



Update der Hamburg Surveillance Plattform *HHSurv* zur Verbreitung von SARS-CoV-2 Varianten in Hamburg

In der Kalenderwoche 44 (KW44, 01.11.21-07.11.21) betrug der per PCR nachgewiesene Anteil der VOC (variant of concern / besorgniserregende Variante) **Delta** der Abstammungslinie B.1.617.2 unter 133 untersuchten Stichproben aus Hamburg rund **98%** (Abbildung 1). Hinweise auf das Vorliegen anderer VOCs oder VOIs (unter Beobachtung stehende Varianten) unter den übrigen Proben (n=3) ergaben sich nicht. Bei vier der als Delta klassifizierten Proben legen die PCR Ergebnisse jedoch das zusätzliche Vorliegen der Mutation **E484Q** nahe. Dabei handelt es sich um eine **Fluchtmutation** die (ähnlich wie die Mutation E484K) mit einer verringerten Wirksamkeit von Antikörpern in Verbindung gebracht wird. Die Bestätigung dieser Ergebnisse durch Gesamtgenomsequenzierung steht noch aus.

Die Ergebnisse der Sequenzierung aus der Vorwoche (KW43) bestätigten, dass alle 133 untersuchten Proben der Delta Variante zuzuordnen waren. Fälle mit zusätzlichen E484K oder E484Q Mutationen waren unter diesen Proben nicht zu beobachten.

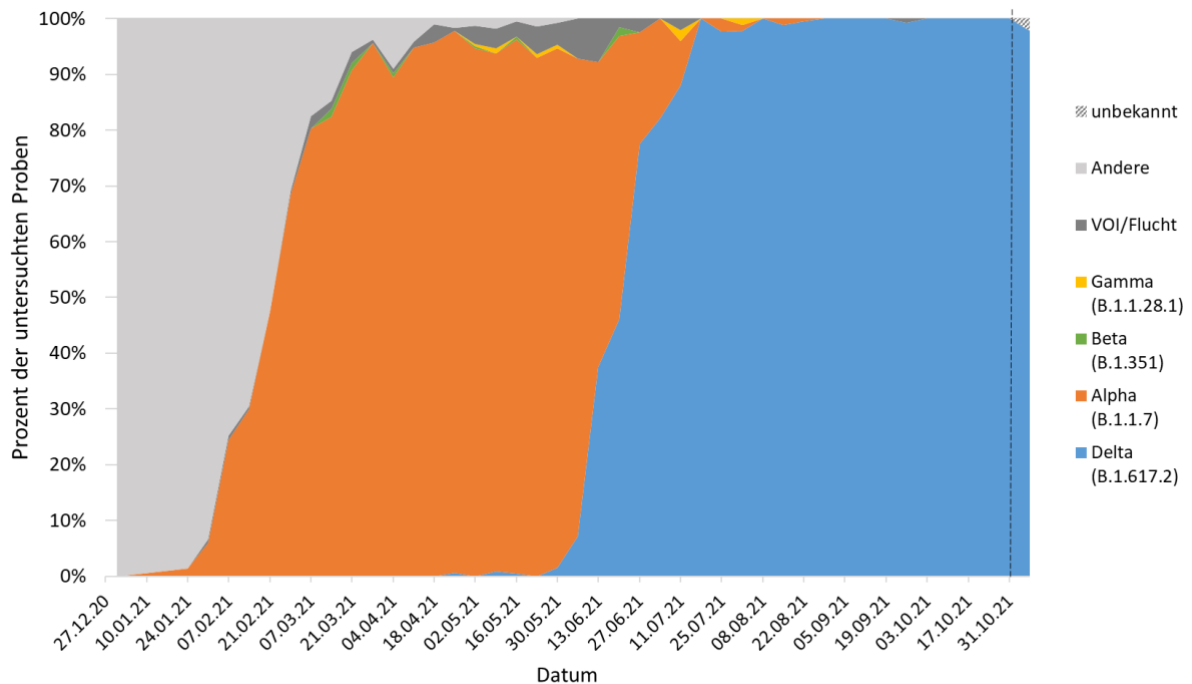


Abbildung 1: Entwicklung des prozentualen Anteils verschiedener Abstammungslinien in SARS-CoV2-positiven Proben aus Hamburg. Die farbig markierten Flächen geben den durch Sequenzierung und/oder PCR-Untersuchungen ermittelten Anteil der rechts aufgeschlüsselten VOCs wieder. Der Anteil der laut RKI derzeit als unter Beobachtung stehende Varianten (VOIs, variants of interest) eingestuft Abstammungslinien, sowie anderer Varianten mit einer oder mehrerer der in Tabelle 2 aufgeführten Fluchtmutationen ist durch die dunkelgrau markierte Fläche wiedergegeben. Die hellgraue Fläche stellt alle anderen Abstammungslinien dar. Die Abbildung beruht auf der Sequenzierung von insgesamt 6019 bis zum Ende der Kalenderwoche 43 (markiert durch die vertikal verlaufende Linie) gesammelten Proben, sowie der vorläufigen PCR Untersuchung von 133 Stichproben aus Kalenderwoche 44. Da die PCR nur die Bestimmung der dargestellten VOCs, nicht aber die Unterscheidung anderer Varianten erlaubt, ist der Anteil aller weiteren Proben aus KW44 bis zum Abschluss der Sequenzierung als schraffierte Fläche dargestellt.

Von den insgesamt 6469 im Rahmen von *HHSurv* untersuchten Stichproben wurden bislang 6019 Proben mittels Gesamtgenom-Sequenzierung analysiert (Abbildung 1, Tabellen 1 und 2). Darunter befanden sich insgesamt 2375 Proben mit den sogenannten Fluchtmutationen S:F490S, S:E484K, S:E484Q oder S:L452R. Dabei handelt es sich um Mutationen, die dem Virus aller Wahrscheinlichkeit nach ein zumindest teilweises Unterlaufen der Immunantwort (sogenannte *Immunflucht*) erlauben. Solche Mutationen sind typisch für bestimmte VOCs oder VOIs (z.B. S:E484K für Beta und Gamma, oder S:L452R für Delta), sie können jedoch auch im Hintergrund anderer Abstammungslinien auftreten. Die im Rahmen von *HHSurv* entsprechend verzeichneten Fälle sind in den Tabellen 1 und 2 nach Abstammungslinie bzw. Art der Mutation aufgeschlüsselt.

Prinzipiell ist bei steigender Hintergrundimmunität der Bevölkerung zu erwarten, dass Varianten mit Fluchtmutationen einen Vorteil erlangen. Die ursprüngliche Alpha Variante besitzt zwar keine der oben aufgeführten Fluchtmutationen, konnte sich jedoch in der ersten Hälfte des Jahres 2021 trotzdem aufgrund ihrer erhöhten Übertragbarkeit gegenüber herkömmlichen Varianten durchsetzen. Bereits in den Wochen vor dem Auftreten der Delta Variante war zu verzeichnen, dass es sich bei denjenigen Fällen, in denen nicht die ursprüngliche VOC Alpha nachgewiesen werden konnte, fast ausschließlich um verschiedene Varianten mit Fluchtmutationen (einschließlich der VOI Mu) handelte. Ebenso konnten wir in diesem Zeitraum wiederholt Fälle beobachten, in denen die Fluchtmutationen E484K und F490S zusätzlich im Hintergrund der Alpha Variante aufgetreten waren (siehe Tabelle 1).

Während sich diese Varianten jedoch nicht durchsetzen konnten, kam es in der zweiten Jahreshälfte zu einer schnell voranschreitenden Verdrängung von Alpha (und anderer Varianten) durch die VOC Delta. Diese Beobachtung dürfte mit der Tatsache zusammenhängen, dass Delta im Vergleich zu Alpha eine etwa anderthalbfach höhere Übertragbarkeit aufweist. Das Vorhandensein der Fluchtmutation S:L452R erlaubt ihr darüber hinaus vermutlich eine zumindest teilweises Unterlaufen der Immunantwort. Ob das zusätzliche Auftreten der Mutationen S:E484K oder S:E484Q die Delta Variante zu einer verstärkten Immunflucht befähigt ist derzeit unbekannt.

Vor diesem Hintergrund ist auch weiterhin eine erhöhte Aufmerksamkeit gegenüber der Delta Variante geboten, insbesondere um Veränderungen in der Ausbreitung von Untervarianten, oder das mögliche Auftreten zusätzlicher Mutationen, welche die Eigenschaften dieser VOC maßgeblich beeinflussen könnten, zu beobachten.

Hamburg, den 24.11.2021

Prof. Dr. Adam Grundhoff
Leibniz-Institut für Experimentelle Virologie
(HPI)



Prof. Dr. Nicole Fischer
Universitätsklinikum Hamburg-Eppendorf



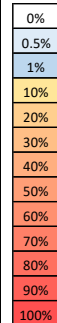
Beta, Gamma Zuerst in Südafrika (Beta, Abstammungslinie B.1.351) bzw. Brasilien (Gamma, Abstammungslinie P.1) beschriebene VOCs mit einer Reihe von Mutationen, welche neben einer leichteren Übertragbarkeit auch dazu führen, dass gegen herkömmliche Varianten gebildete Antikörper weniger wirksam sind. Neben der Mutation S:N501Y besitzen diese Varianten unter anderem die Mutation S1:E484K, welcher bei dieser sogenannte Immunevasion eine wichtige Rolle zugeschrieben wird. Derzeit verfügbare Impfstoffe sind gegen diese Varianten weniger gut wirksam.

Delta Zuerst in Indien beschriebene SARS-CoV-2 Variante der Abstammungslinie B.1.617.2, der sowohl eine höhere Übertragbarkeit als auch eine erhöhte Resistenz gegenüber Antikörpern zugeschrieben wird. Nach neueren Erkenntnissen schützt die Erstimpfung mit den gegenwärtig verfügbaren Impfstoffen zwar weniger gut gegen Delta als gegen Alpha, der Schutz gegen beide Varianten erreicht aber nach der zweiten Impfdosis dennoch ein vergleichbar gutes Niveau. Es kann daher davon ausgegangen werden, dass vollständige geimpfte Personen gegenüber Delta gut geschützt sind.

Zwei verwandte Subtypen derselben parentalen Abstammungslinie, B.1.617.1 und B.1.617.3, spielen trotz initialer Ausbreitung in Indien mittlerweile gegenüber Delta nur noch eine untergeordnete Rolle. Allen gemeinsam ist die Mutation L452R, daneben unterscheiden sich die einzelnen Subtypen durch das Vorkommen zusätzlicher Mutationen (etwa die Mutation S1:E484Q im Subtyp B.1.617.1). Die Abstammungslinie B.1.617.1 wird von der WHO derzeit als VOI (variant of interest) mit der Bezeichnung Kappa geführt. Die Abstammungslinie B.1.617.3 tritt weltweit nur noch selten auf und trägt keine eigene Bezeichnung.

Tabelle 2: Vorkommen ausgewählter Mutationen in Gesamtgenomsequenzen von aus Hamburg stammenden Stichproben.

Mutation	Abstammungslinien	Proben insgesamt	Proben im Zeitraum:																																											
			Jan	KW 04	KW 05	KW 06	KW 07	KW 08	KW 09	KW 10	KW 11	KW 12	KW 13	KW 14	KW 15	KW 16	KW 17	KW 18	KW 19	KW 20	KW 21	KW 22	KW 23	KW 24	KW 25	KW 26	KW 27	KW 28	KW 29	KW 30	KW 31	KW 32	KW 33	KW 34	KW 35	KW 36	KW 37	KW 38	KW 39	KW 40	KW 41	KW 42	KW 43			
S:L452R	Delta (2292), C.36 (7), C.16 + L452R (4), B.1.1 + L452R (3), Epsilon (1), Kappa (1), C.36.3 (1), B.1.1.294 + L452R,N501Y (1), Delta + N501Y (1), Delta + E484K (1)	2312	0	1	0	1	0	1	1	3	3	0	0	2	1	2	1	1	1	0	4	1	24	30	31	32	45	93	124	88	133	168	186	80	182	142	141	136	156	151	125	89	133			
S:E484K	Alpha + E484K (10), Beta (10), Eta (7), Gamma (6), Mu (4), B.1.1.523 (3), C.38 + E484K (2), AZ.2 (1), B.1.1.525 + E484K (1), Iota + E484K (1), B.1.1.318 (1), AT.1 + E484K (1), B.1.620 (1), Delta + E484K (1)	49	0	0	1	0	0	0	3	3	4	0	1	0	4	0	7	5	3	3	3	1	4	2	1	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0	
S:E484Q	Kappa (1)	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
S:F490S	Alpha + F490S (15)	15	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	1	0	2	0	3	5	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
S:N501Y	Alpha (2464), Alpha + F490S (15), Alpha + E484K (10), Beta (10), Gamma (6), Mu (4), B.1.1 + N501Y (2), B.1.1.294 + L452R,N501Y (1), Delta + N501Y (1)	2513	1	9	34	50	98	119	147	171	198	152	112	162	181	173	238	108	183	137	124	13	36	35	9	7	6	0	4	2	0	2	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0		



auswertbare Sequenzen im Zeitraum: 74 151 139 164 206 174 183 204 215 158 123 171 186 177 243 113 186 141 130 14 64 65 40 39 50 93 127 90 133 170 187 80 182 142 141 137 156 151 125 89 133

In der Spalte *Abstammungslinien* sind Name der Linie sowie Anzahl der für die jeweilige Mutation positiven Proben (in Klammern hinter dem Namen) angegeben. Unter den mit *Proben im Zeitraum* gezeigten Spalten ist die Anzahl der im jeweiligen Zeitraum (*Jan* = Januar, *KW* = Kalenderwoche) positiven Proben wiedergegeben. Die Hintergrundfarbe entspricht dabei dem relativen Anteil an der Gesamtzahl auswertbarer Proben (d.h. Proben, in denen die Sequenzierungsergebnisse eine eindeutige Zuordnung zu einer bestimmten SARS-CoV-2 Abstammungslinie zuließen) aus diesem Zeitraum (siehe Legende unten rechts).

Erläuterung zu den dargestellten Mutationen:

- S:N501Y** Mutation in der Rezeptorbindungsdomäne des Spikeproteins. Steht wahrscheinlich mit einer höheren Übertragbarkeit entsprechender Varianten in Verbindung. Tritt typischerweise in den VOCs Alpha, Beta und Gamma auf.
- S:F490S** Mutation in der Rezeptorbindungsdomäne des Spikeproteins. Führt wahrscheinlich zu einer schlechteren Bindung von gegen herkömmliche Varianten gerichteten Antikörpern. Tritt typischerweise in der VOI Lambda (C.37) auf.
- S:E484K, S:E484Q** Mutationen in der Rezeptorbindungsdomäne des Spikeproteins, welche wahrscheinlich zu einer schlechteren Bindung von gegen herkömmliche Varianten gerichteten Antikörpern führen. S:E484K tritt typischerweise in den VOCs Beta und Gamma auf, kann sich jedoch auch in anderen Abstammungslinien finden. S:E484Q wird typischerweise in der VOI Kappa (B.1.617.1) beobachtet.
- S:L452R** Mutation in der Rezeptorbindungsdomäne des Spikeproteins. Führt wahrscheinlich zu einer schlechteren Bindung von Antikörpern, welche gegen herkömmliche Varianten gerichtet sind. Wurde ursprünglich in der VOI Epsilon (sogenannten südkalifornischen Variante der Abstammungslinie B.1.427/B.1.429) beschrieben, tritt jedoch auch in anderen Abstammungslinien auf (z.B. in allen Subtypen der Abstammungslinie B.1.617).

Hintergrundinformationen zur Surveillance Plattform: Das Leibniz Institut für Experimentelle Virologie (HPI) und das Universitätsklinikum Hamburg-Eppendorf (UKE) untersuchen gemeinsam im Rahmen eines durch die Freie und Hansestadt Hamburg unterstützten Projektes ([Pressemitteilung](#)) routinemäßig einen Teil der Neuinfektionen in Hamburg. Ziel dieser molekularen Surveillance ist es, die Verbreitung besorgniserregender SARS-CoV-2 Virusvarianten (sog. *variants of concern*; VOC) in Hamburg zu verfolgen. Dabei werden sowohl bereits bekannte wie auch möglicherweise neu auftretende Varianten erfasst.

Zu diesem Zweck analysieren wir stichprobenartig bis zu 200 Neuinfektionen pro Woche. Die Fälle werden über das gesamte Stadtgebiet hinweg zufällig ausgesucht, um ein möglichst repräsentatives Bild der tatsächlichen Verteilung der Varianten in der Gesamtbevölkerung zu erhalten. Nachweislich aus Ausbrüchen stammenden Proben werden bewusst nicht betrachtet, da sie dieses Bild erheblich verzerren können.

Die Bestimmung von Varianten erfolgt durch PCR Typisierungs-Verfahren sowie Gesamtgenom-Sequenzierungen. In ersterem Verfahren werden charakteristische Mutationen (z.B. S:L452R, S:E484K, und S:N501Y) ausgewählter SARS-CoV-2 Stämme mittels spezifischer, durch das UKE eingehend validierter PCR-Tests nachgewiesen. Diese Methode ist vergleichsweise unaufwändig und kann schnell durchgeführt werden. Sie zeichnet sich außerdem durch ihre hohe Empfindlichkeit und Spezifität aus, erlaubt jedoch nur den Nachweis eines begrenzten Spektrums an bereits bekannten Mutationen.

Die Genom-Sequenzierung erlaubt dagegen die Bestimmung aller in einer Probe vorkommender Mutationen. Sie kann daher zur Erfassung neu auftretender Varianten dienen, darüber hinaus lassen sich die Sequenzen über ihren genetischen Fingerabdruck in den Gesamtkontext regional, national oder global vorkommender Virusstämme einordnen. Neben hohen Kosten und technischem Aufwand besteht der Hauptnachteil der Sequenzierung in ihrer gegenüber der PCR geringeren Empfindlichkeit. Nicht alle mittels PCR positiv getesteten Proben liefern daher auch ein verwertbares Sequenzierungs-Ergebnis.

Gleichzeitig ist festzuhalten, dass unter den erfolgreichen Sequenzierungen eine sehr hohe Übereinstimmung mit den zuvor durch das UKE ermittelten PCR Ergebnissen zum Nachweis der VOCs Alpha, Beta, Gamma und Delta besteht. Es kann daher davon ausgegangen werden, dass die in Abbildung 1 bis zum Abschluss der Sequenzierung vorläufig dargestellten Ergebnisse von PCR Tests aus der jeweils letzten Kalenderwoche das Vorkommen der Varianten realistisch widerspiegeln.

Derzeit besteht eine Verzögerung von 10 bis 14 Tagen zwischen Probennahme und erstmaliger PCR Analyse durch unsere Surveillance Plattform. Diese Verzögerung ergibt sich dadurch, dass die Proben von niedergelassenen Laboren, welche die Primärdiagnostik durchführen, stichprobenartig bezogen werden müssen. Aufgrund gesetzlicher Bestimmungen können diese Labore die Proben frühestens 8 Tage nach Erstbefund zur Verfügung stellen. Anschließend finden am UKE Probenaufbereitung und PCR Testung statt. Auf Basis der mittels PCR ermittelten Viruslasten findet danach die Sequenzierung eines Teiles der Proben statt. Aufgrund des hohen technischen Aufwandes sind die Ergebnisse der Sequenzierung erst ca. 1 Woche nach Durchführung der PCR verfügbar.

Der komplette Datenbestand wird mit Hilfe fortlaufend aktualisierter bioinformatischer Methoden wöchentlich neu analysiert. Es kann daher bei der Klassifizierung einzelner Proben gegebenenfalls zu Abweichungen gegenüber vorhergehenden Berichten kommen. Ebenso können sich leichte Abweichungen durch die Nachtestung von Proben, oder die nachträgliche Korrektur von Metadaten (insbesondere des Abnahmedatums) ergeben.