Aus der

Medizinischen Universitätsklinik und Poliklinik Tübingen

Abteilung VII, Tropenmedizin

(Schwerpunkt: Institut für Tropenmedizin, Reisemedizin, Humanparasitologie)

SARS-COV-2 Exposition von Tübinger Kindern nach der zweiten COVID-19 Welle

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizin

der Medizinischen Fakultät
der Eberhard-Karls-Universität
zu Tübingen

vorgelegt von
Caminada, Lena-Fabienne

2025

Dekan:	Professor Dr. B. Pichler
1. Berichterstatter:	Privatdozentin Dr. A. Kreidenweiss
2. Berichterstatter:	Privatdozentin Dr. N. Köstlin-Gille
Tag der Disputation:	23.06.2025

Widmung

Ich widme diese Arbeit meiner Familie und allen anderen, die mich während des Prozesses immer wieder unterstützt und ermutigt haben.

Inhalt

Tabellenverzeichnis 3

Abbildungsverzeichnis 4

Abkürzungsverzeichnis 5

1 Einleitung 6

1.1 SARS-CoV-2 und COVID-19 6
1.2 Verlauf der Erkrankung 8
1.2.1 Bei Erwachsenen 8
1.2.2 SARS-CoV-2 bei Kindern 9
1.3 Übertragung 10
1.4 Akutdiagnostik 11
1.5 Epidemiologie und Demografie 11
1.5.1 Weltweit 11
1.5.2 In Deutschland 12
1.5.3 Bei Kindern 13
1.5.4 SARS-CoV-2 Inzidenz bei Kindern in Tübingen 14
1.6 Seroprävalenz SARS-Cov-2 Antikörper 15
1.6.1 Seroprävalenzstudien bei Kindern 16
1.7 Mukosale Immunantwort bei SARS-CoV-2 17
1.8 Speichel zur Antikörperbestimmung 17
1.9 Zielsetzung der Arbeit 19

2 Material und Methoden 21

2.1 Ethik 21
2.2 Studiendesign und Studienpopulation 21
2.3 Fragebogen 23
2.4 Studienstätte 23
2.5 Probengewinnung 25
2.6 Speichel- und Blutprobenverarbeitung 25
2.7 ELISA für die Speichelproben 26
2.8 ELISA für das Blutplasma 27

2.9 Analyse der Daten ... 28
3 Ergebnisse ... 29
3.1 Charakteristika der Studienpopulation ... 29
3.2 Vorbemerkung zu geimpften und genesenen Studienteilnehmern ... 30
3.3 Seroprävalenz und Meldedaten ... 31
3.4 Erkältungsähnliche Symptome ... 32
3.5 Virusnachweis und SARS-Cov-2 Antikörper im Speichel ... 33
3.6 Familienanamnese und SARS-CoV-2 Antikörperprävalenz ... 34
3.7 Antikörper-Konzentrationen ... 35
3.8 Bestätigung im Blut ... 36
3.9 SARS-CoV-2 Antikörper bei geimpften Kindern ... 39
3.10 Untersuchung auf Ausbruchscluster ... 41
4 Diskussion ... 43
4.1 Einführung ... 43
4.2 Diskussion der Methoden ... 43
4.3 Diskussion der Ergebnisse ... 45
4.3.1 Studienpopulation ... 45
4.3.2 Erkältungsartige Symptome ... 47
4.3.3 SARS-CoV-2 Antikörperprävalenz im Speichel ... 47
4.3.4 Vergleich Akutdiagnostik und Antikörperergebnis ... 50
4.3.5 Ansteckung innerhalb der Familie ... 51
4.3.6 Konzentration der SARS-CoV-2 Antikörper ... 51
4.3.7 Vergleich Blut- und Speicheldiagnostik ... 52
4.3.8 Einfluss von Impfungen auf die Antikörpermenge ... 53
4.3.9 Clusterbildung ... 53
4.3.10 Zusammenfassung der Erkenntnisse ... 54
4.4 Ausblick ... 55
5 Zusammenfassung ... 57
Anhänge ... 59
Literaturverzeichnis ... 66
Erklärung zum Eigenanteil ... 74

Veröffentlichung 75

Danksagung 76

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Charakteristika der Studienpopulation zum Zeitpunkt der 3. Erhebung innerhalb der Coro-Buddy-Studie (März - Juni 2021) *29*

Tabelle 2: Zensus Stadtgebiet Tübingen im Vergleich zur Population der Coro-Buddy-Studie *30*

*Tabelle 3: Anteil und Prävalenz der SARS-CoV-2-IgG Antikörper (IgG Positive) im Speichel bei Teilnehmern der Coro-Buddy-Studie verglichen mit den SARS-CoV-2 PCR-Meldedaten des Gesundheitsamt Tübingen in den korrespondierenden Altersgruppen aus demselben Untersuchungsgebiet. * Gesamtzahl der Teilnehmer in den entsprechenden Altersgruppen in Coro-Buddy, # Gesamtzahl der Gemeldeten im Stadtgebiet Tübingen in der entsprechenden Altersgruppe* *32*

Tabelle 4: Angabe von Symptomen in den letzten 2 Monaten und SARS-CoV-2 Antikörperstatus (IgG Positive im Speichel) *33*

Tabelle 5: Übersicht Zusammenhang positiver SARS-CoV-2 Test in den letzten 6 Monaten oder positiver SARS-CoV-2 Test im Haushalt und Ergebnis der SARS-CoV-2 IgG Antikörperdiagnostik im Speichel *34*

Tabelle 6: Ergebnisse der Nachuntersuchung nach T3 im Plasma und Speichel bei weiterhin ungeimpften Kindern; rot markiert sind Felder die den cut-off unterschreiten (<6,3 ng/mL im Speichel und <0,8 µg/mL im Plasma, bei EUROIMMUN <0,8 Verhältnis von Extinktion der Patientenprobe zu Extinktion des Kalibrator) und somit negativ sind; Werte über dem cut-off sind grün gefärbt; die In-house Tests (Speichel und Plasma IgG-In-house) richten sich gegen das RBD Protein, der EUROIMMUN-Test gegen das S-Protein *37*

Tabelle 7: SARS-CoV-2 Antikörperergebnisse bei nach T3 gegen SARS-CoV-2 geimpften Kindern in der Nachuntersuchung wenige Monate später; rot markiert sind Felder die den cut-off unterschreiten (<6,3 ng/mL im Speichel und <0,8 µg/mL im Plasma, bei EUROIMMUN <0,8 Verhältnis von Extinktion der Patientenprobe zu Extinktion des Kalibrator); Werte über dem cut-off sind grün gefärbt; die In-house Tests (Speichel und Plasma IgG-In-house) richten sich gegen das RBD Protein, der EUROIMMUN-Test gegen das S-Protein *38*

Tabelle 8: Auflistung Fälle von Genesenen nach Einrichtungen; K=Kindergarten, Gr=Grundschulen, Gy= Gymnasien *42*

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Anzahl der an das RKI übermittelten COVID-19-Fälle pro 100.000 Einwohnerinnen und Einwohner innerhalb von 7 Tagen, zeitlicher Verlauf von Beginn der Pandemie bis 04.02.2024, Quelle: (Corona-Pandemieradar, 2023) *13*

Abbildung 2: Flussschema zum Ablauf der Beprobung zum Zeitpunkt T3 der Coro-Buddy-Studie: Teilnehmeranzahl nach Schulformen und Alter und Nachtestung der Antikörper im Blut und Speichel bei positivem Ergebnis im SARS-CoV-2 IgG Speicheltest *22*

Abbildung 3: Studienstätten im Stadtbereich Tübingen; schwarze Linie: Umrandung der Stadtgrenzen von Tübingen, rot: teilnehmende Kindergärten, gelb: teilnehmende Grundschulen, blau: teilnehmende weiterführende Schulen *24*

Abbildung 4: Verteilung der SARS-CoV-2 Antikörperkonzentrationen (IgG-positiv), schwarz gepunktete cut-off-Linie bei 6,3 ng/mL; Unterteilung nach Kindergartenkindern (0-5 Jahre), Grundschulkindern (6-10 Jahre) und Gymnasialkindern (11-18 Jahre); angegeben ist der Median und die 25%- und 75%-Perzentile *36*

Abbildung 5: Korrelation von IgG-Konzentration im Plasma und Speichel; r=0,57 ..... *38*

Abbildung 6: Vergleich Antikörperkonzentration im Speichel bei Kindern, die an T3 genesen (convalescent, n =50), geimpft (vaccinated, n =160) oder genesen und geimpft waren (convalescent vaccinated, n =8) *40*

Abbildung 7: Vergleich Antikörperkonzentration im Plasma bei Kindern, die an T3 genesen (convalescent, n=17) oder mindestens einmal geimpft und genesen (vaccinated convalescent, n=8) waren. *40*

Abkürzungsverzeichnis

ACE-2	Angiotensin Converting Enzyme 2
ARDS	Acute Respiratory Distress Syndrom
COVID-19	Coronavirus Disease 2019
ECMO	Extrakorporale Membranoxygenierung
ELISA	Enzyme-linked Immunosorbent Assay
EMA	Europäische Arzneimittel-Agentur
HRP	Horseradish Peroxidase (Meerrettichperoxidase)
IgG	Immunglobulin G
KiTa	Kindertagesstätte
N-Protein	Nukleokapsid-Protein
PCR	Polymerase Chain Reaction
PEI	Paul-Ehrlich-Institut
RNA	Ribonukleinsäure
RBD	Receptor Binding Domain
RKI	Robert-Koch-Institut
SARS-CoV-2	Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus Type 2
S-Protein	Spike-Protein
VOC	Variant of Concern
VOI	Variant of Interest
WHO	World Health Organization

1 Einleitung

1.1 SARS-CoV-2 und COVID-19

SARS-CoV-2 (Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus Type 2) ist der Erreger der Erkrankung COVID-19 (Coronavirus Disease 2019), die sich im März 2020 zur Pandemie entwickelte, viele Todesopfer weltweit forderte und zu massiven Einschränkungen des öffentlichen Lebens führte. Am 05.05.2023 erklärte die WHO die „gesundheitliche Notlage von internationaler Tragweite“ aufgrund der SARS-CoV-2 Pandemie für beendet und leitete einen Übergangsplan für COVID-19 in die Wege (WHO, 2024a).

Trotz „Ende der gesundheitlichen Notlage von internationaler Tragweite“ kommt es weiterhin zu Infektionen weltweit. Insgesamt sind bis dato mehr als 775.000.000 Fälle weltweit gemeldet worden. Weltweit gab es knapp 7 Millionen Todesopfer (Stand 12/2024). Durch Impfungen und überstandene Infektionen hat die Immunität in der Bevölkerung zugenommen und die Pathogenität des Virus hat im zeitlichen Verlauf abgenommen. In den meisten Ländern finden daher nur noch kleinere und weniger schwere Ausbrüche der Erkrankung statt. Zudem wurden in vielen Ländern die Maßnahmen zur Eindämmung der Virusverbreitung beendet (Bundesregierung, 2023; WHO, 2024c).

COVID-19 ist eine in den meisten Fällen mild verlaufende Erkrankung, die vornehmlich die oberen Atemwege betrifft. Das Virus wurde erstmals in Wuhan, China im Dezember 2019 entdeckt. Es gehört zu den Beta-Coronaviren und zeigt Verwandtschaft zu tierischen Coronaviren (Fledermäuse und Schuppentiere). Aufgrund seiner Ähnlichkeit zum 2003 entdeckten SARS-CoV, wird es als SARS-CoV-2 bezeichnet (Ayittey et al., 2021). Coronaviren gehören zu den RNA-Viren. Die RNA ist durch eine Membran umhüllt. Das Genom von SARS-CoV-2 ist einzelsträngig (+ssRNA). Das Genom codiert für die Strukturproteine N, M, E und S (Nukleokapsid-, Membran-, Hüll- und Spikeprotein) und noch weitere zusätzliche Proteine. Das Spike-Protein, welches auf der Oberfläche der Virushülle sitzt, vermittelt den Eintritt in die Wirtszelle. Es besteht aus zwei Untereinheiten: Der S1-Untereinheit mit der Receptor Binding Domain (RBD) und

der S2-Untereinheit. Diese können als Angriffspunkt für neutralisierende Antikörper genutzt werden. SARS-CoV-2 verwendet das Protein ACE-2 (Angiotensin Converting Enzyme 2) als Rezeptor, um seine Wirtszellen zu befallen. ACE-2 ist ein membrangebundenes Protein, welches von vielen Endothel- und Epithelzellen unterschiedlicher Gewebe des Körpers exprimiert wird. Dazu gehören Herz, Lunge, Leber, Verdauungsorgane, Hoden, Gehirn und vaskuläres Endothel. SARS-CoV-2 ist hochansteckend und besitzt eine hohe Mutationsrate (Li et al., 2022). Da nicht jede neue Variante als besorgniserregend einzustufen ist, beobachtet die WHO primär die Variants of Concern (VOC). Bisher gab es die VOCs Alpha-, Beta-, Gamma-, Delta- und Omikron-Variante (mit mehreren Untervarianten). Aktuell (Stand Oktober 2024) wird keine der Varianten mehr als besorgniserregend eingestuft. Einige Varianten werden noch als VOI (Variant of Interest) beobachtet (WHO, 2024b). Die WHO nutzt 4 Kriterien, um die Gefahr einer neuen Variante einzustufen: Übertragbarkeit; unzureichender Schutz vor Infektion trotz Impfung/vorheriger Infektion; Schwere der Krankheit und Mortalität (Parums, 2022). Die Alpha-Variante zirkulierte in Deutschland ab Mitte Dezember 2020. Im selben Zeitraum wurden die ersten Infektionen mit der Beta-Variante beobachtet. Schon kurz darauf folgten die Gamma-Variante und die Delta-Variante. Letztere zog in Deutschland eine große Infektionswelle nach sich und war im Zeitraum Sommer bis Dezember 2021 die vorherrschende Variante. Über die Omikron-Variante wurde erstmals Ende November 2021 berichtet. Ab Dezember 2021 wurde sie zur häufigsten Variante in Deutschland (Jank et al., 2023). Sie hielt sich bis Anfang 2023 als häufigste Variante. Lediglich die dominierende Sublinie von Omikron veränderte sich über die Zeit. Im Mai 2023 wurde die genaue Analyse der SARS-CoV-2 Varianten unter den positiven Tests eingestellt (Robert-Koch-Institut, 2024).

1.2 Verlauf der Erkrankung

1.2.1 Bei Erwachsenen

Die Spanne und Schwere möglicher Symptome bei einer Infektion mit SARS-CoV-2 ist sehr weit und hat sich über die Pandemie hinweg verändert. Mit zunehmender Immunität, erworben durch Infektion und/oder Impfung und nachlassender Pathogenität des Virus, hat die Gefährlichkeit von COVID-19, insbesondere für die gesunde Allgemeinbevölkerung, abgenommen. Auch sind asymptomatische Infektionen häufig und bleiben meist unerkannt. Das liegt daran, dass Menschen ohne Symptome sich nicht testen und so Infektionen bei asymptomatischen Infizierten übersehen werden. Bei sehr schweren Verläufen kann es zu einem ARDS (Acute respiratory distress syndrome) oder anderen Symptomen kommen, die eine Behandlung auf der Intensivstation erforderlich machen. Die verbreitetsten Symptome bei einem normalen Verlauf sind unspezifisch und umfassen Fieber, respiratorische Symptome wie Husten oder Schnupfen, Abgeschlagenheit, Kopf- und Gliederschmerzen. Am häufigsten sind nach (Peng et al., 2020) Husten (72%), Fieber (68%) und Fatigue (46%). Weitere bekannte Symptome sind Übelkeit, Appetitlosigkeit, Geruchs- oder Geschmacksverlust, Erbrechen, Bauchschmerzen, Durchfall, Bindehaut-Entzündungen, Hautausschläge und Lymphknotenschwellungen (Infektionsschutz, 2022). Die Inkubationszeit schwankt je nach Studie zwischen 2 und 14 Tagen. Im Mittel liegt sie bei 3 bis 7 Tagen (Chen et al., 2020).

Während der ersten Pandemiezeit war COVID-19 vor allem für ältere Menschen und Personen mit Vorerkrankungen mit einem erhöhten Risiko von schweren Verläufen bis hin zur Letalität verbunden. Eine gute supportive Behandlung war entscheidend. Die Qualität der Gesundheitsversorgung unterschied sich stark von Land zu Land. Zu Beginn der Pandemie, ohne vorhandene Immunität und bei zirkulierendem SARS-CoV-2 Wildtyp, lag die Letalität in der niedrigsten Altersgruppe (0-4 Jahre) bei 0,1%. Menschen über 80 Jahren hatten dahingegen, je nach Vorerkrankungen, ein Risiko zwischen 10% und 30% zu versterben (Schilling, 2020). Dass bei Menschen über 80 Jahren die Mortalität am höchsten war, hat sich über den zeitlichen Verlauf der Pandemie nicht geändert. Aufgrund

von zunehmender Immunität in der Bevölkerung, hat die Gesamtmortalität im Verlauf der Pandemie abgenommen (Robert-Koch-Institut, 2024).

1.2.2 SARS-CoV-2 bei Kindern

Zu Beginn der Pandemie war die Rolle der Kinder hinsichtlich ihrer Suszeptibilität, Schwere der Erkrankung und Transmissibilität unklar. Zweitweise wurde sogar vermutet, sie seien ansteckender als Erwachsene oder würden durch die höheren Zahlen an asymptomatisch Infizierten, unbemerkt das Virus weitertragen. Dass (asymptomatische) Kinder ansteckender sind, konnte aber nicht hinreichend belegt werden (Bi et al., 2020).

Allerdings verlief die Infektion bei Kindern in den meisten Fällen milder als bei Erwachsenen. Kinder waren in einigen Fällen sogar asymptomatisch. Dennoch haben sie durchschnittlich keine geringere Viruslast im PCR-Test als Erwachsene (Jones et al., 2020). Die Mehrzahl der Kinder zeigte zu Anfang der Pandemie einen asymptomatischen oder leichten Erkrankungsverlauf (Schilling, 2020). Insgesamt hatten über 90% der Kinder einen milden bis moderaten Krankheitsverlauf (Bhuiyan et al., 2021).

Trotz im Durchschnitt etwas geringerer Symptomlast litten viele Kinder und Jugendliche sehr unter der Pandemie bzw. den Pandemiemaßnahmen. Schul- und Kindergartenschließungen haben soziale Kontakte wegbrechen lassen und zu einem Anstieg von psychischen Erkrankungen bei Kindern und Jugendlichen geführt (Shankar et al., 2022).

Wenn es bei Kindern zu Symptomen kommt, ist Fieber (mit 38%) das am häufigsten beschriebene Symptom (Bhuiyan et al., 2021). Bekannte Symptome bei Kindern sind Husten, sowie weitere respiratorische Symptome und Abgeschlagenheit. Aber auch gastrointestinale Symptome wie Bauchschmerzen, Übelkeit, Erbrechen und Durchfall können vorkommen (Cao et al., 2020). Jüngere Kinder (0-5 Jahre) zeigen als Symptome eher Fieber und Husten. Bei älteren Kindern sind Kopfschmerzen und Husten die führenden Symptome. Bei den wenigen schweren Verläufen kommt es zu einer raschen Zustandsverschlechterung mit schweren Atemproblemen. Auch ein septischer

Schock, eine metabolische Azidose oder schwere Koagulationsstörungen, die zum Tode führen können, sind möglich (Chen et al., 2020). In einigen Fällen zeigen sich auch bei Kindern länger anhaltende Symptome wie Geruchs- und Geschmacksverlust, Fatigue oder Muskelschwäche im Sinne von Long- oder Post-COVID. (Borch et al., 2022).

Generell sind die Symptome, wenn sie denn auftreten, recht unspezifisch und es lassen sich schwer Symptome oder Symptomkombinationen finden, die eindeutig auf eine SARS-CoV-2 Infektion hinweisen (Weng et al., 2021).

1.3 Übertragung

Das Virus wird über den Luftweg übertragen. Über die Atemwege werden virushaltige Partikel, die beim Atmen, Husten oder Sprechen entstehen, aufgenommen. Größere Tröpfchen können nur im Nahfeld übertragen werden, während kleinere virusenthaltende Tröpfchen eine weitere Reichweite haben und sich in Aerosolen für längere Zeit halten. Eine Übertragung über Oberflächen ist möglich, aber vergleichsweise unbedeutend gegenüber dem Luftweg. Die Übertragung auf fäkal-oralem Weg, perinatal von Mutter zu Kind oder über Tiere ist zwar nicht komplett auszuschließen, erscheint epidemiologisch aber unbedeutend zu sein (Koppe et al., 2021).

Sehr häufig überträgt sich SARS-CoV-2 innerhalb eines Haushalts. Auch Einrichtungen, wie Kindergärten, die nicht alle Schutzmaßnahmen umsetzen können, bieten ein Übertragungsrisiko. Dieses liegt aber deutlich unter dem einer Übertragung innerhalb des Haushalts (Loss et al., 2022). Die Basisreproduktionszahl wurde zur Zeit der Studiendurchführung meist mit Werten zwischen 2 und 3 beziffert. Allerdings sollte beachtet werden, dass bei SARS-CoV-2 von Superspreading- Ereignissen ausgegangen wird. Oft überträgt nur eine Person das Virus an eine Vielzahl von Personen, wohingegen von anderen Personen nahezu keine Ansteckungsgefahr ausgeht. Die genauen Mechanismen und Umstände, die Individuen zu Superspreadern machen, sind noch nicht vollständig geklärt (Salzberger et al., 2020).

Es wird angenommen, dass Personen in der symptomatischen Phase der Erkrankung am ansteckendsten sind. Die Übertragung durch asymptomatische Virusträger ist dagegen weit weniger häufig (Byambasuren et al., 2020).

1.4 Akutdiagnostik

Da COVID-19 sich klinisch nicht signifikant von anderen respiratorischen Infektionskrankheiten unterscheidet, wird zur Diagnose der akuten Infektion SARS-CoV-2 mittels PCR-Test oder Antigenschnelltests nachgewiesen.

Für beide Tests wird meist ein Abstrich aus dem tiefen Naso-/Oropharynx verwendet. Antigentests weisen virale Proteine in respiratorischen Proben nach. Ihre Sensitivität und Spezifität liegen etwas unter der von PCR-Analysen. Dafür liegen die Ergebnisse deutlich schneller vor und sie können in der breiten Masse angewendet werden. Ein negativer Test kann eine Infektion aber in manchen Situationen nicht sicher genug ausschließen (Robert-Koch-Institut, 2022b).

Vor allem in den Anfangszeiten der Pandemie (erste Hälfte des Jahres 2020) gab es Knappheit bei den Testkapazitäten, so dass priorisiert werden musste, wer getestet werden durfte. Ab Oktober 2021 kamen Antigenschnelltests zur breiten Testung in der deutschen Bevölkerung auf (Bundesgesundheitsministerium, 2023). Im Februar 2021 wurden dann erste Antigenschnelltests für den Heimgebrauch zugelassen. (Paul-Ehrlich-Institut, 2024).

1.5 Epidemiologie und Demografie

1.5.1 Weltweit

Ihren Ursprung hatte die COVID-19-Pandemie im chinesischen Wuhan, wo sich im Dezember 2019 die ersten Menschen mit dem neuen Virus infizierten. Zunächst als unklare Pneumonie diagnostiziert, stellte sich bald heraus, mit was sich diese Menschen infiziert hatten. Die WHO gab der neuen Krankheit am 11. Februar 2020 einen Namen: COVID-19 (WHO-Pressekonferenz vom 11.02.2022), verursacht durch den Erreger SARS-CoV-2. Am 11. Januar 2020

wurde der erste Todesfall in China bestätigt. Die Stadt Wuhan wurde ab dem 23. Januar komplett abgeriegelt. Doch bereits eine Woche später gab es tausende neue Fälle. Im März 2020 hatte sich das Virus bereits weit in der Welt verteilt, weshalb die World Heath Organization (WHO) eine Pandemie ausrief (WHO, 2020).

Weltweit gab es bisher bereits über 775 Millionen bestätigte Fälle und knapp 7 Millionen Menschen sind verstorben. In den meisten Ländern entwickelt sich die Zahl der Neuinfektionen derzeit zurück bzw. sie wird nicht mehr erfasst. Auch Europa zeigt eine deutliche Abnahme bei der Zahl der zuletzt berichteten Neuinfektionen (Stand 23.04.2023) (WHO, 2023).

1.5.2 In Deutschland

Die erste SARS-CoV-2 Infektion in Deutschland wurde am 27.01.2020 festgestellt. Danach gab es zunächst nur lokal begrenzte Ausbrüche. Die erste deutschlandweite Ausbruchwelle begann im März 2020 und endete Mitte Mai 2020. Die Einteilung in Wellen beruht auf epidemiologischen Messwerten, wie der Inzidenz und der Hospitalisierungsrate in den jeweiligen Zeiträumen. Erste strikte Maßnahmen zur Kontaktbeschränkung und Hygiene erfolgten mit einem Lockdown, Ende März. Über den Sommer 2020 nahmen die Fallzahlen in Deutschland stark ab und erreichten Anfang Juni eine Minimal-Inzidenz von 2,8 pro 100.000 Einwohner pro Woche. Auch die Maßnahmen zur Pandemiebekämpfung wurden gelockert. Ab Ende September kam es allerdings wieder zu einem starken Anstieg der Inzidenzen, der zu einer Änderung der deutschen Teststrategie führte. Der Peak der zweiten Welle wurde Mitte Dezember 2020 mit einer Inzidenz von 210/100.000 Einwohner erreicht. Zum SARS-CoV-2 -Wildtyp kam in dieser Zeit die erste Variant of Concern (VOC), die Alpha-Variante, hinzu. Diese ist ansteckender als der Wildtyp. Die Fallzahlen sanken erst in den ersten Wochen von 2021 langsam. (Schilling et al., 2021). Die dritte COVID-Welle folgte direkt auf die zweite mit Beginn Anfang März 2021 (Tolksdorf et al., 2021). Darauf folgte ein Sommerplateau ab Mitte Juni. Mit Aufkommen der hochansteckenden Delta-Variante im Sommer 2021, begann ein weiterer Anstieg der Infektionszahlen. Das Infektionsgeschehen im Herbst und

Winter verlief mit mehreren Höhepunkten und bildete die vierte Welle. Mit fast fließendem Übergang folgte die fünfte Welle in der letzten Woche des Jahres 2021 (Schilling et al., 2022). Hier dominierte die Omicron-Variante des SARS-CoV-2 (Jank et al., 2023). Bis April 2022 hielten sich die Infektionszahlen auf einem recht hohen Niveau. Ende Mai erreichte die 5. Infektionswelle ihr Ende. Ab Juni 2022 zeigten sich wieder vermehrt Neuinfektionen, die 6.Welle begann (Tolksdorf, 2022). Im Herbst 2022 gab es noch eine letzte Infektionswelle. Ab Mitte Oktober 2022 fielen die Fallzahlen (Corona-Pandemieradar, 2023). Zum 7. April 2023 liefen dann auch die letzten Coronamaßnahmen auf Bundesebene aus und die Pandemie wurde in Deutschland offiziell für beendet erklärt. Es gibt weiterhin Fälle von COVID-19 und lokal auch Häufungen (Bundesregierung, 2023).

Abbildung 1: Anzahl der an das RKI übermittelten COVID-19-Fälle pro 100.000 Einwohnerinnen und Einwohner innerhalb von 7 Tagen, zeitlicher Verlauf von Beginn der Pandemie bis 04.02.2024, Quelle: (Corona-Pandemieradar, 2023)

1.5.3 Bei Kindern

Kinder jeder Altersklasse können sich mit SARS-CoV-2 infizieren. Zu Beginn der Pandemie wurde vor allem von Fällen bei Erwachsenen berichtet. Weniger als 1% der anfänglichen Fälle aus Wuhan gingen auf Kinder unter 10 Jahren zurück. Am 8. März 2020 verstarb erstmals ein 10 Monate altes Kind an COVID-19, fast 2 Monate nach dem ersten Erwachsenen (Lu, 2020). Die ersten berichteten Fälle bei Kindern waren ein drei Monate altes Mädchen aus Xiaogan und ein Siebenjähriger aus Shanghai. Die Fallzahlen unter den Kindern, im Besonderen bei Kleinkindern, stiegen erstmals merklich im Januar 2020. Das wurde darauf zurückgeführt, dass Kinder sich schlechter an Schutz- und Hygienemaßnahmen halten können. Obwohl der Anteil der infizierten Kinder anfangs gering war,

wurde in allen Ländern auch von Fällen bei Kindern berichtet (Ayittey et al., 2021).

Während der ersten Welle in Deutschland waren nur etwas über 3% der gemeldeten COVID-19-Fälle 14 Jahre oder jünger. In der zweiten Welle (März bis Mai 2020) stieg dieser Anteil auf 7,5% (Schilling et al., 2021) und erreichte im Sommer 2020 über 15%. Höchstwerte zeigten sich zum Jahreswechsel 2021/2022 mit Werten von an die 30% (deutlich höhere Werte als in einigen Altersgruppen der Erwachsenen) (Robert-Koch-Institut, 2022a). Die steigenden Fallzahlen bei Kindern führten teilweise auch zu flächendeckenden Schul- und Kindergartenschließungen und Beschränkungen der sozialen Aktivitäten (Levy et al., 2022). Mittlerweile sind diese Maßnahmen aber alle wieder aufgehoben (Bundesregierung, 2023).

1.5.4 SARS-CoV-2 Inzidenz bei Kindern in Tübingen

Für die Stadt Tübingen liegen die Daten, über beim Gesundheitsamt Tübingen gemeldete SARS-CoV-2 Infektionen, von März 2020 bis einschließlich Juni 2021 vor. Im März 2020 gab es 3 gemeldete Fälle bei Kindern, im April bereits 10. Über den Sommer 2020 gab es fast keine Meldungen von SARS-CoV-2 Infektionen bei Kindern. Bis Dezember 2020 ist ein stetiger Anstieg der Meldedaten zu verzeichnen, mit 72 Infektionen im Dezember als Höchststand des Jahres. Im Januar und Februar des Jahres 2021 nehmen die Meldezahlen wieder drastisch ab, im März und April 2021 wird ein neuer Höchststand mit 52 und 90 gemeldeten Fällen erreicht. Im Sommer 2021 flacht die Infektionswelle wieder ab und es werden deutlich niedrigere Zahlen gemeldet. Zwischen den Altersgruppen zeigen sich keine signifikanten Unterschiede. Die exakten Werte für Altersgruppe und Monat finden sich in der Tabelle im Anhang (Meldedaten SARS-CoV-2 Infektionen bei Kindern der Stadt Tübingen, 2022 (Annex 3)). Aktuelle Meldedaten der Stadt Tübingen liegen uns leider nicht vor. Die erste Impfstoffzulassung für Erwachsene erfolgte im Dezember 2020 (Paul-Ehrlich-Institut, 2020). Für Kinder ab 12 Jahren waren Impfungen erst ab 31.Mai 2021 möglich (Paul-Ehrlich-Institut, 2021). Zu Testung wurden am Anfang hauptsächlich PCR-Tests verwendet. Antigenschnelltests wurden erstmals im

Oktober 2020 in der breiten Bevölkerung angewandt (Bundesgesundheitsministerium, 2023).

1.6 Seroprävalenz SARS-Cov-2 Antikörper

Um die Durchseuchungsrate der Bevölkerung abzuschätzen oder bei Einzelpersonen eine zurückliegende SARS-CoV-2 Infektion zu detektieren, kann man SARS-CoV-2 spezifische Antikörper messen. Die Hauptimmunogene sind das Spike (S) – und das Nukleokapsid (N) – Protein. Gegen beide Proteine werden Antikörpertestungen durchgeführt. Vor der Einführung der Impfstoffe war eine Antikörperbildung auf Kontakt mit dem Virus im Sinne einer Infektion zurückzuführen. Somit ließen Testungen einen Rückschluss auf vergangene Infektionen zu. Am Institut für Tropenmedizin der Universität Tübingen wurde ein in-house ELISA auf Speichelbasis entwickelt, der die Konzentration der IgG-Antikörper, die an das RBD-Protein von SARS-CoV-2 binden, misst. Dieser Test wird auch in der Coro-Buddy-Studie verwendet, Teile derer hier vorgestellt werden (Heinzel et al., 2021; Pinilla, Heinzel, et al., 2021). Antikörperuntersuchungen auf Speichelbasis bieten den Vorteil der nicht invasiven Probennahme. Zudem können in der Regel dadurch leichter größere Massen an Probanden rekrutiert werden, wodurch die Studiendaten aussagekräftiger werden.

Generell lassen sich mit Antikörpertests gut Personen erkennen, die eine Infektion durchgemacht haben. Durch flächendeckende Antikörperuntersuchungen im Blut kam man für SARS-CoV-2, in einer japanischen Studie, zu dem Schluss, dass die Anzahl der tatsächlich infizierten Personen (durch Seropositivität bestätigt) ein Vielfaches über den Zahlen der positiven Tests der Akutdiagnostik liegt (Sugiyama et al., 2022).

Bei Untersuchungen zur Antikörperdynamik erreichen die Antikörperkonzentrationen im Serum und Speichel wenige Tage bis Wochen nach der Infektion ihr Maximum und sinken dann langsam ab. Noch mehr als 15 Monate nach der Infektion bleiben sie nachweisbar (Isho et al., 2020; Pinilla,

Heinzel, et al., 2021). In der zweiten Woche nach der Infektion ist bei den meisten Patienten mit einer Serokonversion zu rechnen. Außerdem sind die Antikörperkonzentrationen bei schwer Erkrankten im Durchschnitt höher als bei einem milden Verlauf (Okba, 2020). Einige Patienten haben zu keinem Zeitpunkt nachweisbare Antikörper oder diese reichen nicht zur Neutralisierung des Virus. In einer großen Seroprävalenzstudie in Bonn hatten nur ein Drittel der Probanden nachweisbar neutralisierende Antikörper nach einer bestätigten SARS-CoV-2 Infektion (Aziz et al., 2021) Sowohl die Erkrankungsschwere, als auch Fieber, Geruchs- und Geschmacksverlust korrelieren mit der Höhe des Antikörpertiters (Schlickeiser et al., 2020).

1.6.1 Seroprävalenzstudien bei Kindern

Weltweit wurden über 200 Seroprävalenzstudien bei Kindern durchgeführt, die je nach Phase der Pandemie, untersuchter Region und Studienpopulation zu sehr unterschiedlichen Ergebnissen führten. Laut einer Metaanalyse schwankten die Schätzungen für die Seroprävalenz von SARS-CoV-2 Antikörpern bei Kindern zwischen 7,3% während der ersten Welle (März bis Mai 2020, Wildtyp) und 56,6% während der 6. Welle (Juni bis August 2022, Omikron-Variante). Die höchsten Schätzwerte betrafen die Gruppe der älteren Kinder, Kinder aus unterversorgten Regionen und Ländern, und Kinder, die ethnischen Minderheiten angehören (Naeimi et al., 2023). Deutsche Studien fanden im Durchschnitt etwas niedrigere Seroprävalenzraten bei Kindern als oben genannte weltweite Metaanalyse. Anders als weltweit war die Prävalenz bei den jüngeren Kindern (0-2 Jahre) mit 5,4 % in Deutschland zu Beginn der Pandemie signifikant höher, als die der älteren Kinder (3-11 Jahre, Prävalenz 1,4%) bis sie sich schließlich zwischen Oktober 2020 und Februar 2021 anglichen (Sorg et al., 2022). Die Coro-Buddy-Studie in Tübingen verfolgte als eine der wenigen Seroprävalenzstudien einen bevölkerungsbasierten Ansatz, um eine für die Allgemeinbevölkerung möglichst repräsentative Stichprobe zu untersuchen. Hierzu wurden Speichelproben verwendet und die Antikörper in einem speziell etablierten Speichel-ELISA gemessen. Im Juli 2020 konnten bei 3,4% (10/333) der Grundschulkinder, die an der Studie teilgenommen hatten, SARS-CoV-2

Antikörper nachgewiesen werden, signifikant mehr als in der Gruppe der Kindergartenkinder (0,5% (2/504) positiv) (Heinzel et al., 2021).

1.7 Mukosale Immunantwort bei SARS-CoV-2

Bei der Abwehr von SARS-CoV-2 Infektionen spielen Antikörper auf und in den Schleimhäuten des oberen Respirationstraktes eine entscheidende Rolle. Dennoch wird zur Antikörperbestimmung meist peripheres Blut verwendet. Dabei findet die erste Abwehr von respiratorischen Viren in der Nase statt. Neben den physikalischen Barrieren und angeborener Immunabwehr werden hier auch schon spezifische Antikörper sezerniert. Die wichtigste Rolle spielen hier IgA-Antikörper gegen SARS-CoV-2, die besonders in den ersten Wochen nach der Infektion im Speichel oder im nasalen Sekret nachgewiesen werden können. Diese werden in den immunologisch besonders aktiven Gebieten des oberen Respirationstraktes von Plasmazellen produziert und sezerniert und spielen eine entscheidende Rolle bei der primären Erregerabwehr (Noh & Rha, 2024).

Aber auch IgG findet sich in mukosalen Sekreten. Die Konzentrationen sind aber deutlich geringer als im Serum. Dennoch korrelieren Messungen aus Speichel und Serum eindeutig miteinander. So lassen sich durch Impfungen oder Infektion produzierte IgG-Antikörper auch im Speichel nachweisen. IgA im Speichel steigt nur signifikant nach einer Infektion an, nicht nach Impfungen. Bisher gibt es keine Impfung, die an dieser ersten Verteidigungslinie ansetzen kann (Puhach et al., 2023).

1.8 Speichel zur Antikörperbestimmung

Wenngleich Deutschland sich schon früh in der Pandemie große Mengen an PCR-Tests gesichert hatte, konnten nicht alle aktiven Infektionen diagnostiziert und von den Behörden registriert werden. Um die Datenlage zur Durchseuchung der Bevölkerung zu verbessern, werden Antikörpertests verwendet, da das Vorhandensein von SARS-CoV-2 spezifischen Antikörpern ein Hinweis für eine

zurückliegende Infektion ist. Vor der Immunisierung mittels Impfung werden Tests zum Nachweis von Antikörpern gegen das Spike/RBD-Antigen und N-Antigen verwendet. Nach der Impfung können nur noch Tests verwendet werden, die Antikörper nachweisen, die nicht an das Spike/RBD-Protein binden (da dieses als Vakzinantigen verwendet wird). Zumeist kamen dann Tests auf Antikörper gegen das N-Protein zum Einsatz (Devi et al., 2022). Die erste Impfstoffzulassung der Europäischen Arzneimittel-Agentur (EMA) erfolgte bereits im Dezember 2020. Ab diesem Zeitpunkt waren Impfungen gegen SARS-CoV-2 in Deutschland möglich (Paul-Ehrlich-Institut, 2020).

Der Antiköpernachweis wurde auf freiwilliger Selbstzahlerbasis und, im Rahmen von Studien, Interessierten angeboten. Konventionell werden dabei Antikörper im Serum bestimmt (Bundesgesundheitsministerium Chronik, 2023; (Pinilla, Heinzel, et al., 2021)). Dieser Ansatz erfordert jedoch Fachpersonal zur Blutentnahme und wird nur im medizinischen Setting durchgeführt. Zudem ist die Blutentnahme mit Risiken und Schmerzen für den Patienten verbunden, wenngleich diese recht gering sind.

Für andere Krankheiten wurde schon vor einigen Jahren herausgefunden, dass IgG -Antikörpertestungen aus dem Speichel ähnlich präzise Ergebnisse liefern wie Serumuntersuchungen. 2001 wurde dies beispielsweise schon für Masern und Röteln nachgewiesen (Nokes et al., 2001). Auch SARS-CoV-2 spezifische Antikörper lassen sich im Speichel nachweisen. Allerdings sind die Konzentrationen um einiges niedriger als im Serum. Um im Speichel zuverlässig und sensitiv Antikörper nachzuweisen, reicht es nicht aus, vorhandene ELISA Tests zu verwenden und anstelle von Plasma Speichel aufzutragen, sondern es müssen spezifisch angepasste Protokolle entwickelt werden, mit dem Ziel, Kreuzreaktivitäten zu minimieren und die Sensitivität zu erhöhen. Andererseits ist die Gewinnung von Speichelproben nicht invasiv und kann einfach und im öffentlichen Raum durchgeführt werden (Isho et al., 2020). In einer Nebenstudie der Coro-Buddy-Studie konnte bereits gezeigt werden, dass bei ehemals mild erkrankten COVID-19 Patienten SARS-CoV-2 Antikörper sowohl im Speichel (bei 72% der Probanden) als auch im Blut (bei 89%) noch nach einem halben Jahr nachgewiesen werden können (Pinilla, Heinzel, et al., 2021). Auch bei einer

Subgruppe der Coro-Buddy Kinder (1–10-Jährige, bis Ende 2020) wurde die Antikörpermessung im Speichel bereits angewendet. Bei 1,6% der Kinder konnten Antikörper nachgewiesen werden. (Heinzel et al., 2021).

1.9 Zielsetzung der Arbeit

Zu Beginn der COVID-19-Pandemie gab es erhebliche Unsicherheiten bezüglich der Auswirkungen von SARS-CoV-2-Infektionen auf Kinder und Jugendliche, bezüglich ihrer Infektionsrate, sowie ihrer Rolle bei der Virusübertragung. Um das Infektionsgeschehen bei Kindern und Jugendlichen in Tübingen zu beobachten, wurde zu Beginn der Pandemie die prospektive, longitudinale Seroprävalenz-Studie „Coro-Buddy“ am Institut für Tropenmedizin des Universitätsklinikums Tübingen unter der Leitung von PD Dr. Andrea Kreidenweiss und PD Dr. Jana Held gestartet (Pinilla, Friessinger, et al., 2021). Um die Untersuchung an einer für das Stadtgebiet Tübingen möglichst repräsentativen Stichprobe durchzuführen, wurde die Erhebung bevölkerungsbasiert durchgeführt. Die 1- bis 18-Jährigen Studienteilnehmer wurden über ihre Bildungsinstitutionen rekrutiert und nicht-invasiv beprobt (Abgabe von Speichel). Damit die Seroprävalenzmessung überhaupt im Speichel möglich war, wurde eigens ein Speichel-basierter SARS-CoV-2 Antikörper ELISA Test entwickelt, getestet und validiert (Heinzel et al., 2021). Dieser stand für diese Arbeit zur Verfügung.

Ziel der Arbeit war die Bestimmung der Seroprävalenz von SARS-CoV-2 Antikörpern bei Kindern und Jugendlichen 2021 nach dem ersten „Coronawinter“, ca. ein Jahr nach Pandemiebeginn (T3, die Daten zu T1 und T2 sind Bestandteil einer anderen Abschlussarbeit). Diese Daten geben einen Hinweis darauf, wie viele Kinder und Jugendliche bis zu diesem Zeitpunkt bereits eine SARS-CoV-2 Infektion durchgemacht haben, da das Gesundheitsamt nur SARS-CoV-2 Virus-positiv getestete Personen registriert und sehr viele Infektionen, insbesondere bei Kindern, asymptomatisch und somit unerkannt ablaufen. Zudem war vor allem in den Anfängen der Pandemie eine breite Testung aufgrund von Knappheit der Testressourcen noch nicht möglich.

Des Weiteren ermöglicht die Arbeit, durch den Vergleich der Speichel- und Serumergebnisse, die Aussagekraft von Antikörpermessungen im Speichel zu beurteilen und gegebenenfalls breiter angelegte Speichelantikörpertests zu etablieren. Durch gezielte Befragungen der Probanden zu Symptomen und positiven Testergebnissen lassen sich weitere Rückschlüsse auf die Anzahl der unbemerkten Infektionen ziehen.

2 Material und Methoden

2.1 Ethik

Ein genehmigter Ethikantrag inklusive genehmigter Amendments der Ethikkommission des Uniklinikums Tübingen vom 24. Juni 2020 (Referenz Nr. 20-231/BO1) liegt für die Studie vor. Alle Teilnehmenden haben ihr schriftliches Einverständnis zur Studienteilnahme gegeben. Bei unter 18-Jährigen erfolgte dies stellvertretend durch einen Erziehungsberechtigten. Zusätzlich wurden die Altersgruppen der 6 bis <12-Jährigen und der 12 bis <18-Jährigen Kinder mit altersgerechtem Informationsblatt über den Zweck, Ziel und Ablauf der Studie aufgeklärt und die ältere Altersgruppe gab zudem schriftlich ihre Zustimmung zur Teilnahme (siehe Annex 1).

2.2 Studiendesign und Studienpopulation

Dies ist eine prospektive, longitudinale, seroepidemiologische Studie zur Bestimmung der SARS-CoV-2 Exposition von Kindern und Jugendlichen im Stadtgebiet Tübingen basierend auf nicht-invasiv gewonnenen Speichelproben und Bestimmung der SARS-CoV-2 Antikörper. Studienkürzel: Coro-Buddy (Corona and Anti-body/buddy). Um eine möglichst repräsentative Kohorte der Tübinger Kinder und Jugendlichen zu untersuchen, wurde ein bevölkerungs-basierter Ansatz gewählt und die Studienteilnehmer wurden über die Kita bzw. Schulen in die Studie aufgenommen und beprobt (und nicht beispielsweise im Krankenhaus rekrutiert). Insgesamt haben 26 Kindertagesstätten, 6 Grundschulen und 3 weiterführende Schulen in Tübingen (Stadtgebiet inklusive Eingemeindungen) an der Coro-Buddy-Studie teilgenommen. Insgesamt sollten 1850 Kinder und Jugendliche im Alter von 1 bis 18 Jahren an der Studie teilnehmen. Speichelproben wurden an 3 Zeitpunkten gesammelt: Zeitpunkt T1: gleich zu Beginn der Pandemie im Zeitraum 17.07.2020 -05.08.2020, Zeitpunkt T2: noch vor dem Winter 2020/2021 (29.09. – 09.12.2020) und Zeitpunkt T3: nach dem Winter, im Frühjahr 2021 (16.03. -15.07.2021). Diese Arbeit fokussiert sich auf die Erhebung und Analyse der Daten aus dem letzten Erhebungszeitpunkt (T3).

An diesem dritten Zeitpunkt T3 haben insgesamt 1492 Kinder im Alter von 1 bis 18 Jahren teilgenommen. Die Gruppe der Kinder ist unterteilt in Kindergartenkinder (1-5 Jahre), Grundschulkinder (6-10 Jahre) und Kinder der weiterführenden Schulen (11-18 Jahre). Zusätzlich wurden als erwachsene Vergleichsgruppe die Speichelproben von insgesamt 307 Lehrer*innen, Erzieher*innen und begleitenden Eltern untersucht. Einschlusskriterien für die Kinder waren der Besuch einer Bildungseinrichtung im Stadtgebiet Tübingen (Kindertagesstätte, Grundschule oder weiterführende Schule), sowie das Einverständnis zur Studienteilnahme.

Zusätzlich wurde bei einigen, der im Speichel positiv auf Antikörper getesteten Kinder, nach erneuter Einverständniserklärung, noch eine Blutentnahme durchgeführt, um die Ergebnisse mit denen aus dem Speicheltest zu vergleichen. Diese fand wenige Monate nach T3 statt.

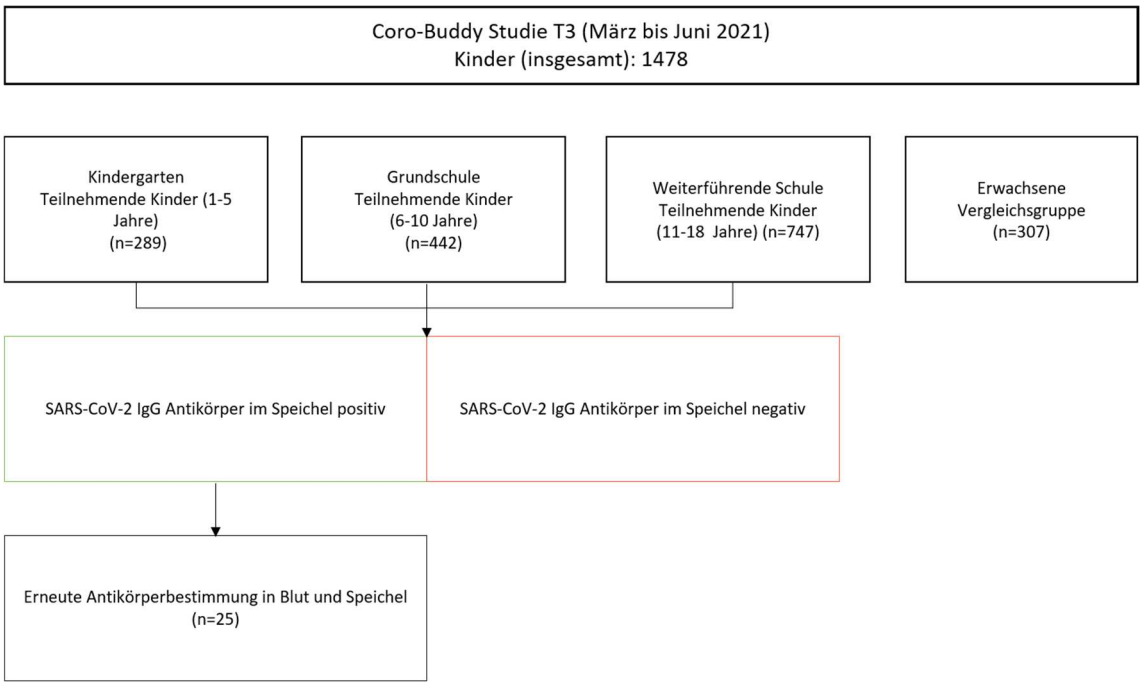

Abbildung 2: Flussschema zum Ablauf der Beprobung zum Zeitpunkt T3 der Coro-Buddy-Studie: Teilnehmeranzahl nach Schulformen und Alter und Nachtestung der Antikörper im Blut und Speichel bei positivem Ergebnis im SARS-CoV-2 IgG Speicheltest

2.3 Fragebogen

Zusätzlich zur Probenabgabe erhielt jeder Proband einen Fragebogen mit 6 Fragen mit dem Ziel, Exposition, Erkrankung und Symptome im häuslichen Kontext zu erfassen. Der Fragebogen wurde zu jedem der 3 Studienzeitpunkte (durch die Erziehungsberechtigten) erhoben. Erhoben wurden die Anzahl der Erwachsenen und minderjährigen Personen im Haushalt; das Datum positiver SARS-CoV-2 Tests des Probanden und/oder eines Haushaltsangehörigen der letzten 6 Monate; erkältungsartige Symptome der letzten zwei Monate mit Datumsangabe; sowie Geruchs- oder Geschmacksverlust in den letzten 6 Monaten bei Personen aus dem eigenen Haushalt (Annex 2).

2.4 Studienstätte

Die Speichelproben wurden von den Teilnehmern direkt in den 35 Einrichtungen gesammelt (Abbildung 3). Die Einrichtungen wurden zuvor angefragt und über die Studieninhalte und Ziele informiert. Bei Zusage wurden ein bis zwei Termine pro Erhebungszeitpunkt in der Einrichtung zur Probengewinnung und -sammlung durch das Coro-Buddy-Studienteam des Instituts für Tropenmedizin am Universitätsklinikum Tübingen vereinbart. Die Eltern der potentiellen Probanden erhielten vorab das Informationsmaterial und den Fragebogen, welche Ihnen über die Einrichtungen bereitgestellt wurden. Die Unterlagen wurden von den Eltern/gesetzlichen Vertretern ausgefüllt und am Studientag vor Probenabgabe eingesammelt. Alle Kinder und Jugendliche bzw. deren Eltern und/oder Erziehungsberechtigten, die in T3 positiv auf anti-SARS-CoV- 2 IgG im Speichel getestet wurden, wurden anschließend direkt vom Studienteam kontaktiert und zu einer Blutentnahme und erneuten Abgabe einer Speichelprobe ins Institut für Tropenmedizin Tübingen eingeladen. Diese Termine fanden 3 bis 6 Monate nach T3 statt.

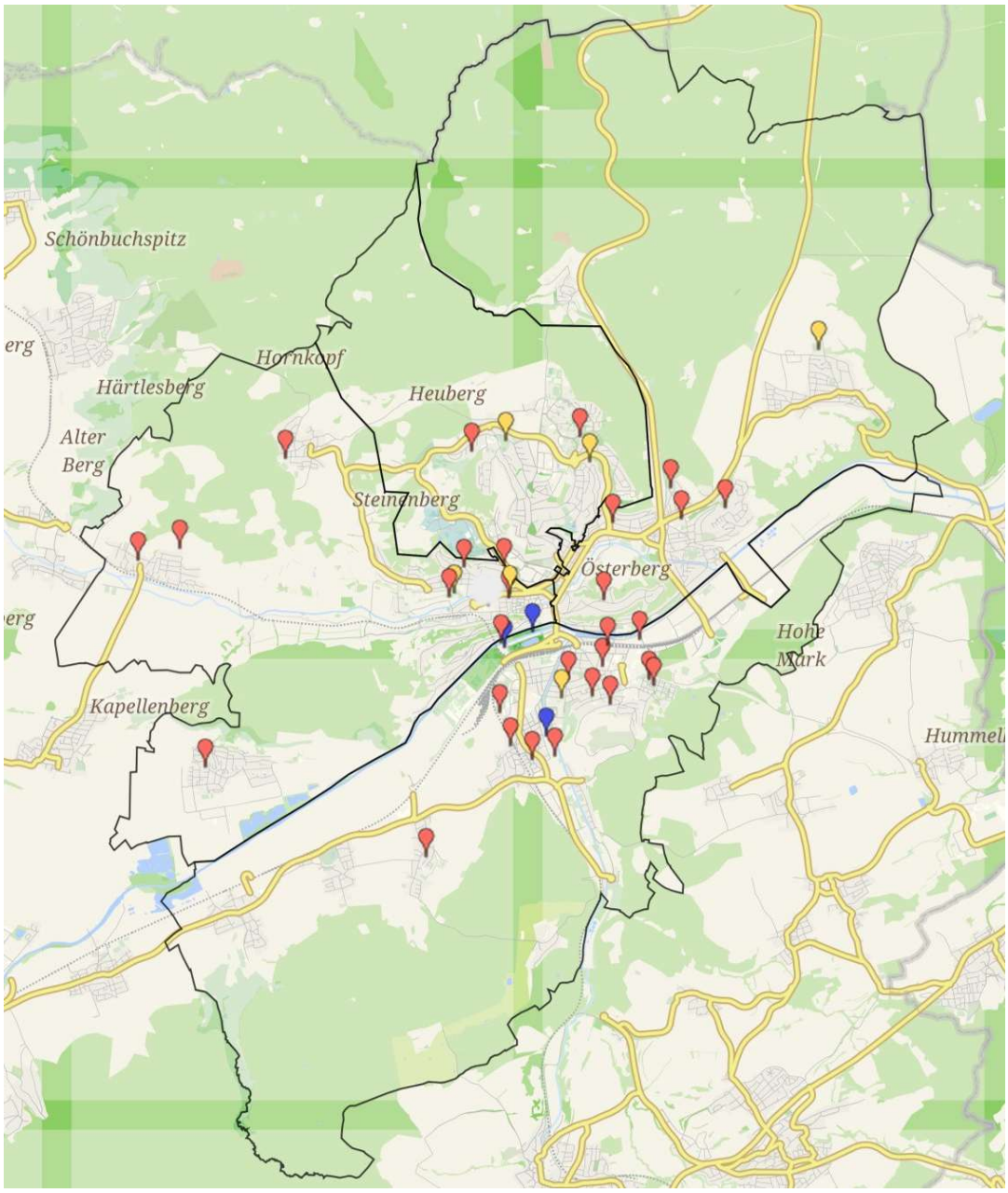

Abbildung 3: Studienstätten im Stadtbereich Tübingen; schwarze Linie: Umrandung der Stadtgrenzen von Tübingen, rot: teilnehmende Kindergärten, gelb: teilnehmende Grundschulen, blau: teilnehmende weiterführende Schulen

2.5 Probengewinnung

Die Speichelproben der Erwachsenen und der Kinder ab Grundschulalter wurden in einfachen Plastikröhrchen (multi-purpose containers 30 mL Greiner Bio-One ref. 201150) gesammelt, in die die Probanden ungefähr 3 mL Speichel durch Hineintropfen abgeben sollten. Die gewünschte Füllhöhe war durch einen Sticker markiert. Pro Proband wurden etwa 0,5 mL bis 1 mL Speichel für die Analyse benötigt. Die jüngeren Kinder (1-5 Jahre) erhielten ein Oracol S14 saliva collection device (Malvern Medical Developments, UK) zum Speichel sammeln. Mit diesem sollte der Proband etwa zwei Minuten sanft den Zahnfleischsaum bürsten. Meistens halfen Eltern oder Erzieher*innen bei der korrekten Durchführung. Eine halbe Stunde vor Probensammlung sollten alle Probanden nicht getrunken oder gegessen haben und auch keine Kaugummis gekaut haben. Bis zur Verarbeitung wurden alle Proben für maximal vier Stunden auf Eis gelagert.

2.6 Speichel- und Blutprobenverarbeitung

Die Blutproben (9 mL) wurden mittels venöser Blutentnahme in Lithium-Heparin-Monovetten entnommen. Das Vollblut wurde bei 2500 rpm für 10 Minuten zentrifugiert. Das Plasma wurde anschließend abpipettiert und in 1 mL Röhrchen verteilt, die bis zur Weiterverwendung bei -20°C aufbewahrt wurden.

Die Speichelproben wurden für 6-10 Minuten bei 2500 rpm zentrifugiert. Mit einer Pipette wurde die Menge der Speichelprobe gemessen und in ein 1,5 mL Eppendorf-Gefäß pipettiert. Anschließend wurde Tri-N-Butyl-Phosphat hinzugegeben bis eine Endkonzentration von 0,3% vorlag. Zur weiteren Inaktivierung wurde Triton-X100 bis zur gewünschten Konzentration von 1% hinzugegeben. Dann wurde der Inhalt des Gefäßes mit einer Pipette gut gemischt. 250 µL des jetzt inaktivierten Speichels wurden in ein Screw Cap Tube gegeben. Zu diesem Ansatz wurden 250 µL RNA-Shield gegeben und gut durchmischt. Der Rest des inaktivierten Speichels kam in ein zweites Screw Cap Tube. Die Proben wurden anschließend bei -20°C tiefgefroren. (Heinzel et al., 2021)

2.7 ELISA für die Speichelproben

Um die Konzentration der SARS-CoV-2 RBD spezifischen IgG Antikörper sensitiv und spezifisch in den Speichelproben messen zu können, wurde ein ELISA Protokoll verwendet, das am Institut für Tropenmedizin zuvor entwickelt, validiert und evaluiert worden war (Heinzel et al., 2021).

Zum Beschichten der ELISA-Platte wurden 50 µL des im Institut für Tropenmedizin Tübingen hergestellten SARS-CoV-2 Wildtype RBD-Proteins (2 µg/ml RBD in 1x PBS) pro Well auf eine Costar 96 well microtiter high binding plate (ref. 3590, Corning) gegeben. Die Platten wurden über Nacht bei 4°C inkubiert und dann mit 1x PBS gewaschen und mit 200 µL der Blockierlösung (Condor Bioscience GmbH) für 2 Stunden bei Raumtemperatur auf einem Plattformschüttler (700 rpm) versetzt. Die nachfolgenden Waschvorgänge wurden insgesamt dreimal mit PBS/0,1% Tween20 wiederholt. Die Speichel- und Kontrollproben wurden im Verhältnis 1:3 bis 1:27 mit der Blockierlösung in einer nicht-bindenden ELISA Platte (Greiner bio-one; REF: 65090, for sample pre-dilution) verdünnt. 100 µL von der verdünnten Probe wurden auf die ELISA Platte übertragen und für 1 Stunde inkubiert. Bei 1:20.000 verdünntem biotinylierten Anti-Human-IgG (Ref. 109-065-008, Jackson Immuno Research Laboratories) und 1:1000 verdünntem Avidin-HRP (Biolegend Ref. 405103) wurden IgG-Antikörper erfasst. Beide Reagenzien wurden in 1x ROTI-Blockpuffer (Roth) gelöst und eine Stunde und 30 Minuten inkubiert. Zur Sichtbarmachung wurden 100 µL TMB-Substratlösung hinzugefügt. Die Reaktion wurde durch Zugabe von 50 µL 1M HCl gestoppt. Die Platte wurde bei 450 nm und 620 nm mit einem Photometer (CLARIOstar, BMG LABTECH) ausgelesen. Die Konzentrationen des SARS-CoV-2 IgG im Speichel wurden durch den Vergleich mit purem Human-IgG (Standard), das als Verdünnungsreihe auf denselben Platten (ref. 31154, ThermoFisher) war, ermittelt. Der Trennwert für IgG-Positivität im Speichel liegt bei diesem Test bei 6,3 ng/mL. Spezifität und Sensitivität dieses Tests liegen bei 100% und 87%. (Heinzel et al., 2021).

2.8 ELISA für das Blutplasma

Zur Detektion von SARS-CoV-2 IgG-Antikörpern im Plasma wurden zwei unterschiedliche ELISA angewendet: Zum einen ein etablierter in-house SARS-CoV-2 RBD ELISA (Pinilla, Heinzel, et al., 2021) und der kommerzielle, CE-zertifizierte EUROIMMUN SARS-CoV-2 IgG ELISA (EI 2606-9601 G). Unterschieden haben sich die beiden Tests in der Probenverdünnung und dem IgG nachweisenden Antikörper. Beim in-house ELISA wurde das Plasma von 1:100 bis 1: 62500 in einer fünfschrittigen Verdünnungsreihe mit der Blockierlösung verdünnt. Für den IgG Nachweis wurde ein HRP gekoppelter anti-humanes IgG Antikörper verwendet (ref. 109-036-097, Jackson Immuno Research Laboratories). Dieser Antikörper wurde mit 1x ROTI-Blockierungspuffer im Verhältnis 1:5000 verdünnt und für 30 Minuten bei Raumtemperatur und 700 rpm inkubiert. Die IgG Konzentration wird in µg/mL angegeben.

Die Plasmaproben wurden zusätzlich mit dem EUROIMMUN SARS-CoV-2 ELISA Kit analysiert, welches IgG, dass an die S1- Untereinheit des Spike-Proteins von SARS-CoV-2 bindet, nachweist. Der Test wurde gemäß den Anweisungen des Herstellers durchgeführt. Die Plasmaproben wurden in einem mitgelieferten Probenpuffer verdünnt. Anschließend wurden sie in die mit Antigen beschichteten Mikrotitervertiefungen gegeben und 1 Stunde lang bei 37 °C inkubiert. Die Platten wurden gewaschen, eine konjugierte Lösung wurde zugegeben und 30 Minuten bei 37 °C inkubiert. Nach einem zweiten Waschschritt wurde die Substratlösung aufgetragen und 30 Minuten bei Raumtemperatur inkubiert. Schließlich wurde eine 0,5 M Schwefelsäure-Stopplösung zugegeben. Die Absorption der Probenvertiefungen wurde sofort bei 450 nm und 630 nm mit dem CLARIOstar-Mikroplattenlesegerät (BMG) gemessen. Die mit der optischen Dichte (O.D.) bei 630 nm erzeugten Werte wurden von denen der O.D. bei 450 nm subtrahiert. Die Daten wurden gemäß den Empfehlungen des Herstellers ausgewertet und die Ergebnisse als Verhältnis angegeben. Der Cut-off-Wert für SARS-CoV-2-IgG-Positivität liegt bei einem Wert von ≥ 1,1, für eine mittlere Antikörperkonzentration bei einem Wert von 0,8 bis 1,1. Negativ wird die Probe bei einem Wert < 0.8 gewertet.

2.9 Analyse der Daten

Die Daten wurden mit RStudio (Version 2023.06.0+421) unter Verwendung von R (Version 4.3.1) und Graph Pad Prism (Version 9.1) mit einem 95% Konfidenzintervall (p-Werte<0,05) analysiert. Die Grafiken wurden mit R, Graph Pad Prism und Biorender erstellt. Deskriptive Analysen (Gesamtzahl und Anteil) wurden zur Beschreibung der Symptome, der berichteten früheren Infektionen und zur Quantifizierung der Merkmale der Studienpopulation verwendet. Die Prävalenz und Konfidenzintervalle wurden für die einzelnen Altersgruppen geschätzt, unter Verwendung der Rogan-Gladen-Schätzmethode und dem von Reiczigel et al. im R-Paket epiR Version 2.0.60 bereitgestellten Code. Die angepasste Prävalenz wurde unter Berücksichtigung der Testparameter Spezifität von 100 % und Sensitivität von 87 % berechnet (Heinzel et al., 2021). Die Verteilung der Antikörperkonzentration pro Gruppe wurde mit dem Wilcoxon-Rangsummentest analysiert. Die Korrelation zwischen Speichel und Plasma in der kleinen Gruppe positiver Kinder wurde mit dem Spearman-Rangkorrelations-Rho-Koeffiziententest berechnet. Für alle statistischen Analysen wurde die Signifikanzschwelle auf 0,05 festgelegt.

3 Ergebnisse

3.1 Charakteristika der Studienpopulation

Am dritten Beobachtungszeitpunkt T3 (März 2021 bis Juni 2021) der Coro-Buddy-Studie wurden Speichelproben von insgesamt **1492 Kinder** genommen und **1478 Speichelproben** konnten analysiert werden. Darunter waren 289 Kindergartenkinder, 442 Grundschulkinder und 747 Schüler und Schülerinnen weiterführender Schulen (siehe Tabelle 1).

Insgesamt wurden zu T3 fast 2% der Gesamtbevölkerung im Tübinger Stadtgebiet (Einwohnerzahl: 92.170) untersucht. Hauptaugenmerk der Coro-Buddy-Studie sind Kinder und Jugendliche. Mit 1.478 untersuchten Kindern von insgesamt 13.438 in Tübingen lebenden Minderjährigen umfasste die Stichprobe rund 11 % aller Tübinger Kinder und Jugendlichen (siehe Tabelle 2).

Tabelle 1: Charakteristika der Studienpopulation zum Zeitpunkt der 3. Erhebung innerhalb der Coro-Buddy-Studie (März - Juni 2021)

Altersgruppe	Anzahl Teilnehmer, n	Männlich, n (%)	Weiblich, n (%)	Alter in Jahren, Median (range)
Kita	289	150 (52)	139 (48)	4 (1-5)
Grundschule	442	222 (50)	220 (49)	8 (6-10)
Weiterführende Schule	747	314 (42)	433 (58)	13 (11-18)
Gesamt Kinder	**1478**	**686 (47)**	**792 (54)**	**10 (1-18)**
Gesamt Erwachsene	307	68 (22)	239 (78)	42 (19-72)
Gesamt	**1785**	**754 (42)**	**1031 (58)**	**15 (1-72)**

Tabelle 2: Zensus Stadtgebiet Tübingen im Vergleich zur Population der Coro-Buddy-Studie

	Zensus Tübingen (n)	Coro-Buddy Teilnehmer an T3 (n)	Anteil Teilnehmer an Bevölkerung Tübingen (%)
Gesamt	**92.170**	**1.794**	**2 %**
> 18 Jahre	78.732	307	0,4 %
0 - 18 Jahre	13.438	1.478	11 %
6 -18 Jahre	8.581	1.062	12 %
1 - 6 Jahre	4.857	425	9 %

3.2 Vorbemerkung zu geimpften und genesenen Studienteilnehmern

Einige der älteren Kinder (ab 12 Jahren) und Erwachsenen waren zum Zeitpunkt T3 bereits gegen SARS-CoV-2 geimpft. Alle Probanden bei denen die erste Impfdosis zum Zeitpunkt der Speichelsammlung länger als zwei Wochen zurücklag, wurden im Folgenden als geimpft betrachtet. Das traf auf 153 von 307 (51,1%) erwachsenen Probanden und auf 166 von 1478 (11%) Kindern zu. 587 von 747 (78%) Schülern der weiterführenden Schulen (11–18-Jährige) waren noch nicht geimpft und sind in die weiteren Betrachtungen mit eingeflossen. Da es auch durch die Impfung und nicht nur durch eine Infektion zur Antikörperbildung gegen SARS-CoV-2 kommt, wurden die Geimpften aus den nachfolgenden Analysen zum Antikörpernachweis ausgeschlossen.

Des Weiteren wird zur sprachlichen Vereinfachung im Folgenden von „Genesenen“ gesprochen, wenn bei ungeimpften Personen SARS-CoV-2 Antikörper nachgewiesen wurden.

3.3 Seroprävalenz und Meldedaten

Für diese Studie wurde ein ELISA-Test entwickelt, um IgG im Speichel zu quantifizieren, das spezifisch für das RBD-Protein von SARS-CoV-2 (Wildtyp) ist. Der Trennwert für die SARS-CoV-2-IgG-Positivität im Speichel wurde auf 6,3 ng/ml festgelegt.

Speichelproben von 1478 Kindern wurden mittels des genannten ELISA Tests untersucht und bei insgesamt 50 der 1 bis 18-jährigen (3,8%) wurden SARS-CoV-2 Antikörper nachgewiesen – sie hatten also eine Infektion in den vorausgehenden Monaten durchgemacht. (siehe Tabelle 3). Die geschätzte Seroprävalenz, korrigiert um die Sensitivität (87%) und Spezifität (100%) des Speichel-ELISA Tests, betrug zum Zeitpunkt T3 im Frühjahr 2021 für alle Kinder und Jugendliche im **Stadtgebiet Tübingen 4,3%** (95% CI: 3,3-5,7%). Innerhalb der Altersgruppen gab es zu T3 keine signifikanten Unterschiede in der SARS-CoV-2 Exposition. Seroprävalenz a) in der Altersgruppe Kita (1-5 Jahre): 2% (95% CI: 0.8-4.6%); b) Grundschulkinder (6-10 Jahre): 4,4% (95% CI: 2,8-7%); c) Schüler weiterführender Schulen (11-18 Jahren): 5,5% (95% CI: 3,8-7,8), p=0.07.

Ergänzend wurde die Anzahl der dem Gesundheitsamt Tübingen im Zeitraum März 2020 bis Juni 2021 gemeldeten SARS-CoV-2 Fälle bei Kindern und Jugendlichen aus dem Stadtgebiet Tübingen analysiert (siehe Annex 3). Die Meldedaten basieren auf einem positiven SARS-CoV-2 PCR-Test (die Meldung eines positiven Antigentests musste zu diesem Zeitpunkt noch mit einem positiven PCR-Test bestätigt werden). Obwohl die Daten seit Beginn der Pandemie erhoben wurden, liegt die Anzahl der Test-positiven nur bei 1,3% (siehe Tabelle 3). Innerhalb der Altersgruppen gab es mit 1,6% die meisten PCR-Positiven unter den 11–18-Jährigen. Hingegen liegt die geschätzte SARS-CoV-2 Exposition bei 4,3% im Frühjahr 2021. Dies zeigt, dass die Exposition gegenüber SARS-CoV-2 höher war als die gemeldeten PCR-diagnostizierten Fälle des Gesundheitsamts. (Tabelle 3)

Am höchsten war die Prävalenz von IgG-Antikörpern im Speichel in der Gruppe der Erwachsenen mit 6,5%. Bei den Schülern der weiterführenden Schulen lag

sie bei 5,5%, bei den Grundschülern bei 4,4% und bei den Kindergartenkindern bei 2%.

*Tabelle 3: Anteil und Prävalenz der SARS-CoV-2-IgG Antikörper (IgG Positive) im Speichel bei Teilnehmern der Coro-Buddy-Studie verglichen mit den SARS-CoV-2 PCR-Meldedaten des Gesundheitsamt Tübingen in den korrespondierenden Altersgruppen aus demselben Untersuchungsgebiet. * Gesamtzahl der Teilnehmer in den entsprechenden Altersgruppen in Coro-Buddy, # Gesamtzahl der Gemeldeten im Stadtgebiet Tübingen in der entsprechenden Altersgruppe*

	Gesamt (1-18 Jahre)	**Kita (1-5 Jahre)**	**Grund-schule (6-10 Jahre)**	**Weiterf. Schulen (11-18 Jahre)**
IgG Positive Coro-Buddy, n/N* (%)	50/1.318 (3,8%)	5/289 (1,7%)	17/442 (3,8%)	28/587 (4,8%)
IgG Prävalenz, % (95% CI%) Stadtgebiet Tübingen	**4,3** (3,3-5,7%)	**2** (0,8-4,6)	**4,4** (2,8-7)	**5,5** (3,8-7,8)
Meldedaten PCR Positive Stadtgebiet Tübingen, n/N# (%)	176/13.644 (1,3)	47 (1,2)	36 (0,9)	93 (1,6)

3.4 Erkältungsähnliche Symptome

Mithilfe eines Fragebogens (siehe Annex 2) wurden die Studienteilnehmer zu erkältungsartigen Symptomen in den zwei Monaten vor Probennahme befragt. Dazu gehörten insbesondere Fieber (>37,5°C), Halsschmerzen, Husten und Schnupfen. 39 % der Erwachsenen und 26 % der Kinder gaben Symptome an. Innerhalb der Gruppe der Kinder gab es Unterschiede. Etwa 49 % der Kindergartenkinder hatten in den letzten zwei Monaten erkältungsartige Symptome gehabt – also grob zur Zeit der Wintermonate. Bei den älteren Kindern und Jugendlichen waren es nur etwa 9,5 % (siehe Tabelle 4).

Die Auswertung der Fragebogenangaben, ergab, dass insgesamt 25% der Personen mit grippeähnlichen Symptomen in den vorausgehenden zwei Monaten (also grob zur Winterzeit) im Speichel nachweisbare Antikörper gegen SARS-CoV-2 hatten. Andersherum hatten 26% der Kinder und Jugendlichen und 40% der Erwachsenen, die positiv für SARS-CoV-2 Antikörper im Speichel getestet wurden, grippeähnliche Symptome in den vorausgehenden zwei Monaten angegeben. Je älter die Studienteilnehmer, desto eher war bei angegebenen Symptomen auch der Antikörpernachweis im Speichel positiv. Von den Kindern wurde am häufigsten als Symptom Schnupfen angegeben (neun Nennungen), danach folgten Halsschmerzen (fünf Nennungen) und Husten und Fieber (jeweils vier Nennungen) (siehe Tabelle 4).

Tabelle 4: Angabe von Symptomen in den letzten 2 Monaten und SARS-CoV-2 Antikörperstatus (IgG Positive im Speichel)

	IgG Positive, n	**Erkältungs-artige Symptome, n (%)**	**IgG Positive mit berichteten Symptomen, n**	**Anteil Symptomatische an IgG Positiven %**
KiTa	5	141 (48,7)	3	60 (3/5)
Grundschule	17	105 (23,7)	4	23 (4/17)
Gymnasium	28	71 (9,5)	6	22 (6/28)
Gesamt Kinder	50	317 (21,4)	13	26 (13/50)
Gesamt Erwachsene	10	39 (25,5)	4	40 (4/10)
Gesamt	110	673 (37,7)	16	25 (16/110)

3.5 Virusnachweis und SARS-Cov-2 Antikörper im Speichel

35 Teilnehmer haben im Fragebogen angegeben in den vorausgehenden sechs Monaten einen positiven SARS-CoV-2 Test gehabt zu haben. Die genaue Testart (PCR/Antigentest) wurde nicht standardmäßig abgefragt. In der Gruppe der Kinder und Jugendlichen meldeten 25 (1,7%) einen positiven Test (auf Nachfrage: 11 PCR-Tests, bei 14 Testart nicht bekannt). 14/25 (56 %) waren SARS-CoV-2 IgG positiv (siehe Tabelle 5). Der zeitliche Abstand zwischen

berichtetem Virusnachweis und IgG Speicheltest betrug in der Gruppe der Antikörper-Positiven im Mittel 114 Tagen. Bei Teilnehmern mit positivem Antikörpertest gibt es große Unterschiede in den Antikörpertitern. Eine Korrelation des IgG Titers zum zeitlichen Abstand der Akutdiagnostik ließ sich nicht finden.

3.6 Familienanamnese und SARS-CoV-2 Antikörperprävalenz

Auf dem Fragebogen zur Studie wurde auch nach positiven SARS-CoV-2 Tests bei Haushaltsangehörigen in den vorausgehenden 6 Monaten gefragt und bei 20 Studienteilnehmern wurde ein Haushaltsmitglied positiv getestet. Die Art des Testes (PCR-Test, Antigenschnelltest, Antikörpertest) ist nicht bekannt. Auffallend ist, dass sowohl die erwachsenen Teilnehmer als auch die 11- bis 18-Jährigen von keinem einzigen positiven Test in der Familie berichteten. Bei den Grundschulkindern hatten 4/6 Kinder, die von einem positiven Test in der Familie berichteten, auch SARS-CoV-2 Antikörper im Speichel. Bei Kindergartenkindern waren es 2/14 (siehe Tabelle 5).

Tabelle 5: Übersicht Zusammenhang positiver SARS-CoV-2 Test in den letzten 6 Monaten oder positiver SARS-CoV-2 Test im Haushalt und Ergebnis der SARS-CoV-2 IgG Antikörperdiagnostik im Speichel

	Positiver SARS-CoV-2 Test, n (%)	**Positiver SARS-CoV-2 Test bei Haushaltsmitgliedern n (%)**	**Positiver SARS-CoV-2 Test und Antikörper Test, n (%)**	**Positiver Antikörper Test und pos. SARS-CoV-2 Test bei Familienmitglied, n (%)**
KiTa	6 (2,0)	14 (3,3)	1 (17,0)	2 (4,0)
Grundschule	11 (2,5)	6 (2,0)	7 (64,0)	4 (8,0)
Gymnasium	9 (1,2)	0 (0)	6 (67,0)	0 (0)
Gesamt Kinder	25 (1,7)	20 (1,5)	14 (58,0)	6 (12,0)
Gesamt Erwachsene	10 (3,2)	0 (0)	3 (30,0)	0 (0)
Gesamt	35 (1,9)	20 (1,3)	18 (52,0)	6 (0,4)

3.7 Antikörper-Konzentrationen

Die gemessenen SARS-CoV-2 Antikörperkonzentrationen lagen bei den Kindern zwischen 6,63 ng/mL und 131,13 ng/mL (range), der Median betrug 26,43 ng/mL. Die meisten Kinder hatten eher niedrig positive Werte. Die Grundschulkinder hatten mit 32,8 ng/mL (Median) gemittelt die höchste Konzentration an IgG-Antikörpern im Speichel.

Zusätzlich wurden die Antikörperkonzentrationen der positiv getesteten Kinder unter Berücksichtigung der Angabe von erkältungsartigen Symptomen in den letzten 2 Monaten betrachtet. Symptomatische Kinder zeigten ein durchschnittlich höheres Antikörperlevel von 35,37 ng/mL im Vergleich zu denen die keine Symptome angegeben hatten (23,74 ng/mL).

Die erwachsene Vergleichsgruppe erreichte mit 30,98 ng/mL einen ähnlichen Median.

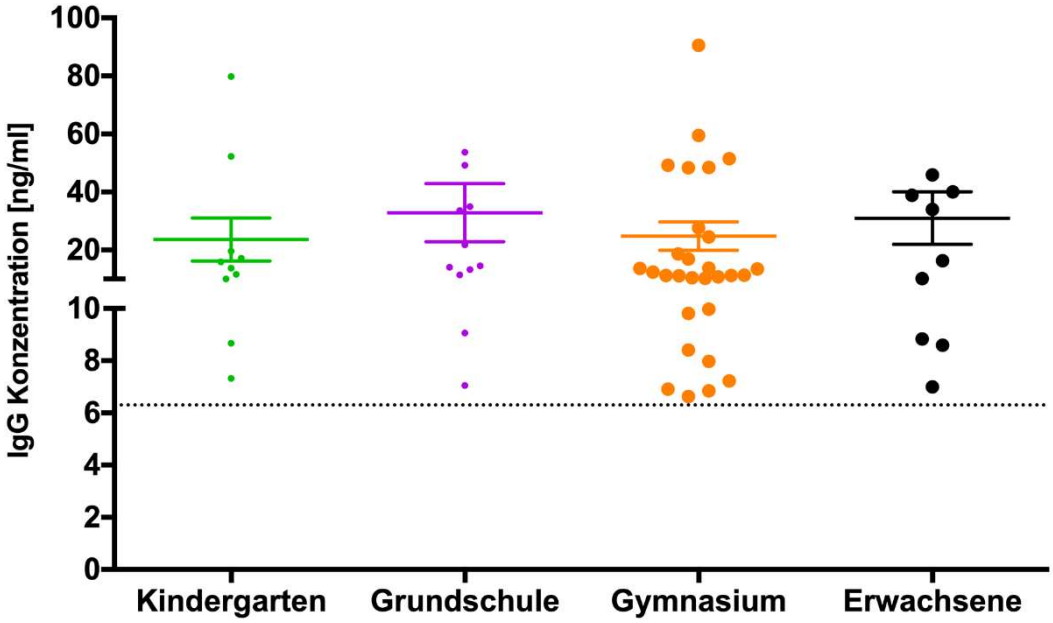

Abbildung 4: Verteilung der SARS-CoV-2 Antikörperkonzentrationen (IgG-positiv), schwarz gepunktete cut-off-Linie bei 6,3 ng/mL; Unterteilung nach Kindergartenkindern (0-5 Jahre), Grundschulkindern (6-10 Jahre) und Gymnasialkindern (11-18 Jahre); angegeben ist der Median und die 25%- und 75%-Perzentile

3.8 Bestätigung im Blut

Von 25 Kindern mit positivem Speichel-IgG und einem Kind mit negativem Speichel-IgG, das jedoch selbst angab, mit SARS-CoV-2 infiziert zu sein, wurden 3 bis 4 Monate nach T3 Plasmaproben und eine weitere Speichelprobe entnommen. Bei 8 Kindern mit positivem IgG-Speichel wurde angegeben, vor der zusätzlichen Probenentnahme gegen COVID-19 geimpft worden zu sein. Das Plasma wurde mittels kommerziellem SARS-CoV-2 ELISA und inhouse Plasma-ELISA und der Speichel mit dem etablierten Speichel-ELISA untersucht. In 24 von 25 Proben wurde die SARS-Cov-2 IgG Positivität bestätigt, d.h. sogar 3 bis 4 Monate nach ursprünglicher Speichelnahme waren noch immer Antikörper nachweisbar (siehe Tabelle 6). Vier Monate nach der T3-Probennahme gab es nur einen Teilnehmer (5,8%) der Antikörper-negativ im Speichel und Plasma wurde. Zwei Teilnehmer (11,1%) verloren vier bzw. fünf Monate nach T3 nur das Speichel-IgG. Die IgG-Konzentrationen in den gepaarten Plasma- und Speichelproben korrelieren miteinander (Pearson's Produkt-Moment-Korrelation r = 0,57, [95% Konfidenzintervall (CI): 0,10-0,83; p=0,013], unter Verwendung des hauseigenen ELISA-Tests (siehe Abbildung 5). Die Analysen ergaben eine

Spezifität und Sensitivität des Speichel-ELISA von 100 % bzw. 88 % (95 %-CI: 65 %-98 %). Alle geimpften Kinder wiesen SARS-CoV-2-Antikörper in Speichel und Plasma auf (siehe Tabelle 7).

Tabelle 6: Ergebnisse der Nachuntersuchung nach T3 im Plasma und Speichel bei weiterhin ungeimpften Kindern; rot markiert sind Felder die den cut-off unterschreiten (<6,3 ng/mL im Speichel und <0,8 µg/mL im Plasma, bei EUROIMMUN <0,8 Verhältnis von Extinktion der Patientenprobe zu Extinktion des Kalibrator) und somit negativ sind; Werte über dem cut-off sind grün gefärbt; die In-house Tests (Speichel und Plasma IgG-In-house) richten sich gegen das RBD Protein, der EUROIMMUN-Test gegen das S-Protein

		Speichel	**Blut**		
Proband	T3 Ergebnis IgG im Speichel (ng/mL)	IgG im Speichel (ng/mL)	IgG in-house (µg/mL)	EUROIMMUN	Monate nach T3
1	49,2	28,8	44,9	4,4	3
2	53,7	32,6	30,3	4,0	4
3	21,7	175,9	102,8	4,1	5
4	13,3	16,6	52,9	4,5	3
5	11,6	5,3	41,4	3,5	5
6	79,8	4,6	30,9	2,4	4
7	11,3	0,3	0,8	0,2	4
8	24,5	21,3	59,7	4,5	3
9	13,4	10,1	26,6	2,6	3
10	10,0	8,8	41,4	3,7	3
11	27,7	22,1	52,7	7,5	4
12	6,8	13,2	42,2	5,8	3
13	11,2	11,5	10,5	9,2	4
14	48,5	74,1	51,2	9,8	4
15	9,8	7,7	11,8	2,0	3
16	18,7	28,4	12,6	1,8	3

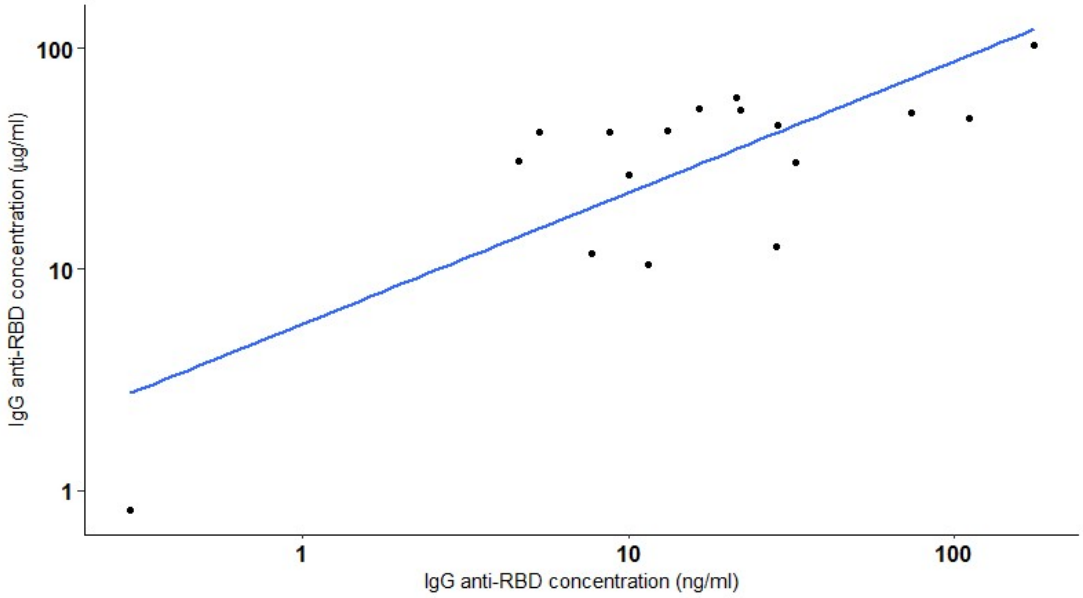

Abbildung 5: Korrelation von IgG-Konzentration im Plasma und Speichel; r=0,57

Tabelle 7: SARS-CoV-2 Antikörperergebnisse bei nach T3 gegen SARS-CoV-2 geimpften Kindern in der Nachuntersuchung wenige Monate später; rot markiert sind Felder die den cut-off unterschreiten (<6,3 ng/mL im Speichel und <0,8 µg/mL im Plasma, bei EUROIMMUN <0,8 Verhältnis von Extinktion der Patientenprobe zu Extinktion des Kalibrator); Werte über dem cut-off sind grün gefärbt; die In-house Tests (Speichel und Plasma IgG-In-house) richten sich gegen das RBD Protein, der EUROIMMUN-Test gegen das S-Protein

Proband	Ergebnis T3 Speichel (ng/mL)	IgG im Speichel (nach Impfung) (ng/mL)	IgG In-house (µg/mL)	EUROIMMUN	Faktor der Zunahme des Speichel IgG zu T3
1	11,1	1441,1	2685,8	10,4	129,7
2	10,3	267,8	662,5	8,1	26,0
3	10,5	291,8	695,3	7,4	27,8
4	12,4	1066,1	4639,4	10,4	86,0
5	16,9	315,3	300,8	7,7	18,6
6	51,5	750,1	5643,4	9,9	14,6
7	90,5	246,6	89,8	9,3	2,7
8	13,7	1419,2	3321,4	7,3	103,4

3.9 SARS-CoV-2 Antikörper bei geimpften Kindern

Zusätzlich wurden Speichelproben von 160 geimpften Kindern analysiert. Von diesen waren 97 (61%) Kinder positiv für SARS-CoV-2 RBD-spezifisches IgG im Speichel (Median 42,5 ng/mL, Range 7-5584 ng/mL). Die Analysen ergaben erhöhte Speichel-IgG-Konzentrationen bei Geimpften im Vergleich zu Genesenen ($p<0,01$). Die COVID-19-Impfung bei genesenen Kindern führte zu einem bemerkenswerten und signifikanten Anstieg der SARS-CoV-2 RBD reaktiven IgG-Konzentrationen im Speichel (Median 532 ng/ml, Range 247-1441 ng/ml) (siehe Abbildung 6) und im Plasma (Median 1690 μg/ml, Range 11-103 μg/ml) (siehe Abbildung 7). Bei ungeimpften Genesenen blieben die Antikörperspiegel im Speichel (Median 21,4 ng/ml, Range 7,7-175,9 ng/ml) und Plasma (Median 41,4 μg/ml, Range 10,5-102,8 g/ml) deutlich niedriger. Die IgG-Konzentrationen im Speichel waren um das 0,0009-fache niedriger als im Plasma und stiegen bei den geimpften Rekonvaleszenten im Speichel um das 22,1-fache und im Plasma um das 57,1-fache. Darüber hinaus waren die IgG-Konzentrationen bei geimpften Genesenen höher als bei nicht infizierten Geimpften ($p=0,0003$).

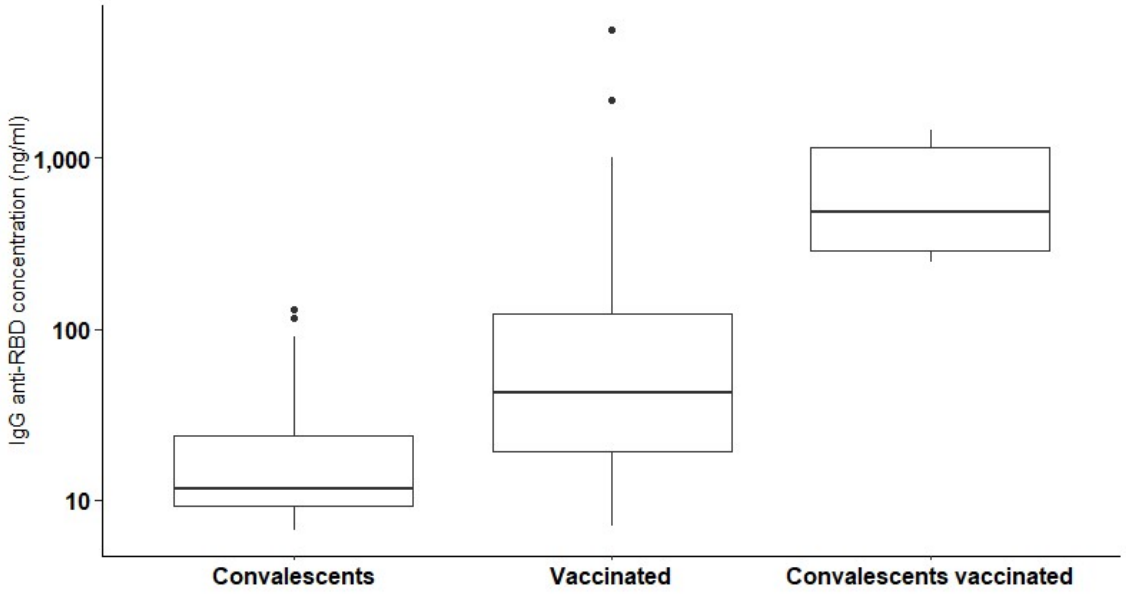

Abbildung 6: Vergleich Antikörperkonzentration im Speichel bei Kindern, die an T3 genesen (convalescent, n =50), geimpft (vaccinated, n =160) oder genesen und geimpft waren (convalescent vaccinated, n =8)

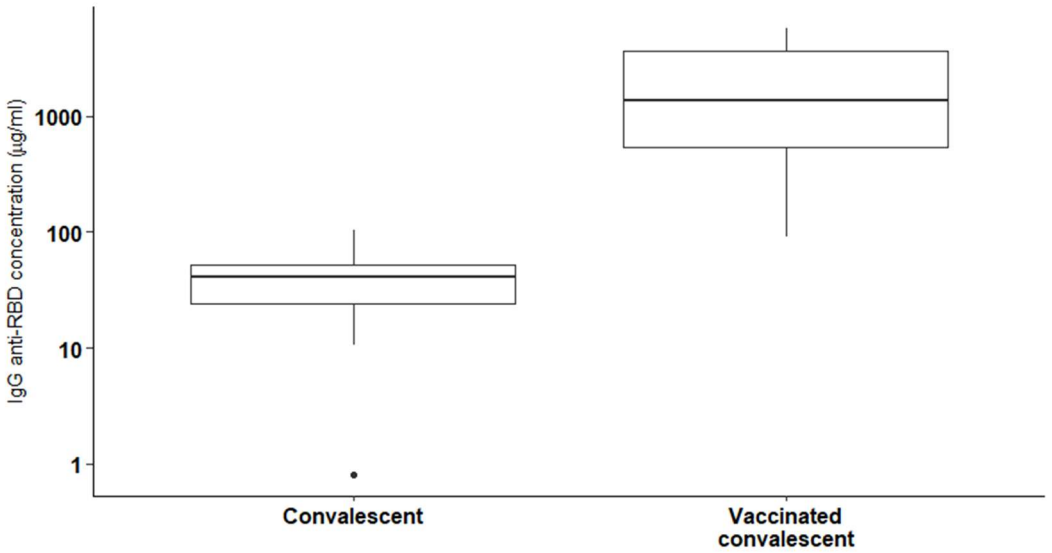

Abbildung 7: Vergleich Antikörperkonzentration im Plasma bei Kindern, die an T3 genesen (convalescent, n=17) oder mindestens einmal geimpft und genesen (vaccinated convalescent, n=8) waren.

3.10 Untersuchung auf Ausbruchscluster

Um einen möglichen Hinweis auf Häufungen von SARS-CoV-2 Infektionen in bestimmten Einrichtungen, die im Fall der Kindergärten und Grundschulen zumeist das entsprechende Wohngebiet/Stadtgebiet der Teilnehmer repräsentieren, zu bekommen, wurde die Anzahl der genesenen Kinder für die einzelnen Einrichtungen bestimmt. In 13 der insgesamt 35 Einrichtungen gab es genesene Kinder: in 6/16 Kindergärten, 3/4 Grundschulen und 3/3 weiterführenden Schulen. Pro Einrichtung gab es zwischen 1 und 16 seropositive Kinder, wobei sich auch die Anzahl der teilnehmenden Kinder pro Einrichtung stark unterschied. In einem Kindergarten waren 20% (3/15) der teilnehmenden Kinder seropositiv, wovon 2 Kinder Geschwister waren. In einigen Einrichtungen gehen die betroffenen Kinder teilweise in dieselbe Klasse oder haben ebenfalls betroffene Geschwister in der Einrichtung. Oftmals haben die Genesenen innerhalb einer Einrichtung aber auch keine bekannte Verbindung zueinander.

Tabelle 8: Auflistung Fälle von Genesenen nach Einrichtungen; K=Kindergarten, Gr=Grundschulen, Gy= Gymnasien

Einrichtung	Anzahl Fälle Einrichtung pro untersuchte Kinder, n (%)	Bemerkung
K1	1 von 17 (5,9%)	
K2	3 von 15 (20%)	2 Kinder sind Geschwister
K3	1 von 11 (9,1%)	
K4	2 von 17 (11,8%)	2 Kinder sind Geschwister
K5	2 von 17 (11,8%)	
K6	1 von 31 (3,23%)	
Gr1	4 von 59 (6,8%)	2 Kinder gehen in dieselbe Klasse
Gr2	5 von 65 (7,7%)	
Gr3	2 von 58 (3,5%)	
Gr4	1 von 47 (2,1%)	
Gy1	8 von 197 (4,1%)	2 Kinder gehen in dieselbe Klasse
Gy2	16 von 265 (6%)	
Gy3	6 von 119 (5%)	

4 Diskussion

4.1 Einführung

Die Rolle der Kinder im pandemischen Geschehen war oft unklar und wurde vor allem zu Beginn stark diskutiert. Dass COVID-19 bei Kindern milder verläuft, ist mittlerweile bekannt. Zeitweise wurde vermutet, dass die häufig asymptomatisch und somit unbemerkt SARS-CoV-2 infizierten Kinder das pandemische Geschehen beschleunigen könnten. Einzelne Maßnahmen, wie Schul- und Kindergartenschließungen, zielten speziell auf die Minderjährigen ab. Um das zurückliegende Infektionsgeschehen bei Kindern exemplarisch für eine mittelgroße Stadt zu untersuchen, wurde im Frühjahr 2021 (Zeitpunkt T3 der Coro-Buddy-Studie) Speichel von insgesamt 1478 Kindergarten- und Schulkinder aus Tübingen auf SARS-CoV-2 IgG Antikörper untersucht. Insgesamt lag die Seroprävalenz in der Gruppe der Kinder und Jugendlichen bei 4,3%, die Meldedaten über den Gesamtzeitraum Frühjahr 2020 bis Frühjahr 2021 lagen bei 1,3%. Erwartungsgemäß hatten also etwas mehr Kinder und Jugendliche eine Infektion durchgemacht, als registriert worden waren. Jedoch ist die Größenordnung vergleichbar.

Bei Nachmessungen der Kinder mit positivem Antikörperergebnis nach einigen Monaten blieben fast alle Kinder positiv. Außerdem konnte gezeigt werden, dass das Plasma-IgG (In-house Test) mit dem Speichel-IgG korreliert. Zwischenzeitlich geimpfte Kinder zeigten sehr hohe Antikörperwerte im Speichel, aber auch im Plasma.

4.2 Diskussion der Methoden

Im Fokus der Studie stand die SARS-CoV-2 Exposition von Kindern und Jugendlichen, die über ihre Bildungseinrichtungen in die Studie aufgenommen und beprobt wurden. Auch eine andere Antikörperstudie griff schon auf das gut geeignete Schulsetting zurück (Dobano et al., 2021). Ein Vorteil der Studie ist der Fragebogen, der die Möglichkeit bietet, weitere epidemiologische Merkmale zu untersuchen. Zudem erstreckt sich die gesamte Studie über mehrere Zeitpunkte

und Jahre. Vergleichbare Prävalenzstudien sind teilweise nur auf kürzere Zeiträume angelegt (Dobano et al., 2021). Zwar ist die Nichterfassung von Vorerkrankungen der Teilnehmenden, die sich auf die Immunantwort und Antikörperbildung auswirken könnten, limitierend, hat aber auf Bevölkerungsebene keine große Relevanz.

Durch die Gewinnung der Speichelproben direkt in den Einrichtungen, wurde den Probanden die Studienteilnahme vereinfacht und die Hürden zur Teilnahme abgebaut, was die Repräsentativität begünstigt. Speichel als Probenmaterial ist zudem relativ einfach zu gewinnen und benötigt kein medizinisches Fachpersonal im Vergleich zu Blutentnahmen. Zudem ist die Spende von Speichel für den Probanden schmerzfrei, was vor allem bei Kindern, als Hauptzielgruppe der Studie, einen entscheidenden Vorteil bietet. Mit dem Oracol kommen selbst die jüngsten Kinder schon gut klar, bzw. es ist Eltern oder Erzieher*innen einfach möglich zu helfen und es kann eine ausreichende Menge Speichel gesammelt werden. Mit Hinblick auf zukünftige epidemiologische Untersuchungen tut sich hier eine große Chance für großangelegte epidemiologische Studien auf. Im Gegensatz zur Blutentnahme muss man die Probanden dafür aber auf mögliche Störfaktoren hinweisen (kurz vorher zu sich genommene Speisen und Getränke oder Kaugummi kauen), um diese zu verhindern. Wenige andere SARS-CoV-2 Prävalenzstudien haben bisher Speichel statt Blut zur Antikörperbestimmung genutzt.

Zur Analyse der Speichelproben wurde ein eigens sorgfältig entwickelter und validierter inhouse SARS-CoV-2 RBD IgG Speichel ELISA verwendet. Die Testparameter zeigen eine hohe Sensitivität und Spezifität. Die RBD-Region ist hoch konserviert und sehr spezifisch und verspricht damit auch bei mutierten SARS-CoV-2 Varianten noch eine gute Empfindlichkeit des IgG Nachweises. Die Mehrheit aller neutralisierenden Antikörper greift die RBD-Region (an der S1-Untereinheit) an (Okba, 2020). Für Kreuzreaktivitäten stellt eher die S2-Untereinheit ein Problem dar. Diese wird daher in unseren Tests nicht verwendet. Auch kommt es vor, dass eine infizierte Person nicht alle Antikörperklassen bildet, obwohl sie nachweislich mit SARS-CoV-2 infiziert war. (Dobano et al., 2021) Das gilt es bei der Verwertung der Messwerte zu beachten. Es existieren

sowohl IgA als auch IgG basierte ELISAs. Da IgG aber länger nachweisbar ist (in der Regel mind. 6 Monate nach Infektion), wird es für Seroprävalenzstudien bevorzugt. IgA ist hingegen etwa 6-10 Wochen nach Infektion nicht mehr nachweisbar (Okba, 2020). Andere Seroprävalenzstudien bestimmen daher gleich eine Vielzahl von verschiedenen Antikörpern. Die Vergleiche haben aber gezeigt, dass die allermeisten Probanden IgG gegen das S-Protein gebildet hatten, sofern überhaupt Antikörper nachweisbar waren (Dobano et al., 2021; Keuning et al., 2021). Insofern sind die hier bestimmten Antikörper eine gute Wahl.

Für die Nachanalyse der in T3 positiv getesteten Kinder im Blut, wurden zwei verschiedene etablierte ELISA verwendet: Ein kommerzieller und ein In-House Assay (Pinilla et al. 2021). Durch die doppelte Testung mit verschiedenen Tests, werden falsche Ergebnisse in einem Test leichter aufgedeckt. Durch den zeitlichen Verzug von 3-5 Monaten bis zur Blutuntersuchung wäre es denkbar, dass die Antikörperkonzentration unter den Cut-Off Wert absinken oder im Gegenteil sogar durch erneute Infektion oder Impfung steigen könnte. Aus diesem Grund wurden erneut parallel gewonnene Speichelproben gemessen.

Generell ist bei den verwendeten Methoden zu beachten, dass kein Neutralisationstest gemacht wurde. Es werden also nur Aussagen zur Virusexposition, d.h. zu durchgemachten Infektionen getroffen. Ob und wie gut diese SARS-CoV-2 Antikörpern prospektiv vor einer Reinfektion schützen, kann nicht gesagt werden und müsste anhand von Virusneutralisationstests untersucht werden.

4.3 Diskussion der Ergebnisse

4.3.1 Studienpopulation

Die große Anzahl der 1–18-Jährigen Probanden aus einem klarumfassten Studiengebiet (Stadtgebiet Tübingen) ermöglicht es, auf einem Konfidenzniveau von 95%, Aussagen, mit einer Fehlerspanne von 3%, über die Tübinger Kinder zu treffen. Insgesamt wurden in Coro-Buddy 11% der 1-18-Jährigen im Tübinger

Stadtgebiet untersucht, und auch die Altersgruppen 1-5-Jährige, 6-10-Jährige und 11-18-Jährige sind einigermaßen gleich verteilt. Um strenggenommen repräsentativ zu sein, hätten die Studienteilnehmer über das Einwohnerregister zufällig ausgewählt werden müssen. Dies war jedoch zeitlich und logistisch nicht umsetzbar. Daher wurde in der Studie ein anderer Ansatz gewählt, der eine annährend repräsentative Stichprobe zulässt. Über die Rekrutierung und Beprobung der Studienteilnehmer über ihre Bildungsinstitutionen in einem klargefassten Studiengebiet hat man sich der Repräsentativität genähert. Andere Studien wählten oft keine bevölkerungsbasierten Ansätze (Probensammlung bspw. in einem Krankenhaus) und sind somit weniger repräsentativ für die Allgemeinbevölkerung.

Die Geschlechter der Teilnehmer sind in allen Altersgruppen ungefähr gleich verteilt. Nur bei den älteren Teilnehmern nehmen etwas mehr Mädchen (58%) als Jungen (42%) teil. In einer Studie von Sorg et al. zeigt sich, dass das Geschlecht keinen Einfluss auf die Bildung von Antikörpern, sowie die Gefahr der Infektion mit SARS-CoV- 2 hat (Sorg et al., 2022).

Die erwachsene Vergleichsgruppe hingegen ist aus vielen Gründen nicht repräsentativ. Die Teilnehmeranzahl ist zu gering, um valide Aussagen zu treffen und durch die Art der Rekrutierung sind bestimmte Gruppen, wie Erzieher*innen und Lehrer*innen in der Stichprobe überrepräsentiert. Diese hatten vermutlich berufsbedingt mehr Kontakte als ein durchschnittlicher Erwachsener und dadurch ein höheres Infektionsrisiko. Die Erwachsenen werden nicht weiter diskutiert.

Weiterhin ist davon auszugehen, dass alle Probanden mit positivem Antikörper-Ergebnis Kontakt zu SARS-CoV-2 hatten. Impfungen, v.a. der Kinder, waren zum Studienzeitpunkt noch höchst selten und für Kinder unter 12 Jahren war noch kein Impfstoff zugelassen (zwischen März und Juni 2021). Zudem wurden alle Antikörper-positiven nach möglichen Impfungen im Vorfeld gefragt.

4.3.2 Erkältungsartige Symptome

Nicht verwunderlich ist, dass über 20% der Teilnehmer erkältungsartige Symptome in den vorausgehenden zwei Monaten, also Wintermonaten, angegeben hatten. Erkältungen sind häufig und es gibt eine Vielzahl an Erregern, die diese auslösen können. SARS-CoV-2 Infektionen können mit erkältungsartigen Symptomen einhergehen. Je jünger die Kinder, desto häufiger wurden Symptome berichtet. Kinder, die zur KiTa gehen, sind noch in der Ausbildungsphase des Immunsystems und hatten viel eher die Möglichkeit mit Immunogenen in Kontakt zu kommen, da für ihre Altersgruppe, im Gegensatz zu den Schulen, keine Maskenpflicht galt. Zudem achten Kleinkinder viel weniger auf Hygienemaßnahmen und stecken auch vieles in den Mund. Ein klarer Indikator für eine durchgemachte SARS-CoV-2 Infektion können zurückliegende Symptome nicht sein, wie sich am Anteil der symptomatischen SARS-CoV-2 Genesenen (26% der Kinder) zeigt. Dieser liegt im Mittel nur leicht über dem Anteil der Kinder mit Symptomen (21,4%) in der Gesamtpopulation. Das weist zudem darauf hin, dass viele SARS-CoV-2 Infektionen asymptomatisch verlaufen sind. Natürlich ist aber auch nicht ausgeschlossen, dass die Infektion zum Messzeitpunkt schon länger als zwei Monate zurück lag und daher keine Symptome angegeben wurden.

Die häufigsten Symptome unter den genesenen Kindern (Schnupfen, Husten und Fieber) passen gut zu COVID-19, sind aber recht unspezifisch und können auch bei anderen Erkältungskrankheiten auftreten.

4.3.3 SARS-CoV-2 Antikörperprävalenz im Speichel

Interessanterweise sind die Kleinkinder, trotz fehlender Maskenpflicht, die Gruppe mit dem geringsten Anteil an SARS-CoV-2 Genesenen (etwa 2%). Der Anteil steigt ,über 4,4% bei den Grundschulkindern, bis auf 5,5% bei den älteren Kindern. Dieser Verteilung könnten unterschiedliche Faktoren zugrunde liegen. Zum einen könnten jüngere Kinder weniger empfänglich für SARS-CoV-2 sein. Das könnte daran liegen, dass Kleinkinder viel in Kontakt mit anderen Erkältungsviren kommen und sich dadurch eine Kreuzreaktivität bildet, die vor SARS-CoV-2 zu einem gewissen Maß schützt (Khan et al., 2021). Zum anderen

haben junge Kinder durchschnittlich weniger Kontakte als ältere Kinder. Hauptsächlich halten sie sich in der Familie auf und die Kindergartengruppen sind kleiner als Schulklassen. Eine andere Möglichkeit, warum kleine Kinder weniger häufig betroffen sind, ist, dass das Vorhandensein anderer Krankheitserreger in den Schleimhäuten von kleinen Kindern, die Vermehrung von SARS-CoV-2 durch Interaktion und auch Konkurrenz der Viren untereinander begrenzen könnte (Brodin, 2020). Eine chinesische Studie beschrieb, dass Kinder im Allgemeinen etwas weniger empfänglich für SARS-CoV-2 Infektionen seien. Diese Unterschiede würden aber oft durch ein intensiveres Kontaktverhalten wieder ausgeglichen (Zhang et al., 2020). Es konnte herausgefunden werden, dass Kleinkinder (bis 4 Jahre) in ihren nasalen Sekreten hohe Level an antiviralen Zytokinen aufweisen. Diese könnten SARS-CoV-2 direkt am Eintrittsort bekämpfen und auch den milderen Krankheitsverlauf erklären (Wimmers et al., 2023). Es gibt also viele Möglichkeiten, warum Kleinkinder eventuell etwas weniger empfänglich für SARS-CoV-2 sind. Letztendlich ist der in dieser Studie nachgewiesene Unterschied zu den älteren Kindern aber nicht signifikant.

Sorg et al. stellte für einen ähnlichen Zeitraum (März - Mai 2021) wie T3 der Coro-Buddy-Studie eine Seroprävalenz von etwa 10% im Plasma bei Kindern in Deutschland fest, wobei aber die Studienpopulation aus hospitalisierten Kindern bestand (Sorg et al., 2022). Eine Studie aus Dresden fand eine Seroprävalenz von 6,8% nach der zweiten Welle (Armann et al., 2021). Tübingen hatte also im Bundesdurchschnitt eine eher niedrige Prävalenz von SARS-CoV-2 Antikörpern nach der zweiten Welle. Insgesamt fügen sich die Ergebnisse der Coro-Buddy-Studie mit einer geschätzten Seroprävalenz von 4,3% bei Kindern gut in diese Ergebnisse ein.

Um Rückschlüsse auf eine mögliche Dunkelziffer bei den Coronameldedaten zu ziehen, wurden die Ergebnisse der Studie auch mit den Meldedaten des Gesundheitsamts Tübingen verglichen. Aus den gemeldeten Zahlen seit Pandemiebeginn wurde die Seroprävalenz in Tübingen bei den 1-18-Jährigen auf 1,3% geschätzt. Die Coro-Buddy-Studie kommt für dieselbe Altersgruppe auf eine Prävalenz von IgG-Antikörpern im Speichel von 4,3%. Das spricht für eine

gewisse Dunkelziffer, also Infektionen, die unbemerkt verlaufen sind oder nicht gemeldet wurden. Das ist gut vereinbar mit der Tatsache, dass Kinder in der Regel recht leicht erkranken oder sogar in einigen Fällen asymptomatisch sind. Die Dunkelziffer hält sich im erwarteten Rahmen und liegt nicht deutlich über den gemeldeten PCR-Tests der Stadt Tübingen.

Bei den Kindergartenkindern gibt es den geringsten Unterschied zwischen der geschätzten Prävalenz für Tübingen und den Ergebnissen der Coro-Buddy-Studie. Eine mögliche Erklärung wäre die verstärkte Teststrategie einige Monate nach Beginn der Pandemie. In den ersten Monaten der Pandemie erkrankten vermehrt ältere Kinder und Erwachsene. (Schilling et al., 2021) Allerdings gab es noch keine flächendeckenden regelmäßigen Testungen, sodass sicher einige der älteren Kinder unerkannt erkrankten. Als dann auch jüngere Kinder mehr und mehr betroffen waren, wurden regelmäßige Testungen in Kindergärten und Schulen etabliert, sodass weniger Infektionen unerkannt bleiben konnten.

Die Dunkelziffer beträgt also das 3,3-fache der gemeldeten Fälle in Tübingen und liegt damit im Rahmen der Dunkelzifferschätzungen des RKI in Deutschland nach der ersten Welle von der 2,8-fachen Anzahl der Fälle (Fiedler et al., 2021). Auch eine Untersuchung des RKI geht von einem Untererfassungsfaktor von 4-5 zu Anfang der Pandemie aus. Zum Zeitpunkt von T3 dürfte er laut dieser Untersuchung deutschlandweit immer noch bei 2 gelegen haben (Neuhauser et al., 2021). In Tübingen lag die Dunkelziffer also etwa auf dem Bundesniveau. In Tübingen lief parallel zum Zeitraum von T3 das Tübinger Modellprojekt „Öffnen mit Sicherheit“. Im Gegensatz zum Rest von Deutschland durfte der Einzelhandel wieder öffnen. Dafür wurde verstärkt unsystematisch getestet. Anscheinend wurden dennoch nicht signifikant mehr Infektionen bei Kindern entdeckt als im Rest von Deutschland. Erklärbar ist das dadurch, dass sich an den kostenlosen Teststationen in großer Mehrheit Erwachsene testen ließen, um die Erlaubnis zu erhalten, im Einzelhandel einkaufen zu gehen (Land Baden-Würrtemberg, 2021).

Trotz dieser gewissen Dunkelziffer widerspricht das Ergebnis dieser Studie mit nur 4,3% infizierten Kindern nach über einem Jahr Pandemie der gefühlten Wahrnehmung zu dieser Zeit. Nach dieser war eine Infektion sehr wahrscheinlich

und überall bestand die Gefahr sich zu infizieren. Diese niedrigen Ergebnisse sind eventuell auch den vorrausgehenden Lockdowns zu verdanken, in denen Schulen und Kindergärten teilweise ganz geschlossen wurden (März-Mai 2020, Dezember 2020 - Februar 2021 und teilweise auch noch danach). Außerdem galten strenge Regeln: Maskenpflicht in Schulen und in Kindergärten (dort nur für die Erzieher*innen) und Gruppenquarantäne bei einzelnen Infektionen in Klassen oder Kindergartengruppen. Es konnte nachgewiesen werden, dass Schulschließungen in jedem Fall einen messbaren Effekt auf die Verbreitung des Coronavirus hatten (Levelu, 2022). Eine norwegische Studie stellte dies trotzdem infrage, da sie zu dem Schluss kam, dass konsequente Testkonzepte und gute Präventionsmaßnahmen dieselben Erfolge erzielten, wie Schulschließungen (Rotevatn et al., 2022). Im Endeffekt ist es wahrscheinlich die Kombination der verschiedenen Maßnahmen gewesen, die die Infektionszahlen zu dieser Zeit auf noch recht niedrigem Niveau gehalten hat.

4.3.4 Vergleich Akutdiagnostik und Antikörperergebnis

Die Ergebnisse der teils selbst durchgeführten Akutdiagnostik (pos. SARS-CoV-2 Test bis zu sechs Monate vor T3) wurden mit denen unserer Antikörperdiagnostik verglichen. Positiv getestet hatten sich in den letzten sechs Monaten insgesamt 0,9% der Kinder. Die geschätzte Prävalenz hingegen lag bei 4,3%. Bei 25 Kindern mit positivem SARS-CoV-2 Test hatten nur 14 Kinder nachweisbare Antikörper im Speichel. Man könnte mutmaßen, dass der Test bei den Antikörper-negativen Teilnehmern schon weiter zurücklag und daher schon keine Antikörper mehr nachweisbar waren. Das lässt sich durch unsere Daten aber nicht nachvollziehen. Um herauszufinden, wie wahrscheinlich es ist, dass der initiale Test falsch positiv war, wurden die Probanden mit Abweichung zwischen Akutdiagnostik und Antikörpertest nachträglich nach der Testart gefragt. 6 der Kinder hatten einen PCR-Test gemacht, der allgemein als sehr verlässlich in Hinblick auf Sensitivität und Spezifität gilt. Bei den restlichen Probanden konnte die Testart nicht herausgefunden werden.

Weitere Erklärungen für eine ausbleibende Antikörperbildung trotz Infektion wären das Vorliegen einer Immundefizienz oder von Krankheiten, die die

Immunabwehr beeinflussen. Diese Faktoren wurden in der Coro-Buddy-Studie allerdings nicht erhoben, da sie in einer so großen Population an Relevanz verlieren. Zudem sind vor allem Schnelltests recht unsicher und können gelegentlich falsch positive Ergebnisse anzeigen. Vor allem für die Testung bei Asymptomatischen sind sie wenig geeignet (Kern et al., 2021). Eine weitere Erklärung wäre, dass bei einigen Individuen im Blut gebildete Antikörper eventuell nur in zu geringen Mengen in den Speichel transferiert wurden. Auch könnte die Immunantwort sehr lokal beschränkt gewesen sein. Wenn die Abwehr beispielweise bereits zu großen Teilen in der Nase stattgefunden hat, wie es bei Kindern vermutet wird (Wimmers et al., 2023), sind eventuell keine Antikörper mehr im Blut nachweisbar.

4.3.5 Ansteckung innerhalb der Familie

Die Familienanamnese hat wenig Aussagekraft in Hinblick auf zurückliegende SARS-COV-2 Infektionen. Generell wurde im Fragebogen wenig über positive Tests im Familienumfeld berichtet. Von den Erwachsenen und den älteren Kindern (11-18) gab kein einziger Teilnehmer an, dass in den letzten 6 Monaten jemand aus der Familie positiv auf SARS-CoV-2 getestet wurde. Bei den Kindergartenkindern gab es mit 14 positiven Familienanamnesen die meisten Fälle innerhalb der Familie. Nur in 2 Fällen war aber auch das Indexkind genesen und hatte somit auch Kontakt zu SARS-CoV-2.

Generell findet aber ein großer Teil der Übertragungen im eigenen Haushalt statt (Loss et al., 2022). Asymptomatische oder wenig symptomatische Infektionen von Haushaltsmitgliedern, die zur Übertragung auf das Indexkind geführt haben könnten, können nicht ausgeschlossen werden.

4.3.6 Konzentration der SARS-CoV-2 Antikörper

Bei den Probanden der Coro-Buddy-Studie wurden interindividuell stark unterschiedliche Antikörperkonzentrationen im Speichel festgestellt. Die meisten Probanden hatten moderat positive Werte. Nur einige wenige Probanden erreichen wirklich hohe Konzentrationen. Den Unterschieden können mehrere Ursachen zugrunde liegen. Die Zeit, die seit der Infektion vergangen ist, hat

Einfluss auf die Höhe des Antikörperspiegels, wenngleich nachgewiesen wurde, dass die Antikörperlevel bis zu 15 Monate nach der Infektion auf einem stabilen Niveau bleiben können (Pinilla, Heinzel, et al., 2021). Des Weiteren spielt die individuelle Situation des Immunsystems eine große Rolle. Da viele Faktoren, wie zum Beispiel Immundefizienz, Zeit seit Kontakt mit dem Virus, Intensität der Erkrankung, Medikamenteneinnahme etc., einen Einfluss auf die Höhe des Antikörperspiegels haben könnten, war auch zu erwarten, dass die Antikörpermenge sich zwischen den Probanden stark unterscheidet (Epaulard et al., 2022; Melton et al., 2023; Pinilla, Heinzel, et al., 2021).

Da andere Autoren über höhere Antikörperspiegel bei asymptomatisch/leicht infizierten Probanden berichteten (Dobano et al., 2021; Keuning et al., 2021), wurden auch die Antikörperkonzentrationen der genesenen Kinder mit und ohne Symptome in den letzten 2 Monaten verglichen. Symptomatische Kinder zeigten in dieser Studie höhere Antikörperwerte (durchschnittlich 35,4 ng/mL; 95% KI: 15,2 ng/mL - 55,5 ng/mL). Nicht symptomatische Kinder hatten durchschnittlich 23,7 ng/mL (KI 95%: 16,3 ng/mL - 31,1 ng/mL) SARS-CoV-2 Antikörper im Speichel. Die Unterschiede sind also nicht signifikant. Zudem ist durch den Studienaufbau nicht klar, ob die berichteten Symptome tatsächlich von einer COVID-19 Erkrankung stammen. Außerdem kann die (eventuell symptomatische) COVID-19 Erkrankung auch schon weiter als 2 Monate zurückliegen.

Insgesamt sind Aussagen zu Antikörperdynamiken bei der alleinigen Analyse von T3 nicht möglich, da weder der genaue Infektionszeitpunkt bekannt ist und auch kein zeitlicher Verlauf analysiert werden kann.

4.3.7 Vergleich Blut- und Speicheldiagnostik

Um die Korrektheit der Ergebnisse aus dem Speichel zu überprüfen, wurden einige der positiv getesteten Kinder wenige Monate nach dem Studienzeitpunkt T3 auf SARS-CoV-2 Antikörper im Blut untersucht. Bis auf eine Ausnahme hatten alle Kinder auch im Blut nachweisbare Antikörper. Bei zwei Probanden waren die Blutergebnisse positiv, während die Speichelergebnisse in der Zwischenzeit negativ geworden waren. Zwischen dem Abstand zum positiven Test und der

genauen Antikörperhöhe ließ sich mit den vorliegenden Daten kein Zusammenhang finden. Ob die gemessenen Konzentrationen nach T3 gefallen oder gestiegen sind, war unterschiedlich. Andere Studien berichten von einem signifikanten Abfall der Antikörperkonzentrationen nach etwa einem halben Jahr (Cui et al., 2022). Bei unseren Probanden sind aber keine Ausgangswerte der Antikörperkonzentration direkt nach der Infektion bekannt und die individuelle Antikörperhöhe wird von vielen weiteren Faktoren mitbestimmt. Auch unbemerkte Reinfektionen zwischen T3 und dem Nachuntersuchungszeitpunkt sind nicht auszuschließen. Die Blutuntersuchung bekräftigt aber nochmal die Korrektheit der positiven Ergebnisse im Speichel in T3. Außerdem zeigt sie, dass Antikörper auch noch Monate nach der Infektion im Speichel nachweisbar sind (Pinilla, Heinzel, et al., 2021).

4.3.8 Einfluss von Impfungen auf die Antikörpermenge

Ziel der Nachbestimmungen im Blut war es, die positiven Antikörperergebnisse von T3 im Blut zu bestätigen. Bis zum Kontrolltermin hatten sich aber schon einige der Kinder impfen lassen. Die Antikörperkonzentrationen im Speichel schossen bei allen geimpften Kindern stark in die Höhe. So stiegen sie bei den geimpften Genesen im Speichel um das 22,1-fache und im Plasma um das 57,1-fache. Dieser starke Anstieg der Antikörperkonzentration nach Impfung wurde auch schon bei erwachsenen Probanden beobachtet. Die IgG-Konzentration im Speichel stieg einen Monat nach der ersten Impfstoffdosis auf das 46-fache an. (Pinilla, Heinzel, et al., 2021). Zudem hatten geimpfte Genesene höhere IgG-Konzentrationen im Speichel als nicht infizierte Geimpfte. In anderen Studien wurde auch nachgewiesen, dass genesene Geimpfte deutlich höhere und stabilere Antikörperspiegel im Blut hatten als Geimpfte, die vorher noch keine Infektion durchgemacht hatten. Die Impfung wirkt nach einer Infektion wie ein Booster (Takahashi et al., 2023; Yorsaeng et al., 2023). Wir konnten diesen Effekt nun auch im Speichel nachweisen und nicht nur für die Plasma-IgG Antikörper.

4.3.9 Clusterbildung

Der Anteil an Genesenen unterschied sich zwar zwischen den Einrichtungen, jedoch konnten zwischen den Genesenen innerhalb einer Einrichtung oft keine

eindeutigen Verbindungen gefunden werden. Das schließt natürlich nicht aus, dass es nicht doch Verbindungen zwischen den Genesenen gab, wie zum Beispiel der Besuch einer gemeinsamen Veranstaltung außerhalb der Einrichtung, der zur Infektion führte. Zudem war die Anzahl der Proben pro Einrichtung oft viel zu gering, um qualifizierte Aussagen über mögliche Infektionscluster innerhalb der Einrichtung treffen zu können.

4.3.10 Zusammenfassung der Erkenntnisse

Zusammenfassend zeigt sich also, dass die Anzahl der an SARS-CoV-2 infizierten Kinder vermutlich nur geringfügig über der Anzahl, der gemeldeten Fälle in Tübingen liegt. Es ist also eher unwahrscheinlich, dass asymptomatisch erkrankte Kinder das Infektionsgeschehen in Tübingen zum Zeitpunkt der Studiendurchführung stark beschleunigt haben. Auch zeigen sich zwischen den verschiedenen Altersgruppen keine gravierenden Unterschiede, obgleich es Unterschiede in der Härte der durchgeführten Maßnahmen zur Pandemiebekämpfung gab. Weiterhin hat sich gezeigt, dass weder erkältungsartige Symptome noch eine positive Familienanamnese stark auf das Vorhandensein von SARS-CoV-2 Antikörpern hinweisen. Selbst ein positiver SARS-CoV-2 Test führt nicht zwingend zur (langanhaltenden) Antikörperbildung. Die Ergebnisse können gut auf Städte mit einer ähnlichen Bevölkerungszusammensetzung und Pandemiedynamik übertragen werden.

Der Vergleich mit den doch immer noch deutlich etablierteren Antikörpertests auf Plasmabasis zeigt, dass Speichel ebenso gut zur Antikörperbestimmung geeignet ist und für kommende epidemiologische Studien eine gute Ergänzung zur Blutbestimmung, wenn nicht sogar einen Ersatz, darstellt. Speichel als Medium bietet nämlich den Vorteil der schnellen und unkomplizierten Gewinnung, so dass Massenscreenings einfacher werden. Durch die Globalisierung und das starke Bevölkerungswachstum wird dies sicher nicht die letzte Pandemie gewesen sein, der sich die Menschheit stellen muss. Umso wichtiger ist es, Werkzeuge an der Hand zu haben, die es ermöglichen Ausbreitungsdynamiken schnell und sicher zu erkennen und auch die Zahl der unregistrierten Infektionen gut schätzen zu können. Nur dann kann man mit

geeigneten Eindämmungsmaßnahmen reagieren, die an den richtigen Punkten ansetzen.

4.4 Ausblick

Mittlerweile wurde der Notstand aufgrund der SARS-CoV-2 Pandemie von der WHO im Mai 2023 für beendet erklärt. Jedoch zirkuliert SARS-CoV-2 weiterhin weltweit und führt zu lokalen Ausbrüchen. Dank zunehmender Immunisierung und abnehmender Gefährlichkeit des Virus sind die Infektions- und Todeszahlen weltweit am Sinken. Ein Großteil der deutschen Bevölkerung weist Antikörper gegen SARS-CoV-2 auf. Die große Gefahr ist erstmal gebannt. Es gibt in Deutschland nur noch kleinere endemische Ausbrüche. Etwa 3 Jahre hat die Pandemie das öffentliche Leben in Deutschland verändert. Retrospektiv gilt es jetzt zu analysieren, welche Infektionsschutzmaßnahmen sinnvoll waren und Strategien für zukünftige Pandemien zu entwickeln. Dazu gehören zum Beispiel auch Mittel und Wege zum Abschätzen der Durchseuchungsrate.

Die Ergebnisse dieser Arbeit haben gezeigt, dass sich mithilfe von einfach anzuwendenden Speicheltests, große Screenings zur Detektion von Antikörpern durchführen lassen. Die daraus gewonnenen Informationen über die Prävalenz der Erkrankung in der Bevölkerung können wiederum verwendet werden, um geeignete Infektionsschutzmaßnahmen ausfindig zu machen. Für Tübingen zeigte sich so etwa, dass die Prävalenz verhältnismäßig niedrig war. Allerdings gab es trotzdem eine gewisse Anzahl an unentdeckten Infektionen. Hier lag das Niveau etwa im Bundesdurchschnitt. Ein Zusammenhang mit der Tübinger Teststrategie und den Maßnahmen in den Kindergärten und Schulen kann nicht eindeutig beurteilt werden, ist aber vor allem bei letzterem wahrscheinlich.

Ergänzend zu dieser Studie wäre es natürlich interessant zu wissen, wie sehr die gemessenen Antikörperkonzentrationen vor Reinfektionen schützen. Dafür wären weitere Untersuchungen am Immunsystem und der antikörpervermittelten Abwehrreaktion nötig.

Abschließend bleibt zu hoffen, dass diese neuen Erkenntnisse in folgenden Epi- oder Pandemien gut und sinnvoll eingebracht werden können.

5 Zusammenfassung

Ziel der Arbeit war es, Auskünfte über die epidemiologische Situation bei Tübinger Kindern nach der zweiten SARS-CoV-2 Welle geben zu können. Dazu wurden im Rahmen des dritten Zeitpunkts der Coro-Buddy-Studie Speichelproben von insgesamt 1478 Kindern und 307 Erwachsenen in Kindergärten und Schulen in Tübingen gesammelt. Die Proben wurden mittels In-House ELISA auf IgG-Antikörper gegen das RBD-Protein der S1-Untereinheit von SARS-CoV-2 untersucht.

Bei 50 Kindern und 10 Erwachsenen konnte eine relevante Menge an Antikörpern nachgewiesen werden. Die geschätzte Prävalenz von Antikörpern bei Kindern lag damit bei 4,3%. Weder kurzzeitig zurückliegende erkältungsartige Symptome, noch eine positive Familienanamnese für SARS-CoV-2, waren starke Prädiktoren für ein positives Antikörperergebnis. Durch eine Nachuntersuchung im Blut von positiv getesteten Probanden, konnte gezeigt werden, dass die Antikörper ebenso im Blut nachweisbar waren. Auch Monate nach der Infektion waren noch relevante Mengen IgG-Antikörper in Speichel und im Plasma nachweisbar. Nach einer Impfung stiegen die Antikörperlevel sowohl im Speichel (um das 22,1-fache) als auch im Plasma (um das 57,1-fache) enorm an. Eine Infektion in Kombination mit einer Impfung führt zu höheren Antikörperspiegeln als die alleinige Impfung ohne vorangehende Infektion. Die Studie konnte keine Ausbruchscluster aufdecken, fand dafür aber eine nicht zu vernachlässigende Dunkelziffer im Vergleich zu den in Tübingen gemeldeten Fällen (176/13644 Kinder, 1,3 %).

Infektionen bei Kindern in Tübingen wurden also insgesamt nicht immer zuverlässig erkannt. In unserer Studie waren passend dazu 37 von 50 genesenen Kindern asymptomatisch (74%). Die Prävalenz war im deutschlandweiten Vergleich in der Coro-Buddy-Studie T3 (März bis Juli 2021) leicht niedriger (50/1478, 4,3% der Kinder), passte aber zu den Ergebnissen anderer deutscher Studien. Zudem erwies sich Speichel als zuverlässiges Medium für Antikörperuntersuchungen und kann somit ebenso wie Plasma zur Bestimmung

der Prävalenz von Krankheiten oder auch zum Nachverfolgen von Impfungen verwendet werden.

Anhänge

Annex 1: Einverständniserklärung zur Coro-Buddy-Studie

Annex 2: Fragebogen zur Coro-Buddy-Studie

Annex 3: Meldedaten SARS-CoV-2 Infektionen bei Kindern der Stadt Tübingen

Annex 1

EBERHARD KARLS
UNIVERSITÄT
TÜBINGEN

Universitätsklinikum
Tübingen

FORMULAR 1:
Information/Aufklärung

Coro-Buddy – Längsschnittstudie zur Prävalenz von Antikörpern gegen SARS-CoV-2 in Tübinger Kindern

Studienteilnehmer ID: .....
(WIRD VOM STUDIENTEAM AUSGEFÜLLT)

BITTE ALLE GRAUEN FELDER AUSFÜLLEN!

Vor- und Nachname des Kindes: .....

Geburtsdatum des Kindes: .....

Name der Einrichtung: .....

Name der Eltern/Erziehungsberechtigten: .....

Adresse der Eltern/Erziehungsberechtigten

Straße und Hausnummer: .....

Wohnort: .....

Telefonnummer: .....

Emailadresse: .....

Sehr geehrte Eltern, sehr geehrte Erziehungsberechtigte,

Das neue Coronavirus (SARS-CoV-2) wurde im Dezember 2019 in der chinesischen Stadt Wuhan identifiziert und breitet sich auf der ganzen Welt aus. Dieses Virus verursacht die Krankheit COVID-19. Die Krankheit kann asymptomatisch (ohne Symptome) oder mit Grippe-ähnlichen Symptomen wie Fieber, Husten und Gliederschmerzen verlaufen. In einigen Fällen kann es auch zu schlimmen Lungenentzündungen kommen. Schwere Verläufe finden eher bei älteren und/oder vorerkrankten Personen statt. Kinder und Jugendliche haben meist nur milde oder sogar gar keine Symptome.

Aufgrund der Beobachtung, dass Kinder und Jugendliche eher seltener krank werden, wird vermutet, dass sie unbemerkt zur Verbreitung des Virus beitragen könnten. Deshalb auch die Schließung von Kita,

EBERHARD KARLS
UNIVERSITÄT
TÜBINGEN

Universitätsklinikum
Tübingen

FORMULAR 2:

Einwilligungserklärung zur Teilnahme an der Studie:

Coro-Buddy – Längsschnittstudie zur Prävalenz von Antikörpern gegen SARS-CoV-2 in Tübinger Kindern

Zutreffendes bitte ankreuzen:

☐	Mit der Teilnahme meines Kindes (Vor- und Nachname) _____ an der Studie Coro-Buddy bin ich einverstanden. Ich bestätige mit meiner Unterschrift, dass ich das Ziel der Studie verstanden habe und mit meinem Kind ausreichend darüber gesprochen habe.

☐	Ich möchte über das Ergebnis meines Kindes (per Post, Email oder Anruf) informiert werden.

.....

Vor- und Nachname eines Elternteils/Erziehungsberechtigten in DRUCKBUCHSTABEN

.....	.....
Ort, Datum	**Unterschrift eines Elternteils/Erziehungsberechtigten**

.....

Vor und Nachname des Untersuchers in DRUCKBUCHSTABEN

.....	.....
Ort, Datum	**Unterschrift des Untersuchers**

EBERHARD KARLS
UNIVERSITÄT
TÜBINGEN

Universitätsklinikum
Tübingen

FORMULAR 3:

Information und Einwilligungserklärung zum Datenschutz

Information zum Umgang mit in einer Studie erhobenen Daten:

Im Rahmen der Studie **„Coro-Buddy – Längsschnittstudie zur Prävalenz von Antikörpern gegen SARS-CoV-2 in Tübinger Kindern"** werden personenbezogene Daten (Namen, Geburtstag, Adresse, Name kita/Kindergarten/Schule) erhoben und verarbeitet. Die Dokumentation Ihrer Daten und deren Archivierung erfolgt pseudonymisiert in einer geschützten elektronischen Datenbank, zu der nur befugte Mitarbeiterinnen und Mitarbeiter einschließlich auf das Berufs- und Datengeheimnis verpflichteter Doktorandinnen und Doktoranden Zutritt haben. Alle beteiligten Mitarbeiter unterliegen der Schweigepflicht. Die im Rahmen der Studie erhobenen Daten können auch für künftige Forschungsvorhaben der Klinik bzw. des Instituts genutzt und weiterverarbeitet werden.
Die Verarbeitung und Nutzung der pseudonymisierten Daten erfolgt auf Erhebungsbögen und elektronischen Datenträgern im Regelfall für die Dauer von 10 Jahren, soweit der Zweck der Studie, z. B. bei Einbringung in eine Datenbank und bei Langzeitstudien keine längere Speicherdauer erfordert.

Die im Verlauf dieser Studie gewonnenen Informationen können für wissenschaftliche Zwecke auch an Kooperationspartner im Geltungsbereich der Europäischen Datenschutz- Grundverordnung und an Kooperationspartner außerhalb des Europäischen Wirtschaftsraumes, d.h. in Länder mit geringerem Datenschutzniveau (dies gilt auch für die USA) übermittelt werden. Soweit Ihre Daten in Länder mit geringerem Datenschutzniveau übermittelt werden, wird der Verantwortliche alle erforderlichen Maßnahmen treffen, um das Datenschutzniveau zu gewährleisten. Sollte dies nicht möglich sein, werden Ihre Daten lediglich dann übermittelt, wenn Sie in die vorgeschlagene Datenübermittlung ausdrücklich einwilligen, nachdem Sie über die für Sie bestehenden möglichen Risiken einer derartigen Datenübermittlung unterrichtet wurden.

Die Forschungsergebnisse aus der Studie werden in anonymisierter Form in Fachzeitschriften oder in wissenschaftlichen Datenbanken veröffentlicht. Bei der Veröffentlichung der Forschungsergebnisse wird Ihre Identität nicht bekannt. Die Prüfärzte vor Ort können jedoch mit Hilfe einer Patientenliste bei Rückfragen die Daten zu Ihrer Person zurückführen.

Sie können jederzeit Auskunft über Ihre gespeicherten Daten anfordern sowie die Überlassung einer kostenlosen Kopie verlangen und haben das Recht, fehlerhafte Daten berichtigen zu lassen. Sie können auch jederzeit verlangen, dass Ihre Daten gelöscht oder anonymisiert werden, so dass ein Bezug zu Ihrer Person nicht mehr hergestellt werden kann. Diese Rechte sind nach § 13 des Landesdatenschutzanpassungsgesetzes bzw. § 27 des Bundesdatenschutzanpassungsgesetzes insoweit beschränkt, als diese Rechte voraussichtlich die Verwirklichung der jeweiligen Forschungszwecke unmöglich machen oder ernsthaft beeinträchtigen und die Beschränkung für die Erfüllung der jeweiligen Forschungszwecke notwendig ist. Das Recht auf Auskunft besteht darüber hinaus nicht, wenn die Daten für Zwecke der wissenschaftlichen Forschung erforderlich sind und die Auskunftserteilung einen unverhältnismäßigen Aufwand erfordern würde.

Der Studienleiter/die Studienleiterin ist für die Datenverarbeitung und die Einhaltung der gesetzlichen Datenschutzbestimmungen verantwortlich.

Bei Beschwerden können Sie sich an den Datenschutzbeauftragten des Universitätsklinikums Tübingen oder den Landesdatenschutzbeauftragten des Landes Baden-Württemberg wenden.

Annex 2

EBERHARD KARLS
UNIVERSITÄT
TÜBINGEN

Universitätsklinikum
Tübingen

FORMULAR 4:
Fragebogen zu:

Coro-Buddy – Längsschnittstudie zur Prävalenz von Antikörpern gegen SARS-CoV-2 in Tübinger Kindern

Studienteilnehmer ID: .....
(WIRD VOM STUDIENTEAM AUSGEFÜLLT)

BITTE ALLE GRAUEN FELDER AUSFÜLLEN!	
Vor- und Nachname des Kindes/Studienteilnehmers:	.....
Geburtsdatum:	.....
Name der Einrichtung:	.....
Datum der Befragung:	.....

Sehr geehrte Eltern, sehr geehrte Erziehungsberechtigte, sehr geehrte Studienteilnehmer,

unsere Erhebungen zur Abschätzung des Anteils der Kinder, die schon mit SARS-COV-2 infiziert waren, möchten wir gerne mit 6 Fragen bzw. Informationen zu potentiellen SARS-COV-2 Kontakten innerhalb eines Haushalts sowie zu Anzeichen möglicher durchlittener Infektionen bzw. Erkältungen ergänzen. Letzteres dient uns auch dazu, den Anteil potentieller falsch positiver Antikörper, verursacht durch Erkältungsviren, abzuschätzen.

Hierzu bitten wir Sie den Fragebogen anbei vollständig auszufüllen. Zur zeitlichen Aktualisierung der Informationen werden wir Ihnen diesen Fragenbogen auch nochmal zum zweiten und dritten Speichelsammeltermin zukommen lassen - mit der Bitte diesen dann erneut auszufüllen.

Alle Daten werden pseudonymisiert abgespeichert und vertraulich behandelt. Sehen Sie bitte auch die Informationen zum Umgang mit in einer Studie erhobenen Daten im Informationsformular.

Herzlichen Dank für Ihre Teilnahme und Ihre Unterstützung!

WICHTIG: **Die folgenden Fragen beziehen sich auf den Haushalt, in dem das Kind/der Studienteilnehmer überwiegend wohnt.**

EBERHARD KARLS
UNIVERSITÄT
TÜBINGEN

Universitätsklinikum
Tübingen

Studienteilnehmer ID:	.....	Datum der Befragung:	__.__./__ __ / __ __ __ __

1. **Wie viele Personen (inkl. Ihrem Kind/Studienteilnehmer) leben in Ihrem Haushalt ?**

   BITTE ANKREUZEN: 2: ☐ oder 3: ☐ oder 4: ☐ oder 5: ☐ oder 6: ☐ oder __: ☐

2. **Wie viele Personen sind in diesem Haushalt**

   a) erwachsen (≥18 Jahre alt): ___ *BITTE ANZAHL ANGEBEN*
   b) minderjährig (< 18 Jahre alt): ___ *BITTE ANZAHL ANGEBEN*

3. **Wurde Ihr Kind/der Studienteilnehmer in den letzten 6 Monaten positiv auf Corona (auch als SARS-COV-2 oder COVID-19 bezeichnet) getestet?**

   a) *BITTE ANKREUZEN:* Ja: ☐ oder Nein: ☐
   b) Falls JA: Können Sie bitte das (ungefähre) Datum angeben? __.__./__ __ / __ __ __ __

4. **Zeigte Ihr Kind/der Studienteilnehmer in den letzten 2 Monaten erkältungsartige Symptome?**

   a) *BITTE ANKREUZEN:* Ja: ☐ oder Nein: ☐
   b) Falls JA: *BITTE DAS (UNGEFÄHRE) DATUM ANGEBEN:* __.__./__ __ / __ __ __ __
   c) Falls JA: *BITTE ZUTREFFENDES ANKREUZEN:* Fieber (> 37,5°C):☐
      Halsschmerzen: ☐
      Husten: ☐
      Schnupfen: ☐
      Sonstiges ☐:_____

5. **Wurde in den letzten 6 Monaten sonst jemand aus Ihrem Haushalt positiv auf Corona (auch als SARS-COV-2 oder COVID-19 bezeichnet) getestet?**

   a) *BITTE ANKREUZEN:* Ja: ☐ oder Nein: ☐
   b) Falls JA: Erwachsene (≥18 Jahre alt): ___ *BITTE ANZAHL ANGEBEN*
      Minderjährige (< 18 Jahre alt): ___ *BITTE ANZAHL ANGEBEN*
   c) Können Sie bitte das (ungefähre) Datum angeben? __.__./__ __ / __ __ __ __

6. **Hatte jemand in den letzten 6 Monaten aus Ihrem Haushalt starken Geschmacks und/oder Riechverlust?**

   a) *BITTE ANKREUZEN:* Ja: ☐ oder Nein: ☐
   b) Falls JA: Erwachsene (≥18 Jahre alt): ___ *BITTE ANZAHL ANGEBEN*
      Minderjährige (< 18 Jahre alt): ___ *BITTE ANZAHL ANGEBEN*
   c) Können Sie bitte das (ungefähre) Datum angeben? __.__./__ __ / __ __ __ __

Annex 3

Monat	0-1 Jahre	1 Jahr	2 Jahre	3 Jahre	4 Jahre	5 Jahre	6 Jahre	7 Jahre	8 Jahre	9 Jahre	10 Jahre	11 Jahre	12 Jahre	13 Jahre	14 Jahre	15 Jahre	16 Jahre	17 Jahre	18 Jahre
März 20	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
Apr 20	0	0	0	0	0	1	1	1	1	0	0	2	0	1	1	0	1	1	0
Mai 20	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Juni 20	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Juli 20	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Aug 20	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	1	0	0	0	0
Sep 20	1	0	2	0	1	3	0	1	1	1	0	0	1	0	1	0	1	0	1
Oktober 20	0	3	2	0	2	2	1	1	1	1	3	2	3	1	6	1	2	3	2
01. Nov 20	0	1	3	1	1	2	3	2	2	2	3	4	1	1	2	2	2	0	1
Dezember 20	0	2	1	3	4	4	4	6	3	2	1	5	5	4	3	6	3	5	8
Jan 21	0	0	1	3	1	1	0	2	0	1	0	0	0	2	0	1	0	0	2
01. Feb	0	0	0	1	0	0	1	1	3	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0
März 21	2	3	6	4	1	3	2	0	2	1	2	1	2	1	1	3	8	7	0
Apr 21	3	3	4	5	6	3	2	5	5	4	3	3	3	4	6	3	4	6	9
Mai 21	0	0	2	3	0	2	2	1	1	2	2	0	4	1	1	1	3	0	3
Juni 21	0	0	0	0	1	1	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1
	6	12	21	20	17	23	17	22	19	17	17	15	19	22	17	24	25	27	41
																		Gesamt:	381

Literaturverzeichnis

Onlineliteratur

Bundesgesundheitsministerium. (2023). *Coronavirus-Pandemie: Was geschah wann?* Retrieved 25.11.2023 from https://www.bundesgesundheitsministerium.de/coronavirus/chronik-coronavirus

Bundesregierung. (2023). *Corona-Schutzmaßnahmen sind ausgelaufen*. Retrieved 25.11.2023 from https://www.bundesregierung.de/breg-de/themen/coronavirus/ende-corona-massnahmen-2068856

Corona-Pandemieradar. (2023). *Die aktuelle Situation akuter Atemwegserkrankungen in Deutschland*. Retrieved 25.11.2023 from https://corona-pandemieradar.de/de/inzidenz

Infektionsschutz. (2022). *Infektion mit dem Coronavirus: Symptome und Krankheitsverlauf*. Retrieved 20.11.2022 from https://www.infektionsschutz.de/coronavirus/basisinformationen/symptome-und-krankheitsverlauf/

Land Baden-Württemberg. (2021). *Modellprojekt "Öffnen mit Sicherheit" startet in Tübingen*. Retrieved 29.12.2023 from https://www.baden-wuerttemberg.de/de/service/presse/pressemitteilung/pid/modellprojekt-oeffnen-mit-sicherheit-startet-in-tuebingen/

Paul-Ehrlich-Institut. (2020). *Europäische Kommission erteilt Zulassung des COVID-19-Impfstoffs von BioNTech/Pfizer für die Europäische Union*. Retrieved 20.06.2024 from https://www.pei.de/DE/newsroom/hp-meldungen/2020/201221-europaeische-kommission-erteilt-zulassung-covid-19-impfstoff-biontech-pfizer-eu.html#:~:text=Newsroom-,Europ%C3%A4ische%20Kommission%20erteilt%20Zulassung%20des%20COVID%2D19%2DImpfstoffs%20von%20BioNTech,der%20Unternehmen%20BioNTech%2FPfizer%20erteilt.

Paul-Ehrlich-Institut. (2021). *Beginn des Bewertungsverfahren zur Zulassungserweiterung des COVID-19-Impfstoffs Comirnaty für Kinder ab 5 Jahren*. Retrieved 04.12.2024 from https://www.pei.de/DE/newsroom/hp-meldungen/2021/211020-ema-beginn-bewertung-zulassungserweitung-comirnaty-kinder-ab-5.html

Paul-Ehrlich-Institut. (2024). *SARS-CoV-2-Testsysteme*. https://www.pei.de/DE/newsroom/dossier/coronavirus/testsysteme.html

Robert-Koch-Institut. (2022a). *Monitoring des COVID-19-Impfgeschehens in Deutschland, Monatsbericht des RKI vom 03.11.2022*. Retrieved 03.11.2022 from https://www.rki.de/DE/Content/Infekt/Impfen/ImpfungenAZ/COVID-19/Monatsberichte/2022-11-03.pdf?__blob=publicationFile

Robert-Koch-Institut. (2022b). *STAKOB: Hinweise zu Erkennung, Diagnostik und Therapie von Patienten mit COVID-19*. Retrieved 06.04.2022 from https://www.rki.de/DE/Content/Kommissionen/Stakob/Stellungnahmen/Stellungnahme-Covid-19_Therapie_Diagnose.html

Robert-Koch-Institut. (2024). *Wochenberichte zu COVID-19*. Retrieved 10.06.2024 from https://www.rki.de/DE/Content/InfAZ/N/Neuartiges_Coronavirus/Situationsberichte/Wochenbericht/Wochenberichte_Tab.html?nn=13490888

WHO. (2020). *WHO Director-General's opening remarks at the media briefing on COVID-19 - 11 March 2020*. Retrieved 25.11.2023 from https://www.who.int/director-general/speeches/detail/who-director-general-s-opening-remarks-at-the-media-briefing-on-covid-19---11-march-2020

WHO. (2023). *Weekly epidemiological update on COVID-19 - 27 April 2023*. Retrieved 01.05.2023 from https://www.who.int/publications/m/item/weekly-epidemiological-update-on-covid-19---27-april-2023

WHO. (2024a). *Coronavirus disease (COVID-19) pandemic*. Retrieved 20.06.2024 from https://www.who.int/europe/emergencies/situations/covid-19

WHO. (2024b). *COVID-19 epidemiological update – 17 June 2024*. Retrieved 20.06.2024 from https://www.who.int/publications/m/item/covid-19-epidemiological-update-edition-168

WHO. (2024c, 02.06.2024). *WHO COVID-19 dashboard*. Retrieved 20.06.2024 from https://data.who.int/dashboards/covid19/cases?n=c

Artikel

Armann, J. P., Kirsten, C., Galow, L., Kahre, E., Haag, L., Dalpke, A., Luck, C., & Berner, R. (2021). SARS-CoV-2 transmissions in students and teachers: seroprevalence follow-up study in a German secondary school in November and December 2020. *BMJ Paediatr Open*, *5*(1), e001036. https://doi.org/10.1136/bmjpo-2021-001036

Ayittey, F. K., Chiwero, N. B., Dhar, B. K., Tettey, E. L., & Saptoro, A. (2021). Epidemiology, clinical characteristics and treatment of SARS-CoV-2 infection in children: A narrative review. *Int J Clin Pract*, *75*(12), e15012. https://doi.org/10.1111/ijcp.15012

Aziz, N. A., Corman, V. M., Echterhoff, A. K. C., Muller, M. A., Richter, A., Schmandke, A., Schmidt, M. L., Schmidt, T. H., de Vries, F. M., Drosten, C., & Breteler, M. M. B. (2021). Seroprevalence and correlates of SARS-CoV-2 neutralizing antibodies from a population-based study in Bonn, Germany. *Nat Commun*, *12*(1), 2117. https://doi.org/10.1038/s41467-021-22351-5

Bhuiyan, M. U., Stiboy, E., Hassan, M. Z., Chan, M., Islam, M. S., Haider, N., Jaffe, A., & Homaira, N. (2021). Epidemiology of COVID-19 infection in young children under five years: A systematic review and meta-analysis. *Vaccine*, *39*(4), 667-677. https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2020.11.078

Bi, Q., Wu, Y., Mei, S., Ye, C., Zou, X., Zhang, Z., Liu, X., Wei, L., Truelove, S. A., Zhang, T., Gao, W., Cheng, C., Tang, X., Wu, X., Wu, Y., Sun, B., Huang, S., Sun, Y., Zhang, J., . . . Feng, T. (2020). Epidemiology and transmission of COVID-19 in 391 cases and 1286 of their close contacts in Shenzhen, China: a retrospective cohort study. *Lancet Infect Dis*, *20*(8), 911-919. https://doi.org/10.1016/S1473-3099(20)30287-5

Borch, L., Holm, M., Knudsen, M., Ellermann-Eriksen, S., & Hagstroem, S. (2022). Long COVID symptoms and duration in SARS-CoV-2 positive children - a nationwide cohort study. *Eur J Pediatr*. https://doi.org/10.1007/s00431-021-04345-z

Brodin, P. (2020). Why is COVID-19 so mild in children? *Acta Paediatr*, *109*(6), 1082-1083. https://doi.org/10.1111/apa.15271

Byambasuren, O., Cardona, M., Bell, K., Clark, J., McLaws, M. L., & Glasziou, P. (2020). Estimating the extent of asymptomatic COVID-19 and its potential for community transmission: Systematic review and meta-analysis. *J Assoc Med Microbiol Infect Dis Can*, *5*(4), 223-234. https://doi.org/10.3138/jammi-2020-0030

Cao, Q., Chen, Y. C., Chen, C. L., & Chiu, C. H. (2020). SARS-CoV-2 infection in children: Transmission dynamics and clinical characteristics. *J Formos Med Assoc*, *119*(3), 670-673. https://doi.org/10.1016/j.jfma.2020.02.009

Chen, Z. M., Fu, J. F., Shu, Q., Chen, Y. H., Hua, C. Z., Li, F. B., Lin, R., Tang, L. F., Wang, T. L., Wang, W., Wang, Y. S., Xu, W. Z., Yang, Z. H., Ye, S., Yuan, T. M., Zhang, C. M., & Zhang, Y. Y. (2020). Diagnosis and treatment recommendations for pediatric respiratory infection caused by the 2019 novel coronavirus. *World J Pediatr*, *16*(3), 240-246. https://doi.org/10.1007/s12519-020-00345-5

Cui, S. J., Zhang, Y., Gao, W. J., Wang, X. L., Yang, P., Wang, Q. Y., Pang, X. H., Zeng, X. P., & Li, L. M. (2022). Symptomatic and Asymptomatic SARS-CoV-2 Infection and Follow-up of Neutralizing Antibody Levels. *Biomed Environ Sci*, *35*(12), 1100-1105. https://doi.org/10.3967/bes2022.139

Devi, M. J., Gaffar, S., & Hartati, Y. W. (2022). A review post-vaccination SARS-CoV-2 serological test: Method and antibody titer response. *Anal Biochem*, *658*, 114902. https://doi.org/10.1016/j.ab.2022.114902

Dobano, C., Alonso, S., Fernandez de Sevilla, M., Vidal, M., Jimenez, A., Pons Tomas, G., Jairoce, C., Mele Casas, M., Rubio, R., Hernandez Garcia, M., Ruiz-Olalla, G., Girona-Alarcon, M., Barrios, D., Santano, R., Mitchell, R. A., Puyol, L., Mayer, L., Chi, J., Rodrigo Melero, N., . . . Jordan, I. (2021). Antibody conversion rates to SARS-CoV-2 in saliva from children attending summer schools in Barcelona, Spain. *BMC Med*, *19*(1), 309. https://doi.org/10.1186/s12916-021-02184-1

Epaulard, O., Buisson, M., Nemoz, B., Marechal, M. L., Terzi, N., Payen, J. F., Froidure, M., Blanc, M., Mounayar, A. L., Quenard, F., Pierre, I., Pavese, P., Germi, R., Grossi, L., Larrat, S., Poignard, P., & Lupo, J. (2022). Persistence at one year of neutralizing antibodies after SARS-CoV-2 infection: Influence of initial severity and steroid use. *J Infect*, *84*(3), 418-467. https://doi.org/10.1016/j.jinf.2021.10.009

Fiedler, J., Moritz, C. P., Feth, S., Speckert, M., Dressler, K., & Schobel, A. (2021). [A mathematical model to estimate the number of unreported SARS-CoV-2 infections in the early phase of the pandemic using Germany and Italy as examples]. *Bundesgesundheitsblatt Gesundheitsforschung Gesundheitsschutz*, *64*(9), 1067-1075. https://doi.org/10.1007/s00103-021-03384-z (Ein mathematisches Modell

zur Schatzung der Dunkelziffer von SARS-CoV-2-Infektionen in der Fruhphase der Pandemie am Beispiel Deutschland und Italien.)

Heinzel, C., Pinilla, Y. T., Elsner, K., Friessinger, E., Mordmuller, B., Kremsner, P. G., Held, J., Fendel, R., & Kreidenweiss, A. (2021). Non-Invasive Antibody Assessment in Saliva to Determine SARS-CoV-2 Exposure in Young Children. *Front Immunol*, *12*, 753435. https://doi.org/10.3389/fimmu.2021.753435

Isho, B., Abe, K. T., Zuo, M., Jamal, A. J., Rathod, B., Wang, J. H., Li, Z., Chao, G., Rojas, O. L., Bang, Y. M., Pu, A., Christie-Holmes, N., Gervais, C., Ceccarelli, D., Samavarchi-Tehrani, P., Guvenc, F., Budylowski, P., Li, A., Paterson, A., . . . Gingras, A. C. (2020). Persistence of serum and saliva antibody responses to SARS-CoV-2 spike antigens in COVID-19 patients. *Sci Immunol*, *5*(52). https://doi.org/10.1126/sciimmunol.abe5511

Jank, M., Oechsle, A. L., Armann, J., Behrends, U., Berner, R., Chao, C. M., Diffloth, N., Doenhardt, M., Hansen, G., Hufnagel, M., Lander, F., Liese, J. G., Muntau, A. C., Niehues, T., von Both, U., Verjans, E., Weil, K., von Kries, R., & Schroten, H. (2023). Comparing SARS-CoV-2 variants among children and adolescents in Germany: relative risk of COVID-19-related hospitalization, ICU admission and mortality. *Infection*, *51*(5), 1357-1367. https://doi.org/10.1007/s15010-023-01996-y

Jones, T. C., Mühlemann, B., Veith, T., Biele, G., Zuchowski, M., Hofmann, J., Stein, A., Edelmann, A., Corman, V. M., & Drosten, C. (2020). An analysis of SARS-CoV-2 viral load by patient age. *Scienc*. https://doi.org/10.1101/2020.06.08.20125484

Kern, A., Diebenbusch, J., Berner, R., Krägeloh-Mann, I., De Bock, F., Renz-Polster, H., & Hübner, J. (2021). [What role do children in school and kindergarten settings play in transmitting SARS-CoV-2? An evidence-based perspective]. *Bundesgesundheitsblatt Gesundheitsforschung Gesundheitsschutz*, *64*(12), 1492-1499. https://doi.org/10.1007/s00103-021-03454-2 (Welche Rolle spielen Kinder in Schulen und Kindertagesstätten bei der Übertragung von SARS-CoV-2? – Eine evidenzbasierte Perspektive.)

Keuning, M. W., Grobben, M., de Groen, A. C., Berman-de Jong, E. P., Bijlsma, M. W., Cohen, S., Felderhof, M., de Groof, F., Molanus, D., Oeij, N., Rijpert, M., van Eijk, H. W. M., Koen, G., van der Straten, K., Oomen, M., Visser, R., Linty, F., Steenhuis, M., Vidarsson, G., . . . Pajkrt, D. (2021). Saliva SARS-CoV-2 Antibody Prevalence in Children. *Microbiol Spectr*, *9*(2), e0073121. https://doi.org/10.1128/Spectrum.00731-21

Khan, T., Rahman, M., Ali, F. A., Huang, S. S. Y., Ata, M., Zhang, Q., Bastard, P., Liu, Z., Jouanguy, E., Beziat, V., Cobat, A., Nasrallah, G. K., Yassine, H. M., Smatti, M. K., Saeed, A., Vandernoot, I., Goffard, J. C., Smits, G., Migeotte, I., . . . Marr, N. (2021). Distinct antibody repertoires against endemic human coronaviruses in children and adults. *JCI Insight*, *6*(4). https://doi.org/10.1172/jci.insight.144499

Koppe, U., Wilking, H., Harder, T., Haas, W., Rexroth, U., & Hamouda, O. (2021). [COVID-19 patients in Germany: exposure risks and associated factors for hospitalization and severe disease]. *Bundesgesundheitsblatt Gesundheitsforschung Gesundheitsschutz*, *64*(9), 1107-1115.

https://doi.org/10.1007/s00103-021-03391-0 (COVID-19-Patientinnen und -Patienten in Deutschland: Expositionsrisiken und assoziierte Faktoren fur Hospitalisierungen und schwere Krankheitsverlaufe.)
Levelu, A. S., A. (2022). A lockdown a day keeps the doctor away: The effectiveness of non-pharmaceutical interventions during the Covid-19 pandemic. *Kiel Working Papers*.
Levy, M., Lestrade, V., Said, C., Jouvet, P., & Kawaguchi, A. (2022). Consequences of Social Distancing Measures During the COVID-19 Pandemic First Wave on the Epidemiology of Children Admitted to Pediatric Emergency Departments and Pediatric Intensive Care Units: A Systematic Review. *Front Pediatr*, *10*, 874045. https://doi.org/10.3389/fped.2022.874045
Li, J., Jia, H., Tian, M., Wu, N., Yang, X., Qi, J., Ren, W., Li, F., & Bian, H. (2022). SARS-CoV-2 and Emerging Variants: Unmasking Structure, Function, Infection, and Immune Escape Mechanisms. *Front Cell Infect Microbiol*, *12*, 869832. https://doi.org/10.3389/fcimb.2022.869832
Loss, J., Wurm, J., Varnaccia, G., Schienkiewitz, A., Iwanowski, H., Loer, A. M., Allen, J., Wess, B., Schaffrath Rosario, A., Damerow, S., Kuttig, T., Perlitz, H., Hornbacher, A., Finkel, B., Krause, C., Wormsbacher, J., Sandoni, A., Kubisch, U., Eggers, K., . . . Jordan, S. (2022). Transmission of SARS-CoV-2 among children and staff in German daycare centres. *Epidemiol Infect*, *150*, e141. https://doi.org/10.1017/S0950268822001194
Lu, J. Z., Y. ; Shen; Xu; Wong. (2020). SARS-CoV-2 Infection in Children. *N Engl J Med*. https://doi.org/DOI: 10.1056
Melton, A., Rowe, L. A., Penney, T., Krzykwa, C., Goff, K., Scheuermann, S., Melton, H. J., Williams, K., Golden, N., Green, K. M., Smith, B., Russell-Lodrigue, K., Dufour, J. P., Doyle-Meyers, L. A., Schiro, F., Aye, P. P., Lifson, J. D., Beddingfield, B. J., Blair, R. V., . . . Maness, N. J. (2023). The Impact of SIV-Induced Immunodeficiency on Clinical Manifestation, Immune Response, and Viral Dynamics in SARS-CoV-2 Coinfection. *bioRxiv*. https://doi.org/10.1101/2023.11.15.567132
Naeimi, R., Sepidarkish, M., Mollalo, A., Parsa, H., Mahjour, S., Safarpour, F., Almukhtar, M., Mechaal, A., Chemaitelly, H., Sartip, B., Marhoommirzabak, E., Ardekani, A., Hotez, P. J., Gasser, R. B., & Rostami, A. (2023). SARS-CoV-2 seroprevalence in children worldwide: A systematic review and meta-analysis. *EClinicalMedicine*, *56*, 101786. https://doi.org/10.1016/j.eclinm.2022.101786
Neuhauser, H., Buttmann-Schweiger, N, Ellert, U,, Fiebig, J., Hövener C, Offergeld R, Prütz F, Sarganas G,, Schaade L, S. R. A., Thamm R,, & Zimmermann M, P.-M. C. (2021). Seroepidemiologische Studien zu SARS-CoV-2 in Stichproben der Allgemeinbevölkerung und bei Blutspenderinnen und Blutspendern in Deutschland – Ergebnisse bis August 2021 *Epid Bull*, *37*, 3-12. https://doi.org/DOI 10.25646/8999
Noh, H. E., & Rha, M. S. (2024). Mucosal Immunity against SARS-CoV-2 in the Respiratory Tract. *Pathogens*, *13*(2). https://doi.org/10.3390/pathogens13020113

Nokes, D. J., Enquselassie, F., Nigatu, W., Vyse, A. J., Cohen, B. J., Brown, D. W., & Cutts, F. T. (2001). Has oral fluid the potential to replace serum for the evaluation of population immunity levels? A study of measles, rubella and hepatitis B in rural Ethiopia. *Bull World Health Organ*, *79*(7), 588-595. https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11477961

https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2566463/pdf/11477961.pdf

Okba, N. M., M.; Li, W.; Wang; C.; GeurtsvanKessel, C.; Corman,V.; Lamers, M.; Sikkema, R. (2020). Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2−Specific Antibody Responses in Coronavirus Disease 2019 Patients. *Center for Disease Control and Prevention*, *26*.

Parums, D. V. (2022). Editorial: World Health Organization (WHO) Variants of Concern Lineages Under Monitoring (VOC-LUM) in Response to the Global Spread of Lineages and Sublineages of Omicron, or B.1.1.529, SARS-CoV-2. *Med Sci Monit*, *28*, e937676. https://doi.org/10.12659/MSM.937676

Peng, Y., Zhou, A., Liao, X., Deng, D., Huang, P., Liu, W., Jiang, M., Xiang, X., Shuang, Q., Cai, S., Chen, P., & Liao, X. (2020). https://doi.org/10.21203/rs.3.rs-23684/v1

Pinilla, Y. T., Friessinger, E., Griesbaum, J. M., Berner, L., Heinzel, C., Elsner, K., Fendel, R., Held, J., & Kreidenweiss, A. (2021). Prevalence of SARS-CoV-2 Infection in Children by Antibody Detection in Saliva: Protocol for a Prospective Longitudinal Study (Coro-Buddy). *JMIR Res Protoc*, *10*(10), e27739. https://doi.org/10.2196/27739

Pinilla, Y. T., Heinzel, C., Caminada, L. F., Consolaro, D., Esen, M., Kremsner, P. G., Held, J., Kreidenweiss, A., & Fendel, R. (2021). SARS-CoV-2 Antibodies Are Persisting in Saliva for More Than 15 Months After Infection and Become Strongly Boosted After Vaccination. *Front Immunol*, *12*, 798859. https://doi.org/10.3389/fimmu.2021.798859

Puhach, O., Bellon, M., Adea, K., Bekliz, M., Hosszu-Fellous, K., Sattonnet, P., Hulo, N., Kaiser, L., Eckerle, I., & Meyer, B. (2023). SARS-CoV-2 convalescence and hybrid immunity elicits mucosal immune responses. *EBioMedicine*, *98*, 104893. https://doi.org/10.1016/j.ebiom.2023.104893

Rotevatn, T. A., Elstrom, P., Greve-Isdahl, M., Suren, P., Johansen, T. K. B., & Astrup, E. (2022). School Closure Versus Targeted Control Measures for SARS-CoV-2 Infection. *Pediatrics*, *149*(5). https://doi.org/10.1542/peds.2021-055071

Salzberger, B., Buder, F., Lampl, B. T., Ehrenstein, B., Hitzenbichler, F., Holzmann, T., Schmidt, B., & Hanses, F. (2020). [Epidemiology of SARS-CoV-2/COVID-19]. *Gastroenterologe*, *15*(6), 443-451. https://doi.org/10.1007/s11377-020-00479-y (Epidemiologie von SARS-CoV-2/COVID 19: Aktueller Stand.)

Schilling, J., Buda, S., & Tolksdorf, K. (2022). Zweite Aktualisierung der „Retrospektiven Phaseneinteilung der COVID-19- Pandemie in Deutschland“. *Epidemiologisches Bulletin*. https://doi.org/10.25646/9787

Schilling, J., Lehfeld, A., Schumacher, D., Ullrich, A. (2020). Krankheitsschwere der ersten COVID-19-Welle in Deutschland basierend auf den Meldungen gemäß Infektionsschutzgesetz. *Journal of Health Monitoring*, *5*, 11. https://doi.org/10.25646/7169

Schilling, J., Tolksdorf, K., Marquis, A., Faber, M., Pfoch, T., Buda, S., Haas, W., Schuler, E., Altmann, D., Grote, U., Diercke, M., & Group, R. C.-S. (2021). [The different periods of COVID-19 in Germany: a descriptive analysis from January 2020 to February 2021]. *Bundesgesundheitsblatt Gesundheitsforschung Gesundheitsschutz*, *64*(9), 1093-1106. https://doi.org/10.1007/s00103-021-03394-x (Die verschiedenen Phasen der COVID-19-Pandemie in Deutschland: Eine deskriptive Analyse von Januar 2020 bis Februar 2021.)

Schlickeiser, S., Schwarz, T., Steiner, S., Wittke, K., Al Besher, N., Meyer, O., Kalus, U., Pruss, A., Kurth, F., Zoller, T., Witzenrath, M., Sander, L. E., Muller, M. A., Scheibenbogen, C., Volk, H. D., Drosten, C., Corman, V. M., & Hanitsch, L. G. (2020). Disease Severity, Fever, Age, and Sex Correlate With SARS-CoV-2 Neutralizing Antibody Responses. *Front Immunol*, *11*, 628971. https://doi.org/10.3389/fimmu.2020.628971

Shankar, L. G., Habich, M., Rosenman, M., Arzu, J., Lales, G., & Hoffmann, J. A. (2022). Mental Health Emergency Department Visits by Children Before and During the COVID-19 Pandemic. *Acad Pediatr*. https://doi.org/10.1016/j.acap.2022.05.022

Sorg, A. L., Bergfeld, L., Jank, M., Corman, V., Semmler, I., Goertz, A., Beyerlein, A., Verjans, E., Wagner, N., Von Bernuth, H., Lander, F., Weil, K., Hufnagel, M., Spiekerkoetter, U., Chao, C. M., Naehrlich, L., Muntau, A. C., Schulze-Sturm, U., Hansen, G., . . . Schroten, H. (2022). Cross-sectional seroprevalence surveys of SARS-CoV-2 antibodies in children in Germany, June 2020 to May 2021. *Nat Commun*, *13*(1), 3128. https://doi.org/10.1038/s41467-022-30482-6

Sugiyama, A., Okada, F., Abe, K., Imada, H., Ouoba, S., E, B., Hussain, M. R. A., Ohisa, M., Ko, K., Nagashima, S., Akita, T., Yamazaki, S., Yokozaki, M., Kishita, E., & Tanaka, J. (2022). A longitudinal study of anti-SARS-CoV-2 antibody seroprevalence in a random sample of the general population in Hiroshima in 2020. *Environ Health Prev Med*, *27*(0), 30. https://doi.org/10.1265/ehpm.22-00016

Takahashi, T., Ai, T., Saito, K., Nojiri, S., Takahashi, M., Igawa, G., Yamamoto, T., Khasawneh, A., Paran, F. J., Takei, S., Horiuchi, Y., Kanno, T., Tobiume, M., Hiki, M., Wakita, M., Miida, T., Okuzawa, A., Suzuki, T., Takahashi, K., . . . Tabe, Y. (2023). Assessment of antibody dynamics and neutralizing activity using serological assay after SARS-CoV-2 infection and vaccination. *PLoS One*, *18*(9), e0291670. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0291670

Tolksdorf, J. L., A.; Buda, S. (2022). Dritte Aktualisierung der „Retrospektiven Phaseneinteilung der COVID-19-Pandemie in Deutschland“. *Epid Bull*, *38*.

Tolksdorf, K., Buda, S., & Schilling, J. (2021). Aktualisierung zur „Retrospektiven Phaseneinteilung der COVID-19 Pandemie in Deutschland“. *Epidemiologisches Bulletin*. https://doi.org/10.25646/8961

Weng, C. H., Butt, W. W. W., Brooks, M. B., Clarke, C., Jenkins, H. E., Holland, S. D., & Chiang, S. S. (2021). Diagnostic value of symptoms for pediatric SARS-CoV-2 infection in a primary care setting. *PLoS One*, *16*(12), e0249980. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0249980

Wimmers, F., Burrell, A. R., Feng, Y., Zheng, H., Arunachalam, P. S., Hu, M., Spranger, S., Nyhoff, L. E., Joshi, D., Trisal, M., Awasthi, M., Bellusci, L., Ashraf, U., Kowli, S., Konvinse, K. C., Yang, E., Blanco, M., Pellegrini, K., Tharp, G., . . . Pulendran, B. (2023). Multi-omics analysis of mucosal and systemic immunity to SARS-CoV-2 after birth. *Cell*, *186*(21), 4632-4651 e4623. https://doi.org/10.1016/j.cell.2023.08.044

Yorsaeng, R., Atsawawaranunt, K., Suntronwong, N., Kanokudom, S., Chansaenroj, J., Assawakosri, S., Nilyanimit, P., Aeemjinda, R., Khanarat, N., Wongsrisang, L., Auphimai, C., Vichaiwattana, P., Klinfueng, S., Thongmee, T., Srimuan, D., Thatsanathorn, T., Sudhinaraset, N., Wanlapakorn, N., & Poovorawan, Y. (2023). SARS-CoV-2 Antibody Dynamics after COVID-19 Vaccination and Infection: A Real-World Cross-Sectional Analysis. *Vaccines (Basel)*, *11*(7). https://doi.org/10.3390/vaccines11071184

Zhang, J., Litvinova, M., Liang, Y., Wang, Y., Wang, W., Zhao, S., Wu, Q., Merler, S., Viboud, C., Vespignani, A., Ajelli, M., & Yu, H. (2020). Changes in contact patterns shape the dynamics of the COVID-19 outbreak in China. *Science*, *368*(6498), 1481-1486. https://doi.org/10.1126/science.abb8001

Erklärung zum Eigenanteil

Die Arbeit wurde im Institut für Tropenmedizin, Reisemedizin und Humanparasitologie unter Betreuung von PD Dr. Andrea Kreidenweiss durchgeführt.

Die Konzeption der Studie erfolgte durch PD Dr. Andrea Kreidenweiss, PD Dr. Jana Held und Dr. Rolf Fendel.

Mein Anteil an der Studie bestand in der Betreuung der Studienprobanden und der Probengewinnung des dritten Studienzeitpunktes, die ich maßgeblich durchgeführt habe. Unterstützung bekam ich vom Studienteam, allen voran Dr. Yudi Tatiana Röckl-Pinilla und Constanze Heinzel. Dabei habe ich mit den Einrichtungen und ggf. mit einzelnen Probanden kommuniziert, die Befragung und Beprobung durchgeführt, und die Besuche in den Einrichtungen vor- und nachbereitet, inklusive teilweise Proben aufbereitet.

Die Analysen im Labor wurden von Dr. Yudi Tatiana Röckl-Pinilla, Constanze Heinzel und unterstützenden weiteren Mitarbeitern des Instituts durchgeführt.

Für die Doktorarbeit habe ich die Ergebnisse selbständig zusammengestellt. Die Auswertung und Interpretation erfolgte größtenteils selbstständig durch mich, mit Unterstützung durch Dr. Yudi Tatiana Röckl-Pinilla und Douglas Consolaro.

Teile meiner Arbeit sind Bestandteil der unten genannten Publikation.

Ich versichere, das Manuskript selbständig verfasst zu haben und keine weiteren als die von mir angegebenen Quellen verwendet zu haben.

Idstein, den 13.01.2025

Lena-Fabienne Caminada

Veröffentlichung

Teile dieser Dissertationsschrift wurden schon in folgender Publikation veröffentlicht.

Pinilla, Y. T., Heinzel, C., Caminada, L. F., Consolaro, D., Esen, M., Kremsner, P. G., Held, J., Kreidenweiss, A., & Fendel, R. (2021). SARS-CoV-2 Antibodies Are Persisting in Saliva for More Than 15 Months After Infection and Become Strongly Boosted After Vaccination. *Front Immunol*, *12*, 798859. https://doi.org/10.3389/fimmu.2021.798859

Danksagung

Ich möchte dem ganzen Team der Coro-Buddy-Studie danken. Mir hat die Zusammenarbeit mit euch wirklich viel Freude bereitet. Wann immer ich eine Frage hatte, konnte ich auf euch zukommen und mir wurde geholfen. Besonderen Dank möchte ich Tatiana, Conny und Andrea für die gute Betreuung und Hilfestellung in verschiedenen Phasen des Projektes aussprechen.