitation oder ohne Aufkonzentrierung

Methode RNA-Extraktion:

- Magnetic Beads oder Silica-Column

Detektion:

- RT-qPCR
- Primer voraussichtlich N1 (N2 und E ebenfalls orientierend mit untersucht)

Erste Ergebnisse sollen in drei bis vier Monaten publiziert werden.

16. Nachweis von SARS-CoV-2 in Abwasserproben

Konsortium:

- Analytik Jena GmbH (Endress & Hauser Company)
- Emschergenossenschaft / Lippeverband

Vortragender: Robert Möller

Das Projekt startete Anfang Oktober 2021 in Kooperation mit der Emschergenossenschaft / Lippeverband als industriegetriebenes Projekt ohne externe Fördergelder.

Ziele des Projektes sind:

- der erfolgreiche Virusnachweis in Abwasserproben
- die Etablierung eines geeigneten praxistauglichen Workflows
- die Optimierung des Workflows und Identifikation von Entwicklungspotentialen für eine prozessnahe Anwendung

Die TU Darmstadt, Prof. Lackner, hat als Referenz alle Proben zusätzlich analysiert. Bereits im Dezember 2021 gelang der erfolgreiche Virus-Nachweis.

Der Workflow sieht wie folgt aus:

- 24h-Mischprobe (E & H-Probenehmer, alle 5min 50mL, Gesamtvolumen 14,4L), davon werden 100mL entnommen und filtriert
- pH-Wert-Einstellung auf 3,5 bis 4 (optional)
- Überdruckfiltration durch electronegative Filtermembran
- Freisetzung der Virus-Fragmente aus dem Filter in hauseigenem Homogenisator SpeedMill
- Überstand der angereicherten Virus-RNA wird anschließend automatisiert in einem Analytik Jena-Greät mit einem Analytik Jena Kit aufbereitet (RNA-

Extraktion mit innuPREP AniPath DNA/RNA Kit – IPC16 in Kombination mit InnuPure); bis zu 16 Proben können automatisiert parallel aufgereinigt werden

- Umschreiben der RNA zur DNA (reverse Transkription) und Amplifikation des Zielgens sowie Detektion (RT PCR-Nachweis in qTOWER)
- Targets: SARS-CoV-2 N1 und N2, kommerzielles Kit (FAM-Markierung), humane RNase P als Kontrolle (HEX-Markierung), weitere Standards sollen noch integriert werden

Der Workflow kann schnell in geeigneten Laboren etabliert werden. Die erforderlichen Reagenzien sind gut verfügbar. Dagegen gestaltet sich die Verfügbarkeit des Standards zur Quantifizierung der Messungen schwierig.

Bisherige Ergebnisse zeigen, dass das Monitoring der Infektionszahlen über Bestimmung der Viruslast im Abwasser möglich ist. Die Datenanalyse ist bisher noch nicht abgeschlossen. Eine Schwierigkeit besteht darin, die Infektionszahlen im Einzugsgebiet der Kläranlagen zu ermitteln und mit den gemeldeten Fallzahlen der lokalen Gesundheitsbehörden in Deckung zu bringen.

Die Kommunikation mit den lokalen Gesundheitsämtern ist noch ausbaufähig.

Fazit:

- Es sollte weniger über ob und wie gemessen wird diskutiert werden und stattdessen lieber kontinuierlich und reproduzierbar gemessen werden.
- Für die Praxisumsetzung ist es wesentlich zu klären, wer für die Testung verantwortlich ist und wer die Kosten trägt. Das interessiert vor allem die Betreiber von Abwasseranlagen.
- Die Kommunikation mit den Gesundheitsämtern muss dringend verbessert werden.
- Eine weitere Prozessautomatisierung ist notwendig und machbar.
- Ein repräsentatives flächendeckendes Monitoring ist zwingend notwendig.
- Die Umsetzung der EU-Empfehlung führt zu einem sehr lückenhaften Bild, da viele Bundesländer nur über wenige Kläranlage der Größenklasse 5 (> 100.000 EW) bzw. > 150.000 EW verfügen.

Diskussion der vorgestellten Projekte

Die Kosten für Probenahme, Probenaufbereitung und Analytik liegen laut EU bei 25.000,-€ pro Kläranlage und Jahr. Die Auswertung der Daten ist hierin jedoch nicht inkludiert. Aussagen von Analytik-Anbietern liegen bei 500,-€ bis 700,-€ pro Probe. Eine Überschlagsrechnung geht von 44.000 Proben im Jahr aus. Nach dieser Rechnung kommt man in eine ähnliche Größenordnung wie die EU. Dabei ist zu hinterfragen, ob der Standard dreifach mitzuführen ist wie im Fall von humanen

Proben. Ggf. Sind gewissen Vereinfachungen gegenüber der EU-Empfehlung machbar, die sich kostenreduzierend auswirken – ohne einen Qualitätsverlust des Ergebnisses zu bewirken.

Im Hinblick auf die verfügbare Laborkapazität seien laut Analytik-Anbietern die Kapazitäten gerade im Aufbau. Gerätetechnisch wird hier kein Engpass gesehen. Im Fall einer flächendeckenden Umsetzung des Überwachungssystems werden allerdings die auf dem Markt verfügbaren Referenzmaterialien zum Bottleneck. Mit digital droplet PCR ist jedoch eine Quantifizierung auch unabhängig von Standards möglich. Für die Probenvorbereitung müsste ein organisiertes Angebot auf dem Markt geschaffen werden, was als lösbares Problem angesehen wird. Hierbei könnten Landesämter und universitäre An-Institute eingebunden werden. Prinzipiell ist zwischen der PCR-Analytik und der Sequenzierung zu unterscheiden. Letztere beinhaltet das größere Ressourcenproblem. Zeitlich bildet die aufwendige Probenaufbereitung (Zentrifugation, Ultrafiltration) den Flaschenhals hinsichtlich der Qualität des Sequenzierungsergebnisses. Bekannte Mutanten bzw. Varianten können aber über spezifische PCR-Verfahren nachgewiesen werden, nicht ausschließlich über Sequenzierung. Eine Kombination beider Verfahren würde Sinn machen. Dabei ist jedoch zu berücksichtigen, dass manche Mutanten in mehreren Varianten vorkommen. Im Hinblick auf das Know how für die Sequenzierung wird kein Engpass gesehen. Es gibt eine große Anzahl akademischer Sequenzierzentren.

Die Abdeckungsdichte des Überwachungssystems hängt von dem beabsichtigten Überwachungszweck ab:

- a) operative Zwecke / Festlegung von Handlungsmaßnahmen oder
- b) Schaffung eines Überblickes über das Infektionsgeschehen.

Die Entwicklung des Herstellerangebots geht zunehmend in die Richtung, Probenvorbereitung und Analytik mit einfach zu handhabender Technik zentral auf Kläranlagen anzubieten. Im Nebeneffekt wird hierdurch ein Standardisierungseffekt erzielt. Die Entwicklungen sollten im Blick gehalten werden.

Vorstellung und Diskussion der Ergebnisse aus den CoroMoni-Arbeitsgruppen

CoroMoni-AG 1 “Probenahme”, Sprecher: Dr. Manfred von Afferden (UFZ Leipzig) und Björn Helm (TU Dresden)

Dr. van Afferden trägt die Ergebnisse der CoroMoni-AG 1 “Probenahme” vor. Das Vorgehen bei der Probenahme wird in bestimmten Punkten von der Überwachungsstrategie beeinflusst. Die prinzipiellen Anwendungsmöglichkeiten des abwasserbasierten Überwachungssystems für SARS-CoV-2 sind:

- a) die Etablierung eines quantitativen Frühwarnsystems und Verfolgung der Infiziertenzahlen,
- b) ein Qualitatives Warnsystem zur Überwachung Corona-freier Zonen,

- c) ein Nachverfolgungssystem als ereignisbezogenes mobiles Probenahmesystem für Hotspots (Teilkannalnetze, sensible Einrichtungen).

Für die Erstellung eines Probenahmeprotokolls für eine standardisierte Abwasser-Probenahme auf Kläranlagen gilt es zunächst den Einsatzbereich zu definieren. Im nächsten Schritt ist es erforderlich, einen Abgleich mit existierenden Normen und Empfehlungen herzustellen. Man muss sich auch das Vorgehen in der Praxis auf den Kläranlagen anschauen, um das Probenahmeprotokoll möglichst nah an der Routine auf den Anlagen anzulehnen. Schließlich sollte das Protokoll unter den realen Bedingungen auf den Kläranlagen getestet werden.

Folgende Normen / Empfehlungen sind zu nennen:

DIN 38402-11:

- Teil 11: Probenahme von Abwasser (A 11) DIN EN ISO 19458,
- Wasserbeschaffenheit – Probenahme für mikrobiologische Untersuchungen

EU-report / EU-Sample Form:

- 24 h-Mischprobe
- durchfluss- oder zeitproportional
- Zulaufproben
- hohe Frequenz der Abwasserteilproben
- Normalisierung über die hydraulische Last

Um die größtmögliche Handhabbarkeit des Probenahmeprotokolls in der Praxis zu erzielen fanden folgende Punkte bei der Erarbeitung Berücksichtigung:

- Es soll auf verfügbare Systeme (Autosampler) und Routinen zurückgegriffen werden.
- Zur vereinfachten Handhabbarkeit soll wiederholtes Ausfüllen auf den Kläranlagen vermieden werden (Stammdaten nur einmal ausfüllen).
- Zur eindeutigen Zuordnung der Proben sind kläranlagenspezifische Probenbezeichnungen anzustreben.
- Wünschenswert wäre eine digitale Plattform, in die bereits genutzte Excel-Sheets automatisiert einlesbar sind.
- Es ist ein realistisches Probenahmenvolumen vorzusehen, da Eigenanalysen Priorität haben.

Offen bleiben folgende Fragen, die in der AG 1 noch zu diskutieren sind:

- Auf welche Kläranlagengröße ist das Probenahmeprotokoll anzuwenden (Größenklasse 5 oder auch kleiner, Anwendung für Teilnetze)?

- Wie hoch soll die Häufigkeit der Probenahme sein (analog EU-Empfehlung oder abweichend davon)?
- Soll der Transport über Logistik-Unternehmen erfolgen?

Die Diskussion in der AG 1 wendet sich zudem der Frage nach weiteren möglichen Produkten zu. Dies können sein:

- Hinweise zur Probenaufbereitung vor Ort auf der Kläranlage,
- Probenahmeprotokoll für kleine Kläranlagen, Teilnetze und andere Matrizes (Primär- und Klärschlamm),
- angepasstes Probenahmeprotokoll für Ja-/ Nein-Aussagen ohne Quantifizierung.

CoroMoni-AG 2 “Analytik”, Sprecher: Roger Dumke (UFZ Leipzig)

Dr. Dumke stellt die Ergebnisse der AG 2 “Analytik” vor. Die nachfolgenden Aspekte und Parameter nehmen Einfluss auf das Ergebnis des Virus-Nachweises:

- Wiederfindungsrate der Konzentrierung,
- angereichertes Volumen (hängt vom Verfahren der Aufkonzentrierung ab),
- Partikel-gebundener Virusanteil (wie hoch ist er noch nach z.B. Zentrifugation?),
- Effizienz der RNA-Präparation,
- Elimination von PCR-Inhibitoren, die im Abwasser immer gegenwärtig sind,
- Sensitivität des PCR-Verfahrens (rt-qPCR oder ddPCR),
- Zielgene,
- Quantifizierungsstandards bei Auswertung der gemessenen ct-Werte,
- Nachweis von Mutanten.

In den *CoroMoni*-Projekten besteht ein breites Spektrum der verwendeten methodischen Ansätze, die folgende Aspekte bei der Probenahme, Probenaufbereitung und Analytik betreffen:

- Anzahl der Beprobungsstandorte und Größe der Anlagen,
- Anzahl und Probenmatrix (Rohabwasser oder Primärschlamm),
- Art der Probenahme (24h-Mischprobe, qualifizierte Stichprobe),
- Methoden der Anreicherung, RNA-Extraktion, PCR und Quantifizierung.

In der AG wurde zunächst zusammengetragen, wie in den einzelnen *CoroMoni*-Projekten die EU-Empfehlungen zum Abwassermonitoring umgesetzt, wie Kontrollen mitgeführt werden und wie mit hohen ct-Werten umgegangen wird.

Im Hinblick auf die Nutzung der Ergebnisse zur RNA-Konzentration im Abwasser besteht Einigkeit in der AG 2, dass:

- es noch schwierig ist, die RNA-Kopien im Abwasser mit der Zahl der Infektionen im Einzugsgebiet zu korrelieren und partiell nur funktioniert,
- zuverlässige Trendergebnisse zum jetzigen Zeitpunkt sicher getroffen werden können.

Es stellt sich die Frage, ob es notwendig für sichere Trendergebnisse ist, die Verfahrensabläufe der Probenaufbereitung und Analytik zu standardisieren. Für Labore, die einen Verfahrensablauf etabliert haben und über eine bestimmte Ausstattung verfügen, wäre der Aufwand der Umstellung auf einen Standard sehr hoch. In einem Ringversuch sollen daher zunächst die Abweichungen zwischen den unterschiedlichen Methodiken untersucht werden, um die Dringlichkeit einer Standardisierung einschätzen zu können.

Das Studiendesign des Ringversuchs sah wie folgt aus:

- Entnahme von Abwasserproben aus drei Anlagen mit unterschiedlicher Belastung / Inzidenz (Universität Innsbruck),
- Aliquotierung und Versand unter Kühlbedingungen,
- Aufbereitung und Analyse der Proben zum gleichen Startzeitpunkt,
- Rückmeldung der Details der Methodik und der quantifizierten Resultate.

Von den beteiligten 12 Teilnehmern liegen inzwischen in acht Fällen Ergebnisse vor.

Die Bandbreite der Probenvolumina für die Anreicherung lag zwischen 40 und 300 ml. Als Methoden der Aufkonzentrierung kamen PEG-Fällung, Ultrazentrifugation und Ultrafiltration zum Einsatz. Bei den Verfahren der RNA-Extraktion und PCR sowie bei verwendeten Zielgenen, Quantifizierungsstandards und Geräten bestand große Heterogenität.

Die absoluten Ergebnisse der überwiegenden Zahl der beteiligten Labore liegen in einer vergleichbaren Größenordnung. Alle Labore konnten die unterschiedlich hohen RNA-Konzentration in den drei Proben aus Gebieten unterschiedlicher Inzidenz nachweisen und damit den Trend korrekt abbilden.

Folgende vorläufige Schlussfolgerungen können getroffen werden:

- Allen Laboren gelang der erfolgreiche Nachweis von SARS-CoV-2 in allen Proben.
- Die Unterschiede in den SARS-CoV-2-Konzentrationen, die von den einzelnen Laboren ermittelt wurden, sind geringer als sie bei der Vielfalt der Methoden zu erwarten gewesen wären.

Um die Frage nach der Notwendigkeit der Standardisierung beantworten zu können, müssen zunächst die Ergebnisse der verbleibenden vier Labore abgewartet werden.

Alle Labore haben zudem ihre RNA-Extrakte zur Universität Innsbruck geschickt, um sie dort nach einem einheitliche PCR-Protokoll zu analysieren und zu quantifizieren. Hieraus werden sich Hinweise dazu ergeben, ob die Konzentrationsunterschiede in den unterschiedlichen PCR-Verfahren oder bereits vorher in der Anreicherung der Probe begründet liegen.

CoroMoni-AG 3 “Modellierung”, Sprecher: Dr. Christian Wilhelm (DWA)

Dr. Wilhelm berichtet über die Ergebnisse der CoroMoni-AG 3 “Modellierung”. Folgende Themen- und Problemfelder zur Verfügbarkeit von Daten wurden in der AG 3 identifiziert:

- Ausscheidungen von Infizierten in Abhängigkeit vom Krankheitsverlauf, zeitliche Variabilität, Abklingverhalten,
- Mangelnde Deckungsgleichheit der RKI-Meldung zu den Fallzahlen auf Kreisebene mit dem Einzugsgebiet der Kläranlagen,
- Abwasserkanäle: Verweilzeiten, Abbauprozesse, Fremdwasser,
- Systematische & zufällige Größen im Einzugsgebiet,
- Feststoffe vs. Flüssigphase.

Die AG 3 richtete ihren Fokus im Wesentlichen auf die Frage, was das Modellieren zur Anwendung des Abwassermonitorings in der Praxis und zur Erstellung von Prognosen und Empfehlungen beitragen kann. Folgende Punkte wurden hier gesehen:

- Referenzen zur Normierung der PCR-Ergebnisse (hydraulische Last, CrassPhage, PMMoV),
- Bestimmung der Dunkelziffer (je nach Infektionslage, Faktor 2-10),
- Modellierung nach „vorne“,
- Lokalisierung von Superspreader Events,
- Statistisches Model vs. Prognosemodell (gleich oder ganz anders)

Enger inhaltlicher Austausch und Datenaustausch mit den *CoroMoni*-Arbeitsgruppen 1 “Probenahme”, 2 “Analytik” und 4 “Roll out” wird für erforderlich gehalten. Das weitere Vorgehen soll noch abgestimmt werden. Die AG 3 wird zunächst die Ergebnisse der anderen Arbeitsgruppen abwarten.

In der Diskussion dieses Beitrags kam die Frage auf, welche best practice-Erfahrungen aus anderen Ländern existieren? Davon könnte man lernen. Bisher hat auch noch keine Zusammenstellung der verwendeten Modelle stattgefunden. Auch das wäre eine mögliche zukünftige Aufgabe für die AG 3.

CoroMoni-AG 4 “Roll out”, Sprecher Dr. Jörg Drewes (TU München) und Prof. Andreas Thiem (TZW Karlsruhe)

Prof. Drewes informiert, dass die AG 4 “Roll out” seit Publikation der EU-Empfehlungen zum Abwassermonitoring, gemeinsam mit der DWA den Dialog mit dem RKI und BMG aufgenommen hat, um die nächsten Schritte in Richtung Praxisumsetzung zu diskutieren. Auf Bundesebene gibt es noch zahlreiche offene Fragen dazu, wie praktikabel die Umsetzung der EU-Empfehlungen in Deutschland ist, die es noch im im Rahmen des Dialoges zu vertiefen gilt.

Prioritäre Aufgabe der AG 4 ist es daher, zunächst anhand von Praxisbeispielen deutlich zu machen, wie das Abwassermonitoring nutzenbringend und ohne zusätzlichen Aufwand bei den Gesundheitsbehörden eingesetzt werden kann. Die Erfahrungen aus Karlsruhe und dem Berchtesgaderner Land zur Implementierung des Abwassermonitorings sind hier als besonders positive Beispiele zu erwähnen. An diesen Fallbeispielen kann deutlich gemacht werden, welche Voraussetzungen für eine effiziente zeitnahe Nutzung von Abwasserbefunden durch die Entscheidungsträger gegeben sein müssen.

Als Gründe dafür, warum sich Deutschland mit der Implementierung des Abwassermonitorings so schwertut, können angeführt werden:

- keine vorhandene Verwaltungsstruktur für die Einbindung eines CoV-2-Biomarker-Monitorings,
- unklare Ressortzuständigkeiten (BMU oder BMG?),
- Sorge der Gesundheitsämter vor Überlastung (hier können die Wissenschaftler mit Lösungskonzepten ansetzen, damit sich Gesundheitsämter nicht fachlich und zeitlich überfordert fühlen),
- fehlende digitale Schnittstellen (z.B. Sormas X),
- Kosten und Finanzierung.

Folgende Punkte sind bei der Praxisanwendung des Abwassermonitoring von SARS-CoV-2 zu beachten:

- Die Abwasserzusammensetzung ist dynamisch.
- Struktur und Größe der Kanalisation spielen eine Rolle.
- Der Fremwassereinfluss ist wichtig für die Bestimmung der Viruslast im Abwasser.
- Das gleiche gilt für Niederschlagsereignisse und Tauwetter, die verdünnend wirken.
- Gewerbliche und industrielle Einleiter

- Das Verhalten der Viren in der Kanalisation (Verweilzeiten und Abbauverhalten) wirkt sich auf die gemessene Viruslast im Abwasser aus. Wesentlich ist ein gutes Verständnis des Kanalisationssystems.
- Art der Probennahme (Stichprobe, qualifizierte Stichprobe, 24 h-Mischprobe).
- Probenlogistik (Probensammlung und Versand),
- Probenaufbereitung und Analytik,
- Variabilität des Abwassers, Normalisierung mit zusätzlichen Parametern (CrAssPhagen oder PMMo-Viren; CSB; elektr. LF; etc.).
- Für die Ergebnisverwertung durch die Entscheidungsträger ist es wichtig das Einzugsgebiet der Abwasseranlage mit den politischen Stadt-/Gemeindegrenzen abzugleichen, die Daten mit den Neuinfektionen in 7 Tagen korreliert zu übermitteln und bei der Interpretation der Daten zu unterstützen.

In den Fallbeispielen Karlsruhe und Berchtesgadener Land wurde das Abwassermonitoring von SARS-CoV-2 frühzeitig als ein Baustein in den Bereich Public health eingebunden. Dabei richtete sich der Fokus auch darauf, wie die Ergebnisse IT-unterstützt in die Krisenstäbe transferiert werden können.

Der Klärwerksmeister kann die Daten zur Probenahme gemäß Probenahmeprotokoll direkt über eine App in die Datenmaske eingeben. Neue Messstellen in der Kanalisation können problemlos ergänzt werden (z.B. bei Hotspot-Nachverfolgung im Kanalnetz). Die Probennahmestellen sind im System georeferenziert dargestellt. Die Daten werden automatisch in die zentrale Datenbank übermittelt und erscheinen auf dem Dashboard. Die Daten sind dann unmittelbar für die Entscheidungsträger, aber auch für die Labore verfügbar, die mit der Probenaufbereitung und –analytik befasst sind. Als Teil der Stammdaten sind in der Datenbank auch die Fremdwasserdaten hinterlegt. Zusätzlich gehen die realen Wetterdaten in das System ein. Mit Hilfe mathematischer Algorithmen kann automatisiert eine rechnerische Korrektur der Verdünnungseffekte (Normalisierung) erfolgen.

Die gemeldeten Fallzahlen sollten ebenfalls möglichst georeferenziert vorliegen, um positive Infizierte verorten zu können und mit den Abwasserbefunden zu korrelieren. Im Fall des Berchtesgadener Lands ist diese Kopplung erfolgt. Die gesamte Kanalisation ist digital vorhanden und das Abwasserkataster ist eingebunden.

Bei den Abwasserbefunden können Trends mit Farbcodes (Ampelsystem) gekennzeichnet werden, so dass eine alarmierende Veränderung ohne Bewertung von RNA-Konzentrationen im Abwasser unmittelbar erkennbar ist. Das Gesundheitsamt hat bis zu der Darstellung der finalen Daten auf dem Dashboard keinerlei Aufwand mit der Aufbereitung und Bewertung der Daten. Voraussetzung dafür ist jedoch, dass die Meldedaten digital und georeferenziert erfasst werden, was nicht bei allen Gesundheitsbehörden der Fall ist.

Zusammenfassend lässt sich zu der Frage, was das Abwassermonitoring leisten kann, festhalten:

Es bietet Krisenstäben einen deutlichen Informationsgewinn durch:

- ein verbessertes Lagebild,
- die Erfassung der Gesamtbevölkerung,
- 10 Tage Vorlauf vor klinischen Fallzahlen,
- die Bestätigung von fallenden Fallzahlen durch niedrige Abundanzen
- den Nachweis des Wiederauftretens von Biomarkern einschließlich Mutanten
- die Abschätzung der Dunkelziffer
- die Nutzung als Frühwarnsystem und Entwarnsystem

Was das Abwassermonitoring nicht leisten kann, ist eine Grundlage für die Anordnung von Maßnahmen (Quarantäne, Lockerungen) zu bilden. Auch der Vergleich von absoluten Befunden zwischen Kommunen (bei unterschiedlichen Methoden) ist derzeit nicht möglich. Ein wirklich flächendeckender Ansatz für ganz Deutschland ist wenig realistisch. In erster Linie sollte bei Kommunen angesetzt werden, die die genannten Voraussetzungen erfüllen und die bereit sind, mitzuwirken (Koalition der Willigen).

Bericht über das Gespräch zwischen DWA, RKI, BMG, UBA, BMU und BMBF

Am 17.03.2021 publizierte die EU Empfehlungen zum Abwassermonitoring. Die Mitgliedsstaaten sind aufgerufen, bis zum 1. Oktober 2021 ein nationales Abwasserüberwachungs-System einzurichten. Bis zum 1.04.2021 sind Kontaktstellen zu benennen, zum einen für die öffentliche Gesundheit und zum anderen für den Abwasserbereich. Bis zum 15.05.21 ist gegenüber der EU über die getroffenen Maßnahmen zu berichten.

Die EU-Empfehlung enthält folgende Aussagen zur Umsetzung des Abwassermonitorings:

- Es soll Abwasser aus Großstädten mit mehr als 150.000 Einwohnern (56 Städte in Deutschland) beprobt werden.
- Es sind mindestens zwei Probenahmen pro Woche vorzusehen, bei sinkenden Inzidenzwerten kann auf eine Probe pro Woche reduziert werden.
- Im Bedarfsfall ist auch das Kanalnetz zu beproben.
- Die Detektion von SARS-CoV-2-Varianten soll zweimal im Monat erfolgen.
- Die Ergebnisse sind innerhalb von 48 h nach der Probenahme an die zuständigen Gesundheitsbehörden und die zentrale Europäische Austauschplattform zu kommunizieren.

- Es sollen 24 h-Mischproben als zeit- oder durchflussproportionale Probe bei Trockenwetter genommen werden.
- Es ist die Viruslast pro Kopf und Tag anzugeben.

In der EU nutzen bereits viele Länder die abwasserbasierten Ergebnisse für die Entscheidungsfindung im Hinblick auf den Umgang mit der Pandemie. Dazu zählen:

- Niederlande
- Finnland
- Luxemburg
- Estland
- Lettland
- Slowenien
- Österreich (teilweise: Region Tirol)
- Spanien (teilweise: Region Katalonien)

In zahlreichen weiteren EU-Ländern laufen Pilot- oder Referenz-Projekte. Dies sind;

- Portugal (steht kurz vor dem roll out)
- Frankreich
- Belgien
- Zypern
- Griechenland
- Schweden
- Slowakei
- Tschechien

Ein Beispiel außerhalb der EU, bei dem Abwassermonitoring von SARS-CoV-2 eine entscheidende Rolle spielt, ist Australien. Dort wird bereits teilweise komplett auf Abwasseruntersuchung vertraut, da das Infektionsgeschehen in vielen Landesteilen unter Kontrolle ist. Sobald im Abwasser ein Signal gemessen wird, sollen humane PCR-Tests in der betreffenden Region hochgefahren werden.

Um die flächendeckende Umsetzung der EU-Empfehlungen in Deutschland zu diskutieren, führte die DWA Gespräche mit Vertretern der Bundesministerien BMU, BMG und BMBF sowie ihren untergeordneten Behörden UBA und RKI.

Fragen die in dieser Runde prioritär interessierten waren:

- Wie kann die Identifikation von Hotspots mit Probenahme im Kanalnetz funktionieren? Wie viele Proben sind im Kanalnetz erforderlich?

- Wie hoch kann der Kosten-, Zeit- und Personalaufwand beziffert werden?
- Reicht die in Deutschland verfügbare Laborkapazität für den flächendeckenden Nachweis der Mutanten aus?
- Welche Änderungen der rechtlichen Grundlage sind erforderlich?
- Wo liegt der Mehrwert des Abwassermonitorings (Korrelation mit Fallzahlen, Rückschluss auf Zahl der Infizierten, Ermittlung der Dunkelziffer)?
- Was können Entscheidungsträger mit den Daten anfangen (Bewertung, Gewichtung von Einflussparametern)?
- Ist die Bereitschaft der Betreiber von Abwasseranlagen, an dem Überwachungssystem mitzuwirken, gegeben?
- Wie kann weitere Überlastung der Gesundheitsbehörden, insbesondere bei flächendeckender Umsetzung, vermieden werden?

Als möglicher Lösungsweg sollen zunächst Pilotprojekte in Regionen definiert werden, in denen sowohl die Voraussetzungen auf der Abwasser- als auch auf der Gesundheitsseite gegeben sind. Konkret heißt das herauszufinden, wo und unter welchen Bedingungen die Erfolgsaussichten einer erfolgreichen nutzenbringenden Zusammenarbeit zwischen Betreibern von Abwasseranlagen und Gesundheitsbehörden möglich ist. Dazu müssen Kriterien formuliert werden, auf deren Basis eine Kategorisierung geeigneter Kommunen erfolgen kann.

1. Kategorisierung geeigneter Kommunen / Kläranlagen z.B. nach folgenden Kriterien:
 - Kläranlagengröße, Abwasserreinigungsverfahren
 - automatischer Probenehmer, Probenahmeart
 - Abwasserpumpwerke im Kanalnetz
 - Entwässerungssystem
 - Fremdwassereinfluss
 - personelle Ressourcen
2. Kategorisierung der Gesundheitsämter hinsichtlich ihrer Eignung, z.B.:
 - Nutzung von SORMAS oder vergleichbaren Systemen
 - Liegen Fallzahlen georeferenziert vor?

Ergebnis der Diskussion und Fazit der Veranstaltung

Die Vorteile und Leistungen des abwasserbasierten Überwachungssystems von SARS-CoV-2 wurden in den Beiträgen erneut plakativ dargestellt. Der Nutzen der Früh- und Trenderkennung wird in der Forschungsgemeinschaft nicht angezweifelt. Es

gibt praktikable Ansätze, die die Umsetzung vereinfachen, ohne bei Gesundheitsbehörden zusätzlichen Aufwand zu erzeugen. Die betreffenden Fallbeispiele können Leuchtturmcharakter für den bundesweiten Roll out haben. Man sollte nicht im ersten Schritt bereits die flächendeckende Umsetzung ins Auge fassen, sondern dort ansetzen, wo die Voraussetzungen günstig sind und die zu Beteiligten Bereitschaft signalisieren. Grundsätzlich konnte eine hohe Offenheit der Kommunen, an dem Überwachungssystem mitzuwirken, festgestellt werden.

Da auch langfristig eine wirklich flächendeckende Umsetzung unrealistisch einzustufen ist, wäre es ratsam ein Konzept zu entwickeln, wo besonders vulnerable Bereiche sind, die es zu beobachten gilt. Beispielhaft seien hier Grenzregionen genannt, aber auch Seniorenheime, Schulen etc.

Aus Sicht der Analytik-Anbieter wäre gut zu wissen, wann der Startschuss für das Abwassermonitoringsystem fallen soll, um Bereitstellung von Laborkapazität besser planen zu können.

Weiteres Vorgehen

Die AG 4 und die DWA werden weiterhin mit den Ministerien und Gesundheitsbehörden im Gespräch bleiben und bei der nächsten Gelegenheit über die Ergebnisse zu informieren.

2.2 Aufzeichnung der 2. Video-Konferenz

Die Aufzeichnung der Videokonferenz befindet sich auf der Onlineplattform/DWA direkt/Ausschüsse Online/übergreifende Gremien/sonstige Ausschüsse/CoroMoni/Videokonferenzen/

<https://edp.dwa.de/edpdwa/dkt/object?id=268082>

3. CoroMoni – Video-Konferenz 3 / 03.08.2021

3.1 Bericht

Die dritte Video-Konferenz zum BMBF-Projekt „Aufbau einer Kommunikationsplattform zum Thema „Abwassermonitoring zur Bestimmung des SARS-CoV-2-Infektionsgrades der Bevölkerung, Vernetzung der Forschungsakteure in Deutschland – *CoroMoni*“ fand am 03.08.2021 online statt. Insgesamt nahmen 53 Personen teil. Zusätzlich zu den deutschen Forschungsgruppen, nahmen Österreich und die Niederlande teil. Die Schweiz war zwar nicht persönlich vertreten, konnte aber eine besprochene PP-Präsentation in Form eines Filmes beitragen. Zudem waren das Robert-Koch-Institut und das Umweltbundesamt vertreten. Alle Teilnehmer blieben bis zum offiziellen Ende der Video-Konferenz dabei.

Dr. Friedrich Hetzel, Leiter der DWA-Abteilung Wasserwirtschaft, moderierte die Veranstaltung. Johannes Lohaus, Bundesgeschäftsführer der DWA, begrüßte die Teilnehmer offiziell. Herr Lohaus wies darauf hin, dass die DWA im Rahmen der Woche der Umwelt im Juni 2021 ein virtuelles Fachforum "Corona auf der Spur" organisiert hat. Dort wurde vorgestellt, wie Abwassermonitoring Änderungen im Infektionsgeschehen bereits 4-5 Tage vor den offiziell ermittelten Fallzahlen sichtbar machen kann. Unter der Moderation unseres Präsidenten Prof. Dr. Uli Paetzel wurden Pilotprojekte und erste Erfahrungen zum Abwassermonitoring von Prof. Dr.-Ing. Jörg Drewes, TU München, und Prof. Susanne Lackner, TU Darmstadt, vorgestellt. Zusätzlich steuerte das UFZ einen Film zum Ablauf des Abwassermonitorings bei, der über Youtube öffentlich verfügbar ist und dadurch Strahlkraft über die Fachkreise hinaus besitzt.

Folgende, seit der letzten Video-Konferenz am 4.05.2021 neu hinzugekommenen Forschungsprojekte bzw. neue Forschungsaktivitäten wurden präsentiert:

1. FiW e.V. Aachen, Dr. Frank-Andreas Weber
2. UFZ Leipzig, René Kallies
3. Lech Stahlwerke GmbH, Amnfred Hiemer
4. Eawag, Urban Water Management, Dr. Christoph Ort

Außerdem wurde im Rahmen der Konferenz über die weiteren Ergebnisse der vier CoroMoni-Arbeitsgruppen berichtet. Dies sind:

5. CoroMoni-AG 1 „Probenahme“
6. CoroMoni-AG 2 „Analytik“
7. CoroMoni AG 4 „Roll out“

17. Dezentrales SARS-CoV-2 Monitoring im Abwasser: Entwicklung einer validierten Analyseverfahren für abwassertechnische Labore auf Kläranlage – COVIDready

Konsortium:

- Forschungsinstitut für Wasser und Abfallwirtschaft an der RWTH Aachen e. V., Dr. sc. Frank-Andreas Weber (Verbundkoordination), Dipl.-Ing. Daniel Bastian (ab Oktober)
- RWTH Aachen University Institut für Siedlungswasserwirtschaft, Prof. Dr. Thomas Wintgens (Wissenschaftliche Leitung), Regina Dolny, M. Sc., apl. Prof. Dr. Volker Linnemann
- Johann-Wolfgang-Goethe-Universität Frankfurt, Universitätsklinikum Frankfurt, Institut für Medizinische Virologie, Dr. Marek Widera
- Lippeverband, Dipl.-Ing. Peter Jagemann, Dr. Jens Schoth
- Endress+Hauser Conducta GmbH+Co KG • Dr. Achim Gahr
- QIAGEN GmbH, Dr. Anja Wild

Vortragender: Dr. Frank-Andreas Weber

Die Einhaltung der EU-Anforderungen (C(2021) 1925) wird in vielen Gebieten nur dezentral zu bewerkstelligen sein. Dafür soll im Projekt ein Workflow (Probenahme, Probenvorbereitung, Amplifikation, Detektion, Meldung) für abwassertechnische Labore auf Kläranlagen etabliert werden. Der Workflow soll an Kläranlagen im Lippegebiet exemplarisch vorbereitet und umgesetzt werden.

Dabei wird mit Testkits gearbeitet, die sich noch in der Entwicklung befinden oder z.T. bereits auf dem Markt verfügbar sind (z.B. Promega, QIAGEN). Diese werden evaluiert und hinsichtlich ihrer Sensitivität, Selektivität, Arbeitssicherheit, Handhabbarkeit, den erforderlichen Schulungsbedarfen, ihrer Verfügbarkeit, Praxistauglichkeit und Kosten bewertet.

Auf ausgewählten Kläranlagen soll auch der Mutantennachweis mit digital PCR etabliert werden.

Im Rahmen der Methodenentwicklung soll explizit auf die Verfahren zur Extraktion von Fest- und Flüssigphase geschaut werden. Es ist ein Ringversuch geplant, in den beabsichtigt ist, auch die Niederlande (KWR) einzubinden. Im Fokus steht auch die methodische Entwicklung der Begleitanalytik, die der Bestimmung der angeschlossenen Einwohner dient. Parallel sollen die dPCR-Methodik in der Entwicklung vorangetrieben werden.

Schließlich geht es im Projekt um die Charakterisierung von auffälligen Positiv-Proben im Rahmen des Praxiseinsatzes und Screenings im Lippeverbandsgebiet.

Um die Praxisumsetzung zu forcieren, ist der Dialog mit dem Landeszentrum für Gesundheit in NRW aufgenommen worden. Insbesondere im Falle von Kläranlagen,

deren Einzugsgebiet unterschiedliche Kreise oder kreisfreie Städte umfasst, geht es um Fragen der Zusammenarbeit verschiedener Gesundheitsämter.

Projektstart war der 1.06.2021 für die Laufzeit von einem Jahr.

Fazit:

In jeder Phase der Pandemie gibt es andere Anwendungszwecke für das Abwassermonitoring:

- niedrige Inzidenz: Frühwarnung,
- steigende Inzidenz: Hotspoterkennung,
- hohe Inzidenz: Maßnahmenbeurteilung,
- jederzeit während der Pandemie: Mutantenfrüherkennung (VoC),
- „nach“ der Pandemie: Früherkennung neuer Erreger.

18. SARS-CoV-2 Nachweis in Abwasser

Konsortium:

- Technische Universität Dresden: Prof. Alexander Dalpke, Dr. Roger Dumke, Björn Helm, Dr. Reinhard Oertel, Prof. Thomas Berendonk, A. El-Amouche
- Helmholtzzentrum für Umweltforschung Leipzig:
Prof. Teutsch,
Department für Umweltmikrobiologie: Prof. Hauke Harms, Prof. Antonis Chatzinotas, F. Beier, A. Heidtmann, J. Knespel, N. Steinbach
Department Umweltbiotechnologisches Zentrum: Prof. Roland Müller, Dr. Manfred van Afferden, Nadine Sossalla, K. Bergmann, G. Weichert
Department Hydrosystemmodellierung: Prof. Sabine Attinger, Dr. Lennart Schüler

Vortragender: Dr. René Kallies

Derzeit werden 17 Kläranlagen in Sachsen beprobt, die unterschiedlichen Größenklassen angehören, um auch den Einfluss der Größenklasse auf das Analyseergebnis zu ermitteln. Im Projekt richtet sich der Fokus auf die Methodenetablierung, wozu im bisherigen Verlauf der Pandemie kaum Zeit zur Verfügung stand.

Das Ziel des Projekts besteht darin, ein Frühwarnsystem zu entwickeln und die aktiven Infiziertenzahlen zu verfolgen. Eine Voraussetzung dafür ist eine gute Auflösung der PCR im Hinblick auf Infiziertenzahlen (zwischen 50 und 500 pro 100.000 Einwohner). Hieraus ergibt sich die Frage nach der Nachweisgrenze, also ab welchem Inzidenzwert, SARS-CoV-2 im Abwasser zuverlässig detektierbar ist. Es wurde ein Ampelsystem entwickelt, dass auf einem qualitativen Signal basiert.

Im nächsten Schritt soll mit Hilfe der Modellierung und unter Einbindung zusätzlicher Informationen (Kanalsystem, Kanallänge, Kläranlagengröße und -typ) und weiterer Abwasserparameter (Industrieabwasseranteil, Anzahl der Personen, die tatsächlich in die Anlage entwässern) ein quantitatives System aufgebaut werden.

Das Beispiel der Kläranlage Leipzig zeigt, dass Trendverläufe abgebildet werden können, die Kurve der Abwassermesswerte aber nicht mit der Kurve des Infektionsverlaufes deckungsgleich ist. Dafür reicht eine Beprobung von zweimal pro Woche vielleicht nicht ganz aus. Auch das Beispiel Mittelsachsen belegt den Zusammenhang des Abwassersignals mit den Inzidenzwerten. Ein Problem in Sachsen resultiert aus den großen Kreisen, deren Grenzen nicht mit dem Einzugsgebiet der Kläranlagen identisch sind.

Es erwies sich, dass sowohl mit der Matrix Abwasser als auch mit Primärschlamm positive Signale generiert werden können. Mit zunehmender Inzidenz steigt der Anteil der positiven Proben im Primärschlamm gegenüber Abwasserproben. Im Gegensatz zu den Abwasserproben lassen sich Primärschlammproben gut einfrieren, ohne dass ein RNA-Verlust entsteht.

Für die Beprobung im Kanalnetz wurden Sielhäute untersucht. Diese scheinen sich zu eignen, um zumindest ein qualitatives Signal zu generieren.

Im Projekt wurde außerdem der Frage nachgegangen, welchen Einfluss die Probenahme auf die Analyseergebnisse hat. Verglichen wurden durchfluss- und zeitproportional gesteuerte Probennehmer. Jede Probe wurde im Duplikat aufgearbeitet. Zwischen den verschiedenen Probenahmearten war kein signifikanter Unterschied im Hinblick auf das PCR-Ergebnis zu erkennen. Die Aufarbeitung von Replikaten aus ein und derselben Probe scheint jedoch zu größeren Unterschieden im Ergebnis zu führen. Daraus lässt sich folgern, dass man Replikate aufarbeiten sollte, um falsch negative Ergebnisse auszuschließen.

Ein weiterer Fokus des Projektes lag auf der Detektion von Virus-Varianten. Dabei kam ein einfacher Genotypisierungs-Assay zum Einsatz, der den Wuhan-Wildtyp und die Alpha-Variante nachgewiesen hat. Hiermit konnte nachgewiesen werden, dass in Leipzig der Switch vom Wildtyp zur Alpha-Variante innerhalb von drei bis vier Wochen stattgefunden hat. In anderen Landkreisen in Sachsen mit höheren Inzidenzwerten hat der Switch jedoch viel schneller stattgefunden, z.T. innerhalb von 1 bis 2 Wochen. Die Methode eignet sich, um epidemiologische Muster darzustellen. Die Beta- und Gamma-Variante sind in dem betrachteten Zeitraum nicht gefunden worden.

Fazit:

- Trendverläufe können gut abgebildet werden, aber Beprobungen von mehr als zweimal pro Woche wären besser.
- Primärschlamm eignet sich als Matrix besonders bei höheren Inzidenzwerten.

- Sielhäute können im Kanalnetz unproblematisch beprobt werden, es ist jedoch nur ein qualitatives Signal möglich.
- Unterschiedliche Probenahmeverfahren (zeit- oder durchflussproportional) nehmen keinen Einfluss auf das Analyseergebnis.
- Replikate sind wichtig, um falsch negative Ergebnisse auszuschließen.
- Durch den Nachweis von Virus-Varianten können epidemiologische Muster nachgewiesen werden.

19. Abwassermonitoring auf SARS-CoV-2 bei der Lech-Stahlwerke GmbH

Vortragender: Manfred Hiemer

Die Lech Stahlwerke sind ein Recyclingbetrieb, der Stahl zu Stabstahl einschmelzt und diesen weiter veredelt. Auf dem Werksgelände befinden sich auf einer Fläche von 49 ha insgesamt 9 km Regenwasserleitungen, 3 km Schmutzwasserfreispiegelkanäle und 3 km Abwasserdruckrohre. Es bestehen 5 Hausanschlüsse an den öffentlichen Kanal.

Das Abwassermonitoring auf SARS-CoV-2 startet Mitte April 2021. An vier Tagen der Arbeitswoche (Sonntagmittag bis Donnerstagmittag) wurden ein bis acht Abwasserproben entnommen. Damit lag die Abdeckung bei 900 von 1.200 am Standort beschäftigten Mitarbeitern. An den Probenahmepunkten im Kanalnetz handelte es sich nur um Sanitärabwasser, kein Prozessabwasser.

Wichtig war es, die verschiedenen Produktionsbereiche abzudecken und eine Zuordnung zu den einzelnen Schichten zu ermöglichen. Es wird daher 6 Stunden während der Schicht gemessen und zwischen den Schichten eine Pause von 2 Stunden eingeschoben. Das Ergebnis liegt am folgenden Tag vor.

Es bestehen zwei Probenahmestellen im Schmutzwasserpumpwerk unterhalb des Zulaufs. Das Probenahmeintervall beträgt hier fünf Minuten. Eine weitere Probenahmestelle liegt im Freispiegelkanal. Dort erfolgt die Probenahme bei Teileinstau im Abstand von zwei Minuten. Zwischen April und Juli 2021 wurden inzwischen 254 Proben analysiert. Die Virenlast pro Person konnte durch Korrelation aller Positivbefunde mit den Infiziertenzahlen im Mittel mit 990 bis 1.400 geq/ 100 mL abgeschätzt werden. Eine Fehlerquelle ist jedoch Fremdpersonal, bei dem keine Informationen über eine eventuelle Infektion vorliegt.

Folgende Maßnahmen wurden bei Positiv-Befunden getroffen:

- Information aus Krisenstab an betroffene Schichten ins Werk
- Schnell-Test im eigenen Testzentrum bei Krankheits-Symptomen
- vorsorgliche häusliche Quarantäne und Kontaktaufnahme mit Vorgesetzten; Entscheidung über weiteres Vorgehen in Abstimmung mit Abteilung Personal & GF

- bei Symptomen: PCR-Test beim werksärztlichen Dienst oder externes Testzentrum/Arzt

Fazit:

Die Kosten für die Abwasser-Beprobung spielen lediglich eine zweitrangige Rolle. Im Vordergrund stehen eindeutig der Gesundheitsschutz für die Mitarbeiter und die Aufrechterhaltung der Produktion. Grob beziffert fällt monatlich ein fünfstelliger Betrag an.

20. Tracking COVID-19 in Wastewater

Konsortium:

- EPFL, Dr. Tamar Kohn
- Eawag, Dr. Christoph Orth und Tim Julian
- ETH im Departement Biosystems Science and Engineering, Niko Beerenwinkel und Tanja Stadler

Vortragender: Dr. Christoph Ort

Am Beispiel der Kläranlage Zürich, mit rund 450.000 angeschlossene Einwohnern, wird deutlich, dass das Abwasser die Dynamik des Infektionsverlaufs gut widerspiegelt. Für den dargestellten Zeitraum um die zweite Welle besteht die Abwasserzeitreihe aus 170 Proben, dem gegenüber stehen über 300.000 klinische Tests. Die einzugsgebietsspezifischen Fallzahlen – also die neu gemeldeten Fälle pro Tag – diese wurden von der Gesundheitsdirektion Zürich zur Verfügung gestellt. Die Abwassermesswerte sind jedoch bislang noch nicht in eine absolute Anzahl infizierter Personen übersetzbar, weil Parameter wie die von einem Infizierten ausgeschiedene Virusmenge noch nicht genau genug eingeschätzt werden können. Trotz der unterschiedlichen Einheiten aber fällt auf, dass Abwasserwerte und Fallzahlen in den Bereichen mit einer positiven Testrate von über 5%, weniger gut übereinstimmen.

Seit Februar 2021 wurden in einem gemeinsamen Projekt mit dem Bundesamt für Gesundheit BAG sechs Kläranlagen beprobt, neben Zürich auch Lausanne, Laupen Lugano, Chur, Altenrhein und demnächst auch Genf. Mit insgesamt rund 1 Million Personen decken diese sechs Kläranlagen etwa einen Achtel der Schweizer Bevölkerung ab. Die Kläranlagen werden täglich beprobt.

Auf einem Dashboard sind die Daten aus den Abwassermessungen der sechs Anlagen als Anzahl Genkopien pro Tag (Konzentration multipliziert mit Abwasservolumen) dargestellt und werden zweimal pro Woche aktualisiert. Hierdurch finden Verdünnungseffekte durch Regen oder Abwassermengen von Industrieleitungen Berücksichtigung. Eine Normierung mit anderen Viren, z.B. PMMoV, findet zurzeit noch nicht statt. Es werden aber Inhibitionskontrollen durchgeführt, die die Wiederfindungsrate (Recovery) bestimmt. Um eine Vergleichbarkeit zwischen unterschiedlich großen Einzugsgebieten herzustellen, beziehen sich die Daten auf 100.000 Einwohner. Für jede Kläranlage gibt es eine Detailansicht, aus der ersichtlich ist, welche Werte grösser oder kleiner als die Quantifizierungsgrenze bzw. Nachweisgrenze waren. Zudem gibt es einen Text als Interpretationshilfe. Die Daten sind öffentlich zugänglich, sodass alle Forscher sie nutzen können. Das Dashboard hat großes öffentliches und mediales Interesse hervorgerufen. Die Daten stehen am vierten Tag nach Beginn der 24h-Mischprobe öffentlich zur Verfügung. Da in der Schweiz viel und schnell klinisch getestet wird, bleibt die Frage, ob das Abwasser schneller ist?

Eine interessante Frage war zudem, ob man die Reproduktionszahl R_e auch aus Abwassermessungen abschätzen kann. Es zeigte sich, dass R_e für alle Kläranlagen individuell berechnet und ein direkter Vergleich zwischen der R_e aus klinischen Zahlen mit der R_e aus Abwasser hergestellt werden kann. Dafür reichen Annahmen zur zeitlichen Dynamik von Ausscheidung und Infektionen, absolute Zahlen zur ausgeschiedenen Virenmenge sind nicht erforderlich. Die Auswertung der relativen Schwankungen reicht aus. Vorteilhaft sind auch die objektiven Konfidenzintervalle, die sich im Beispiel der Kläranlage Zürich zeitlich überall überlappen. Die auf Abwasseruntersuchungen basierende R_e ist einige Tage früher angestiegen als die R_e , auf Grundlage der kantonalen Fallzahlen ermittelt wurde.

In Zusammenarbeit mit der Bioinformatikgruppe von Niko Beerenwinkel an der ETH Zürich ist früh damit begonnen worden, Abwasserproben zu sequenzieren. Der Nachweis von Variants of Concern (VoC) in Abwasserproben gelang eine Woche früher als im Vergleich zu klinischen Proben. Die computational biology group wertet momentan 7 verschiedenen Varianten in allen Kläranlagen aus und stellt die Resultate in umfangreichen Dashboards dar. Proben werden täglich auf VoC untersucht und die Resultat einmal pro Woche auf dem Dashboard aktualisiert. Für jede Variante wird die Prävalenz abgeschätzt.

Fazit:

- Im Kanton Graubünden erfolgte die Praxisumsetzung des Abwassermonitoringsystems bereits im November 2020 mit inzwischen 12 von 129 Kläranlagen, womit eine Abdeckung von ca 67% der kantonalen Bevölkerung erreicht wird. Weitere Kantone haben bereits begonnen die Abwassermethode zu implementieren oder zeigen starkes Interesse.
- Ein nationales Routinemonitoring ist ebenfalls bereits in Planung, mit wie vielen Kläranlage, welcher Frequenz, Start und Dauer ist allerdings noch offen. In der Schweiz gibt es rund 700 Kläranlagen. Mit den 50 grössten sind rund 50% der Bevölkerung abgedeckt, mit den 100 grössten gut 2/3.
- Ein mögliches Szenario wäre es, die 100 größten Kläranlagen der Schweiz, plus die größte Kläranlage in einem Kanton und zusätzlich noch die Touristenzentren mit den meisten Logiernächten in das Monitoringprogramm einzubeziehen. Insgesamt kämen hier 111 Kläranlagen zusammen. die gut 70% der Schweizer Bevölkerung abdecken.

Vorstellung und Diskussion der Ergebnisse aus den CoroMoni-Arbeitsgruppen

CoroMoni-AG 1 “Probenahme”, Sprecher: Dr. Manfred von Afferden (UFZ Leipzig) und Björn Helm (TU Dresden)

Dr. van Afferden trägt die Ergebnisse der CoroMoni-AG 1 “Probenahme” vor.

Übergeordnete Ziele der Überwachung von SARS-CoV-2 in Abwasser sind:

- Quantitatives Frühwarnsystems und Verfolgung der Infiziertenzahlen
- Qualitatives Warnsystem zur Überwachung Corona-“freier“ Zonen
- Nachverfolgung, Überwachung für Hotspots und Teilkanalnetze

Die von der AG 1 geplanten Produkte basieren auf den o.g. übergeordneten Fragestellungen:

- *Produkt 1:*
Probenahmeprotokoll für ein flächendeckendes Monitoring von Kläranlagen
- *Produkt 2:*
Primärschlammproben zur qualitativen Überwachung von Kläranlagen
- *Produkt 3:*
Sielhautproben zur qualitativen Überwachung von Teilnetzen

Zu Produkt 1 „Probenahmeprotokoll für eine standardisierte Abwasser-Probenahme (Kläranlagen):

- Zunächst wurde der Einsatzbereiche definiert.
- Existierenden Normen und Empfehlungen wurden gesichtet und berücksichtigt.
- Durch Rückkopplung mit Betreibern wurde die Handhabbarkeit im Praxisbetrieb überprüft und entsprechende Anpassungen unter Berücksichtigung von Arbeitsroutinen vorgenommen.
- Die Testung des Probenahmeprotokolles erfolgte unter realen Bedingungen durch die Anwendung im Sachsen-Projekt.

Existierende Normen sind:

- DIN 38402-11, Teil 11: Probenahme von Abwasser (A 11)
- DIN EN ISO 19458, Wasserbeschaffenheit — Probenahme für mikrobiologische Untersuchungen
- EU-report / EU-Sample Form
 - 24 h composite sample
 - flow or time proportional

- sampling the inlet of WWTP
- high frequency
- corrected through normalisation using 24 hours wastewater flow

Als abgestimmtes Arbeitsgruppen-Ergebnis liegt nun ein Probenahmeprotokoll für 24h-Mischproben im Zulauf von kommunalen Kläranlage vor. Das Protokoll ist dreiteilig aufgebaut:

- Stammdaten:
Sie müssen nur einmal von jedem Klärwerk ausgefüllt werden und enthalten Adress- und Kontaktdaten, die Kläranlagengröße, Angaben zur Probenahmestelle, Probenehmertyp, Art der Mischprobe (durchfluss- oder zeitproportional) sowie volumen- und zeitgesteuerte Intervalle.
- Daten zur Einzelprobe:
Diese Felder sind für jede Probe auszufüllen und betreffen das Datum mit Endzeitpunkt der Mischprobe, Probenvolumen, hydraulischer Last und Angaben zum Versandt (Datum, Zeitpunkt, Kühlbedingungen).
- Zusätzliche Parameter:
Falls vorhanden sollten als zusätzliche Parameter (BSB, CSB, AFS, N- und P-Gesamt, pH, Leitfähigkeit, Temperatur) erfasst werden, die bei der Auswertung der Daten eine Rolle spielen können.

Als zweites Produkt denkt die AG 1 über ein Protokoll für Primärschlammproben zur qualitativen Überwachung von SARS-CoV-2 in Abwasser nach. Hierzu wurde auf Basis vorhandener Daten ein Vergleich der Ergebnisse des Abwassermonitorings mit den Daten der Primärschlammüberwachung vorgenommen. Wichtig ist dabei, die Empfindlichkeit des Systems abzuschätzen, also ab welcher Inzidenz eine Nachweisbarkeit möglich ist. Der Einfluss der Kläranlagengröße und des Anlagentyps sowie der Probenahmefrequenz müssen berücksichtigt werden. Auch die Praktikabilität und Umsetzbarkeit spielt eine Rolle bei der Entscheidung für oder gegen Primärschlamm als Beprobungsmatrix. Die Einsatzbereiche von Primärschlamm als Probenmatrix wären noch zu definieren.

Dr. van Afferden präsentiert die Daten des UFZ zu Primärschlamm-Schöpfproben auf kleineren Kläranlagen im Vergleich zu Abwasserproben. Es zeigte sich, dass Primärschlamm-Proben häufiger ein positives Signal ergaben als Abwasserproben. Der Unterschied zwischen den Befunden für Primärschlamm und Abwasser ist insbesondere bei niedrigeren Inzidenzwerten von bis zu 50 deutlich. Das ist bei einer Stichprobe überraschend. Es wäre zu erwarten, dass die 24h-Mischprobe häufiger positiver Werte erbringt. Die Empfindlichkeit des RNA-Nachweises in Primärschlamm bei einem Inzidenzwert von bis zu 50 wird mit über 70% abgeschätzt. Die falsch negativen Messwerte konnten über alle Inzidenzwerte hinweg mit 30% abgeschätzt werden.

Insgesamt lässt sich festhalten, dass die Primärschlammproben unabhängig vom Inzidenzwert zu 80% verlässliche Aussagen ermöglichen. Das sind gute Voraussetzungen, um Primärschlamm als Probenmatrix in Betracht zu ziehen.

Ein drittes Produkt der AG 1 ist ein Protokoll für die Sielhautbeprobung. Sielhäute sind im Fall von SARS-CoV-2 oder anderer biologischer Marker noch wenig untersucht, bieten aber den großen Vorteil, dass Teilkanalnetze relativ einfach zu beproben sind, ohne dass Konflikte mit dem Straßenverkehr entstehen. Häufig sind im Kanalnetz größerer Städte bereits Sielhaufwuchskörper installiert, auf die man zurückgreifen kann. Sie werden genutzt, um punktförmigen Schadstoffquellen zu lokalisieren. Quantitative Aussagen und Rückschlüsse von den Stoffkonzentrationen in der Sielhaut auf die Konzentrationen im Abwasser sind nicht möglich. Die Sielhaut liefert ein integratives Signal, sie ist als „passiv sampler“ zu sehen. Es können nur Positiv-Aussagen getroffen werden.

Dr. van Afferden berichtet über die Untersuchungen des UFZ an Sielhäuten in Teilnetzen der Kanalisation in Leipzig, um dort SARS-CoV-2 nachzuweisen und neue Hotspots zu identifizieren.

Vorläufige erste Ergebnisse aus Sielhautproben von 13 Teilkanalnetzen in Leipzig bei einer Inzidenz am Probenahmetag von 100 ergaben 12 positive Sielhautproben. Die Halbwertszeit bei 20° C lag bei 2 bis 4 Tagen, d.h. die Akkumulation der Viren in der Sielhaut liefert ein Bild über die letzten 2 bis 4 Tage. Die Beprobung erfolgte mit Aufwuchskörpern, die in den Abwasserstrom im Kanal eingebracht werden.

Die Frage, ob sich Sielhautproben als zusätzliches Überwachungsinstrument eignen und praktikabel sind wird in der AG 1 weiter vertieft und ggf. ein Probennahmeprotokoll dazu verfasst. Offen ist auch die Frage nach der erforderlichen Probenahmefrequenz und nach den Einsatzbereichen.

CoroMoni-AG 2 „Analytik“, Sprecher: Roger Dumke (UFZ Leipzig)

Dr. Dumke gibt eine kurze Einführung und übergibt dann an Prof. Oberacher, der die stellt die Ergebnisse des Ringversuches der AG 2 „Analytik“ vorstellt. Die Medizinische Universität hat freundlicherweise Abwasserproben zur Verfügung gestellt.

Im Rahmen des Ringversuches sollte die Vergleichbarkeit von Virusquantifizierungsergebnissen zwischen den an der *CoroMoni*-Arbeitsgruppe 2 „Analytik“ beteiligten Laboren untersucht werden. Dazu wurden Aliquote von drei Abwasserproben (jeweils 250 ml) in zwölf teilnehmenden Laboren jeweils mit Hilfe der etablierten Arbeitsabläufe analysiert.

Um die Variabilität in der Probenvorbereitung getrennt von der Variabilität der eigentlichen Messung / Quantifizierung untersuchen zu können, wurden alle Extrakte zusätzlich einer Zweitanalyse an der Medizinischen Universität Innsbruck mit einer quantitativen Messmethode unterzogen.

So konnten Unterschiede im Ergebnis auf die Probenvorbereitung und Virenextraktion bezogen werden.

Es wurden drei Proben mit unterschiedlich hohen Viruskonzentrationen an 12 teilnehmende Labore verschickt. Der Probenversand erfolgte unter Kühlbedingungen (Trockeneis) am 19.04.21. Alle Labore starteten am gleichen Tag (22.04.21) mit der Analyse.

Von 10 Laboren gingen vollständige Datensätze zur Auswertung ein. Am 12.05.21 konnten die von den beteiligten Laboren hergestellten RNA-Extrakte der Zweitanalyse in Innsbruck unterzogen werden. Da ein Extrakt beim Transport zerstört wurde, liegen nach Zweitanalyse noch 9 vollständige Datensätze vor.

Bei der Probenvorbereitung und Analytik wurde von den beteiligten Laboren ein breiter Strauss an Methoden verwendet. Unterschiede betrafen das eingesetzte Probenvolumen, die Verfahren der Virenisolation und die genutzten Targets (Zielgene) bei der PCR. Für die Quantifizierung haben fast alle Labore mit RTqPCR gearbeitet, nur einmal kam RTddPCR zum Einsatz.

Dementsprechend zeigten die Ergebnisse der Labore große Unterschiede. Dennoch war bei Mehrfachbestimmungen erkennbar, dass sich die Ergebnisse eines Labors gut reproduzieren ließen. Zusammengefasst bedeutet das, dass zwar große Unterschiede zwischen Ansätzen mit unterschiedlichen Targets bestehen, die Ergebnisse bei Nutzung gleicher Targets aber gut reproduzierbar sind.

Eine weitere wichtige Erkenntnis des Ringversuches ist, dass die Variabilität der Messwerte für die drei Abwasserproben zwar sehr hoch wird, aber alle Labore die Konzentrationskurve gut abbilden konnten. Das bedeutet, dass Trends auch ohne einheitliche Methodiken von allen Laboren erkannt werden können.

Der Vergleich der quantitativen Ergebnisse der einzelnen Labore mit den in Innsbruck gewonnenen Ergebnissen zeigt zwar deutliche Unterschiede, es ist aber auch eine klare Korrelation zwischen den Ergebnissen sichtbar. Die Unterschiede bestehen in der Steigung der resultierenden Kurven, was auf Unterschiede in der Kalibrierung durch abweichende Standards zurückzuführen ist. Durch die Verwendung einheitlicher Standards und Referenzmaterialien könnte die Kalibrierung vereinheitlicht werden. Beispielsweise ist das National Institute of Standards and Technology (NIST) in den USA dabei, einheitliche Referenzmaterialien zu entwickeln.

Wie wirken sich nun die Virenisolation und RNA-Extraktion auf das Ergebnis aus? Für die Zweitauswertung der RNA-Extrakte in Innsbruck wurde mit den Verdünnungsangaben der Labore zurückgerechnet auf die theoretische RNA-Konzentration in den Proben. Die Reststellenabweichung (RSD) liegt bei mit ca. 60% recht hoch. Selbst wenn man die Analytik vereinheitlichen würde, wäre die Abweichung noch relativ hoch, da sie aus der unterschiedlichen Probenvorbereitung resultiert.

Der Vergleich der rückgerechneten Laborproben mit den in Innsbruck analysierten Extrakten zeigt zwar Abweichungen im Hinblick auf die absoluten Werte, aber die Ergebnisse korrelieren linear miteinander. Die unterschiedlichen Steigungen bei der linearen Korrelation deuten auf abweichende Wiederfindungsraten hin, die auf die unterschiedlichen verwendeten Probenvorbereitungs- und Extraktionsmethoden zurückzuführen sind. Trends werden von den einzelnen Laboren gut erkannt. Wieder zeigt sich, dass Trendanalysen auch gut machbar sind, wenn keine Standardisierung gegeben ist.

Sowohl Intralabor- (RSD: 4-44%) und als auch die Interlaborvariabilität (RSD: 59- 71%) kann beobachtet werden. Die Labore mit Ultrafiltration weisen tendenziell niedrigere Extraktionsausbeuten als Labore mit PEG/NaCl-Fällung auf. Innerhalb der Labore mit PEG/NaCl-Fällung scheint es Unterschiede in der Extraktionsausbeute zu geben, die wahrscheinlich auf die unterschiedlichen Extraktionsmethoden zurückzuführen sind. Die Lösung hierfür wäre ein interner Standard, sozusagen ein Surrogat für SARS-CoV-2.

Fazit:

- Mit diesem ersten Ringversuch konnte gezeigt werden, dass bei der Analyse von identischen Proben in unterschiedlichen Laboren deutlich unterschiedliche Ergebnisse zu erwarten sind.
- Die Labore waren aber durchweg in der Lage, die Konzentrationsunterschiede in den Proben zu erkennen, was eine wichtige Voraussetzung für das Erkennen von Trends ist.
- Jeder Teilschritt der Analysenmethode trägt zur Variabilität der Ergebnisse bei.
- Die quantitativen Methoden lassen sich wahrscheinlich relativ leicht durch Festlegung eines oder mehrerer Targets und der Einführung von definierten Standards und Referenzmaterialien vereinheitlichen und standardisieren.
- Bei der Probenvorbereitung gibt es eine große Methodenvielfalt. Eine Vereinheitlichung, Standardisierung und Normierung ist wahrscheinlich schwierig. Ein zielführender Ansatz wäre die Entwicklung eines internen Standards.

CoroMoni-AG 4 "Roll out", Sprecher Dr. Jörg Drewes (TU München) und Prof. Andreas Thiem (TZW Karlsruhe)

Prof. Drewes gibt ein kurzes Update dazu, welche derzeit auf Bundesebene zur Umsetzung der EU-Empfehlung zum Abwassermonitoring bestehen. Es ist eine Steuerungsgruppe ins Leben gerufen worden, die aus Vertretern des BMU, BMG, BMBF, RKI, UBA, VKU, Vertreter aus Ländern und Kommunen.

Ziele sind:

- Festlegung der Weichenstellungen für ein bundesweites Pilotvorhaben auf Basis der laufenden Forschungsaktivitäten in Deutschland
- Prüfung, ob flächendeckende Einführung eines Abwassermonitorings gemäß EU-Empfehlung erfolgen soll
- Klärung Kosten/Nutzen-Aspekt
- Klärung, welchen Beitrag SARS-CoV-2 Abwasserüberwachungs-System zur Eindämmung der Pandemie leisten kann

Innerhalb der Steuerungsgruppe wurde eine Projektgruppe eingesetzt, die sich konkrete Gedanken über die Etablierung des flächendeckenden Abwassermonitorings macht.

Ziele sind:

- Erstellung Projektstrukturplan einschließlich Zeitplan und Grobkonzept für Pilotprojekt
- Enge Zusammenarbeit mit BMBF-geförderten Forschungsprojekten

Es ist geplant in zwei Schritten vorzugehen.

Phase 1 des Projektes:

- Entscheidungsfindung zum Roll out bis Ende 2021
- Klärung offener Fragen (Nutzen Abwassermonitoring, Vereinheitlichung der Probenahme/Analyse, Kosten-Nutzen-Aspekte, Sinnhaftigkeit eines flächendeckenden Monitorings, Erfordernis rechtlicher Anpassungen)

Phase 2 des Projektes (wenn Befürwortung nach Phase 1):

- Vorgehen Roll-Out (Zunächst keine flächendeckende Umsetzung, sondern in Form von Modellprojekten in ausgewählten Kommunen / Kreisen / Ländern)
- Klärung der Finanzierung

Innerhalb der Projektgruppe des Bundes sind vier Arbeitsgruppen gegründet worden, die der Projektgruppe zuarbeiten sollen und sich mit folgenden Themen befassen:

AG 1 – Strategie Gesundheit (Nutzen und Erwartungen der Gesundheitsseite)

Leitung: Frau Perea, BMG

Leitfragen:

- Ist eine Nutzung der Daten des Abwassermonitorings sinnvoll?
- Wie sollten die Ergebnisse von der Abwasserseite aufbereitet sein, damit sie von der Gesundheitsseite unmittelbar genutzt werden können?

AG 2 – Technik

(Anforderungen an die Analytik und Probenahme)

Leitung: Herr Marty, UBA

Leitfragen:

- Wie sollten Analytik und Probenahme erfolgen, damit eine repräsentative oder flächendeckende Einführung eines Abwassermonitorings von Sars-CoV-2 effizient erfolgen kann?
- Ist eine Vereinheitlichung der Probenahme / Analytik sinnvoll / erforderlich?

AG 3 – Strategie Abwasser

(Ergänzung des bisherigen Aufgabenspektrums, Rahmenbedingungen für die Abwasserseite)

Leitung: Frau Bussink-Becking, Behörde für Umwelt, Klima, Energie und Agrarwirtschaft Hamburg

Leitfragen:

- Welche neuen Aufgaben kommen für die Abwasserseite hinzu?
- Wie sind die rechtlichen Rahmenbedingungen?
- Was muss passieren, damit die Wasserseite die Gesundheitsseite wie erhofft unterstützen kann?

AG 4 – Umsetzung

(Abläufe und Vernetzung zwischen Abwasser und Gesundheit, Praxisumsetzung)

Leitung: Herr Wagner/ Frau Scholz, BMU

Leitfrage:

- Wie, in welcher Zeit und in welcher Form gelangen die aufbereiteten Ergebnisse der Abwasserseite an Gesundheitsseite?

Die Arbeitsgruppen, haben den Auftrag, im Laufe des Sommers Ergebnisse zu erzielen, die dann in den Bericht der Bundesregierung an die EU-Kommission einfließen, der bis zum 1.10.2021 abzugeben ist. Die *CoroMoni*-Forschungsakteure waren bereits als Gast bei einzelnen Arbeitsgruppen-Sitzungen zugegen, um Ihre Arbeiten zu präsentieren und über Fragen der Umsetzung des Abwassermonitorings in der Praxis zu diskutieren.

In der *CoroMoni*-AG „Roll out“ standen auf den letzten beiden Sitzungen Kriterien des Roll outs im Mittelpunkt.

Kriterien für Abwasseranlagen:

Festlegung der

- Probennahme (Stichprobe, qualifizierte Stichprobe, 24 h-Mischprobe)
- Probenahmeorte
- Probenahmehäufigkeit
- Probennehmer
- Arbeitsaufwand Klärwerkspersonal

Datenerfassung bei Probennahme:

- Probenkennung; Ort; Zeit; Zeitraum; Abflussbedingungen; Wetter; Temperatur (Luft, Wasser)
- (CSB), Gesamt-N; NH₄

Bericht über die Gespräche zwischen DWA, RKI, BMG, UBA, BMU und BMBF (Steuerungsgruppe, Projektgruppe, Arbeitsgruppen)

Zu den Informationen über die Aktivitäten auf Bundesebene wird auch auf den Bericht der *CoroMoni*-AG 4 verwiesen,

Frau Thaler ist Mitglied in der Projektgruppe des Bundes. Die Gruppe hat bisher einmal getagt. Weitere Sitzungen sind Mitte und Ende September geplant. Im Mittelpunkt des Interesses standen auf der ersten Projektgruppen-Sitzung folgende Fragen:

- Welche zusätzliche Belastung des Gesundheitssektors ist durch die Befassung mit den Daten aus dem Abwassermonitoring zu erwarten?
- Wie kann eine Vergleichbarkeit der Analysen-Ergebnisse hergestellt werden?
- Wie ist die Genauigkeit der Trendaussagen zu bewerten?
- Bis zu welcher Nachweisgrenze ist SARS CoV 2-RNA bei niedrigen Inzidenzwerten im Abwasser noch detektierbar?
- Welchen Nutzen kann man als Gesundheitsbehörde / Krisenstab aus der gewonnenen Informationen ziehen?
- Sollten städtischer und ländlicher Raum differenziert betrachtet werden?
- Können die Kosten, die für das Abwassermonitoring entstehen über die Abwassergebühren in Ansatz gebracht werden?
- Welche rechtlichen Anpassungen sind im Wasser- oder Infektionsschutzrecht erforderlich?

Als Grundlage für die Suche nach geeigneten Modellprojekten zur Praxisumsetzung des Abwassermonitorings von SARS-CoV-2 hat die DWA eine Übersicht aller

Beprobungsstandorte in CoroMoni mit Hintergrundinformationen zu den Kläranlagenstandorten erstellt, die auch der Bundes-Projektgruppe zur Verfügung gestellt wurde.

Aktuell wird in allen in den CoroMoni-Projekten zusammen an 77 Kläranlagen-Standorten mit mehr als 11.700.000 angeschlossenen Einwohnern beprobt. Dazu kommen z.T. Beprobungsstandorte im Kanalnetz.

Die 77 Kläranlagen teilen sich wie folgt auf die Bundesländer auf:

- Baden-Württemberg: 1
- Bayern: 13
- Berlin: 6
- Hessen: 5 bis 10
- Niedersachsen: 3
- Nordrhein-Westfalen: 18
- Sachsen: 14
- Thüringen: 15

Ergebnis der Diskussion und Fazit der Veranstaltung

Zusätzlich zu den von der DWA erfassten Informationen zu den Beprobungsstandorten in *CoroMoni* wird angeregt, auch anzugeben, welche Kläranlagen bereits zweimal pro Woche beprobt werden – so wie es von der EU empfohlen wird. Diese Information ist wichtig für die Argumentation mit den Ministerien. Deutschland muss der EU gegenüber berichten, inwieweit den EU-Empfehlungen Folge geleistet wird.

Für die Kommunikation mit den Gesundheitsbehörden sollte schärfer herausgearbeitet werden, welche Aspekte des Abwassermonitorings Sinn machen, verallgemeinert zu werden und wo Freiheitsgrade genutzt werden können. Wichtig ist es, deutlich zu machen, dass sichere Trendanalysen auch ohne Standardisierung der Probenaufbereitung und Analytik möglich. Das gilt insbesondere für die Darstellung von Trends auf Basis der Reproduktionszahl nach Schweizer Vorbild.

Auf Seiten der Gesundheitsbehörden besteht noch immer eine große Skepsis gegenüber dem Abwassermonitoring. Die Vorteile – reproduzierbar, sensitiv, Erfassung der Gesamtbevölkerung unabhängig vom Testgeschehen, Aussagen zu Mutanten – müssen daher noch stärker herausgestellt werden. Die Vorteile des Abwassermonitorings sollten in einfach verständlicher Form zusammengefasst werden, um sie den Gesundheitsbehörden an die Hand zu geben. Dabei müssen die Gesundheitsbehörden auf Landesebene stärker in den Blick genommen werden und schließlich bis hinunter zu den lokalen Gesundheitsämtern kommuniziert werden.

Das wichtigste Argument für das Abwassermonitoring ist der zeitliche Vorlauf. Die Ergebnisse des Abwassermonitorings müssen ohne Zeitverzögerung an die Entscheider zurückgespiegelt werden. Der Workflow ist soweit wie möglich zu beschleunigen. Dazu kann die Durchführung der Analytik auf den Kläranlagen beitragen. Entsprechende einfach zu handhabende Technologien stehen in Kürze zur Verfügung. Man könnte das System weiter beschleunigen, indem man von der 24h-Mischproben zu einer Peak-Beprobung übergeht. Das macht besonders dann Sinn, wenn man weiß, zu welcher Tageszeit die Haupteinspeisung in das Abwassersystem erfolgt.

Die Daten müssen den Gesundheitsbehörden, ohne zusätzlichen Aufwand zu erzeugen, bereitgestellt werden. Auch hierzu gibt es bereits digitale Lösungsmöglichkeiten.

Ratlosigkeit besteht bei den Gesundheitsbehörden häufig hinsichtlich der Aussagekraft der Ergebnisse und zu der Frage der flächendeckenden Umsetzung. Bei den Kommunen und Betreibern der Abwasseranlagen wird der Aufwand gesehen, das Kanalnetz zu beproben, um ein Signal nachzuverfolgen. Welche Beprobungsstrategie ist geeignet, um aussagekräftige Ergebnisse zu erzielen, ohne einen unverhältnismäßigen Aufwand zu erzeugen? Flächendeckendes Monitoring kann nicht lückenloses Überwachen bedeuten.

Eine wesentliche Frage betrifft die Kriterien, nach denen der Bund die Kosten-/Nutzenanalyse durchführen will. Es stellt sich die Frage, welche Bewertungskriterien zugrundegelegt werden und wer diese festlegt.

Weiteres Vorgehen

Die nächsten Schritte bestehen darin, die Bundes-Projektgruppe und ihre vier Arbeitsgruppen mit Informationen aus den *CoroMoni*-Arbeitsgruppen anzufüttern, um Wege, Möglichkeiten und Vorteile der Praxisumsetzung des Abwassermonitorings von SARS-CoV-2 deutlich zu machen und von der Leistungsfähigkeit des Systems zu überzeugen.

Hierzu steht die DWA in enger Kommunikation mit der Bundes-Projektgruppe und ihren Unterarbeitsgruppen, speist kontinuierlich Ergebnisse aus den *CoroMoni*-Arbeitsgruppen ein und arbeitet an den zu erstellenden Papieren mit.

3.2 Aufzeichnung der 3. Video-Konferenz

Die Aufzeichnung der Videokonferenz befindet sich auf der Onlineplattform/DWAdirekt/Ausschüsse Online/übergreifende Gremien/sonstige Ausschüsse/CoroMoni/Videokonferenzen/

<https://edp.dwa.de/edpdwa/dkt/object?id=272233>

4. CoroMoni – Video-Konferenz 4 / 04.11.2021

4.1 Bericht

Die vierte Video-Konferenz zum BMBF-Projekt „Aufbau einer Kommunikationsplattform zum Thema „Abwassermonitoring zur Bestimmung des SARS-CoV-2-Infektionsgrades der Bevölkerung, Vernetzung der Forschungsakteure in Deutschland – *CoroMoni*“ fand am 04.11.2021 online statt. Insgesamt nahmen 69 Personen teil, darunter auch Vertreter aus Österreich und der Schweiz.

Dr. Friedrich Hetzel, Leiter der DWA-Abteilung Wasserwirtschaft, moderierte die Veranstaltung. Johannes Lohaus, Bundesgeschäftsführer der DWA, begrüßte die Teilnehmer offiziell. Er bedankt sich bei Dr. Löwe vom BMBF für die Förderung des CoroMoni-Projektes und dafür, dass das Projekt in 2022 fortgesetzt werden kann. Außerdem dankt er auch den Bundesministerien für Umwelt und Gesundheit, dafür, dass sich die DWA mit dem CoroMoni-Projekt in die Gestaltung des abwasserbasierten Überwachungssystems von SARS-CoV-2 konstruktiv einbringen darf. Auch Dr. Löwe, der erstmalig an einer CoroMoni-Konferenz teilnimmt begrüßt die Initiative, alle Forschungsakteure zusammenzubringen. Mit den CoroMoni-Arbeitsergebnissen wurde eine gute Basis für die Entwicklung eines bundesweiten Monitoringsystems geschaffen, das nun mit Hilfe von EU-Mitteln in einem vom KIT koordinierten Projekt vorangetrieben wird.

Folgende, seit der letzten Video-Konferenz am 3.08.2021 neu hinzugekommenen Forschungsprojekte bzw. neue Forschungsaktivitäten wurden präsentiert:

1. Eurofins Umweltanalytik GmbH Hamburg, Dr. Peter Bachler
2. Hach Lange GmbH, Bastian Drost
3. TZW Karlsruhe, Prof. Andreas Thiem

Außerdem wurde im Rahmen der Konferenz über die weiteren Ergebnisse der CoroMoni-Arbeitsgruppen berichtet. Dies sind:

8. CoroMoni-AG 1 „Probenahme“
9. CoroMoni-AG 2 „Analytik“
10. CoroMoni AG 4 „Roll out“

21. SARS-CoV-2 mit Abwassertests erkennen

Vortragende:

- Dr. Peter Bachler, Eurofins NDSC Umweltanalytik GmbH
- Thomas Brefort, Eurofins NDSC Umweltanalytik GmbH

Dr. Bachler präsentierte ein Beispiel aus Dänemark, wo die Eurofins in Herring die SARS-CoV-2-Viruslast zwischen September 2020 und Dezember 2021 im Abwasser gemessen hat. Es zeigt sich eine gute Übereinstimmung zwischen der im Abwasser gemessenen Anzahl der SARS-CoV-2-spezifischen RNA mit dem Prozentsatz der positiven Humantests, jeweils mit einem Vorlauf von bis zu 2 Wochen.

Eine weitere Messkampagne wurde zwischen Juni und September 2021 in den Klärwerken von 2 Großstädten durchgeführt. Es wurden zeitproportionale 24 h-Mischproben entnommen. Über die Sommerferien hinweg bis in den Herbst hinein konnte ein Anstieg der Viruslast dokumentiert werden. Diese korrelierte mit den Fallzahlen des RKI. Als Zielgene bei der PCR fanden das ORF1ab-Gen, das für die RNA-abhängige RNA-Polymerase kodiert sowie das N1- und N2-Gen, die für das Nukleokapsid kodieren, Anwendung.

Ein weiterer Schwerpunkt betrifft das Next-Generation-Sequencing (NGS). Für klinische Proben wurde ein Hochdurchsatz-Verfahren zur Genomsequenzierung etabliert, mit dem jede beliebige Probenzahl adressiert werden kann (Maximaldurchsatz: 50.000 Proben pro Woche). Ziel ist es, neu entstehende Variants of Concern (VoC) zu detektieren. Die Werkzeuge wurden für das Abwassermonitoring adaptiert.

Mit dem Primer-Set ARTIC-NGS (Standard bei humanen Proben) können alle Varianten durch Sequenzierung detektiert und gemischte Populationen aufgelöst werden. Die Nachweisgrenze liegt bei einem Ct-Wert von <33. Durch Fokussierung auf das S-Gen konnte der Prozess für deutliche geringere Virus-Mengen im Abwasser geschärft werden (Ct < 36). Die Untersuchung zur Abdeckung des S-Gens in Abhängigkeit vom Ct-Wert, ergab für die überwiegende Mehrzahl aller getesteten Abwasserproben mehr als 90%. Der Assay bietet über die gesamte Länge des S-Gens eine gute Abdeckung. Durch Bestimmung der Häufigkeit der vorkommenden Mutationen kann die Verteilung der potentiell verschiedenen Virus-Varianten in eine Probe ermittelt werden.

Wesentlich ist zudem die Etablierung von Kontrollen, um z.B. sicherzustellen, dass keine Inhibitoren im Abwasser enthalten sind. Weil Abwasserproben durch Regenereignisse unterschiedlich verdünnt sein können, ist außerdem ein Werkzeug erforderlich, das eine Normalisierung ermöglicht. Als ubiquitäre fäkale Viren / Phagen eignen sich das Pepper Mild Mottle Virus und der CrAssPhage, um Aussagen zum Vorhandensein von Inhibitoren in der Probe zu treffen und einschätzen zu können, ob genügend Fäkalmaterial enthalten ist.

Fazit:

- Höchste Sensitivität zum Nachweis kleinster SARS-CoV-2 Mengen ist gegeben.
- Uniforme Abdeckung des gesamten viralen S-Gens ist möglich.

- Der Anteil der Varianten und neuen Varianten kann quantifiziert und ein Bericht der identifizierten SARS-CoV-2 Mutationen erstellt werden.
- Die Zuordnung der Variants of Concern auf Basis der PANGOLIN-Datenbank wird wöchentlich aktualisiert.
- Es besteht ein etablierter, umfassender Satz an internen Assay-Kontrollen.
- Der Nachweis von PCR / NGS Inhibition erfolgt über Surrogatviren.
- Die Feststellung des humanen Fäkaliengehaltes in der Abwasserprobe erfolgt ebenfalls über Surrogatviren.

22. Monitoring von SARS-CoV-2 in Abwasser – Die Hach Lange-Lösung

Vortragender: Bastian Drost, Hach Lange GmbH

Herr Drost präsentierte ein mögliches Puzzle-Teil im zum Corona-Monitoring vor Ort auf der Kläranlage im Gesamtkonzept eines Abwasser-Überwachungssystems.

Neben den bekannten Vorteilen des Abwassermonitorings von SARS-CoV-2 werden auch Bedenken oder Hindernisse angeführt, die Zweifel an ausreichenden Labor-Kapazitäten, die Vergleichbarkeit von Ergebnissen, die Höhe der Kosten betreffen. Als Spezialist für Eigenüberwachung auf Kläranlagen hat Hach Lange nach einer Lösung zu SARS-CoV-2-Analytik direkt auf der Kläranlage gesucht und ist so auf die kanadische Firma LUMINULTRA gestoßen, die einen kompakten Koffer mit einem qPCR-Gerät, Pipetten, einem Heizblock, Zubehör und Reagenzien für 96 Tests entwickelt hat. Der Preis liegt bei knapp 20.000 Euro, also bei 44 € pro Analyse, inklusive einer einfachen Methode für die "Betriebsanalytik" vor Ort. Ergebnisse stehen innerhalb von 2 Stunden zur Verfügung. Das Verfahren erfüllt die Anforderungen der EU-Empfehlung.

Ein automatischer Probenehmer entnimmt eine geeignete Probe. Das Laborpersonal der Kläranlagen ist qualifiziert die vereinfachte Probenvorbereitung und Analyse durchzuführen! Die Handhabung ist so einfach, dass kein Fachpersonal mit PCR-Erfahrung erforderlich ist. Diese Aussage wird von den bisherigen Anwendern, z.B. TU Wien, Prof. Kreuzinger, bestätigt. Ein erster Praxistest in Deutschland läuft gerade an.

Es gibt jedoch auch Einschränkungen des Verfahrens. LUMINULTRA verzichtet auf die aufwendige Aufkonzentrierung der Probe, z.B. durch Ultrafiltration. Stattdessen erfolgt direkt eine Separierung mit magnetic beads, was Nachteile hinsichtlich der Nachweisgrenze und Sensibilität der Methode mit sich bringt. Nach der Abtrennung der magnetic beads mit Hilfe eines Magneten schließen sich Reinigungsschritte an, wobei die RNA mit Ethanol für die Analyse vorbereitet wird.

Mit dem Gerät können gleichzeitig 16 Proben gemessen werden, bei Triplikaten jedoch nur 5.

Die Methode ist zwar einfach, aber „nicht ganz einfach“. Spannend ist die Frage, ob es vom Kläranlagenpersonal ohne Fehlerquellen gehandhabt werden kann.

Fazit:

Nachteile der Methode sind:

- Aufwand für Kläranlagenpersonal: „Einfacher heißt nicht gleich einfach“! -> Lokale Machbarkeitsanalyse mit Endanwendern ist nötig. Wollen Kläranlagen das überhaupt?
- Höhere Nachweisgrenze bei Verzicht auf eine Zentrifuge: -> Nur 1ml Probe -> Praxistests: Signale ab Inzidenz 40 / 60, rechnerisch ab 2.5000 – 50.000 GU/l).
- Keine Sequenzierung von Mutationen möglich.

Vorteile der Methode sind:

- Die Vor-Ort-Analyse ist deutlich schneller (2h anstatt 1-2 Tage) als bei der Beauftragung externer Labore.
- Es besteht kein Logistikaufwand und es sind keine Kühlketten erforderlich.
- Die Methode ist kostengünstig: Im 1. Jahr entstehen 19.109 Euro für die Anschaffung des Koffers. Die enthaltenen Reagenzien reichen ein Jahr. Danach beträgt der finanzielle Aufwand 4.472 Euro pro Jahr (zzgl. Personalkosten).
- Messkampagnen wären nach lokaler Priorisierung leichter realisierbar bzw. finanzierbar – das „volle Potential“ des Monitorings wäre nutzbar: im Kanalnetz zur weiteren Eingrenzung von Hotspots oder zur Früh- / Entwarnung direkt an der Punktquelle.
- Durch die Anwendung einer einheitlichen Methode entsteht Vergleichbarkeit der Ergebnisse.
- Die Methodik kann auch für zukünftige mikrobiologische Aufgabenstellungen verwendet werden.

Ob sich die Methode als Alternative zur Messung durch externe Labore eignet, muss noch in der Praxis validiert werden, die Vor- und Nachteile müssen abgewogen werden.

23. Abwasserepidemiologie am Beispiel eines SARS-CoV-2 Biomarkers für die Abschätzung von COVID-19-Infektionen auf der Populationsskala

Konsortium:

- Technische Universität München:
 - Prof. Jörg Drewes
 - Christian Wurzbacher
- Technologiezentrum Wasser (TZW) Karlsruhe:
 - Prof. Andreas Thiem
 - Dr. Johannes Ho
 - Claudia Stange
- Blue BioLabs: Oliver Thronicker

Vortragender: Prof. Andreas Thiem, TZW Karlsruhe

Prof. Thiem stellt am Beispiel Karlsruhe den Nachweis von SARS-CoV-2 im Abwasser dar. Der Nachweis geschieht mit der Methode der digitalen droplet PCR (ddPCR). Zusätzlich zu den spezifischen Forward- und Reverse-Primern kommt eine Sonde zum Einsatz, die ein Fluoreszenzsignal abgibt. Die ddPCR ist sehr sensitiv und weniger anfällig gegen Inhibitionen.

Ziel war es eine besonders robuste Methode zu entwickeln, die zuverlässige Ergebnisse liefert. Daher wurden 4 verschiedene Zielgene verwendet:

- N-Gen (Nukleokapsid),
- E-Gen (Oberflächenprotein),
- ORF-Gen (Replikase-Polyprotein),
- RdRP-Gen (RNA-abhängige RNA-Polymerase).

Es wurden 500 Proben vergleichend untersucht. Es waren gute Korrelationen zwischen E- und ORF-Gen, E- und RdRP-Gen sowie ORF- und RdRP-Gen feststellbar. Dagegen ergab der Vergleich des N1-Gens mit dem E-, ORF- und RdRP-Gen keine gute Übereinstimmung. Das N1-Gen und die dazu beschriebenen Assays sollten mit Vorsicht bewertet werden. Wenn die Ergebnisse auffällig hoch ausfallen, sollten sie unbedingt überprüft werden. Für ein Routinemonitoring erscheinen sich die Zielgene E und ORF besser zu eignen.

Der Workflow sah wie folgt aus.

24h-Mischprobe, Volumen 40 mL -> Feststoffabtrennung durch Zentrifugation (30 min bei 5.000 g) -> PEG-Fällung (2h Inkubation und anschließend 2h Zentrifugation bei 12.000 g) -> Automatisierte Extraktion mit InnuPREP Virus DNA/RNA-Kit, Jena Analytic (Magnetpartikelseparation, 100µL Elutionsvolumen) -> One step RT ddPCR.

Die Ergebnisse liegen nach 2 Tagen vor. In Karlsruhe werden wöchentlich zwei Proben entnommen. Die Ergebnisse werden dem Krisenstab der Stadt Karlsruhe, in dem auch das Gesundheitsamt vertreten ist, weitergereicht. Dazu kommen weitere

Untersuchungsgebiete in Bayern und Baden-Württemberg. Auch kleinere Kläranlagen sind vertreten.

Die Ergebnisse für Karlsruhe zeigen eine gute Übereinstimmung der Abwassermesswerte mit den gemeldeten Fallzahlen, jedoch zeigten die Abwassermesswerte den Anstieg bzw. die Abnahme der Fallzahlen mit einem deutlichen zeitlichen Vorlauf von 16 Tagen. Im Frühjahr 2021 haben die Abwasserwerte die beginnende 3. Welle angezeigt und so zu der Entscheidung gegen Lockerungen in Karlsruhe beigetragen.

Mehrere Umlandgemeinden leiten ihr Abwasser der zentralen Kläranlage in Karlsruhe zu. An den Pumpstationen im Kanalnetz erfolgten ebenfalls Probenahmen. Es konnte eine Gemeinde mit deutlich erhöhten RNA-Konzentrationen im Abwasser ausgemacht werden, was bestätigt, dass sich die Methode für die Hotspot-Identifikation eignet.

Um gezielt Varianten nachzuweisen, wurde nach der S:501Y-Mutation, die typisch für die alpha-, beta- und gamma-Variante ist, geschaut. Der Shift vom Wildtyp zu der alpha-Variante ließ sich deutlich nachvollziehen. Auch der Übergang zu der delta-Variante im Frühjahr 2021 (S:E484Q-Mutation) konnte in den Abwasserproben beobachtet werden.

Fazit:

Der Nachweis von SARS-CoV-2 im Abwasser eignet sich für die Einschätzung des COVID-19-Infektionsgeschehen, weil:

- es der Erkennung von Trends im Infektionsgeschehen dient,
- ein deutlicher Vorlauf vor klinischen Fallzahlen besteht,
- die Erfassung der Gesamtbevölkerung und Abschätzung der Dunkelziffer möglich sind,
- es sich als Frühwarnsystem und Entwarnsystem nutzen lässt,
- Hot-Spot Lokalisation
- Mutanten-Screening
- Post-Pandemisches Monitoring bei geringeren Fallzahlen um neue Ausbrüche zu erkennen.

Vorstellung der Aktivitäten zum SARS—CoV-2-Monitoring auf europäischer Ebene und auf Bundesebene

1. Implementierung der Abwasserüberwachung in HERA und digitale Austauschplattform der EU zu SARS-CoV-2

Vortragender:

- Bernd Gawlik, Europäische Kommission, DG Joint Research Center (JRC), Ispra

Herr Gawlik startet mit der guten Nachricht, dass mit einer Ausnahme inzwischen alle EU-Mitgliedsstaaten die finanzielle Förderung zum Abwassermonitoring von SARS-CoV-2 abgerufen haben. Außerordentlich erfreulich ist auch, dass bei der Gründung von HERA (Health Emergency and Preparedness and Response Authority) der Einsatz des Abwasserüberwachungssystems für den Gesundheitssektor ausdrücklich erwähnt wurde. Dies ist ein wesentlicher Schritt, um die Aktivitäten zum Abwassermonitoring in Europa zu institutionalisieren. Der Gesundheitssektor hat die Bereitschaft signalisiert, für die Informationen aus dem Abwasser zu bezahlen, weil sie einen wichtigen Mehrwert zur Einschätzung der Infektionslage darstellen und sich der geleistete Aufwand rechnet.

Momentan liegt der Fokus auf informationstechnischen Fragen der Datenformate. Die vorhandenen Datenmodelle in der EU wurden abgefragt, um sie bei der Entwicklung der Datenformate zu berücksichtigen und die Interoperabilität zu gewährleisten. Die Daten sollen so in das europäische System eingespeist werden können, dass keine Änderungen im eigenen System erforderlich sind. Die Daten sollen für Gesundheitsbehörden vor Ort einfach abrufbar sein. Vorgesehen ist ein Open Data Model. Ein erster funktionierender Prototyp des Datenmodelles soll am 23./24.11.2021 im Rahmen des EU-Town Hall-Meetings präsentiert werden. Dr. Ines Perea vom BMG wird auf der Veranstaltung den Co-Chair innehaben, was als ein sehr wichtiges Signal des Public Health Sektors für das Abwassermonitoring zu werten ist. Alle Anwesenden sind herzlich eingeladen.

Ein weiteres Arbeitsfeld auf EU-Ebene betrifft die Kriterien zur einheitlichen Identifizierung von Varianten mittels NGS (Next Generation Sequencing). Hierbei geht es um Fragen wie: Welche Spike-Proteine werden genutzt? Wie sieht die Methodologie aus, um eine sichere Aussage zum Vorhandensein einer Variante zu treffen?

Auf politischer Ebene ist zu erwehren, dass eine enge Zusammenarbeit mit den Kollegen aus den USA besteht und auch aus Kanada, die sehr bei der Entwicklung des Datenmodelles unterstützen. Auf internationaler Ebene spielt das Thema Entwicklungshilfe eine große Rolle. Beispielsweise hat die Ukraine eine Hilfestellung bei der Europäischen Kommission beantragt.

Wichtig ist auch der Blick jenseits SARS-CoV-2. Die EC positioniert sich klar dafür, das Abwasser-Überwachungssystem auch für andere Einsatzbereiche zu institutionalisieren. Dabei geht es nicht nur um emerging pathogens, sondern darum, das Abwasser generell als Informationsquelle zu nutzen. Das nächste große Thema wird mit Sicherheit das der antibiotikaresistenten Bakterien werden.

2. Aktivitäten auf Bundesebene zur Praxisumsetzung des Überwachungssystems von SARS-CoV-2 in Abwasser

Vortragende: Dr. Ines Perea, Bundesministerium für Gesundheit (BMG) Berlin

Frau Dr. Perea betont zu Beginn Ihres Beitrages, wie wertvoll die in den Projekten zum Abwassermonitoring von SARS-CoV-2 erzielten Ergebnisse für das Gesundheitsministerium sind. Sie bilden eine zentrale Grundlage, worauf nun aufgesattelt werden soll.

Als die EU ankündigte 20 Mio € für das Abwassermonitoring in den Mitgliedsstaaten bereitzustellen, war in Deutschland schnell klar, dass es nicht möglich sein würde, das Abwassermonitoring innerhalb von einem Jahr flächendeckend auszurollen, sondern dass der Roll out schrittweise erfolgen muss. Wichtig ist es die entscheidenden Personen auf der Abwasser- und Gesundheitsseite zu überzeugen. Durch die Vielzahl der Player handelt es sich um ein hochkomplexes Vorhaben.

Auf Bundesebene ist im September der Antrag auf Bereitstellung von EU-Mitteln fristgerecht eingereicht worden. Deutschland kann aus dem EU-Topf 3,7 Mio. € beanspruchen.

Nach Beratung mit Experten aus den BMBF-geförderten Projekten und den CoroMoni-Projekten entstand der Plan, 20 Standorte in Deutschland mit EU-Mitteln fördern zu lassen. Pro Standort ist die Förderung auf 60 T € begrenzt. Der Betrag wird zwar für die reine Abwasserdiagnostik ausreichen, aber es ist zu berücksichtigen, dass auf der Gesundheitsseite noch Strukturen z.B. im IT-Bereich aufgebaut werden müssen, die ebenfalls Kosten verursachen. Es kann daher passieren, dass einige Standorte noch Geld dazu geben müssen. Einige Bundesländer stellen auf Eigeninitiative eine Finanzierung sicher.

Zeitnah ist ein Treffen mit Vertretern der Abwasser- und Gesundheitsseite auf Ebene der Bundesländer vorgesehen, um dort den aktuellen Stand und eine ausgearbeitete Kriterienliste zu den Voraussetzungen und der Auswahl der Modellstandorte vorzustellen.

Nach jetzigem Stand wird die Bewerbungsfrist für die Projekte der 10.12.21 sein. Ein Start des Vorhabens zum 1.1.22 erscheint bereits sehr ambitioniert, da die Auswahl der Standorte erst Ende 2021/ Anfang 2022 erfolgen kann. Die Standorte müssen sich ggf. erst im Landrat oder Stadtrat abstimmen und dort Beschlüsse herbeiführen. Vermutlich werden erste Standorte ab Februar an den Start gehen und weitere Standorte zeitlich gestaffelt sukzessive folgen.

Im Moment gibt es eine Vielzahl an Herausforderungen. Beispielsweise müssen die Erkenntnisse aus CoroMoni um noch fehlende Informationen ergänzt und in Handlungsempfehlungen oder Leitfäden zum Workflow des Abwassermonitorings eingearbeitet werden, die den Modellstandorten als Grundlage dienen können. Wenn das Projekt an den Start geht ist mit einer Vielzahl von Fragen der beteiligten Standorte

zu rechnen, z.B. zum entstehenden Aufwand und den benötigten Ressourcen. Hier gilt es, präpariert zu sein.

Die Koordinierung und das Projektmanagement für das gesamte EU-Vorhaben wird beim Projektträger Karlsruhe liegen. Dort soll dann auch zentral ein Helpdesk eingerichtet werden, bei dem zentral alle Anfragen gebündelt werden.

Auf der Gesundheitsseite ist man in Deutschland sehr davon überzeugt, dass diese Überwachungsmethode auch Potential für andere Erreger und Einsatzbereiche hat. Es ist aber noch unklar, ob sich die neue Koalition des Themas annehmen wird.

Virtuelle Podiumsdiskussion zum Thema „1 ½ Jahre Abwassermonitoring von SARS-CoV-2 – Wie geht es weiter?“

Diskutanten:

- Dr. Ines Perea, BMG
- Prof. Jörg Drewes, TU München
- Prof. Susanne Lackner, TU Darmstadt
- Bernd Gawlik, EU-Kommission

Im Zusammenhang mit dem Abwassermonitoring von SARS-CoV-2 stellt sich immer wieder die Frage nach der Standardisierung. Eine Standardisierung der Methoden zur Probenaufbereitung und Analytik wird nicht als sinnvoll angesehen, jedoch bei der Bewertung der gewonnenen Daten sollte man sich auf ein einheitliches Vorgehen verständigen. Dies wird von Prof. Lackner und Prof. Drewes bekräftigt. Laut Herrn Gawlik will die EU die Rohdaten aus den Mitgliedsstaaten und Projekten nutzen, ohne Vorgaben zu einheitlichen Datenformaten zu machen. Stattdessen sollen die unterschiedlichen Datenformate von der EU durch „Brokering“ übersetzt werden. Wichtig ist es, sicherzustellen, was mit den Daten passieren darf. Welche Daten dürfen an die Öffentlichkeit kommuniziert werden? Hierzu soll gemeinsam mit den Mitgliedsstaaten ein Konzept entwickelt werden. Herr Gawlik weist auf den ODM2-Standard aus Kanada hin (s. <https://github.com/Big-Life-Lab/ODM/pull/168/files>).

Eine wesentliche Grundlage für ein funktionierendes Überwachungssystem im Sinne eines Früh- und Entwarnsystems ist ein digitales Datenflussmodell, das die schnelle und effiziente Weiterleitung der Messdaten aus dem Abwasser an die Gesundheitsbehörden und Krisenstäbe gewährleistet. Voraussetzung dafür ist die digitale Ausstattung der Gesundheitsämter. Dr. Perea betont, dass die Gesundheitsämter zwar mit DEMIS ausgerüstet sind, aber noch Schnittstellen programmiert werden müssen, die für die Verbindung der digitalen Eingabemaske, die von den Kläranlagen und Laboren genutzt werden soll, mit DEMIS sorgen. Ziel ist es, den Gesundheitsbehörden die Abwasserdaten in einfacher Form, nach automatischer Validierung, zur Verfügung zu stellen. In die Entwicklung fließen die CoroMoni-Ergebnisse ein. Die gewonnenen Erfahrungen an den 20 Modellstandorten im Rahmen der Pilotstudie sollen zur Optimierung des Datenflussmodelles beitragen.

Prof. Drewes unterstreicht die Bedeutung der Qualitätssicherung der Datensätze. Wichtig sei es, das System so zu optimieren, dass sich die Ergebnisse proaktiv nutzen lassen und den Gesundheitsbehörden und Entscheidungsträgern einen Mehrwert bieten, um z.B. bei der Vielzahl der symptomfreien Infektionen die Dunkelziffer abzuschätzen.

Prof. Horn erläutert, dass in dem EU-finanzierten Projekt ESI-CorA auch auf die Qualitätssicherung und die Einhaltung von Qualitätskriterien durch die beteiligten Labore geschaut wird.

Dr. Perea weist darauf hin, dass zwar auf Basis der Abwasserdaten kein Lockdown verhängt werden kann, aber z.B. die Anordnung von Maßnahmen für Ungeimpfte.

Da Städte unterschiedlich geprägt sind, stellt sich die Frage, wie Effekte durch Berufspendler und Tourismus Berücksichtigung finden können. Herr Gawlik berichtet, dass die EU zwar empfiehlt, das Monitoring auf Städte größer 150.000 Einwohner zu beschränken, aber in einem Projekt mit der TU Darmstadt den Fokus auch auf s.g. Supersites, wie z.B. Flughäfen richtet.

Auch die Problematik der Einzugsgebiete von Kläranlagen, die häufig nicht mit dem Zuständigkeitsgebiet des Gesundheitsamtes übereinstimmen, gilt es zu lösen. Hierzu weist Prof. Drewes auf die Möglichkeit, Abweichungen durch Algorithmen zu korrigieren. Wesentliche sei es, so rasch wie möglich mit dem Abwassermonitoring zu starten und im Laufe des Pilotvorhabens, den Workflow zu optimieren. Dazu zählt auch die Korrektur des Einflusses von Regenwetterereignissen durch Surrogatviren.

Auch die Frage der langfristigen Finanzierung des Überwachungssystems ist noch offen. Nach Einschätzung von Herrn Gawlik wird der Gesundheitssektor die Finanzierung übernehmen, sofern es gelingt, ihn von dem Mehrwert des Systems zu überzeugen.

Als Fazit bleibt:

Die Zeit ist reif, das Abwassermonitoring in der Praxis zu installieren, auch wenn es noch offene Fragen und Einzelpunkte gibt, die im Laufe der Zeit nachzuschärfen sind. Das System liefert bereits jetzt wertvolle Zusatzinformationen für das Pandemiemanagement, die nicht ungenutzt bleiben sollten!

Vorstellung und Diskussion der Ergebnisse aus den CoroMoni-Arbeitsgruppen

CoroMoni-AG 1 "Probenahme", Sprecher: Dr. Manfred von Afferden (UFZ Leipzig) und Björn Helm (TU Dresden)

Dr. van Afferden berichtet über die aktuellen Ergebnisse und Produkte der *CoroMoni-AG 1*. Die letzte Sitzung fand am 13.10.2021 statt.

- Produkt 1: Probenahmeprotokoll
Abwasser 24 h Mischproben

- Produkt 2: Probenahmeprotokoll
Primärschlammproben
Schöpfprobe
- Produkt 3: Anleitung
Sielhautproben in Teilnetzen

Das Protokoll für eine „standardisierte“ Abwasser-Probenahme auf Kläranlagen ist fertiggestellt und in der AG verabschiedet. Es wurde durch einen Begleittext und eine Handlungsanweisung ergänzt. Bei der Erstellung erfolgte ein Abgleich mit der DIN 38402-11 - Teil 11: Probenahme von Abwasser (A 11), mit der DIN EN ISO 19458 Wasserbeschaffenheit - Probenahme für mikrobiologische Untersuchungen und dem EU-report bzw. der EU-Sample form.

Das Protokoll für eine „standardisierte“ Primärschlamm Probenahme auf Kläranlagen ist ebenfalls fertig und mit einem Begleittext und einer Handlungsanweisung versehen worden.

Beide Protokolle sind in die Vorbereitung des bundesweiten Pilotvorhabens eingeflossen.

Das letzte Produkt der AG 1, das Protokoll für eine „standardisierte“ Sielhaut Probenahme in Teilnetzen der Kanalisation wurde diskutiert. Der Nachweis von SARS-CoV-2 im Kanalnetz über Sielhautuntersuchungen ist prinzipiell möglich, die Datenlage reicht jedoch noch nicht aus, um ein standardisiertes Protokoll zu erstellen. Sielhautuntersuchungen sind aber als zukünftige Option in die Vorbereitung des bundesweiten Pilotvorhabens eingeflossen.

Die Arbeitsgruppe wird nun pausieren, bis neue Erkenntnisse vorliegen oder aktueller Bedarf an einer Zuarbeit zu dem Pilotvorhaben auf Bundesebene besteht.

CoroMoni-AG 2 “Analytik”, Sprecher: Roger Dumke (UFZ Leipzig)

Die letzte Sitzung der CoroMoni-AG-2 fand am 18.10.2021 als Videokonferenz statt.

Die Diskussion der anstehenden Aufgaben ergab folgende Punkte:

- Diskussion der Ergebnisse des EU-Town Hall-Meetings am 24.11.21,
- Literaturstudie zur vergleichenden Methodenbewertung von Probenaufbereitung und -analytik, Sichtung Normen, Standards, allgemeine Hinweise / Leitlinien in anderen EU-Ländern,
- Entscheidung über weiteren Ringversuch, Zielsetzung (z.B. Varianten-Nachweis), Erwartungen, Zeithorizont, Standardvorlage für Ringversuche,
- Praxisleitfaden für neu hinzukommende Labore zur Probenaufbereitung und – analytik, z.B. Vor- und Nachteile der unterschiedlichen Methoden.

CoroMoni-AG 4 “Roll out”, Sprecher Dr. Jörg Drewes (TU München) und Prof. Andreas Thiem (TZW Karlsruhe)

Prof. Drewes berichtet über die aktuellen Aktivitäten der CoroMoni-AG 4 „Praxisumsetzung des Abwassermonitorings von SARS-CoV-2 (Roll Out). Nach Veröffentlichung der EU-Empfehlung zum Abwassermonitoring hat sich auf Bundesebene eine Steuerungsgruppe gebildet, die den Auftrag hat, die flächendeckende Einführung eines abwasserbasierten Überwachungssystems für SARS-CoV-2 in Deutschland zu prüfen. Dazu wurde eine Projektgruppe mit vier Arbeitsgruppen gegründet, die sich mit den verschiedenen Aspekten des Abwassermonitorings befassen. Eine Arbeitsgruppe legt den Fokus auf den Transfer des Überwachungssystems in die Praxis der einzelnen Standorte und die Schnittstelle zwischen Abwasser- und Gesundheitsseite. Die AG 4 hatte einen sehr guten Austausch mit den Mitgliedern der Gruppe und konnte ihre Arbeitsergebnisse zur Probenahme, Analytik und Auswahl der Kläranlagenstandorte erfolgreich in die Arbeit auf Bundesbenen einbringen. Als Flaschenhals kristallisierte sich die Datenweitergabe von den Kläranlagenstandorten zu den Gesundheitsbehörden und Krisenstäben heraus.

Im Zuge eines von der EU finanzierten Projektes sollen nun 20 Modellstandorte in Deutschland ausgewählt werden, mit denen der Workflow für das Abwassermonitoring optimiert werden soll. Am 10.11.21 findet ein Gespräch mit den Bundesländern statt, um die Standorte vorzusunidieren. Der Start des Monitoringprogrammes ist für den 1.1.2022 geplant. Abweichend von den EU-Empfehlungen, die nur Städte mit mehr als 150.000 Einwohnern für das Abwassermonitoring vorsehen, soll in Deutschland ein weiter gefasster Kriterienkatalog zu Grunde gelegt werden, der auch kleinere Anlagen, Grenzregionen, und Regionen mit Pendleraktivität einschließt.

Darüber hinaus hat sich die AG 4 gegenseitig über neue Projekte informiert, einschließlich der Aktivitäten in Österreich und der Schweiz, wo das Abwassermonitoring bereits fast flächendeckend auf nationaler Ebene betrieben wird. Der Austausch schloss die Bereitstellung von Daten über Dashboards ein und betraf z.B. die Frage, wie diese in den öffentlichen Gesundheitsdienst eingebunden werden und welche Daten der interessierten Öffentlichkeit zur Verfügung gestellt werden sollen. Außerdem ging es um Algorithmen und Automatisierungsstrategien, die den Entscheidern die Datenverfügbarkeit und -auswertung erleichtern.

Zudem hat sich die AG 4 Gedanken zur Rechtslage gemacht, insbesondere zu der Frage, ob die durch das Abwassermonitoring entstehenden Kosten über die Abwassergebühren umgelegt werden können. Mit den derzeitigen Rechtsvorgaben wäre dies nicht vereinbar. Die Finanzierungsfragen sind Thema in der Steuerungsgruppe auf Bundesebene.

Ein letztes Thema der AG 4 betrifft die qualitätsgesicherte Umsetzung des Überwachungssystems. Auch hierzu werden Ansätze diskutiert.

Bericht der DWA zu den aktuellen Aktivitäten in CoroMoni

All Beprobungsstandorte in den *CoroMoni*-Projekten (aktuell und in der Vergangenheit beprobte Kläranlagenstandorte) wurden in einer digitalen Karte zusammengefasst, die auf der Online-Plattform des CoroMoni-Projektes zur Verfügung steht. Sie enthält insgesamt 139 Kläranlagen-Standorte + Kanalbeprobungs-Standorte, die mehr als 15.000.000 angeschlossene EW (von einigen Standorten fehlen EW-Angaben) repräsentieren.

Im Rahmen der Projektverlängerung des *CoroMoni*-Projektes bis zum 31.12.2022 wird der bundesweite Roll out des Abwassermonitorings durch folgende Aktivitäten unterstützt:

- Vernetzung der Forschungsakteure,
- Kontaktaufnahme und Beratung von Betreibern von Abwasseranlagen,
- Erstellung von Leitlinien zum gesamten Workflow des Abwassermonitorings,
- Schulung von Betriebspersonal zur Probenahme,
- Definition der Voraussetzungen für Pilot- bzw. Modellprojekte,
- Vorstudie und Strategie zum bundesweiten Abwassermonitoring-System.
-

4.2 Aufzeichnung der 4. Video-Konferenz

Die Aufzeichnung der Videokonferenz befindet sich auf der Onlineplattform/DWAdirekt/Ausschüsse Online/übergreifende Gremien/sonstige Ausschüsse/CoroMoni/Videokonferenzen/

<https://edp.dwa.de/edpdwa/dkt/object?id=277786>

5. CoroMoni – Video-Konferenz 5 / 11.02.2022

5.1 Bericht

Die 5. Video-Konferenz zum BMBF-Projekt „Aufbau einer Kommunikationsplattform zum Thema „Abwassermonitoring zur Bestimmung des SARS-CoV-2-Infektionsgrades der Bevölkerung, Vernetzung der Forschungsakteure in Deutschland – CoroMoni“ fand am 02.02.2022 von 10:00 – 13.00 Uhr statt. Insgesamt nahmen 74 Personen teil. Zusätzlich zu den deutschen Forschungsgruppen, nahmen Wissenschaftler aus Österreich, der Schweiz und den Niederlanden teil. Zudem waren Vertreter des Robert-Koch-Instituts und des Umweltbundesamtes anwesend.

Dr. Friedrich Hetzel, Leiter der DWA-Abteilung Wasserwirtschaft, moderierte die Veranstaltung. Johannes Lohaus, Bundesgeschäftsführer der DWA, begrüßte die Teilnehmenden offiziell.

Herr Lohaus betonte den wichtigen Beitrag, den das Abwassermonitoring zum Pandemiemanagement leisten kann und wies auf eine Pressemitteilung des Max-Delbrück-Centrums in Berlin hin, in der berichtet wurde, dass der Anteil der Omikron-Variante im Abwasser bestimmt werden kann. Am 24. Januar 2022 wurde in den Tagesthemen ein Beitrag über das SARS-CoV-2-Abwassermonitoring in Berlin gezeigt (<https://www.youtube.com/watch?v=aWbUqwhws6E>). Herr Lohaus machte zudem auf eine Veranstaltung der Water Environment Federation (USA) aufmerksam, die vom 21.-24. März stattfindet (Public Health and Water Conference & Wastewater Disease Surveillance Summit, <https://www.wef.org/PublicHealth>). Außerdem laden die DWA und die EWA am 31. Mai ab 15:30 Uhr zum EWA/DWA Innovation Workshop: Surveillance of SARS-CoV-2 and its variants in Wastewater auf der IFAT in München ein. Anschließend soll es einen kleinen Empfang zum Gedankenaustausch geben.

Herr Hetzel wies auf die 6. CoroMoni-Konferenz am 04. Mai 2022 hin. Neu hinzugekommene Teilnehmenden stellten sich kurz vor.

1. Präsentation der Forschungsarbeiten aus neuen Projektaktivitäten

1.1 SARS-CoV-2-Monitoring Sachsen, Dr. René Kallies, UFZ Leipzig

Herr Kallies weist auf das Informationsvideo „Corona-Abwassermonitoring: dem Virus auf der Spur“ des UFZ hin (<https://www.youtube.com/watch?v=Vbczxt8Cx4>).

Das Projekt wird vom Freistaat Sachsen gefördert und wird in Zusammenarbeit mit der TU Dresden durchgeführt. Die Forschungsfragen fokussieren sich auf Sachsen. Im Laufe des Projektes wurden 17 Kläranlagen beprobt. Aktuell werden noch 11 Kläranlagen beprobt. Das Abwassermonitoring in Sachsen funktioniert gut.

Beispiele Abwassermonitoring

Wenn möglich werden sowohl 24 h-Mischproben als auch Primärschlamm analysiert. Primärschlamm ist eher für qualitative Aussagen geeignet. Mischproben lassen dagegen quantitative Aussagen zu. Die Ergebnisse aus der Analyse der Mischproben und des

Primärschlamms korrelieren zwar größtenteils, die Primärschlammwerte lagen im Fallbeispiel von Plauen jedoch tendenziell niedriger. Mitarbeiter/innen der Kläranlagen sollten entscheiden welche Probenahme bei ihnen funktionaler ist.

Die Ergebnisse des Abwassermonitorings bilden die Tendenzen der 7-Tage Inzidenzen ab. Aktuell werden die Daten noch nicht normalisiert dargestellt. Als nächster Schritt ist die Normalisierung auf crAssphage geplant. Zudem sollen die Einzugsgebiete der Kläranlagen mit den Meldedaten abgeglichen werden.

Die Daten von 24 h-Mischproben der Kläranlage Plauen zeigen zum Teil Mehrbefunde im Vergleich zu den 7-Tagen Inzidenzen. Möglicherweise wird dies durch Infektionen verursacht, die nicht erfasst wurden. Im Sinne eines Frühwarnsystems sollte mit solchen Daten vorsichtig umgegangen werden und es sollte diskutiert werden, wie solche Daten an die Öffentlichkeit kommuniziert werden.

Die Analysen der Abwasserproben sind sehr sensitiv und liefern noch positive Signale bei Inzidenzen unter 10. Dies spricht für eine Eignung des Abwassermonitorings als Frühwarnsystem.

Regressionsmodell

Die Daten aus der PCR können in ein Regressionsmodell eingespeist werden (Die Folien zu den Daten des Regressionsmodells stammen von Björn Helm). Es beinhaltet verschiedene Parameter wie z.B. das Detektionslimit, Verzögerungsparameter und den Durchfluss. Mit den PCR-Daten kann das Modell berechnet werden. Die Ergebnisse können mit den Daten aus den diagnostizierten Fällen verglichen werden. Unter Einbeziehung bestimmter Parameter nähern sich die Kurven aus den Abwasserdaten und den diagnostizierten Fällen an.

Bei jeder durch eine neue Variante ausgelösten Welle können die Kurven der Abwasserdaten und der diagnostizierten Fälle im Modell voneinander abweichen. Da sich Parameter wie Ausscheidungsrate, Impfstatus, Meldezahlen ändern können, müssen die Parameter bei jeder neuen Welle angepasst werden

Einfluss der Probenahme und von Replikaten auf die Analyseergebnisse

Der Einfluss der Probenahme auf die Ergebnisse wurde untersucht. Dazu wurden 3 Probenehmer mit zeitlichem Durchfluss und Volumendurchfluss verglichen. Die Proben wurden in technischen und biologischen Replikaten untersucht und es konnten deutliche Unterschiede in den Ergebnissen festgestellt werden. Solche Ergebnisse könnten teilweise Unschärfen in den Analysen erklären.

Mit abnehmender Inzidenz spielt die Anzahl der Replikate eine zunehmende Rolle auf die Analyseergebnisse. In dem berechneten Modell mit den Messungen aus Leipzig, mit den verwendeten Probenehmern und der verwendeten PCR, werden mindestens 6 Replikate benötigt um falsch-negative Ergebnisse zu vermeiden.

Ausblick

Es werden auch zunehmend Daten aus SARS-CoV-2 Abwasser-Sequenzierungen betrachtet. Omikron wurde schon nachgewiesen und laut Modell wird sich die Variante in Sachsen schnell

verbreiten. Das Interesse fokussiert sich daher inzwischen auf die Frage, welchen Anteil die Subvarianten BA.1 oder BA.2 ausmachen.

Für Sachsen gibt es ein Dashboard von CASUS (Center for Advanced Systems Understanding), in dem die Daten der 7-Tage Inzidenzen eingetragen sind. Perspektivisch sollen hier auch die Abwasserdaten miteingebracht werden. Das Ziel ist es, klinische Daten und Abwasserdaten in einem Dashboard zusammenzubringen und Modelle rechnen zu können.

1.2 Implementierung einer SARS-CoV-2 Abwassermonitoringstrategie für Kommunen - Überlegungen zum Datenfluss und Datenmodell, Prof. Jörg Drewes, TU München

Das Projekt wird seit November 2020 vom BMBF gefördert und wird in Kooperation mit dem Technologiezentrum Wasser in Karlsruhe und Blue Biolabs durchgeführt. Es werden mehrere Kommunen in Bayern und Baden-Württemberg beprobt.

Überlegungen zu Meldekettten und Datenfluss

Ein positives PCR Ergebnis wird von den klinischen Laboren über die DEMIS-Schnittstelle gemeldet. Die Gesundheitsämter haben darauf Zugriff. Die Daten werden qualitätskontrolliert (insbesondere Abgleich mit Meldedaten) und teilweise auf Dashboards der Landkreise dargestellt. Diese Daten werden dann entweder ebenfalls über DEMIS oder indirekt über die Landesämter für Gesundheit ans RKI gemeldet. Das RKI übergibt nach einer Qualitätskontrolle die Daten an ESRI für die Darstellung im RKI Dashboard.

Meldekettten und Datenflüsse für Abwasserdaten

Bei einem flächendeckenden Abwassermonitoring würden die Umweltlabore die Ergebnisse idealerweise auch über DEMIS melden. Das ist bisher aber noch nicht implementiert. Momentan werden die Ergebnisse dezentral von den Umweltlaboren direkt an die Forschergruppen und Kommunen übermittelt. Dort kann dann eine Qualitätssicherung und Darstellung auf den betreffenden Dashboards stattfinden.

Aspekte der Weiterentwicklung und Implementierung des Datenflussmodells

Ziel des Projektes ist, neben vielen anderen Aspekten, eine Implementierung des Datenflussmodells in verschiedenen Kommunen. Es findet eine Zusammenarbeit mit vier Gesundheitsämtern statt. Es sollen alle Entscheidungsträger miteinbezogen werden. Um eine Korrelation zwischen den klinischen Daten und den Abwasserdaten zu erreichen, ist es wichtig, die Entwässerungsgebiete richtig zu definieren. Die Probenahmedaten und die Laborbefunde für die Biomarker sollen digital erfasst werden um Schnelligkeit zu gewährleisten. Die Datenverarbeitung (z.B. Abflusskorrektur bei Regenereignissen) erfolgt automatisiert und die Darstellung der Daten erfolgt über ein Dashboard. Außerdem muss eine Qualitätssicherung durchgeführt werden.

Als Beispiel wird das Dashboard für das Berchtesgadener Land gezeigt. Auf dem Dashboard werden verschiedene Daten, z.B. die 7-Tage Inzidenz und neue COVID-19 Fälle dargestellt. Die Daten, die hier hinterlegt werden sind für gewöhnlich qualitätskontrolliert und werden entsprechend ans RKI weitergeleitet. Als weiteres Beispiel wird das Dashboard für den Landkreis Ebersberg gezeigt.

Wie können die Ergebnisse des Abwassermonitorings in die Dashboards integriert werden?

Es ist wichtig, dass die Indexpersonen mit den richtigen Meldedaten erfasst sind und es eine adäquate Zuordnung zu den entsprechenden Einzugsgebieten der Probenahmestellen geben kann. Die Abwasserbetriebe müssen Betriebsdaten aufnehmen, um eine repräsentative Probenahme zu gewährleisten, insbesondere bei Regenereignissen und Mischwassereinflüssen, die zu Verdünnungen führen können. Im Umweltlabor sollte eine Qualitätskontrolle erfolgen. Anschließend können die Daten entweder intern für die Krisenstäbe oder potentiell für die Öffentlichkeit freigegeben werden.

Voraussetzungen für ein Abwasser-Dashboard

Es müssen gewisse Stammdaten der Messstelle erfasst werden. Dies kann über ArcGIS Survey 123, eine Handy-App, erfolgen. Dort können Daten direkt eingepflegt werden. Die Messstelle kann dem Einzugsgebiet zugeordnet werden. Alle Straßenzüge, die zu einer Kläranlage führen, sind dort erfasst. Das Einzugsgebiet wird als Polygon dargestellt. Die genauere Kanalnetzstruktur kann ebenfalls hinterlegt werden. Die Einzugsgebiete werden parametrisiert (z.B. angeschlossene Einwohner, Fremdwasseranteil) und diese Daten werden ebenfalls über eine Eingabe-App hinterlegt. Wenn eine regelmäßige Probenahme durchgeführt werden soll und Daten erfasst werden, erfolgt dies wieder über die App. Zusätzlich zu den Probenahme-spezifischen Daten werden Begleitparameter eingepflegt. Das Labor, das die Biomarker bestimmt, kann die Analyse-Ergebnisse ebenfalls in die App eingeben. Damit sind die Daten sofort abrufbar und eindeutig zugeordnet. Es kann eine automatisierte Korrektur, z.B. im Fall von Niederschlägen (Normalisierung), zwischengeschaltet werden. Die Ergebnisse können mit den entsprechenden klinischen Fallzahlen gekoppelt werden. Nach Normalisierung, z.B. mit Surrogatviren, können die Daten auf dem Dashboard dargestellt werden.

Beispiel Dashboard

Als Beispiel für die gemeinsame Darstellung von Abwasserbefunden und Inzidenzen werden Daten aus Augsburg gezeigt. Für die Abwasserdaten werden gleitende Mittelwerte dargestellt.

In der laufenden vierten Welle weichen die Daten aus den klinischen Tests von den Abwasserdaten ab. Ursache dafür ist, dass nur noch eine Stichprobe der Indexpersonen getestet wird und es dadurch eine steigende Dunkelziffer an Infizierten gibt. Außerdem gibt es einen deutlichen Meldeverzug, aufgrund einer Überlastung der Gesundheitsämter. Insgesamt kommt es zu einer Unterschätzung der realen Fälle.

Auf Seiten der Abwasserdaten zeigt sich ein Unterschied in der Ausscheiderate zwischen einer Infektion mit der Delta- oder der Omikron-Variante. Omikron befällt hauptsächlich den oberen Atemtrakt, wohingegen sich eine Infektion mit der Delta-Variante eher in der Lunge und im Magen-Darm-Trakt manifestiert und dadurch höhere Ausscheideraten verursacht. Das bedeutet, dass sich die Abwasserbefunde verschieben. Solche Veränderungen müssen berücksichtigt werden und können insbesondere bei Laien zu Fehlinterpretationen der Daten führen.

Aus diesem Grund wurde entschieden, keine direkte Korrelation zwischen den klinischen Daten und den Abwasserdaten darzustellen, sondern eine vereinfachte fokussierte

Darstellung zu wählen. Messpunkte werden ebenfalls bewusst nicht im Detail dargestellt. Eine einfache Trendanzeige weist aufsteigende oder fallende Zahlen hin.

Fazit

Die Darstellung ist eine Reduktion in Ergänzung zum vorher gezeigten Dashboard für die Inzidenzen. Es liefert dem Krisenstab weitere Informationen wie das Abwassermonitoring aussieht und kann bei der Beurteilung der Situation helfen, da die Abwasserdaten immer noch einen gewissen Vorlauf im Vergleich zu den klinischen Daten haben.

1.3 SCREENING – Frühwarnsystem Kanalnetz am Beispiel SARS-CoV-2 Prof. Artur Mennerich, Ostfalia-Hochschule für angewandte Wissenschaften und Prof. Regina Nogueira, Leibniz-Universität Hannover

Prof. Mennerich übernimmt den ersten Teil der Präsentation.

Das Projekt ist eine Zusammenarbeit der Leibniz Universität Hannover und der Ostfalia Hochschule für angewandte Wissenschaften (Campus Suderburg). Das Projekt ist, neben einem Projekt der Landeshauptstadt Hannover, das einzige Projekt zu SARS-CoV-2 Abwassermonitoring in Norddeutschland. Als Projektpartner sind der Abwasserzweckverband Uelzen, die Stadtentwässerung Hildesheim, die Stadtentwässerung Celle, das Gesundheitsamt Hildesheim, das Landesgesundheitsamt in Hannover und der DWA Landesverband Nord involviert.

Die Ziele des Projektes sind, nicht nur im Zulauf der Kläranlage zu messen, sondern Hotspots in den Einzugsgebieten zu identifizieren. Dafür muss erforscht werden an welchen Stellen im Kanalnetz Probenehmer am sinnvollsten platziert werden sollten, auch unter Berücksichtigung des Aufwandes. Außerdem wird untersucht, wie die Probenahme und Analyse am besten erfolgen sollte.

Standortwahl

Über eine Modellierung des Kanalnetzes soll herausgefunden werden, wo im Kanalnetz Probenehmer platziert werden sollten, um möglichst viele Informationen zu erhalten, bei gleichzeitiger Vermeidung von Redundanzen. Statistische Berechnung haben ergeben, dass Verdünnungseffekte den größten Einfluss auf die Eignung des Standortes haben. Aktuell sind 5 Probenehmer im Einsatz. In Hildesheim werden so beispielsweise 83 % der Bevölkerung abgedeckt.

Probenahme

Es werden Probenehmer verwendet, die ex-geschützt sind und in der Kanalisation versenkt werden können. In der Praxis war die Umsetzung nicht einfach, da sich das Versenken der Probenehmer in den Kanalschächten als schwierig herausstellte und es auch einige kleinere Probleme mit den Probenehmern gab. Anfangs wurden 24 h- Mischproben genommen. Mittlerweile wird am Montagmorgen zwischen 5.00 und 9.00 Uhr beprobt. Die Verwendung der Probenehmer im Kanalnetz ist aufwändig. Für ein Forschungsprojekt ist das machbar, jedoch für den Routineeinsatz wenig praktikabel. Daher wird getestet, ob Stichproben oder passive Probenehmer ähnlich gut geeignet sind und vergleichbare Ergebnisse zu den Mischproben liefern.

In Bezug auf die Vergleichbarkeit der Ergebnisse wird darauf hingewiesen, dass sich der Abwasseranteil stark zwischen Wochenenden und Wochentagen unterscheidet. In dem beprobten Einzugsgebiet gibt es eine Wäscherei, die immer in gleichen Intervallen Abwasser abgibt, wodurch Verdünnungen verursacht werden. An den Wochenenden entfällt dieser Einfluss. Dies zeigt, dass Kenntnisse über das Einzugsgebiet essentiell sind.

Frau Nogueira übernimmt die Präsentation der Ergebnisse zur Analyse.

Analyse

Die Analyse des Abwassers erfolgt mittels RT-qPCR. Zur Visualisierung der Daten dient ein Ampelsystem. Vor Kurzem wurde ein ddPCR-Gerät angeschafft, das die Arbeit erleichtert. Es konnte ebenfalls eine Ausbreitung der Omikron-Variante gezeigt werden. Bei der Analyse wird zwischen Trocken- und Regenwetter unterschieden (Trockenwetter ist definiert als Niederschlagsmenge unter 5 mm pro Tag). Bei Trockenwetter erfolgt keine Korrektur der Daten. Im Moment wird untersucht, welche Biomarker am besten geeignet sind um die Daten bei Regenwetter zu normalisieren.

Das Ampelsystem wird beispielhaft vorgestellt. Die Ergebnisse der verschiedenen Kanalpunkte werden dargestellt und auf Grundlage der Ct- Werte in hoch, niedrig und mittel unterschieden. Momentan sind fast alle Werte im roten (hohen) Bereich. Auch bei niedrigen Inzidenzen ermöglichen die Messungen aus dem Kanalnetz voraussichtlich eine gute Unterscheidung zwischen Bereichen mit höheren und niedrigeren Messwerten und somit auch eine Identifikation von Gebieten, in denen Veränderungen auftreten. Omikron wird über eine qPCR nachgewiesen und mittels Sequenzierung bestätigt.

1.4 Das SARS-CoV-2 Genom im Abwasser – Monitoring der Pandemieentwicklung mittels Sequenzierung, Prof. Susanne Lackner, TU Darmstadt

Es werden mehrere Projekte zum Thema Sequenzierung von SARS-CoV-2 aus dem Abwasser bearbeitet.

- BMBF-Projekt in Zusammenarbeit mit der Emschergenossenschaft. Hier liegt der Fokus auf der Durchführung und Optimierung verschiedener Sequenziermethoden (NGS, nanopore, Sanger). In diesem Vortrag werden hauptsächlich NGS Daten vorgestellt.
- EU-Projekt: Es werden Sequenzierungen an verschiedenen Standorten in Europa durchgeführt.
- Hessen-Projekt: Sequenzierungen werden großflächig in Hessen durchgeführt.

BMBF-Vorhaben SARS-GenA-Seq

Die Probenahme erfolgt im Emscher-Einzugsgebiet (NRW). Die Fragestellungen beinhalten die Bestimmung des idealen Probevolumens, der besten Sequenziermethode und die bioinformatische Auswertung.

Bei einigen Proben liefert die Aufreinigung aus 50 ml Abwasser schon ein gutes Ergebnis. Damit eine zuverlässig gute Abdeckung des Genoms und gute Sequenzierergebnisse erreicht werden können, ist jedoch die Aufreinigung aus 200 ml notwendig.

Der Einfluss einer Verdünnung der Probe wurde untersucht. Die Probe wurde in mehreren Schritten bis auf 5 % verdünnt. Es konnte gezeigt werden, dass der Verdünnungseffekt nicht sehr kritisch ist und selbst bei hohen Verdünnungen gute Sequenzierungsergebnisse erzielt werden konnten. Regenerereignisse, die eine 2-3-fache Verdünnung verursachen, sind daher für die Ergebnisqualität der Sequenzierungen nicht kritisch.

Als Beispiel werden Sequenzier-Daten (April 2021 – Dezember 2021) aus dem Abwasser des Klärwerks Dinslaken vorgestellt. In den Anfangsmonaten dominiert die Alpha-Variante, anschließend zeigt sich eine Verbreitung der Delta-Variante. Im Dezember konnte die Omikron-Variante nachgewiesen werden. Der Vergleich mit Sequenzierungen aus klinischen Proben zeigt, dass sich diese Ergebnisse auch mit Abwasserdaten gut abbilden lassen (z.B. die Diversifizierung der Viren im Sommer/Herbst 2021). Als weiteres Beispiel werden Daten aus der Kläranlage Emschermündung präsentiert, die ein ähnliches Bild zeigen. Ab Herbst konnte auch zwischen der ursprünglichen Delta-Variante und der Subvariante AY.4.2 unterschieden werden.

Variantenmonitoring in Hessen

Es werden 18 Standorte beprobt. Die Laufzeit des Projektes ist von September 2021 bis April 2022 vorgesehen. Es soll eine Zusammenarbeit mit dem Hessischen Landesprüfungs- und Untersuchungsamt im Gesundheitswesen etabliert werden.

Die Daten der Standorte zeigen im Dezember 2021/ Januar 2022 einen deutlichen Shift von Delta nach Omikron. Mittlerweile beträgt der Anteil der Omikron-Variante in manchen Kläranlagen bis zu 100 %.

EU-Projekt – Sequenzierung von SuperSites

Die Sequenzierungsergebnisse von SuperSites (z.B. Flughafen im Einzugsgebiet) werden mit Ergebnissen aus Wohngebieten verglichen.

Da Omikron viele Mutationen aufweist, die sich auch in anderen Varianten finden, ist die Zuordnung der Sequenzierungsergebnisse zu Omikron schwierig. Aus diesem Grund werden wieder vermehrt Mutationsprofile betrachtet. Die Mutationsprofile zeigen, dass bestimmte Mutationen nur an Verkehrsknotenpunkten zu finden sind, nicht dagegen in Wohngebieten. Dies zeigt sich auch an Daten aus Portugal. Dort finden sich zudem andere Mutationen als in Deutschland. Aus Mutationsprofilen können teilweise mehr bzw. detailliertere Informationen gezogen werden als aus der vereinfachten Meldung der Varianten. Wie die Mutationsprofile interpretiert werden können und ob Aussagen zu sich möglicherweise ankündigenden Varianten getroffen werden können, wird derzeit erforscht.

1.5 Virusequenzierung aus Abwasserproben: von einer Analysepipeline für SARS-CoV-2 zur Identifizierung neuartiger Viren / Dr. Emanuel Wyler, Max-Delbrück-Zentrum für Molekulare Medizin Berlin

Das Projekt findet in Zusammenarbeit mit den Berliner Wasserbetrieben, Amedes, twincore und dem DKFZ Heidelberg statt.

Teil 1: Analysepipeline für einen visuellen Report zu SARS-CoV-2-Varianten

Die Probenahme findet alle 1-2 Wochen statt. Es werden 2 h-Mischproben gewonnen, die dem Morgenpeak entsprechen sollen. Die Ergebnisse zur Analyse-Pipeline sind publiziert (<https://www.medrxiv.org/content/10.1101/2021.11.30.21266952v1>). Es wird das ARTIC-seq Protokoll verwendet. Als Input werden SARS-CoV-2 Hochdurchsatzsequenzier-Daten aus dem Abwasser eingegeben. Als Output erhält man einen HTML-Report. Der Report beinhaltet verschiedene Informationen. Beispielsweise lässt sich erkennen wie sich der Anteil der Varianten/ Mutationen über die Zeit verändert. Geodaten lassen sich ebenfalls visuell anzeigen. Die Analyse beinhaltet eine Qualitätskontrolle und Statistiken. Das System ist erweiterbar und anpassbar für beliebige Pathogene und Inputformate.

Teil 2: Total-RNA Sequenzierung für Metagenomik

Es wird untersucht welche Informationen noch aus dem Abwasser gezogen werden können. Es wird eine Hochdurchsatzsequenzierung mit der RNA, die aus dem Abwasser isoliert wurde, durchgeführt, d.h. alle RNA, die enthalten ist, wird sequenziert. Es sollen bekannte und unbekannte Viren identifiziert werden. Trotz einer Abreicherung von Bakterien (Filtration), sind 70 % der gefundenen Sequenzen aus Bakterien. Bei den Virussequenzen sind 70 % der Sequenzen von einigen Pflanzenviren.

Die Ergebnisse werden in einem Farbschema nach Häufigkeit dargestellt. Tomato brown rugose fruit virus, Cucumber green mottle mosaic virus und Pepper mild mottle virus sind sehr abundant. Allgemein finden sich eine Vielzahl an Pflanzen- und Insektenviren. Der Anteil an humanpathogenen Viren ist verhältnismäßig gering, aber nachweisbar.

Durch einen Vergleich der eigenen Ergebnisse mit dem phylogenetischen Baum des Aichivirus A lässt sich die weltweite Zirkulation der Viren erkennen. Das Virus hat ein verhältnismäßig kurzes Genom, aus diesem Grund ist eine größere Variabilität im Vergleich zu SARS-CoV-2 zu sehen. Aus den Sequenzierergebnissen lassen sich auch Virusvarianten über die Zeit betrachten und welche Varianten zu- oder abnehmen. Es können auch neue Viren nachgewiesen werden.

Teil 3: Technische Fragen/Ausblick

Fragen, die im Laufe des Projektes aufgetaucht sind und adressiert werden sollten.

- Stabilität der Proben (gibt es Stabilisierungsagenzien?)
- Welche Methode zur RNA-Aufreinigung ist am besten? Gibt es Neuerungen?
- Welche Sequenzieranalysetools sind am besten?
- Sind Virus enrichment beads interessant?

Über SARS-CoV-2 hinaus:

- Welches sind interessante/ relevante Pathogene fürs Abwassermonitoring?
- Es sollten auch Parasiten, Würmer etc. betrachtet werden
- Könnte die Analyse von Pflanzenviren für die Landwirtschaft interessant sein?

1.5 SARS-CoV-2-Absassermonitoring in Thüringen (CoMoTh) / Prof. Silvio Beier, Bauhaus-Universität Weimar

Das Projekt soll aufzeigen welche Möglichkeiten das Abwassermonitoring bietet und wie das Abwassermonitoring individuell auf Thüringen zugeschnitten werden kann.

Projektstruktur

Verbundpartner im Projekt sind die Analytik Jena GmbH als Industriepartner und die Bauhaus-Universität Weimar als Forschungskordinator. Zudem wird mit einigen assoziierten Projektpartnern in Thüringen zusammengearbeitet. Das Projekt wird vom Freistaat Thüringen gefördert und läuft von August 2021 bis September 2022. Als Unterauftragnehmer des Projektes konnten die Hochschule Hamm-Lippstadt und die TU Hamburg gewonnen werden. Der Wissenschaftliche Beirat des Projektes setzt sich aus Prof. Pletz (Uniklinikum Jena), Prof. Pinnekamp (RWTH Aachen) und Prof. Kreuzinger (TU Wien) zusammen. Vier lokale Gesundheitsämter sind mit einbezogen, außerdem das Landesverwaltungs- und Landesumweltamt.

Bisherige Arbeiten und erste Ergebnisse

Bisher wurden 21 Kläranlagenstandorte ausgewählt, die beprobt werden und die eine große Bandbreite abdecken. Das Personal an den Kläranlagen, die die Probenahme durchführen und in die Analytik an den Kläranlagen involviert sind, wurde geschult, um eine einheitliche Probenahme zu gewährleisten, Standards zu etablieren und vergleichbare Ergebnisse zu produzieren. Außerdem wurden umfangreiche Stammdaten der Kläranlagen erfasst.

Es wurde ein Fragebogen erarbeitet, durch den die Gesundheitsämter Feedback zu der geplanten Erhebung der Daten geben können und es findet ein Austausch mit den Gesundheitsämtern zur Abstimmung des Datenaustausches statt. Der analytische Workflow wurde in Zusammenarbeit mit Analytik Jena verfeinert.

Das Projekt wurde in spezifische Arbeitspakete unterteilt (Konzepterstellung; Erforschung der Machbarkeit/ Pilotphase; Datenmanagement, -aufbereitung und -verwertung; Bewertung der Machbarkeit und Ableitung von Handlungsempfehlungen).

Es werden erste Ergebnisse vorgestellt. In Thüringen ist bei den Fallzahlen der letzten 7-Tage eine abfallende Tendenz zu erkennen. Diese Tendenz ist auch bei den Abwasserergebnissen zu erkennen.

Ausblick

Die Beprobung der Kläranlagen wird ausgeweitet (von 1 Probe/ Woche auf 2 Proben/ Woche). Es ist eine digitale Einspeisung und Verarbeitung der Daten vorgesehen. In die Datenauswertung fließen auch Rahmendaten zur Region ein.

1.6 SARS-CoV-2-Abwasser-Monitoring Tirol, Dr. Stefan Wildt, Amt der Tiroler Landesregierung, Prof. Herbert Oberacher, Medizinische Universität Innsbruck

Der Vortrag ist eine Gemeinschaftsarbeit von Herrn Wildt und Herrn Oberacher. Herr Oberacher hält die Präsentation.

Projekthintergrund und Ablauf

Das Projekt eines flächendeckenden Abwassermonitorings in Tirol wurde als Reaktion auf die nationale und internationale Kritik am Pandemiemanagement in Tirol zu Beginn der Pandemie

angestoßen. Mit der Entwicklung wurde im Sommer 2020 gestartet. Im November 2020 konnte in den Regelbetrieb übergegangen werden. Es werden 43 Kläranlagen beprobt. Das entspricht einer Abdeckung von 98 % der einheimischen Bevölkerung sowie einem großen Anteil der Touristen. Die Kläranlagen werden zwischen 2-7-mal pro Woche beprobt. Innsbruck als größte Kommune in Tirol wird beispielsweise täglich beprobt, Kläranlagen in peripheren Gebieten noch mindestens zweimal pro Woche. Es werden 24 h-Mischproben aus dem Zulauf gewonnen und anschließend innerhalb weniger Stunden von einem externen Vertriebspartner gekühlt ins Labor nach Innsbruck transportiert. Dort erfolgt die quantitative Auswertung. Anfangs wurden die Proben mittels PEG-Fällung aufkonzentriert. Mittlerweile wird aus verschiedenen Gründen (höhere Extraktionsausbeute bei niedrigem Einsatzvolumen, Ermöglichung eines höheren Probendurchsatzes) das Maxwell® RSC Total Enviro Total Nucleic Acid Kit von Promega verwendet. Die Konzentration der viralen RNA wird mittels RT-qPCR bestimmt. Die Zielgene sind N1 und N2. Als Qualitätskontrollen wird das PMMoV gemessen und als Kalibrierstandard wird NIST-Material verwendet.

Erfahrungen mit Omikron

Mit Beginn der Omikron-Welle zeigte sich, dass die Ergebnisse der N1-Bestimmung von den klinischen Fallzahlen entkoppelt zu sein scheinen. Die Daten von N2 korrelieren dagegen gut mit den Fallzahlen.

Bereitstellung und Aufbereitung der Ergebnisse

Die Bereitstellung und Aufbereitung der Informationen aus dem Abwasser erfolgt über die zentrale Datenbank des Landes. Die aufbereiteten Daten werden mit den klinischen Testresultaten verschnitten, sodass Ergebnisse aus verschiedenen Informationsquellen verglichen, Trends vorhergesagt und der Effekt von Maßnahmen beurteilt werden können. Die Darstellung im Dashboard oder in einem Report lassen sich vielfältig zusammenstellen. Ein nützliches Add-On ist die Trendanalyse nach Huisman et al. (<https://www.medrxiv.org/content/10.1101/2021.04.29.21255961v1>), womit sich die Entwicklung abschätzen lässt.

Nationales Abwassermonitoringprogramm

Aufbauend auf die Konzepte und Erfahrungen, die in Tirol gemacht wurden, dürfen die Projektmitglieder als Referenzzentrale mit ihren Partnern das nationale Abwassermonitoringprogramm in Österreich umsetzen. 24 ausgewählte Kläranlagen sollen zweimal pro Woche beprobt werden. Damit werden 52 % der Bevölkerung abgedeckt. Die Proben sollen einer quantitativen Analyse, einem Variantenscreening sowie einer Vollgenomsequenzierung unterzogen werden.

1.7 SARS-CoV-2-Abwasser-Monitoring in Österreich , Prof. Rudolf Markt, Prof. Wolfgang Rauch, Universität Innsbruck und Prof. Norbert Kreuzinger TU Wien

Herr Kreuzinger hält die Präsentation.

Überblick

In Österreich laufen aktuell zwei großangelegte Monitoringprogramme, das „Bundesmonitoring“ sowie das Monitoring an „Schulstandorten“.

Das Bundesmonitoring wird vom Gesundheitsministerium finanziert, ist nach den Vorgaben der EU angelegt und soll von Januar 2022 bis Dezember 2026 laufen. Das Schulstandorte-Programm ist vom Bundesministerium für Bildung, Wissenschaft und Forschung initiiert. Es werden über 115 Kläranlagen beprobt, in deren Einzugsgebiet sich viele Schulen befinden, und die Laufzeit ist von September 2021 bis Juni 2022 vorgesehen. Es gibt eine gemeinsame zentrale Datenbank für beide Monitoringprogramme (<https://corona.hydro-it.com/>) .

Datenbank, Dashboard und Auswertung

Die Datenbank wird beispielhaft mit Daten aus dem Schulstandortmonitoring vorgestellt. Zweimal pro Woche werden die Kläranlagen beprobt und per qPCR analysiert. Die üblichen Metadaten werden erhoben und in die Datenbank eingespeist. Einmal wöchentlich findet ein Variantenscreening und eine Ganzgenomsequenzierung statt. Über die Datenbank gibt es eine gemeinsame Validierung, Auswertung und Visualisierung. Die Zugriffsrechte können je nach Berechtigungsebene eingeräumt werden. Die Daten können automatisiert oder z.B. per Drag-and-Drop von Excel eingespeist werden.

Das Dashboard wird vorgestellt. Für die Standorte findet eine Risikoeinstufung statt, die über einen Farbverlauf von grün nach rot dargestellt wird. Es werden Daten der qPCR, der ddPCR (Variantenscreening) sowie der Gesamtgenomsequenzierung abgebildet. Bei der Visualisierung des Variantenscreenings können spezifische Mutationen und deren Änderung über die Zeit betrachtet werden. Der prozentuale Anteil der unterschiedlichen Varianten wird in der Visualisierung der Ganzgenomsequenzierung dargestellt. Zusätzlich zum Dashboard gibt es auch eine Auswertepipeline, die eine vielfältige Analyse der Daten ermöglicht. Die Daten aus der qPCR können beispielsweise auf die Metadaten normiert werden, es können verschiedene Glättungsalgorithmen angewendet werden und der Trendindikator (R_e) kann angezeigt werden. Außerdem können die Daten verschiedener Kläranlagen miteinander verglichen werden

Ganzgenomsequenzierung

Seit ca. 1 Jahr gibt es ein Programm, bei dem Proben von ca.115 Kläranlagen wöchentlich einer Ganzgenomsequenzierung unterzogen werden.

Omikron konnte dort nachgewiesen werden bevor die Variante in den klinischen Daten auftauchte. Omikron breitet sich geographisch aus, aber der Anteil in den einzelnen Kläranlagen steigt nicht an. Es gibt einen wöchentlichen Bericht von der „Gruppe Bergthaler“ (CeMM / MedUni Wien), in dem die wesentlichen Ergebnisse zusammengefasst werden. Seit 3 bis 4 Wochen kann die Omikron BA.2-Variante im Abwasser detektiert werden.

Untersuchungen am Beispiel Wien

Seit April 2020 findet in Wien eine Zusammenarbeit mit verschiedenen Dienststellen statt, die sukzessive ausgebaut wird. In diesem Projekt werden nicht nur Proben aus dem Zulauf der Kläranlagen, sondern auch aus den Hauptsammelkanälen gewonnen. Die gewonnenen Daten zeigen die Virenfracht in den verschiedenen Teileinzugsgebieten sowie der Anteil der einzelnen Varianten an der Gesamt-Virenfracht. Wenn die Daten eines Teileinzugsgebietes auffällig sind, können diese Gebiete mit Hilfe von mit mobilen Probenehmern beprobt und das Abwasser für eine differenzierte Betrachtung analysiert werden. Langzeitdaten zeigen die Verdrängung der Alpha-Variante durch die Delta-Variante, die nun wiederum von der Omikron-Variante verdrängt wurde. Teilweise sind Zwischenpeaks in den Messungen zu sehen. Diese sind beispielsweise durch auswärtige Partygäste oder das Urlaubsverhalten der Einwohner zu erklären.

1.8 Surveillance of COVID-19 and Variants-of-Concern via wastewater in the Netherlands.

Prof. Gertjan Medema, KWR; Dr. Jeroen Langeveld, TU Delft; Dr. Ewout Fanoy, Municipal Health Service; Dr. Miranda de Graaf and Prof. Marion Koopmans, Erasmus Medical Centre

Herr Medema hält die Präsentation.

Es werden Daten aus dem Abwassermonitoring von Rotterdam vorgestellt. Die Ergebnisse des Abwassermonitorings werden mit anderen Daten wie der Hospitalisierungsrate, den klinischen Fällen und der Sterberate verglichen. Die einzelnen Stadtteile unterscheiden sich im prozentualen Anteil von Abwasser aus privaten Haushalten am Gesamtabwasser. Diese Werte können auch in einem Stadtteil über die Zeit schwanken, beispielsweise aufgrund von Regenereignissen, Tourismus und Urlaubszeiten und sollten bei der Analyse der Abwasserdaten mitbetrachtet werden.

Normalisierung

Bei Trockenwetter ist eine Normalisierung der Daten nicht notwendig. Bei Regenereignissen weichen die Daten um einen Faktor von 3 bis 4 ab, wenn sie nicht auf den Durchfluss normalisiert werden. Für den Langzeittrend stellt der Unterschied zwischen normalisierten und nicht normalisierten Daten kein Problem dar. Wenn jedoch kürzere Zeitspannen betrachtet werden (1-2 Wochen), können nicht normalisierte Daten zu irreführenden Ergebnissen führen, die Trends anzeigen, die in den normalisierten Daten nicht zu erkennen sind.

Eine andere Möglichkeit zur Normalisierung ist die Bestimmung der crAssphage-Last, die im Abwasser über die Zeit recht konstant ist. Die Variabilität über die Zeit ist allerdings etwas höher als bezogen auf den Durchfluss, daher wird die Normalisierung mit den Durchflussdaten bevorzugt. Die Normalisierung mit crAssphage über die Zeit stellt jedoch eine gute Alternative dar, falls Durchflussdaten nicht vorhanden sind.

Die Abwasserdaten aus Rotterdam sind ein objektiver Indikator für die Zirkulation des Virus. Wenn die Daten aus dem Abwasser der einzelnen Stadtteile auf eine höhere Viruslast hindeuten als die Daten aus den klinischen Testungen, wurden diese Informationen genutzt, um die Teststrategie in diesen Stadtteilen zu erhöhen und Informationskampagnen zu starten.

Vorlauf der Daten

Zu Beginn der Pandemie betrug der Vorlauf der Abwasserbefunde im Vergleich zu den Inzidenzen ca. 6 Tage. Dieser Vorlauf hat sich im Laufe der Pandemie auf 1,5 Tage verkürzt. Wenn die normalisierten Abwasserdaten (Durchfluss) mit den normalisierten Fallzahlen (normalisiert auf das Testverhalten und den Meldeverzug) verglichen werden, zeigt sich eine gute Korrelation. Teilweise können jedoch Abweichungen beobachtet werden, wenn sich die Teststrategie beispielsweise aufgrund von politischen Entscheidungen (Öffnungsstrategien) oder einer Überlastung der Testkapazitäten ändert. Außerdem ist in der laufenden Omikron-Welle eine Verzögerung in den Abwasserdaten zu erkennen, die wahrscheinlich durch eine reduzierte Ausscheidungsrate bei einer Omikron-Infektion im Vergleich zu Infektionen mit anderen SARS-CoV-2 Varianten verursacht wird. Daher müssen die Daten aus dem Abwassermonitoring im Modell um einen Faktor von 2 bis 3 korrigiert werden.

2. Pilotbetrieb zum Abwassermonitoring in Deutschland, Susanne Scholz, BMUV Bonn (Vertretung: Frau Perea)

Da Frau Scholz leider nicht teilnehmen kann, stellt Frau Perea, BMG, die Präsentation zum Pilotvorhaben des Bundes vor.

Das Pilotvorhaben wird ab Februar 2022 stufenweise gestartet. Für die Auswahl der Standorte wurde ein Kriterienkatalog entwickelt (z.B. Größenklasse der Kläranlage, ländlicher oder städtischer Raum) und ein gemeinsames Treffen der Steuerungsgruppe mit den Ländern auf der Abwasser- und Gesundheitsseite durchgeführt. Besonders das Interesse von der Gesundheitsseite ist gestiegen. Mit Ablauf der Bewerbungsfrist am 12.12.21 waren 119 Bewerbungen eingegangen.

Es wurde eine priorisierte Liste erstellt, die nach der Rückmeldung der Länder finalisiert wurde. Jedes Bundesland ist mit mindestens einem Standort vertreten.

Die Standorte sind: Potsdam, Berlin, Stuttgart, Tübingen, Altötting, Hof, Bremen, Büdingen, Hamburg, Rostock, Bramsche, Bonn, Köln, Dinslaken, Neustadt a.d. Weinstraße, Grömitz, Saarbrücken, Dresden, Rollsdorf und Jena. Außerdem fördert das Land NRW 4 weitere Standorte, die nach den gleichen Bedingungen starten sollen. Das BMBF hat angekündigt, aus den BMBF- geförderten Projekten, weitere Standorte auszuwählen, bei denen eine Zusammenarbeit mit der Gesundheitsseite gewährleistet ist. Insgesamt werden somit ca. 40 Standorte gefördert, die nach ähnlichen Bedingungen bearbeitet werden.

Im Begleitkreis des Projektes sind das Karlsruher Institut für Technologie (KIT, Projektsteuerung), das Robert-Koch-Institut (RKI), das Umweltbundesamt (UBA) und die 4 Leiter der BMBF-Projekte (Frau Prof. Lackner, Herr Prof. Drewes, Herr Dr. Weber und Frau Thaler) vertreten. Bisher hat der Begleitkreis Handreichungen für die Standorte, zur Probennahme, zu den zusätzlich zu bestimmenden Begleitparametern und zur Analytik erarbeitet. In diese Handreichungen ist die Vorarbeit und Erfahrung aus den CoroMoni-Arbeitsgruppen und den anderen BMBF-Projekten eingeflossen. Die Handreichungen werden den Pilotstandorten und Interessenten zur Verfügung gestellt und finden sich auch auf der CoroMoni-Online-Plattform.

Das Kick-Off Meeting für das Projekt findet am 09.02.2022 statt und ist in einen öffentlichen (Vormittag) und einen nicht öffentlichen (Nachmittag, nur für die Pilotstandorte) Teil gegliedert. Es wurde ein Help-Desk eingerichtet. Dort werden alle eingehenden Fragen gebündelt und dann je nach Anliegen im Begleitkreis besprochen oder an Experten aus den BMBF-Projekten weitergeleitet.

Zur Einbeziehung der anderen BMBF-geförderten Standorte oder der Länderstandorte sind verschiedene Veranstaltungen durch das KIT mit Unterstützung durch CoroMoni geplant. Über die regelmäßig stattfindenden CoroMoni-Treffen können aktuelle Informationen aus dem Pilotvorhaben an die CoroMoni-Forschungsakteure vermittelt werden.

3. Ergebnis der Diskussion und Fazit der Veranstaltung

Frau Perea verdeutlicht, dass die Gesundheitsseite an den Daten aus dem Abwassermonitoring interessiert ist und es erfreulich wäre, wenn die Daten besser genutzt würden. Allerdings ist Deutschland ein großes Land mit vielfältigen Abwassersystemen und die Zusammenarbeit zwischen der Umwelt- und Gesundheitsseite muss ausgebaut und koordiniert werden. Die verschiedenen Aufgaben, die das Abwassermonitoring in unterschiedlichen Phasen der Pandemie leisten kann, müssen verdeutlicht werden um die Entscheidungsträger nachhaltig zu überzeugen. Zudem müssen rechtliche Fragen wie die Übernahme der Kosten und Zuständigkeiten geklärt werden. Eine Ausweitung des Abwassermonitorings auf andere Pathogene ist von der Gesundheitsseite erwünscht, allerdings können solche Entscheidungen erst nach Ablauf der Pilotstudie getroffen werden. Die Bundesebene ist in ständigem Austausch mit anderen EU-Ländern zum Thema Abwassermonitoring. Die EU-Kommission hat dabei die Steuerung übernommen und veranstaltet ein monatlich stattfindendes Treffen aller Mitgliedsländer und assoziierten Ländern, die sich am Abwassermonitoring beteiligen.

In Österreich und den Niederlanden ist das nationale Abwassermonitoringprogramm in unterschiedlichem Ausmaß bis Ende 2026 bzw. 2025 geplant.

Die Vorstellung der Forschungsarbeiten verdeutlicht, dass das Abwassermonitoring einen wichtigen Beitrag zur Einschätzung der Pandemielage geben kann. Die Ergebnisse liefern eine zuverlässige Trendanalyse des Pandemieverlaufs. Messungen in einzelnen Stadtteilen wie sie beispielsweise in Wien, Rotterdam, dem Berchtesgadener Land und Hildesheim durchgeführt werden, können den örtlichen Krisenstab unterstützen und verdeutlichen, wo Testkapazitäten erhöht werden und Aufklärungskampagnen gestartet werden sollten. Da die sich Parameter wie z.B. Testkapazität, Impfstatus und Varianten im Verlauf der Pandemie verändern, müssen Modelle angepasst und Ergebnisse regelmäßig überprüft werden.

In der laufenden Omikron-Welle zeigten sich beispielsweise Probleme mit der häufig verwendeten N1-Primer/ Sonden-Kombination. Die Probleme scheinen sich auf qPCR-Analysen zu beschränken und sind bei Messungen via ddPCR bisher nicht zu beobachten. Diese Beobachtungen verdeutlichen, dass die entwickelten und genutzten Methoden regelmäßig überprüft und evaluiert werden sollten, insbesondere bei der Verbreitung von neuen SARS-CoV-2 Varianten.

Des Weiteren ist die Vorlaufzeit der Abwasserdaten im Vergleich zu den klinischen Fallzahlen teilweise rückläufig, weshalb ein effizientes Frühwarnsystem durch das Abwassermonitoring nicht immer gewährleistet ist. Zum einen wird das durch schnellere Test- und Meldeverfahren in einigen Ländern bedingt, zum anderen ist zu beobachten, dass sich die Virus-Ausscheiderate bei einer Omikron-Infektion verringert hat. Eine Infektion mit Omikron manifestiert sich hauptsächlich in den oberen Atemwegen, wohingegen andere SARS-CoV-2 Virusvarianten vermehrt in der Lunge und dem Magen-Darm-Trakt replizieren.

In der Diskussion wird verdeutlicht, dass keine frühzeitigen Rückschlüsse gezogen werden sollten. Bevor eine Richtungsänderung in den Analysen oder eine abschließende Bewertung des Abwassermonitorings als Frühwarnsystem abgegeben werden kann, sollte die Eignung als Frühwarnsystem bei niedrigen Inzidenzen beobachtet und beurteilt werden. Einige Forschungsakteure weisen darauf hin, dass ihre Ergebnisse nicht in direktem Bezug zu den klinischen Fallzahlen dargestellt werden sollten, da dies bei Laien zu Fehlinterpretationen führen kann.

Die Kommunikation der Ergebnisse und Möglichkeiten des Abwassermonitorings spielt eine entscheidende Rolle, um ein nachhaltiges Verständnis für den Nutzen des Abwassermonitorings in der Bevölkerung und bei Entscheidungsträgern zu gewährleisten. Eine präzise Formulierung ist entscheidend um Missverständnisse vorzubeugen. Manchmal kann es sinnvoller sein, Ergebnisse vereinfacht oder nicht öffentlich zu publizieren, wenn sie widersprüchlich sind und von Laien fehlinterpretiert werden könnten.

Generell sollte das Abwassermonitoring auf eine breite Basis gestellt und möglichst auf weitere Pathogene ausgeweitet werden. Wenn das System einmal aufgebaut ist, ist es möglich, kurzfristig auf sich ändernde Bedingungen einzugehen.

Die Ergebnisse der Forschungsarbeiten zeigen zudem, dass die klinischen Fallzahlen Schwankungen unterliegen, die z.B. durch eine veränderte Teststrategie, eine Überlastung der Testkapazitäten, Tourismus oder Feiertage verursacht werden. Insbesondere unter solchen Bedingungen kann das Abwassermonitoring stabile Analysen liefern und die Beurteilung der tatsächlichen Pandemielage unterstützen.

5.2 Aufzeichnung der 5. Video-Konferenz

Die Aufzeichnung der Videokonferenz befindet sich auf der Onlineplattform/DWAdirekt/Ausschüsse Online/übergreifende Gremien/sonstige Ausschüsse/CoroMoni/Videokonferenzen/

<https://edp.dwa.de/edpdwa/dkt/object?id=277784>

6. *CoroMoni* – Video-Konferenz 6 / 05.04.2022

6.1 Bericht

Die sechste Video-Konferenz zum BMBF-Projekt „Aufbau einer Kommunikationsplattform zum Thema Abwassermonitoring zur Bestimmung des SARS-CoV-2-Infektionsgrades der Bevölkerung und Aufbau eines flächendeckenden Frühwarnsystems – Koordination der Forschungsaktivitäten in Deutschland durch die DWA -“ fand am 04.05.2022 online statt. Insgesamt nahmen 71 Personen teil, darunter auch Vertreter aus Österreich und der Schweiz.

Dr. Friedrich Hetzel, Leiter der DWA-Abteilung Wasserwirtschaft, moderierte die Veranstaltung. Johannes Lohaus, Bundesgeschäftsführer der DWA, begrüßte die Teilnehmer offiziell. Er betonte, dass das Abwassermonitoring von SARS-CoV-2 in der jetzigen Situation wichtiger ist denn je. Durch die Aufhebung der Maskenpflicht bei gleichzeitig reduzierter Testaktivität und gelockerten Quarantänemaßnahmen ist davon auszugehen, dass das Infektionsgeschehen in der Bevölkerung nicht mehr allein über die gemeldeten Fallzahlen einschätzbar ist. Das Medienecho zum Thema Abwassermonitoring ist nach wie vor hoch. Die DWA hat nicht nur selbst berichtet, sondern viele Fachleute als Ansprechpartner an die Medien vermittelt. Neben der Presse schloss dies Funk- und Fernsehen sowie Social Media mit ein. Im Rahmen der IFAT richtet die DWA gemeinsam mit dem europäischen Dachverband EWA am 31.05.2022 um 14:30 Uhr einen Workshop zum Thema Abwassermonitoring von SARS-CoV-2 aus. Herr Lohaus würde sich freuen, wenn zahlreiche *CoroMoni*-Forschungsakteure an der Veranstaltung teilnehmen würden. Am Vorabend der IFAT soll auf der Eröffnungsveranstaltung die Dunbar-Medaille der EWA an Prof. Dr. Drewes überreicht werden. Die Auszeichnung bezieht sich auch auf seine Arbeiten zur abwasserbasierten Epidemiologie. Die Auszeichnung stellt somit auch eine Wertschätzung der Anstrengungen zum Abwassermonitoring in Deutschland dar.

Folgende, seit der letzten Video-Konferenz am 03.08.2021 neu hinzugekommenen Forschungsprojekte bzw. neue Forschungsaktivitäten wurden präsentiert:

Präsentation und Diskussion der Forschungsarbeiten aus neuen und laufenden Projektaktivitäten

24. Abwasser als Informationsquelle – Regressionsmodelle zur Einschätzung der Inzidenz

Konsortium:

- Institut für Klinische Pharmakologie der TU Dresden: Dr. Reinhard Oertel
- Institut für Medizinische Mikrobiologie und Virologie der TU Dresden: Dr. Roger Dumke

- Institut für Siedlungswasserwirtschaft der TU Dresden: Björn Helm, Robin-Pascal Mayer und Prof. Dr. Peter Krebs
- UFZ Leipzig: Dr. Renè Kallies

Vortragender: Björn Helm

Mit Hilfe der erhobenen Abwasserdaten sollen Regressionsmodelle entwickelt werden, um die Inzidenz einzuschätzen. An dem Projekt wirken 16 Abwasserbetriebe in Sachsen mit. Es wird vom DWA-Landesverband Sachsen/ Thüringen unterstützt. Die beteiligten Kläranlagen im Dresdener Raum decken eine Bandbreite von 3.000 bis 700.000 EW ab. Das angeschlossene Kanalnetz repräsentiert unterschiedliche Verhältnisse von Misch- und Trennsystem. Es werden jeweils 24 h-Mischproben entnommen, bei den größeren Anlagen als volumenproportionale und bei den kleineren als zeitproportionale Proben. Einige Einzugsgebiete sind eher ländlich, andere eher städtisch geprägt. Es gibt auch Einzugsgebiete, die mehrere Landkreise abdecken und damit auch Verantwortungsbereiche mehrerer Gesundheitsämter betreffen.

Im Zeitraum der Untersuchungen standen zwei größere epidemische Wellen im Mittelpunkt: Die von der Alpha-Variante im Frühsommer und die von der Delta-Variante im Spätherbst 2021 geprägten Wellen. Im Vergleich zu dem Inzidenzverlauf im ganzen Land Sachsen gab es an den einzelnen Standorten zum Teil große Abweichungen, insbesondere in den größeren Orten.

Der SARS-CoV-2-Nachweis erfolgte mit RT-qPCR, wobei zwei Genabschnitte, das S- und das E-Gen, verwendet wurden. Mit dem E-Gen wurde allerdings eine höhere Nachweis-Zuverlässigkeit erzielt. Die Nachweisgrenze lag bei 1.300 RNA-Kopien pro Liter. Vergleicht man die beiden Infektionswellen, so fällt auf, dass die relativen Unterschiede zwischen Genkonzentration und Inzidenz sehr ausgeprägt sind. Der Vergleich von Genkonzentration und Inzidenz lässt daher keine Ableitung pauschaler Annahmen zu.

Eine zentrale Frage ist die Frequenz der Beprobung. Im Projekt wurde bei den großen Kläranlagen täglich eine Probe entnommen. Misst man nur einmal pro Woche, zeigt sich eine große Spannweite von 182% zwischen minimalen und maximalen Messwerten, was die Interpretation erschwert. Durch vier Proben pro Woche reduziert sich die Spannweite auf 73%. Für kleinere Standorte liegt die Bandbreite der Messwerte höher als für größere Standorte.

Als einfachstes, lineares Regressionsmodell wurden die Inzidenzwerte in einer logarithmischen Transformation gegen die RNA-Konzentration aufgetragen. Der Vergleich der Regressionsgeraden mit dem globalen Modell ergibt eine große Spannweite (-65 bis +180%). Der Rückschluss auf die Inzidenz wird dadurch sehr unsicher. Durch Anpassung des Regressionsmodells an die lokalen Standorte werden die Vorhersageintervalle deutlich kleiner. Für große Standorte funktioniert das Modell zuverlässiger als für kleinere. Anstiege des Infektionsgeschehens lassen sich zum Teil

deutlich früher erkennen. Auch außerhalb der Infektionswelle wurden Anstiege der Inzidenz erkannt. Für Trennsysteme ist die Zuverlässigkeit höher als für Mischsysteme. Man sieht aber auch, dass die Modelle zu unterschiedliche Zeiten anders ausfallen können, was für eine häufigere Probenahme spricht.

In einem erweiterten Regressionsmodell wurden für Messwerte nahe der Nachweisgrenze zwei zusätzliche Parameter zur Nachweisgrenze in Form einer logarithmischen Regressionsfunktion eingeführt. Zudem wurden ein Parameter zum Einfluss des Zeitversatzes zwischen Abwasserwerten und Inzidenzen sowie ein Einflussfaktor für die Abflussmenge in das Modell integriert. Tendenziell verbessert sich hierdurch die Anpassungsgüte. Das hängt jedoch von lokal zu optimierenden Parametern und den epidemischen Wellen ab.

Fazit:

- Eine Abschätzung der Inzidenz aus Abwasserdaten ist möglich.
 - Eine bessere Anpassung lässt sich bei Verwendung von lokalen Daten erzielen.
 - Es gibt Unterschiede zwischen den epidemischen Wellen.
 - Die Modelle müssen immer mit den neuen Daten abgeglichen werden.
- Ein systematischer Vergleich der Regressionsmodelle in den epidemischen Wellen steht noch aus.
- Auch der Vergleich mit den epidemiologischen Modellen ist noch geplant.
- Wichtig ist die Abstimmung mit den Gesundheitsämtern, wie diese die Daten nutzen können und was sinnvoll ist.

25. Tracking COVID-19 im Abwasser

Konsortium:

- EPFL Lausanne: Prof. Dr. Tamar Kohn
- Eawag Zürich: Prof. Dr. Christoph Ort, Dr. Johannes Rusch und Dr. Tim Julian
- ETH Zürich: Prof. Dr. Nico Beerenwinkel und Tanja Stadler

Vortragender: Dr. Johannes Rusch

Das Abwassermonitoring in der Schweiz teilt sich auf ein Forschungsprojekt, kantonale Projekte und ein nationales Projekt auf.

Im Rahmen des Forschungsprojektes wurden in der ersten und zweiten Infektionswelle 14 Kläranlagen überwacht. Von Februar 2021 bis Dezember 2022 fand die Beprobung auf 6 Anlagen statt, mit denen etwas mehr als eine Million Menschen (ca. 14% der Schweizer Gesamtbevölkerung) erfasst wurden. Die Probenahme erfolgte täglich als 24h-Mischprobe. Neben der Bestimmung der Genkopien mittels dPCR richtet sich der Fokus auch auf VOC-Identifikation mit Hilfe von NGS. Ein weiterer Schwerpunkt betraf die Bestimmung der Reproduktionszahl R_e .

Bei den kantonalen Projekten handelt es sich um interne Projekte der Kantone Graubünden, Zürich, Basel sowie Appenzell und Schaffhausen.

Das nationale Monitoring umfasst die 100 größten Abwasserreinigungsanlagen der Schweiz. Dabei sind alle Kantone und auch die Tourismuszentren vertreten.

Insgesamt werden 70% der Schweizer Bevölkerung erfasst. Die Probenahme erfolgt drei bis fünfmal pro Woche. Die Daten sind noch nicht öffentlich verfügbar, doch in Kürze ist die Einrichtung eines Dashboards vorgesehen.

Die Daten aus dem Forschungsprojekt finden sich auf der Homepage der Eawag (www.eawag.ch/covid19_sewage). Für die Extraktion und Aufreinigung der viralen RNA kommt ein modifiziertes Protokoll des *Promega Wizard Enviro Total Nucleic Acid (TNA) Kit* zum Einsatz. Die RNA-Ausbeute liegt hiermit gegenüber dem Vorgängerprotokoll um das 2,5-Fache höher. Anschließend werden die Proben mittels dPCR analysiert.

In einem weiteren Teil des Forschungsprojektes geht es um den Vergleich der drei auf dem Markt angebotenen digital PCR-Plattformen BIO RAD, STILLA und QIAGEN. Aus Pilotstudien weiß man, dass der Einsatz der Geräte zu unterschiedlichen Ergebnissen führen kann.

Für die Darstellung der Ergebnisse gibt es insgesamt vier verschiedene Dashboards (Link s.o.):

1. Anzahl der Genkopien
2. Identifizierte Mutationen mittels dPCR
3. Identifizierte Mutationen mittels NGS
4. Reproduktionszahl

Zum Teil kommt es zu einer Überschätzung der Genkopien gegenüber den gemeldeten Fallzahlen. Seit dem Aufkommen der Omikron-Variante lässt sich jedoch eine Unterschätzung der Genkopien gegenüber den Fallzahlen beobachten. Dies kann durch die reduzierte Ausscheidung von Virusmaterial oder durch das geringere Alter der Infizierten begründet sein. Durch die Abnahme der Tests ist eine Entkopplung der gemessenen Genkopien von den gemeldeten Fallzahlen zu erwarten.

Auf dem Dashboard zu den VOC lässt sich gut nachvollziehen, wie die Delta- von der Omikron-Variante verdrängt worden ist.

Fazit:

- Es können nach wie vor verlässliche Trends zur Infektionslage im Abwasser ermittelt werden.
- Derzeit ist noch eine gute Korrelation zwischen Genkopien im Abwasser und gemeldeten Fallzahlen zu beobachten.
- Durch den Methodenwechsel kam es zu keiner maßgeblichen Beeinflussung der Berechnung des Reproduktionskoeffizienten.

- Bei den VOC ist eine gute Überlappung der Daten aus den dPCR, NGS und humanen Testungen zu erkennen.

26. Dezentrales SARS-CoV-2 Monitoring im Abwasser: Entwicklung einer validierten Analyseverfahren für Abwasser - technische Labore auf Kläranlagen (COVIDready)

Konsortium:

- Forschungsinstitut für Wasserwirtschaft und Klimazukunft an der RWTH Aachen e. V.
 - Dr. sc. Frank-Andreas Weber (Verbundkoordination)
 - Dipl.-Ing. Daniel Bastian
- RWTH Aachen University, Institut für Siedlungswasserwirtschaft
 - Prof. Dr. Thomas Wintgens (Wissenschaftliche Leitung)
 - Regina Dolny, M. Sc. • apl. Prof. Dr. Volker Linnemann
- Johann Wolfgang-Goethe-Universität Frankfurt, Universitätsklinikum Frankfurt, Institut für Medizinische Virologie
 - Dr. Marek Widera
 - Alexander Wilhelm, M. Sc.
 - Prof. Dr. Sandra Ciesek
- Lippeverband
 - Prof. Dr. Burkhard Teichgräber
 - Dipl.-Ing. Peter Jagemann
 - Dr. Jens Schoth

Vortragender: Dr. sc. Frank-Andreas Weber

Ziel des Projektes ist es, einen Workflow zu etablieren, der dezentral auf abwassertechnischen Anlagen betrieben werden kann. Dazu kommen kommerzielle, auf dem Markt verfügbare Testkits zum Einsatz. Die Testkits werden hinsichtlich Sensitivität, Selektivität, Handhabbarkeit, Arbeitssicherheit, Schulungsbedarf, Verfügbarkeit und Kosten bewertet. Für den Nachweis von VOC ist die kostengünstige digital PCR in den Workflow integriert worden. Eigens erstellte Schulungsvideos dienen der Vermittlung des Workflows. Die Abstimmung mit dem Gesundheitswesen erfolgt auf Kreis-, Landes- und Bundesebene. Das Projekt endet im April 2023.

Der Workflow zum Varianten-Nachweis konnte mit dem Auftreten der Omikron-Variante bereits in der Praxis getestet werden. Wenige Tage nach Einstufung der Omikron-Variante durch die WHO als VOC, standen bereits Primer für den Nachweis zur Verfügung. Erste Untersuchungen an Kläranlagen waren noch negativ, was zeigt, dass der Workflow schneller etabliert werden konnte als sich die Omikron-Variante in Deutschland ausbreitete. Kurz darauf kam es zu Positiv-Befunden auf einigen Kläranlagen der drei BMBF-Projekte. Die Ergebnisse fanden bereits kurz vor

Weihnachten 2021 Eingang in eine gemeinsame Pressemeldung der Projekte. Ende Dezember 2021 war Omikron bereits die dominante Variante. Die zu Beginn genutzten Mutations-Signaturen wiesen noch eine geringe Spezifität auf. Erst die neu synthetisierten Assays waren wirklich spezifisch für die Omikron-Variante.

An einem Ringversuch zur quantitativen Analyse von SARS-CoV-2 und seiner Varianten beteiligten sich drei Labore, die den gleichen Workflow nutzten sowie drei weitere Labore, die mit anderen Workflows arbeiteten (ddPCR und qPCR). Im Ringversuch wurden hitzedeaktivierte SARS-CoV-2-Viren in Abwasserproben des letzten Sommers (niedrige SARS-CoV-2-Gehalte) gespiked:

1. Beta-Variante: 10^6 Genkopien/ mL
2. Mischung aus der Delta- und Omikron BA.1-Variante: je 500 Genkopien/ mL
3. Omikron BA.2-Variante: 100 Genkopien/ mL

Bei den quantitativen Untersuchungen war eine breite Streuung der Ergebnisse, z.T. um mehrere Größenordnungen, zu beobachten, aber alle Labore waren in der Lage, den Trend richtig abzubilden. Auch das Auftreten der K417N-Mutation konnte in den einzelnen Varianten korrekt identifiziert werden. Daher besteht inzwischen Zuversicht, dass sich die Varianten mit den verwendeten Assays gut nachweisen lassen. Zu Beginn war es schwierig, zu ermitteln, ab welchem Zeitpunkt ein positiver Befund vorlag, weil die Assays noch nicht spezifisch an die Omikron-Variante angepasst waren.

Den Workflow für die Detektion neuer Varianten kann man sich wie folgt vorstellen:

Sobald in klinischen Studien eine neue Variante identifiziert wird, werden den dezentralen Laboren spezifische Assays zur Verfügung gestellt, um diese für das Abwassermonitoring zu nutzen. Positive Abwasserproben gehen an ein zentrales Labor zur Gensequenzierung, um das Auftreten der neuen Variante sicher nachzuweisen. Durch dieses Vorgehen ist es möglich, das Probenaufkommen weitgehend gering zu halten.

Derzeit befinden sich im Rahmen des BMBF-Projektes 12 verschiedene Kläranlagen in NRW im Überwachungsprogramm. Dies schließt die Auswertung von Genfrachten ein. Es zeigen sich Diskrepanzen zwischen Wochentagen, Wochenenden und Feiertagen aufgrund von unterschiedlich hohen Pendlerströmen.

Fazit:

Für die Trendanalyse wird noch deutlicher Standardisierungsbedarf gesehen. Dies betrifft u.a. die unterschiedlichen Ausscheideraten der verschiedenen Varianten im Stuhl (z.B. Delta vs. Omikron). Angesichts der entstehenden Datenfülle aus den Projekten (ESI-CorA und BMBF) ist eine einheitliche Auswertungsmethodik von Nöten, die folgende Punkte betrifft:

- Einwohner im Kläranlageneinzugsgebiet:
 - nominal angeschlossene Einwohner

- Abschätzung anhand von Surrogatviren (PMMoV, crAssphage)
- Beprobung an Werktagen vs. Wochenende (Pendlerströme)
- Mischkanalisation: Einfluss von Regen und Schneeschmelze
 - Bestimmung der Gen-Fracht
 - Normalisierung mit Hilfe von Surrogatviren oder Ammonium
 - Bewertung hoher Zulauf-Volumenströme versus Trockenwetterabfluss
- Automatisierte Trendanalyse
 - Gleitender Mittelwert
 - Ausreißeranalyse
 - Reproduktionsraten

27. SARS-COV-2 Abwasserbasierte Epidemiologie – Primer und Sonden / Stabilität der Biomarker

Konsortium:

DVGW-Technologiezentrum Wasser (TZW), Abtlg. Wassermikrobiologie

- Dr. Johannes Ho
- Claudia Stange
- Rabea Suhrborg
- Prof. Dr. Andreas Tiehm

Vortragender: Dr. Johannes Ho

Der Vortrag gliederte sich in zwei Themenbereiche, die Primer- und Sonden-Auswahl zur Detektion von SARS-CoV-2 und die Stabilität der Biomarker, also des Nachweises von Coronaviren in Abwasser.

Primer- und Sonden-Auswahl:

Bei der Detektion von SARS-CoV-2 fanden unterschiedliche Zielgene Verwendung (N, E, ORF und RdRP). Die Ergebnisse für das Primer-Sonden-System für das E-Gen glichen denen für das ORF-Gen. Dagegen zeigte das N1-Gen im Vergleich zum E-Gen deutliche Abweichungen nach oben. Auch der Vergleich des RdRP1-Gens mit dem E-Gen ergab Abweichungen, jedoch in diesem Fall Minderbefunde. Eine Begründung könnte lauten, dass diese Unterschiede mit der Lage der Gene auf dem RNA-Strang zu tun haben. Da das RdRP-Gen am 5'-Ende des RNA-Stranges lokalisiert ist und das N-Gen am 3'-Ende könnte es sich um einen gerichteten Abbau handeln, d.h. das 5'-Ende ggf. weniger stabil ist. Um diese Frage näher zu untersuchen, wurden zusätzliche Primer-Sonden-Systeme analysiert. Am 5'-Ende kamen NSP3 und NSP9 zum Einsatz. Zudem wurde als Alternative zum RdRP1-Gen das RdRP2-Gen verwendet. Die Theorie des gerichteten Abbaus bestätigte sich jedoch nicht. Die RdRP2-Primer, die an einer ähnlichen Stelle im RNA-Strang binden wie die für das RdRP1-Gen, erbrachten ähnliche Ergebnisse wie die Primer für das ORF- und E-Gen. Auch das NSP9-Gen deckte sich gut mit den Ergebnissen von ORF

und E. Ausreißer nach unten ergab das NSP3-Gen. Die Ursache ist daher in dem Primer-Sonden-System zu suchen. Ein Vergleich der beiden Primer RdRP1 und RdRP2 ergab keine nennenswerten Unterschiede zwischen den Bindungsstellen von Forward Primer und Reverse Primer, aber hinsichtlich der Annealing-Temperatur. Bei RdRP1 ist der Unterschied der Annealing-Temperaturen zwischen Forward und Reverse Primer mit 8°C relativ hoch. Bei RdRP2 liegt die Differenz nur bei 2°C. Das könnte erklären, warum der RdRP2-Primer besser funktioniert hat. Konsequenz war die Umstellung der Laboranalytik auf das RdRP2-Gen, was zu einer besseren Übereinstimmung mit dem E- und ORF-Gen sowie zu einer guten Abbildung der Inzidenzwerte führte.

Bei neu auftretenden Varianten ist entscheidend sicherzustellen, dass die verwendeten Primer noch funktionieren.

Stabilität der Biomarker:

Die Stabilität des SARS-Cov-2-Genmaterials in den Abwasserproben erwies bei 4°C am höchsten. Bei Raumtemperatur und Minustemperaturen von -80 °C kam es zu einer starken Reduktion des Genmaterials. Daher ist davon abzuraten, Rückstellproben einzufrieren.

Auch die Biologie in der Abwasserprobe nimmt Einfluss auf die Stabilität der Proben, die vom Sauerstoffgehalt in der Probe abhängig ist. Durch Stickstoffbegasung, die für die Entfernung des Sauerstoffs aus der Probe sorgt, kann man den negativen Einfluss der Biologie auf die Virenstabilität reduzieren.

Ein weiterer Einflussfaktor ist der pH-Wert der Proben. Bei pH 7 lässt sich nach 8 Tagen eine 50%ige Reduktion feststellen. Basische und saure pH-Werte wirken sich jedoch weitaus negativer aus.

Fazit:

- Primer und Sonden:
 - Vorteile durch Nachweis mehrerer Gene
 - Vergleichbare Ergebnisse mit verschiedenen Primer-Sonden-Systemen möglich
 - Kein Indiz für positionsabhängigen Effekt
 - Mutationen erfordern einerseits die Überprüfung von Primer-Sonden-Systemen und bieten andererseits die Möglichkeit des Nachweises von Varianten.
- Stabilität:
 - Reduktion ist abhängig von Sauerstoff, pH und Temperatur
 - Proben am besten kühlen, nicht einfrieren, schnell bearbeiten
 - Einheitliches Vorgehen

Vorstellung der Handreichungen aus dem Projekt ESI-CorA

Vortragender: Dr. Hans-Christoph Selinka, UBA Berlin

Bei dem EU-geförderten Projekt ESI-CorA (Emergency Support Instrument zum Nachweis von SARS-CoV-2 in Abwasser) handelt es sich um eine Pilotstudie an 20 ausgewählten Kläranlagen-Standorten in Deutschland und weiteren 25 Standorten, die mit BMBF-Mitteln oder Landesmitteln finanziert werden, um die Eignung eines nationalen abwasserbasierten Überwachungssystems zu untersuchen. Am Ende geht es darum folgende zentrale Fragen zu beantworten:

1. Bietet das abwasserbasierte Überwachungssystem von SARS-CoV-2 einen Mehrwert für das Gesundheitswesen und die Pandemiebekämpfung?
2. Wie ist der Datenfluss von den Kläranlagen zu den Laboren und zu den Gesundheitsbehörden effizient zu gestalten?
3. Wie kann die Finanzierung erfolgen?
4. Wie sehen die Verantwortlichkeiten aus?
5. Welche Überwachungsstrategie erzielt ein optimales Aufwand-/ Nutzen-Verhältnis?

Das UBA und das RKI beraten die Bundesministerien für Umwelt und Gesundheit im Projekt fachlich und auch hinsichtlich der Weiterführung eines Abwassermonitorings nach Projektende.

Die federführende Organisation hat der Projektträger Karlsruhe (PTKA) im KIT übernommen, der auch ein Helpdesk für die Pilotstandorte eingerichtet hat. Der PTKA arbeite im Konsortium mit dem UBA, RKI und der TU Darmstadt zusammen. Fachliche Unterstützung erhält das Konsortium durch einen Begleitkreis, in dem die Leiter der BMBF-Projekte (COVIDready, Biomarker, SARS-GenA-Seq und CoroMoni) vertreten sind. Die Pilotstandorte sind auf alle Bundesländer verteilt. Viele verfügen bereits über Vorerfahrung mit dem Abwassermonitoring von SARS-CoV-2.

Alle Standorte arbeiten nach den gleichen Regeln, die in Form von Handreichungen vom UBA erstellt und im Begleitkreis verabschiedet wurden. Die Handreichungen verstehen sich nicht als detaillierte Arbeitsanleitungen, sondern als Hinweisblätter. Folgende Handreichungen liegen vor:

1. Handreichung zur Probenahme von Rohabwasser für das SARS-CoV-2-Monitoring
2. Handreichung zu Begleitparametern von Kläranlagen für die Normierung von SARS-CoV-2-Daten
3. Handreichung zur Probenaufbereitung und molekularbiologischen Analytik von SARS-CoV-2-Genfragmenten und Surrogatviren im Abwasser

Die Handreichung „Probenahme“ enthält folgende Informationen:

- *Allgemeine Grundsätze für die Probenahme:*
Orientierung an bestehenden DIN-Normen (DIN 38402-11, DIN 38402-30, DIN EN ISO 5667-3)
- *Probenahmestelle:*
Nach dem Sandfang der Kläranlage 2mal pro Woche (Montag auf Dienstag und Mittwoch auf Donnerstag)
- *Probenvolumen:*
max. 2x 1 Liter (angepasst an Aufkonzentrierungsmethode), einer der 2 L geht für weitere Messungen an das UBA
- *Art der Probe:*
24 Stunden-Mischprobe, Homogenisierung der Probe vor Aliquotierung
- *Probenversand:* gekühlter Transport
- Angaben zur Beschriftung der Probe

Für das Stammdatenblatt und den Probenbegleitschein wurde die Vorarbeit der CoroMoni-AG 1 „Probenahme“ genutzt.

Handreichung „Begleitparameter“:

Für die Normierung der Messwerte ist es notwendig, die jeweils zum Zeitpunkt der Probennahme vorhandene Abwassersituation zu charakterisieren. Dazu dienen die Begleitparameter. Diese unterteilen sich in probenspezifische Informationen, Daten im Kontext der Beprobung und Biomarker.

Probenspezifische Informationen sind:

- Probenidentifikationsnummer
- Probennahmezeitpunkt (Tag, Uhrzeit)
- Probennahmezeitraum (von...bis)
- Probennahmeart – *Einzelprobe (Schöpfprobe)* oder Mischprobe (zeitabhängig/durchflussabhängig)
- Probenvolumen

Daten im Kontext der Beprobung sind:

- Abflussbedingungen (Wetterdaten, insbesondere Vorlaufende Niederschläge am Vortag und Tag der Probennahme, Luft-Temperatur)
- Volumenstrom für den Zeitraum der Probennahme (m³/d) bzw. (m³/s)
- pH-Wert; elektrische Leitfähigkeit; Wassertemperatur; ggf. NH₄-Konzentration

Biomarker sind:

- Quantifizierung von mindestens zwei repräsentativen SARS-CoV-2-Biomarkern (Zielgenen)
- Quantifizierung von mindestens einem Surrogatvirus (PMMoV oder crAssphage)

In der Handreichung „Analytik“ werden die grundlegenden Arbeitsschritte der Probenaufbereitung und Analytik dargestellt:

1. Aufkonzentrierung der Viruspartikel aus der Abwasserprobe
2. Extraktion der viralen Nukleinsäuren
3. Umschreiben (Reverse Transkription) des viralen RNA-Genoms in cDNA für Verwendung in PCR
4. Vermehrung der viralen Gensequenzen mit Hilfe verschiedener Methoden der PCR (RT-qPCR; dPCR)
5. Analyse und Relativierung der Messergebnisse durch Normierung der Daten

Zur Qualitätssicherung der einzelnen Schritte sind geeignete Kontrollen mitzuführen.

Die Auswahl der Methoden zur Aufkonzentrierung der Proben trifft jeder Standort selbst. Hierzu gibt es bewusst keine Vorgaben. Dies bedingt auch, dass jeder Standort seine Nachweisgrenze (LOD und LOQ) selbst bestimmen muss. Das spielt aber erst bei niedrigen Inzidenzwerten wieder eine Rolle.

Wesentlich ist zudem, dass innerhalb einer Messreihe die Methode nicht verändert oder gewechselt wird.

Bei der Extraktionsmethode ist freigestellt, ob RNA und DNA gemeinsam oder nur RNA extrahiert wird. Wichtig ist, die Qualität der Nukleinsäuren in regelmäßigen Abständen durch Mitführen von Prozesskontrollen zu überprüfen, z.B. durch:

- Spiken anderer Viruspartikel vor der Nukleinsäureextraktion oder
- Spiken von viralen Nukleinsäuren nach dem Lyseschritt der Extraktion.

Bei der PCR sind Positiv- und Negativ- sowie Inhibitionskontrollen mitzuführen. Die Quantifizierungsstandards sollten über 4 Zehnerpotenzen, besser über 6 Log-Stufen gehen. Es sollte weiterhin auf die Steigung und Effizienz der PCRs geachtet werden.

In jedem Fall müssen die MIQE-Guidelines (Minimum Information for publication of Quantitative PCR Experiments) eingehalten werden.

Bei Fragen kann man sich an den Help Desk-Kontakt (helpdesk-esicora@ptka.kit.edu) oder direkt an das UBA (sarscov2@uba.de) wenden.

DWA-Präsentation zu den CoroMoni-Arbeitspaketen „Leitlinien“ und „Schulung“

Vortragende: Dr. Ann Kristin de Regt und Sabine Kranz, DWA

Zu Beginn ihres Vortrages wies Frau Dr. de Regt auf das EU-Town Hall Meeting hin, das am 15. und 16.03.2022 als Web-Veranstaltung stattfand. Die Aufzeichnung findet sich unter dem Link <https://api.ltb.io/show/ABLDN>. Die EU arbeitet derzeit an der Plattform DEEP „Digital European Exchange Platform“, die Protokolle, Ergebnisse, Dashboards und eine Expertenliste enthalten wird. Der Zugang ist unter dem Link <https://wastewater-observatory.jrc.ec.europa.eu/> möglich. Das nächste EU-Town Hall-Meeting ist für den 10. und 11.11.2022 geplant.

Normen und Leitlinien zum Abwassermonitoring:

Auf EU-Ebene wird ein Guidance Document „Surveilling the Urban Gut - A high-level guide about how to monitor SARS-CoV-2 in wastewater“ erarbeitet, das den gesamten Workflow des Abwassermonitorings abdeckt. Es gliedert sich in fünf Teile:

- Part A: Übersicht, Einordnung
- Part B: Probenahme, Transport, Analytik
- Part C: Datenauswertung und -visualisierung
- Part D: Fallstudien (Europa, G7, Welt)
- Part E: Empfehlungen und Ausblick

Nach aktueller Zeitplanung soll das Guidance Document im Herbst 2022 veröffentlicht werden.

Auf ISO- und DIN-Ebene laufen derzeit Aktivitäten zur Erstellung einer Norm zum Abwassermonitoring. Der DIN-Arbeitskreis NA 119-01-03-03-02 AK „SARS-CoV-2 und andere Viren“ hat bereits Zuarbeit zur ISO-Norm geleistet. Die DWA wirkt als Gast im DIN-Arbeitskreis mit. Eine erste Fassung der ISO-Norm wird für die öffentliche Kommentierung voraussichtlich bis Ende September vorliegen. Mit der endgültigen Veröffentlichung ist erst Mitte 2023 zu rechnen.

In Abgrenzung zu den Aktivitäten auf ISO- und EU-Ebene will die DWA im *CoroMoni*-Projekt praxisbezogenen Leitlinien zum gesamten Workflow des Abwassermonitorings erstellen, die die Grundlage für das bundesweite Abwassermonitoring in Deutschland bilden sollen. Ziel ist es, neuen Standorten einen einfachen Einstieg in das Abwassermonitoring zu ermöglichen, alle wichtigen Dokumente zu bündeln und nützliche Hintergrundinformationen zur Verfügung zu stellen.

Auf Anregung der *CoroMoni*-Arbeitsgruppe 2 „Analytik“ hat die DWA eine Literaturstudie zum Methodenvergleich im Bereich der Probenaufbereitung und Analytik von SARS-CoV-2 in Abwasser durchgeführt. Die relevante Literatur wurde ausgewertet und in einer Excel-Liste zusammengefasst, die weiterhin regelmäßig aktualisiert wird und auf der *CoroMoni*-Plattform zur Verfügung steht.

In einer weiteren Excel-Liste sind weltweit bestehende Dashboards zum Abwassermonitoring aufgeführt. Auch diese Liste finden Sie auf der *CoroMoni*-Plattform.

Von Ländern, die bereits groß angelegte oder nationale Abwassermonitoringsysteme zum Nachweis von SARS-CoV-2 betreiben, wurden von der DWA die Protokolle des Abwassermonitorings gesammelt und in einer Excel-Datei zusammengefasst, die ebenfalls auf der *CoroMoni*-online-Plattform bereitgestellt ist.

Bildungskonzept und Moodle-Plattform zum Abwassermonitoring:

Die DWA arbeitet derzeit an einem Bildungskonzept zum Abwassermonitoring von SARS-CoV-2, das sich vorrangig an zwei Zielgruppen wendet:

1. Betriebspersonal von Kläranlagen und
2. Mitarbeiter im Gesundheitssektor (Krisenstäbe und Gesundheitsämter)

Das modulartig aufgebaute Bildungskonzept wird auf der E-Learning-Plattform Moodle angelegt. Was genau ist Moodle? Hier ein paar Charakteristika:

- E-Learning-Plattform (Open Source-Software), mit der man Lerninhalte effizient organisieren kann und den Nutzern inhaltlich strukturiert zur Verfügung stellen kann.
- Es können erläuternde Dokumente (Word, PowerPoint, Excel, PDFs) ergänzt, ein Chat betrieben, Diskussionsforen eingerichtet, Umfragen erstellt sowie FAQ, ein Glossar und Filme eingestellt werden.
- Ein besonderes Highlight ist die Möglichkeiten, interaktive Lerninhalte z.B. Lernvideos, Lernkarten, Multiple Choice-Fragen oder Bilder mit Spots zu erstellen.
- Moodle ist ein erprobtes Schulungssystem bei der DWA sowie bei der Universität Duisburg-Essen und weiteren Bildungseinrichtungen.
- Die Inhalte können jederzeit aktualisiert werden und somit auch nach der Pilotphase nutzbar.
- Die Nutzung ist auch ohne Anleitung oder Schulung möglich, sie ist selbsterklärend und anwenderfreundlich. Moodle bietet z.B. Vorteile bei der Einarbeitung neuer Mitarbeitender.
- Das Bildungskonzept für die unterschiedlichen Zielgruppen, wie Betriebspersonal auf KA und Krisenstäbe bzw. den Gesundheitssektor ist gut mit Webseminaren kombinierbar.

Beispiele für die interaktive Darstellung von Lerninhalten sind:

- Bilder/ Fotos mit Spots, hinter denen sich eine Erklärung verbirgt:
 - Z.B. Workflow (Probenahme, Analytik, Datenfluss)
 - Z.B. Vorgaben für den Arbeitsschutz (PSA)

- Dokumente:
 - Z.B. Handlungsanweisungen, Handreichungen, Probenahmeprotokolle, Leitlinien usw.
- Links:
 - z.B. Videokonferenzen, Erfahrungsaustausche, aufgezeichnete/ zukünftige Webseminare
 - z.B. Eingabemaske für Kläranlagen-Daten
- Lernvideos mit interaktiven Informationen oder Multiple Choice-Fragen:
 - z.B. Hinweise auf häufige Fehlerquellen bei der Probenahme
 - z.B. Hinweise zur Nutzung der Handy-App für die Dateneingabe
- Lernkarten:
 - z.B. Hinweise zu Probenlagerung und -transport
 - z.B. Hinweis auf häufige Fehlerquellen im gesamten Workflow
 - z.B. Anforderungen aus den Handreichungen zur Probenahme, zu den Begleitparametern und zur Analytik
- Akkordeonfunktion (FAQ):
 - Zusammenfassung häufig gestellter Fragen z.B. aus dem Helpdesk ESI-CorA
- Forum:
 - z.B. Austausch mit weiteren Teilnehmenden zu Meinungen, Informationen, aktuellen Fragen (Hilfezentrum)
- Bilder/ Fotos/ Karten:
 - z.B. Darstellung aller beteiligten Kläranlagenstandorte

Beyond wastewater-based epidemiology – a vision for tomorrow

Vortragende: PhD Faten Belhadj-Kaabi, Veolia R&I

Frau Belhadj-Kaabi richtete in ihrem Beitrag den Blick bereits auf die Nach-COVID-Ära. Das Abwasser wird häufig als das Gedächtnis einer Gesellschaft bezeichnet. Nach einem kurzen Blick zurück in die Historie der Abwasserentsorgung gilt es nun die neue Rolle des Abwassers für die humane Gesundheit und auch die Tiergesundheit zu beleuchten.

Auf Basis der Erfahrung mit der SARS-CoV-2-Pandemie und dem Abwassermonitoring als Überwachungs- und Frühwarnsystem hat Véolia eine umfassende Monitoringstrategie entwickelt, die aus drei Ebenen besteht:

1. Ereigniserkennung und hochfrequentes Monitoring von definierten Biomarkern, Ampelstrategie für Handlungsmaßnahmen
2. Ausbruchsdynamiken und Epidemiologie bestimmen und zu Gesundheitsbehörden kommunizieren
3. Langzeitüberwachung und Suche nach neuen Varianten

Abwasserbasierte Epidemiologie (WBE) bedeutet eine gemeinsame Anstrengung von Forschungsakteuren, Betreibern von Abwasseranlagen, Analytiklaboren und Bioinformatikern bzw. Statistikern und sollte vom Gesundheitswesen koordiniert werden. WBE stellt ein ergänzendes Tool zur klassischen Epidemiologie dar, kann diese aber niemals ersetzen. Sie hilft aber möglicherweise, öffentliche Ausgaben zu reduzieren.

Aus Sicht von Veolia ist es im nächsten Schritt erforderlich, das Abwasser neben dem Nachweis von pathogenen Keimen auch für andere Bereiche der humanen Gesundheit zu nutzen, d.h. weitere Indikatoren im Abwasser auszuwerten wie antibiotikaresistente Bakterien, Arzneimittel, Drogen und Xenobiotika.

Mit dem Pasteur-Institut in Frankreich diskutiert Véolia über die Ausweitung des Überwachungssystems auf andere Viren. Dies sind:

- Porcines Circovirus (aus Schweinen stammendes unbehülltes DNA-Virus, führt zum Wachstumsstillstand)
- Felines Leukämievirus (katzenspezifisches, umhülltes RNA-Virus, Gammaretrovirus, Erreger der Katzenleukämie)
- Bovines Enterovirus (aus Rindern stammendes unbehülltes RNA-Virus)
- Humanes Norovirus (unbehülltes RNA-Virus, Erreger einer viralen Gastroenteritis)
- Humanes Adenovirus (unbehülltes DNA-Virus, löst eine Vielzahl von Infektionen aus, z.B. Atemwegs-, Augenentzündungen, Durchfallerkrankungen)
- Humanes Rotavirus (unbehülltes RNA-Virus, Erreger eines Brechdurchfalls)

Diese Viren wurden nicht auf Basis ihrer Humanpathogenität ausgewählt, sondern stellen Modell-Viren für die verschiedenen Virustypen dar. Im ersten Ansatz kam für den Nachweis der Modell-Viren, einschließlich SARS-CoV-2, nicht-gespiktes Abwasser zum Einsatz. Dabei wurden die Methoden der digital PCR und NGS miteinander verglichen. Der zweite Ansatz erfolgte mit gespiktem Abwasser. In beiden Fällen konnte eine gute Übereinstimmung der Ergebnisse beider Methoden beobachtet werden. Das gilt bei den ungespikten Proben jedoch nicht für SARS-CoV-2. Die relative Abundanz von SARS-CoV-2 in der Gesamtprobe lag im Vergleich zu den Modellviren zu niedrig, so dass es sich vermutlich um ein Problem der Sensitivität handelte.

Wenn man die WBE weiterdenkt bis hin zur Water Cycle epidemiology, ist nicht nur das Rohabwasser, sondern sind auch das behandelte Abwasser und Oberflächenwasser eingeschlossen. Hier geht es darum, die chemischen Bestandteile des Abwassers zu monitoren. Dadurch lassen sich Informationen zur Umwelt- und Tiergesundheit generieren (One Health-Ansatz). Die Ergebnisse können Eingang in

den Water Safety Plan finden. Es existieren bereits viele Bausteine, die es zu bündeln gilt. Dabei geht es auch darum, die unterschiedlichen Fachleute zusammenzubringen.

Fazit:

- Die COVID-19-Pandemie hat unsere Bereitschaft zur Verwendung der WBE beschleunigt.
- Es ist eine Prioritätensetzung für gezielte Marker bzw. Biomarker erforderlich.
- Zentraler Punkt ist die erfolgreiche Koordinierung und Kommunikation zwischen den Partnern.
- Die Gemeinden und Städte sollten eine klar definierte Rolle in dem Überwachungssystem spielen.
- Es gibt bereits Bausteine, aber es bestehen noch Forschungslücken, die es zu schließen gilt.
- Um Rechtssicherheit herzustellen, muss der Rechtsrahmen geklärt werden.

Virtuelle Podiumsdiskussion zum Thema „Perspektiven der wasserbasierten Epidemiologie bzw. WCE“

Diskutanten:

- PhD Faten Belhadj-Kaabi, Veolia R&I
- Dr. Emanuel Wyler, MDC Berlin
- PhD Bernd Gawlik, EC JRC

Eingangs geht es um die Frage, für welche pathogene Keime die WBE Sinn machen würde. Frau Belhadj-Kaabi weist darauf hin, dass ein Blueprint der WHO zu den weltweit prioritären Infektionskrankheiten existiert (s. <https://www.who.int/activities/prioritizing-diseases-for-research-and-development-in-emergency-contexts>). Es ist Aufgabe der Wissenschafts-Community im Gesundheitsbereich, die prioritären Erreger zu definieren. Der Fokus sollte sich dabei aus Sicht von Veolia aber nicht nur auf die humane, sondern auch auf die Tiergesundheit richten. Wichtig ist es ebenfalls wiederkehrende Pathogene im Blick zu haben. Auch innerhalb des MDC wird die Diskussion zur Priorisierung von Erregern für das Abwassermonitoring geführt. Herr Dr. Wyler betont den Aspekt, dass manche Viren, z.B. Noroviren gut im Abwasser detektierbar sind, weil sie mit dem Stuhl ausgeschieden werden, andere hingegen, die eher die respiratorischen Organe befallen, werden nicht nennenswert ausgeschieden. Man muss sich auch die Frage stellen, wie hoch das Interesse am Nachweis der gut detektierbaren Viren ist, da viele auch nur saisonal auftreten und von alleine wieder verschwinden. Das klinische Interesse an diesen Viren ist daher eher gering. Bei den Humanpathogenen ist die Bandbreite der in Frage kommenden Erreger relativ gering. Neben SARS-CoV-2 sind dies hauptsächlich das Influenza- und Polio-Virus sowie einigen Parasiten. Herr Dr.

Gawlik von der EC JRC berichtet, dass die EU-Kommission den Mitgliedsstaaten genau diese Frage nach den Prioritäten des Abwasser-Surveillance-Systems für die Zeit nach COVID-19 gestellt hat. Auch hier wurden das Influenza-, das Polio-Virus, humane Enteroviren und Adenoviren genannt. Dazu kommen antimikrobielle Resistenzen (AMR), z.B. antibiotikaresistente Bakterien.

Herr Dr. Gawlik sieht die wesentliche Herausforderung derzeit jedoch weniger in der Auswahl der pathogenen Keime, sondern vielmehr in der Institutionalisierung des Überwachungssystems. Für wissenschaftliche Zwecke liefert Abwasser eine unglaubliche Menge spannender Daten. Eine weitaus andere Frage ist der Nutzen des Überwachungssystems im Gesundheitssektor, um verlässliche Daten als Entscheidungsgrundlage zu erhalten. Hierauf richtet sich derzeit der Fokus der Diskussion. Dabei spielt der regulatorische Rahmen eine wesentliche Rolle. Es geht um die Frage der Finanzierung, die nicht allein von der Abwasserseite geleistet werden kann. Auch wenn die EU plant, die finanzielle Unterstützung noch für einige Jahre fortzusetzen, wird es nicht endlos so weitergehen. International geht die Diskussion in die Richtung, sich auf ausgewählte Super Sites und Überwachungspunkte zu beschränken.

Im Hinblick auf einkommensschwache Länder stellt sich die Frage, wie das Überwachungssystem dort installiert und finanziert werden könnte. Auch diesen Aspekt hat Veolia im Blick und versucht Partner für ein gemeinsames Projekt in Ländern mit niedrigem Einkommen zu akquirieren. Auch der Ukraine-Krieg gibt Anlass, die Abwasserdaten insbesondere in den osteuropäischen Staaten verstärkt für den Gesundheitssektor zu nutzen. Neben COVID-19 gab es bereits Fälle von Polio und Cholera. Die gezielte Abwasseruntersuchung kann helfen, Ausbrüche frühzeitig zu erkennen. Hierfür wird ein spezielles Budget bereitgestellt.

Als Fazit bleibt:

Das Abwassermonitoring-System muss nun dringend aus der Forschungsecke in die breite Praxisanwendung transferiert werden. Wesentlich ist es, den Gesundheitsbehörden die Ergebnisse des Abwassermonitorings in einer gut nutzbaren Form bereitzustellen, so dass sie diese auf nationaler, regionaler und lokaler Ebene nutzen können.

Nichtdestotrotz ist noch viel Arbeit bei der Definition der Workflows und der Zuständigkeiten zu tun, um das System für zukünftige Pandemien zu ertüchtigen. Neben Abwasseranlagen sollten auch große Firmen-Standorte und Super Sites wie Flughäfen in das Monitoringsystem einbezogen werden.

Die anstehende Herausforderung ist, wie man von den Daten aus dem Abwasser zu Wissen gelangt. Wie können geographische Informationssysteme aus anderen Bereichen, z.B. Migration, helfen,

6.2 Aufzeichnung der 6. Video-Konferenz

Die Aufzeichnung der Videokonferenz befindet sich auf der Onlineplattform/DWAdirekt/Ausschüsse Online/übergreifende Gremien/sonstige Ausschüsse/CoroMoni/Videokonferenzen/

Link: <https://edp.dwa.de/edpdwa/dkt/object?id=279073>

7. CoroMoni – Video-Konferenz 7 / 22.09.2022

7.1 Bericht

Die siebte Video-Konferenz zum BMBF-Projekt „Aufbau einer Kommunikationsplattform zum Thema Abwassermonitoring zur Bestimmung des SARS-CoV-2-Infektionsgrades der Bevölkerung und Aufbau eines flächendeckenden Frühwarnsystems – Koordination der Forschungsaktivitäten in Deutschland durch die DWA -“ fand am 22.09.2022 online statt. Insgesamt nahmen 110 Personen teil, darunter auch Vertreter aus Österreich und der Schweiz.

Dr. Friedrich Hetzel, Leiter der DWA-Abteilung Wasserwirtschaft, moderierte die Veranstaltung. Johannes Lohaus, Bundesgeschäftsführer der DWA, begrüßte die Teilnehmenden offiziell. Erstmals nehmen die Standorte der Pilotstudie des Bundes *ESI-CorA* an der Konferenz teil. Vier ausgewählte Standorte werden über ihre Erfahrungen berichten. Am 1.10.2022 tritt das neue Infektionsschutzgesetz in Kraft. Erfreulich ist, dass das Abwassermonitoring ein Bestandteil des Pandemie-Radars sein wird. Zu der genauen Ausgestaltung bestehen noch einige Fragezeichen, die es zu klären gilt. Abwassermonitoring – nicht nur von SARS-CoV-2 – wird auch auf europäischer Ebene zukünftig einen höheren Stellenwert erhalten. Ende Oktober wird der neue Entwurf der EG-Richtlinie Kommunales Abwasser der Öffentlichkeit vorgestellt werden. Es ist davon auszugehen, dass das Thema Abwassermonitoring – auch mit Blick auf andere Erreger – in die Richtlinie einfließt. Der Aufbau eines bundesweiten Abwassermonitoring-Systems macht daher auch langfristig Sinn. Nach der Präsentation der europäischen Richtlinie im Oktober ist bis zur endgültigen Verabschiedung noch mit mindestens 2 Jahren Diskussion auf europäischer Ebene zu rechnen. Anschließend folgt die Umsetzung in nationales Recht. Insgesamt ist damit zu rechnen, dass der Gesamtprozess noch ca. 5 Jahre andauert. Herr Lohaus dankt allen Beteiligten für ihren Einsatz für das Thema.

Präsentation ausgewählter Pilotstandorte aus dem Projekt *ESI-CorA* und den BMBF-Projekten

28. Duisburg:

Daniel Bastian, Geschäftsbereich Grundlagen und Entwicklung, Abteilung Abwasser, Emschergenossenschaft/Lippeverband

Die Kläranlage Duisburg ist als Beprobungsstandort in das BMBF-finanzierte Projekt *COVIDready* eingebunden. In *COVIDready* sind insgesamt 9 Kläranlagenstandorte involviert, fünf von der EG/LV betriebene Anlagen, zwei des Wasserverbandes Eifel-Rur sowie je eine Kläranlage des Niersverbands und des Wupperverbands. Dazu kommt noch der *ESI-CorA*-Standort Dinslaken, ebenfalls von der EG/LV betrieben. Alle Kläranlagen zusammen decken 19% der Einwohner in NRW ab. Die Besonderheit

besteht darin, dass häufig mehrere Gesundheitsämter in einem Kläranlageneinzugsgebiet liegen.

Jeder Standort wird zweimal pro Woche beprobt. Im Bedarfsfall erfolgt zusätzlich eine Konzentrationsverhältnis-Bestimmung der vorherrschenden Varianten und Nachweis der Varianten über NGS (Next Generation Sequencing). Durch diese Vorgehensweise kann für jede Kläranlage unmittelbar die vorherrschende SARS-CoV-2-Variante bestimmt werden. Über die Zeit lässt sich die Ausbreitung der Variante verfolgen.

Inzwischen fanden drei Messdurchläufe statt. Der Wechsel von BA.1/2 auf BA.4/5 ließ sich gut abbilden.

Für die Trendanalyse müssen die zahlreichen Betriebs- und Analyse-Daten komprimiert werden. Es wird mit einer frachtbasierten Normalisierung gearbeitet. Bei der Datenbewertung schaut man sich die Einzelwerte im Vergleich zu den Trends an. Trotz Normalisierung gibt es bei den Einzelwerten einzelne Ausreißer.

Bei Kläranlagen im Mischsystem ist eine Einschätzung der Messwertbeeinflussung durch Regenereignisse erforderlich. Wenn sich herausstellt, dass ein Messwert trotz Normalisierung über die Fracht stark Volumenstrom-beeinflusst ist, findet er in der Trendberechnung keine Berücksichtigung mehr. Bei nur zwei Messwerten pro Woche kann dies im Fall von starken Regenereignissen zu größeren Datenlücken führen.

Weiterhin unterliegen die Messwerte Einflüssen, die z.B. auf die Bewegung der Bevölkerung (Berufspendler und Urlaub) zurückzuführen sind, aber auch durch Fremd- und Industrieabwasser bedingt sind. Auch diese Einflussfaktoren werden in die Datenbewertung einbezogen. Es wird außerdem daran gearbeitet, Einflüsse durch den Workflow im Bereich der Probenahme und Analyse zu reduzieren. Beispielsweise ist für PCR-Replikate eine Standardabweichung des Ct-Wertes von $< 0,5$ empfohlen, dies kann aber bedeuten, dass man in hohen Konzentrationsbereichen um einige 10.000 bis 100.000 Genkopien danebenliegt.

Für die eigentliche Trendbestimmung wird der gleitende Mittelwert aus 3 Messwerten betrachtet und die Steigung mittels linearer Regression bestimmt. Zudem vergleicht man einen kurz laufenden mit einem länger laufenden gleitenden Mittelwert, konkret werden Steigungen, Schnittpunkte und Werteverhältnisse verglichen. Eine alternative Methode besteht darin, den aktuellen gleitenden Mittelwert mit dem Mittelwert von vor einer Woche zu vergleichen und eine mögliche prozentuale Abweichung zu ermitteln.

Vergleicht man für die Kläranlage Duisburg das gleitende 3-Tage-Mittel der gemessenen Genkopien im Abwasser mit den Inzidenzwerten, zeigt sich eine gute Übereinstimmung der Kurven. Noch genauer wird die Darstellung bei Betrachtung des 5-Tage-Mittels, allerdings auf Kosten der kurzfristigen Aussagekraft. Einzelne Punkte im Zusammenhang mit Regenereignissen wichen deutlich nach oben ab und ließen sich nicht über die Fracht normalisieren. Anstelle des erwarteten Verdünnungseffektes und einer Abnahme der Genkopien war hier das Gegenteil zu beobachten. Da die Genkopien danach direkt wieder stark abfallen, ist möglicherweise von einem Spülstoß

auszugehen, der Ablagerungen im Kanal in die Kläranlage geschwemmt hat und den kurzfristigen Peak mit anschließendem Abfall der RNA-Konzentration im Abwasser verursacht hat.

Der Vergleich des 3-Werte-Mittels einer Woche mit der Vorwoche ergibt den prozentualen Trendindikator. Für alle untersuchten Kläranlagen ergibt sich ein uniformes Bild. Im Juni zeigte sich überall ein Anstieg des Trendindikators, im Juli stagnierte er, im August waren die Werte rückläufig und im September stiegen sie wieder an.

Derzeit wird daran gearbeitet, den Indikator abhängig von der Größe des Einzugsgebietes in der Karte darzustellen. Wünschenswert wäre es, über längerfristige Zeitreihendarstellungen auch Bewegungen innerhalb von NRW abzubilden.

Seit geraumer Zeit besteht alle zwei Wochen ein Austausch mit dem Gesundheitsministerium NRW und dem Landeszentrum für Gesundheit. Die EG/LV berät das Land NRW bei der flächendeckenden Einführung des Abwassermonitorings und unterstützt dabei, die Auswertungen der unterschiedlichen Beprobungsstandorte zu formalisieren und zu vereinheitlichen.

Fazit:

- Das gleitende 3 Tage-Mittel und der prozentuale Trendindikator funktionieren sehr gut, um den Trend der Inzidenzen abzubilden.
- Regenereignisse verursachen kurzfristige Ausreißer der RNA-Konzentration nach oben, vermutlich bedingt durch das Ausspülen von Ablagerungen aus der Kanalisation (Spülstoß).
- Eine Verdichtung der Messwerte wäre für die Trenderkennung sinnvoll, um Ausreißer zu kompensieren.

29. Karlsruhe:

Dr. Johannes Ho, Abteilung Wassermikrobiologie, Sachgebiet Umweltbiotechnologie und Molekularbiologie, DVGW-Technologiezentrum Wasser (TZW)

Die Kläranlage Karlsruhe ist im Rahmen des BMBF-geförderten Projektes Biomarker in der bundesweiten Pilotstudie vertreten. Folgende Aspekte finden im Projekt neben der Trenderkennung Berücksichtigung:

- Stabilität von SARS-CoV-2 im Abwasser
- Entwicklung der Messmethodik
- Eignung von Primer-/Sonden-Systemen für das Abwassermonitoring
- Pandemiemanagement

In Karlsruhe erfolgt das Abwassermonitoring sein Juni 2020. Inzwischen wurden 210 Proben entnommen und rund 3.000 PCR-Ergebnisse generiert.

Der Workflow in Karlsruhe sieht wie folgt aus:

- a) 2mal pro Woche 24h-Mischprobe
- b) Feststoffabtrennung mit 40 mL durch Zentrifugation bei 5.000g, 30 min lang
- c) PEG-Fällung und anschließende Zentrifugation bei 12.000g, 2 h lang
- d) Automatisierte Extraktion mit InnuPREP-Virus DNA/RNA-Kit (Analytik Jena), Magnetpartikelseparation, Elutionsvolumen 100 µl
- e) One step RT digital droplet PCR, Gene: N1, E, ORF, RdRP
- f) Ergebnisbericht und Trendanalyse (gleitender Mittelwert), mit und ohne Normalisierung (CrAssPhage, PMMoV), Vergleich mit Inzidenzwerten (RKI und Landratsamt)
- g) Meldung der Ergebnisse an das Tiefbauamt, den Oberbürgermeister und Krisenstab der Stadt Karlsruhe

In Karlsruhe ist der Einfluss auf die Messwerte selbst bei Starkregenereignissen nicht so bedeutend. Es gab kaum Messwerte, die wegen starker Minderbefunde aus der Betrachtung herausfallen mussten.

Bei der BA.4/5-Variante ist festzustellen, dass die angegebenen Inzidenzen deutlich unter den Abwasser-Messwerten liegen, während beide Kurven bei der BA.1/2-Variante nahezu deckungsgleich waren. Als Grund hierfür die hohe Dunkelziffer der nicht-getesteten Infizierten zu nennen. In Karlsruhe wird die tatsächliche Inzidenz doppelt oder dreifach so hoch vermutet.

Neben der Trendanalyse werden auch Virus-Varianten im Karlsruher Abwasser gemessen. Die ermittelten Anteile der Varianten Alpha, Delta und Omikron decken sich sehr gut mit den klinischen Daten des RKI. Bisher herrscht nach wie vor Omikron vor.

Es ist zu beobachten, dass gegenüber den anfänglichen bis zu 14 Tagen Vorlauf der Abwasserwerte gegenüber den klinischen Fallzahlen lediglich noch wenige Tage Vorlauf bleiben, was darauf zurückzuführen ist, dass amtliche Meldekette der klinischen Fälle nun zügiger läuft.

Fazit:

- Trendverläufe können gut erkannt werden und bilden den Verlauf der Inzidenzwerte ab.
- Normalisierungsrechnungen zur Berücksichtigung von Regenereignissen sind in Karlsruhe nicht nötig, da keine Minderbefunde durch Verdünnung gemessen wurden – auch nicht im Starkregenfall.
- Die ermittelten Anteile der SARS-CoV-2-Varianten Alpha, Delta und Omikron deckten sich mit den Daten des RKI.

30. Köln:

Dr. Andrea Poppe, Abwasserinstitut Stadtentwässerungsbetriebe Köln

In Köln wurde an den Kläranlagen-Standorten Stammheim (1,6 Mio. EW) und Langel (130.000 EW) das Monitoring bereits im Herbst 2021 gestartet. In Langel endete es jedoch im Februar 2022. Die Probenahme erfolgte im Gesamtzulauf der Klärwerke.

Die PCR-Analytik musste an ein externes Labor vergeben werden, da dem Abwasserinstitut der StEB diese Technik nicht zur Verfügung steht. Für das Vergabeverfahren gemäß Vergaberecht sind im öffentlichen Dienst bis zu 3 Monate einzuplanen. Die Wahl fiel auf das TZW in Karlsruhe, das auch die Auswertung der Daten übernimmt.

Das Abwassermonitoring stellt eine Zusatzaufgabe dar, die in den laufenden Kläranlagenbetrieb zu integrieren ist. Es besteht daher der Anspruch, bestehende Prozesse und vorhandene Infrastrukturen zu nutzen sowie personelle und finanzielle Ressourcen zu schonen.

In Stammheim besteht die Besonderheit, dass drei Zuläufe existieren, die alle einzeln beprobt werden. An jedem Zulauf befindet sich ein Probenahme-Automat. Für jeden Tag des Jahres wird eine Tagesganglinie erzeugt. Auf dieser Basis wird im Labor täglich eine entsprechend proportional gemischte Zulaufgesamtprobe erstellt, um darin die Betriebsparameter der Kläranlage zu analysieren, die gleichzeitig als Begleitparameter für das Monitoring dienen.

Mehr als 2 Proben à 1 L Probenvolumen für die SARS-CoV-2-Bestimmung bereiten bei Trockenwetter Probleme, da dann nicht genügend Probenvolumen für eigene Untersuchungen bleibt. Es wäre daher wünschenswert, dass Probenvolumen in der Zukunft möglichst noch weiter zu reduzieren.

Die Probe ist vormittags versandfertig und muss bis zum Mittag des Folgetages im Labor sein, damit die RNA unbeschädigt bleibt. Das TZW stellt die Flaschen, Kühlelemente und das Verpackungsmaterial. Ein Paketdienst übernimmt den Transport. Es gab allerdings Unregelmäßigkeiten, d.h. Proben wurden gar nicht oder zu spät abgeholt bzw. geliefert, was die Überschreitung der Haltbarkeit zur Folge hatte. Die Unzuverlässigkeit des Paketdienstes führte schließlich zu einem Anbieterwechsel.

Die Ergebnisse stehen drei Arbeitstage nach Eingang der Probe im Labor zur Verfügung.

Wichtig für die zeiteffiziente Abwicklung der Probenahme und Analytik ist das Probenregime. In Köln wird die 24 h-Mischprobe am Montagmorgen begonnen und gegen Mitternacht abgeschlossen. Die Probe ist dann am Dienstag im Labor des Abwasserinstituts, wird dort versandfertig gemacht und vom Paketdienst abgeholt. Am Mittwoch kommt die Probe dann im Labor des TZW Karlsruhe an. Analog gelangt die Mittwoch-Probe bis zum Freitag ins Labor.

Es zeigt sich, dass die Montags-Probe weniger stark belastet ist. Das ist dem großen Einzugsgebiet der Kläranlage Köln-Stammheim geschuldet. Die Fließzeiten im Kanalnetz betragen bis zu 14 Stunden. Die Montags-Probe ist daher noch vom Abwasser des Vortags (Sonntag) beeinflusst.

Zur Bereitstellung der gewünschten zusätzlichen Angaben (Abwassermenge Gesamtablauf und Abwassertemperatur Zulauf), mussten die betreffenden Daten aus dem Klärwerks-eigenen Datenmanagement gezogen werden, um sie dem Labor zur Verfügung zu stellen. Hierfür waren Umprogrammierungen erforderlich.

Die probenbezogenen Daten für das Abwasser-Monitoring werden derzeit noch separat in Excel erfasst und nicht im laboreigenen Daten-Informations- und Managementsystem. Da die Survey-App andere Dimensionen nutzt, als es in der Praxis der Kölner Kläranlagen der Fall ist, muss die Dimension der Daten in der Excel-Datei umgerechnet werden.

Für die Nutzung der Survey-App war die Anschaffung mobiler Endgeräte (Standalone-Geräte) erforderlich, weil die App nicht im städtischen Netzwerk über die Arbeitsplatzcomputer angewendet werden kann. Das verursacht zusätzlichen Aufwand für das Management der Geräte und Lizenzen.

Die Ergebnisse der Kläranlagen Stammheim und Langel unterscheiden sich nicht signifikant. Die Infektionswellen und der Verlauf der Inzidenzwerte konnten in der Kläranlage Köln Stammheim im Zeitraum von Oktober 2021 bis Mai 2022 gut mit einem zeitlichen Vorlauf von 6 Tagen (Omikron) bis 15 Tage (Delta) abgebildet werden. Bei den aktuellen Messungen bis September 2022 gehen die Inzidenz- und Abwasserwerte wie eine Schere auseinander. Die Abwasserkurven steigen stärker an als die Inzidenzkurven, was vermutlich aus der hohen Dunkelziffer der Infektionszahlen durch die rückläufige Testhäufigkeit resultiert. Die Ergebnisse des Abwassermonitorings implizieren, dass die Inzidenzwerte im Messzeitraum mindestens doppelt so hoch lagen. Wegen des Mischsystems in Köln ist es bei Niederschlagswasserzufluss nötig, die PCR-Daten zu normalisieren.

Ende Dezember konnte erstmalig die Omikron-Variante im Kölner Abwasser detektiert werden, die derzeit noch immer die dominante Variante darstellt.

Fazit:

- Abwassermonitoring stellt eine Zusatzaufgabe im laufenden Klärwerks- und Laborbetrieb dar und erzeugt Mehraufwand.
- Wichtig ist es, eingespielte Prozesse und Abläufe zu nutzen, um die Fehlerquote zu minimieren, Ressourcen zu schonen und die Akzeptanz beim Personal zu fördern.
- Es sollten Vorlaufzeiten für die Umsetzung eingeplant werden, z. B. für die Erstellung eines Leistungsverzeichnisses, das Vergabeverfahren und die Abwicklung des Messprogramms.

- Die Datenerhebung ist z. Z. nur mit vielen Schnittstellen und Doppelarbeit realisierbar.
- Die Aufbereitung und Bewertung der PCR-Ergebnisse ist in Köln durch ein externes Labor erforderlich.
- Durch die Einschränkung auf die Werktage liegen die beiden Probenahmen sehr nah beieinander.
- In Ferienzeiten und an Feiertagen muss mit dem Labor abgestimmt werden, ob die Probenahme auf einen anderen Tag verlegt werden sollte.
- Bei dem 3-Schichtsystem der Kläranlage kommen sehr viele Personen zusammen, die es zu schulen gilt.

Wünsche:

- Die Praxisbelange der verschiedenen teilnehmenden Kläranlagenbetreiber (große und kleine) sollten genauer betrachtet und bei der geplanten zukünftigen deutschlandweiten Ausrollung berücksichtigt werden.
- Das erforderliche Probenvolumen stellt bei Trockenwetter häufig ein Problem dar und sollte nach Möglichkeit reduziert werden.
- Wünschenswert wäre es, in der Survey-App die Dimension der Daten frei wählen zu können.
- Ebenfalls wünschenswert wäre es, die Stammdaten, die für jede Probe gleich sind, nur einmalig in die App eingeben zu müssen.
- Es wäre zu prüfen, ob geeignete externe Labore für die PCR-Analytik zentral, z. B. durch das UBA, vorgegeben werden können.
- Die Bewertung der PCR-Messergebnisse sollte weiterentwickelt und deutschlandweit vereinheitlicht werden.
- Der Nachweis des Aufwands pro Standort für den Kostenersatz sollte möglichst einfach gestaltet sein.

31. Stuttgart:

Patryk Krauze, Referat 73 – Gesundheitsschutz, Infektionsschutz und Epidemiologie, Ministerium für Soziales, Gesundheit und Integration Baden-Württemberg

Das Landesgesundheitsamt Baden-Württemberg koordiniert die beiden Kläranlagenstandorte Stuttgart Mühlhausen und Tübingen und fungiert gleichzeitig als Analyselabor für die Abwasserproben. Der Workflow wurde mit Unterstützung des TZW Karlsruhe entwickelt.

Mit der Rohabwasserprobe erfolgt nach der ersten Sedimentation der Feststoffe zunächst eine Polyethylenglycol-(PEG-)Fällung mit anschließender Zentrifugation zur Sedimentation des Virus-Materials. Das Pellet wird dann in 1 mL PBS-Puffer aufgenommen und automatisiert, Magnetpartikel-basiert aufgereinigt. Das Eluat geht anschließend zur Quantifizierung der RNA in die RT qPCR. Dabei kommt ein kommerzielles Kit zum Einsatz, dass entsprechend der *ESI-CorA*-Handreichungen zwei Zielgene (N2- und E-Gen) und ein Surrogatvirus (PMMoV) quantifizieren kann.

Das Hauptklärwerk Stuttgart Mühlhausen mit einer Ausbaugröße von 1,2 Mio. EW und rund 600.000 angeschlossenen Einwohnern, einschließlich der Pendler, deckt 75% der gesamten von der Stadtentwässerung Stuttgart entsorgen Abwassermenge ab. Der Trockenwetterabfluss liegt bei 140.000 m³/Tag.

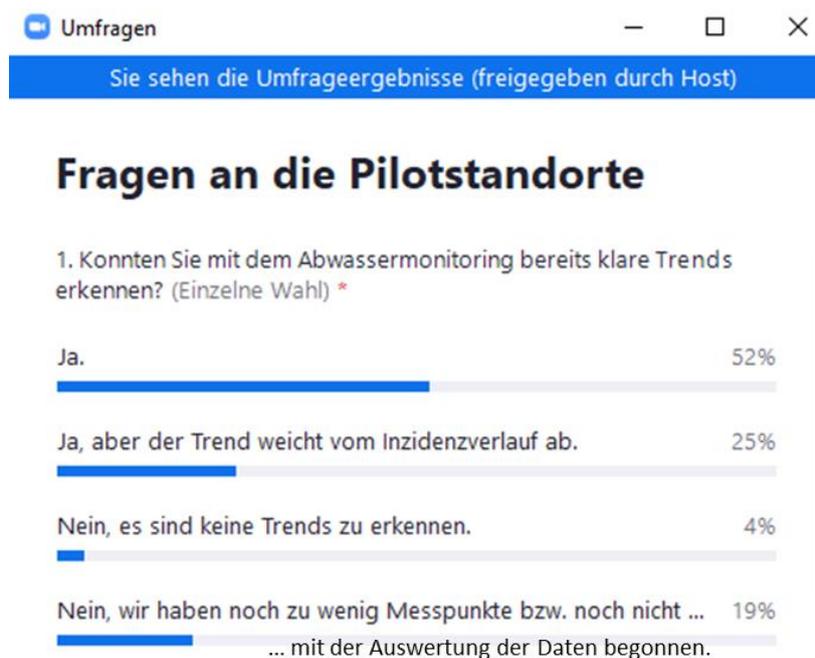
Fazit:

- Sowohl mit der Quantifizierung des N2- als auch des E-Gens ließ sich in der ersten Projekthälfte kein klarer Trend abbilden.
- In der zweiten Projekthälfte deckte sich der Verlauf der Genkopien im Abwasser gut mit der Inzidenzentwicklung.
- Zur Normalisierung wurde ein Quotient aus N2 und PMMoV gebildet, wodurch es weniger Ausreißer nach oben oder unten gab.

Offener Austausch der Pilotstandorte und Ted-Fragen

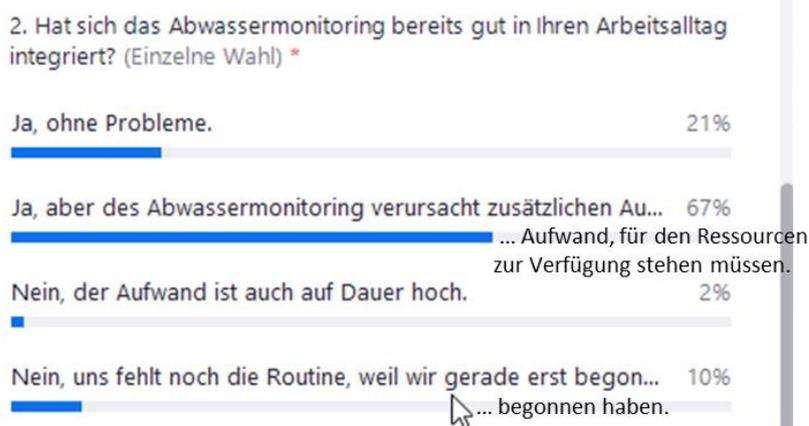
Dr. Hetzel präsentierte die Ergebnisse der Ted-Umfrage.

Frage 1:



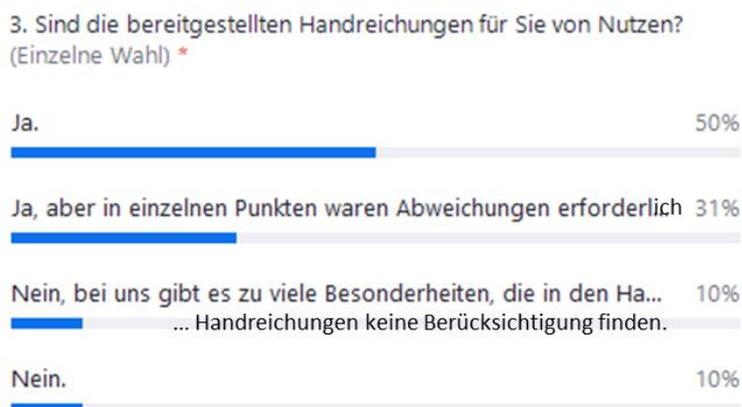
Die Mehrheit der Pilotstandorte kann bereits klare Trends abbilden. Bei einem Viertel der Antwortenden weicht der Trend von dem Inzidenzverlauf ab. Die rückläufige Häufigkeit der klinischen Tests und die damit einhergehende hohe Dunkelziffer der Infizierten sorgt dafür, dass die Abwasserwerte eine stärkere Zunahme zeigen als die Inzidenzwerte. Rund 20% können noch keinen Trend bestimmen, weil bisher zu wenig Messpunkte vorliegen.

Frage 2:



Bei der Mehrheit der Befragten hat sich das Abwassermonitoring zwar inzwischen gut in den Betriebsalltag integriert, aber es erzeugt zusätzlichen Aufwand, für den finanzielle und personelle Ressourcen zur Verfügung stehen müssen.

Frage 3:



Die Mehrheit der Standorte hält die im *ESI-CorA*-Projekt bereitgestellten Handreichungen für nützlich.

Diskussion:

In der Diskussion wurde angeregt, sich auf ein einheitliches Vorgehen an den verschiedenen am Monitoring beteiligten Standorten zu einigen – sowohl analytisch als auch hinsichtlich der Normierung der Daten. Wünschenswert wäre einerseits ein flächendeckend anwendbarer Standard. Andererseits sollte dabei aber berücksichtigt werden, dass viele Wege zum Ziel führen. Außerdem ist eine Vergleichbarkeit von Standorten wegen der sehr verschiedenen Bedingungen im Einzugsgebiet und damit verbundenen unterschiedlichen Abwasserzusammensetzung auch bei standardisierten Methoden kaum möglich. Richtet man den Blick nicht allein auf SARS-CoV-2, macht es zudem Sinn die Methodenvielfalt weiterhin zuzulassen, um flexibel auf andere Erreger reagieren zu können.

Ein Ziel der Pilotstudie auf Bundesebene besteht auch darin, zunächst zu bewerten, ob die Methodenvielfalt zielführend ist. Die internationale und nationale Normung lässt die Methodenvielfalt ausdrücklich zu. Es kommt nicht darauf an, die RNA-Konzentration im Abwasser exakt zu bestimmen, sondern es sollen Trends ermittelt werden. Wichtig ist es daher, die Interpretation der Daten zu vereinheitlichen und einen fachlichen Standard für die Kommunikation im Sinne einer Interpretationshilfe zu geben.

Es bestand Einigkeit, dass ein einheitliches Vorgehen benötigt wird, mit dem sich ein ansteigender Trend bestimmen lässt. Die Entscheidung, wann ein Trend ansteigt, muss verlässlich sein. Zwei Proben pro Woche reichen oft nicht aus, um einen prozentualen Trend auf lokaler Ebene zu ermitteln, besonders, wenn einzelne Messwerte wegen zu starker Abweichung herausfallen. Entscheidend ist hierbei, für welche Größenskala Aussagen getroffen werden sollen (Bundes-, Landes- oder lokale Ebene). Die Trendanalyse wird in Deutschland einheitlich für alle Standorte vom RKI übernommen.

Vorstellung Datenflussmodell, RKI und Prof. Jörg Drewes, TU München

Das Datenmodell baut auf der georeferenzierten Software ArcGis der Firma ESRI auf. Der Anspruch besteht darin, an allen beteiligten Standorten eine einheitliche Datenstruktur zu nutzen, um die Auswertung und Darstellung der Daten zu vereinfachen sowie einen durchgängigen Datenfluss zu gewährleisten.

Die Stammdaten der beteiligten Kläranlagen sind im Datenflussmodell hinterlegt. Dazu zählen Angaben zu den Messstellen, weiteren betrieblichen Parametern und zum Kläranlageneinzugsgebiet, das nicht zwangsläufig mit dem Zuständigkeitsbezirk der örtlichen Gesundheitsbehörde übereinstimmt.

Wichtig ist bei der Datenerfassung, dass nur diejenigen Infizierten Berücksichtigung finden, die auch zu der betrachteten Kläranlage beitragen, was eine georeferenzierte Darstellung notwendig macht.

Der Datenfluss wurde automatisiert – beginnend bei der Probenahme mit Erfassung der Begleitparameter, über die Analyse der Biomarker und Variants of Concern, die Qualitätssicherung, Normalisierung sowie die Auswertung und Darstellung/Visualisierung der Daten. Auch die Einbindung von Gesundheitsdaten/ Indexfällen ist im Datenflussmodell vorgesehen. So können bekannte Infektionsfälle mit den Abwasserzonen in Verbindung gebracht werden.

Insgesamt nutzen 48 Standorte (20 *ESI-CorA* und 28 BMBF) in Deutschland die einheitliche Datenstruktur. Mit Stand 22.9.22 sind 44 Kläranlagen im System eingepflegt, die 49 Messstellen umfassen. Es sind insgesamt 94 Abwassereinzugsgebiete bzw. Abwasserzonen hinterlegt. Manche Standorte schließen mehrere Abwasserzonen ein. In Summe sind bisher 1.671 Proben im System erfasst, die Biomarker-Befunde und Variants of Concern betreffen. Alle Daten sind in einer Cloud abgelegt und können durch die Nutzer mit entsprechenden Zugangsrechten, die an die Lizenz gekoppelt sind, abgerufen werden. Kommunen sehen nur ihre eigenen Daten, Landesämter dürfen alle Daten im Bundesland einsehen und RKI/UBA haben auf den Gesamtdatensatz Zugriff. Die Standorte sind auf dem Dashboard in einer Landkarte dargestellt. Man kann in die einzelnen Standorte hineinzoomen.

Zur erleichterten Datenübermittlung steht die App „Survey123“ zur Verfügung, die man sich auf dem Desktop, Handy oder Tablet laden kann. Mit der entsprechenden Zugangsberechtigung können Kläranlagen und Labor die zu übermittelnden Daten in die App eingeben. Die Daten werden automatisch in die Cloud überspielt. Dort erfolgt eine Datenverarbeitung auf Basis von Skripten, in denen mathematische Algorithmen angelegt sind, die automatische Datenkorrekturen, Normalisierungen und Datendarstellungen im Dashboard vornehmen.

Jede Probe erhält in der App eine eindeutige Probennummer. Zusätzlich werden Angaben zum Entwässerungssystem (Misch- oder Trennsystem) und Wetterbedingungen (Temperatur und Niederschläge) abgefragt, die Einfluss auf die Probenqualität nehmen können. Auch die Begleitparameter werden miterfasst. Das Analyselabor kann auf die Daten über eine ähnliche Eingabemaske zugreifen und die Biomarker-Befunde und Sequenzierungsdaten hinterlegen.

Bei der Weiterverarbeitung der Daten muss separat vermerkt werden, wenn Befunde unterhalb der Bestimmungsgrenze liegen. Dies geschieht aus Gründen der Darstellung. Berichtet wird i.d.R. die Hälfte der Bestimmungsgrenze. Der Biomarker-Wert errechnet sich als Mittelwert aus mehreren Zielgenen.

Für die Normalisierung erfolgt eine frachtbezogene Berechnung (Genkopien pro Tag). Über mitgemessene Surrogatviren können Korrekturen im Hinblick auf Regenereignisse vorgenommen werden. Auffällig ist dabei, dass das Auftreten von CrAssPhage und PMMoV an den verschiedenen Messstandorten nicht immer einheitlich ist. Unterschiede zeigen sich vor allem zwischen großen und kleinen Kläranlagen-Standorten. Je länger die Datenreihe der Messwerte von Surrogatviren,

umso solider ist das entstehende Bild der Konzentration und umso genauer die Korrekturmöglichkeit.

Im Rahmen der Qualitätssicherung erfolgt eine Metadatenanalyse, bei der Besonderheiten wie betriebliche Störungen (Stromausfall, Ausfall Probenehmer, Störung der Transportkette etc.) Berücksichtigung finden. Diese werden in einem Bemerkungsfeld gesondert erfasst. Die betroffene Probe erhält automatisch eine Kennzeichnung und geht erst nach Überprüfung und Freigabe in die Mittelwertbildung ein.

Für die Darstellung der Daten auf den Dashboards werden gleitende Mittelwerte der Biomarker-Befunde über drei bzw. fünf Messtage gebildet, wodurch sich Trends über eine bis zwei Wochen angeben lassen. Die relative Trendänderung wird mit „+“ (aufsteigend) oder „-“ (fallend) gekennzeichnet. Die Dashboards sind nicht öffentlich einsehbar, sondern nur für die beteiligten Kommunen zugänglich.

Im Datenflussmodell werden die beim Gesundheitsamt gemeldeten Indexfälle automatisch einer Abwasserzone zugeordnet. Die personenbezogenen Daten lassen sich nur aggregiert auslesen, um den Datenschutz sicherzustellen.

Präsentation der DWA

Frau Thaler berichtet, dass das *CoroMoni*-Projekt, das ursprünglich Ende 2022 abgeschlossen sein sollte, bis zum 31.3.2023 verlängert wird. Grund hierfür ist, dass wesentliche Arbeitsergebnisse aus dem *ESI-CorA*-Projekt, das ebenfalls am 31.3.2023 endet, noch ausstehen. Die Projektverlängerung war nötig, um diese Ergebnisse noch in den in *CoroMoni* erstellten Leitlinien zum Workflow des Abwassermonitorings und in der E-Learning-Plattform sowie im Bildungskonzept berücksichtigen zu können.

Die für Dezember 2022 geplante *CoroMoni*-Videokonferenz wird nun auf Februar 2023 verschoben, weil dann auch mehr Daten aus *ESI-CorA* vorliegen. Der Termin wird noch bekanntgegeben.

Das Arbeitspaket 6 „Vorstudie“, in dem es um strategische Fragen des flächendeckenden Abwassermonitorings gehen sollte, entfällt. Die Frage, mit wie vielen und welchen Kläranlagen in den einzelnen Bundesländern ein repräsentatives Ergebnis erzielt werden kann, wird auf Bundesebene in Zusammenarbeit mit den Bundesländern geklärt.

Kurzfristig ist beabsichtigt, das Abwassermonitoring von derzeit 48 um weitere 100 Standorte auszuweiten. Hierzu wurde im BMG eine Task-Force „Abwassermonitoring“ eingerichtet, die 91 Standorte ermittelt hat, an denen derzeit Abwasser auf SARS-CoV-2 untersucht wird. An weiteren 57 Standorten ist ein Abwassermonitoring geplant. Ziel des Abwassermonitorings ist eine Darstellung der Trendentwicklung auf Basis der Abwasserdaten auf den Webseiten des RKI als ergänzende Information.

Abschließend ist noch über die Laborvergleichs-Untersuchung zu berichten, die an der TU Darmstadt mit Unterstützung der DWA sattgefunden hat. Insgesamt haben sich 22 Labore beteiligt – darunter neben den *ESI-CorA*-Laboren und Laboren, die an den drei BMBF-finanzierten Projekten beteiligt sind, auch einige Labore aus *CoroMoni*.

Von jeder Probe wurden drei Verdünnungsstufen (10^7 , 10^5 und 10^3 Genkopien/L) hergestellt und analysiert. Die beteiligten Labore deckten alle gängigen Methoden ab. Die am häufigsten analysierten Genbereiche waren N1, N2 und E.

Bisher liegen die Ergebnisse noch nicht abschließend vor, sie werden aber nach finalem Rücklauf aller Labore zusammengestellt und demnächst präsentiert.

7.2 Aufzeichnung der 7. Video-Konferenz

Die Aufzeichnung der Videokonferenz befindet sich auf der Onlineplattform/DWAdirekt/Ausschüsse Online/übergreifende Gremien/sonstige Ausschüsse/CoroMoni/Videokonferenzen/

Link: <https://edp.dwa.de/edpdwa/dkt/object?id=280915>

8. CoroMoni – Video-Konferenz 8 / 01.02.2023

8.1 Bericht

Die achte Video-Konferenz zum BMBF-Projekt „Aufbau einer Kommunikationsplattform zum Thema Abwassermonitoring zur Bestimmung des SARS-CoV-2-Infektionsgrades der Bevölkerung und Aufbau eines flächendeckenden Frühwarnsystems – Koordination der Forschungsaktivitäten in Deutschland durch die DWA“ fand am 1.02.2023 online statt. Insgesamt nahmen 120 Personen teil, darunter auch Vertreter aus Österreich und der Schweiz.

Dr. Friedrich Hetzel, Leiter der DWA-Abteilung Wasserwirtschaft, Abwasser und Abfall moderierte die Veranstaltung.

Präsentation ausgewählter Pilotstandorte aus dem Projekt *ESI-CorA* und den BMBF-Projekten

32. SARS-CoV-2-Abwassermonitoring in Aachen (BMBF-Projekt *COVIDReady*)

Dr. Marek Widera, Institut für Medizinische Virologie der Goethe-Universität Frankfurt

Ziel des Projektes *COVIDReady* „Entwicklung einer validierten Analyseverfahren für abwassertechnische Labore auf Kläranlagen“ ist es, den Workflow des Abwassermonitorings zum Zweck einer flächendeckenden Infektionsüberwachung und die Kommunikation mit den Gesundheitsbehörden zu etablieren und zu validieren. Dafür ist es besonders wichtig, eine konsistente Datenauswertungs-Routine zu entwickeln, um alle Daten nach demselben Schema auszuwerten und weiterzuleiten. Am Standort Frankfurt steht außerdem die Früherkennung neuer Varianten im Fokus und wird in das Überwachungssystem implementiert.

Die Umsetzung der EU-Empfehlung zum Abwassermonitoring ist nach Auffassung des *COVIDReady*-Konsortiums nur dezentral, also mit mehreren Laboren, zu bewerkstelligen und nicht durch ein zentrales Labor leistbar. Für den dezentralen Ansatz sind entsprechende Qualitätskontrollen zur Validierung der Daten erforderlich.

In *COVIDReady* erfolgt die Beprobung an 10 verschiedenen Kläranlagen-Standorten in NRW, die knapp 20% der Bevölkerung des Bundeslandes abdecken. Ziele sind die Einrichtung einer integralen Trendüberwachung sowie die Früherkennung von Virus-Varianten. Es werden 24 h-Mischproben entnommen. Als Begleitparameter kommen PMMoV oder CrAssPhage zum Einsatz.

Der Verlauf der gemessenen SARS-CoV-2-Fracht im Abwasser wird als gleitender Mittelwert aus drei (1 Woche) bzw. fünf Messwerten (2 Wochen) dargestellt. Vergleicht man die RNA-Kopienzahlen aus verschiedenen Anlagen, wird deutlich, dass sich die Amplitude der Peaks stark unterscheidet. Auch unter ähnlichen Standort- und Labor-

Bedingungen und unter Zuhilfenahme von Surrogatviren zur Normalisierung sind die Daten aus den verschiedenen Kläranlagen nicht miteinander vergleichbar. Stattdessen erfolgt die Einordnung in die Trendaussagen „steigender Trend“, „sinkender Trend“ oder „keine gesicherte Trendaussage möglich“.

Ausreißer aus der Trendkurve korrelieren meist mit Spülstößen, die durch Regenereignisse bedingt sind, und werden automatisch eliminiert.

Betrachtet man den Heat-Plot, in dem die Abwasserwerte und die Inzidenzen dargestellt sind, ist deutlich zu erkennen, dass die Zeitfenster, in denen es zu einer steigenden oder sinkenden Inzidenz kommt, gut übereinstimmen. Bei der Abwasseranalytik lässt sich der Peak der Viruslast mit deutlichem Vor- und Nachlauf detektieren.

In *COVIDReady* ist ein dezentraler sukzessiver Workflow etabliert worden, der auf mehreren PCR-basierten Nachweismethoden basiert. Die analytische Gesamtfrachtbestimmung erfolgt mit N1- und N2-Primern (Dual-Target-System) durch RT-qPCR. Nach 48 Stunden liegen die Ergebnisse vor. Beim Auftreten von neuen Varianten erfolgt zudem ein Screening mit Varianten-spezifischen Primern (LNA-Assay). Im Fall eines positiven Testergebnisses wird die Bestätigung mittels digitaler PCR oder NGS durchgeführt.

Wegen der Variantendiversifizierung, kommt nun die Single-Nucleotid-Polymorphism-(SNP)PCR zum Einsatz, die es ermöglicht die Bindungsaffinität zu der Zielsequenz zu bestimmen. Dies geschieht mit Hilfe von Schmelzkurvenanalyse, bei der sich die Stabilität der Wasserstoffbrückenbindung bestimmen lässt. So ist es möglich, Wildtyp und Mutante zu unterscheiden.

Alle Schritte erfolgen im engen Austausch mit den Gesundheitsbehörden.

Im Dezember 2021 konnte mit diesen Methoden die Omikron-Variante nachgewiesen werden. Der auf Basis von N1 und N2 ermittelte Trend deckt sich gut mit dem Trend der Fallzahlen des RKI. Die besondere Stärke des Abwassermonitorings zeigte sich mit dem Auftreten der BA.4- und BA.5-Variante, deren Verlauf sich bedingt durch die rückläufigen humanen Tests nicht mehr im vollen Umfang durch die RKI-Fallzahlen abbilden ließ. Die Abwasserwerte stiegen deutlich stärker an als die Inzidenzwerte. Auch mit der stufendiagnostischen Methode der SNP-PCR konnte die Verlagerung vom Wildtyp zur Mutante abgebildet werden.

Aktuell ist eine sehr starke Diversifizierung von zirkulierenden SARS-CoV-2-Varianten zu beobachten. Das erfordert eine kontinuierliche Evaluierung und Adaption von Primer-/Sonden-Systemen. Sowohl die PCR-Analytik als auch die NGS sind durch diese Situation gewissen Limitierungen unterworfen. Beispielsweise lässt sich für die BQ.1.1-Variante nur schwer eine spezifische Mutation identifizieren. Fundierte Aussagen lassen sich anhand der K444T-Mutation, aber nur in Kombination mit dem Nachweis anderer Varianten, treffen.

Wichtig bei dem oben beschriebenen dezentralen Workflow und auch bei der Varianten-Testung ist die Qualitätskontrolle. Diese wurde in *COVIDReady* durch einen Ringversuch sichergestellt. Dazu kamen Rückstellabwässer aus einer Phase mit extrem niedriger Inzidenz zum Einsatz. Die Abwässer wurden mit authentischen SARS-CoV-2-Viren gespiked. Dazu wurden die relevanten Varianten in Zellkulturen hineingebracht. Das Virus zerstörte die Zellen. Die Inaktivierung des Virus-Überstands erfolgte thermisch oder mit UV-Strahlung. Die so behandelten Viren wurden schließlich in verschiedenen Konzentrationen zum Spiken der Abwässer eingesetzt. Erfreulich war, dass alle beteiligten Labore den Trend erfolgreich darstellen konnten. Auch waren alle Labore in der Lage, den Anteil der verschiedenen Mutanten in den Proben tendenziell richtig wiederzugeben.

Fazit:

- *COVIDready* setzt einen dezentralen Überwachungsansatz um, welcher Meldungen innerhalb von 48 h an die Behörden ermöglicht.
- Eine Trendanalyse (Verhältnis der gleitenden Zweiwochenmittel) der im Abwasser gemessenen SARS-CoV-2-Genfracht ist zuverlässig möglich.
- Die Qualitätskontrolle erfolgt durch realitätsnahe Ringversuche zur Validierung des dezentralen Ansatzes.
- Die Detektion von SARS-CoV-2 durch Dual Targets (N1/N2) erhöht die Trefferquote und verbessert die Sensitivität.
- Mittels digitaler PCR (dPCR) in Kombination mit spezifischen LNA-Sonden kann der Anteil neuer SARS-CoV-2-Varianten im Abwasser präzise und zeiteffizient bestimmt werden.
- SNP-PCR-Analysen ermöglichen die frühzeitige Bestätigung neuer Varianten im Abwasser (Stufendiagnostik).
- Eine vorherige Validierung von PCR-Assays ist für einen variantenspezifischen Nachweis unerlässlich.

33. SARS-CoV-2-Abwassermonitoring in Berlin (ESI-CorA)

Sonja Garske, LaGeSo Berlin

Am Pilotstandort Berlin startete das Abwassermonitoring mit dem Klärwerk Ruhleben, an das rund 1,5 Mio. Einwohner angeschlossen sind. Später kamen die Kläranlagen Schönerlinde und Waßmannsdorf hinzu. Die Beprobung erfolgt inzwischen dreimal pro Woche. Zusätzlich werden einmal pro Woche am Flughafen BBR Proben entnommen. Für die Analytik ist ein Labor der Amedes-Unternehmensgruppe zuständig. Als Zielgene kommen das E- und das N-Gen zum Einsatz. Die Daten gelangen von den BWB an das LaGeSo, welches sie an das ESI-CorA-Projekt weiterleitet. Der Datentransfer geschieht über ArcGIS. Die Daten fließen in den COVID-Lagebericht in

Berlin ein und sind auf der Homepage des LaGeSo – auch öffentlich – dargestellt (s. <https://data.lageso.de/lageso/corona/corona.html#abwasser>).

Der Kurvenverlauf der Abwassermesswerte deckt sich bis Ende September gut mit dem der Inzidenzwerte. Danach steigen die Abwasserwerte deutlich über die Inzidenzwerte hinaus, was mit der rückläufigen Testfrequenz zusammenhängt. Bei den Virus-Varianten dominiert im Herbst 2022 die BA.5-Variante, danach nehmen auch die Subvarianten von BA.2 zu.

Hinsichtlich der gemeldeten Indexfälle ist eine georeferenzierte Darstellung vorgesehen. Eine Lösung, wie dies unter Berücksichtigung von Datenschutz-Aspekten erfolgen kann, ist noch in Arbeit. Derzeit fehlt noch die rechtliche Grundlage, dass das LaGeSo diese Daten georeferenziert erhalten darf. An der TU München wurde das Problem dadurch gelöst, dass die Indexfälle gebündelt wurden und so für die Einzelfälle kein Adressbezug mehr ableitbar war.

Zur Normalisierung findet das PMMoV Anwendung. Die Virus-Varianten im Abwasser werden einmal pro Woche dargestellt.

Fazit:

- Das Abwassermonitoring wird im Land Berlin dauerhaft umgesetzt.
- Es ist als Komplementärsystem für die epidemiologische Einschätzung der Infektionslage in Berlin zu betrachten.
- Die Abwasserüberwachung weiterer Erreger ist geplant.
- Bestandteil ist auch die Detektion von Veränderungen in dem anteiligen Auftreten von Virus-Varianten.

34. SARS-CoV-2-Abwassermonitoring in Neustadt an der Weinstraße (ESI-Cor-A) Wolfram Klingelhöfer, Eigenbetrieb Stadtentsorgung, Neustadt an der Weinstraße

Das Kläranlagen-Einzugsgebiet des Standortes Neustadt an der Weinstraße deckt sich mit dem Stadtgebiet einschließlich umliegender Gemeinden und liegt im Zuständigkeitsbereich der Gesundheitsbehörde Bad Dürkheim/Neustadt. Die gesundheitsbezogenen Daten können für die drei Postleitzahlbezirke des Kläranlagen-Einzugsgebietes deckungsgleich zugeordnet werden.

Die Analyse der Abwasserproben übernimmt die Eurofins Umwelt Südwest GmbH mit einem Labor in Tübingen.

60% der angeschlossenen Einwohner entwässern in ein Misch- und 40% in ein Trennsystem. Die Kläranlage weist eine Ausbaugröße von 85.000 EW auf. Neben den rund 54.000 Einwohnern wird Abwasser aus Weinbaugebieten eingeleitet, weswegen die Abwasserlast etwa 65.000 EW entspricht. Die Länge des Kanalnetzes beträgt 290 km. Die mittlere Fließzeit liegt bei vier Stunden. Der mittlere Trockenwetterabfluss im Jahr beträgt 9.750 m³/d. Der Fremdwasseranteil bewegt sich zwischen 17% und 20%.

Im Einzugsgebiet gibt es ein Krankenhaus und mehrere Altersheime. Eine Wetterstation in der Nähe liefert die erforderlichen Wetterdaten.

Die Probenahme erfolgt im Zulauf nach dem Sandfang und startete am 28.03.2022. Seither sind 91 Proben analysiert worden, 46 Proben gingen zu Qualitätssicherung an das UBA und 3 Proben wurden an der TU Darmstadt auf Virus-Varianten untersucht. Wichtig ist eine durchgängige Kühlung, beginnend bei der Probenahme bis zur Lieferung in das Labor.

An einem herausgegriffenen Beispieltag gab es ein starkes Regenereignis. Der Abfluss überstieg den Jahresdurchschnittswert fast um das Dreifache. Zu beobachten war auch ein durch die Verdünnung bedingter deutlicher Rückgang der Leitfähigkeit. An den chemischen Parametern ist die Verdünnung ebenfalls ersichtlich. Der Gesamtstickstoff eignet sich z.B. sehr gut als Maßstab für die Verdünnung. Dagegen ist der CSB weniger brauchbar, weil die organische Fracht wegen der Weinabwässer ziemlich hoch liegt.

Bei der PCR-Analytik waren 33 Zyklen erforderlich, um überhaupt einen Befund zu erhalten. Der Befund liegt mit 5,5 RNA-Kopien/mL auf niedrigem Niveau. Gemessen wurde das RdRP-Gen. Auch die zur Normalisierung eingesetzten Surrogatviren, CrAssPhage und PMMoV weisen relativ hohe Zykluszahlen (22) auf.

Der Regenwettereinfluss ist in Neustadt an der Weinstraße sehr deutlich. Regenwasser führt zu einer Verdünnung des Abwassers, löst den Mischwasserabschlag aus, bewirkt eine Temperaturänderung, verursacht starke Sedimentaufwirbelungen und -mobilisierung, resultiert in Änderungen des TS- und Sauerstoffgehaltes.

Eine Besonderheit ist der lange und große Zulaufsammler (5,1 km mit DN 2.400), in dem sich bei Trockenwetter Sediment ablagert, das bei Regenwetter aufgewirbelt wird. Es ist noch unklar, wie sich dabei die Virus-Fragmente verhalten.

Auch die Abwassertemperatur und der Sauerstoffgehalt nehmen Einfluss auf die Stabilität der Virus-RNA. An den Pumpwerken kommt es durch Druckluftspülung bzw. pneumatische Förderung zu aeroben Verhältnissen. Auch Steillagen tragen dazu bei.

Es gibt wenig Chemikalieneinleitungen aus Industrie und Gewerbe, aber viel organische Säuren, Alkohol und Tenside aus den Weinbaubetrieben sowie Fette und lipophile Stoffen.

Die Ergebnisse des Abwassermonitorings sind auf dem *ESI-CorA*-Dashboard dargestellt. Die Abwasserwerte können die Peaks des Inzidenzverlaufes gut abbilden.

Fazit:

- Es besteht ein enger Austausch zwischen der Stadt/ESN und dem Gesundheitsamt.

- Die Viruslast im Abwasser ist neben den gemeldeten Fallzahlen eine weitere Erkenntnisquelle für das Infektionsgeschehen im Zuständigkeitsbereich des Gesundheitsamtes. Sie gewinnt noch mehr an Bedeutung, wenn zukünftig die Meldung von infizierten Menschen immer weiter zurückgeht.
- Ein weiterer wichtiger Nutzen für das Gesundheitsamt ist die Variantenuntersuchung aus den Abwasserproben. Hierdurch kann die Ausbreitung neuer Virusvarianten früher erkannt werden.
- Die Abwasserdaten dienen als Information für das Krisenmanagement der Stadt Neustadt an der Weinstraße.
- Die Daten aus dem Pilotstandort Neustadt werden für das Projekt Abwassersurveillance des Landes Rheinland-Pfalz zur Verfügung gestellt.
- Das RKI nutzt die Trenddaten für das Pandemie-Radar.

35. SARS-CoV-2-Abwassermonitoring in der Landeshauptstadt München (BMBF-Projekt Biomarker)

Anna Uchaikina, TU München

Neben dem Standort München werden im Projekt *Biomarker*, weitere Standorte in Bayern, z.B. im Berchtesgadener Land, sowie auch in Karlsruhe beprobt.

Für die Analytik kommen 3h- bis 24h-Mischproben zum Einsatz. Das Volumen beträgt 40 mL. Zunächst erfolgt eine Feststoffabtrennung durch Zentrifugation, schließlich die RNA-Extraktion durch Aufreinigung und Extraktion mit dem Vakuum-Kit der Firma Promega. Danach folgt die digitale PCR (dPCR) mit den Zielgenen N2, E und ORF. Alle bayerischen Proben werden zudem in einem externen Labor sequenziert.

Am Standort München gibt es zwei Beprobungsstandorte:

- Klärwerk Gut Großlappen, ca. 1 Mio. angeschlossene EW
- Wohngebiet Standort Hasenberg, ca. 30.000 angeschlossene Einwohner, das als Referenzstandort dient.

Beide Standorte werden seit Juli 2021 zweimal pro Woche (Mo auf Di und Mi auf Do) beprobt.

Die Biomarker-Befunde werden mit den Fallzahlen des RKI und zusätzlich mit georeferenzierten Fallzahlen aus beiden untersuchten Einzugsgebieten des Gesundheitsreferates München (April bis November 2022) verglichen.

Ein Vergleich der 7-Tage-Inzidenz für München, Großlappen und Hasenberg zeigt, dass Großlappen im Verhältnis zu ganz München sehr ähnliche Werte aufweist, während die Fallzahlen in Hasenberg etwas niedriger liegen.

Die Verläufe der 7-Tage-Inzidenz für ganz München und die Biomarker-Befunde ähneln sich. Die Peaks stimmen ungefähr überein. Bei den meisten Infektionswellen

ist ein leichter Vorlauf zu erkennen. Aktuelle steigen die Abwasser-Befunde stärker als die klinischen, was mit der rückläufigen Teststrategie zusammenhängt.

Ein weiterer Schwerpunkt im Biomarker-Projekt war es, für alle Standorte zu schauen, wie Verdünnungseffekte durch Niederschlag mit Normalisierungsrechnungen ausgeglichen werden können. Dazu wurden verschiedene Surrogatparameter untersucht. Im ESI-CorA-Projekt hat sich inzwischen die Normalisierung der SARS-CoV-2-Fracht über den Durchfluss durchgesetzt.

In München erwies sich der Einfluss der Normalisierung als gering. Nach Regenereignissen war nur eine leichte Korrektur erforderlich. Das ist dadurch begründet, dass München über ein sehr großes Einzugsgebiet mit einem komplexen, aktiv gemanagten Kanalsystem mit großer Kapazität an Regenrückhaltung verfügt. Dennoch verbessert sich die Korrelation mit Hilfe der Normalisierung auf Basis des Durchflusses.

Eine zusätzliche Fragestellung betrifft die Variabilität der Biomarker-Befunde über den Tag verteilt. Der Abwasserstrom einer Gemeinde variiert über den Tag verteilt, aber auch in Abhängigkeit von der Größe der Gemeinde. Kleine Gemeinden zeigen eine größere Varianz als große Gemeinden. Auch die Menge an SARS-CoV-2-Viren im Abwasser variiert bedingt durch das unterschiedliche Ausscheideverhalten des Menschen. Im Fokus steht daher die Frage, welchen Einfluss das Zeitfenster und das Intervall der Probenentnahme auf die Konzentration an SARS-CoV-2 Viren in einer Abwasserprobe haben. In einer 24h-Mischprobe sind auch die niedrigen Nachtkonzentrationswerte enthalten, was zu einer stärkeren Verdünnung der Probe führt. Wenn man das Zeitfenster mit der höchsten Konzentration kennt, macht auch ein kürzeres Zeitfenster Sinn. Ziel ist es daher, ein optimales Zeitfenster und Intervall für die Probenentnahme in Abhängigkeit von der Größe einer Gemeinde zu ermitteln. Das hilft auch bei der Entwicklung von Probenahmeoptionen, z.B. für Niedrig-Inzidenzperioden (Steigerung der Sensitivität). Für den kleinen Ort Hasenberg l erweist sich ein 3-Stunden-Fester in den Morgen-Stunden als optimal.

Für München ist eine verhältnismäßige kleine Varianz der Biomarker-Befunde über den Tag festzustellen. Wegen des großen Einzugsgebietes ist der Peak in die Nacht-Zeit verschoben. Dagegen sind im kleinen Teisendorf (8.000 Einwohner) größere Schwankungen über den Tag zu beobachten und der Tagespeak liegt in den Morgenstunden.

Stellt man die Biomarker-Befunde der Kläranlagen in München denjenigen aus Hasenberg l gegenüber, fällt auf, dass die Werte in Hasenberg l deutlich höher liegen, obwohl die Inzidenzen in beiden Fällen ähnlich hoch sind. Das erklärt sich dadurch, dass das Abwasser in Hasenberg l weniger verdünnt und dadurch konzentrierter ist als in München. Hasenberg l verfügt über ein kleines Einzugsgebiet und eine Trennkanalisation.

Zu der Frage, welchen Einfluss das Oktoberfest auf die COVID-Fallzahlen hatte, konnte festgestellt werden, dass bereits kurz vor dem Oktoberfest im Süden Deutschlands die Biomarker-Werte anstiegen und das Oktoberfest für den folgenden starken Peak nicht maßgeblich verantwortlich zu sein schien. In den meisten Orten (Karlsruhe, Augsburg und München) wurde der Peak direkt nach dem Oktoberfest erreicht. Dieser Herbst-Peak lag deutlich über dem Sommer-Peak in den betrachteten Städten.

Eine weitere Aufgabe im Projekt betrifft die Untersuchung zusätzlicher Surrogat-Parameter, um Optionen für die Normalisierung zu schaffen. Hierzu gehören das PMMoV, der Ammonium-Stickstoff und TOC.

Voraussichtlich ab Februar 2023 werden die quantitativen Biomarker-Befunde und die Sequenzierdaten aus Bayern in die BayVOC-Plattform (Bayerische Plattform zur Überwachung von SARS-CoV-2 Varianten) integriert. Die Daten stehen dann öffentlich zur Verfügung und sind für jeden einsehbar (<https://www.bay-voc.lmu.de/>).

Fazit:

- Die Verläufe der Biomarkerbefunde und 7-Tages-Inzidenzen stimmten gut überein. Bei den Biomarkerbefunden zeigte sich ein zeitlicher Vorlauf.
- Für München war der Einfluss der Normalisierung gering.
- Eine 24h-Mischprobe macht nicht immer Sinn, weil die Probe durch niedrige Nacht-Konzentrationen verdünnt wird. Kleinere Zeitfenster, die den Tages-Peak erfassen, sind ggf. vorteilhaft.

Offener Austausch der Pilotstandorte und Ted-Fragen

Dr. Hetzel präsentierte die Ergebnisse der Ted-Umfrage.

Frage 1:

Würden Sie sich langfristig eine Anlaufstelle für Fragen wünschen?

- Ja.
- Ja, vor allem falls weitere Erreger und antibiotikaresistente Bakterien hinzukommen.
- Nein, das ist nur für neu hinzukommende Standorte erforderlich.
- Nein, langfristig wird das Abwassermonitoring sich so einspielen, dass das nicht mehr nötig ist.

Ergebnis zu Frage 1:

1. Würden Sie sich langfristig eine Anlaufstelle für Fragen wünschen? (Einzelne Wahl) *

46/46 (100%) haben geantwortet

| | |
|--|-------------|
| Ja. | (19/46) 41% |
| Ja, vor allem falls weitere Erreger und antibiotikaresistente Bakterien hinzukommen. | (26/46) 57% |
| Nein, das ist nur für neu hinzukommende Standorte erforderlich. | (0/46) 0% |
| Nein, langfristig wird das Abwassermonitoring sich so einspielen, dass das nicht mehr nötig ist. | (1/46) 2% |

Eine sehr deutliche Mehrheit von 98% ist der Meinung, dass weiterhin eine Anlaufstelle für die Kläranlagen-Standorte zur Verfügung stehen müsste, die alle Fragen rund um das Abwassermonitoring und die praktische Umsetzung beantworten kann.

Frage 2:

Würden Sie sich für ein abwasserbasiertes Routine-Überwachungssystem ein Austauschforum für alle Standorte wünschen?

- Ja, eine digitale Plattform und regelmäßige Video-Konferenzen wären dafür ideal.
- Ja, ich würde zusätzlich zu einem online-Angebot auch eine jährliche Präsenzveranstaltung befürworten.
- Nein, eine zentrale Anlaufstelle, wo man eventuelle Fragen beantwortet bekommt, reicht aus.
- Nein, ist nicht nötig.

Ergebnis zu Frage 2:

2. Würden Sie sich für ein abwasserbasiertes Routine-Überwachungssystem ein Austauschforum für alle Standorte wünschen? (Einzelne Wahl) *

46/46 (100%) haben geantwortet

| | |
|--|-------------|
| Ja, eine digitale Plattform und regelmäßige Video-Konferenzen wären dafür ideal. | (25/46) 54% |
| Ja, ich würde zusätzlich zu einem online-Angebot auch eine jährliche Präsenzveranstaltung befürwo... | (18/46) 39% |
| Nein, eine zentrale Anlaufstelle, wo man eventuelle Fragen beantwortet bekommt, reicht aus. | (3/46) 7% |
| Nein, ist nicht nötig. | (0/46) 0% |

93% der Befragten geben an, dass sie sich ein Forum für die Standorte, die sich am Abwassermonitoring beteiligen, wünschen, um Erfahrungen auszutauschen und auftretende Probleme anzusprechen. 39% fänden eine jährliche Präsenzveranstaltung in Ergänzung zu regelmäßigen Videokonferenzen und einer digitalen Austauschplattform sinnvoll.

Frage 3:

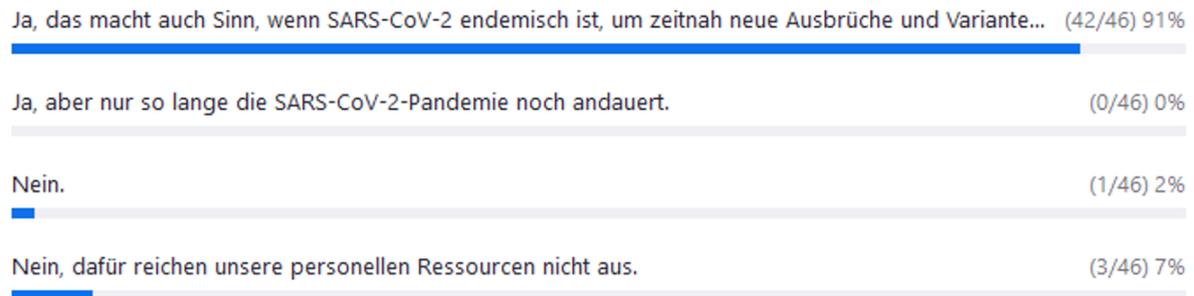
Können Sie sich vorstellen dauerhaft an dem Abwassermonitoring teilzunehmen?

- Ja, das macht auch Sinn, wenn SARS-CoV-2 endemisch ist, um zeitnah neue Ausbrüche und Varianten zu identifizieren.
- Ja, aber nur so lange die SARS-CoV-2-Pandemie noch andauert.
- Nein.
- Nein, dafür reichen unsere personellen Ressourcen nicht aus.

Ergebnis zu Frage 3:

3. Können Sie sich vorstellen dauerhaft an dem Abwassermonitoring teilzunehmen? (Einzelne Wahl) *

46/46 (100%) haben geantwortet



Eine deutliche Mehrheit von 91% der Befragten findet das Abwassermonitoring von SARS-CoV-2 auch dann noch sinnvoll, wenn das Virus endemisch geworden ist.

Diskussion:

Problematisch ist, dass es derzeit immer schwieriger wird, spezifische Mutationen für die diversen Omikron-Sublinien zu bestimmen. Beispielsweise lässt sich XBB kaum noch im Abwasser detektieren. Die Situation hat sich gegenüber der Anfangsphase der Pandemie, in der es immer nur eine dominierende Variante gab, grundlegend geändert. Die Bevölkerung ist inzwischen entweder geimpft, genesen oder beides. Dadurch ändern sich für das Virus die Spielregeln. Es ist zwar nicht komplett auszuschließen, dass erneut eine dominante Variante aufkommt, aber es ist eher als unwahrscheinlich einzustufen. Dennoch bleibt es relevant, weiterhin Mutationen im Auge zu behalten, die die Wirksamkeit monoklonaler Antikörper einschränken, worauf besonders Patienten angewiesen sind, die sich aus gesundheitlichen Gründen nicht impfen lassen können. Das Aufgabenfeld wird sich dadurch für die Variantenbestimmung zunehmend verändern.

In der Schweiz sind bereits auf der Homepage der EAWAG Ergebnisse aus dem Abwassermonitoring von Influenza A und B sowie RSV dargestellt. Auch in Österreich werden Influenzaviren und RSV als „Beifang“ mitbestimmt. Die etablierte SARS-CoV-2- Bestimmungsmethode funktioniert im Fall von Influenza sehr gut, beim RSV ist das Signal etwas unstet. Die Größenordnung, ausgedrückt in Genkopien pro Tag, ist bei beiden Viren ähnlich.

Die Abwasserseite kann mit dem Abwassermonitoring einen Beitrag zum Gesundheitswesen leisten, die Initiative, die Verantwortung und die Finanzierung sollten aber bei den Gesundheitsbehörden liegen. Dr. Brandt vom BMG informiert, dass der deutsche Bundestag dem BMG bis Ende 2024 rund 30 Mio. € für die Fortführung und Ausweitung des Abwassermonitorings zur Verfügung gestellt hat. Nach 2024 soll es auch weitergehen, jedoch ist dafür dann noch die Finanzierungsfrage zu klären. Es sollen rund 175 Standorte in das Abwassermonitoring einbezogen werden, die alle Daten für das Pandemie-Radar (Trendanalyse) liefern sollen. Die bisher in ESI-CorA involvierten Standorte sollen das Abwassermonitoring fortsetzen. Die Benennung der zusätzlichen Standorte erfolgt in den Bundesländern und in Absprache mit RKI und UBA. Man kann sich auch direkt an das RKI wenden (abwassersurveillance@rki.de). Dort erfährt man dann, wer der zuständige Landeskontakt ist. Die Sondierungen sind aktuell bereits erfolgt.

Vorstellung des Pandemie-Radars

Maria Helmrich, RKI

Das Pandemie-Radar ist ein Resultat des ESI-CorA-Projektes, einem gemeinsamen Projekt der drei Bundesministerien BMG, BMUV und BMBF.

Das RKI hat die Aufgabe, die Abwasserdaten mit den epidemiologischen Daten zu verknüpfen, die Daten zu bewerten und zu interpretieren. Dazu gehört es auch, die Bedarfe des ÖGD zu ermitteln und ein Konzept zur Unterstützung des ÖGD zu entwickeln. Außerdem geht es darum, eine digitale Infrastruktur aufzubauen und das Datenmanagement bzw. die Weiterleitung der Daten zu realisieren.

In der Neufassung des Infektionsschutzgesetzes ab 01.10.2022 ist es nach §13 Abs 2 vorgesehen, dass „(...) das Robert Koch-Institut und die Länder zur Überwachung übertragbarer Krankheiten Sentinel-Erhebungen und insbesondere Testungen und Befragungen bei bestimmten Personengruppen mit Einwilligung der jeweils betroffenen Person sowie Testungen an bestimmten Wasserproben in bestimmten Gebietskörperschaften durchführen können. (...) Sentinel-Erhebungen an Abwasserproben können in Zusammenarbeit mit ausgewählten Einrichtungen der Abwasserbeseitigung und -analytik stattfinden.“

Ergänzend wurde in §28b Abs 7 neu geregelt, dass die Länder beim Vorliegen einer konkreten Gefahr für die Funktionsfähigkeit des Gesundheitssystems oder der sonstigen kritischen Infrastruktur spezifische Schutzmaßnahmen erlassen können. Ein neuer, ergänzender Indikator für die Einschätzung dieser Situation ist das Abwassermonitoring.

Momentan werden Daten von 59 Standorten in das Pandemie-Radar eingespeist. In naher Zukunft sollen es 175 Standorte werden, die im Rahmen des AMELAG-Projektes von RKI und UBA federführend betreut werden.

Auf Bundesland-Ebene ist eine zentrale Datenerfassung, z.B. durch die Landesgesundheitsbehörde vorgesehen. Dort werden die Kläranlagen-bezogenen Daten und die laboranalytischen Daten für alle Standorte im Bundesland zusammengeführt und gesammelt an das UBA weitergeleitet. Das UBA führt die Qualitätssicherung und die Normalisierungsberechnung durch. Danach gehen die Daten weiter an das RKI, das die Trendanalyse vornimmt und die Daten im Pandemie-Radar und RKI-Wochenbericht darstellt.

Für die Trendberechnung werden die Messwerte in Genkopien pro Tag genutzt und der gleitende Mittelwert mit Hilfe der LOESS-Regression errechnet. Bei der Trendermittlung betrachtet man die prozentuale Veränderung eines Wertes im Vergleich zu dem Wert der Vorwoche. Bei einer Veränderung von $> 15\%$ im Vergleich zur Vorwoche, ist der Trend als steigend definiert, bei einer Veränderung von $< -15\%$ handelt es sich per Definition um einen fallenden Trend. Zwischen -15% und 15% handelt es sich um einen gleichbleibenden Trend. Diese drei Einschätzungen werden für jeden einzelnen Standort berechnet und dann aufsummiert. Das Ergebnis ist der

Bundesindikator, der im Pandemie-Radar dargestellt wird. Der Trendindikator errechnet sich aus der aktuellen Differenz zur Vorwoche im Vergleich zu allen bisherigen Vorwochendifferenzen im gesamten erfassten Zeitraum.

Zusätzlich finden sich die Daten aus dem Abwasser im RKI-Wochenbericht, in dem sie in Form einer Heat map dargestellt sind. Hier sind alle derzeit 59 Messstandorte einzeln aufgeführt. Dabei gibt es fünf Trendstufen:

- 1) fallend: < -15% Differenz zur Vorwoche
- 2) leicht fallend: -10% bis -5 % Differenz zur Vorwoche
- 3) unverändert: -5% bis 5% Differenz zur Vorwoche
- 4) leicht steigend: 5% bis 10% Differenz zur Vorwoche
- 5) steigend: > 15% Differenz zur Vorwoche

Derzeit erfolgt noch keine Gewichtung der Beprobungs-Standorte, wird aber noch diskutiert. Außerdem ist in der Überlegung, einen bundeslandspezifischen Indikator darzustellen. Auch zu den im Abwasser nachgewiesenen VoC's soll noch eine Darstellung folgen.

Online-PCR-Messung von SARS-CoV-2 im Abwasser

Martin Gerlach, Bayer AG

Studien belegen, dass eine Analytik von Abwässern ein Frühwarnsystem für Corona-Infektionen ermöglicht. Damit würde sich auch die Wirkung von Maßnahmen nachweisen lassen. In Deutschland gibt es rund 9.000 kommunale Kläranlagen. Wenn 800 davon dauerhaft getestet würden, spiegeln die Ergebnisse 80% der deutschen Bevölkerung wider. In einer Zusammenarbeit von *NAMUR* (Hersteller und Nutzerunternehmen der Prozessindustrie, die sich mit Automatisierung befassen) sowie Hochschulen würde eine automatisierte Onlinemesstechnik geplant und getestet. Im Anschluss könnte diese Planung kostenfrei den Kommunen inkl. einer fachlichen Unterstützung zur Ausbildung der entsprechenden Mitarbeiter angeboten werden.

Der Scope wäre, die Entwicklung einer automatisierten Onlinemesstechnik zur Detektion von SARS-CoV-2, also einer automatischen PCR inklusive Test. Das automatisch generierte Ergebnis wird schließlich an eine zentrale Stelle weitergeleitet. Am Beispiel dieses Prototypen würden ein Trainingskonzept und ein Betriebskonzept mit Instandhaltungsplan entwickelt, um damit zukünftige verantwortliche Mitarbeiter der Kommunen zu schulen. Evtl. würde ein „Technical Helpdesk“ für die ersten Monate konzipiert.

Der für Behörden und Kommunen bestünde der Vorteil darin, eine durch Spezialisten entwickelte online Messtechnik inkl. Trainingspaket zum zentralen oder dezentralen Betreiben in den Kommunen und damit eine präventive Detektionsmöglichkeit von Corona-Infektionszahlen und epidemiologischen Verläufen an die Hand zu bekommen.

Der Nachweis der Viren-Belastungen im Abwasser bietet eine deutlich frühere Möglichkeit, Cluster zu identifizieren und dementsprechend zielgerichtet und rechtzeitig Maßnahmen zu ergreifen.

Aktuell passiert dies manuell – sowohl die Probenahme, als auch die Laboranalyse. Es gibt also keine Real-Time-Daten und die vorhandenen Ressourcen (v.a. Laborpersonal) reichen nicht aus. Dementsprechend ist ein zeitnahes und flächendeckendes Frühwarnsystem nicht möglich.

Daher wäre zwingend ein vollautomatisches System, einschließlich der Probenvorbereitung, notwendig, welches entweder zentral an jeder (größeren) Kläranlage oder dezentral (je eine Anlage für mehrere kleinere Kläranlagen) steht.

Die *NAMUR*-Mitgliedsfirmen bieten:

- ihre Expertise (u.a. Lanxess, Bayer und BASF)
Basic & Detail Engineering / Automatisierungskonzept / Trainingsmaterial => alles als Open Source für jeden zur freien Verfügung => gerne auch Europaweit oder in "Entwicklungsländern"
- Finanzierung eines Prototypen
- Zusammenarbeit mit Hochschulen & Studierenden

Das Know how wird öffentlich für Firmen zur Verfügung gestellt, die auf dieser Basis Messtechnik anbieten und vermarkten können. Es gibt bereits eine Firma, die einen PCR-Prototypen liefern könnte. Zunächst ist aber ein Signal der öffentlichen Hand nötig, dass dieses Konzept gewünscht ist. *NAMUR* versteht ihr Angebot als gesellschaftlichen Beitrag.

Präsentation der DWA

Sabine Thaler, DWA Hennef

Der Stand des SARS-CoV-2-Monitorings auf Bundesebene stellt sich derzeit wie folgt dar:

- Das Abwassermonitoring von SARS-CoV-2 wird mit BMG-Mitteln zunächst bis Ende 2024 fortgesetzt.
- Dabei ist die Finanzierung zusätzlicher Standorte (bis 175) zu den ESI-CorA-Standorten, die nach und nach an den Start gehen, vorgesehen.
- Das neue Projekt unter der Leitung von RKI und UBA heißt *AMELAG* „Abwassermonitoring für die epidemiologische Lagebewertung“.

Das wesentliche Ziel ist es, die Bundesländer bei der Abwassersurveillance zu unterstützen. Dabei wird keine 100%-Abdeckung der Kläranlagen-Standorte in Deutschland angestrebt. Es geht darum, eine repräsentative Aussage auf Bundes- und Landesebene zu ermöglichen. Dazu werden geeignete Kläranlagen-Standorte in Zusammenarbeit mit den Bundesländern selektiert. Die Standortliste wird derzeit finalisiert, Verträge mit den Bundesländern folgen im nächsten Schritt. Berücksichtigung finden auch Points of Entry, z.B. Flughäfen (auch einzelne Flugzeuge). Es besteht ein Sonderauftrag an die TU Darmstadt, Prof. Lackner, am Flughafen Frankfurt Flugzeug- und Flughafenabwasser zu beproben und Sequenzierung zum Varianten-Nachweis durchzuführen.

Das UBA beabsichtigt den Bundesländern anzubieten, die Analytik zu organisieren. Genau bedeutet dies, dass keine zentrale Analytik durch den Bund vorzugehen ist, sondern das UBA die Analytik dezentral über ein ausgewähltes Labor für alle Standorte im jeweiligen Bundesland organisiert.

Auf Basis der EU-KommunalabwasserRL (s. Art 17) ist in Zukunft auch eine konzeptionelle Ausweitung des Abwassermonitorings auf andere Erreger und Schadstoffe vorgesehen.

Folgendes sieht die Revision der EU-KommunalabwasserRL in dem Vorschlag der RL vom 26.10.22 vor:

- Einführung abwasserbasierter Surveillance von Public Health-Parametern, die neben SARS-CoV-2 auch Poilo, Influenza, New emerging pathogens, AMR, zunehmend besorgniserregende Schadstoffe sowie sonstige Parameter, die von den zuständigen Behörden für öffentliche Gesundheit als relevant eingestuft werden, einbezieht
- eine intensive Kooperation von Behörden der öffentlichen Gesundheit mit zuständigen Behörden für kommunales Abwasser gewährleisten
- eine geeignete Plattform für Kommunikation zwischen den Behörden und mit der Öffentlichkeit schaffen

- im Falle des Notstands mindestens eine 70%-Bevölkerungsabdeckung mit Abwassermonitoring erzielen
- mind. eine Probe pro Woche für Kläranlagen ab 100.000 EW
- ab 1.1.2025: Überwachung von Antibiotikaresistenzen im Abwasser!

Mitte Februar 2023 wird sich der Bundesrat mit der Revision der KommunalabwasserRL befassen. Es ist bereits absehbar, dass die Umsetzung in Deutsches Recht nicht allein über AbwV möglich sein wird, sondern auch im Gesundheitssektor rechtlich verankert werden muss, in welcher Form ist jedoch noch unklar. Die Finanzierung der Umsetzung ist ebenfalls noch offen.

Für die fachliche Begleitung des Projektes *AMELAG* ist auf Bundesebene ein Lenkungsgremium gegründet worden, dem folgende Mitglieder angehören: BMG, BMUV, BMBF, UBA, RKI, VKU, DStGB, Vertreter BL (Gesundheits- und Abwasserseite), DWA ...

Das Lenkungsgremium soll dem Informationsaustausch dienen, beratend tätig sein, das Trendvorhaben begleiten und die Umsetzung der KommunalabwasserRL konzeptionell unterstützen. Es sind drei bis vier Sitzungen pro Jahr vorgesehen. Beschlüsse werden in dem Gremium nicht gefasst.

Zum Abschluss noch ein Hinweis zu *CoroMoni*:

Es laufen Gespräche mit dem BMG, das *CoroMoni*-Netzwerk und die Konferenzen über das Projektende (31.3.2023) hinaus fortzuführen. Neu hinzukommende Personen nehmen wir weiterhin gerne in den Verteiler auf.

8.2 Aufzeichnung der 8. Video-Konferenz

Die Aufzeichnung der Videokonferenz befindet sich auf der Onlineplattform/DWAdirekt/Ausschüsse Online/übergreifende Gremien/sonstige Ausschüsse/CoroMoni/Videokonferenzen/

Link: <https://edp.dwa.de/edpdwa/dkt/object?id=282577>