

Synopse virologischer Analysen im Nationalen Referenzzentrum für Influenzaviren während der COVID-19-Pandemie

Einleitung

Die Coronavirus Disease 2019-(COVID-19-)Pandemie wurde retrospektiv bisher in acht Phasen eingeteilt.¹ Die ersten noch singulären Fälle traten in Deutschland in den Kalenderwochen (KW) 5 bis 9/2020 auf. Seitdem ist es zu fünf Wellen gekommen, zwischen denen zwei Sommerplateaus lagen. Dieser Bericht behandelt die Zeit von KW 5/2020 bis 21/2022. Ergänzend wurden Daten bis KW 40/2019 retrospektiv in einige Grafiken aufgenommen. Die virologischen Analysen der Influenzasaison 2019/20 wurden bereits publiziert.²

Durch die fortlaufende Untersuchung von Proben aus den Sentinelpraxen der Arbeitsgemeinschaft Influenza (AGI) konnte ein umfassender Überblick darüber gewonnen werden, welche respiratorischen Erreger jeweils in Deutschland zirkulieren. Neben Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus Type 2 (SARS-CoV-2) und den Influenzaviren wurden auch das Respiratorische Synzytialvirus (RSV), Parainfluenzaviren (PIV-1 bis -4), humane Metapneumoviren (HMPV), humane saisonale Coronaviren (HKU1, OC43, 229E, NL63) sowie humane Rhinoviren (HRV) untersucht.

Für den aktuellen Überblick werden die Ergebnisse der virologischen Sentinelsurveillance täglich aktualisiert auf den Internetseiten der AGI des Robert Koch-Instituts (RKI) publiziert, jeweils zusammengefasst für alle Altersgruppen und für die Altersgruppe der 0- bis 4-jährigen Kinder, da in dieser Altersgruppe das Auftreten der Erreger aus dem untersuchten Panel anders zu gewichten ist.³ Zudem erfolgt die regelmäßige Berichterstattung in den wöchentlichen Berichten zu akuten Atemwegserkrankungen (ARE) und dem COVID-19-Wochenbericht des RKI.^{4,5}

Die hier vorgestellten Ergebnisse des Nationalen Referenzzentrums für Influenzaviren (NRZI) um-

fassen Daten zu Viren, die im Rahmen des AGI-Sentinels detektiert wurden, zu Viren, die im Rahmen von Ausbrüchen, der Untersuchung schwerer akuter respiratorischer Infektionen (SARI), Typisierungsanfragen oder spezifischen Projekten analysiert wurden sowie zu Isolaten aus Einsendungen von Instituten und Gesundheitsämtern. Darüber hinaus führte das Konsiliarlabor (KL) für RSV, PIV und HMPV an ausgewählten Sentinelproben Untersuchungen zur weiterführenden Charakterisierung von RSV und anderen respiratorischen Viren durch.

Von KW 5/2020 bis 21/2022 wurden im NRZI insgesamt 15.660 Sentinelproben untersucht. Zusätzlich wurden 495 Proben im Projekt SARI-Surveillance analysiert, 381 Proben in Ringversuchen und 428 Proben im Zusammenhang spezieller Auftragsuntersuchungen. 27 Influenzavirusisolate wurden von Laboratorien zur weiteren Charakterisierung an das NRZI eingesandt.

Eine Auswahl repräsentativer Influenzaviren wurde während jeder Saison zum Referenzlabor der Weltgesundheitsorganisation (WHO) nach London gesandt für vergleichende Untersuchungen im Rahmen der Mitwirkung an der weltweiten virologischen Influenzavirus-Surveillance.

Methoden

qPCR. Die Nukleinsäuren wurden aus 200 µl der Originalprobe nach Lyse mit dem MagNa Pure 96 external Lysis Buffer in einem MagNa Pure 96 Extraktionsroboter aufgereinigt und in 50 µl eluiert. Die Virusnachweise erfolgten mit RT-qPCR, ab November 2021 mittels OneStep-RT-qPCR (Luna® Probe One-Step RT-qPCR Kit (No ROX) mit teils modifizierten Oligonukleotiden).⁶

Virusisolierung in MDCK-SIAT Zellen. Influenzaviren wurden durch Inokulation von MDCK-SIAT-

Zellmonolayern (ECACC, Vereinigtes Königreich) mit 200 µl steril gefilterter Tüpfersuspension in Zellkulturmedien (MEM/HEPES, mit EAA, L-Glutamin, Gentamycin, Geneticin und 2 µg/ml TPCK-Trypsin) isoliert.^{7,8}

Antigene Charakterisierung. Die antigene Charakterisierung von Influenzaviren erfolgte im Hämagglutinationshemmtest (HHT) unter Nutzung spezifischer in Frettschen generierter Antiseren und Putenerthrozyten.

Ermittlung der Sensitivität von Influenzaviren gegen Neuraminidase-(NA-)Hemmer (Phänotypische Resistenzbestimmung). Die Empfindlichkeit von Influenzaviren gegenüber NA-Hemmern wurde in einem fluorometrischen NA-Hemmtest mit 2'-(4-Methylumbelliferyl)-α-d-N-acetylneuraminsäure (Munana; Biosynth AG, Staad, Schweiz) als Substrat gemessen.^{8,9} Zur Ermittlung der Sensitivität der Influenzaviren gegenüber NA-Hemmern wurden die berechneten 50 % inhibitorischen Konzentrationen (IC₅₀) im Vergleich zu Referenz-IC₅₀-Werten nach WHO-Kriterien beurteilt (WHO, 2011–2012).¹⁰

Sequenzierung und Analyse von Influenza-Genom zum Auffinden von molekularen Resistenzmarkern. Zur Untersuchung von Influenza A-Viren auf molekulare Resistenzmarker, die mit einer vermin-

dernten Sensitivität gegenüber Rimantadin und Amantadin assoziiert sind, wurden RT-PCR-Amplifikate des M-Gens mit anschließender Pyrosequenzierungsanalyse (PSQ) (aa-Position 26, 27, 30, 31, 34) nach den Protokollen von Bright et al. 2005 und der WHO untersucht.^{11,12}

Sequenzierung und phylogenetische Analyse. Die RNA von SARS-CoV-2 sowie von Influenza A- und B-Viren wurde aus PCR-positiven Patientenproben extrahiert, das virale Genom über viruspezifische PCRs amplifiziert und über Next Generation Sequencing (NGS) sequenziert.^{13–16} Die phylogenetische Analyse des Vollgenoms von SARS-CoV-2 sowie des Hämagglutinin-(HA-)Gens von Influenza A- und B-Viren erfolgte mit Mega (NJ, K2, Bootstrap-Test mit 1000 Wiederholungen, Partial deletion – Site Coverage Cutoff 5 %).

Repräsentativität des Sentinels und Zirkulation von SARS-CoV-2

Am virologischen Sentinel der AGI beteiligen sich 148 pädiatrische, internistische und allgemeinmedizinische Praxen, von denen ca. ein Drittel regelmäßig jede Woche Proben einsendet. Während der COVID-19-Pandemie erfolgte erstmalig eine flächendeckende Testzahlerfassung für Deutschland in Bezug auf SARS-CoV-2. Ein Vergleich der im virologi-

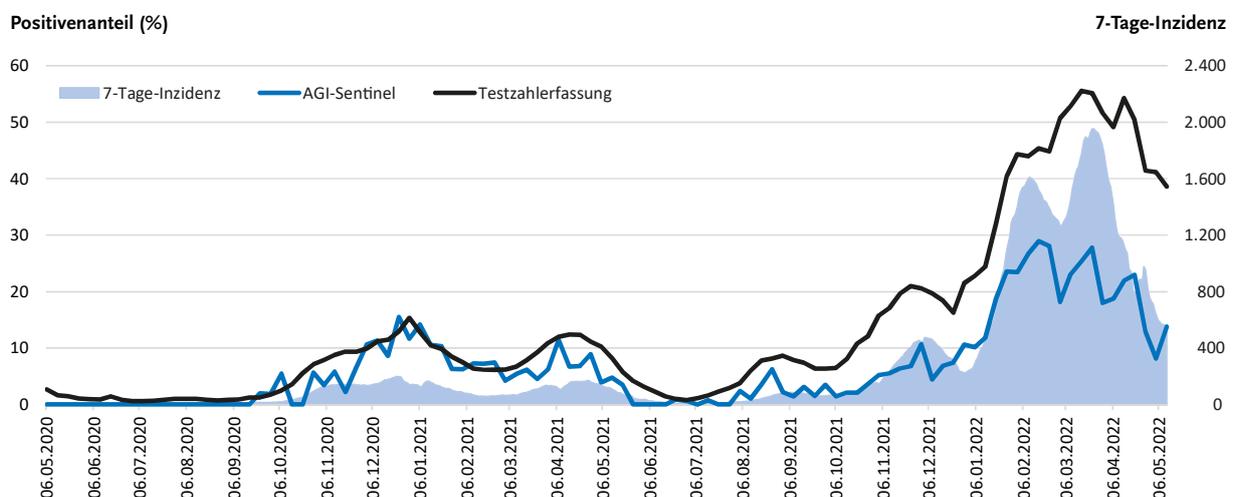


Abb. 1 | Vergleich der SARS-CoV-2-Positivenraten (Anteil positiver Nachweise an der Gesamtzahl untersuchter Proben) im Sentinel der Arbeitsgemeinschaft Influenza (AGI) mit der allgemeinen Testzahlerfassung für Deutschland und den 7-Tage-Inzidenzen (06.05.2020 bis 11.05.2022)

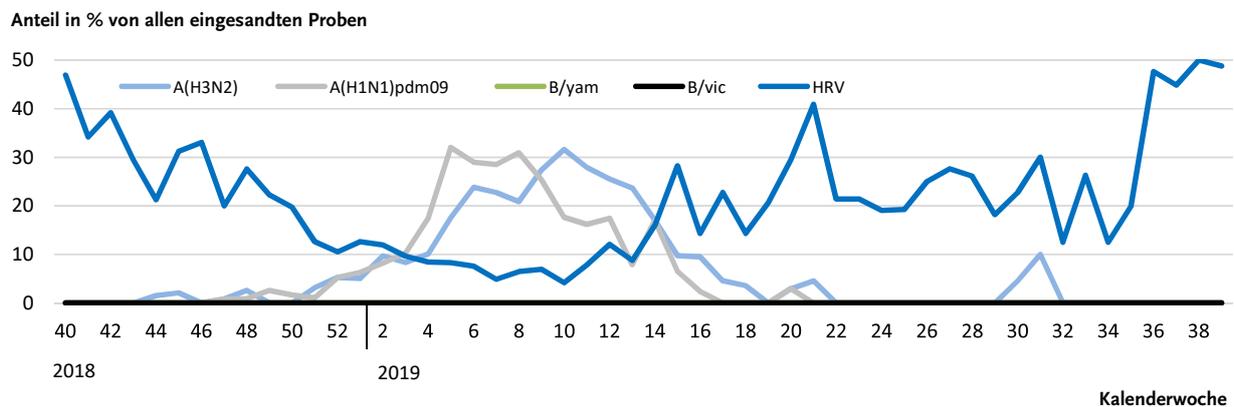


Abb. 2 | Nachweise von Influenzaviren (A(H₃N₂), A(H₁N₁)pdm09, B/yam, B/vic) und Rhinoviren (HRV) im Sentinel der Arbeitsgemeinschaft Influenza (Kalenderwoche 40/2018 bis 39/2019)

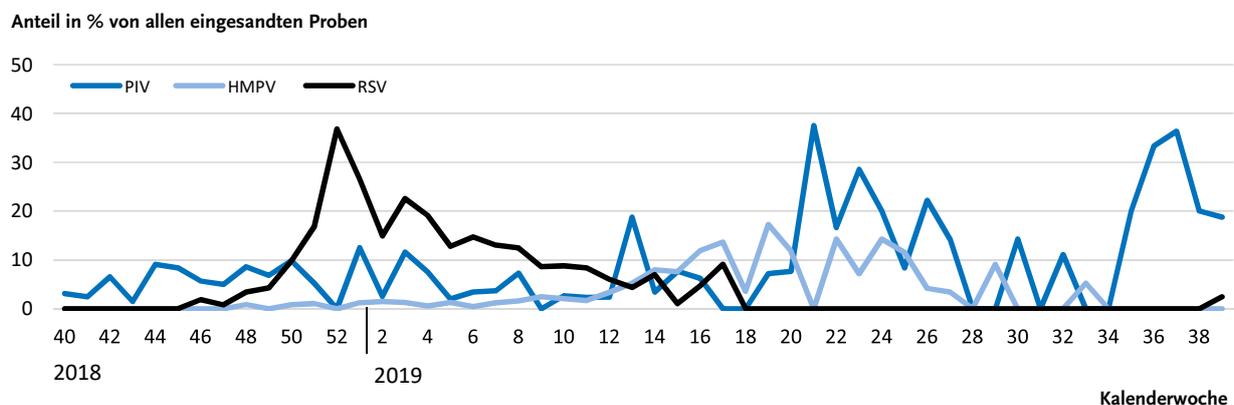


Abb. 3 | Nachweise von Parainfluenzaviren (PIV-1 bis -4), humanen Metapneumoviren (HMPV) und Respiratorischem Synzytialvirus (RSV) im Sentinel der Arbeitsgemeinschaft Influenza (Kalenderwoche 40/2018 bis 39/2019)

schen Sentinel nachgewiesenen SARS-CoV-2-Fälle mit der deutschlandweiten Testzahlerfassung in der Allgemeinbevölkerung zeigt, dass die im Sentinel erhobenen Daten in einer syndromisch definierten Stichprobe den deutschlandweiten Trend der SARS-CoV-2-Zirkulation sehr gut abbilden (s. [Abb. 1](#)).

Zirkulation respiratorischer Viren

Das saisonale Zirkulationsmuster der respiratorischen Viren ist durch eine ganzjährig hohe Aktivität von HRV gekennzeichnet, welche in den Wintermonaten durch eine Interferenz mit Influenzaviren reduziert ist. Für Influenzaviren werden die höchsten Positivenraten von Ende Januar bis Mitte März erfasst (am Beispiel der Saison 2018/19 in [Abbildung 2](#) dargestellt).¹⁷ RSV zirkulieren von November bis März mit Peak zum Jahresende, während HMPV

und PIV ganzjährig detektiert werden, mit höheren Aktivitätsmustern im Frühjahr und Sommer (s. [Abb. 3](#)). Die Sommeraktivität von PIV ist hauptsächlich auf PIV-3 zurückzuführen, PIV-1, -2 und -4 dagegen werden häufiger im Herbst und Winter detektiert.¹⁸

Die nicht-pharmazeutischen Interventionen (NPI) zur Eindämmung der COVID-19-Pandemie hatten Einfluss auf die Zirkulation aller respiratorischen Viren. Am stärksten war dies nach dem ersten Lockdown im Frühjahr 2020 erkennbar.⁶ Die Zirkulation der Erreger war zeitweise verringert bzw. ganz unterbrochen, was auch die Immunitätslage in der Bevölkerung beeinflusst haben könnte (weniger Kontakte zu den Erregern und damit geringere Immunität in der Population, insbesondere bei Kindern). Nach Lockerung der Schutzmaßnahmen zeigten

sich für viele Viren Testprävalenzen, die im Vergleich zu vorpandemischen Saisons erhöht und zeitlich verschoben waren. Beispielsweise wurden nach dem ersten Lockdown deutlich erhöhte Zirkulationslevel für HRV im Sommer 2020 erfasst.⁶ Weitere Wellen erhöhter Zirkulation folgten erst im Jahr 2021: Zunächst im Frühjahr für das endemische Coronavirus NL63, dann im Sommer für PIV und im Herbst für RSV. Anfang 2022 zeigte sich eine erhöhte HMPV-Infektionswelle. Die Zirkulation von Influenzaviren war bisher während der gesamten Pandemie stark unterdrückt, zu einer Grippewelle kam es in beiden Pandemiewintern nicht: 2020/21 wurden keine Influenzaviren im Sentinel nachgewiesen, 2021/22 nur wenige. Erst Ende April/Anfang Mai 2022 stiegen die Influenzavirusnachweise.

Zirkulation von endemischen Coronaviren

Im Winter 2019/20 zirkulierten alle endemischen Coronaviren, jedoch überwog Betacoronavirus HKU1.¹⁹ Die Zirkulation aller Coronaviren war mit Einführung der Infektionsschutzmaßnahmen im März 2020 zurückgegangen. Im Frühjahr 2021 zeigte sich eine ungewöhnlich starke Zirkulation des endemischen Alphacoronavirus NL63, gefolgt von einer im Vergleich weit ausgedehnten Periode der Zirkulation des endemischen Betacoronavirus OC43. Ab KW 45/2021 wurde das endemische Alphacoronavirus 229E regelmäßig nachgewiesen, seit Februar 2022 auch wieder HKU1. Derzeit werden alle endemischen Coronaviren mit geringen Positivenraten im Sentinel detektiert (s. Abb. 4).

Die Sentineldaten ermöglichen einen guten Einblick in die Zirkulation endemischer Coronaviren auf Populationsebene. Der deutlich überhöhte Peak von NL63 im Frühjahr 2021 scheint ungewöhnlich, ebenso wie die langanhaltende Zirkulation von OC43 (s. Abb. 4).

Molekulare Analyse von SARS-CoV-2

Das NRZI ist auch an dem vom RKI koordinierten Labornetzwerk für Integrierte Molekulare Surveillance von SARS-CoV-2 (IMS-SC2) beteiligt. In diesem Kontext erfolgen die molekulare Charakterisierung der SARS-CoV-2-Nachweise über NGS sowie die phylogenetische Analyse und Linienbestimmung der rekonstruierten SARS-CoV-2-Vollgenome.²⁰ Von Oktober 2020 bis Februar 2022 wurden 632 SARS-CoV-2-Vollgenome untersucht. Die untersuchten Viren stammten überwiegend aus dem AGI-Sentinel (n=615, davon neun Proben von Patientinnen und Patienten mit einer ambulant erworbenen Pneumonie). 17 Proben stammten aus der SARI-Surveillance, davon eine Probe aus einer Kinderklinik. Der Großteil (95 %) der sequenzierten Viren gehörte zu 13 dominierenden SARS-CoV-2-Linien bzw. -Sublinien: B.1.177 in 7 % aller sequenzierten Linien, B.1.177.86 (4 %), B.1.160 (3 %), B.1.258 (4 %), B.1.221 (3 %) sowie die besorgniserregenden Varianten (Variants of Concern, VOC) B.1.1.7 (Alpha, 19 %), B.1.617.2 (Delta, 7 %), AY.4 (Delta, 3 %), AY.43 (Delta, 4 %), AY.122 (Delta, 3 %) und 26 vereinzelt nachgewiesene AY-Sublinien (Delta, insgesamt 8 %), BA.1 (Omikron, 10 %), BA.1.1 (Omikron, 16 %), BA.2 (Omikron, 4 %, s. Abb. 5).

Anteil in % von allen eingesandten Proben

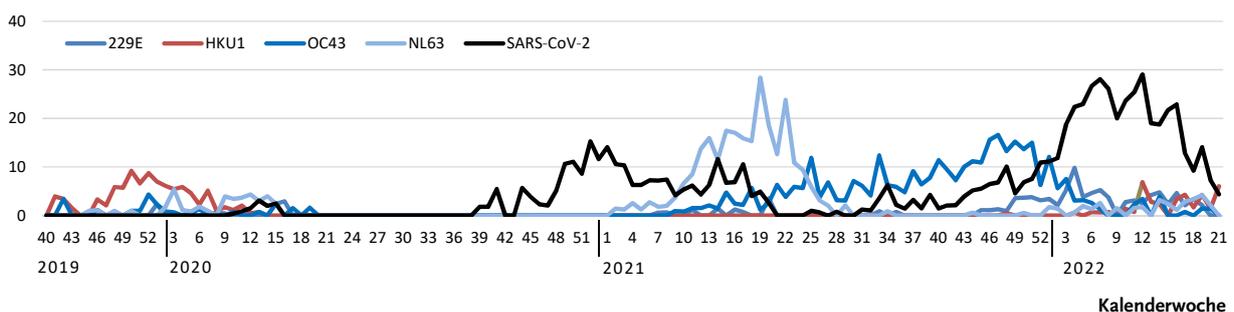


Abb. 4 | Nachweise von endemischen Coronaviren im Vergleich zu SARS-CoV-2 im Sentinel der Arbeitsgemeinschaft Influenza (Kalenderwoche 40/2019 bis 21/2022)

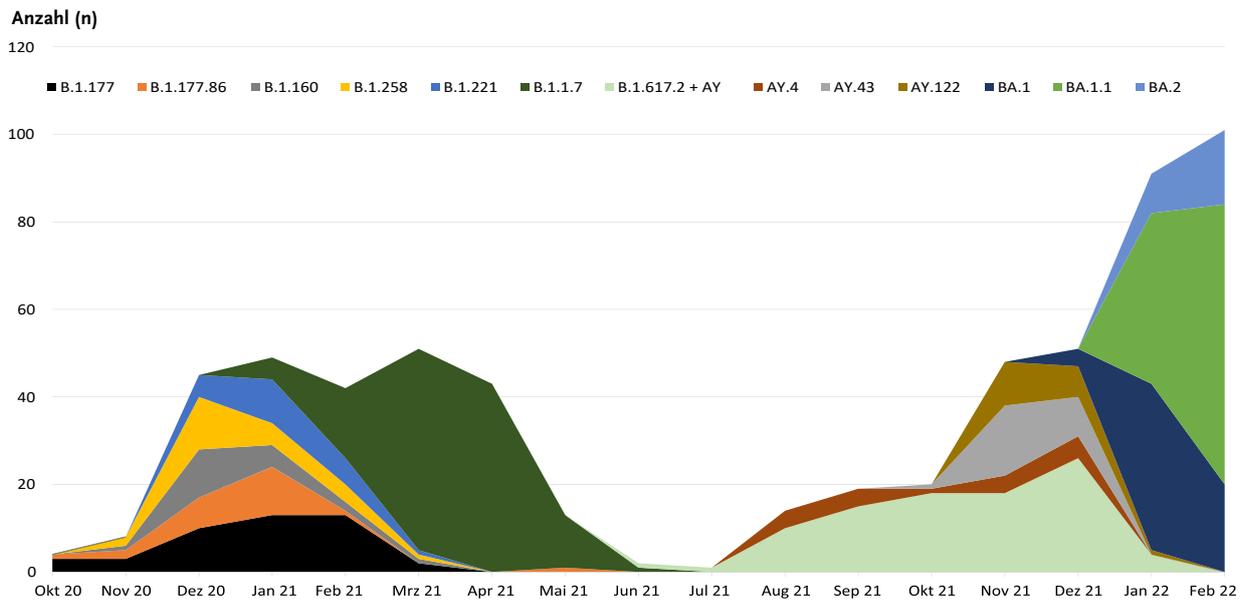


Abb. 5 | Anzahl der dominierenden Linien und Sublinien von SARS-CoV-2, welche von Oktober 2020 bis Februar 2022 im Rahmen des Sentinels der Arbeitsgemeinschaft Influenza und der Surveillance schwerer akuter respiratorischer Infektionen (SARI) nachgewiesen wurden. Als dominierende Linien und Sublinien werden Viren definiert, die in ≥ 3 % aller sequenzierten Viren nachgewiesen wurden. In der Delta-Gruppe B.1.617.2+AY (insgesamt 15 %) sind die B.1.617.2-Linie (anteilig 7 %) und 26 vereinzelt nachgewiesene AY-Sublinien (anteilig 8 %) zusammengefasst dargestellt; auch bei den B.1.177-Viren (insgesamt 7 %) wurden B.1.177 (anteilig 4 %) und ihre sechs minoritären Sublinien (anteilig 3 %) zusammengefasst.

Repräsentative Viren aus dem AGI-Sentinel (36 von 615, davon fünf Viren von Patientinnen und Patienten mit ambulant erworbener Pneumonie) und der SARI-Surveillance (14 von 17) wurden phylogenetisch analysiert. Die Genomanalyse zeigt, dass Viren von schwer erkrankten Personen kein abgrenzbares Cluster bilden und diese Viren zu den VOC Alpha ($n=5$), Delta ($n=4$) und Omikron ($n=2$) sowie zu den Viruslinien B.1.258 ($n=1$), B.1.177 ($n=2$) und zur Sublinie B.1.177.86 ($n=5$) gehören (s. Abb. 6). Die B.1.177.86-Viren weisen im Vergleich zu den B.1.177-Viren zusätzlich die Trunkierung ORF7b:39* auf.²¹ *In vitro*-Untersuchungen des akzessorischen Proteins ORF7b (43 Aminosäuren) von SARS-CoV-2 weisen darauf hin, dass das Protein an der Aktivierung der TNF- α -Sekretion beteiligt ist, welches die zelluläre Apoptose auslösen kann.²²

Ein kleiner Teil (5 %) der sequenzierten Viren gehörte Linien an, die nur vereinzelt nachgewiesen wurden: u. a. fünf B.1.351-Viren (Beta, VOC) sowie die unter Beobachtung stehenden Varianten (Variants of Interest, VOI) P.2 (Zeta, $n=1$) und A.27 ($n=1$). Hierbei stammten zwei Viren von Erkrankten mit einem schweren Verlauf (B.1.351 und ein B.1.36).²¹

Zirkulation von Influenzaviren

Während des bisherigen Verlaufs der Pandemie wurden nur wenige Influenzaviren nachgewiesen (s. Abb. 7). Im Juni 2020 konnte in einer Sentinelprobe ein avian-like A(H1N1)-Influenzavirus aus einer zoonotischen Übertragung von Schweinen detektiert werden.²³ In KW 16/2021 sowie KW 12/2022 wurden jeweils weitere Influenzaviren aus zoonotischen Übertragungen von Schweinen bei Sentinel-Patientinnen und -Patienten detektiert. Mittels Sequenzierung konnte nachgewiesen werden, dass es sich ebenfalls um avian-like A(H1N1)-Influenzaviren von Schweinen handelte. Es gab keine Mensch-zu-Mensch-Übertragungen dieser zoonotischen Viren.

Der Untersuchungszeitraum war durch eine starke Zirkulation von hochpathogenen A(H5Nx)-Influenzaviren in der Wildvogelpopulation gekennzeichnet, insbesondere während der Zeit der Zugvögelmigration. Es gab Einträge in Geflügelbestände, private Tierhaltungen sowie in Zoos. In diesem Zusammenhang wurden am NRZI drei Proben von Personen mit Kontakt zu infizierten Vögeln untersucht. Eine zoonotische Übertragung hochpathogener

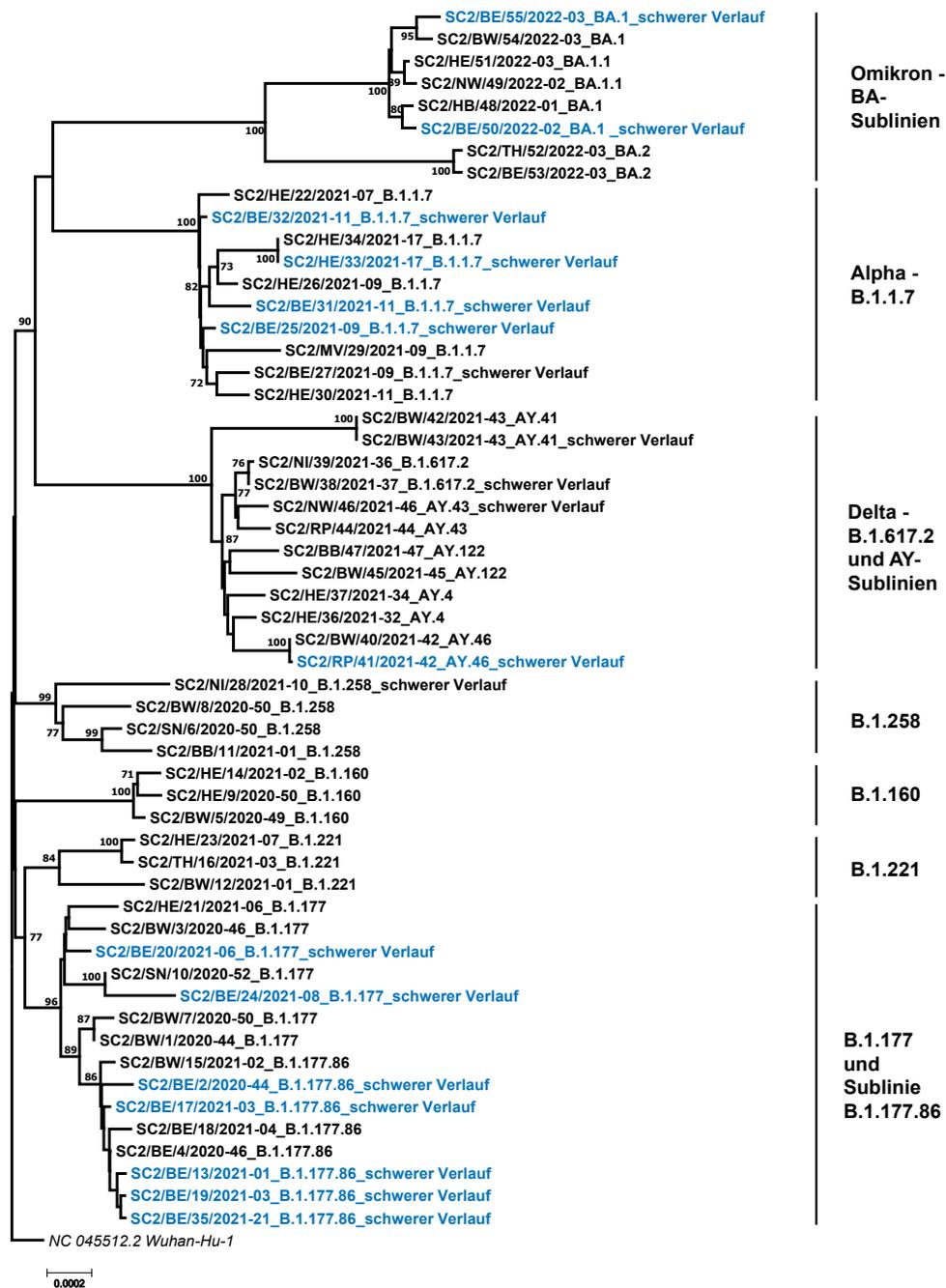


Abb. 6 | Phylogenetische Analyse des Vollgenoms (Mega: NJ, K2, Bootstrap-Test mit 1000 Wiederholungen, Site Coverage Cutoff 5 %) von SARS-CoV-2 aus dem Sentinel der Arbeitsgemeinschaft Influenza (AGI, schwarz) und aus der Surveillance schwerer akuter respiratorischer Infektionen (SARI, blau). Die Virusgenome wurden aus Patientenproben gewonnen (Probenentnahme von Oktober 2020 – Februar 2022) und über Next Generation Sequencing (NGS) im Rahmen des Netzwerkes Integrierte Molekulare Surveillance von SARS-CoV-2 (IMS-SC2) sequenziert. Die im Untersuchungszeitraum dominierenden SARS-CoV-2-Linien und -Sublinien sind dargestellt. Hierfür wurden repräsentative Viren aus dem AGI-Sentinel ausgewählt. Darüber hinaus wurden alle Virusnachweise von Patientinnen und Patienten mit schwerem Verlauf abgebildet. Um die Viren von Personen mit schwerem Verlauf mit Viren von ambulanten Patientinnen und Patienten zu vergleichen, wurden Viren aus dem AGI-Sentinel ausgewählt, die eng mit den Viren von Personen mit schwerem Verlauf clustern. Die Virusnamen enthalten die Abkürzung für SARS-CoV-2 (SC2), den Entnahmeort (Abkürzung Bundesland), die Probennummer (1-55), das Entnahmedatum (Jahr-Kalenderwoche) sowie die Pangolin-Linie.^{20,24} Aminosäuresubstitutionen, Deletionen, Insertionen und Trunkierungen relativ zum Referenzvirus Wuhan-Hu-1 (NC_045512.2, kursiv, Root) wurden abgeleitet.²¹

A(H5Nx)-Influenzaviren konnte in jedem der drei Fälle ausgeschlossen werden.

In KW 37/2021 wurde das erste saisonale Virus der Saison 2021/22 nachgewiesen, das dem Subtyp A(H3N2) angehörte. Viren dieses Subtyps wurden 2021 vereinzelt nachgewiesen und ab Jahresanfang 2022 häufiger (insgesamt 217 A(H3N2)-Viren aus dem Sentinel und 180 aus anderen Einsendungen). Außerdem fanden sich Viren der B/Victoria-Linie in drei Sentinelproben sowie in drei anderen Einsendungen und A(H1N1)pdm09-Viren in 13 Sentinelproben und acht weiteren Einsendungen. Insgesamt lag die Influenzavirusaktivität weit unter dem üblichen Niveau und stieg erst im April 2022 an (Vergleich mit Saison 2019/20 in [Abbildung 7](#)). Die zeitlich außerhalb der üblichen Grippewelle liegende Aktivität der Influenzaviren im April/Mai 2022 war hauptsächlich durch Infektionen bei Kindern und Jugendlichen gekennzeichnet.

Anzucht und antigene Charakterisierung von Influenzaviren

Insgesamt sind während der COVID-19-Pandemie (KW 5/2020 bis 21/2022) 311 Influenzaviren in Zellkulturen isoliert worden, darunter 297 A(H3N2)-, sieben A(H1N1)pdm09-Influenzaviren, vier B/Victoria-Viren sowie drei A(H1N1)-Influenzaviren aus zoonotischer Übertragung von Schweinen. Weitere Influenzavirusisolate wurden von Instituten und Laboren aus ganz Deutschland zur Verfügung gestellt. Um die Passgenauigkeit der in der Saison 2021/22 eingesetzten Impfstoffe für die in Deutschland zirkulierenden Influenzaviren zu

überprüfen, erfolgte eine antigene Charakterisierung. Hierbei wurden 270 A(H3N2)-Viren, sieben A(H1N1)pdm09-Viren und drei B/Victoria-Viren mit Hilfe spezifischer Immunsereen (Frettchen) und Putenerythrozyten im HHT untersucht. Die Immunsereen waren anhand der WHO-Impfstämme und -Referenzviren etabliert worden.

Diese Untersuchungen ermöglichen keine Aussagen zur klinischen Wirksamkeit der Impfstoffe. Für diese sind weitere Aspekte von wesentlicher Bedeutung wie z. B. der Antigengehalt der Impfdosis, das Impfschema, das verwendete Adjuvans, die durch das jeweilige Impfstoffvirus induzierte Dauer der Immunität sowie der Immunstatus des Impflings (der durch das Alter, die vorhergehenden Antigenkontakte zu Influenzaviren, die immunologische Reaktivität und den Zeitpunkt der Impfung beeinflusst wird).

In der Saison 2021/22 reagierten alle untersuchten Influenza A-Virusisolate mit den entsprechenden Immunsereen, jedoch gab es Abweichungen in Bezug auf die Passgenauigkeit (s. [Abb. 8](#)). Rund die Hälfte der A(H3N2)-Viren reagierte sehr gut mit dem Antiserum gegen das Impfstoffvirus, während die andere Hälfte zwar erkannt wurde, aber in ihrer Reaktivität um mehr als zwei Titerstufen vom homologen Impfstoffvirus abwich (s. [Abb. 8A](#)). Für die anderen Subtypen ist die Aussagekraft aufgrund der geringen Anzahl der für die Untersuchung zur Verfügung stehenden Viren gering. Die sieben A(H1N1)pdm09-Viren wurden durch das vom Impfstoffvirus abgeleitete Antiserum detektiert, wichen jedoch um sechs (6 log₂) Titerstufen vom homologen Impfstoffvirus ab (s. [Abb. 8B](#)). Die drei B/Victoria-

Anteil in % von allen eingesandten Proben

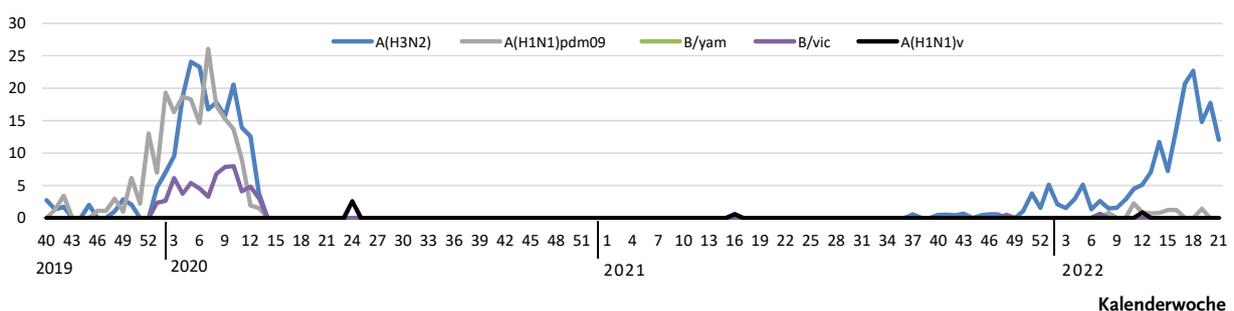
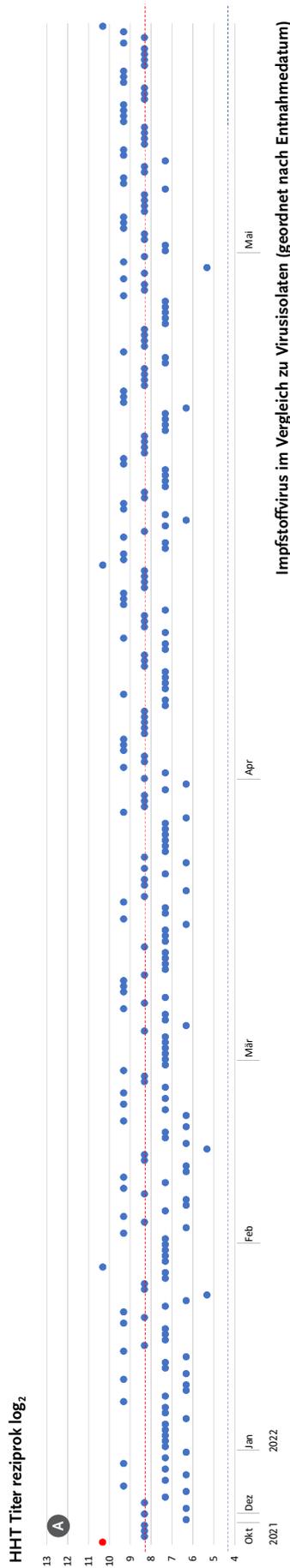


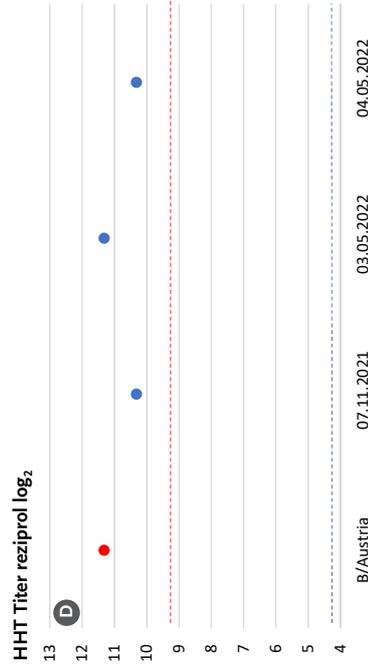
Abb. 7 | Nachweise von Influenzaviren im Sentinel der Arbeitsgemeinschaft Influenza (Kalenderwoche 40/2019 bis 21/2022)



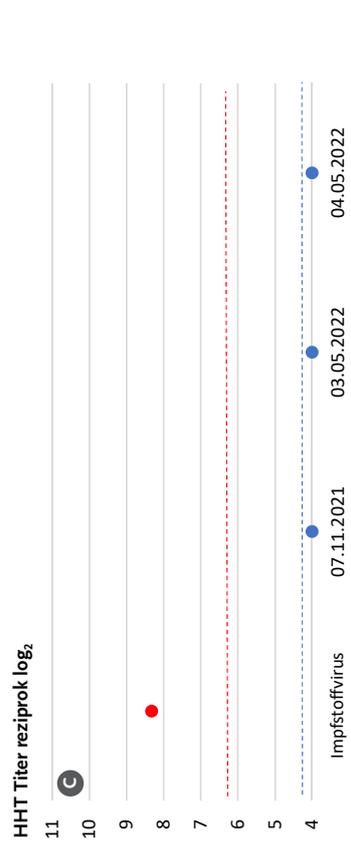
Impfstoffvirus im Vergleich zu Virusisolaten (geordnet nach Entnahmedatum)



Impfstoffvirus im Vergleich zu Virusisolaten (Abstrichentnahme)



B/Austria im Vergleich zu Virusisolaten (Abstrichentnahme)



Impfstoffvirus im Vergleich zu Virusisolaten (Abstrichentnahme)

Abb. 8 | Passgenauigkeit der Impfstoffviren in der Influenzasaison 2021/22; (A) A(H3N2); (B) A(H1N1)pdm09; (C) B/Victoria-Isolat im Vergleich zum Impfstoffvirus Saison 2021/22, (D) B/Victoria-Isolat im Vergleich zu B/Vic Austria (empfohlenes Impfstoffvirus der Saison 2022/23). Rote Punkte: Reaktivität gegen das Impfstoffvirus; blaue Punkte: Reaktivität der isolierten Influenzaviren des jeweiligen Subtyps aufgelistet nach Entnahmedatum des Abstrichs, aus dem das Virus isoliert wurde; rote gestrichelte Linie: Abweichung von über mehr als zwei log₂-Titerstufen; für Viren mit Titern oberhalb der roten gestrichelten Linie besteht sehr hohe Passgenauigkeit; blaue gestrichelte Linie: Nachweisgrenze des Assays. Die eingesetzten Fretchen-Antisera waren gegen folgende Impfviren gerichtet: A/Cambodia/eo826360/2020-like A(H3N2), A/Victoria/2570/2019 (H1N1)-like A(H1N1)pdm09, B/Washington/02/2019-like der Victoria-Linie. Zusätzlich wurde ein Fretchenserum gegen B/Austria/1359417/2021 (deh62-164)-like der Victoria-Linie eingesetzt, da die Virusolate der Victoria-Linie nicht mit dem Impfstoffvirus reagierten. HHT=Hämagglutinationshemmtest

Viren reagierten nicht mit dem Antiserum gegen das B/Victoria-Impfstoffvirus der Saison 2021/22 (s. Abb. 8C), sie zeigten jedoch gute Reaktivität gegenüber einem anderen B/Victoria-Virus: B/Austria/1359417/2021 (del162-164)-like, das für die kommende Saison als Impfstoffvirus von der WHO vorgeschlagen wurde (s. Abb. 8D).

Molekulare Analyse von Influenza A(H1N1)pdm09-Viren

In der Saison 2020/21 wurden keine und in 2021/22 nur wenige A(H1N1)pdm09-Viren im AGI-Sentinel und anderen Einsendungen nachgewiesen. Für drei A(H1N1)pdm09-Viren aus dem Sentinel und zwei Viren, die aus anderen Einsendungen stammten, erfolgte die Sequenzierung über NGS sowie die phylogenetische Analyse der HA-Gene (2 von 5 dargestellt, s. Abb. 9A). Alle fünf Viren gehören zur Clade 6B.1A.5a.1 (Referenzvirus A/Guangdong-Maonan/SWL1536/2019) und weisen die Clade-spezifischen Substitutionen D187A, Q189E im HA₁ auf (ECDC, 2021).²⁵ Die 6B.1A.5a.1-Viren zirkulierten bereits in der Saison 2019/20 und wurden damals zu 52 % im Sentinel nachgewiesen.² Das Impfstoffvirus der Saison 2021/22 gehört jedoch zur Clade 6B.1A.5a.2. Viren dieser Clade wurden in der Saison 2019/20 im Sentinel zu 30 % nachgewiesen.² In der aktuellen Saison wurden 6B.1A.5a.2-Viren auf globaler Ebene detektiert, aber nicht in Deutschland.²⁶ Während in der Saison 2019/20 die 6B.1A.5a.2-Viren und weitere kozirkulierende Viren mit der Substitution N156K im HA₁ eine reduzierte Reaktivität gegen das Impfstoffvirus A/Brisbane/02/2018 (6B.1A.1) aufwiesen, zeigen die aktuell zirkulierenden 6B.1A.5a.1-Viren eine reduzierte antigene Reaktivität gegen das Impfstoffvirus A/Victoria/2570/2019 (6B.1A.5a.2). Die Aminosäureaustausche N156K (6B.1A.5a.2) sind in der Antigenomäne Sa und die Aminosäureaustausche D187A, Q189E (6B.1A.5a.1) in der Antigenomäne Sb und in der Rezeptorbindungsdomäne (190-helix) im HA₁ lokalisiert. Diese im globulären Kopf des HA und der Immunabwehr exponierten Aminosäuresubstitutionen können die Ursache dafür sein, dass die antigene Reaktivität gegenüber den jeweiligen Impfstoffviren bei den nachgewiesenen 6B.1A.5a.2- (2019/20) und 6B.1A.5a.1-Viren (2021/22) suboptimal war (vergl. Passfähigkeit Impfstoff in Abbildung 8B).²

Molekulare Analyse von Influenza A(H3N2)-Viren

In den Saisons 2020/21 (n=2) und 2021/22 (n=168) wurden 170 A(H3N2)-Viren sequenziert und die HA-Gene analysiert. Alle untersuchten Viren, von denen 40 % aus dem Sentinel stammten, gehörten zur Clade 3C.2a1b.2a.2 (Referenzvirus A/Bangladesh/4005/2020). Für die hier dargestellte phylogenetische Analyse der HA-Gene wurden 28 A(H3N2)-Viren aus dem AGI-Sentinel und 28 A(H3N2)-Viren aus anderen Einsendungen ausgewählt. Die HA-Analyse zeigt, dass alle 56 A(H3N2)-Viren (2020/21 und 2021/22) die spezifischen Substitutionen der Clade 3C.2a1b.2a.2 (S159N, K160I, L164Q, V186D, D190N, F193S, Y195F) im HA₁ aufweisen. Darüber hinaus zeigen die meisten A(H3N2)-Viren die Substitution H156S im HA₁ (ein Virus H156Q), welche in der Antigenomäne B und nahe der Rezeptorbindungsdomäne lokalisiert ist. Zusätzlich haben diese Viren im HA₁ häufig die Substitutionen D53G (61 %), D53S (21 %) oder D53N (11 %), welche in der Antigenomäne C lokalisiert sind (s. Abb. 9B, Abb. 10). Auch bei den in der Saison 2021/22 nachgewiesenen A(H3N2)-Viren unterscheiden sich die zirkulierenden Viren (3C.2a1b.2a.2) und das Impfstoffvirus A/Cambodia/eo826360/2020 (3C.2a1b.2a.1) bezüglich der Clade. Die unterschiedliche Beteiligung einzelner Aminosäureaustausche an der Immunitätsausbildung kann die Ursache für die hohe Variabilität in der antigenen Reaktivität der zirkulierenden A(H3N2) in der Saison 2021/22 sein (vergl. auch Abbildung 8A).

Molekulare Analyse von Influenza B/Victoria-Viren

In den Saisons 2020/21 und 2021/22 wurden die Genome von je einem B/Victoria-Virus, welche aus anderen Einsendungen (nicht AGI-Sentinel) stammten, sequenziert. Die Analyse der HA-Gene zeigt, dass beide B/Victoria-Viren (Probenentnahme März 2021 und November 2021) zur Clade V1A.3a.2 (Referenzvirus B/Austria/1359417/2021) gehören mit den Clade-spezifischen Substitutionen A127T, P144L und K203R im HA₁ (s. Abb. 9C). Somit unterscheiden sie sich vom Impfstoffvirus B/Washington/02/2019, das zur Clade V1A.3 gehört. Die zahlreichen Aminosäureaustausche in den Antigenomänen (A127T im 120-loop, P144L im 150-loop) und in der Antigen-

und Rezeptorbindungsdomäne (N197D, K203R in der 190-helix) im HA können die fehlende antigene Reaktivität der wenigen im HHT charakterisierten B/Victoria-Isolate erklären (vergl. Abb. 8C).

In der Saison 2021/22 wurden die in Deutschland identifizierten A(H1N1)pdm09-, A(H3N2)- und B/Victoria-Virusvarianten auch auf globaler Ebene nachgewiesen. In Übereinstimmung mit den hier vorgestellten Ergebnissen dominierten die A(H3N2)-Influenzaviren.²⁶ Die Influenzadaten des NRZI haben auch in der aktuellen Saison zur gepoolten Impfeffektivitätsschätzung von Influenza Monitoring Vaccine Effectiveness in Europe (I-MOVE) beigetragen.²⁷

Resistenzprüfung von Influenzaviren

Entsprechend der WHO-Vorgaben untersucht das NRZI zeitnah mindestens 20 % der nachgewiesenen Influenzaviren auf ihre Empfindlichkeit gegen antivirale Medikamente. Dazu wird mit Hilfe eines fluorometrischen in-house Enzym-Inhibitionstests die IC_{50} der NA-Hemmer Oseltamivir und Zanamivir ermittelt. Zusätzlich werden zum Auffinden von

molekularen Resistenzmarkern die Genomsequenzen der therapeutischen Zielproteine NA, M2-Ionenkanal und der Cap-abhängigen Endonuklease (PA) analysiert. In der Saison 2021/22 (bis KW 18/2022) wurden insgesamt 143 Viren (137 A(H3N2)-, fünf A(H1N1)pdm09-Viren und ein Influenza B/Victoria-Virus) auf ihre Resistenzeigenschaften gegenüber Oseltamivir und Zanamivir untersucht. Eine Resistenz, die durch eine ≥ 10 -fache (Influenza A) bzw. ≥ 5 -fache (Influenza B) Erhöhung der IC_{50} von NA-Hemmern definiert ist, sowie Mutationen, die mit einer Resistenz gegenüber NA-Hemmern assoziiert sind, wurden in den untersuchten Viren nicht detektiert. Die Auswertung der Genomanalyse von 74 Influenza A-Viren zeigte die mit einer Resistenz gegen Adamantane (Amantadin, Rimantadin) assoziierte Substitution M2-S31N in allen untersuchten Virusgenomen. Aufgrund des Polymorphismus S31N des M2-Ionenkanals haben die zirkulierenden Influenza A-Viren der Subtypen A(H1N1)pdm09 und A(H3N2) eine natürliche Resistenz gegen die Wirkstoffklasse der Adamantane. Mit dem in der Europäischen Union von der Europäischen Arzneimittel-Agentur (EMA) im Januar 2021 zugelassenen Wirkstoff Baloxavir marboxil steht ein

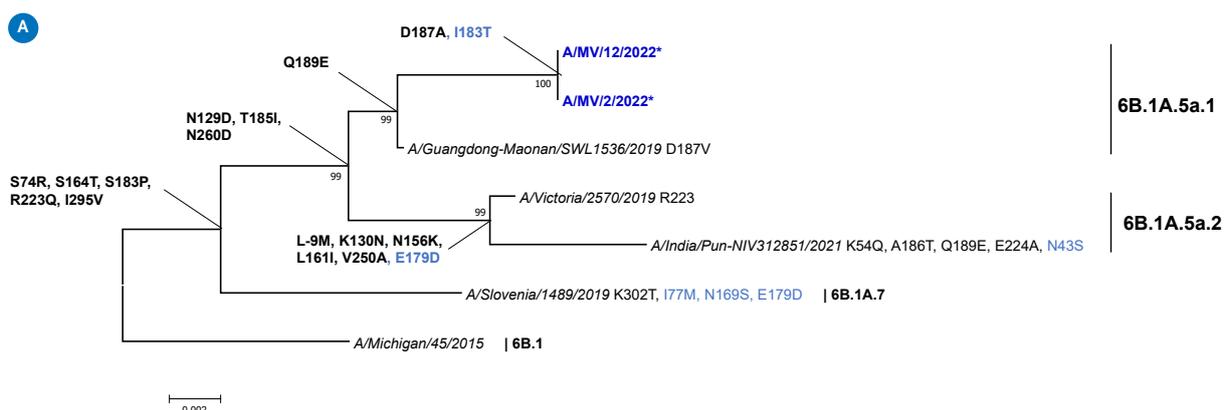


Abb. 9A | Phylogenetische Analyse des Hämagglutinin-(HA-)Gens (Mega: NJ, K2, Bootstrap-Test mit 1000 Wiederholungen, Site Coverage Cutoff 5 %) von (A) A(H1N1)pdm09-, (B) A(H3N2)- und (C) B/Victoria-Viren aus 2020/21 (schwarz) und 2021/22 (blau). Die Virusgenome wurden aus Patientenproben vom Sentinel der Arbeitsgemeinschaft Influenza (AGI) und von anderen Einsendungen (*) gewonnen, über Next Generation Sequencing (NGS) sequenziert und die Vollgenome unter www.gisaid.org hinterlegt. Influenzaviren von Patientinnen und Patienten mit ambulant erworbener Pneumonie (schwerer Verlauf/SchwererV) und Influenzaviren von geimpften Patientinnen und Patienten (Impfdurchbruch/ImpfD) aus dem AGI-Sentinel sind abgebildet. Referenzviren entsprechend ECDC/Tessy sind kursiv markiert.²⁵ Die abgeleiteten Aminosäuresubstitutionen im HA1 (schwarz), HA2 (blau) und Deletionen (-) sind relativ zur untersten Referenz (Root) angegeben. Aminosäurenummierungen <1 stellen Substitutionen im HA-Signalpeptid dar. Für die Virusnamen wurden folgende Abkürzungen verwendet: BW: Baden-Württemberg, BY: Bayern, BE: Berlin, BB: Brandenburg, HB: Bremen, HH: Hamburg, HE: Hessen, MV: Mecklenburg-Vorpommern, NI: Niedersachsen, NW: Nordrhein-Westfalen, RP: Rheinland-Pfalz, SL: Saarland, SN: Sachsen, ST: Sachsen-Anhalt, SH: Schleswig-Holstein, TH: Thüringen.²⁴

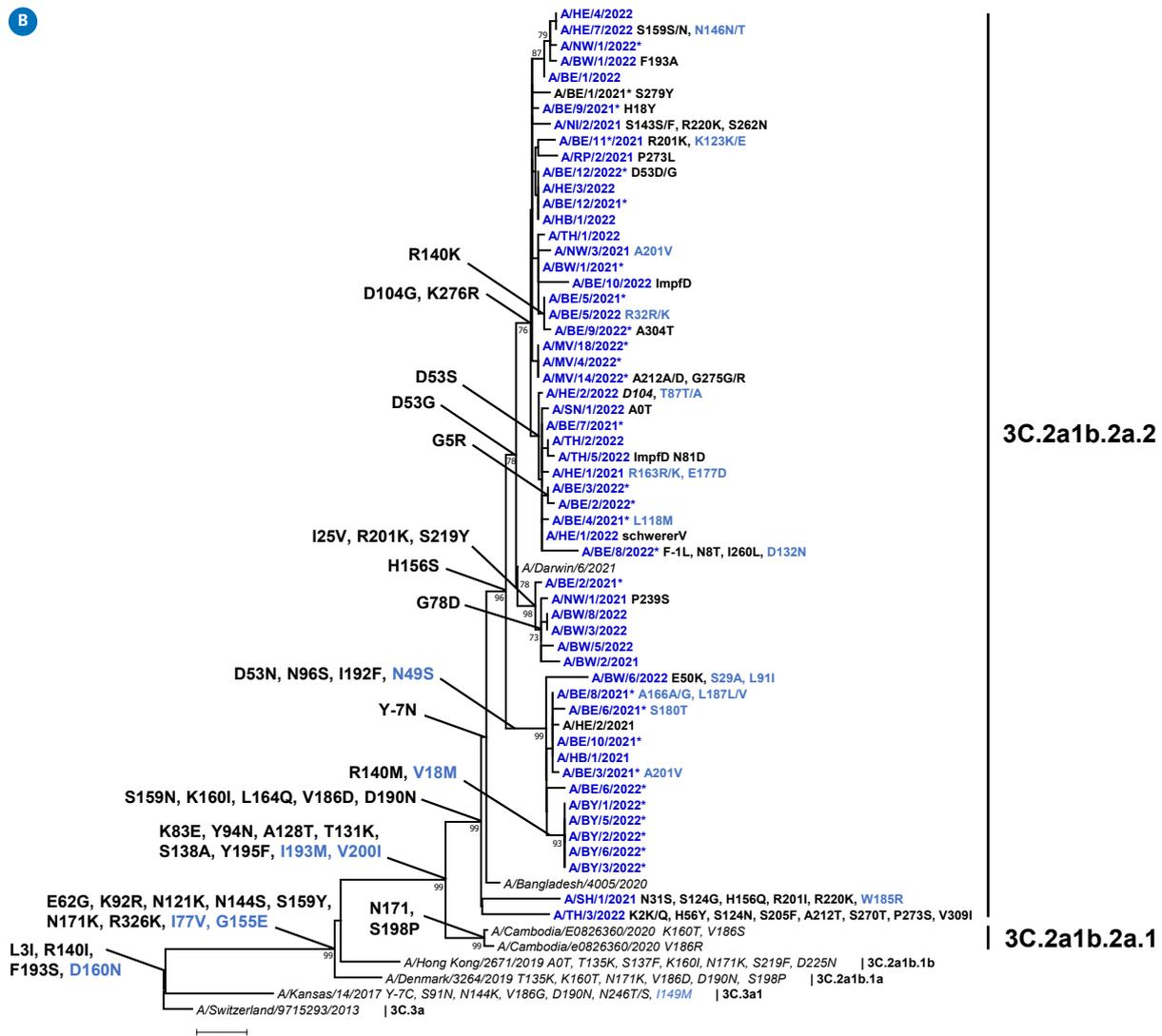


Abb. 9B | Phylogenetische Analyse des Hämagglutinin-(HA-)Gens (Mega: NJ), K2, Bootstrap-Test mit 1000 Wiederholungen, Site Coverage Cutoff 5 %) von (A) A(H1N1)pdm09-, (B) A(H3N2)- und (C) B/Victoria-Viren aus 2020/21 (schwarz) und 2021/22 (blau). Die Virusgenome wurden aus Patientenproben vom Sentinel der Arbeitsgemeinschaft Influenza (AGI) und von anderen Einsendungen (*) gewonnen, über Next Generation Sequencing (NGS) sequenziert und die Vollgenome unter www.gisaid.org hinterlegt. Influenzaviren von Patientinnen und Patienten mit ambulant erworbener Pneumonie (schwerer Verlauf/SchwererV) und Influenzaviren von geimpften Patientinnen und Patienten (Impfdurchbruch/ImpfD) aus dem AGI-Sentinel sind abgebildet. Referenzviren entsprechend ECDC/Tessy sind kursiv markiert.²⁵ Die abgeleiteten Aminosäuresubstitutionen im HA1 (schwarz), HA2 (blau) und Deletionen (-) sind relativ zur untersten Referenz (Root) angegeben. Aminosäurenummierungen <1 stellen Substitutionen im HA-Signalpeptid dar. Für die Virusnamen wurden folgende Abkürzungen verwendet: BW: Baden-Württemberg, BY: Bayern, BE: Berlin, BB: Brandenburg, HB: Bremen, HH: Hamburg, HE: Hessen, MV: Mecklenburg-Vorpommern, NI: Niedersachsen, NW: Nordrhein-Westfalen, RP: Rheinland-Pfalz, SL: Saarland, SN: Sachsen, ST: Sachsen-Anhalt, SH: Schleswig-Holstein, TH: Thüringen.²⁴

Hemmer der Cap-abhängigen Endonuklease PA zur Verfügung, der einen der ersten Schritte im Replikationszyklus des Influenzavirus blockiert. In klinischen Studien wurden bei ca. 10 % der behandelten Patientinnen und Patienten PA-Inhibitorresistente Viren aufgrund von Substitutionen in der PA nachgewiesen.²⁸ Die Auswertung der Genomsequenzen von 63 A(H3N2)-Viren aus der Saison 2021/22 zeigt

keine Mutationen, die mit einer verminderten Empfindlichkeit der Viren gegenüber diesem neuen Wirkstoff assoziiert sind.

In Deutschland sowie international befindet sich die Prävalenz zirkulierender Influenzaviren mit verminderter Empfindlichkeit gegenüber NA-Hemmern und dem PA-Inhibitor Baloxavir marboxil auf

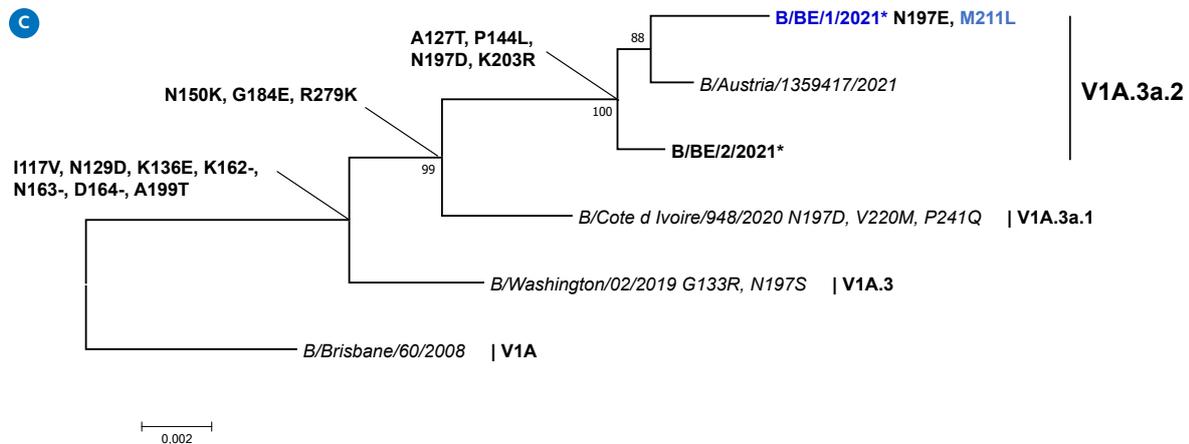
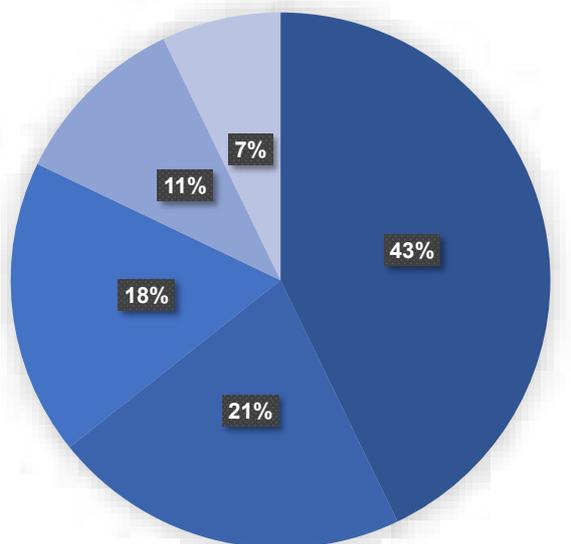


Abb. 9C | Phylogenetische Analyse des Hämagglutinin-(HA-)Gens (Mega: N), K2, Bootstrap-Test mit 1000 Wiederholungen, Site Coverage Cutoff 5 %) von (A) A(H1N1)pdm09-, (B) A(H3N2)- und (C) B/Victoria-Viren aus 2020/21 (schwarz) und 2021/22 (blau). Die Virusgenome wurden aus Patientenproben vom Sentinel der Arbeitsgemeinschaft Influenza (AGI) und von anderen Einsendungen (*) gewonnen, über Next Generation Sequencing (NGS) sequenziert und die Vollgenome unter www.gisaid.org hinterlegt. Influenzaviren von Patientinnen und Patienten mit ambulant erworbener Pneumonie (schwerer Verlauf/SchwererV) und Influenzaviren von geimpften Patientinnen und Patienten (Impfdurchbruch/ImpfD) aus dem AGI-Sentinel sind abgebildet. Referenzviren entsprechend ECDC/Tessy sind kursiv markiert.²⁵ Die abgeleiteten Aminosäuresubstitutionen im HA1 (schwarz), HA2 (blau) und Deletionen (-) sind relativ zur untersten Referenz (Root) angegeben. Aminosäurenummierungen <1 stellen Substitutionen im HA-Signalpeptid dar. Für die Virusnamen wurden folgende Abkürzungen verwendet: BW: Baden-Württemberg, BY: Bayern, BE: Berlin, BB: Brandenburg, HB: Bremen, HH: Hamburg, HE: Hessen, MV: Mecklenburg-Vorpommern, NI: Niedersachsen, NW: Nordrhein-Westfalen, RP: Rheinland-Pfalz, SL: Saarland, SN: Sachsen, ST: Sachsen-Anhalt, SH: Schleswig-Holstein, TH: Thüringen.²⁴



- 3C.2a1b.2a.2 + HA1 D53G, H156S + HA1 D104G, K276R
- 3C.2a1b.2a.2 + HA1 D53S, H156S + HA1 D104G, K276R
- 3C.2a1b.2a.2 + HA1 D53G, H156S + HA1 I25V, R201K, S219Y
- 3C.2a1b.2a.2 + HA1 D53N, H156S + HA1 N96S, I192F, HA2 N49S
- 3C.2a1b.2a.2

Abb. 10 | Anteil der Hämagglutinin-(HA-)Varianten bei den A(H3N2)-Influenzaviren in der Saison 2020/21 (n = 1) und 2021/22 (n = 27), welche im Rahmen des Sentinels der Arbeitsgemeinschaft Influenza nachgewiesen wurden.

gleichbleibend niedrigem Niveau. Es gibt zurzeit keine Hinweise auf eine vom therapeutischen Selektionsdruck unabhängige Entstehung oder auf eine Zirkulation von Influenzaviren, die gegen diese Wirkstoffe resistent sind.

Untersuchungen von RSV, PIV und HMPV

Das Auftreten des neuartigen pandemischen SARS-CoV-2 im Jahr 2020 und die damit einhergehenden Infektionsschutzmaßnahmen zur Eindämmung von COVID-19 beeinflussten die Zirkulation weiterer respiratorischer Viren wie RSV, PIV oder HMPV. Diese wurden in der zweiten Hälfte des Kalenderjahres 2020 fast gar nicht nachgewiesen und kehrten erst mit Aufhebung einiger Infektionsschutzmaßnahmen im Frühjahr und Sommer 2021 schrittweise zurück (s. Abb. 11).

Konkret wurden im virologischen AGI-Sentinel während der Saison 2020/21 bis KW 9/2021 in keiner der untersuchten Proben RSV nachgewiesen (s. Abb. 11). Erste sporadische RSV-Nachweise erfolgten im Zeitraum von KW 9 bis 28/2021. Ab KW 30/2021

stiegen die RSV-Fälle im Sentinel kontinuierlich an und mit KW 35/2021 begann die RSV-Saison in Deutschland.²⁹ Der Höhepunkt der RSV-Saison wurde in KW 41/2021 erreicht, das Ende in KW 50/2021.³⁰ Damit lag die RSV-Saison erstmals außerhalb des sonst üblichen Zeitfensters von November bis März (KW 45 bis 12).³¹ Darüber hinaus wies die Altersgruppe der 0 bis 4 Jahre alten Patientinnen und Patienten im Zeitraum der erhöhten RSV-Aktivität (KW 35 bis 50/2021) mit 40% (519/1.287) eine Positivenrate auf, die deutlich über dem Gesamtdurchschnitt der untersuchten Personen aller Altersgruppen (23%, 708/3.143) lag. In der Altersgruppe der 5- bis 14-Jährigen war der Anteil von RSV-positiv Getesteten im Zeitraum erhöhter RSV-Aktivität mit 5% doppelt so hoch wie in den beiden Vorsaisons. Dies kann auf den Ausfall der Viruszirkulation im Winter 2020/21 zurückzuführen

sein und auf die durch die geringere Exposition verminderte Immunitätslage in diesen Altersgruppen. Die weiterführende genetische Charakterisierung von RSV zeigte, dass in der Altersgruppe der 0 bis 4 Jahre alten Patientinnen und Patienten 73% der Viren der RSV-Gruppe A angehörten, welche bereits in der Saison 2019/20 vorrangig zirkulierten.

In der Saison 2020/21 (KW 40/2020 bis 39/2021) war auch die Zirkulation von HMPV reduziert (s. Abb. 11). Nach ersten HMPV-Nachweisen in KW 14 und 27/2021 wurde das Virus ab KW 33/2021 häufiger in Sentinelproben detektiert und mit Beginn des Jahres 2022 (ab KW 1) nahm die Zahl der HMPV-Nachweise stetig zu. Im Zeitraum der erhöhten HMPV-Aktivität (KW 2 bis 15/2022) lag die Positivenrate von HMPV zwischen 9 und 29%. Die erhöhte HMPV-Aktivität trat in einem zu den Vor-

Anteil in % von allen eingesandten Proben

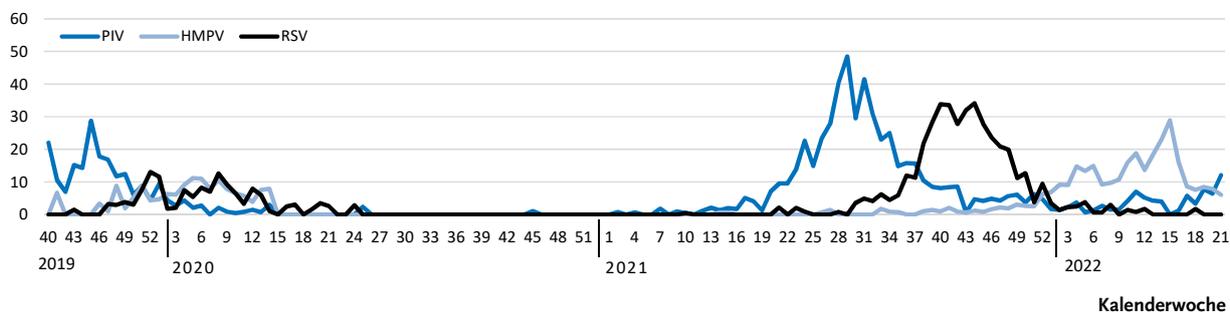


Abb. 11 | Nachweise von Parainfluenzaviren (PIV), humanen Metapneumoviren (HMPV) und Respiratorischen Syncytialviren (RSV) in Proben des Sentinels der Arbeitsgemeinschaft Influenza (Kalenderwoche 40/2019 bis 21/2022)

Anteil in % von allen eingesandten Proben

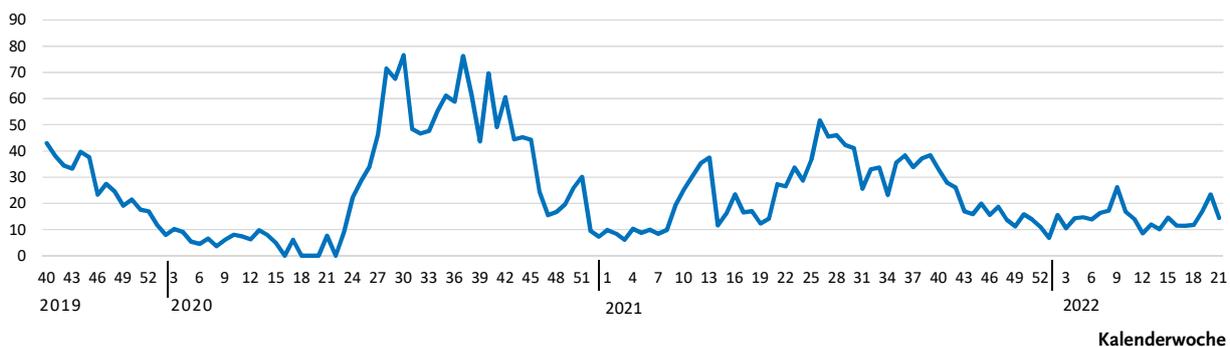


Abb. 12 | Nachweise von humanen Rhinoviren in Proben des Sentinels der Arbeitsgemeinschaft Influenza (Kalenderwoche 40/2019 bis 21/2022)

saisons vergleichbaren Zeitraum auf. Die HMPV-Positivenrate war im Jahr 2022 höher als in den meisten Vorsaisons. Erste Differenzierungen von HMPV-positiven Proben in der Gruppe der 0 bis 4 Jahre alten Patientinnen und Patienten in der noch laufenden HMPV-Saison zeigen, dass Gruppe A- und B-Viren zu gleichen Anteilen kozirkulieren.

Das zeitliche Auftreten der PIV-Typen folgt einem saisonalen Muster mit stärkerer Zirkulation im Herbst und Winter, wobei PIV-3 ganzjährig nachgewiesen wird und auch im Sommer zirkuliert.¹⁸ Obgleich alle PIV-Typen in einer Saison kozirkulieren, treten PIV-1 und -4 sowie PIV-2 und -3 abwechselnd alle zwei Jahre häufiger auf (z. B. wurden PIV-1 und -4 häufiger in den Jahren 2015/16 und 2017/18 nachgewiesen, PIV-2 und -3 häufiger 2016/17 und 2018/19).¹⁸ Unter dem Einfluss der Infektionsschutzmaßnahmen kam es bis KW 9/2021 nur sehr sporadisch zu PIV-Nachweisen. Erst ab KW 10/2021 wurden PIV wieder regelmäßig in den Sentinelproben detektiert (s. Abb. 11). Hierbei stammten die meisten identifizierten PIV-positiven Proben aus der Altersgruppe 0 bis 5 Jahre; in 96 % dieser Proben fand sich PIV-3 und in 4 % PIV-4. Seit Beginn der aktuellen Saison 2021/22 in KW 40/2021 sind vermehrt PIV-4 nachgewiesen worden. Von KW 40/2021 bis 12/2022 wurden in der Altersgruppe der <5-Jährigen in 108 Fällen PIV detektiert, davon 80 % PIV-4, 16 % PIV-3 und 4 % PIV-2.

Untersuchungen zu Rhinoviren

HRV waren die respiratorischen Viren, die nach dem ersten Lockdown im Frühjahr 2020 zuerst wieder auftraten. Sie zirkulierten im Frühjahr und Sommer 2020 verstärkt und sind seitdem kontinuierlich nachgewiesen worden (s. Abb. 12).

Fazit

Virologische Untersuchungen in syndromisch definierten Stichproben tragen wesentlich zum Verständnis der Zirkulationsmuster respiratorischer Erreger bei. Die Nachweise einzelner zoonotischer Übertragungen von Influenzaviren im Sentinel zeigen, dass Sentinelsysteme auch als Frühwarnsysteme geeignet sind, insbesondere wenn die Sensitivität des Sentinels durch größere Stichprobenunter-

Parameter	Schlussfolgerungen
Repräsentativität	Sowohl das AGI-Sentinel als auch das IMS-SC2-Netzwerk bilden sehr gut den nationalen Trend der Zirkulation von SARS-CoV-2 und seiner Varianten sowie anderer respiratorischer Viren ab und sind daher ein wichtiges Instrument zur Surveillance respiratorischer Viren.
Schutzmaßnahmen	Die Schutzmaßnahmen zur Eindämmung von SARS-CoV-2 hatten auch Einfluss auf die Zirkulation anderer respiratorischer Viren, insbesondere bei Influenzaviren war dieser Effekt sehr nachhaltig. Diese Erkenntnisse können zukünftig zur Intervention bei schweren Grippewellen genutzt werden.
Charakterisierung von Viren	Die Kombination von antigener und molekularer Charakterisierung von Influenzaviren sowie syndromischer Surveillance ist sehr gut zur Einschätzung der Passfähigkeit der Influenzaimpfstoffe und der Impfwirksamkeit geeignet. Diese Techniken lassen sich in modifizierter Form künftig auch auf andere Erreger wie RSV, SARS-CoV-2 und weitere Viren übertragen. Eine Ausdehnung des Sentinels auf den stationären Bereich ist dabei wichtig, weil sich Impfwirksamkeiten am besten anhand der Prävention der Schwere respiratorischer Erkrankungen messen lassen.
Resistenzprüfung von Viren	Die Prüfung auf Resistenzen von Influenzaviren gegen antivirale Mittel im Sentinel ist ein bewährtes Tool zur Einschätzung der Resistenzsituation im nationalen und internationalen Maßstab, das sich auch an andere Erreger adaptieren lässt.
Untersuchungsspektrum	Eine syndromische Surveillance in Kombination mit virologischen Untersuchungen auf der Basis eines breiten Spektrums an Erregern von Atemwegserkrankungen im ambulanten und stationären Bereich ist wichtig, um den Einfluss respiratorischer Viren auf das Infektionsgeschehen in der Bevölkerung zu überwachen und Schlussfolgerungen für die mit den jeweiligen Erregern assoziierte Krankheitsschwere zu ziehen.

Tab. 1 | Schlussfolgerungen aus den Analysen

suchungen erhöht wird. Ein weiterer Ausbau der Sentinelsurveillance (syndromisch und virologisch), insbesondere auch im stationären Bereich, kann zur verfeinerten Überwachung des Infektionsgeschehens in der Bevölkerung, zur Einschätzung der Schwere respiratorischer Erkrankungen und zur besseren Beurteilung der Impfwirksamkeit beitragen (s. Tab. 1).

Literatur

- 1 J. Schilling u.a. Zweite Aktualisierung der „Retrospektiven Phaseneinteilung der COVID-19-Pandemie in Deutschland“. *Epid Bull* 2022;10:3-5 DOI: 10.25646/9787
- 2 M. Wedde u.a. Virologische Analysen in der Influenzasaison 2019/20. *Epid Bull* 2020;45: 7-15. DOI: 10.25646/7199
- 3 <https://influenza.rki.de/Diagrams.aspx?agiRegion=0>
- 4 <https://edoc.rki.de/handle/176904/39>
- 5 https://www.rki.de/DE/Content/InfAZ/N/Neuartiges_Coronavirus/Situationsberichte/Gesamt.html
- 6 D.-Y. Oh u.a. Trends in respiratory virus circulation following COVID-19-targeted nonpharmaceutical interventions in Germany, January – September 2020: Analysis of national surveillance data. *Lancet Reg. Health Eur.* 6: 100112, 2021. Epub Jun 7. DOI: 10.1016/j.lanepe.2021.100112
- 7 M. Matrosovich u.a. Overexpression of the -2,6-Sialyltransferase in MDCK Cells Increases Influenza Virus Sensitivity to Neuraminidase Inhibitors. *Journal of Virology* 2003; 77: 8418-25.
- 8 B. Rath u.a. Prospective surveillance of antiviral resistance in hospitalized infants less than 12 months of age with A(H3N2) influenza infection and treated with oseltamivir. *Antivir Ther.* 2017;22(6):515-522. DOI: 10.3851/IMP3141. Epub 2017 Feb 16. PMID: 28205506
- 9 S. Duwe S u.a. A new and rapid genotypic assay for the detection of neuraminidase inhibitor resistant influenza A viruses of subtype H1N1, H3N2, and H5N1. *Journal of Virological Methods* 2008; 153: 134-41
- 10 WHO. Meetings of the WHO working group on surveillance of influenza antiviral susceptibility- Geneva, November 2011 and June 2012. available at: <http://www.who.int/wer/2012/wer8739.pdf>. (date last accessed 2020-10-14)
- 11 R. A. Bright u.a. Incidence of adamantane resistance among influenza A (H3N2) viruses isolated worldwide from 1994 to 2005: a cause for concern *Lancet.* 2005 Oct 1;366(9492):1175-81. DOI: 10.1016/S0140-6736(05)67338-2. Epub 2005 Sep 22. PMID: 16198766
- 12 WHO, 2009. Influenza A(H1N1) M2 detailed pyrosequencing protocol for antiviral susceptibility testing. Available at: http://www.who.int/csr/resources/publications/swineflu/M2_DetailedPyrosequencing_20090513.pdf (accessed 14.10.2020)
- 13 B. Zhou u.a. Single-reaction genomic amplification accelerates sequencing and vaccine production for classical and Swine origin human influenza A viruses. *J Virol.* 2009 Oct;83(19):10309-13. DOI: 10.1128/JVI.01109-09. Epub 2009 Jul 15. PMID: 19605485; PMCID: PMC2748056.
- 14 B. Zhou u.a. Universal influenza B virus genomic amplification facilitates sequencing, diagnostics, and reverse genetics. *J Clin Microbiol.* 2014 May; 52(5):1330-7. DOI: 10.1128/JCM.03265-13. Epub 2014 Feb 5. PMID: 24501036; PMCID: PMC3993638.
- 15 J. Quick u.a. Multiplex PCR method for MinION and Illumina sequencing of Zika and other virus genomes directly from clinical samples. *Nat Protoc.* 12, 1261-1276
- 16 D.-Y. Oh u.a. Advancing Precision Vaccinology by Molecular and Genomic Surveillance of SARS-CoV-2 in Germany, 2021. *Clin. Inf. Dis.* 2022, accepted
- 17 <https://influenza.rki.de/saisonbericht.aspx>
- 18 D.-Y. Oh u.a. Virological surveillance and molecular characterization of human parainfluenzavirus infection in children with acute respiratory illness: Germany, 2015–2019. *Microorganisms* 9 (7): 1508, 2021. Epub Jul 14. DOI: 10.3390/microorganisms9071508. <https://doi.org/10.3390/microorganisms9071508>
- 19 B. Biere u.a. Surveillance of endemic human Coronaviruses in Germany, 2019/2020. *Lancet Reg Health Eur* 11: 100262, 2021. Epub Nov 4. DOI: 10.1016/j.lanepe.2021.100262
- 20 Pangolin COVID-19 Lineage Assigner. Available at: <https://pangolin.cog-uk.io/> Described in: Rambaut, A., Holmes, E.C., O’Toole, Á. et al. A dynamic nomenclature proposal for SARS-CoV-2 lineages to assist genomic epidemiology. *Nat Microbiol* 5, 1403–1407 (2020)
- 21 RKI, Zirkulierende Influenzaviren. Available at: https://www.rki.de/DE/Content/Infekt/NRZ/Influenza/zirkulierende/zirkulierende_node.html?jsessionid=24B0F08306C2223E2F5AA33FCE1880BFinternet082
- 22 R. Yang u.a. SARS-CoV-2 accessory Protein ORF7b Mediates Tumor Necrosis Factor- α -Induced Apoptosis in Cells. *Front. Microbiol.* 12:654709, 2021. DOI: 10.3389/fmicb.2021.654709
- 23 R. Dürrwald u.a. Zoonotic infection with swine A/H1avN1 influenza virus in a child, Germany, June 2020. *Euro Surveill* 25 (42): 2001638, 2020. DOI: 10.2807/1560-7917.ES.2020.25.42.2001638
- 24 BMBF, Glossar, BegriffeA-Z. Available at: <https://www.datenportal.bmbf.de/portal/de/G122.html>
- 25 European Centre for Disease Prevention and Control. Influenza virus characterisation, summary Europe, November 2021. Stockholm: ECDC; 2020. Available at: <https://www.ecdc.europa.eu/sites/>

[default/files/documents/Influenza-characterisation-report-Nov-2021.pdf](#)

26 https://www.crick.ac.uk/sites/default/files/2022-04/Crick_NH2022-23%20VCM%20report.pdf

27 <https://flunewseurope.org/Vaccine>

28 S. C. Duwe u.a. Prophylaxis and treatment of influenza: options, antiviral susceptibility, and existing recommendations. *GMS Infect Dis.* 2021 Apr 30;9:Doc02. DOI: 10.3205/id000071. PMID: 34113534; PMCID: PMC8165743

29 FG17 Konsiliarlabor für RSV, PIV und HMPV; FG36 Respiratorisch übertragbare Erkrankungen (2021): Zur aktuellen Situation von RSV in der Saison 2020/21. *Epid Bull* 2021 (38): 41. (23. Sept. 2021)

30 FG17 Konsiliarlabor für RSV, PIV und HMPV; FG36 Respiratorisch übertragbare Erkrankungen (2021): Einschätzung der aktuellen Situation zur RSV-Aktivität. *Epid Bull* 2021 (36): 23. (9. Sept. 2021)

31 W. Cai u.a. Determination of respiratory syncytial virus epidemic seasons by using 95 % confidence interval of positivity rates, 2011 – 2021, Germany. *Influenza and other respiratory viruses.* 2022; DOI: 10.1111/irv.12996

Autorinnen und Autoren

^{a)} Dr. Ralf Dürrwald | ^{a)} Dr. Marianne Wedde |

^{a)} Dr. Susanne Duwe | ^{a)} Dr. Barbara Biere | ^{a)} Dr. Janine Reiche | ^{a)} Dr. Sophie Köndgen | ^{a)} Julia Patricia Ramos Calderón | ^{a)} Dr. Matthias Budt | ^{b)} Dr. Oliver Drechsel | ^{b)} Dr. Stephan Fuchs | ^{b)} Berit Haldemann | ^{c)} Felix Hartkopf | ^{b)} Dr. Martin Hölzer | ^{b)} Dr. Matthew Huska | ^{b)} Sandra Kaiser | ^{d)} Dr. Kathrin Keeren | ^{e)} Dr. Stefan Kröger | ^{b)} Dr. Sofia Paraskevopoulou | ^{c)} Dr. Aleksandar Radonic | ^{f)} Bernd Reinhardt | ^{c)} Dr. Torsten Semmler | ^{c)} Dr. Andrea Thürmer | ^{b)} Dr. Kathrin Trappe | ^{b)} Katja Winter | ^{g)} Prof. Dr. Martin Mielke | ^{e)} Dr. Silke Buda | ^{a)} Dr. Djin-Ye Oh | ^{a)} PD Dr. Thorsten Wolff

^{a)} Robert Koch-Institut, Abt. 1 Infektionskrankheiten, FG 17 Influenzaviren und weitere Viren des Respirationstraktes

^{b)} Robert Koch-Institut, Abt. MFI Methodenentwicklung, Forschungsinfrastruktur und Informationstechnologie, MFI Bioinformatik und Systembiologie

^{c)} Robert Koch-Institut, Abt. MFI Methodenentwicklung, Forschungsinfrastruktur und Informationstechnologie, MF2 Genomsequenzierung und genomische Epidemiologie

^{d)} Robert Koch-Institut, Abt. 1 Infektionskrankheiten, FG 15 Virale Gastroenteritis- und Hepatitisreger und Enteroviren, Geschäftsstelle der Nationalen Kommission zur Polioeradikation

^{e)} Robert Koch-Institut, Abt. 3 Infektionsepidemiologie, FG36 Respiratorisch übertragbare Erkrankungen

^{f)} Robert Koch-Institut, Abt. MFI Methodenentwicklung, Forschungsinfrastruktur und Informationstechnologie, IT Informationstechnologie, IT4 Development

^{g)} Robert Koch-Institut, Abt. 1 Infektionskrankheiten

Korrespondenz: duerrwaldr@rki.de

Vorgeschlagene Zitierweise

Dürrwald R, Wedde M, Duwe S, Biere B, Reiche J, Köndgen S, Ramos Calderón JP, Budt M, Drechsel O, Fuchs S, Haldemann B, Hartkopf F, Hölzer M, Huska M, Kaiser S, Keeren K, Kröger S, Paraskevopoulou S, Radonic A, Reinhardt B, Semmler T, Thürmer A, Trappe K, Winter K, Mielke M, Buda S, Oh DY, Wolff T: Synopse virologischer Analysen im Nationalen Referenzzentrum für Influenzaviren während der COVID-19-Pandemie

Epid Bull 2022;22:3-18 | DOI 10.25646/10118

Interessenkonflikt

Die Autorinnen und Autoren erklären, dass kein Interessenkonflikt besteht.

Danksagung

Wir bedanken uns bei allen Sentinelpraxen, dem Helios Klinikum Emil von Behring, Berlin, und dem Diakonie Krankenhaus, Bad Kreuznach, für die Einsendung von Proben. Wir danken folgenden Instituten für die Einsendung von Influenzavirusisolaten: Labor Krause und Kollegen, Kiel, Labor Berlin, Berlin, Institut für Virologie, Universitätsklinikum Ulm, Institut für Mikrobiologie und Hygiene, Universität Freiburg, Landesgesundheitsamt Baden-Württemberg, Stuttgart, Niedersächsisches Landesgesundheitsamt, Hannover. Wir danken den Autoren von GISAID für die Sequenzen, die für vergleichende Analysen genutzt wurden. Prof. Dr. Timm Harder und Prof. Dr. Martin Beer vom Friedrich-Loeffler-Institut, Greifswald – Insel Riems, danken wir für die Etablierung von Immuseren in Frettchen. Weiterhin bedanken wir uns bei Mareen Adam, Annemarie Brose, Kristina Rae Fabian, Heike Fischer, Susi Hafemann, Anabel Hales, Youngsun Ham, Gudrun Heins, Ute Hopf-Guevara, Carmen Karstädt-Schulze, Petra Kurzendorfer, Katja Irena Madaj, Jeanette Milde, Bettina Mischke, Tanja Pilz, Anneliese Schindel, Louisa Schmidt, Christine Spingies, Mariella Szafraniec, Nathalie Tollard, Andreas Sachse, Ute Preuß und Kerstin Prahm, Robert Koch Institut, Berlin, Germany für die Assistenz bei den Laboruntersuchungen, die Koordination des Sentinels und der Wochenberichte sowie für die Genomsequenzierung sowie bei Dr. Sébastien Calvignac-Spencer für die fachliche Beratung.