



COVID-Whole Genome Sequencing-Surveillance System Sentinel-Labore

**Ganzgenomsequenzierung zur Erfassung der
aktuellen Situation in Österreich betreffend
die Mutationsvarianten von SARS-CoV-2
*KW49 inkl. Monatsabschluss November 2021***

J. KLIKOVITS, P. WANKA, S. SCHINDLER, F. HEGER, P. HUFNAGL, A. INDRA, D.
SCHMID, B. BENKA

Zusammenfassung

Ziel des COVID-WGS-Surveillance Systems Sentinel-Labore ist es, einen Überblick über die aktuelle Situation in Österreich betreffend die Mutationen beziehungsweise Varianten von SARS-CoV-2 zu bekommen.

Im gesamten Zeitraum seit Start des Sentinel-Systems (KW14-KW49) konnten 20 verschiedene Varianten von SARS-CoV-2 durch Ganzgenomsequenzierung festgestellt werden. Darunter die Variants of Concern B.1.617.2 (Delta), B.1.351 (Beta) und P.1 (Gamma) sowie die Variant of Interest B.1.621 (My).

Im Zeitraum November 2021 wurde im Zuge des Projekts nur die Variant of Concern B.1.617.2 (Delta) inklusive den Delta-Sublineages bestimmt.

In der KW49 konnte ebenfalls nur eine Variante von SARS-CoV-2 festgestellt werden – Variant of Concern B.1.617.2 (Delta) inklusive den Delta-Sublineages. Delta bleibt somit die prädominante Variante von SARS-CoV-2.

Schlüsselwörter

COVID-19, SARS-CoV-2, Sentinel, Ganzgenomsequenzierung, Sequenzierung

Summary

The aim of the COVID-WGS-Surveillance System Sentinel Laboratories is to obtain an overview of the current situation in Austria regarding mutations and variants of SARS-CoV-2.

In the entire reporting period since the start of the Sentinel System (KW14-KW49), 20 different variants of SARS-CoV-2 could be detected by whole genome sequencing. Among them are Variants of Concern B.1.617.2 (Delta), B.1.351 (Beta) and P.1 (Gamma) as well as Variant of Interest B.1.621 (My).

In the reporting period of November 2021, Variant of Concern B.1.617.2 (Delta) – as well as the Delta-sublineages – was the only variant found in the course of the project.

In the current reporting week (KW49), also, only one variant of SARS-CoV-2 could be detected – Variant of Concern B.1.617.2 (Delta) including its sub lineages. Therefore, Delta remains the predominant variant of SARS-CoV-2.

Keywords

COVID-19, SARS-CoV-2, sentinel, whole genome sequencing, sequencing

COVID-WGS-System Sentinel-Labore

Folgende teilnehmende Laboratorien des COVID-WGS-Systems Sentinel-Labore senden auf regelmäßiger Basis Proben ein:

- Kärnten: ILV Kärnten
- Steiermark: Medizinische Universität Graz
- Vorarlberg: Landeskrankenhaus Feldkirch
- Tirol: Institut für Virologie der Universität Innsbruck
- Salzburg: Medilab Mustafa
- Oberösterreich: Krankenhaus Wels-Grieskirchen
- Niederösterreich: Zentrallabor St. Pölten
- Burgenland: AGES IMED-VIE
- Wien: AGES IMED-VIE, Labor Doz. DDr. Stefan Mustafa (Flughafenproben)

Die Proben, die im Zuge des Projekts auf verschiedene Varianten von SARS-CoV-2 analysiert werden, stammen aus den 9 Bundesländern sowie vom Flughafen Wien als zehnter Teilnehmer. Die Proben werden in der AGES Wien Währinger Straße gesammelt, wo deren RNA eluiert wird. Einmal pro Woche werden die Proben schließlich an das CeMM weitergeleitet, wo eine Ganzgenomsequenzierung stattfindet.

Das CeMM (Research Center for Molecular Medicine of the Austrian Academy of Sciences) führt bereits seit Anfang vergangenen Jahres Ganzgenomsequenzierungen von auffälligen Proben aus verschiedenen Laboratorien und Instituten in ganz Österreich durch. Dabei wird – anders als bei einer herkömmlichen PCR auf Mutationen – das gesamte Genom sequenziert und im Anschluss analysiert, um so das Auftreten von verschiedenen Varianten von SARS-CoV-2 zu erkennen sowie etwaige Entwicklungen und Veränderungen in diesem Bereich sichtbar zu machen.

Bei den Proben, die im Zuge des COVID-WGS-Systems Sentinel-Labore getestet werden, handelt es sich nicht zwangsläufig um Proben, bei denen konkret die Vermutung auf eine Mutation besteht, sondern vielmehr um stichprobenartig ausgewählte SARS-CoV-2 positive Proben. Durch das COVID-WGS-System Sentinel-Labore wird die Gesamtsituation betreffend das Vorkommen von Mutationen beziehungsweise Varianten von SARS-CoV-2 in Österreich über einen längeren Zeitraum erfasst sowie überblicksmäßig präsentiert.

Ergebnisse – kumuliert KW14-KW49

Es wurden insgesamt 2641 Proben aus 9 Bundesländern bzw. dem Flughafen Wien zur Ganzgenomsequenzierung eingesandt – 347 Proben aus Vorarlberg, 340 aus Kärnten, 328 aus Oberösterreich, 317 aus Wien, 314 aus dem Burgenland, 294 aus Salzburg, 267 aus der Steiermark, 197 aus Niederösterreich, 88 aus Tirol sowie 149 Proben vom Flughafen Wien. Bei den Ergebnissen der Ganzgenomsequenzierung besagter Proben handelt es sich um folgende Varianten:

- B.1¹ – detektiert bei 6 Proben, entspricht 0,3 % der erfassten Proben
- B.1.1² – detektiert bei 6 Proben, entspricht 0,3 % der erfassten Proben
- B.1.1.10³ – detektiert bei 1 Probe, entspricht 0 % der erfassten Proben
- B.1.1.318⁴ – detektiert bei 2 Proben, entspricht 0,1 % der erfassten Proben
- B.1.1.370⁵ – detektiert bei 2 Proben, entspricht 0,1 % der erfassten Proben
- B.1.1.7⁶ – detektiert bei 1016 Proben, entspricht 40 % der erfassten Proben
- B.1.177⁷ – detektiert bei 1 Probe, entspricht 0 % der erfassten Proben
- B.1.258⁸ – detektiert bei 1 Probe, entspricht 0 % der erfassten Proben
- B.1.258.17⁹ – detektiert bei 8 Proben, entspricht 0,3 % der erfassten Proben
- B.1.351¹⁰ – detektiert bei 5 Proben, entspricht 0,2 % der erfassten Proben
- B.1.433¹¹ – detektiert bei 1 Probe, entspricht 0 % der erfassten Proben
- B.1.525¹² – detektiert bei 3 Proben, entspricht 0,1 % der erfassten Proben
- B.1.526¹³ – detektiert bei 1 Probe, entspricht 0 % der erfassten Proben
- B.1.617.2¹⁴ – detektiert bei 1438 Proben, entspricht 54 % der erfassten Proben
- B.1.621¹⁵ – detektiert bei 2 Probe, entspricht 0,1 % der erfassten Proben
- B.1.623¹⁶ – detektiert bei 2 Proben, entspricht 0,1 % der erfassten Proben

¹ https://cov-lineages.org/lineages/lineage_B.1.html

² https://cov-lineages.org/lineages/lineage_B.1.1.html

³ https://cov-lineages.org/lineages/lineage_B.1.1.10.html

⁴ https://cov-lineages.org/lineages/lineage_B.1.1.318.html

⁵ https://cov-lineages.org/lineages/lineage_B.1.1.370.html

⁶ https://cov-lineages.org/lineages/lineage_B.1.1.7.html

⁷ https://cov-lineages.org/lineages/lineage_B.177.html

⁸ https://cov-lineages.org/lineages/lineage_B.1.258.html

⁹ https://cov-lineages.org/lineages/lineage_B.1.258.17.html

¹⁰ https://cov-lineages.org/lineages/lineage_B.1.351.html

¹¹ https://cov-lineages.org/lineages/lineage_B.1.433.html

¹² https://cov-lineages.org/lineages/lineage_B.1.525.html

¹³ https://cov-lineages.org/lineages/lineage_B.1.526.html

¹⁴ https://cov-lineages.org/lineages/lineage_B.1.617.2.html

¹⁵ https://cov-lineages.org/lineages/lineage_B.1.621.html

¹⁶ https://cov-lineages.org/lineages/lineage_B.1.623.html

- C.36¹⁷ – detektiert bei 3 Proben, entspricht 0,1 % der erfassten Proben
- P.1¹⁸ – detektiert bei 10 Proben, entspricht 0,4 % der erfassten Proben
- R.1¹⁹ – detektiert bei 4 Proben, entspricht 0,2 % der erfassten Proben

Bei 129 Proben (5 % der erfassten Proben) konnte kein eindeutiges Ergebnis bestimmt werden.

Im Folgenden ist das absolute Vorkommen der Varianten für den gesamten Projektzeitraum seit 02.04.2021 (KW14-KW49) dargestellt. Abbildung 1 zeigt das Auftreten der Varianten Alpha (B.1.1.7) und Delta (B.1.617.2) im Vergleich zu den restlichen detektierten Varianten, die unter „Andere“ zusammengefasst werden. Abbildung 2 schlüsselt die Ergebnisse für „andere“ Varianten im gesamten Projektzeitraum auf.

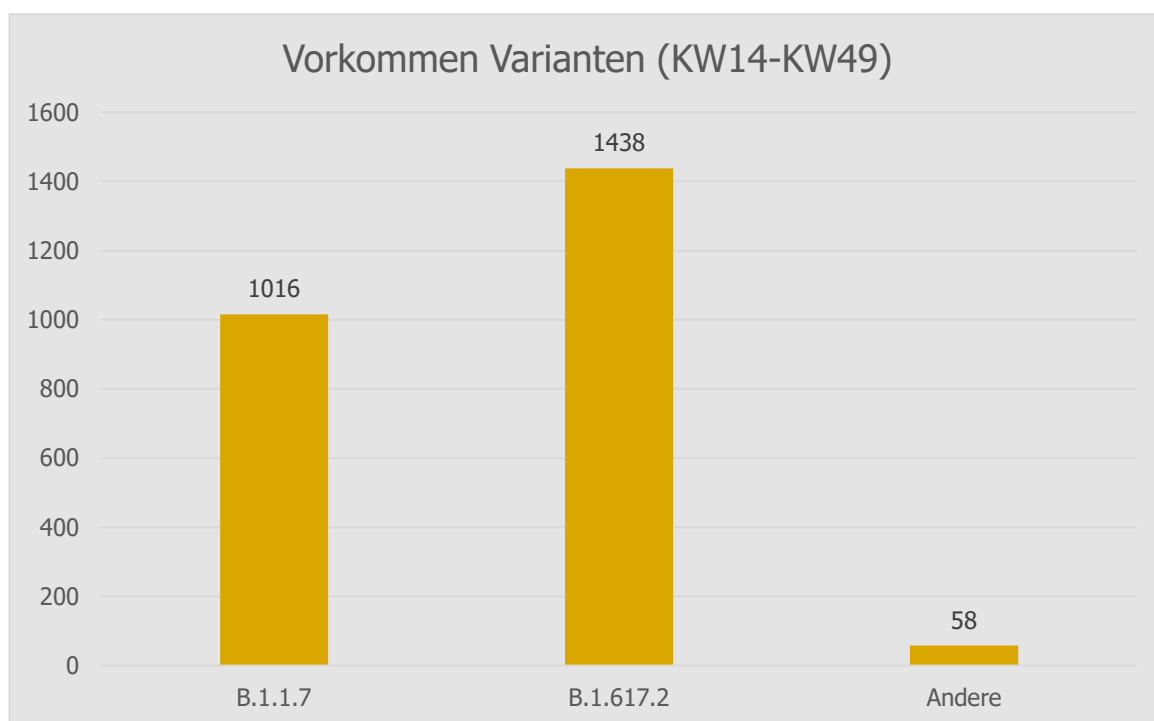


Abbildung 1: Absolutes Vorkommen der Varianten seit 02.04.2021

¹⁷ https://cov-lineages.org/lineages/lineage_C.36.html

¹⁸ https://cov-lineages.org/lineages/lineage_P.1.html

¹⁹ https://cov-lineages.org/lineages/lineage_R.1.html

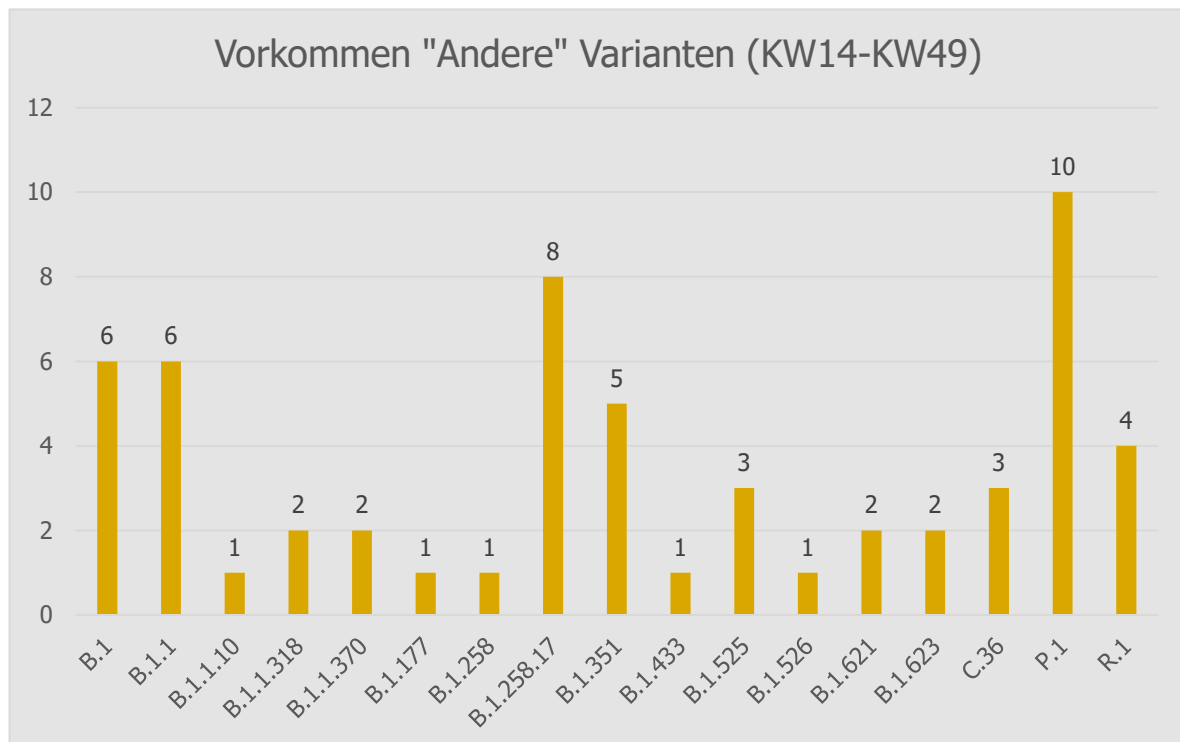


Abbildung 2: Absolutes Vorkommen „Andere“ Varianten seit 02.04.2021

Ergebnisse November 2021

Es wurden im Zeitraum November 2021 insgesamt 317 Proben aus den 9 Bundesländern bzw. vom Flughafen Wien eingesandt – 47 Proben aus Salzburg, je 40 Proben aus dem Burgenland, Niederösterreich, Oberösterreich, Vorarlberg und Wien, 22 Proben aus Tirol, 20 Proben aus der Steiermark, 10 Proben aus Kärnten sowie 18 Proben vom Flughafen Wien. Bei den Ergebnissen der Ganzgenomsequenzierung besagter Proben handelt es sich um folgende Varianten:

- B.1.617.2 – detektiert bei 300 Proben, entspricht 95 % der erfassten Proben

Bei 17 Proben (5 % der erfassten Proben) konnte kein eindeutiges Ergebnis bestimmt werden.

Abbildung 3 zeigt das Entnahmedatum der Proben, deren Ergebnisse im Berichtszeitraum November 2021 dargestellt werden. Man kann erkennen, dass der Entnahmezeitpunkt der Proben zurückliegt und die Daten somit nicht die aktuelle Situation beschreiben, sondern eine Retrospektive darstellen.

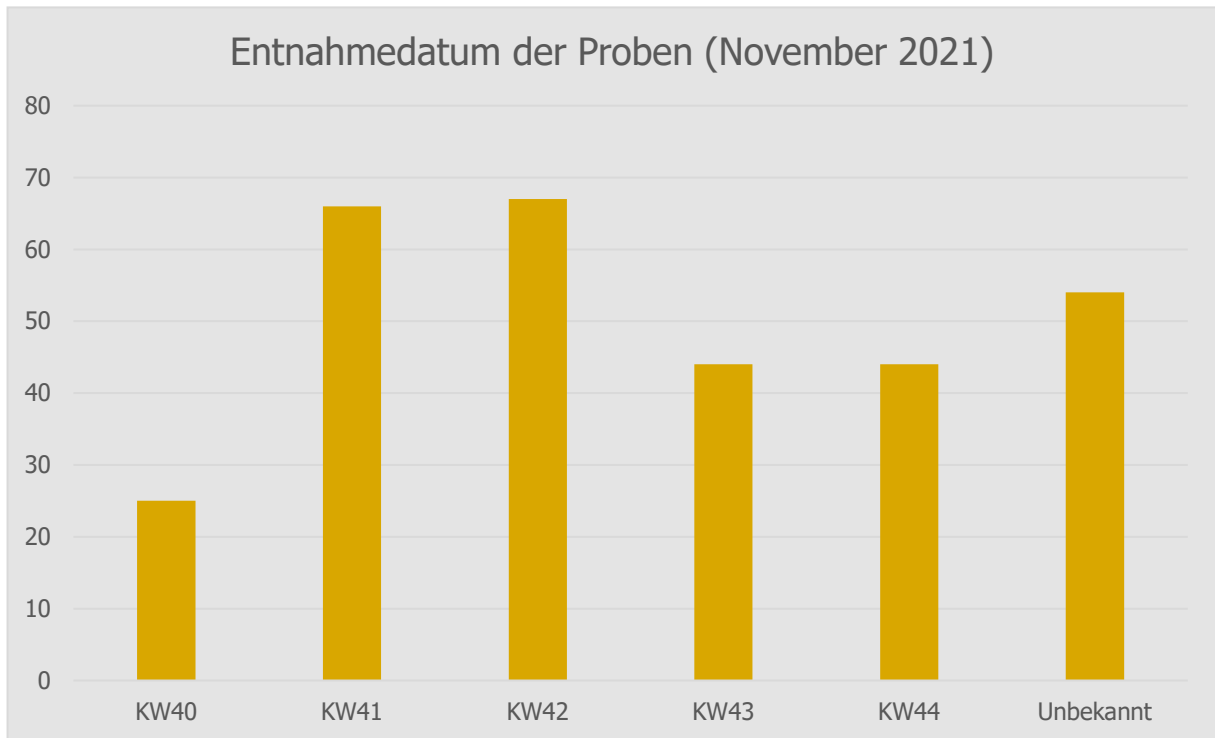


Abbildung 3: Entnahmedatum der Proben für den Berichtszeitraum November 2021

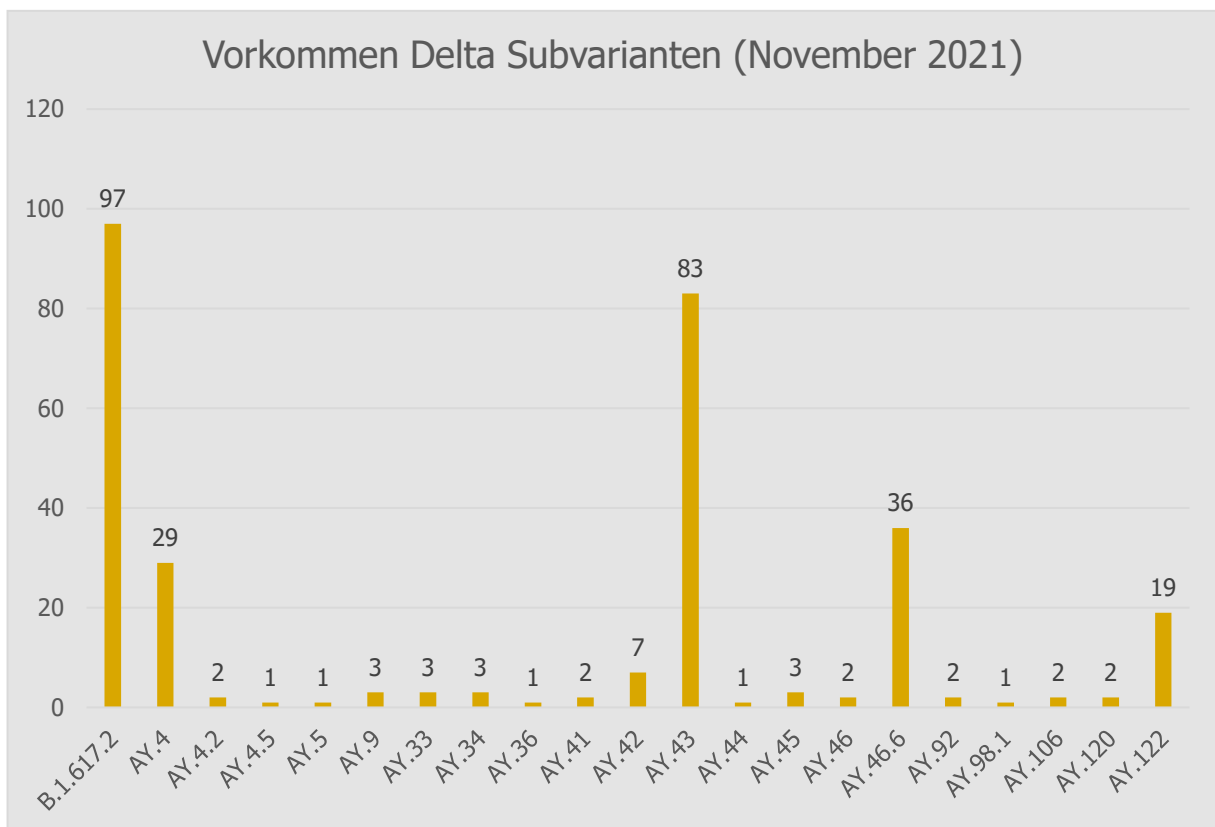


Abbildung 4 zeigt das absolute Vorkommen der Delta Subvarianten im Zeitraum November 2021

Ergebnisse KW49

Es wurden Proben aus 7 Bundesländern eingesandt – 30 Proben aus der Steiermark, 20 Proben aus Tirol, je 10 Proben aus dem Burgenland, Oberösterreich, Vorarlberg und Wien sowie 5 Proben aus Salzburg. Die Ergebnisse der Ganzgenomsequenzierung zeigten folgende Variante:

- B.1.617.2 – detektiert bei 88 Proben, entspricht 93 % der erfassten Proben

Bei 7 Proben (7 %) konnte kein eindeutiges Ergebnis festgestellt werden.

Abbildung 5 zeigt das Entnahmedatum der Proben, deren Ergebnisse im aktuellen Berichtszeitraum (KW49) dargestellt werden. Man kann erkennen, dass der Entnahmezeitpunkt der Proben in den meisten Fällen mindestens 4 Wochen zurückliegt und die Daten somit nicht die aktuelle Situation beschreiben, sondern eine Retrospektive darstellen.

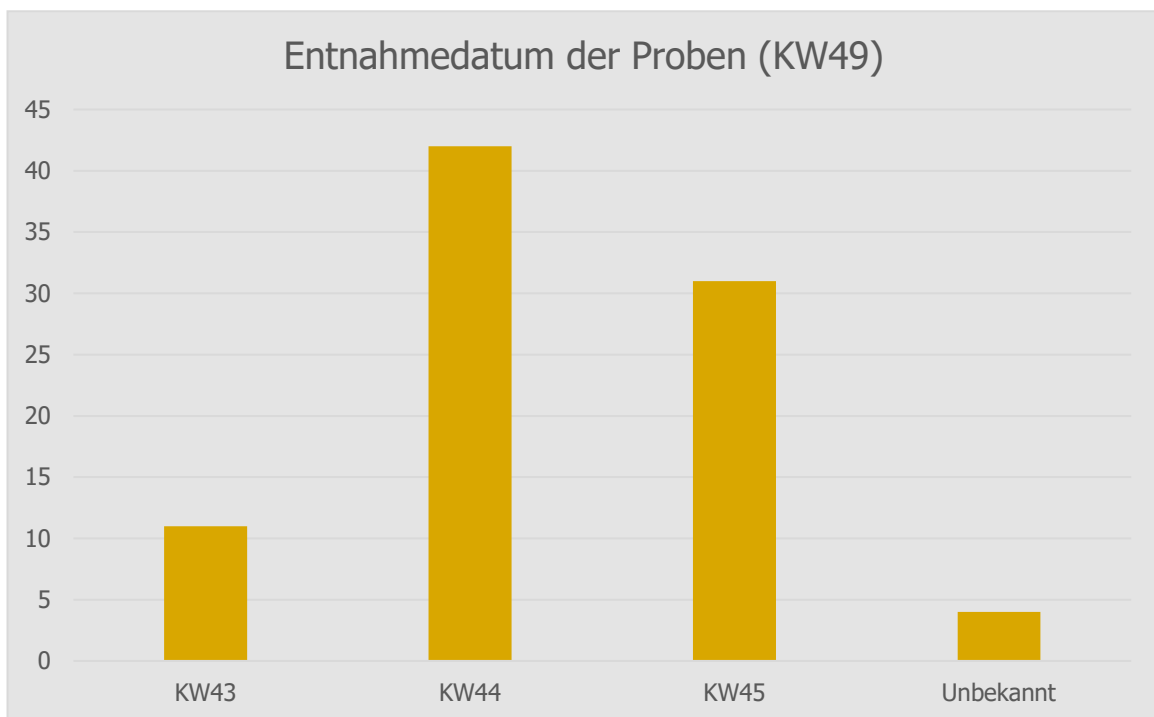


Abbildung 5: Entnahmedatum der Proben des aktuellen Berichtszeitraums (KW49)

Gefundene Varianten KW49

In der Berichtwoche KW49 konnte im Zuge des Projekts mit Sentinel-Laboratorien eine Variante von SARS-CoV-2 durch Ganzgenomsequenzierung festgestellt werden. Bei der Variante B.1.617.2 handelt es sich um die sogenannte Delta Variante (Variant of Concern) mit den Mutationen L452R und P681R. Die Variante zeigt keine Mutation an der Aminosäureposition 501 des S-Gens.

Die Variants of Concern B.1.351 (Beta) und P.1 (Gamma) sowie die Variants of Interest C.37 (Lambda) und B.1.621 (My) konnten in der Berichtwoche (KW49/2021) in keiner der 95 untersuchten Proben nachgewiesen werden.

Die Proben, die in der aktuellen Berichtwoche der Variante B.1.617.2 zugeordnet wurden, lassen sich wie in Abbildung 6 dargestellt in deren Sublineages AY.4, AY.5.4, AY.9.2, AY.41, AY.42, AY.43, AY.46, AY.46.6, AY.98.1, AY.120, AY.120.2.1, AY.122 sowie AY.125 unterteilen.

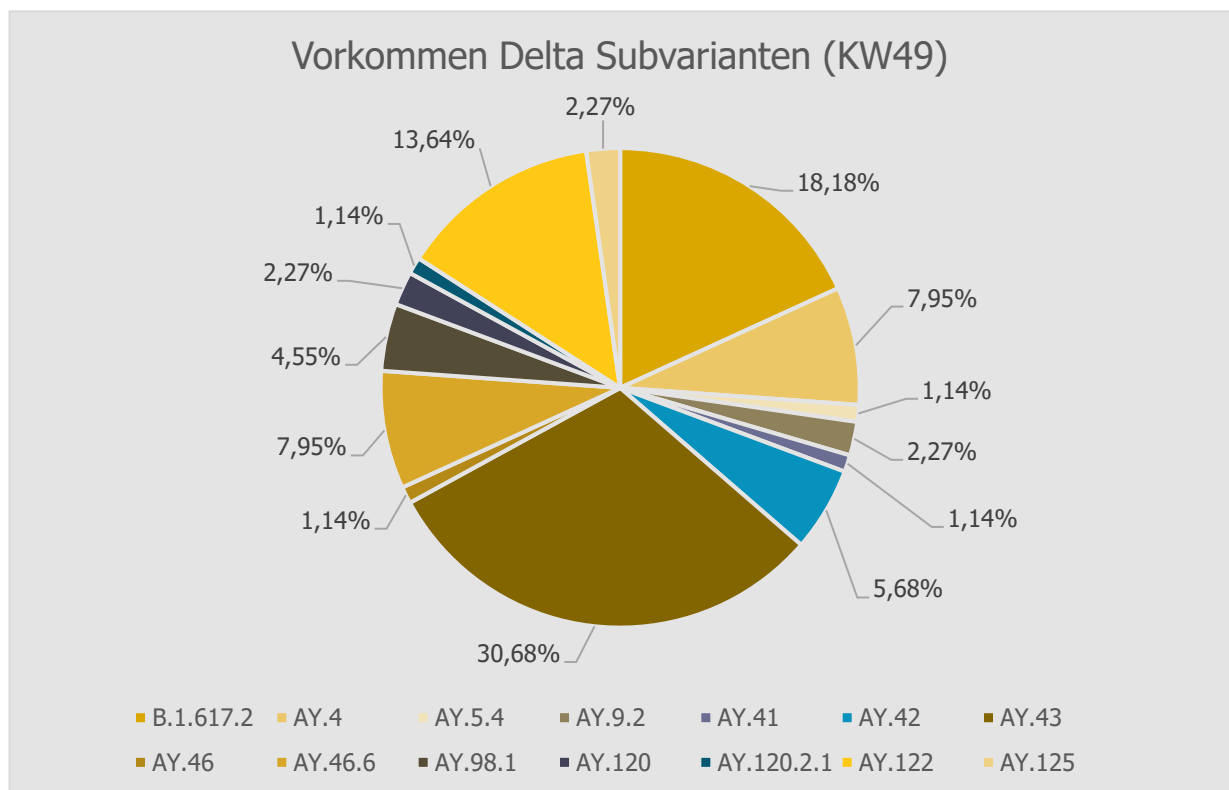


Abbildung 6: Relatives Vorkommen Delta Sublineages (KW49)

Sonstiges

Delta (B.1.617.2) und Sublineages (AY.1-AY.127)

Die Entwicklungen der letzten Monate spiegeln sich in den zahlreichen Delta Sublineages (AY.1-AY.127) wider. Bis dato konnte bei keiner der in den Sublineages vorhandenen Mutationen eine erhöhte Transmissibilität festgestellt werden.

Abbildung 7 und Abbildung 8 zeigen das Vorkommen der Delta Sublineages in österreichischen Proben in der KW49 nach Bundesland. Die Daten beziehen sich auf die im Zuge des Sentinel Projekts sequenzierten Proben des aktuellen Berichtszeitraums.

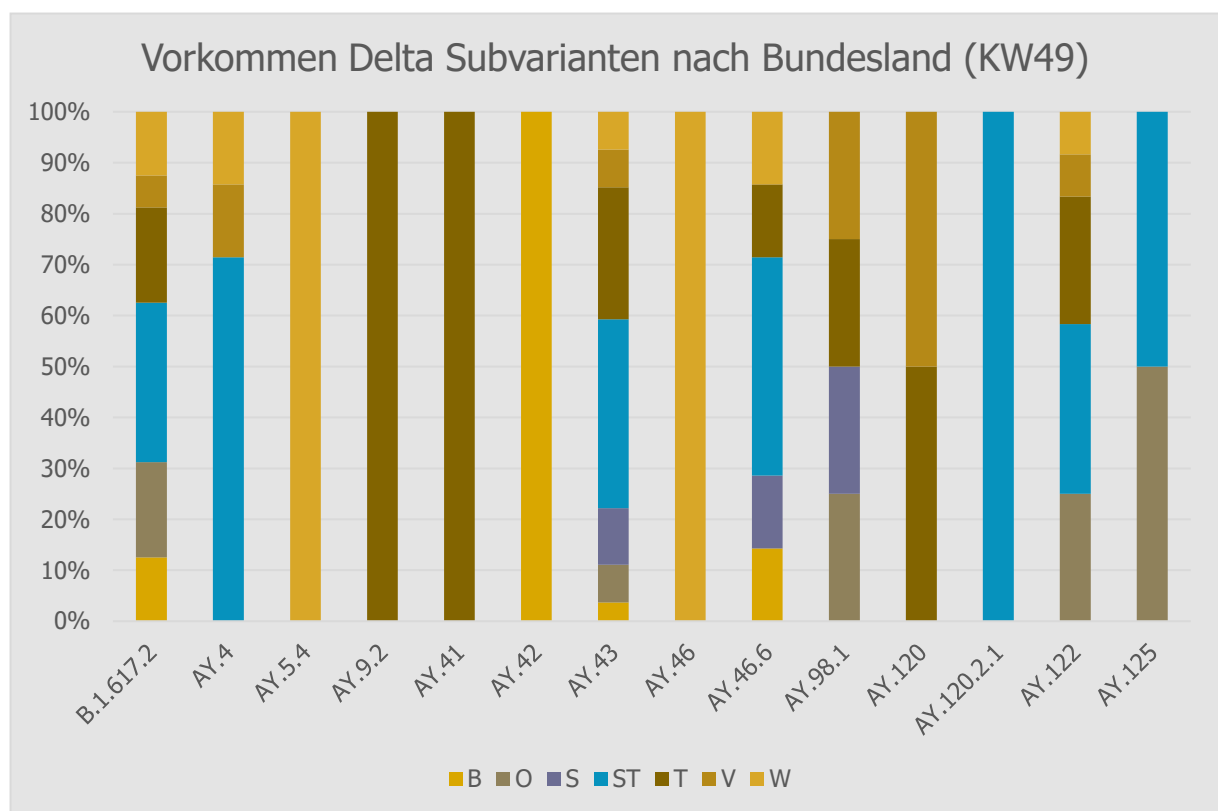


Abbildung 7: Vorkommen Delta Sublineages nach Bundesland

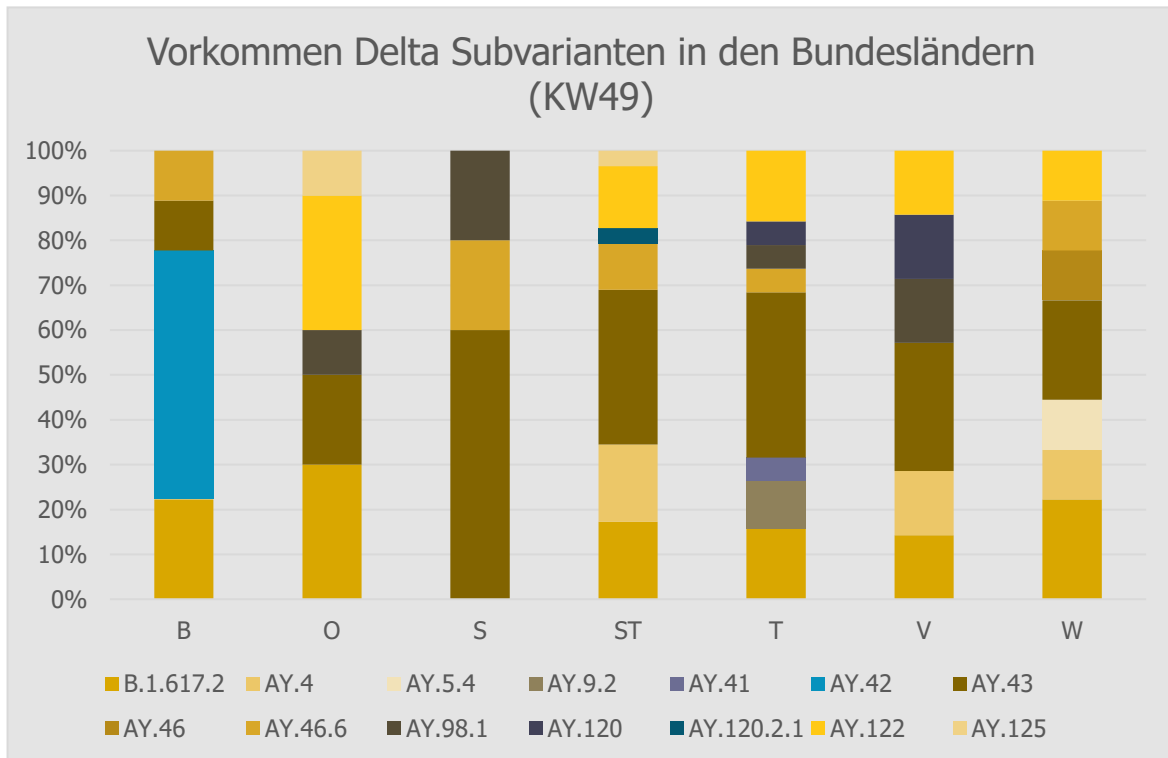


Abbildung 8: Vorkommen Delta Sublineages in den Bundesländern nach Variante

Mutationscreening Schmelzkurvenanalyse

Die Mutationsscreening Methoden, die aktuell angewandt werden und in Hinblick auf Omikron Verdachtsfälle am effektivsten sind, sind N501/E484 und S371/S373. Im Folgenden sind die Schmelzkurven der entsprechenden Mutationsscreening-Methoden dargestellt.

Mutationscreening N501/E484

Abbildung 9 zeigt die N501 und E484 spezifischen Schmelzkurven des Mutationscreenings. Bei der Omikron Variante zeigen sich hier Peaks bei etwa 46°C für E484A und 57°C für N501Y. Bei der Delta Variante sind die Peaks bei ca. 55°C für E484 und 60°C für N501 und somit sind die beiden Varianten gut zu unterscheiden.

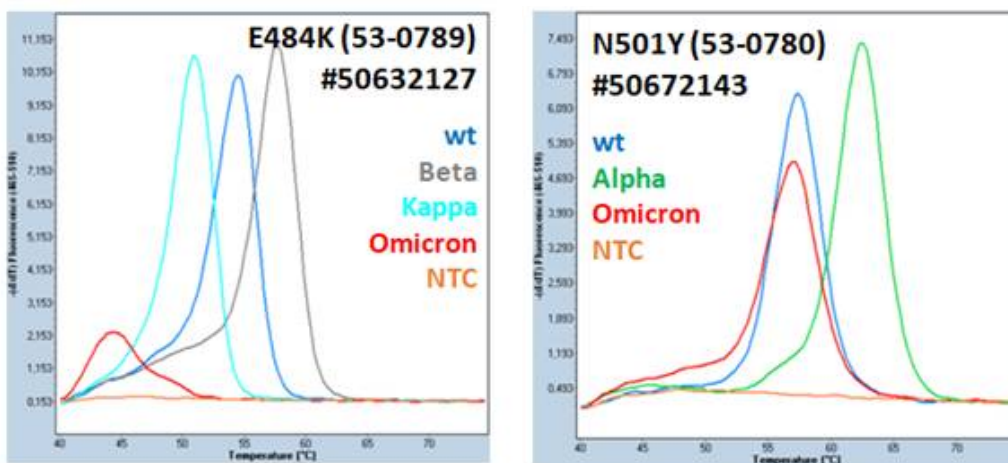


Abbildung 9: Schmelzkurven N501+E484²⁰

Mutationscreening S371/S373

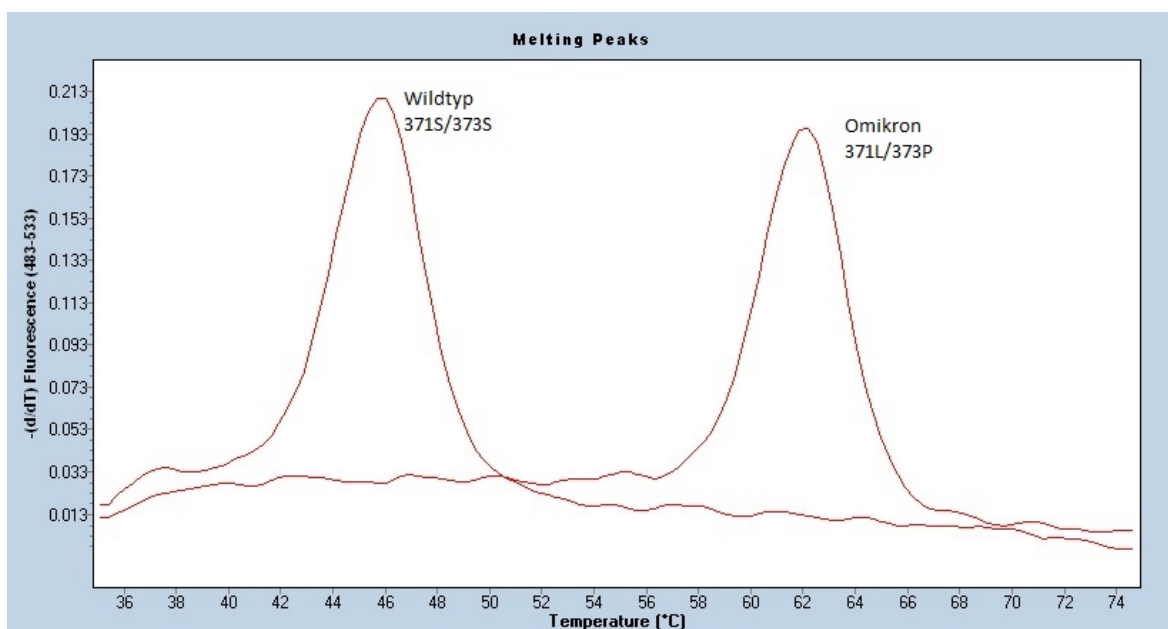


Abbildung 10: Schmelzkurven S371/S373

²⁰ Quelle: TIB Molbiol, Berlin: <https://www.tib-molbiol.de/>

Omikron Sublineages BA.1 und BA.2

Die Omikron-Variante B.1.1.529 wurde kürzlich in die beiden Varianten BA.1 und BA.2 gegliedert, welche sich an mehreren Positionen – verteilt über das gesamte Genom – unterscheiden. Der wesentliche Unterschied der beiden Sublineages ist das Vorhandensein der Deletion an der Position 69 des S-Gens.

Auf GISAID sind alle 17 aus Österreich hochgeladenen Omikron-Sequenzen aus Österreich der Variante BA.1 zuzuordnen. Weltweit wurden auf GISAID bisher 1604 Sequenzen der Variante BA.1 zugewiesen, lediglich 7 Sequenzen der Variante BA.2 (Stand 10.12.21 16:00).

In Tabelle 1 sind die Spike-Mutationen der beiden Varianten ersichtlich.²¹

Tabelle 1: Mutationen BA.1 und BA.2

	BA.1	BA.2
HV69del	+	-
S371L	+	-
S373P	+	+
E484A	+	+
N501Y	+	+
Y505H	+	+
P681H	+	+

²¹ <https://github.com/cov-lineages/pango-designation/issues/361>

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Absolutes Vorkommen der Varianten seit 02.04.2021.....	6
Abbildung 2: Absolutes Vorkommen „Andere“ Varianten seit 02.04.2021	7
Abbildung 3: Entnahmedatum der Proben für den Berichtszeitraum November 2021..	8
Abbildung 4 zeigt das absolute Vorkommen der Delta Subvarianten im Zeitraum November 2021	8
Abbildung 5: Entnahmedatum der Proben des aktuellen Berichtszeitraums (KW49)....	9
Abbildung 6: Relatives Vorkommen Delta Sublineages (KW49).....	10
Abbildung 7: Vorkommen Delta Sublineages nach Bundesland	11
Abbildung 8: Vorkommen Delta Sublineages in den Bundesländern nach Variante ..	12
Abbildung 9: Schmelzkurven N501+E484.....	13
Abbildung 10: Schmelzkurven S371/S373	13