Aus dem

Institut für Virologie,

Universitätsklinikum des Saarlandes, Homburg/Saar

Direktorin: Prof. Dr. med. Sigrun Smola

Saarlandweite Coronavirus-Antikörper-Prävalenzstudie

Dissertation zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin

der Medizinischen Fakultät

der UNIVERSITÄT DES SAARLANDES

2024

vorgelegt von:

Paul Andreas Lagemann

geb. am 09.12.1997 in Saarbrücken

Tag der Promotion: 22.04.2025

Dekan: Prof. Dr. M.D. Menger

1. Berichterstatter: Prof. Dr. med. Sigrun Smola

2. Berichterstatter: Prof. Dr. Robert Bals

Widmung

Diese Doktorarbeit widme ich Don Giovanni und Franz Josef.

Inhaltsverzeichnis

ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS I

1 ZUSAMMENFASSUNG 3

1.1 Deutsche Zusammenfassung 3

1.2 Summary 3

2 EINLEITUNG 5

2.1 Coronaviren - SARS-CoV-2 5

2.2 Struktur von Coronaviren - SARS-CoV-2 6

2.3 COVID19: Krankheitsverlauf und Symptomatik, ... 7

2.4 Antikörpertests 9

2.5 SARS-CoV-2 Seroprävalenzstudien 10

2.6 Ziel der Arbeit und Fragestellung 12

3 MATERIAL UND METHODE 13

3.1 Studienaufbau und Ablauf 13

3.1.1 Berechnung der nötigen Studiengröße 13

3.1.2 Fragebogen 14

3.1.3 Blutentnahme 14

3.1.4 Studienzeitraum 16

3.1.5 Rückmeldung an Studienteilnehmer 17

3.2 SARS-CoV-2 Antikörpertests und Validierung 18

3.2.1 Anti-SARS-CoV-2-ELISA 19

3.2.2 SARS-CoV-2 IgG 21

3.2.3 Elecsys Anti-SARS-CoV-2 ... 22

3.2.4 Multiplex SARS-CoV-2 Immunoassay ... 23

3.3 Statistische Analyse ... 25

4 ERGEBNISSE ... 27

4.1 Auswahl und Durchführung der Antikörpertests ... 27

4.2 Langzeit-Performance der SARS-CoV-2-Antikörpertests ... 29

4.3 Auswahl der repräsentativen Studienpopulation im Saarland ... 32

4.4 Fallbezogene Fatalitätsrate während der 1. Pandemiewelle ... 33

4.5 SARS-CoV-2-Seroprävalenz bei Erwachsenen ... 34

4.6 Untererfassungsrate und Infektions-Sterbe-Rate bei Erwachsenen ... 35

4.7 Infektionssymptome ... 37

4.8 MultiCoV-Ab ... 39

5 DISKUSSION ... 58

5.1 MultiCoV-Ab ... 58

5.2 Schlussfolgerung ... 61

6 BIBLIOGRAPHIE ... 63

7 TABELLENVERZEICHNIS ... 84

8 ABBILDUNGSVERZEICHNIS ... 85

9 PUBLIKATION UND DANKSAGUNG ... 86

9.1 Publikation ... 86

9.2 Danksagung ... 86

10 LEBENSLAUF 88

11 EIDESSTATTLICHE VERSICHERUNG 90

Abkürzungsverzeichnis

Abbott-IgG	Test zum Nachweis von Antikörpern gegen das severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 des Herstellers Abbott
CFR	fallbezogene Fatalitätsrate
CMIA	Chemilumineszenz-Mikropartikel Immunoassay
COVID-19	Coronavirus Disease 2019
ECLIA	Elektrochemilumineszenz Immunoassay
ELISA	Enzyme-linked Immunosorbentassay
et al.	et alii
Euroimmun-IgG	Test zum Nachweis von Antikörpern gegen das severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 des Herstellers Euroimmun
hCoV	humane Coronavirus
IFR	Infektions-Sterbe-Rate
KI	Konfidenzintervall
KVS	Kassenärztliche Vereinigung des Saarlandes
MSGFF	Ministerium für Soziales, Gesundheit, Frauen und Familie
MultiCoV-Ab	Multiplex Coronaviren Immunoassay
N	Nukleokapsid
NCP	Nukleokapsid Protein
NFI	normalisierte Fluoreszenzintensität
N-NTD	Nukleokapsid N-terminale Domäne
OD	Optische Dichte
PEI	Paul-Ehrlich-Institut
PEI-IVD	Paul-Ehrlich-Institut Prüflabors für In-vitro-Diagnostik
RBD	Rezeptor-Bindungsdomäne

Roche-Ig	Test zum Nachweis von Antikörpern gegen das severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 des Herstellers Roche
SaarCoPS	Saarlandweite Coronavirus-Antikörper-Prävalenzstudie
SARS-CoV-2	severe acute respiratory syndrome coronavirus 2
S1	S1-Domäne des Spike Proteins
S2	S2-Domäne des Spike Proteins
Spike T	Spike Trimer
UdS	Universität des Saarlandes

1 Zusammenfassung

1.1 Deutsche Zusammenfassung

Die Datenlage zu SARS-CoV-2 Infektionen in Deutschland beschränkte sich bis Sommer 2020 auf die Zahlen positiv getesteter Personen oder auf vereinzelte Antikörperstudien. Diese analysierten entweder Hotspotregionen oder bestimmte Bevölkerungsgruppen wie Blutspender und waren daher nicht repräsentativ für ein Bundesland. In der saarlandweiten Coronavirus-Antikörper-Prävalenzstudie, kurz SaarCoPS, wurden von 2.940 repräsentativ für das Saarland ausgewählten, erwachsenen Personen inklusive Bewohnern von Altenheimen, Blutproben entweder in Arztpraxen oder von mobilen Teams entnommen und auf das Vorhandensein von Antikörpern gegen SARS-CoV-2 mit drei verschiedenen Tests untersucht. Nach Verarbeitung dieser Daten durch Mitarbeiter der Arbeitsgruppe Prof. Smola wurde eine Infektionsrate von 1,02 % (95 % KI: [0,64; 1,44]), eine 2,68-fache (95 % KI: [1,68; 3,79]) Untererfassungsrate sowie ein Infektions-Sterbe-Rate (IFR) von 2,09 % (95 % KI: [1,48; 3,32]) in allen Altersklassen, beziehungsweise von 0,36 % (95 % KI: [0,25; 0,59]) in der Altersgruppe unter 70 berechnet. Zusätzlich wurden die positiv getesteten Blutproben noch in einem vierten Antikörpertest, dem MultiCoV-Ab auf Kreuzreaktivität mit anderen endemischen Coronaviren und SARS-CoV-2 Varianten getestet. Außerdem lieferte der MultiCoV-Ab ein differenzierteres Antikörperergebnis gegen SARS-CoV-2 und ermöglichte dadurch eine umfassendere Analyse, die ein kreuzreaktives Antikörperportfolio der zuvor positiv getesteten Proben gegenüber den SARS-CoV-2 Varianten aufzeigte.

Teilergebnisse der vorliegenden Arbeit wurden unter dem Titel „German federal-state-wide seroprevalence study of 1st SARS-CoV-2 pandemic wave shows importance of long-term antibody test performance“ bei communications medicine veröffentlicht [54]. Diese Daten bildeten eine Grundlage für die Bewertung und Anpassung sowohl bisheriger als auch folgender Maßnahmen gegen die Verbreitung von SARS-CoV-2. Zusätzlich können die aus dieser Studie gewonnenen Erkenntnisse auch auf andere Pandemien angewendet werden.

1.2 Summary

Until summer 2020, data on SARS-CoV-2 infections in Germany were limited to the numbers of positively tested persons or to isolated antibody studies. These either analyzed hotspot regions or specific population groups such as blood donors and were therefore not representative for a federal state. In the Saarland-wide coronavirus antibody prevalence study, SaarCoPS for

short, blood samples were collected from 2,940 adult individuals selected to be representative of the Saarland, including residents of nursing homes, either in physicians' offices or by mobile teams, and analyzed for the presence of antibodies to SARS-CoV-2 using three different tests. After processing these data by members of the research group of Prof. Smola, an infection rate of 1.02% (95% CI: [0.64; 1.44]), a 2.68-fold (95% CI: [1.68; 3.79]) underreporting rate, and an infection mortality rate (IFR) of 2.09% (95% CI: [1.48; 3.32]) in all age groups and 0.36% (95% CI: [0.25; 0.59]) in the under-70 age group, respectively, were calculated. In addition, the positive blood samples were tested in a fourth antibody test (MultiCoV-Ab) for cross-reactivity with other endemic coronaviruses, SARS-CoV-2 variants and six SARS-CoV-2 Antibodies. This revealed a cross-reactive antibody portfolio against SARS-CoV-2 variants and in total a more comprehensive and differentiated analysis. Partial results of the present work were published under the title " German federal-state-wide seroprevalence study of 1st SARS-CoV-2 pandemic wave shows importance of long-term antibody test performance" at communications medicine [54]. These data provided a basis for evaluating and adapting earlier and later measures against the spread of SARS-CoV-2. In addition, the findings from this study can be applied to other pandemics.

2 Einleitung

2.1 Coronaviren - SARS-CoV-2

Die Pandemie, ausgelöst durch SARS-CoV-2 (severe acute respiratory syndrome coronavirus 2), begann Ende 2019 [39] und beeinflusste für lange Zeit weltweit das alltägliche Leben. Am 16. November 2021 waren weltweit bereits 253.163.330 COVID-19 (coronavirus disease 2019) Fälle bestätigt und 5.098.174 Todesfälle durch das Virus bekannt [93]. SARS-CoV-2 zählt zu der Familie der Coronaviridae, bzw. der Unterfamilie Orthocoronavirinae, die wiederum vier Gattungen umfasst: Alpha-, Beta-, Gamma-, und Deltacoronaviren. Sarbecoviren, zu denen SARS-CoV und SARS-CoV-2 gehören, zählen wie auch MERS-CoV zu den membranumhüllten Beta-Coronaviren [94]. Vier weitere humanpathogene weltweit endemisch zirkulierende Coronavirus-Spezien (HCoV) fallen in zwei Genera: Alphacoronaviren (HCoV-229E, HCoV-NL63) und Betacoronaviren (HCoV-HKU1, HCoV-OC43) [38]. Sie verursachen meistens milde Erkältungskrankheiten, können jedoch bei Immunschwäche auch schwerwiegendere Verläufe verursachen [24]. Durch homologe Rekombination können Coronaviren Artengrenzen überspringen und ihr Wirtsspektrum ausdehnen [29].

Die Ursprungsform des SARS-CoV-2 wird als Wildtyp bezeichnet. Seit Pandemiebeginn hat sich der Wildtyp verändert und durch Mutationen viele Varianten entstehen lassen [94]. Dies habe in vitro eine höhere Infektiosität und effektivere Vermehrung für Varianten mit der Spike-Mutation D614G nachgewiesen [36,64]. Dies stellt einen Aminosäusaustausch von Adenin zu Guanin an der Position 23.403 im Wuhan Referenzstamm da. Bereits in Deutschland war Mitte März 2020 diese Mutation schon vorwiegend nachzuweisen [45]. Trotz einer höhere Viruslast bei Infizierten wurde kein Zusammenhang mit einer aggravierten Krankheitsverlauf festgestellt [6,35,46,76,94]. Die Weltgesundheitsorganisation stufte bisher fünf Varianten als besorgniserregend (Variants of Concern, VOC) ein [95]. Diese Varianten haben veränderte Erregereigenschaften, wie erhöhte Übertragbarkeit oder Virulenz. Zudem können sie die Gegenmaßnahmen oder die diagnostischen Nachweismethoden respektive die Impfstoffe in negativer Art und Weise beeinflussen [94]. Die Alpha Variante B1.1.7 aus dem Vereinigten Königreich und die Beta Variante B.1.351 aus Südafrika, beides VOCs, weisen genauso wie die Epsilon Variante B.1.429 aus Südkalifornien die Spike-Mutation D614G auf, welche wegen der erhöhten Transmissionsrate den Wildtyp verdrängt haben [31,46]. Dies gelingt durch eine offenere Konformation des Spike Proteins, die dadurch die Bindung an den ACE-2 Rezeptor der Wirtszelle erleichtert [60,87]. Die Alpha Variante breitete sich gegen Ende 2020 in Großbritannien aus und

wies eine höhere Infektiosität und einen schwereren Verlauf auf. Durch Tourismus und Rückreisen im Flugzeug verbreiten sich die Varianten weltweit sehr schnell. So kam es zu Stande, dass rückwirkend in Niedersachsen im November 2020 bei Reiserückkehrern aus Großbritannien die Alpha Variante nachgewiesen werden konnte [96]. Die Alpha Variante wurde zum ersten Mal hier im Institut für Virologie am Universitätsklinikum des Saarlandes in der 3. Kalenderwoche 2021 nachgewiesen (E-Mail von Dr. Thorsten Pfuhl). Die Beta Variante breitete sich in Südafrika seit Mai 2020 aus (laut dem 17. Bericht vom 7.7.2021 vom RKI [97]) und wurde erstmalig in Baden-Württemberg bei einer Familie aus dem Zollernalbkreis, die am 13. Dezember 2020 aus Südafrika eingereist war, festgestellt [98]. Der erste Nachweis hier in der Virologie gelang in der 4. Kalenderwoche in 2021 (E-Mail von Dr. Thorsten Pfuhl). Die Delta Variante B.1.617.2 trat erstmalig im April 2021 in Deutschland auf [99] und konnte hier zuerst in der 18. Kalenderwoche 2021 nachgewiesen werden (E-Mail von Dr. Thorsten Pfuhl). Ende November 2021 verbreitete sich Omikron B.1.1.529 in Deutschland und wurde die dominierende Variante, was an der erhöhten Virulenz durch mehr als 30 Mutationen im Spike-Protein, immunevasive Eigenschaften und verringerter Schutzwirkung der Impfungen vor Infektion oder Transmission lag [5,11]. Die Variante Omikron wurde erst in der 51. Kalenderwoche in 2021 hier in der Virologie nachgewiesen, die Gamma Variante schon in der 26. Kalenderwoche 2021 (E-Mail von Dr. Thorsten Pfuhl). Zusammenfassend lässt sich sagen, dass im Erhebungszeitraum der Studie von Juli bis Oktober 2020 die verschiedenen VOCs im Saarland irrelevant waren, jedoch die D614G Mutation auf jeden Fall schon in Deutschland verbreitet war und durch die verbesserte Transmission und Infektiosität einen Einfluss auf das Infektionsgeschehen gehabt haben wird.

2.2 Struktur von Coronaviren - SARS-CoV-2

Die vier Strukturproteine von SARS-CoV-2 sind das Spike (S) Protein (einschließlich der S1-Domäne und der Rezeptorbindungsdomäne [RBD]), das Nukleokapsid (N) Protein, das Membranprotein (M) und das Hüllprotein (E) wie in Abbildung 1 gezeigt wird [24]. Bisherige Studien zu SARS-CoV und MERS-CoV belegen, dass die S- und N- Proteine die immunoge Antigene sind [78] und daher konzentrierte sich die Entwicklung von serologischen Tests für SARS-CoV-2 Antikörper auch stark auf diese Proteine [55]. Das Spike Protein besteht aus zwei Untereinheiten, die an dem Eintritt in die Wirtszelle über den transmembranären ACE-2 Rezeptor [35,57,90], die zelluläre Protease TMPRSS2 [35] und das Neuropilin-1 (NRP1) [14,18] betei-

ligt sind. Die S1-Untereinheit enthält die Rezeptorbindungsdomäne, die an den Wirtszellrezeptor bindet [94]. Danach vermittelt die S2-Untereinheit die Fusion von Virushülle und Zellmembran [94]. Protektive, neutralisierende Antikörper werden durch das Spike Protein induziert und sind daher von fundamentalem Interesse für die Impfstoffentwicklung gegen SARS-CoV-2 [23,52].

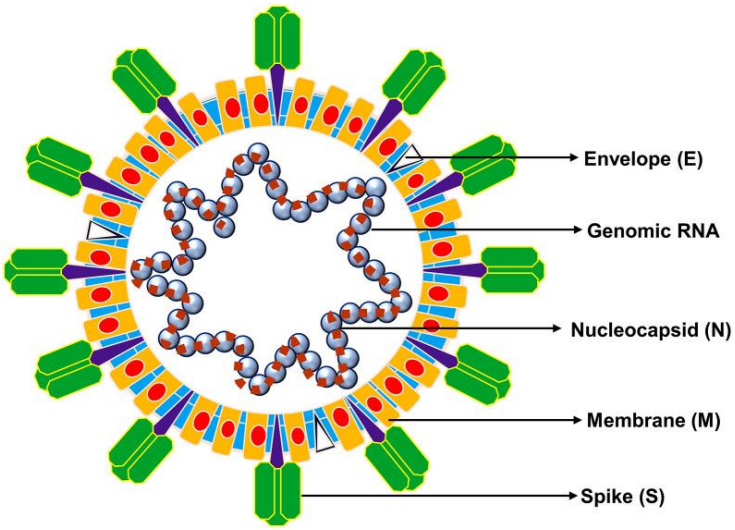

Abbildung 1: Struktur von SARS-CoV-2 [43]

2.3 COVID19: Krankheitsverlauf und Symptomatik,

Am Anfang der Covid-19 Pandemie mit dem SARS-CoV-2 Wildtyp waren die häufigsten Symptome einer Erstinfektion Husten, Fieber, Schnupfen, und Ageusie oder Anosmie [94]. Letzteres trat auch vermehrt bei der Delta-Variante auf [25]. Mit den aufkommenden Varianten und den zum Teil auch Auftretenden Reinfektionen, natürlich auch in Zusammenhang mit den verschiedenen Impfungen veränderte sich auch die Symptomatik der Infektion. So waren die Ausbruchsymptome der Omikron-Variante unspezifischer [22] und eher Rhinorrhoe, Niesen, Halsschmerzen, Kopfschmerzen und Müdigkeit [51]. Ganz allgemein manifestiert sich die Infektion mit SARS-CoV-2 häufig pulmonal und kann durch eine Pneumonie oder ein Acute Respiratory Distress Syndrome (ARDS) aggraviert werden [94]. Auch andere Organsysteme können betroffen sein und schwerwiegende Komplikationen wie Myocardiale Dysfunktion und Thromboembolien hervorzurufen [32]. Generell gilt, dass die Symptome einer COVID-19 Erkrankung, die eine akute infektiöse Lungenerkrankung ausgelöst durch SARS-CoV-2 ist, sehr vielfältig und variabel sein können. Daher ist es möglich, dass typische Symptome wie Fieber und Husten komplett fehlen [9]. Weitere typische Symptome sind Schnupfen, eine Störung des Geruchs- und/oder Geschmackssinns, Halsschmerzen und Atemnot. Die klinische Präsentation einer SARS-CoV-2 Infektion ist unspezifisch und sehr variabel. Zusätzlich kann sich ein initial

milder Verlauf nach einer Woche aggravieren und eine intensivmedizinische Versorgung notwendig werden. Die hohe Dichte an ACE-2 Rezeptoren und von TMPRSS2 auf dem Nasenepithel erklärt die effiziente Vermehrung und Ausscheidung von SARS-CoV-2 aus den oberen Atemwegen [77]. Da auch eine hohe Dichte an ACE-2 Rezeptoren [82,89,91,92] im Darm, sowie in Gefäßzellen, in der Niere, im Herzmuskel und in anderen Organen besteht, erklärt dies die Vielzahl an extrapulmonalen Symptomen [32], die durch zytopathische Effekte, überschießende Immunreaktionen sowie Hyperkoagulabilität ausgelöst werden können [50,58,59,71]. Seit Mitte 2020 gibt es auch Hinweise über mögliche Langzeitfolgen einer SARS-CoV-2. Die Weltgesundheitsorganisation (WHO) definiert POST-COVID-19 als „gesundheitliche Beschwerden, die in der Regel drei Monate nach einer durchgemachten Infektion fortbestehen oder neu auftreten, über mindestens zwei Monate andauern oder wiederkehrend auftreten und nicht anderweitig erklärbar sind [100] “. Für besonders alltagsrelevant hält die WHO Erschöpfung und eingeschränkte Belastbarkeit, Kurzatmigkeit in Ruhe und Einschränkungen von Konzentrations- und Merkfähigkeit [94]. Insbesondere leiden bis zu 76% der stationär behandelten Personen noch sechs Monate nach ihrer Erkrankung an mindestens einem oder mehreren Symptomen [3,75]. Risikopersonen für einen schwereren Verlauf der Coronainfektion sind generell ältere Personen ab 50 Jahren, chronisch Vorerkrankte, insbesondere Personen mit kardiovaskulären oder pulmonalen Erkrankungen, Stoffwechselerkrankungen, genauso wie immunsupprimierte Personen [81]. Außerdem weisen Männer häufiger einen schwereren Verlauf auf als Frauen [62,79]. Zusätzlich verringert sich das Risiko an Long-COVID zu erkranken durch Impfungen, wobei zwei Impfungen besser sind als eine [61]. Ferner ist das Risiko für Long-COVID bei Personen, die mit dem Wildtyp infiziert waren erhöht und bei Personen, die mit dem der Omikron-Variante infiziert waren niedriger [22,25]. Das häufigste Long-Covid Symptom war Müdigkeit gefolgt von Schmerzen [25].

Bedingt einerseits durch oligo- und asymptomatische Fälle, andererseits durch die nicht systematischen oder flächendeckenden Strategien und Häufigkeiten der Testungen können die tatsächlichen Fallzahlen untererfasst sein. Dies hat auch einen großen Einfluss auf die Infektions-Sterbe-Rate, die fälschlicherweise als zu niedrig angenommen wird [66].

Seroepidemiologische Studien können retrospektiv Infektionen nachweisen und liefern einen entscheidenden Beitrag, indem sie ggf. sowohl symptomatische als auch die bisher unbekannten, asymptomatischen Erkrankungen nachweisen können. Hierbei ist die Testauswahl von entscheidender Bedeutung, da eine möglichst hohe Spezifität und Sensitivität sowie die Fähigkeit Antikörper über einen langen Zeitraum nachzuweisen nötig ist, um möglichst lange zurückliegende Infektionen noch erfassen zu können [2]. Insbesondere nach einer möglicherweise oligo-

oder asymptomatischen Infektion ist der Nachweis von Antikörpern abhängig vom verwendeten Test [1]. Darüber hinaus berichteten Studien von einem deutlichen Abfall der humoralen Immunantwort und der Neutralisierungskapazität innerhalb von acht Monaten sowie einem starken Abfall innerhalb der ersten drei Monaten [10,19,56,72].

Der erste COVID-19-Fall im Saarland wurde am 03.03.2020 bestätigt [101], seitdem stiegen die Fallzahlen dynamisch weiter an. Der Stand vom 24.11.2021, 03:12 Uhr beträgt saarlandweit 57.588 Infektionen insgesamt seit Beginn der Pandemie, zum Vortag 972 weitere, die Sieben-Tage Inzidenz pro 100.000 Einwohnern liegt bei 398,6 [102]. Unentbehrlich sind substantiierte Zahlen über das Infektionsgeschehen, damit die Maßnahmen zur Pandemiebewältigung fundiert angepasst werden können.

2.4 Antikörpertests

Nach einer Infektion mit dem Wildtyp oder den Varianten von SARS-CoV-2 kommt es zur Immunreaktion und zur Bildung von Antikörpern. Diese können auf verschiedene technische Arten nachgewiesen werden. Zum einen wird schon länger die ELISA (Enzyme-linked Immunosorbentassay) Technik verwendet. Damit werden zum Beispiel IgG- oder IgA-Antikörper gegen ein bestimmtes einzelnes Protein nachgewiesen. Hier in dieser Studie gegen die S1-Domäne vom Spike Protein im Anti-SARS-CoV-2-ELISA der Firma Euroimmun. Zum anderen gibt es noch die Technik des Chemilumineszenz-Mikropartikel Immunoassay (CMIA), die hier bei SaarCoPS im SARS-CoV-2 IgG Test der Firma Abbott zur Anwendung kam und IgG-Antikörpern einzig gegen das Nukleokapsid Protein von SARS-CoV-2 nachweisen konnte. Eine weitere hier angewandte Technik ist die des Elektrochemischer Lumineszenz Immunoassay (ECLIA) für den Nachweis spezifischer IgG- und IgM-Antikörper nur gegen das Nukleokapsid Protein von SARS-CoV-2 der Firma Roche Diagnostics GmbH. Diese drei genannten Antikörpertests können jeweils nur Antikörper gegen ein einziges Protein nachweisen. Ganz anders ist der hier verwendete Multiplex SARS-CoV-2 Immunoassay (MultiCoV-Ab) [7] der gleichzeitig Antikörper gegen 22 Proteine in einer Probe nachweisen kann und dadurch eine aussagekräftigere Analyse ermöglicht [7,8], weil neben sechs SARS-CoV-2 Antikörpern auch jeweils Antikörper gegen das N- und S- Protein als auch gegen die N-terminale Domäne des Nukleokapsids der endemischen Coronaviren hCoVs (NL63, 229E, OC43, HKU1) gemessen werden. Zusätzlich werden noch Antikörper gegen die Rezeptor-Bindungsdomäne der SARS-CoV-2 Varianten aus dem Vereinigte Königreich, Südafrika, Südkalifornien und eine Nerzvariante unter-

sucht, um ein umfassendes Bild potenzieller Kreuzreaktionen zu haben. Dadurch kann ein ausführliches Antikörperprofil der Personen erstellt werden, Impfstrategien analysiert und die Immunantwort in Zusammenhang mit den Varianten [8,41] auf schnelle, kostengünstige Art und Weise [40] erforscht werden. Des Weiteren wurde der MultiCoV-Ab schon in klinischen Studien verwendet, um die Immunantwort chronisch kranker Patienten nach Impfungen zu erforschen [51] und deren Immunogenität in Bezug auf die Corona-Varianten [74] zu eruieren. Zudem wurden Zusammenhänge zwischen SARS-CoV-2 und den endemischen Coronaviren mithilfe eines MultiCoV-Ab erforscht [26].

2.5 SARS-CoV-2 Seroprävalenzstudien

Die Seroprävalenz gibt die Häufigkeit von Antikörpern zu einem bestimmten Zeitpunkt in der Bevölkerung an. Die Infektions-Sterbe-Rate, auf Englisch Infection fatality rate (IFR), ist das Verhältnis der COVID-19-Todesfälle zu der Seroprävalenz. Die fallbezogene Fatalitätsrate, auf Englisch Case fatality rate (CFR), ist das Verhältnis der COVID-19-Todesfälle zu den PCR-bestätigten SARS-CoV-2 positiven Fällen. Die Untererfassungsrate ist das Verhältnis der Seroprävalenz, zu den PCR-SARS-CoV-2-positiven Fällen.

Obwohl in der ersten Pandemiewelle einige Studien über die SARS-CoV-2 Seroprävalenz in Teilgruppen der Bevölkerung durchgeführt wurden, sind bisher wenig verlässliche Daten über die gesamte Bevölkerung zu finden [66,73]. Nach einer Superspreading Karnevalsveranstaltung 2020 wurde lokal begrenzt in Gangelt, Deutschland, eine Seroprävalenzstudie mit dem Euroimmun S1-SARS-CoV-2 IgG an 919 Personen im Alter von 1 - 90 Jahren durchgeführt, mit dem Ergebnis, dass die Erwachsenen Infektions-Sterbe-Rate (IFR) bei 0,36 % (95 % KI: [0,29; 0.45]) lag [73]. Des Weiteren wurde im untersuchten Hotspot Landkreis Tirschenreuth an der bayerisch-tschechischen Grenze im Beobachtungszeitraum vom 28.06.2020 bis zum 10.7.2020 eine IFR von 2,5 % (95 % KI: [2,06; 3,02]) und eine Seroprävalenz von 8,6 % mit dem Roche N SARS-CoV-2 pan-Ig, dem Shenzhen YHLO anti-N/S IgG und einem in-house ELISA IgG anti-RBD nachgewiesen [83]. Rund um München wurden von April bis Juni 2020 repräsentativ Menschen ab 14 Jahren ausschließlich in privaten Haushalten untersucht, hierbei betrug die IFR 0,47 % (95 % KI: [0,36; 0,67]) und die Seroprävalenz, nachgewiesen mit dem Roche N SARS-CoV-2 pan-Ig, 1,8 % mit einem Untererfassungsrate von 4 [66]. Die Rheinland Corona Studie wurde vom 24.4.2020 bis zum 30.6.2020 in zwei Stadtbezirken von Bonn an 4755 Personen ab 30 Jahren durchgeführt [6]. Getestet wurde mit dem Euroimmun S1-SARS-CoV-2 IgG Test,

der eine Seroprävalenz von 1,0 % (95 % KI: [0,72; 1,30]) offenbarte, was einen Untererfassungrate von 4,2 nahelegte. Ein weiterer Corona Hotspot entwickelte sich in Kupferzell in der Region Heilbronn-Franken in Baden-Württemberg nach einem Kirchenkonzert am 1. März 2020 mit mehreren Posaunenchören [68]. Der Beobachtungszeitraum, in dem 2203 Personen im Alter von 18 - 94 Jahren untersucht wurden, war vom 20.05.2020 bis zum 09.06.2020 [103]. Die mit dem Euroimmun S1-SARS-CoV-2 IgG Test analysierte Seroprävalenz betrug 10,0 % (95 % KI: [8,5; 11,8]), wodurch sich ein Untererfassungsrate von 5 ergab [103]. Das STAAB-Covid-Programm aus Würzburg, welches sich mit dem Zeitraum unserer SAARCoP-Studie überschneidet, hatte einen Beobachtungszeitraum von Juni 2020 bis Mitte Oktober 2020, in dem 3.001 Probanden im Alter von 32 - 87 Jahren untersucht wurden [104]. Hier wurde in diesem Zeitraum eine Seroprävalenz von 1,3 % analysiert [104]. Es gab eine deutschlandweite Studie, die sogenannte Corona Bund Studie, die in zwei Zeiträumen 30.06.2020 - 12.08.2020 und 26.10.2020 - 18.11.2020 10.221 und 9.929 Teilnehmern mit dem Roche N SARS-CoV-2 pan-Ig Test untersucht hatte [105]. Die Seroprävalenz wurde im 1. Zeitraum mit 0,5 % (95 % KI: [0,4; 0,7]) und im 2. Zeitraum mit 1,1 % (95 % KI: [0,9; 1,3) angegeben [105].

Eine weitere Studie hat die SARS-CoV-2 Seroprävalenz in 3.186 Blutproben von Blutspendern aus Nordrhein-Westfalen, Niedersachsen und Hessen in einem Zeitraum von März bis Juni 2020 untersucht [27]. Die Seroprävalenz unterschied sich nicht statistisch signifikant zwischen den drei Bundesländern ($p = 0,536$). Getestet wurden die Blutproben mit dem Euroimmun S1-SARS-CoV-2 IgG (Ratio $\geq$ 1,1), bestätigt mit Abbott SARS-CoV-2 N IgG (Ratio $\geq$ 1,4) und DiaSorin LIAISON S1/S2 SARS-CoV-2 IgG (Ratio $\geq$ 15) [27]. Die Inzidenz war am höchsten in Niedersachsen mit 1,22 % (7/576; 95 % KI: [0,33; 2,10]), gefolgt von Nordrhein-Westfalen (0,94 %; 16/1.700; 95 % KI: [0,49; 1,39]) und Hessen (0,66 %; 6/910; 95 % KI: [0,13; 1,19]) [27].

Eine weitere Blutspenderstudie wurde in Hamburg in den drei Zeiträumen 06.04.2020 - 10.04.2020, 04.05.2020 - 06.05.2020 und 02.06.2020 - 05.06.2020 mit dem Roche N SARS-CoV-2 pan-Ig durchgeführt [106]. Hierbei wurde eine Seroprävalenz von 0,4 % über die drei Zeiträume (April: 0,3 % (1/300), Mai: 0,7 % (2/288) und Juni: 0,3 % (1/326)) festgestellt [106]. Die SeBluCo Studie hat circa 5000 Blutspendeproben aus 28 bundesweit verteilten Regionen alle 14 Tage mit dem Euroimmun S1-SARS-CoV-2 IgG (Ratio $\geq$ 1,1) getestet [106]. Dort wurde eine Seroprävalenz im Zeitraum von April bis Dezember 2020 von 1,1 % analysiert [106]. Ferner hat eine Studie 3880 Blutspendeseren aus Rheinland-Pfalz und dem Rhein-Main Gebiet im Zeitraum von März bis Juni 2020 mit dem Abbott SARS-CoV-2 N IgG getestet und

mit dem Roche N SARS-CoV-2 pan-Ig bestätigt [68]. Es wurde eine Seroprävalenz von 0,4 % berichtet [68].

Diese und auch weitere Studien beziehen sich folglich entweder nur auf eine besonders betroffene Region oder einen Landkreis, auf Menschen in privaten Haushalten ohne Seniorenheime, eine begrenzte Zeitspanne, oder auf spezielle Bevölkerungsgruppen wie gesunde Blutspender innerhalb einer Altersbegrenzung und waren dadurch nicht repräsentativ für die komplette Bevölkerung eines ganzen Bundeslandes.

Abgesehen von der Reliabilität des verwendeten Antikörpertests hängen die Seroprävalenzen und die Infektions-Sterbe-Raten stark von der Testgruppe, dem Selektionsbias und der Zeitspanne, in der getestet wird, ab.

2.6 Ziel der Arbeit und Fragestellung

Die saarlandweite Seroprävalenzstudie sollte an einer repräsentativen Auswahl von volljährigen Bürgern inklusive Senioren und Bewohnern von Altenheimen durchgeführt werden. Die Blutproben sollten mit drei verschiedenen Antikörpertests untersucht werden. Es sollen die Daten von dem Test mit der besten Test Performance bezüglich Spezifität und Sensitivität verwendet werden, um die Prävalenz von SARS-CoV-2-Antikörpern im Serum dieser Stichprobe zu berechnen. Zusätzlich sollen die positiven Proben noch in einem vierten Antikörpertest auf potentielle Kreuzreaktivität auf andere Coronaviren und Coronavarianten untersucht werden.

Die in dieser Studie gewonnenen Erkenntnisse stellen eine wichtige Grundlage für die Evaluation der Maßnahmen zur Eindämmung der weiteren Ausbreitung von SARS-CoV-2 dar [107].

3 Material und Methode

3.1 Studienaufbau und Ablauf

Das Saarland liegt im Südwesten Deutschlands und grenzt im Norden und Osten an Rheinland-Pfalz, im Süden an Frankreich und im Westen an Luxemburg. Gemeinsam bildet es mit den beiden letztgenannten die Großregion Saar-Lor-Lux. SaarCoPS wurde gemäß der Deklaration von Helsinki 1964 und deren späteren Revisionen sowie in Übereinkunft mit dem Ethikvotum der Ärztekammer des Saarlandes durchgeführt. Alle Studienteilnehmer stimmten der Studie schriftlich zu.

Zur Durchführung dieser saarlandweiten Studie arbeitete die Arbeitsgruppe Prof. Smola mit dem Saarländisches Krebsregister, der Kassenärztliche Vereinigung Saarland (KVS), dem Ministerium für Soziales, Gesundheit, Frauen und Familie (MSGFF) des Saarlandes, dem Institut für Medizinische Biometrie, Epidemiologie und Medizinische Informatik der Universität des Saarlandes (UdS) und mit der Staatlichen Medizinaluntersuchungsstelle des Saarlandes Institut für Virologie zusammen.

Mein Beitrag an der Studie bestand in der Durchführung der Laborarbeit vornehmlich, die Abbott und MultiCoV-Ab Antikörpertestung, zusätzlich hat mich eine medizinisch-technische Assistentin, Frau Best mit einer Testung (Euroimmun-Teste) unterstützt. Der Test der Firma Roche wurde im Zentrallabor von Frau Meng in Kooperation mit Herrn Prof. Jürgen Geise durchgeführt. Des Weiteren bestand meine Aufgabe in der Unterstützung der Durchführung, insbesondere in der Aufgabenbewältigung im Studiensekretariat und an der Mitarbeit an der Datenerhebung und teilweise auch an der Analyse der Daten. Eine weitergehende detailliertere Auflistung der an der Studie beteiligten Personen befindet sich im Abschnitt „Author contributions“ des veröffentlichten Papers [54].

3.1.1 Berechnung der nötigen Studiengröße

Die nötige Studiengröße wurde von Hern Holleczek auf folgende Art und Weise berechnet. Die berichtete IFR von 0,36 % (95 % KI: [0,29; 0,45]) in der Heinsberg-Studie [73] lieferte zusammen mit der Anzahl 162 COVID-19 Verstorbener (Stand: 25.05.2020) eine Hilfe bei der Einschätzung der Prävalenz der SARS-CoV-2-Infektionen im Saarland. Mithilfe von 2.305 errechneten Teilnehmern konnte mit einer Genauigkeit von 20 % im 95 % Konfidenzintervall eine Seroprävalenz von 4 % geschätzt werden. [48]

Um eine möglichst repräsentative Stichprobe der Saarländischen Bevölkerung zu generieren, wurde auf den Datensatz des Einwohnermeldeamtes zurückgegriffen. Der Paragraf 46 des Bundesmeldegesetzes lieferte die Rechtsgrundlage für die Datenbereitstellung. Die Ziehung der für die Saarländische Bevölkerung repräsentativen Zufallsstichprobe, bestehend aus 10.000 personenbezogenen Daten (mit Familiennamen, Vornamen, Titel, Geschlecht, Geburtsdatum und Wohnanschrift) erfolgte angepasst an die Bevölkerungszusammensetzung der aktuellsten verfügbaren Bevölkerungsstatik mit Stand 31.12.2018 im Hinblick auf Alter, Geschlecht und Wohnort (Siehe Tabelle 1 und 2 im Anhang) durch das Krebsregister des Saarlandes. Es wurden nur volljährige Personen in die Zufallsstichprobe eingeschlossen, die Ihren Hauptwohnsitz im Saarland haben. Gerechnet wurde mit einer Teilnahmequote von rund 30 % der angeschriebenen Personen. Insgesamt wurden 10000 Personen gebeten an der Studie teilzunehmen, um mit den kalkulierten 30%, ca. 3000 Studienteilnehmende zu gewinnen und damit die zuvor berechnete und erforderlichen Stichprobengrüße zu erreichen.

3.1.2 Fragebogen

Die Fragebögen wurden mithilfe von QuestorPro, eines Softwareprogramms der Firma Blubbsoft GmbH erstellt. Unter Einhaltung der EU-Datenschutzgrundverordnung kann dieses Programm sowohl online als auch maschinenlesbare Papierfragebögen erstellen, verwalten und auswerten. Eine Befragung jedes Teilnehmers wurde entweder online oder papiergebunden mithilfe eines Kurzfragebogens durchgeführt. Durch diese zusätzlichen Informationen wollte die Studie Erkenntnisse zu Zusammenhängen zwischen Übertragung, Krankheitsverlauf und Vorerkrankungen sowie über die Anwendung und Wirksamkeit von Hygiene- und weiteren Maßnahmen zur Verhinderung der Ausbreitung von SARS-CoV-2 gewinnen [67]. Auch die Nutzung der Corona-Warn-App wurde erfragt, die erst kurz vorher am 16.06.2020 vor der Befragung der Bevölkerung zur Verfügung gestellt wurde [108]. Zusätzlich wurde die aktuelle Wohnsituation erfragt, um potentielle Bewohner von Seniorenheimen zu identifizieren. Die Auswertung aller Daten erfolgte ausschließlich pseudonymisiert.

3.1.3 Blutentnahme

Durch die Kooperation mit der Kassenärztlichen Vereinigung des Saarlandes (KVS) konnten 29 Arztpraxen, verteilt über alle Landkreise, für die Studie gewonnen werden. Nach Erhalt der Einladungsschrieben für diese Studie konnten die Teilnehmer entweder direkt mit einer Praxis

oder über die Hotline der Terminvergabestelle der KVS unter der Rufnummer 116 117 einen Termin für die Blutentnahme vereinbaren.

Die teilnehmenden Praxen wurden mit dem untenstehenden Ablaufplan (Abbildung 2: Ablaufplan in der Arztpraxis; Quelle: KVS) über den gewünschten Ablauf informiert. Die beiden Serumblutproben wurden mit einem Barcodeaufkleber versehen, gekühlt und aufrechtstehend, zusammen mit den Fragebögen und Einwilligungserklärungen zur Virologie gebracht, wo alles umgehend verarbeitet wurde.

Arzt

Geplanter Ablauf der Coronavirus-Antikörper-Prävalenzstudie (SaarCoPS) in der Blutentnahme-Praxis

1. **Anmeldung Patient**
   Teilnehmende Patienten wählen aus einer Liste mitgeteilter „Blutentnahmepraxen" einen Arzt und vereinbaren selbst persönlichen Blutabnahmetermin

2. **Vor der Blutabnahme**
   Alles, was zur Abnahme und Versand der Probe notwendig ist (Serum-Monovetten, Schutzhülle, Barcode und reißfester Umschlag) wird der Praxis automatisch nach der Teilnahmezusage geliefert.

3. **Blutentnahme**
   - Entnahme erfolgt in Praxis oder wenn notwendig als Hausbesuch beim Patienten
   - Patient überreicht dem Arzt seine unterschriebene Einverständniserklärung sowie –falls nicht online durchgeführt – den ausgefüllten Fragebogen
   - die Blutentnahme erfolgt in 2 x 15 ml Serum-Monovetten, sonst können die Proben nicht bearbeitet werden

4. **Versand der Probe an das Zentrallabor**
   Der Umschlag mit Blutprobe, Einverständniserklärung und ggfls. ausgefüllten Fragebogen wird durch einen Fahrdienst –nach Anforderung durch Praxis- in der Praxis abgeholt und an Zentrallabor geliefert. Die serologischen Analysen auf SARS-CoV-2 werden dort ausgeführt.
   Abholung anfordern unter Telefon Fahrdienst: (0173/6380973) – bevorzugt über SMS oder WhatsApp

5. **Abrechnung der ärztlichen Leistung**
   Die Abrechnung erfolgt über die Kassenärztliche Vereinigung Saarland. Zur Sicherstellung der Kostenübernahme sind folgende Pseudoziffern zu beachten:

Pseudoziffer	Bezeichnung	Honorar
98901	Blutentnahme Antikörpertestung SARS-CoV-2	10,00 €
98902	Hausbesuch einschl. Wegekosten	30,49 €

   Die Abrechnung gilt für **alle Patienten**, auch für Nicht-GKV-Patienten. Nicht-GKV-Patienten sind auf einem separaten Abrechnungsschein mit: **Ministerium für Gesundheit** als Kostenträger und der **VKNR 73840)** anzulegen.

6. **Ergebnis**
   Auf Wunsch wird den teilnehmenden Patienten am Ende das Ergebnis ihres Coronavirus-Tests mitgeteilt (etwa 14 Tage nach Probeentnahme).

wissenschaftliche Ausarbeitung und Veröffentlichung voraussichtlich Dezember 2020

Abbildung 2: Ablaufplan in der Arztpraxis; Quelle: KVS

Falls vorhanden, wurden die Praxen gebeten, die Blutproben mit 3000 U/min für 5 Minuten zu zentrifugieren und anschließend zu kühlen. Um möglichst auch multimorbiden oder älteren Studienteilnehmern die Teilnahme zu erleichtern, waren auch Haus- oder Heimbesuche möglich.

3.1.4 Studienzeitraum

Die ersten Einladungsbriefe wurden ab dem 22. Juli verschickt. Ab diesem Zeitpunkt konnten die angeschriebenen Personen an SaarCoPS teilnehmen. Die erste Einladungswelle umfasste 5.000 angeschriebene Personen, repräsentativ nach Alter, Geschlecht und Wohnort für die saarländische Bevölkerung. 1.334 Teilnehmer nahmen bis Ende August teil. An die verbliebenen 3.666 Nichtteilnehmer ohne die Personen, die entweder schriftlich oder telefonisch abgesagt haben, verstorben sind oder die Postanschrift nicht korrekt war, wurde ein Erinnerungsschreiben mit einem verlängerten Teilnahmezeitraum geschickt. Mitte September erfolgt die zweite Einladungswelle mit weiteren 5.000 Einladungen, die an den bisherigen Rücklauf angepasst wurden, um eine Verzerrung der Stichprobe zur gesamten Bevölkerung auszugleichen. Bis zum 15. Oktober 2020 nahmen weitere 1.606 Teilnehmer an der Studie teil, sodass insgesamt Blutproben und Fragebögen von 2.940 Personen ausgewertet werden konnten. Die Blutentnahmen fanden in einem Zeitraum statt, in dem die Coronavirus bedingten Todesfälle stagnierten und dann gegen Studienende wieder leicht anstiegen. Somit wurde das Ende des Sommerplateaus der Ersten Covid-19-Pandemiewelle im Saarland [80] in der Studie untersucht.

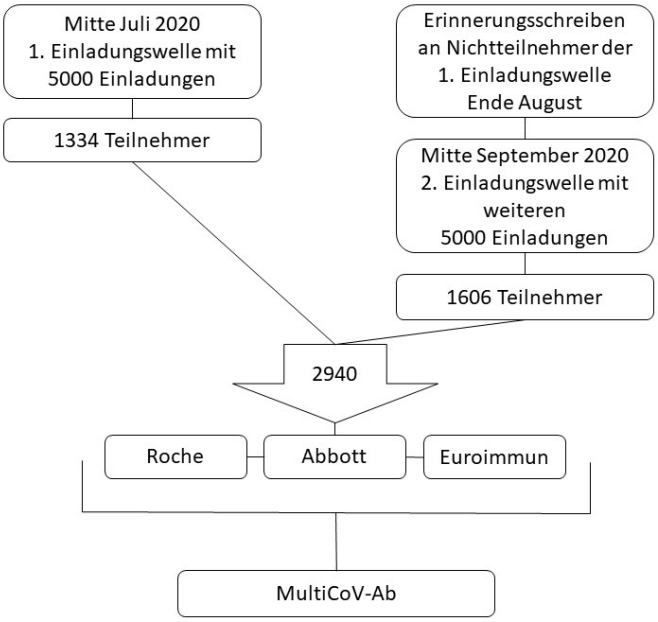

Abbildung 3: Ablauf der Studie

Die Abbildung 3: Ablauf der Studie wurde mithilfe von PowerPoint 365 für Windows, Microsoft, Redmond Washington, DC, USA, www.microsoft.com erstellt und gibt den Ablauf der Studie kurz wieder. Die Blutproben von 2.940 Teilnehmern werden mit drei unterschiedlichen Antikörpertests auf Antikörpern gegen SARS-CoV-2 getestet. Anschließend werden die positiven Proben in einem vierten Antikörpertest reevaluiert, auch um mögliche Kreuzreaktionen zu den endemischen Coronaviren und zu den Varianten festzustellen.

3.1.5 Rückmeldung an Studienteilnehmer

Die Studienteilnehmer hatten die Möglichkeit, auf ihren jeweiligen Einwilligungserklärungen den Rückmeldewunsch anzukreuzen, so dass Ihnen ihr Ergebnis der Blutuntersuchung nach Abschluss der Antikörpertestungen postalisch zugeschickt wurde. Im Studiensekretariat wurden die Ergebnisse der Blutuntersuchungen, die pseudonymisiert durchgeführt wurden, mit den Teilnehmerdaten zusammengeführt, um die Ergebnismitteilungen anzufertigen, zu drucken und zu versenden.

Gemäß dem Wissensstand im April 2020 wurden die Teilnehmer explizit darauf hingewiesen, dass das Vorhandensein von Antikörpern gegen SARS-CoV-2 lediglich eine Exposition anzeigen kann, jedoch keine Aussage über einen Schutz vor Reinfektionen, schweren Erkrankungen oder aktueller Infektiosität zuließe [85].

Zusätzlich wurde der Aspekt betont, dass Antikörper-Testergebnisse in Abhängigkeit von ihrer Sensitivität und Spezifität zu fälschlicherweise positiven oder negativen Ergebnissen führen können.

3.2 SARS-CoV-2 Antikörpertests und Validierung

Zusätzlich zu den Blutproben der 2.940 Studienteilnehmern wurden Serum oder Plasmaproben von 27 zufällig ausgewählten rekonvaleszenten, nicht hospitalisierten Patienten mit einer PCR-bestätigten oligo- oder asymptomatischen SARS-CoV-2 Infektion am Institut für Virologie in Homburg im Zeitraum von April bis Oktober 2020 gesammelt. Mein Anteil daran bestand darin, dass mir Listen von Herrn Dr. Lohse überreicht wurden und ich die darauf vermerkten, tiefgefroren Aliquots herausgesucht habe und für die Testung vorbereitet habe. Weiterhin habe ich die Proben im Abbott Test größtenteils selbst getestet nachdem ich im Testverfahren eingewiesen und eingearbeitet wurde. Zusätzlich habe ich den sicheren Transport zum Zentrallabor und wieder zurück für den Roch Test abwechselnd mit meinem Studiensekretariatteam durchgeführt. Da übereinstimmende Ergebnisse aus Serum- oder Plasmaproben generiert werden können, sind die Auswirkungen des verwendeten Testmaterials auf die Antikörpertestergebnisse vernachlässigbar gering [4]. Die Zeitspanne betrug 23,17 +/- 4,81 Tage zwischen PCR Positivität und der ersten Blutprobe bei 18 Patienten, deren genaue Zeitangaben verfügbar waren. Blutproben von hospitalisierten Covid-19-Patienten wurden ebenso getestet, jedoch bewusst aus dieser Studie ausgeschlossen, um einen Bias im Hinblick auf eine stärkere Antikörperbildung bei schwereren Verläufen auszuschließen [34]. Des Weiteren wurden aus der klinische Rückstellprobenbank der Virologie präpandemischen Seren von Patienten, die eine endemische Coronavirusinfektion mit OC43, NL63, HKU1 oder 229E erlitten haben, auf eine potentielle Kreuzreaktivität mit SARS-CoV-2 getestet. Um ein ideales Testsystem für SaarCoPS ausfindig zu machen, wurden nicht nur die Sensitivität und Spezifität, sondern auch Reaktionsstärken, Muster und Zeitspannen in Bezug auf die verwendeten Antigene und Antikörper-Isotypen der verschiedenen Antikörpertests verglichen. Das Paul-Ehrlich-Institut (PEI), Bundesinstitut für Impfstoffe und biomedizinische Arzneimittel, stellte die Daten über die Sensitivität und Spezifität zur Verfügung, anhand derer die Seroprävalenzen angepasst wurden. Der Leiter des Prüflabors für In-vitro-Diagnostik am Paul-Ehrlich-Institut (PEI-IVD), Dr. Heinrich Scheiblauer, ermittelte die Spezifität aus 676 negativen Blutproben. Durch den parallelen Einsatz dreier Antikörpertestsysteme konnten die Differenzen hinsichtlich der Auswirkungen auf die Testergebnisse aufgedeckt werden.

Folgende SARS-CoV-2 Antikörper-Testsysteme wurden validiert:

Tabelle 1: Anti-SARS-CoV-2 Antikörpertests [54]

Assay Name	**Anti-SARS-CoV-2-ELISA**	**SARS-CoV-2 IgG**	**Elecsys Anti-SARS-CoV-2**
Hersteller	Euroimmun	Abbott	Roche
Cat. Nummer	EI 2606-9601 G	6R86-22	09203095190
Assay Prinzip	ELISA*	CMIA**	ECLIA***
Antigen	Spike Protein, S1-Domäne	Nukleokapsid Protein	Nukleokapsid Protein
Erkannter Antikörper	IgG	IgG	Gesamt-Antikörper
Abkürzung	Euroimmun-IgG	Abbott-IgG	Roche-Ig
Cut-Off Wert	1,1	1,4	1,0
Sensitivität (%)	84,9 (KI**** 81,5; 87,9)	88,9 (KI 85,8; 91,6)	90,3 (KI 87,4; 92,8)
Spezifität (%)	99,3 (KI 98,29; 99,76)	99,4 (KI 98,50; 99,84)	100,0 (KI 99,46; 100)

*** Enzyme-linked Immunosorbentassay; ** Chemilumineszenz-Mikropartikel Immunoassay; *** Elektrochemilumineszenz Immunoassay; **** Konfidenzintervall**

3.2.1 Anti-SARS-CoV-2-ELISA

Im Folgenden wird dieser Test als Euroimmun-IgG abgekürzt. Der CE-markierte Euroimmun-IgG ist ein semiquantitativer ELISA (Enzyme-linked Immunosorbentassay) zum Nachweis von IgG- oder IgA-Antikörpern gegen das Spike Protein (S1-Domäne) von SARS-CoV-2 der Firma EUROIMMUN Medizinische Labordiagnostika AG, Seekamp 31, 23560 Lübeck.

Die Abbildung 4: ELISA Testprinzip [29] stellt eine Veranschaulichung des Testprinzips da.

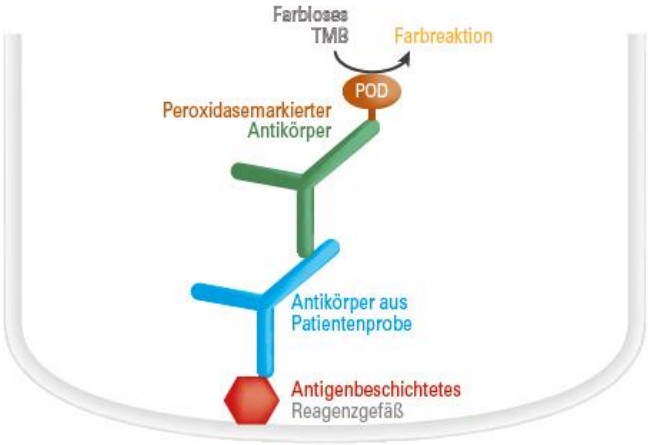

Abbildung 4: ELISA Testprinzip [29]

Die antigenbeschichteten Reagenzgefäße der Mikrotiterplatte werden mit verdünnten Patientenproben inkubiert [109]. Enthält eine Probe spezifische IgG-Antikörper gegen das Antigen Spikeprotein (S1-Domäne) des SARS-CoV-2, binden diese an die antigenbeschichteten Reagenzgefäße [109]. „In einem weiteren Schritt wird ein Peroxidase-markierter Antikörper (Konjugat) hinzugegeben, der an die spezifischen Antikörper bindet[109]. Die Peroxidase katalysiert mit dem anschließend hinzugegebenen Peroxidase-Substrat Tetramethyl-Benzidin (TMB) eine Farbreaktion. Die Intensität der entstehenden Farblösung ist im Messbereich proportional zur Antikörperkonzentration in der Patientenprobe und wird in einem semiquantitativen Test in einen Ratiowert umgerechnet“ [109].

Das Ergebnis wird als Ratio der Extinktion von Probe und Kalibrator angegeben. Diese wird ab einem Wert ≥ 0,8 als grenzwertig und ab einem Wert ≥ 1,1 als positiv gewertet. Die Angabe der OD (optischen Dichte), des eigentlichen Messwertes, erlaubt eine zusätzliche Einschätzung der Signalstärke. Die Sensitivität (Probenentnahme > 21 Tage nach Symptombeginn) wird vom Hersteller (laut Informationsschreiben vom 15.05.2020) für den IgG-Assay mit 93,8 %, die Spezifität von 99,0 - 99,6 % angegeben. Für den IgA-Assay wird eine Sensitivität von 100 % und eine Spezifität zwischen 88,2 - 92,4 % angegeben [67].

Für die Durchführung dieses Testverfahrens steht am Institut für Virologie ein entsprechendes Gerät zur Verfügung: Immunomat der Firma Virion/Serion GmbH, Friedrich-Bergius-Ring 19, 97076 Würzburg.

3.2.2 SARS-CoV-2 IgG

Im Folgenden wird dieser Test als Abbott-IgG abgekürzt. Abbott-IgG ist ein CE-markierter Zwei-Schritt-Immunoassay zum qualitativen Nachweis von IgG-Antikörpern gegen das Nukleokapsid Protein = N-Antigen von SARS-CoV-2. Der Hersteller ist die Abbott GmbH, Max-Planck-Ring 2, 65205 Wiesbaden.

Der Assay beruht auf der Technik des Chemilumineszenz-Mikropartikel Immunoassay (CMIA), ähnlich eines ELISAs. Aber das Grundprinzip beruht in diesem Fall auf der Chemielumineszenz, bei der durch eine chemische Reaktion angeregte Moleküle bei der Rückkehr in ihren Grundzustand Energie in Form von Licht abgeben, das detektiert werden kann [110]. Das Ergebnis wird als Index (Signal Probe/Signal Kalibrator) angegeben und bei ≥ 1,4 als positiv bewertet [67].

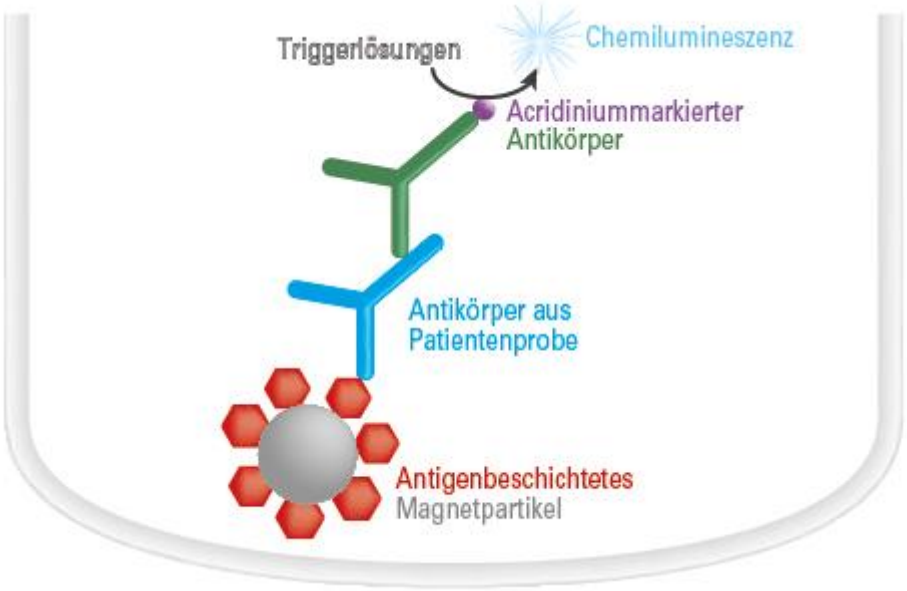

Abbildung 5: CMIA Testprinzip [110]

Die positive prozentuale Übereinstimmung (Probenentnahmen > 14 Tage nach Symptombeginn bei PCR-bestätigter Infektion) wird vom Hersteller mit 96,77 %, die negative prozentuale Übereinstimmung mit 99,63 % angegeben. Eine Testung potentiell kreuzreaktiver Seren von Personen nach einer Infektion mit endemischen Coronaviren wurde vom Hersteller nicht angegeben [67].

Für die Durchführung dieses Testverfahrens steht am Institut für Virologie ein entsprechendes Gerät zur Verfügung: ARCHITEKT i 2000 SR der Abbott GmbH, Max-Planck-Rind 2, 65205 Wiesbaden, mit folgender Seriennummer: ISR 05119.

3.2.3 Elecsys Anti-SARS-CoV-2

Im Folgenden wird dieser Test als Roche-Ig abgekürzt. Roche-Ig ist ein Elektrochemischer Lumineszenz Immunoassay (ECLIA) für den qualitativen Nachweis spezifischer IgG- und IgM-Antikörper gegen das Nukleokapsid Protein (N-Antigen) von SARS-CoV-2. Der Test gehört zu der Firma Roche Diagnostics GmbH, Sandhofer Strasse 116, 68305 Mannheim mit CE-Markierung.

Nach Herstellerangaben wird die Spezifität mit 99,81 %, die Sensitivität mit 100 % (14 Tage nach molekularbiologisch gesichertem Befund) angegeben. Die Spezifität wurde unter Einbeziehung von 40 potentiell kreuzreaktiven Seren von Personen nach einer Infektion mit endemischen Coronaviren ermittelt. Diese Seren wurden durch das Institut für Virologie, Universität des Saarlandes, im Rahmen eines Material Transfer Agreements zur Verfügung gestellt. Das Ergebnis wird als cutoff index (COI) angegeben und wird bei einem Wert ≥ 1 als positiv gewertet. Da das entsprechende Gerät am Institut für Virologie nicht vorhanden ist, erfolgt die Messung der Proben im Zentrallabor der Universitätsklinik des Saarlandes in Kooperation mit Herrn Prof. Jürgen Geisel auf einem cobas e 601 der Roche Diagnostics Deutschland GmbH, Sandhofer Straße 116, 68305 Mannheim.

Die untenstehende Abbildung 6 gibt einen Überblick über den Testablauf und ist aus dem Datenblatt der Firma Roche Diagnostics GmbH [111].

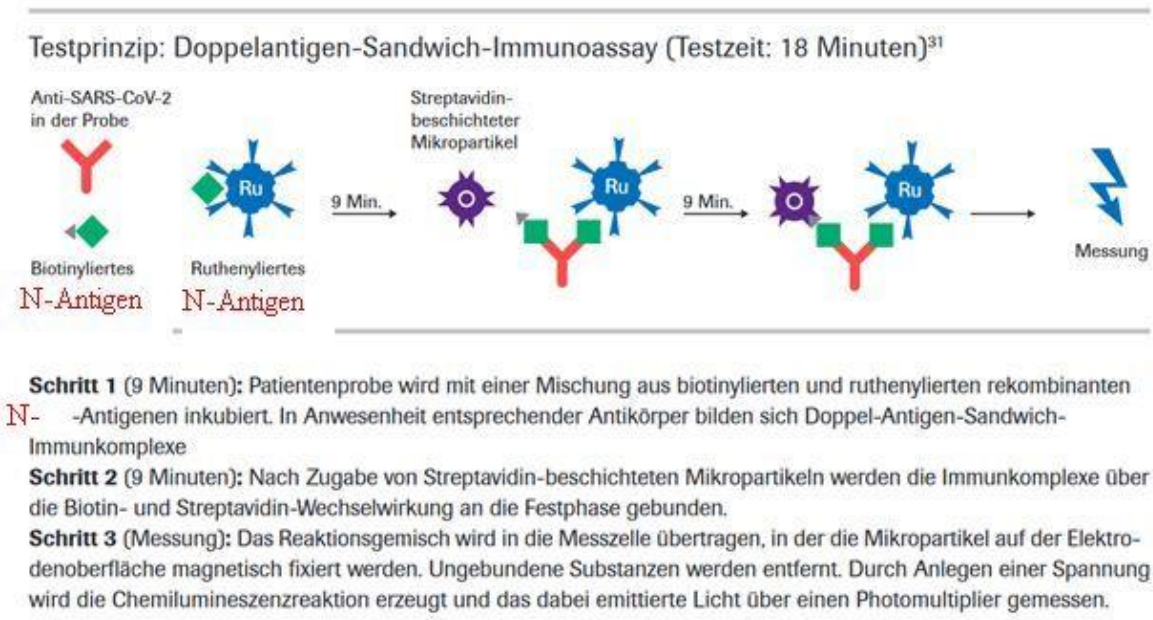

Abbildung 6: ECLIA: Elektrochemilumineszenz-Immunoassay Testprinzip [111] **in Rot Anmerkung von mir**

3.2.4 Multiplex SARS-CoV-2 Immunoassay

Im Folgenden wird dieser Test als MultiCoV-Ab abgekürzt. Der vierte Antikörpertest ist ein Multiplex SARS-CoV-2 Immunoassay, der in einer Kooperation zwischen dem Naturwissenschaftlichen und Medizinischen Institut an der Universität Tübingen (NMI) und dem Helmholtz-Zentrum für Infektionsforschung (HZI, Braunschweig) entwickelt wurde und bereits vielfältige Anwendung fand [7]. Damit können in einem Durchgang IgG-Antikörper sowohl gegen das N- und S- Protein als auch gegen die N-terminale Domäne des Nukleokapsids der endemischen Coronaviren hCoVs (NL63, 229E, OC43, HKU1) gemessen werden. Zusätzlich werden noch IgG-Antikörper gegen sechs spezifische SARS-CoV-2 Antigene wie das Trimere Spike-Protein in voller Länge (Spike-Trimer), die Rezeptor-Bindungsdomäne (RBD), die S1-Domäne (S1), die S2-Domäne (S2), das Nukleokapsid in voller Länge (N) und die N-terminale Domäne des Nukleokapsids (N-NTD) gemessen [7,8]. Ein solch umfassender Immunoassay ermöglicht die SARS-CoV-2-Antikörperreaktion im Detail zu untersuchen und des Weiteren mögliche Kreuzreaktionen zu den endemischen Coronaviren zu analysieren. Die nachfolgende Tabelle zeigt die Ähnlichkeit und Identitätswerte der Aminosäurensequenzen der endemischen Coronaviren mit SARS-CoV-2 auf, um zu verdeutlichen, dass Kreuzreaktionen aufgrund dessen möglich sind.

Tabelle 2: Identitätswert und Ähnlichkeit der N- und S-Aminosäuresequenzen von SARS-CoV-2 mit den endemischen Coronaviren in % [41]**, Tabelle von mir modifiziert nach** [41]**.**

	SARS-CoV-2		**SARS-CoV-2**	
	N-Protein		**S-Protein**	
	Identitätswert	**Ähnlichkeit**	**Identitätswert**	**Ähnlichkeit**
HCoV-HKU-1	33,3	64,1	29,2	59,0
HCoV-OC43	34,8	61,7	30,5	58,2
HCoV-NL63	34,0	65,3	30,3	59,8
HCoV-229E	28,5	57,9	32,2	63,0

„Identität ist die Anzahl der identischen Aminosäuren zwischen den beiden Proteinen; Ähnlichkeit beschreibt die Ähnlichkeit zweier Proteinsequenzen unter Berücksichtigung der chemischen Eigenschaften der Aminosäuren und unter Einbeziehung von Lücken. Die Identitäts- und Ähnlichkeitswerte wurden mit dem FASTA-Programm geschätzt.“[41].

Zusätzlich können Antikörper gegen die Rezeptor-Bindungsdomäne der SARS-CoV-2 Varianten aus dem Vereinigte Königreich (Alpha, B.1.1.7), Südafrika (Beta, B.1.351), Südkalifornien

(Epsilon, B.1.429) und eine Nerzvariante (Cluster 5, B.1.1.298) untersucht werden. Die Alpha Variante unterscheidet sich durch 23 Nukleotidmutationen im Genom vom Wildtyp [33]. Dies bewirken unter anderem 14 mal eine Aminosäureveränderung, drei Deletionen und sechs Mal einen Aminosäureaustausche im Spike-Protein (N501Y, A570D, P681H, T716I, S982A und D1118H) und zwei NTD-Deletionen (ΔH69-V70 und ΔY144) [33]. Die Beta Variante weist 12 Mutationen auf wovon diese 4 Mutationen K417N, E484K, N501Y und E516Q die RBD Region des Spike Proteins verändern [33]. S13I, W152C, L452R und D614G sind die vier Mutationen der Epsilon Variante [33]. Die Variante, die erstmalig in Dänemark bei Menschen und Nerzen nachgewiesen wurde, wies mehrere Spike-Protein Mutationen (ΔH69-V70, Y453F, I692V und M1229I) auf und wurde als Cluster 5 (B1.1.298) bezeichnet [33,44,49].

Die Tabelle 3 liefert einen Überblick über die messbaren Antikörper im MultiCoV-Ab. Die Sensitivität wird mit 88,7 % und die Spezifität mit 100 % angegeben [7].

Tabelle 3: Übersicht der messbaren Antikörper im MultiCoV-Ab

SARS-CoV-2:
• Spike Trimere in voller Länge
• Rezeptor-Bindungsdomäne (RBD)
• S1-Domäne (S1)
• S2-Domäne (S2)
• Nukleokapsid in voller Länge (N)
• N-terminale Domäne des Nukleokapsids (N-NTD)
Rezeptor-Bindungsdomäne der Varianten aus:
• Vereinigten Königreich
• Südafrika
• Südkalifornien
• eine Nerzvariante aus Dänemark
endemischen Coronaviren mit jeweils N, N-NTD und Spike:
• NL63
• 229E
• OC43
• HKU1

Die Abbildung 7 stellt das Testprinzip des MultiCoV-Abs, einem Magnetischen Luminex Assays dar.

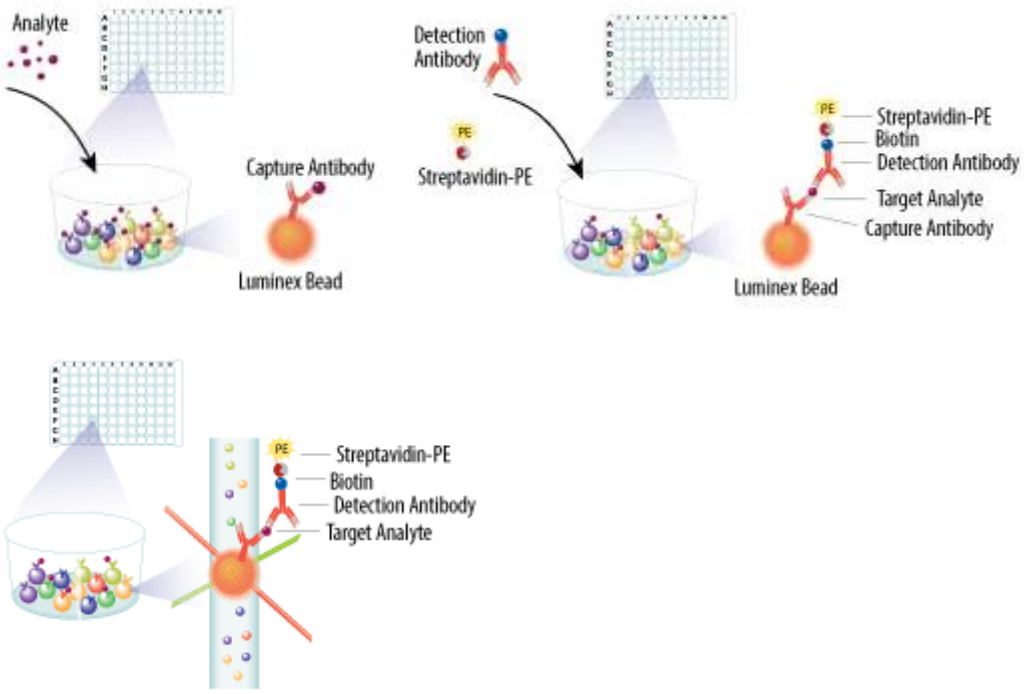

Abbildung 7: Übersicht Luminex Assay Prinzip [112]

Im ersten Schritt werden die zu untersuchenden Serumproben in die 96-Loch-Platte gegeben. Nach Abzug der Kontrollen können 88 Proben pro Durchlauf auf die verschiedenen Antikörper gleichzeitig untersucht werden. Die Probe wird zu einer Mischung aus farbkodierten Beads gegeben, die mit Analyt spezifischen Antikörpern vorbeschichtet sind [112]. Die Antikörper binden an die Analyten von Interesse. In einem zweiten Schritt werden biotinylierte Nachweisantikörper, die spezifisch für die Analyten von Interesse sind, hinzugefügt und diese bilden ein Antikörper-Antigen-Sandwich [112]. Phycoerythrin (PE)-konjugiertes Streptavidin wird zugegeben. Es bindet an die biotinylierten Nachweisantikörper. In einem dritten Schritt werden die Beads auf einem durchflussbasierten Detektionsgerät mit zwei Lasern gelesen, wie dem Luminex 200™-Analysegerät [112]. Ein Laser klassifiziert das Bead und bestimmt den Analyten, der nachgewiesen wird. Der zweite Laser bestimmt die Größe des von PE abgeleiteten Signals, das in direktem Verhältnis zur Menge des gebundenen Analyten steht [112].

Für die Durchführung dieses Testverfahrens steht am Institut für Virologie ein entsprechendes Gerät zur Verfügung: Luminex 200 der Firma Luminex, Niederlande, Het Zuiderkruis 1, NL-5215 MV.

3.3 Statistische Analyse

Die statistische Auswertung erfolge in der Arbeitsgruppe Prof. Smola in enger Zusammenarbeit mit dem Institut für Medizinische Biometrie, Epidemiologie und Medizinische Informatik, UdS

(Direktor: Prof. S. Wagenpfeil). Die Berechnungen wurden zum Großteil von Dr. Anna Sternjakob-Marthaler durchgeführt und Abbildungen in englischer Sprache erstellt. Ausgewertete Daten und fertige Abbildungen wurden mir für diese Arbeit zur Verfügung gestellt.

Die Daten wurden mit Graph Pad Prism 9 illustriert (Graph Pad Software, San Diego, USA). Zusätzlich wurden mit Graph Pad Prism 9 auch statistische Berechnungen unter Verwendung der angegebenen Tests durchgeführt. Signifikante Unterschiede wurden akzeptiert, wenn $p \leq 0,05$.

4 Ergebnisse

4.1 Auswahl und Durchführung der Antikörpertests

Da es in der Studienplanungsphase nur eine geringe Anzahl an Daten über die Performance von wenigen SARS-CoV-2 Antikörpertests gab, wurden drei verschiedene Testsysteme miteinander verglichen [2]. Meine Arbeit bestand darin die erforderlichen Proben aus den Tiefkühlschränken herauszusuchen und den Testverfahren zukommen zu lassen, wobei einige Proben von mir persönlich im Abbott getestet wurden. Danach habe ich die Ergebnisse Herrn Dr. Lohse zukommen gelassen, der sie weiterverarbeitet und grafisch dargestellt hat. Da der Anti-SARS-CoV-2-ELISA der Firma Euroimmun wurde als einer der ersten kommerziell erhältlichen Tests in einigen seroepidemiologischen Studien [65,66,73] benutzt und daher auch hier verwendet. Die verwendeten Antikörpertests der Firmen Euroimmun und Abbott, die gegen das Spike-Protein bzw. das Nukleokapsid gerichtete Antikörper messen, wiesen eine niedrigere Testperformance auf als der Antikörpertest der Firma Roche zum Nachweis von Gesamtantikörpern gegen das Nukleokapsidprotein. Der Roche-Ig wies in unserer Analyse mit Prä-Pandemischen Seren von Patienten mit PCR-bestätigten Infektionen mit endemischen Infektionen der Corona Stämme OC43, NL63, HKU1 und 229E eine 100-prozentige Spezifität (95 % KI: [97,02; 100]) auf. Genauso war die Sensitivität vom Roche-Ig die höchste mit 90,16 % (95 % KI: [79,81; 96,30]) in der Detektion von SARS-CoV-2 Antikörper in Seren von rekonvaleszenten, also genesenen Spendern (Tabelle 4: Assay Performance Daten [54]). Diese Ergebnisse bestätigte das Paul-Ehrlich-Institut, das Bundesinstitut für Impfstoffe und biomedizinische Arzneimittel, in einer Studie [69] (Tabelle 1: Anti-SARS-CoV-2 Antikörpertests **[54]**).

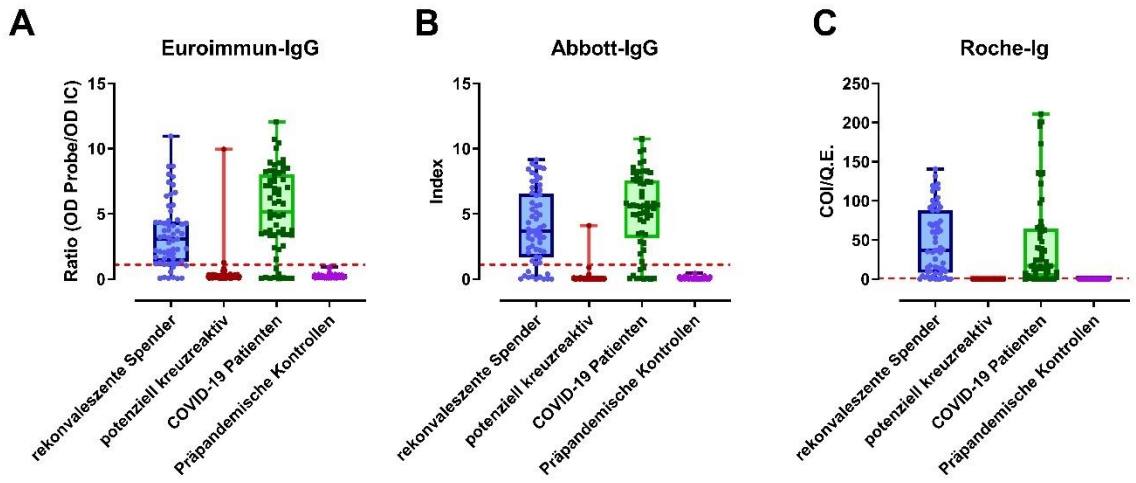

Abbildung 8: Assay Performance Daten [54]**. Diese Abbildung wurde mir von Dr. Stefan Lohse zur Verfügung gestellt.**

Bewertung der Test Performance durch Untersuchung auf Antikörper gegen SARS-CoV-2 in Seren von rekonvaleszenten Spendern mit milder oder asymptomatischer Infektion, von potentiell kreuzreaktiven Patienten mit PCR-bestätigten Infektionen mit endemischen Coronaviren, von COVID-19 Patienten mit schwererem Verlauf und von Prä-Pandemischen Kontrollproben. Die Daten sind dargestellt als OD-Ratio für Euroimmun-IgG, Index für Abbott-IgG und COI/Q.E. für Roche-Ig.

Tabelle 4: Assay Performance Daten [54]**. Diese Tabelle wurde mir von Dr. Stefan Lohse zur Verfügung gestellt.**

Rekonvaleszente Spender				**Potentiell kreuzreaktive Proben**			
	EI-IgG	**Abbott-IgG**	**Roche-Ig**		**EI-IgG**	**Abbott-IgG**	**Roche-Ig**
n	61	61	61	**n**	128	78	122
positive	52	49	55	**Kreuzreaktionen**	2	4	0
% negative	14,75	19,67	9,84	**%**	1,67	1,69	0
Sensitivität (%)	85,25	80,33	90,16	**Spezifität (%)**	98,33	98,31	100
KI (%)	73,83 - 93,02	68,16 - 89,04	79,81 - 96,30	**KI (%)**	94,47 - 99,81	87,39 - 98,59	97,02 - 100,00

Berechnung der Sensitivität in Seren von rekonvaleszenten Spendern und der Spezifität anhand der individuellen Testperformance in Abbildung 8: Assay Performance Daten [54]. Euroimmun-IgG = EI-IgG. Die 95 % Konfidenz Intervalle werden nach Clopper und Pearson berechnet [17].

4.2 Langzeit-Performance der SARS-CoV-2-Antikörpertests

Idealerweise erkennen Antikörpertests für Seroprävalenzstudien seropositive Personen während des gesamten Studienzeitraumes als positiv. Um diese Langzeit-Performance der drei Antikörpertests zu evaluieren, wurden von 27 zufällig ausgewählten rekonvaleszenten SARS-CoV-2 positiven, nicht hospitalisierten Personen in regelmäßigen Abständen von April bis Oktober 2020 Serumblutproben abgenommen und in allen drei Tests analysiert (siehe Abbildung 9). Während des Untersuchungszeitraumes nahmen die Antikörperlevel sowohl im Euroimmun-IgG als auch im Abbott-IgG für die Mehrheit der Patienten ab. Die Werte für den Roche-Ig nahmen gegensätzlicher weise bei einigen Teilnehmern im Testverlauf stark zu.

In Abbildung 9 wurden die Daten der 27 rekonvaleszenten Spender gruppiert in den drei Antikörpertests ausgewertet. Dabei konnte bemerkt werden, dass die Antikörperlevel sowohl im Euroimmun-IgG als auch im Abbott-IgG für die Mehrheit der Patienten abnahm (siehe Abbildung 9 A und B). Im Gegensatz dazu nahmen die Antikörperlevel im Roche-Ig zu, was in der Abbildung 9 D durch die lineare Regressionsanalyse bestätigt wurde. Dort zeigte sich eine ansteigende Gerade für die Antikörperlevel im Roche-Ig, wohingegen die Geraden im Euroimmun-IgG und Abbott-IgG abfallenden waren. In Abbildung 9 E wurde die durchschnittliche Steigung der linearen Regressionsgeraden für die drei Antikörpertests angegeben. Nur im Roche-Ig wurde eine positive Steigung von 0,25 ± 0,35 erreicht, wohingegen die Steigungen für den Euroimmun-IgG und Abbott-IgG beide negativ waren. Folglich waren die gemessenen Antikörperlevel im Roche-Ig Test auch signifikant höher am letzten Tag der Messung, verglichen zum ersten Tag der Messung. Im Gegensatz dazu nahmen die Antikörper-Level für den Euroimmun-IgG und den Abbott-IgG zur letzten Messung deutlich ab. Außerdem waren 7 (25,9 %) Serumproben am letzten Tag des Untersuchungszeitraumes im Euroimmun-IgG negativ bzw. wurden 15 (55,6 %) Proben im Abbott-IgG negativ auf Antikörper untersucht (siehe Abbildung 9 G). Im Roche-Ig wurden alle Proben im gesamten Zeitraum bis zu über 180 Tage positiv

getestet, daher wurde keine Seroreversion beobachtet. Die durchschnittliche Zeitdauer bis zur Seroreversion betrug 97,29 ± 48,46 (95 % KI: [52,47; 142,1]) Tage im Euroimmun-IgG und 113,1 ± 42,23 (95 % KI: [89,75; 136,5]) Tage für den Abbott-IgG (siehe Abbildung 9 H).

Zusammengefasst zeigte sich, dass sich die Ergebnisse deutlich in Abhängigkeit vom verwendeten Testsystem unterschieden. Durch die dominierende Spezifität und Langzeit-Performance vom Roche-Ig war dieses Testsystem besonders geeignet für die SARS-CoV-2 Antikörper Prävalenzstudie und um darauf aufbauende Berechnungen anzustellen.

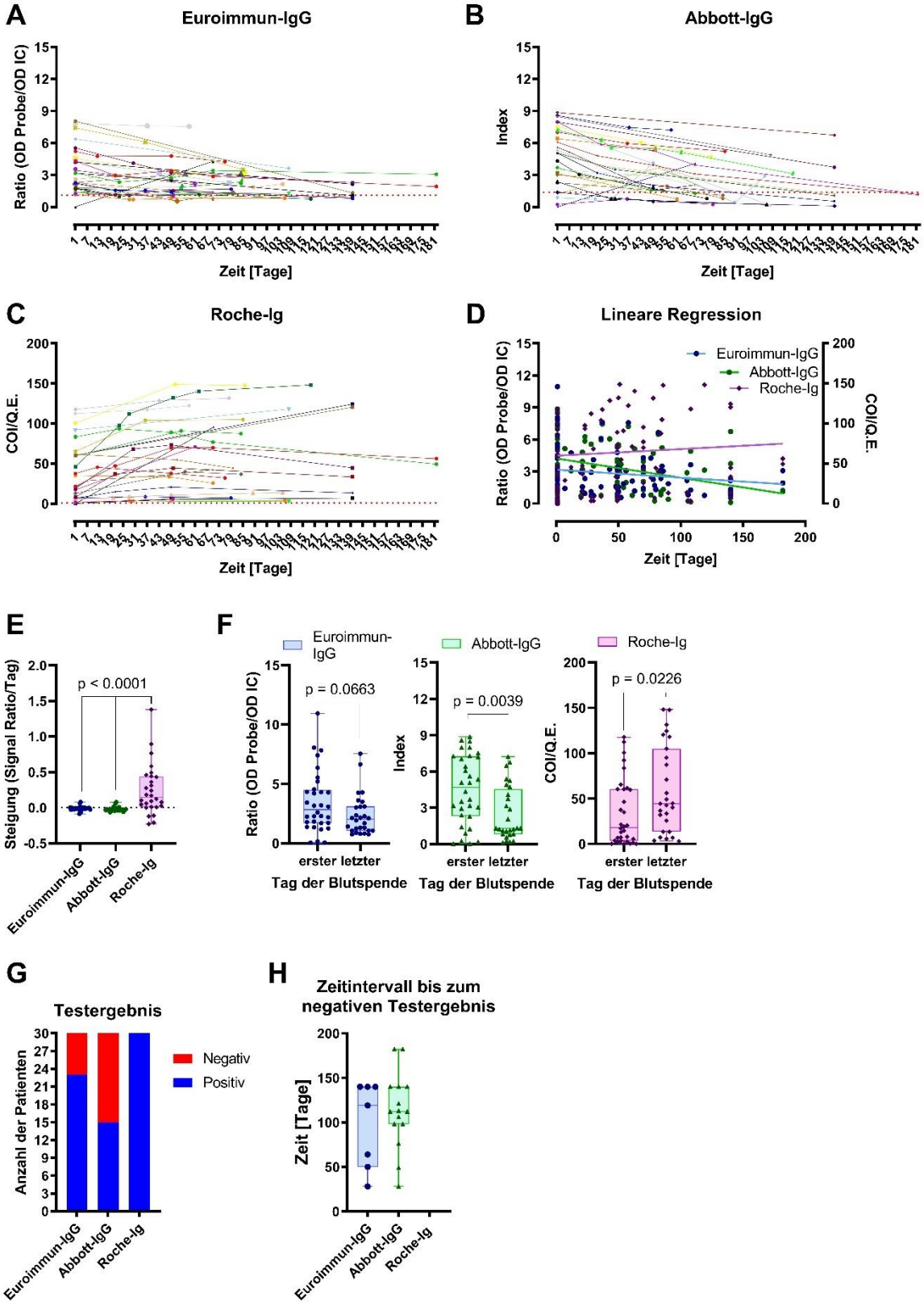

Abbildung 9: Unterschiede in der Längsschnittleistung von SARS-CoV-2-Antikörpertestsystemen [54] **Diese Abbildung wurde mir von Dr. Stefan Lohse zur Verfügung gestellt.**

A-C) Zeitlicher Verlauf der serologischen Testergebnisse von 27 rekonvaleszenten Spendern; identische Seren wurden mit den drei verschiedenen Assays (Euroimmun-IgG, Abbott-IgG und Roche-Ig) getestet. D) Berechnung der linearen Regression über alle Datenpunkte des jeweiligen Assays aus A-C. E) Berechnung der mittleren Steigung durch einfache lineare Regressionsanalyse. F) Vergleich der Antikörpertestergebnisselevel vom ersten und letzten Serumspendetag in den einzelnen Assays. G) Anzahl positiver und negativer Testergebnisse beim letzten individuellen Blutspendetermin. H) Zeitintervall nach dem ein negatives Antikörpertestergebnis von rekonvaleszenten Spendern mit zuvor positiv getesteten Seren gemessen wurde. Die Daten sind dargestellt als OD-Ratio für Euroimmun-IgG, Index für Abbott-IgG und COI/Q.E. für Roche-Ig in A-D und F, Steigung (Signal Ratio/Tage) in E, Anzahl an Patienten in G, Zeit in Tage in H. Signifikanzen wurden mit einseitiger ANOVA mit Tukey-Korrektur ($t = 3{,}005$, $df = 110$) in E und ungepaarter zweiseitiger t-Test ($t = 15{,}05$, $df = 58$) in F berechnet, und die sich daraus ergebenden p-Werte sind abgebildet.

4.3 Auswahl der repräsentativen Studienpopulation im Saarland

Für die erste Einladungsphase wurden die ersten 5.000 Personen aus dem Datensatz der 10.000 repräsentativen Zufallsstichproben der saarländischen Bevölkerung ausgewählt. Von den ersten 5.000 angeschriebenen Personen nahmen 1.334 Personen ab dem am 22. Juli 2020 teil. Es wurde Ende August 2020 ein Erinnerungsschreiben an alle Nichtteilnehmer ohne die Personen, die entweder telefonisch oder postalisch abgesagt haben, verstorben waren oder deren Postanschrift fehlerhaft war, gesendet. Zusätzlich wurde eine verlängerte Teilnahmefrist angegeben, um eine höhere Bereitschaft zur Teilnahme anzustreben, da zwischenzeitlich noch saarländische Schulferien waren und es anzunehmen war, dass einige Personen noch verreisen würden. Mitte September 2020 wurden weitere 5.000 Einladungsschreiben an eine nochmals angepasste Zufallsstichprobe versendet, um eine Verzerrung durch die bisherigen Teilnehmer möglichst zu minimieren. Durch das Erinnerungsschreiben und die zweite Einladungswelle nahmen weitere 1.606 Personen an der Studie teil, sodass insgesamt Daten und Blutproben von 2.940 Personen ausgewertet wurden. Die Studie endete am 15. Oktober 2020, als die Coronafallzahlen wieder exponentiell stiegen und den Beginn der 2. Coronawelle im Saarland markierten. Somit repräsentiert der SaarCoP-Studienzeitraum die 1. Coronawelle und die Plateauphase im Saarland. Bis zum 15. August 2020 spendeten etwa 40 %, bis zum 15. September 55 % und bis zum 15. Oktober 100 % der Teilnehmer Blut und beantworteten ihren Fragebogen entweder online

oder im Papierformat. Um den angeschriebenen Personen die Teilnahme an der Studie zu erleichtern wurden 29 Hausarztpraxen, verteilt über das ganze Saarland, ausgewählt, in denen die Blutentnahmen möglich waren. Zusätzlich gab es die Möglichkeit Hausbesuche zu terminieren, um auch immobilen oder behinderten Personen die Teilnahme zu erleichtern, was auch in 14 Fällen genutzt wurde. Die relative Beteiligung variierte zwischen den Landkreisen von 0,71 (Saarlouis) bis 1,88 (Merzig-Wadern). Dennoch lag die relative SARS-CoV-2 PCR-Positivität zwischen den sechs Landkreisen nur zwischen 0,89 (Neunkirchen und Merzig-Wadern) und 1,12 (Saarbrücken), was darauf hindeutet, dass die Infektionen im Saarland relativ gleichmäßig verteilt waren und dass daher keine Hotspotregionen zu finden waren. Allerdings zeigte diese Studie zeigte, dass es größere Unterschiede bei den SARS-CoV-2-bedingten Todesfälle zwischen den Bezirken gab. Insbesondere im Landkreis Merzig-Wadern, der in unserer Studie relativ überrepräsentiert war, wurden nur wenige Todesfälle beobachtet, wobei dieser Landkreis nur 10,5 % der saarländischen Bevölkerung ausmacht. Die Mehrheit aller Studienteilnehmer war weiblich (56,5 %) und von den Teilnehmern waren 29,5 % < 45 Jahre alt, 55,5 % waren 45 - 69 Jahre alt und 15 % waren 70 Jahre oder älter [54]. Bemerkenswert war zusätzlich, dass 4,55 % der Studienteilnehmer über 70 Jahren Bewohner von Altenpflegeeinrichtungen waren und da 6,8 % der gesamten saarländischen Bevölkerung über 70 Jahren Bewohner von Altenpflegeeinrichtungen waren [113], ist dieser Anteil in der Studienpopulation angemessen repräsentiert.

4.4 Fallbezogene Fatalitätsrate während der 1. Pandemiewelle

In Deutschland begann die 1. Pandemiewelle Anfang März 2020 und endete im Übergang in das Sommerplateau Ende Mai 2020, in dem die Zahl an SARS-CoV-2 Infektion relativ konstant blieb [80]. Mit Beginn der 2. Pandemiewelle Anfang Oktober 2020 stiegen auch wieder die Infektionszahlen. Die 1. Pandemiewelle war durch einen steilen Anstieg der Infektionszahlen und Todesfälle bis Mitte April 2020 gekennzeichnet. Die fallbezogene Fatalitätsrate (CFR) betrug 12,7 % bei den über 18-Jährigen auf Grundlage von PCR bestätigten Fällen und der Anzahl an Covid-19 Toten 14 Tage später [54] . Laut dem Saarländischen Gesundheitsministerium trugen lokale Ausbrüche in Langzeitpflegeeinrichtungen und Altenheimen mit 9,32 % aller PCR-bestätigten Infektionen und 52,5 % aller Todesfälle im Saarland bis 15. Oktober 2020 zu diesem Anstieg bei. Ein erhöhtes Infektionsaufkommen bei Personen über 70 Jahren führte zu einer signifikanten temporären Verschiebung des Medianalters von PCR-bestätigten SARS-

CoV-2-Infizierten von 49,9 auf 56,2 Jahre (p<0,0001). Zudem betrug die CFR in der Altersgruppe über 70 Jahre 71,895 %, bzw. in der Altersgruppe 18 - 69 Jahre 2,576 % [54]. Ein Plateau mit relativ gleichbleibenden Zahlen an SARS-CoV-2-Infektionen und Todesfälle über alle Altersgruppen wurde im Zeitraum von Juli bis Oktober 2020 erreicht. Das Durchschnittsalter der Todesfälle stieg bis zum 15. Oktober 2020 leicht von 80,2 auf 80,9 Jahre an und erhöhte sich nach der ersten Pandemiewelle weiter auf 82,7 Jahre (p<0,0113) [54]. Gegen Ende der ersten Pandemiewelle war die CFR mit 5,619 % in der Altersgruppe über 18 Jahre rückläufig und ging in der Altersgruppe 18 - 69 Jahre im Herbst 2020 auf 1,162 % zurück [54].

4.5 SARS-CoV-2-Seroprävalenz bei Erwachsenen

Die Serumproben von allen 2.940 Studienteilnehmern wurden in den drei verschiedenen SARS-CoV-2 Antikörpertests untersucht. 54 von 2.940 Personen wurden mindestens in einem Antikörpertest positiv getestet. 33 Personen erhielten im Abbott-IgG, 28 im Euroimmun-IgG und 27 im Roche-Ig ein positives Ergebnis Siehe Tabelle 5 [54].

Die reinen Seroprävalenzen wurden für jeden der drei SARS-CoV-2-Antikörpertests berechnet und sind in Quelle [54] abgebildet. Im zweiten Schritt erfolgte eine Alters- und Geschlechtsbereinigung, um unsere Stichprobe der saarländischen Bevölkerung anzugleichen, sodass die alters- und geschlechtsadjustierte Seroprävalenz 1,17 % (95 % KI: [0,87; 1,78]) für den Abbott-IgG, 0,97 % [0,71; 1,55] für den Euroimmun-IgG und 0,92 % (95 % KI: [0,67; 1,48]) für den Roche-Ig betrug [54]. Diese adjustierten Werte variieren je nachdem welches Geschlecht betrachtet wird. Im letzten und dritten Schritt wurden diese adjustierten Daten in Bezug auf die in Tabelle 1 vom PEI ermittelten Testleistungen Sensitivität und Spezifität korrigiert. Eine geringe Veränderung der Werte war das Ergebnis für den Roche-Ig. Dort stieg die Seroprävalenz für Personen über 18 Jahren ganz leicht auf 1,02 % (95 % KI: [0,64; 1,44]), bzw. auf 1,15 % (95 % KI: [0,54; 1,87]) für Männer und auf 0,91 % (95 % KI: [0,48; 1,39]) für Frauen an [54]. Diese Korrektur hatte einen großen Einfluss auf die Ergebnisse sowohl für Euroimmun-IgG als auch für Abbott-IgG. Die deutlich niedrigere Sensitivität im Euroimmun-IgG resultierte in der niedrigsten korrigierten Seroprävalenz für alle Personen über 18 Jahre von 0,32 % und einem sehr weitem 95 % Konfidenzintervall von [-0,66; 1,10] [54]. Die korrigierte Seroprävalenz für den Abbott-IgG betrug 0,65 % (95 % KI: [-0,20; 1,41]), wurde also auch deutlich geringer [54].

Dies unterstrich wiederum die Wichtigkeit der hohen Sensitivität und Spezifität, also der Testperformance eines Antikörpertests, für Seroprävalenzstudien in Zeiträumen mit niedriger Seroprävalenz, die eine valide Datenerhebung erst ermöglicht.

Tabelle 5: Ergebnisse der SARS-CoV-2 Antikörpertests [54]**. Diese Tabelle wurde mir von Dr. Anna Sternjakob-Marthaler zur Verfügung gestellt.**

positives Testergebnis	**Positive Personen, n = 54**	**18 - 44 Jahre**	**45 - 69 Jahre**	**≥ 70 Jahre**	♂	♀
nur Abbott-IgG	14	3	9	2	6	8
nur Euroimmun-IgG	13	3	6	4	6	7
nur Roche-Ig	6	0	6	0	4	2
Abbott-IgG & Roche-Ig	6	4	2	0	3	3
Euroimmun-IgG & Roche-Ig	2	1	1	0	0	2
Abbott-IgG, Euroimmun-IgG & Roche-Ig	13	7	4	2	5	8
	Anzahl an positiven Tests, n = 88	**18 - 44 Jahre**	**45 - 69 Jahre**	**≥ 70 Jahre**	♂	♀
Abbott-IgG	33	14	15	4	14	19
Euroimmun-IgG	28	11	11	6	11	17
Roche-Ig	27	12	13	2	12	15

4.6 Untererfassungsrate und Infektions-Sterbe-Rate bei Erwachsenen

Nach einer Infektion mit SARS-CoV-2 dauert es eine gewisse Zeit, bis der Körper Antikörper gegen SARS-CoV-2 gebildet hat. Unter der Annahme, dass eine Serokonversion 14 Tage nach

einer Infektion mit SARS-CoV-2 in der 1. Pandemiewelle benötigt, wird die Untererfassungsrate für alle Erwachsenen aus der Rate an PCR-bestätigten Fällen im Saarland vom 1. Oktober 2020 (0,38 % Quelle: Saarländisches Gesundheitsministerium) und den nach Testperformance korrigierten Seroprävalenzdaten vom 15. Oktober 2020 berechnet, sodass die Untererfassungsrate das 2,68-fache (95 % KI: [1,68; 3,79]) für Roche-Ig beträgt [54]. Folglich würden auf die 3.221 PCR gemeldeten SARS-CoV-2 positiven Fälle am 1. Oktober 2020 weitere 8.632 Fälle durch die Aufdeckung durch die Seroepidemiologie kommen, sodass eine wahrscheinlichere Fallzahl 11.853 wäre und 1,398 % der Saarländischen Bevölkerung infiziert gewesen wären. Erneut variieren sowohl die Ergebnisse als auch die 95 % Konfidenzintervalle stark voneinander, in Abhängigkeit von dem zugrundeliegenden Test. So beträgt die Untererfassungsrate das 1,69-fache (95 % KI: [-0,49; 3,74]) für Abbott-IgG und das 0,84-fache (95 % KI: [-1,74; 2,89]) für Euroimmun-IgG [54]. Ein Vergleich der drei Testsysteme zeigt, dass die Untererfassungsrate mit einem Test mit geringerer Sensitivität, Spezifität und Langzeitperformance entweder nicht aufgedeckt werden kann (Euroimmun-IgG), oder viel geringer ausfällt (Abbott-IgG). Um die Infektions-Sterbe-Rate (IFR) am Ende der 1. Pandemiewelle / Plateauphase im Saarland abzuschätzen, wurde die Infektions-Sterbe-Rate mithilfe des Roche-IgG Tests auf 2,09 % (95 % KI: [1,48; 3,32]) berechnet [54]. Für Abbott-IgG betrug die Schätzung 3,32 % (95 % KI: [-17,85; 26,16]) und für Euroimmun-IgG 6,66 % (95 % KI: [-54,98; 60,53]) [54]. Bei beiden Tests wurde mit sehr breiten 95 % Konfidenzintervallen gearbeitet, wobei die letzte IFR sogar höher war als die ausgerechnete fallbezogene Fatalitätsrate (CFR) von 5,62 %. Folglich wird erneut verdeutlicht, dass die Testperformance von außerordentlicher Wichtigkeit nicht nur für die Berechnung der Seroprävalenz sondern auch für die Berechnung der IFR ist.

Da COVID-19-Todesfälle in Pflege- oder Altenheimen die gesamte Infektions-Sterbe-Rate der saarländischen erwachsenen Bevölkerung deutlich beeinflussen können [114], wurden weitere Berechnungen für eine Altersgruppe unter 70 Jahren getätigt, da es anzunehmen ist, dass dieses Personenkollektiv eher in Privathauhalten wohnt als in Pflege- oder Altenheimen. In dieser Altersgruppe 18 - 69 Jahre wurde eine deutlich niedrigere CFR von 1,16 % bis zum 15. Oktober 2020 berechnet [54]. Die alters- und geschlechtsadjustierte Seroprävalenz wurde mit 1,06 % (95 % KI: [0,75; 1,68]) angegeben, bzw. mit 1,07 % (95 % KI: [0,60; 2,07]) für Männer und mit 1,06 % (95 % KI: [0,65; 1,77]) für Frauen für Roche-Ig [54]. Nach der dritten Anpassung bzw. Korrektur der Testperformance wurde die Seroprävalenz auf 1,18 % (95 % KI: [0,72; 1,68]), die Untererfassungsrate auf 3,20-fach (95 % KI: [1,96; 4,60]) und die IFR auf 0,36 % (95 % KI: [0,25; 0,59]) für die saarländische Bevölkerung im Alter von 18 - 69 Jahren geschätzt

[54]. In der Altersgruppe über 70 Jahren betrug die IFR 18,06 [54]. Dabei wird die deutliche Differenz zur Altersgruppe über 18 Jahre einschließlich der älteren Bevölkerung ersichtlich.

4.7 Infektionssymptome

Nicht alle Personen wiesen während einer Infektion mit SARS-CoV-2 Symptome auf. Um zu untersuchen, wie viele Studienteilnehmer Symptome aufwiesen, wurde dies explizit im Fragebogen angesprochen.

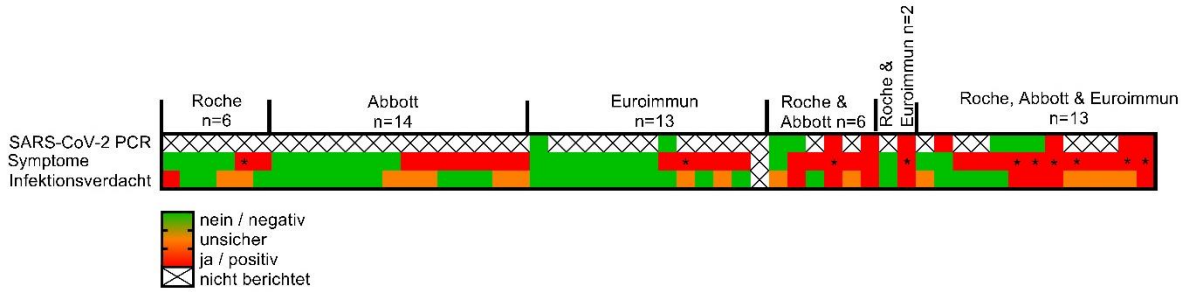

Abbildung 10: Heatmap mit PCR, Symptome und Infektionsverdacht [54]**. Diese Abbildung wurde mir von Dr. Anna Sternjakob-Marthaler zur Verfügung gestellt.**

Die Heatmap wurde mithilfe der Fragebogenantworten von 54 Personen, die in mindestens einem Antikörpertest ein positives Ergebnis erhielten, erstellt. Dargestellt wurde, ob die jeweilige Person mit einen PCR-Test getestet wurde, ob für eine Coronainfektion typische Symptome vorlagen und es wurde nach Ihrer Selbsteinschätzung bezüglich einer möglichen Coronainfektion gefragt. Ein grünes Feld deutete in diesem Zusammenhang auf ein Nein, bzw. ein negatives Ergebnis hin, ein rotes Feld wies auf ein Ja, bzw. ein positives Ergebnis hin. Die Farbe Orange wies auf eine unsichere Antwort des Teilnehmers hin, genauso wie ein X eine unbeantwortete Frage anzeigte. Ein Stern wies auf Geruchs- oder Geschmacksverlust hin.

Auffällig war, dass 70,27 % der Personen mit nachgewiesenen Antikörper gegen SARS-CoV-2 im Roche-Ig typische Symptome wie Husten, Fieber oder Schnupfen [15,70] im Fragebogen angegeben hatten. Im Euroimmun-IgG waren es hingegen nur 60,71 % der antikörperpositiven Teilnehmer. Genauso traten dort nur bei 17,86 % der 28 Personen mit Antikörpern im Euroimmun-IgG Geruchs- oder Geschmacksverluste auf. Von den 27 Personen im Roche-Ig wiesen 10 diese Symptome auf, also 37,04 % und 58,33 % erhielten einen positiven PCR-Test. Von den 33 Personen mit einem positiven Testergebnis im Abbott-IgG wiesen 69,70 % die typischen Symptome auf, 21,21 % Geruchs- oder Geschmacksverluste und 54,55 % wurden auch positiv im PCR-Testverfahren getestet. Zusammengefasst ließ sich vermerken, dass 57,4 % der SARS-

CoV-2 antikörperpositiven Studienteilnehmern auch Symptome wie Fieber, Husten oder Schnupfen aufwiesen und 18,5 % von allen auch von Geruchs- oder Geschmacksverlust berichteten.

4.8 MultiCoV-Ab

Von 2.940 Studienteilnehmern wurden 54 positiv auf Antikörper gegen SARS-CoV-2 in mindestens einem Antikörpertest getesteten. Die Antikörpertests der Firmen Euroimmun und Abbott, die gegen das Spike-Protein bzw. das Nukleokapsid gerichtete IgG-Antikörper messen, unterscheiden sich zum Antikörpertest der Firma Roche, der Gesamtantikörpern gegen das Nukleokapsidprotein nachweisen kann. Von diesen 54 antikörperpositiven Personen standen 44 Blutproben bei minus 88 Grad Celsius für den vierten Antikörpertest, den MultiCoV-Ab zur Verfügung. Die verbliebenden 10 Blutproben der antikörperpositiven Teilnehmer wurden im Zuge der Testung in den drei Antikörpertests aufgebraucht und standen daher für den MultiCoV-Ab nicht mehr zur Verfügung. Die 44 Blutproben teilten sich wie folgt in fünf Gruppen auf: Elf Blutproben stammten von Personen die im Roche-Ig, Abbott-IgG und Euroimmun-IgG positiv sind. Fünf Blutproben waren im Roche-Ig und Abbott-IgG Test positiv. Sechs Blutproben waren im Roche-Ig positiv, neun nur im Abbott-IgG und 13 ausschließlich im Euroimmun-IgG positiv getestet worden. In den folgenden Abbildungen markieren die Buchstaben R, A und E die positive Antikörpertestung im Roche-Ig, Abbott-IgG und Euroimmun-IgG. So markiert in den folgenden Abbildungen R+A+E Studienteilnehmer, die in den drei Antikörpertests Roche-Ig, Abbott-IgG und Euroimmun-IgG positiv waren. Genauso wie R+A für ein positives Testergebnis im Roch-Ig und Abbott-IgG steht.

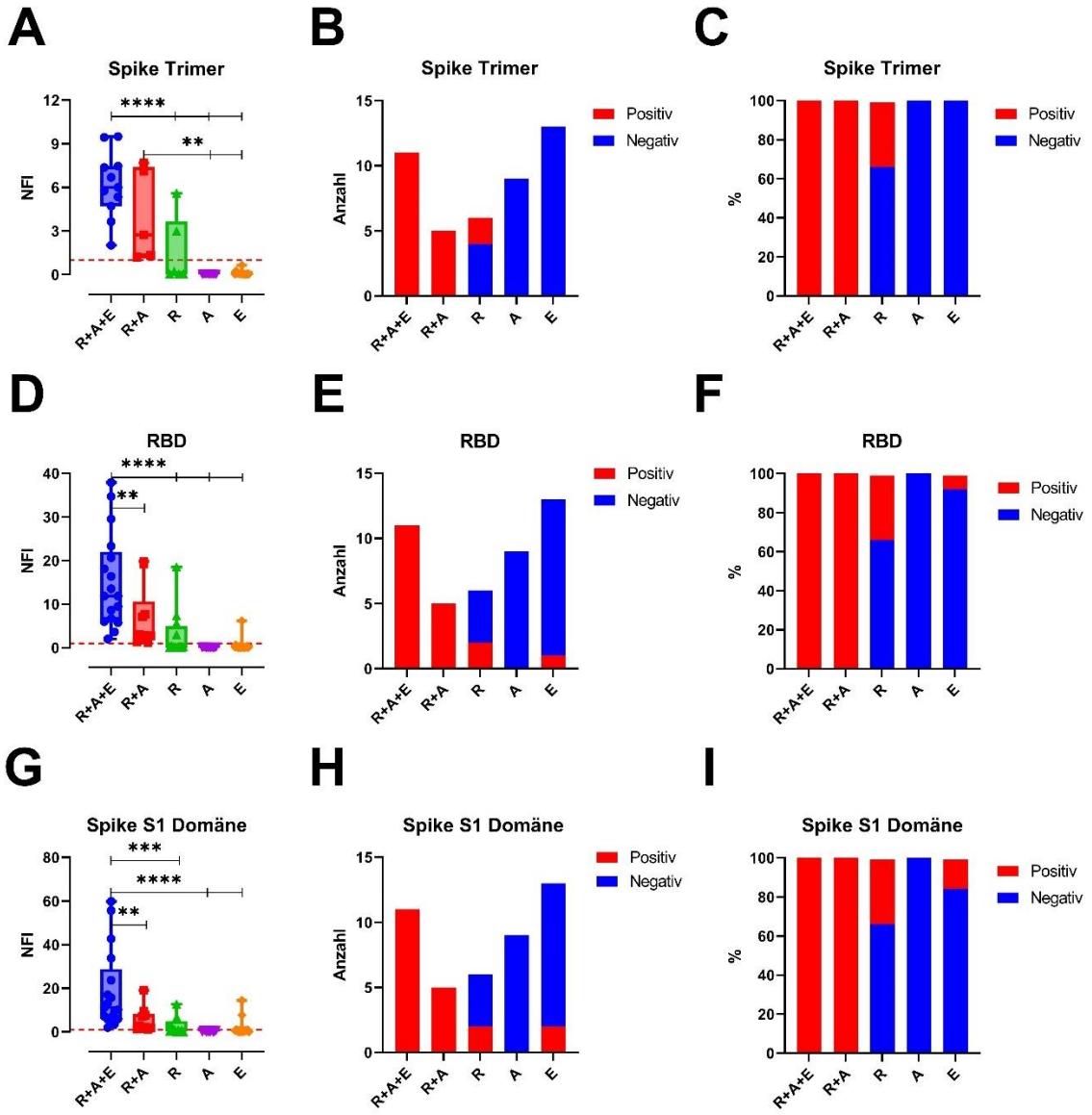

Abbildung 11: MultiCoV-Ab spezifisch für SARS-CoV-2 mit Spike Trimer, Rezeptorbindungsdomäne (RBD) und Spike S1 Domäne

In den Seren der Studienteilnehmer wurden mittels des Multi-CoV-Ab Tests Antikörper gegen SARS-CoV-2 Antigene wie das Spike Trimer (A-C), die Rezeptorbindungsdomäne (D-F) und gegen die Spike S1 Domäne (G-I) von SARS-CoV-2 gemessen. Dargestellt sind die Ergebnisse als „NFI“ (A, D, G), „Anzahl“ (B, E, H) der positiven und negativen Befunde und als „%“ (C, F, I) als Anteil der positiven und negativen Befunde an der Gesamtzahl in Abhängigkeit der vorangegangenen Ergebniskonstellation für die drei Testverfahren, Roche-Ig (R), Abbott-IgG (A) und Euroimmun-IgG (E). Signifikante Unterschiede wurden mittels two-way ANOVA und Tukey Korrektur für Mehrfachvergleiche berechnet und angegeben mit Sternen für signifikante Unterschiede (* $p \leq 0.05$, ** $p \leq 0.01$, *** $p \leq 0.001$).

In Abbildung 11 wurde deutlich, dass die Höhe der Antikörpertiter von Personen, die im Roche-Ig, Abbott-IgG und Euroimmun-IgG positiv waren, signifikant höher ausfiel als in einem einzigen Test. So gab es einen signifikanten Unterschied in A zwischen R+A+E und den einzelnen Testwerten von dem Spike Trimer ($p < 0,0001$). Auch in B und C wurde ein deutlicher Unterschied ersichtlich. So wurden im MultiCoV-Ab alle elf (R+A+E) bzw. fünf Proben (R+A) positiv auf Antikörper gegen das Spike Trimer getestet. Das entsprach einem positiven Ergebnis von 100 %. In den Serumproben von Teilnehmern, die nur in einem einzigen Antikörpertest positiv waren, wurden nur in zwei Proben diese Antikörper nachgewiesen. Die anderen 25 Proben waren negativ, alle Abbott- und Euroimmunproben waren negativ.

Im nächsten Schritt wurden Antikörper spezifisch für die RBD von SARS-CoV-2 gemessen. Hier zeigte sich ebenfalls, dass die Antikörpertiter im Falle der Dreifachpositiven (R+A+E) signifikant höher waren als bei Zweifach- ($p < 0,0083$) oder Einfachpositiven ($p < 0,0001$) (Abbildung 11, D-F). Zudem waren zu 100 % die R+A+E und R+A Proben positiv und die von A+ nur negativ.

Eine ähnliche Antikörperreaktion wurde gegen die Spike S1 Domäne von SARS-CoV-2 in der letzten Zeile deutlich. Die elf Proben mit R+A+E wiesen einen signifikanten Unterschied zu den anderen Gruppen und auch zu R+A auf ($p < 0,0090$) (Abbildung 11, G-I).

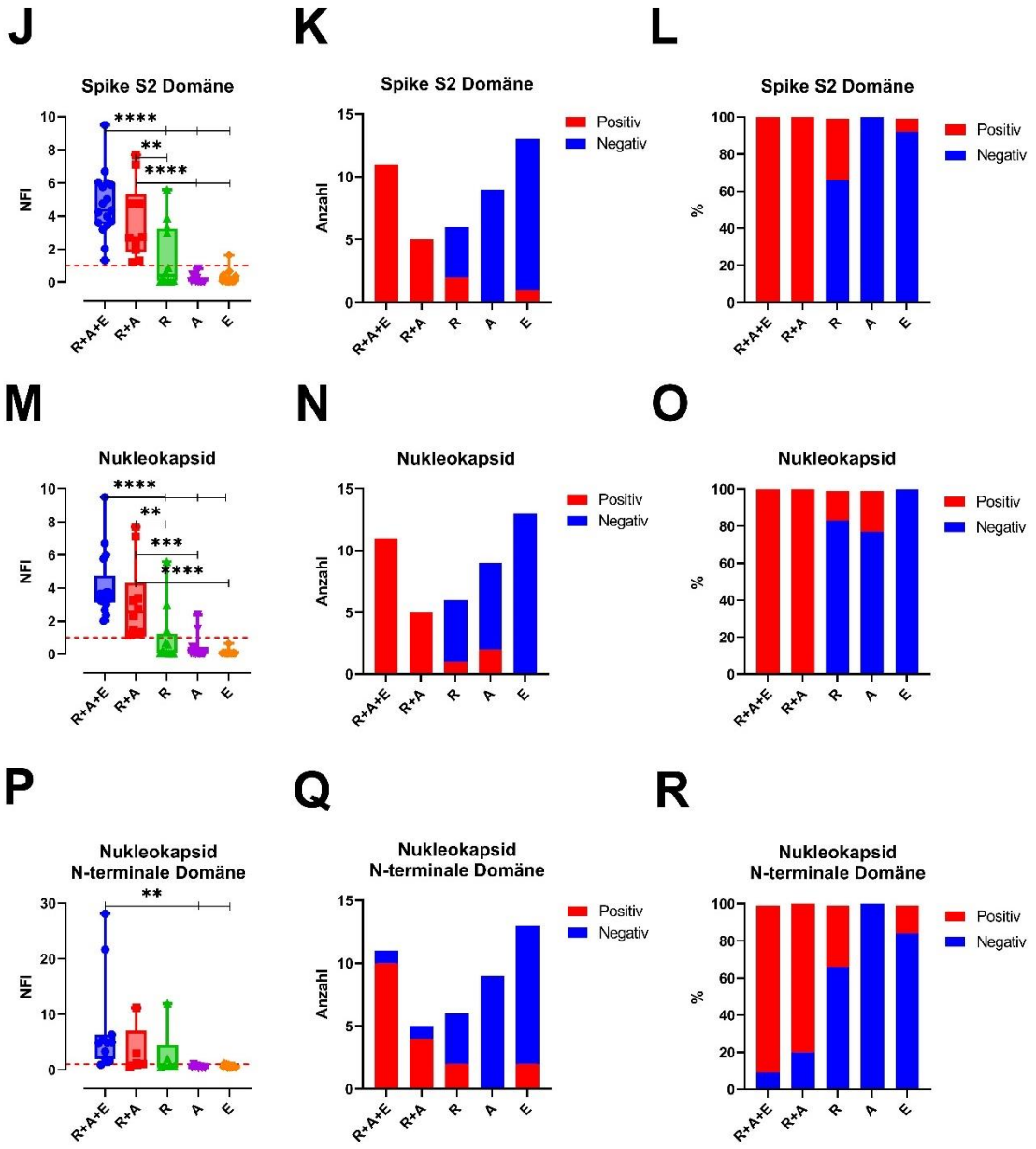

Abbildung 12: MultiCoV-Ab spezifisch für SARS-CoV-2 mit Spike S2 Domäne, Nukleokapsid und Nukleokapsid N-terminale Domäne

In den Seren der Studienteilnehmer wurden mittels des Multi-CoV-Ab Tests Antikörper gegen SARS-CoV-2 Antigene wie die Spike S2 Domäne (J-L), das Nukleokapsid (M-O) und gegen die Nukleokapsid N-terminale Domäne (P-R) von SARS-CoV-2 gemessen. Dargestellt sind die Ergebnisse als „NFI“ (J, M, P), „Anzahl“ (K, N, Q) der positiven und negativen Befunde und als „%“ (L, O, R) als Anteil der positiven und negativen Befunde an der Gesamtzahl in Abhängigkeit der vorangegangenen Ergebniskonstellation für die drei Testverfahren, Roche-Ig (R), Abbott-IgG (A) und Euroimmun-IgG (E). Signifikante Unterschiede wurden mittels two-way

ANOVA und Tukey Korrektur für Mehrfachvergleiche berechnet und angegeben mit Sternen für signifikante Unterschiede (* $p \leq 0.05$, ** $p \leq 0.01$, *** $p \leq 0.001$).

In Abbildung 12 wurde deutlich, dass die Höhe der Antikörpertiter von Personen, die im Roche-Ig, Abbott-IgG und Euroimmun-IgG positiv waren, signifikant höher ausfiel als in einem einzigen Test. So gab es einen signifikanten Unterschied in J zwischen R+A+E und den einzelnen Testwerten von der Spike S2 Domäne ($p < 0{,}0001$). Auch in K und L zeigte sich ein deutlicher Unterschied. So wurden im MultiCoV-Ab alle elf (R+A+E) bzw. fünf Proben (R+A) positiv auf Antikörper gegen die Spike S2 Domäne getestet, also 100 %. In den Serumproben von Teilnehmern, die nur in einem einzigen Antikörpertest positiv waren, wurden nur in drei Proben diese Antikörper nachgewiesen. Die anderen 24 Proben waren negativ, davon waren zu 100 % die Proben im Abbott-IgG negativ.

In der nächsten Zeile wurden Antikörper gegen das Nukleokapsid von SARS-CoV-2 gemessen. Hier zeigte sich eine ähnliche Antikörperreaktion. Die Antikörpertiter R+A+E waren signifikant höher ($p < 0{,}0001$) als die Einzelpositivproben. Zu 100 % waren die R+A+E und R+A Proben positiv und die nur von E+ negativ. In zwei Abbott positiven Blutproben wurden hier zum ersten und einzigen Mal Antikörper gegen SARS-CoV-2 nachgewiesen (Abbildung 12, M-O).

Eine gemischte Antikörperreaktion gegen die N-terminale Domäne des Nukleokapsid von SARS-CoV-2 wurde in der letzten Zeile deutlich. Hier wurde zum ersten Mal jeweils eine Probe von R+A+E und R+A negativ getestet. In A+ waren alle Proben negativ. Einen signifikanten Unterschied gab es nur zwischen R+A+E und jeweils A+ ($p < 0{,}0227$) und E+ ($p < 0{,}0113$).

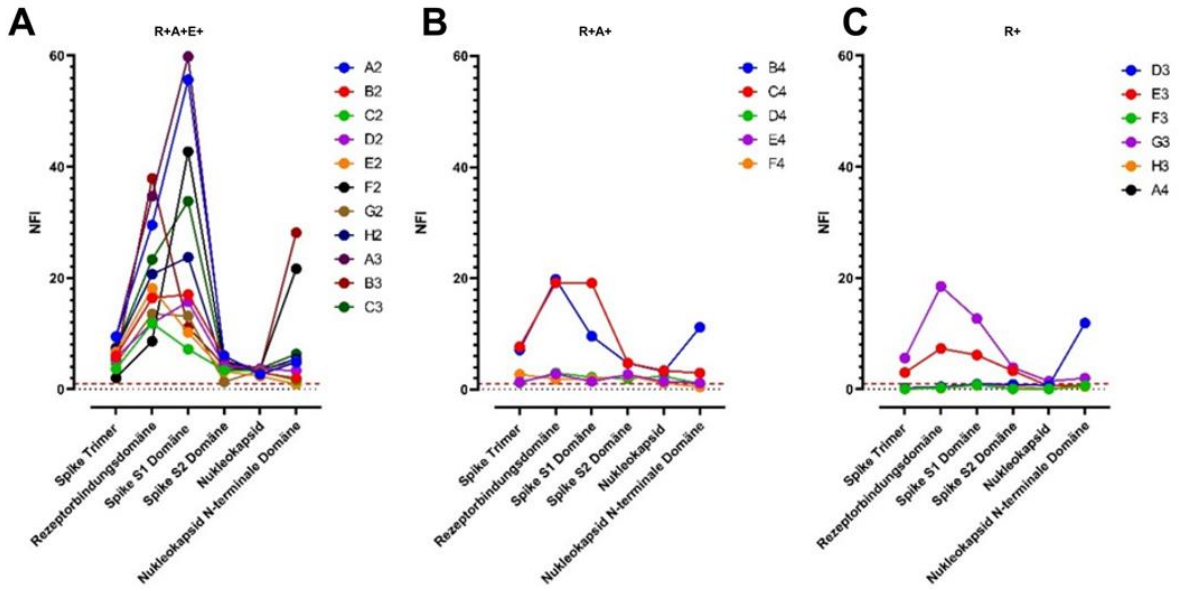

Abbildung 13: MultiCoV-Ab SARS-CoV-2 nach Gruppen R+A+E, R+A und R mit jeweils Spike Trimere, RBD, S1, S2, N und N-NTD

Dargestellt wurden die Antikörpertiterrepertoires der einzelnen Teilnehmer, geordnet nach Gruppen speziell für SARS-CoV-2 in Bezug auf die sechs spezifischen SARS-CoV-2 Antikörper in Abbildung 13. Jeder Teilnehmer erhielt in einem Graphen eine farbliche Zuteilung. Die rote Linie markierte den Wert 1 und damit den Übergang, ab wann der Antikörpertiter auch als positiv zu werten war.

In den drei Graphen der Abbildung 13 wurden die Antikörpertiterrepertoires der einzelnen Teilnehmer für SARS-CoV-2 aufgetragen. In A wurden die dreifach positiven Studienteilnehmer grafisch dargestellt, in B nur die, die im Roche-Ig und Abbott-IgG positiv waren und in C nur die positiven im Roche-Ig. Hierbei fiel auf, dass in Graph A die Antikörpertiter deutlich höher als in B und C waren und bis auf einen Wert von Person E2 in orange für die N-terminale Domäne des Nukleokapsids von SARS-CoV-2 alle positive Werte annahmen. Zusätzlich war es in A auffällig, dass die Antikörpertiter für die Rezeptorbindungsdomäne und die Spike S1 Domäne weit höhere Werte annahmen als die anderen SARS-CoV-2 Antikörper. Dazu konnten zwei weitere Peaks für die Personen F2 und B3 für die N-terminale Domäne des Nukleokapsids nachgewiesen werden. In Graph B fiel auf, dass die Personen B4 und C4 (in blauer und roter Farbe) deutlich höhere Antikörpertiter gegen alle SARS-CoV-2 Antigene, verglichen zu den anderen Personen in dieser Gruppe, hatten. In Graph C war nur die Person G3 (in violetter Farbe) durchgehend positiv im MultiCoV-Ab getestet worden. Die Person E3 (in rot) wies in den ersten vier Antikörpern einen positiven Wert auf und wurde dann negativ auf Antikörper gegen das Nukleokapsid und die N-terminale Domäne des Nukleokapsids getestet. Auch hier

nahmen die Antikörpertiter für die Rezeptorbindungsdomäne und die Spike S1 Domäne weit höhere Werte an als für die anderen SARS-CoV-2 Antikörper.

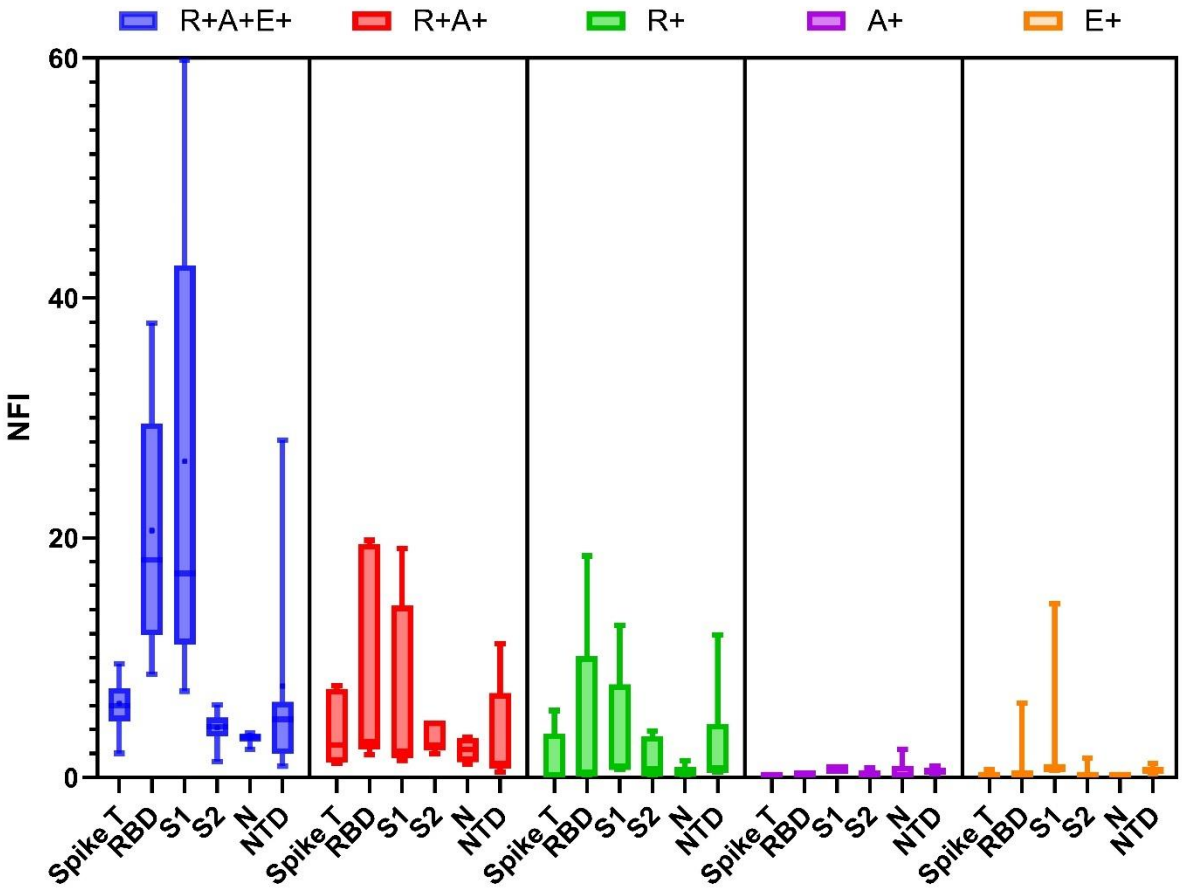

Abbildung 14: MultiCoV-Ab SARS-CoV-2 NFI-Wertevergleich nach Gruppen R+A+E, R+A, R, A und E mit jeweils Spike Trimere, RBD, S1, S2, N und N-NTD.

Dargestellt sind die Ergebnisse des MultiCoV Tests aufgeteilt nach vorangegangenem Testergebnis (R+A+E, R+A, R, A, E) für die einzelnen SARS-CoV-2 Antigene als NFI (NFI = normalisierte Fluoreszenzintensität).

In der Abbildung 14 wurden die NFIs der verschiedenen SARS-CoV-2 Antikörper wie gegen das Spike Trimer, die Rezeptorbindungsdomäne, die Spike S1 Domäne, die Spike S2 Domäne, das Nukleokapsid und die N-Terminale Domäne des Nukleokapsids aufgetragen. Zusätzlich wurden die fünf verschiedenen Gruppen der vorangegangenen Testergebnisse nebeneinander aufgelistet. Hierbei fiel auf, dass die NFI-Werte der Rezeptorbindungsdomäne und der Spike S1 Domäne im Vergleich zu den anderen NFI-Werten deutlich höher waren, genauso wie die SARS-CoV-2 NFI-Werte der Gruppe R+A+E deutlich höher waren im Vergleich zu den ande-

ren Gruppen. Erwähnenswert war außerdem, dass in der Gruppe A+ keine nennenswerten Antikörpermengen nachgewiesen wurden. Zusätzlich fiel auf, dass die NFI-Werte in der Gruppe E für die Spike S1 Domäne am höchsten war. Dies könnte damit zusammenhängen, dass der Euroimmuntest Antikörper spezifisch gegen die Spike S1 Domäne misst.

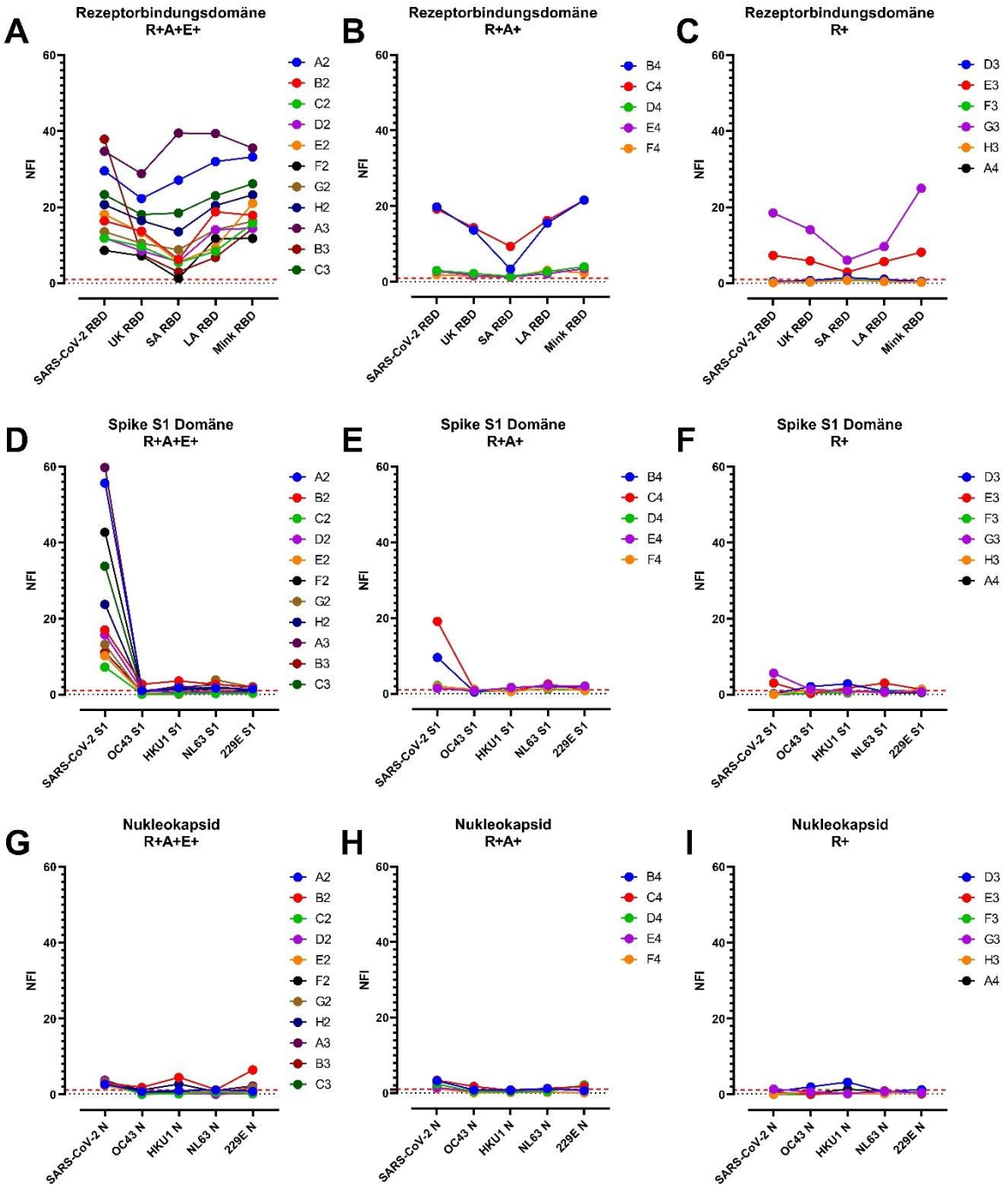

Abbildung 15: MultiCoV-Ab Varianten und Endemische Coronaviren

In den Graphen A, B, und C wurden die NFIs gegen die Rezeptorbindungsdomäne sowohl von SARS-CoV-2 als auch gegen die vier Varianten aus dem Vereinigten Königreich, Südafrika,

Südkalifornien und gegen die Nerzvariante (B1.1.298 oder Cluster 5) aufgetragen. In Graphen D, E und F wurden die NFIs gegen die Spike S1 Domäne von SARS-CoV-2 und auch gegen die vier endemischen Coronaviren OC43, HKU1, NL63 und 229E getestet. In G, H und I wurden die Immunantworten gegen das Nukleokapsid von SARS-CoV-2 und auch gegen die vier endemischen Coronaviren OC43, HKU1, NL63 und 229E getestet. Jeder Teilnehmer erhielt in einem Graphen eine farbliche Zuteilung. Die rote Linie markierte den Wert 1 und den Übergang, ab wann der Antikörpertiter auch als positiv zu werten war.

Hier wurde in Graph A der Abbildung 15 deutlich, dass alle Proben positive Antikörper für die vier Varianten aufwiesen. Hier hatten durchschnittlich die Personen A2 (in blau) und A3 (in dunkel violetter Farbe) die höchsten Antikörpertiter gegen alle vier gemessenen Varianten. Bei den anderen Personen waren niedrigere Antikörpertiter gegen die Südafrikanische Variante im Vergleich zu den anderen Varianten vorhanden. Dies war auch in den Graphen B und C sichtbar. Die Höhe der Antikörpertiter gegen die Südafrikanische Variante der Personen B4 und C4 in Graph B sowie der Personen E3 und G3 in Graph C waren deutlich niedriger als gegen die anderen Varianten. In Graph B, in dem Personen, die im Roche-Ig und Abbott-IgG positiv waren, getestet wurden, waren alle Datenpunkte positiv. Folglich wiesen diese Personen auch alle Antikörper gegen die einzelnen Varianten auf. Hierbei war auffällig, dass die Personen, die einen hohen Antikörpertiter gegen die Rezeptorbindungsdomäne von SARS-CoV-2 hatten, auch hohe Titer gegen die Varianten aufwiesen und umgekehrt mit niedrigen Titern. In Graph C wiesen nur die Personen E3 und G3 Antikörper gegen alle Varianten auf. Die anderen Personen wurden bis auf zwei Ausnahmen immer negativ auf die Antikörpervarianten getestet.

In den darunter befindlichen Graphen wurden die Antikörpertiter gegen die Spike S1 Domäne und das Nukleokapsid sowohl von SARS-CoV-2 als auch gegen die vier endemischen Coronaviren OC43, HKU1, NL63 und 229E getestet. Hierbei wurde kein bestimmtes Muster ersichtlich. Einige Proben wiesen Antikörper gegen die endemischen Coronaviren auf. Die nachfolgenden Untersuchungen gingen näher auf die Antikörpertiter der Varianten und der endemischen Coronaviren ein.

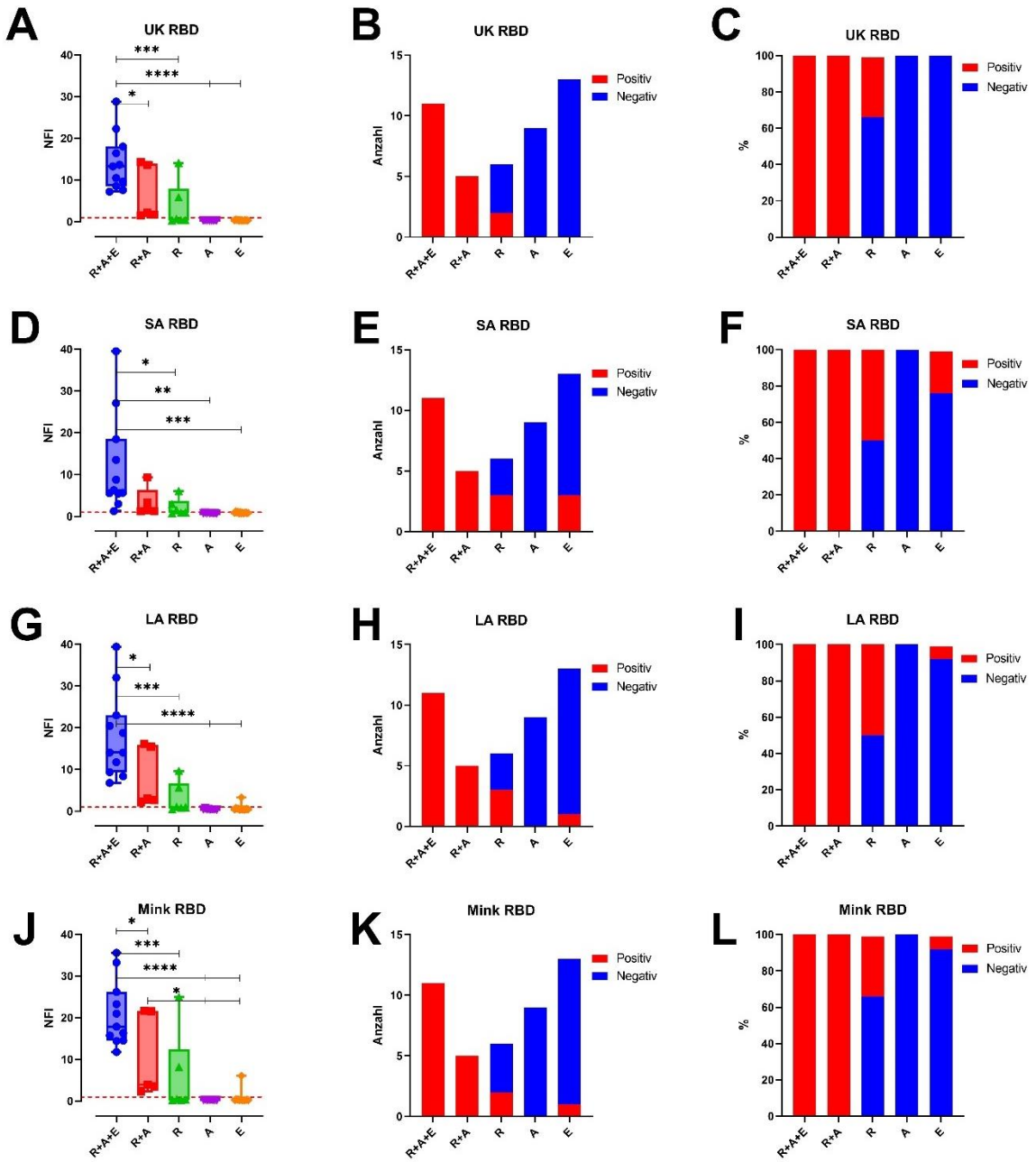

Abbildung 16: MultiCoV-Ab RBD Varianten

In den Seren/Plasmen der Probanden wurden mittels des MultiCoV-Ab Tests Antikörper gegen SARS-CoV-2 VOCs, UK (A-C), SA (D-F), LA (G-I), Mink (J-L), gemessen. Dargestellt wurden die Ergebnisse als „NFI“ (A, D, G, J), „Anzahl“ (B, E, H, K) der positiven und negativen Befunde und als „%“ (C, F, I, L) als Anteil der positiven und negativen Befunde an der Gesamtzahl in Abhängigkeit der vorangegangenen Ergebniskonstellation für die drei Testverfahren, Roche-Ig (R), Abbott-IgG (A) und Euroimmun-IgG (E). Signifikante Unterschiede wurden mittels two-way ANOVA und Tukey Korrektur für Mehrfachvergleiche berechnet und angegeben mit Sternen für signifikante Unterschiede (* $p \leq 0.05$, ** $p \leq 0.01$, *** $p \leq 0.001$).

In Abbildung 16 fiel auf, dass die Proben der Gruppen R+A+E und R+A alle positiv waren und die erstgenannte Gruppe signifikant höhere Titer aufwies als die anderen Gruppen. Außerdem waren die Proben der Gruppen R+A+E und R+A für alle Varianten positiv, wiesen also Antikörper auf. Die Gruppe R+A+E wies immer signifikant höhere Antikörpertiter auf als die anderen vier Gruppen mit der Ausnahme, dass sie sich nicht signifikant zum Antikörpertiter der Gruppe R+A in der Südafrikanischen Variante unterschied. Die Gruppe A wies keinerlei Antikörper gegen die Varianten auf und war daher zu 100 % negativ in allen Abbildungen. Die Gruppe R wies in zwei von sechs Blutproben Antikörper gegen die Variante aus dem Vereinigten Königreich und die Nerzvariante auf. In der Hälfte der Proben wurden Antikörper gegen die Varianten aus Südafrika und Südkalifornien nachgewiesen.

Die Gruppe E wies keine Antikörper gegen die Variante aus dem Vereinigten Königreich auf, jedoch drei Mal Antikörper gegen die Südafrikanische Variante auf sowie in einer von 13 Proben Antikörper gegen die Südkalifornische Variante und die Nerzvariante.

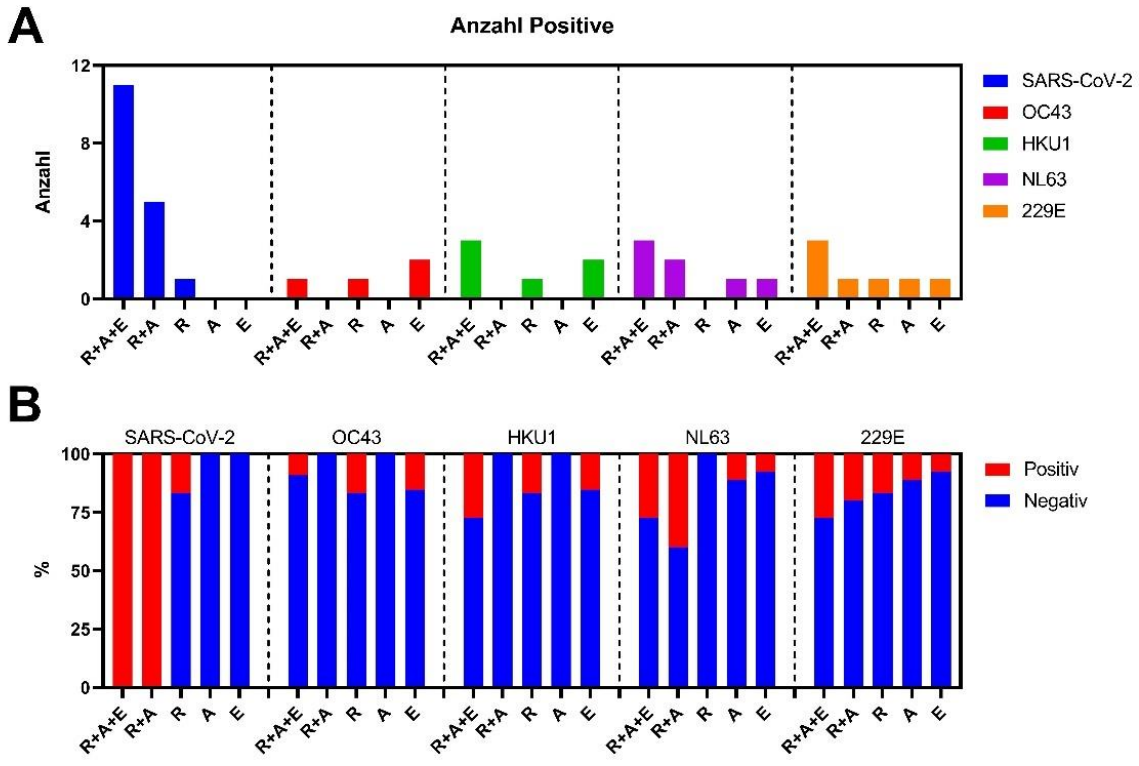

Abbildung 17: MultiCoV-Ab Anzahl positive

In Abbildung 17 wurden die absoluten (A) und relativen (B) Zahlen von Studienteilnehmern in Bezug auf eine durchgemachte Infektion mit SARS-CoV-2 und auch mit den vier endemischen Coronaviren OC43, HKU1, NL63 und 229E dargestellt. Als positiv für eine natürliche Infektion

mit SARS-CoV-2 galt hier eine Person, die sowohl Antikörper gegen das Spike Trimer, die Rezeptorbindungsdomäne als auch gegen das Nukleokapsid aufweisen konnte. Um hier auch positiv auf eine natürliche Infektion mit den endemischen Coronaviren zu gelten, musste die Personen Antikörper gegen die S1-Domäne und das Nukleokapsid für die jeweiligen endemischen Coronaviren aufweisen.

Die Abbildung 17 veranschaulichte, dass alle Teilnehmer der Gruppen R+A+E und R+A die für eine natürliche Infektion mit SARS-CoV-2 passende Antikörperzusammenstellung hatten. In der Gruppe R wies nur eine Person die passende Antikörperzusammenstellung auf, die aus positiven Antikörpern gegen das Spike Trimer, die Rezeptorbindungsdomäne und das Nukleokapsid von SARS-CoV-2 bestand. In der Gruppe A und E waren alle Personen negativ in dieser Antikörperzusammenstellung. Auffällig war außerdem, dass die Personengruppen R+A und A keine natürliche Infektion anhand der positiven S1 und N Antikörper mit OC43 und HKU1 aufwiesen. R+A+E wies absolut am meisten positive Antikörperzusammenstellungen für HKU1, NL63 und 229E auf. In allen fünf Gruppen wiesen Studienteilnehmer positive S1 und N Antikörper für 229E auf. Die nachfolgenden Abbildungen gingen näher auf die Antikörpernachweise der endemischen Coronaviren ein.

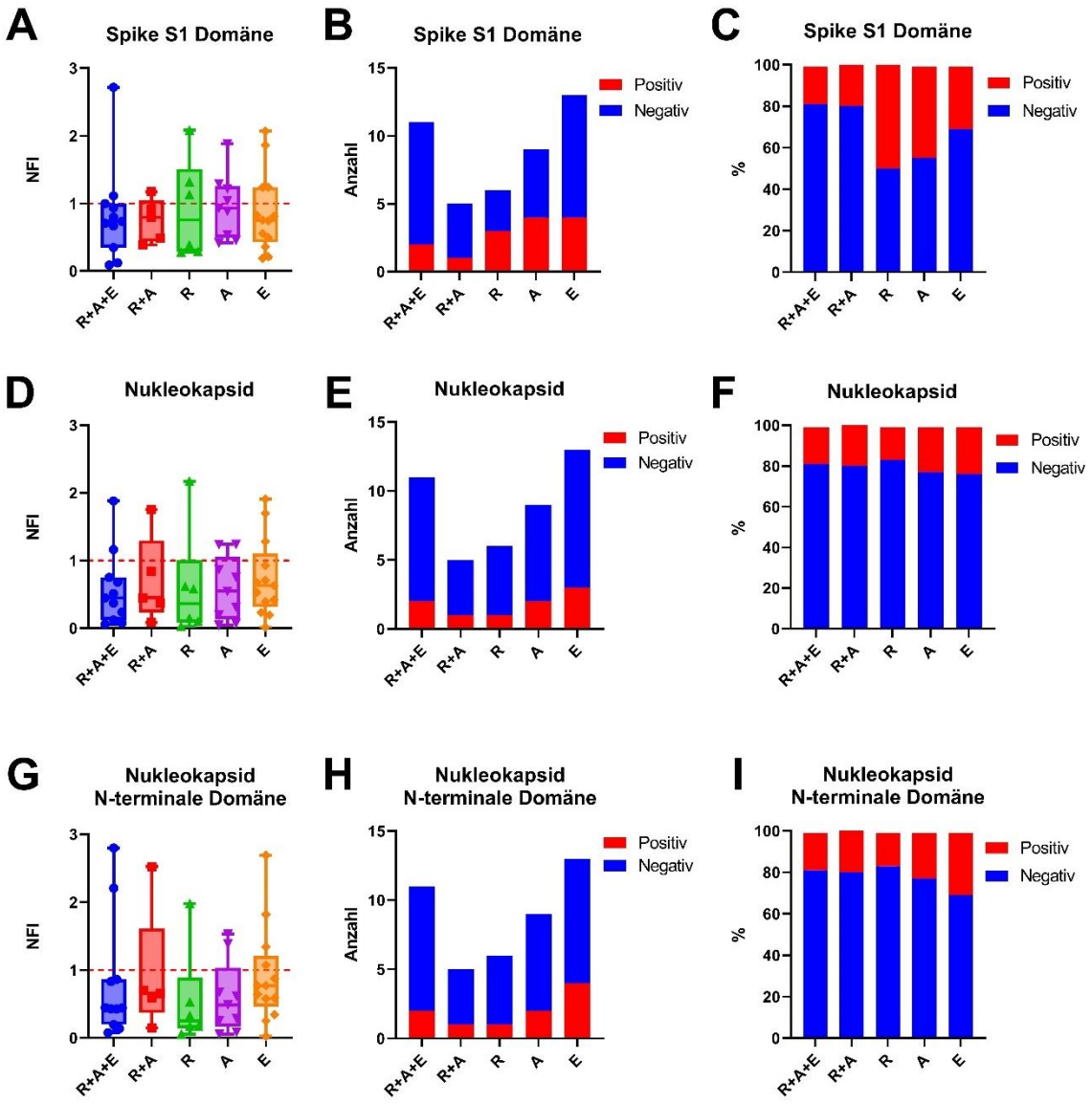

Abbildung 18: MultiCoV-Ab OC43 mit S1, N und N-NTD

In den Seren/Plasmen der Probanden wurden mittels des MultiCoV-Ab Tests Antikörper gegen das endemische Coronavirus OC43, die Spike S1 Domäne (A-C), das Nukleokapsid (D-F) und die N-terminale Domäne des Nukleokapsids von OC43 (G-I) gemessen. Dargestellt sind die Ergebnisse als „NFI“ (A, D, G), „Anzahl“ (B, E, H) der positiven und negativen Befunde und als „%“ (C, F, I) als Anteil der positiven und negativen Befunde an der Gesamtzahl in Abhängigkeit der vorangegangenen Ergebniskonstellation für die drei Testverfahren, Roche-Ig (R), Abbott-IgG (A) und Euroimmun-IgG (E).

In Abbildung 18 A, D und G wurde deutlich, dass der Antikörpernachweis gegen das endemische Coronavirus OC43 zum Großteil nicht im positiven Bereich nachweisbar war, da die Werte

erst ab dem Wert 1 positiv zu bewerten waren. Folglich befanden sich eine Vielzahl der Messpunkte der Antikörper gegen die Spike S1 Domäne, das Nukleokapsid und die N-terminale Domäne des Nukleokapsids im negativen Bereich von Null und Eins. Darüber hinaus waren die Antikörpertiter innerhalb der verschiedenen Teilnehmergruppen in A, D und G nicht signifikant unterschiedlich. Prozentual wiesen Blutproben der Gruppe R und A am meisten Antikörper (jeweils vier) gegen die Spike S1 Domäne von OC43 mit 50 % und 44 % auf. Für Antikörper gegen das Nukleokapsid von OC43 lagen geringere Werte vor. Hier wiesen höchstens 23 % bzw. 22 % der Teilnehmer der Gruppe E und A diese Antikörper auf. Alle Teilnehmergruppen wiesen auch mindestens eine Person auf, die Antikörper gegen die N-terminale Domäne des Nukleokapsids von OC43 aufwies. So waren es in den Gruppen R+A+E und in A jeweils zwei Personen und in E vier.

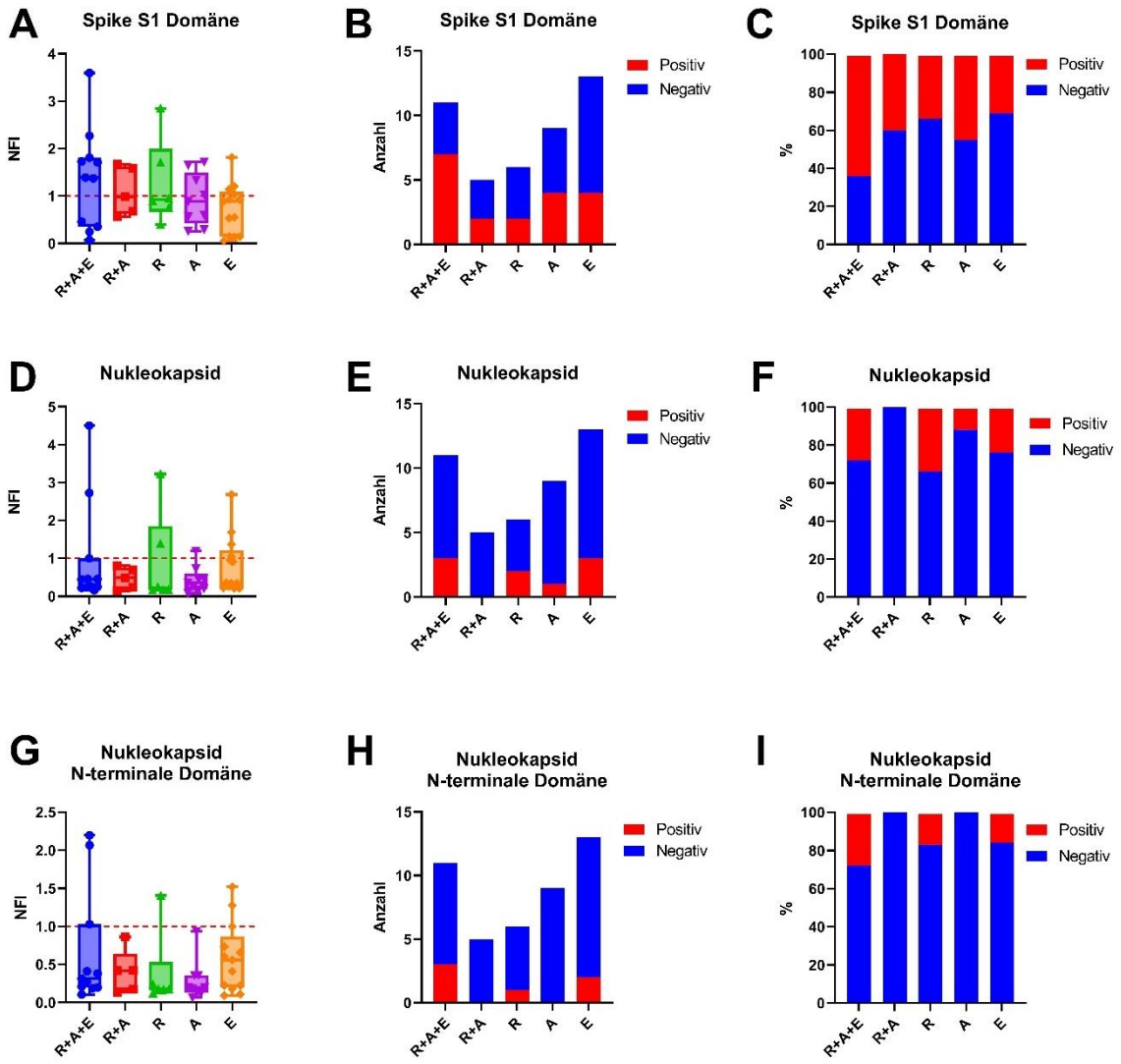

Abbildung 19: MultiCoV-Ab HKU1 mit S1, N und N-NTD

In den Seren/Plasmen der Probanden wurden mittels des MultiCoV-Ab Tests Antikörper gegen das endemische Coronavirus HKU1, die Spike S1 Domäne (A-C), das Nukleokapsid (D-F) und die N-terminale Domäne des Nukleokapsids von HKU1 (G-I) gemessen. Dargestellt sind die Ergebnisse als „NFI“ (A, D, G), „Anzahl“ (B, E, H) der positiven und negativen Befunde und als „%“ (C, F, I) als Anteil der positiven und negativen Befunde an der Gesamtzahl in Abhängigkeit der vorangegangenen Ergebniskonstellation für die drei Testverfahren, Roche-Ig (R), Abbott-IgG (A) und Euroimmun-IgG (E).

In Abbildung 19 A, D und G wurde deutlich, dass der Antikörpernachweis gegen das endemische Coronavirus HKU1 wieder überwiegend Werte kleiner 1 annahm und somit die Messwerte als negativ zu werten waren. So waren in der Gruppe R+A für das Nukleokapsid und in der Gruppe R+A und A für die N-terminale Domäne des Nukleokapsids von HKU1 alle Werte

negativ zu bewerten. In der Gruppe R+A+E lagen bei sieben Personen Antikörper gegen die Spike S1 Domäne von HKU1 vor. Mit 63 % wurde somit in dieser Gruppe die stärkste Antikörperantwort festgestellt. Im Vergleich zu den anderen Antikörpertitern aus dem MultiCoV-Ab fiel auf, dass die Höhe der Antikörper für die endemischen Coronaviren verglichen mit den Coronavarianten und den SARS-CoV-2-Antikörpern deutlich niedriger ausfielen oder sogar negativ waren.

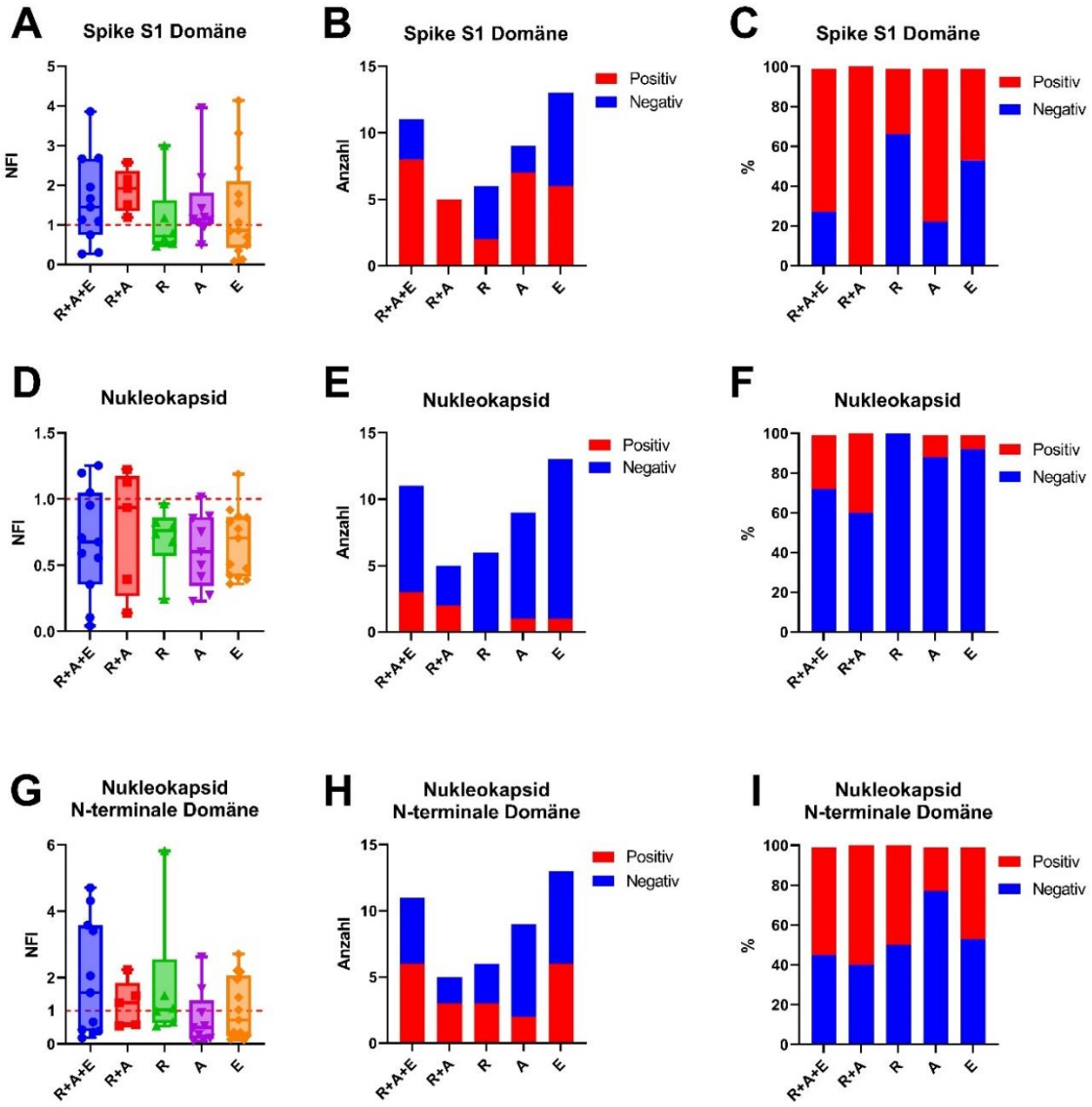

Abbildung 20: MultiCoV-Ab NL63 mit S1, N und N-NTD

In den Seren/Plasmen der Probanden wurden mittels des MultiCoV-Ab Tests Antikörper gegen das endemische Coronavirus NL63, die Spike S1 Domäne (A-C), das Nukleokapsid (D-F) und

die N-terminale Domäne des Nukleokapsids von NL63 (G-I) gemessen. Dargestellt sind die Ergebnisse als „NFI“ (A, D, G), „Anzahl“ (B, E, H) der positiven und negativen Befunde und als „%“ (C, F, I) als Anteil der positiven und negativen Befunde an der Gesamtzahl in Abhängigkeit der vorangegangenen Ergebniskonstellation für die drei Testverfahren, Roche-Ig (R), Abbott-IgG (A) und Euroimmun-IgG (E).

In Abbildung 20 wurde deutlich, dass der Antikörpernachweis gegen das endemische Coronavirus NL63 abhängig von den untersuchten Antigenen war. So waren deutlich mehr Personen positiv getestet worden auf Antikörper gegen die Spike S1 Domäne und die N-terminale Domäne des Nukleokapsids von NL63 als gegen das Nukleokapsid. Folglich fielen die Antikörpertiter auch ersichtlich höher aus für die erstgenannten Antigene. 100 % aller R+A Proben wurden positiv auf Antikörper gegen die Spike S1 Domäne von NL63 getestet. In den Gruppen R+A+E, R, A und E waren es jeweils 73 %, 33 %, 78 % und 46 %. Die Antikörper gegen das Nukleokapsid von NL63 fielen deutlich geringer aus, so waren alle R Proben negativ und nur 27 %, 40 %, 11 % und 8 % der Proben in den Gruppen R+A+E, R+A, A und E positiv getestet worden. Auffallend war, dass die Höhe der Antikörpertiter für das Nukleokapsids von NL63 für die Gruppe R+A+E verglichen mit den anderen Teilnehmergruppen am höchsten war. In dieser Gruppe waren sechs von elf Personen positiv getestet worden. Dieselbe Anzahl an positiven Ergebnissen wurde in der Gruppe E gefunden, genau wie jeweils drei positive Ergebnisse in den Gruppen R+A und R. In der Gruppe A waren nur zwei positive Ergebnisse zu verzeichnen.

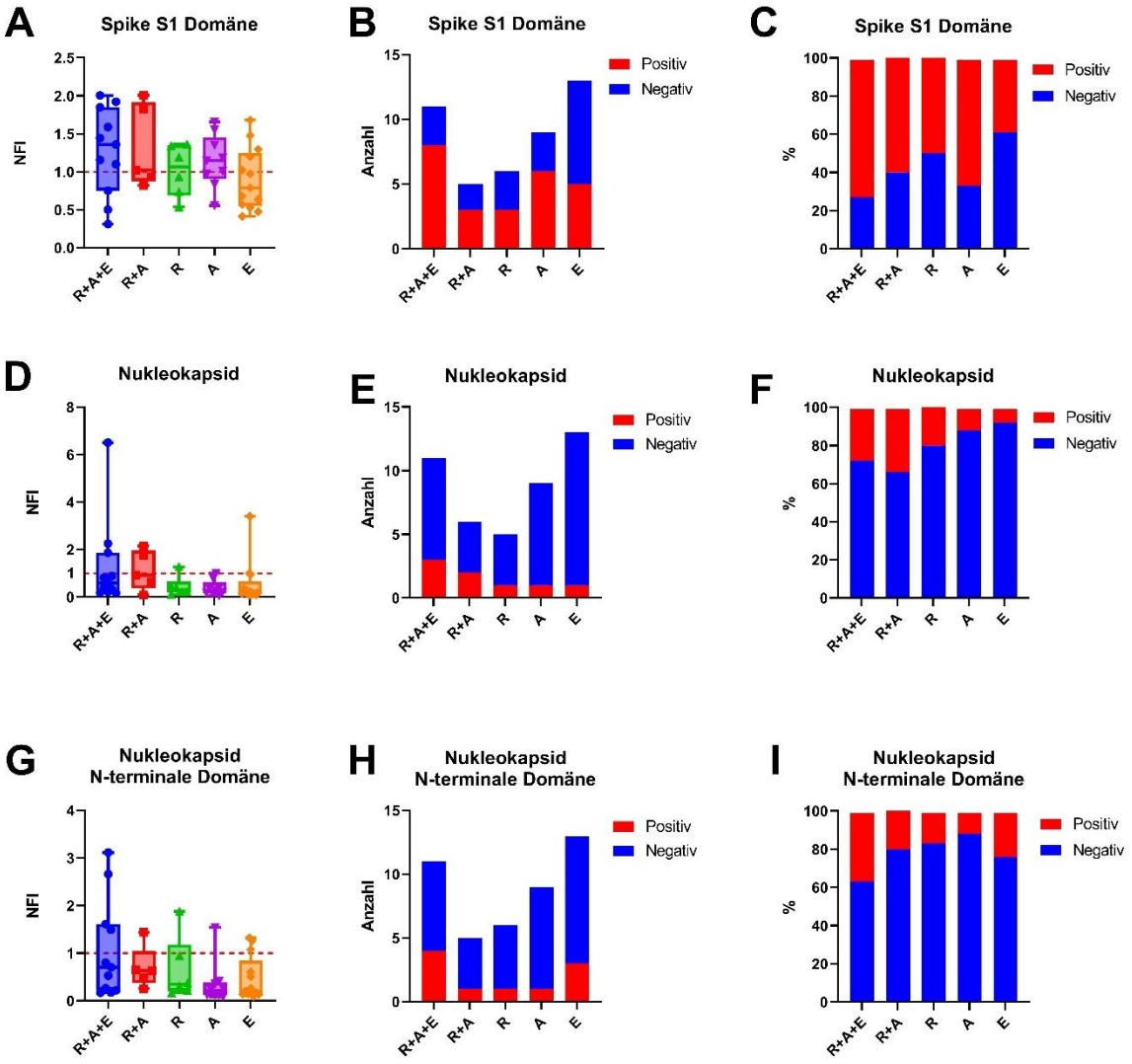

Abbildung 21: MultiCoV-Ab 229E mit S1, N und N-NTD

In den Seren/Plasmen der Probanden wurden mittels des MultiCoV-Ab Tests Antikörper gegen das endemische Coronavirus 229E, die Spike S1 Domäne (A-C), das Nukleokapsid (D-F) und die N-terminale Domäne des Nukleokapsids von 229E (G-I) gemessen. Dargestellt sind die Ergebnisse als „NFI“ (A, D, G), „Anzahl“ (B, E, H) der positiven und negativen Befunde und als „%“ (C, F, I) als Anteil der positiven und negativen Befunde an der Gesamtzahl in Abhängigkeit der vorangegangenen Ergebniskonstellation für die drei Testverfahren, Roche-Ig (R), Abbott-IgG (A) und Euroimmun-IgG (E).

In Abbildung 21 wurde deutlich, dass der Antikörpernachweis gegen das endemische Coronavirus 229E abhängig von den untersuchten Antigenen war. So waren deutlich mehr Personen positiv getestet worden auf Antikörper gegen die Spike S1 Domäne als gegen die N-terminale

Domäne des Nukleokapsids und das Nukleokapsid von 229E. Folglich fielen die Antikörpertiter auch ersichtlich höher aus für die Spike S1 Domäne. 73 % aller R+A+E (8 von 11) Proben wurden positiv auf Antikörper gegen die Spike S1 Domäne von 229E getestet. In den Gruppen R+A, R, A und E waren es jeweils 60 %, 50 %, 67 % und 38 %. Die Antikörper gegen das Nukleokapsid von 229E fielen deutlich geringer aus, so waren nur drei Proben der Gruppe R+A+E positiv und nur zwei in der Gruppe R+A. In den anderen drei Gruppen R, A und E war jeweils nur eine Person positiv getestet worden. In den Gruppen R+A, R und A wurde jeweils nur eine Person mit positiven Antikörpern gegen die N-terminale Domäne des Nukleokapsids von 229E gefunden. In der Gruppe R+A+E und E waren es jeweils vier bzw. drei Personen.

5 Diskussion

In dieser Studie wurde die Seroprävalenz von SARS-CoV-2 Antikörpern in einer repräsentativen erwachsenen saarländischen Bevölkerungsstichprobe ermittelt, um damit deutschlandweit zum ersten Mal in einem ganzen Bundesland die Coronapandemie in der ersten Coronawelle 2020 besser einschätzen zu können. Mit einer Seroprävalenz von 1,02 % (95 % KI: [0,64; 1,44]) lag die Infektionsrate mit SARS-CoV-2 2,68-fach (95 % KI: [1,68; 3,79]) höher als die gemeldeten PCR-Fallzahlen [54]. Zusätzlich wurde die Infektions-Sterbe-Rate auf 2,09 % (95 % KI: [1,48; 3,32]) für alle Erwachsene berechnet [54]. Für Erwachsene unter 70 Jahren wurde eine Seroprävalenz von 1,18 % (95 % KI: [0,72; 1,68]) und eine Infektions-Sterbe-Rate von 0,36 % (95 % KI: [0,25; 0,59]) ermittelt [54]. Alle Ergebnisse bezogen sich auf die weiterverarbeiteten Daten vom Roche-Ig, denn durch die Auswahl dieses Testsystems konnten die Assay-abhängigen Unsicherheiten durch die maximale Spezifität und Sensitivität reduziert werden. Zusätzlich wurden die Seroreversionseffekte durch die hohe Langzeit-Performance des Roche-Ig minimiert. Weitere Stärken dieser Studie bestanden darin, dass die Studienpopulation repräsentativ für die gesamte saarländische Bevölkerung war. Aus diesem Grund wurden auch Bewohner von Alten- und Pflegeheimen explizit inkludiert. Außerdem wurde die gesamte erste Pandemiewelle mit dem Sommerplateau bis Oktober 2020 durch den zeitlichen Studienrahmen abgedeckt und für die Berechnung der Infektions- und Sterberaten die temporäre Verzögerung von Serokonversion und Tod nach einer Infektion mit SARS-CoV-2 mit einkalkuliert [54].

5.1 MultiCoV-Ab

Der Multiplex Immunoassay, der den Antikörpernachweis gegen 22 Antigenen in einer Probe gleichzeitig ermöglicht, liefert natürlich eine deutlich größere Informationsmenge über den Antikörperstatus der untersuchten Personen als die drei Antikörpertests von Roche, Abbott und Euroimmun, die nur jeweils einen einzigen Antikörper messen. Die 44 positiven Proben durchliefen mit 44 Kontrollproben von den 2.940 Studienteilnehmern dieses Testverfahren nachdem diese Blutproben mindestens 14 Monate bei -88 Grad Celsius gelagert wurden. Besonders auffällig war, dass die dreifach positiven Blutproben aus den vorherigen Antikörpertests deutlich höhere Antikörpertiter speziell für die SARS-CoV-2 Antikörper und für die einzelnen VOCs als die nur einfach positiv getesteten Blutproben aufwiesen. Zusätzlich nahm die Höhe dieser

Antikörpertiter mit dem Wechsel zur R+A Gruppe ab, genauso wie es wieder einen Unterschied zur Gruppe R gab. Weiterhin war zu bemerken, dass die Antikörperbildung gegen die Rezeptorbindungsdomäne und die Spike S1 Domäne von SARS-CoV-2 am ausgeprägtesten waren, da hierfür die Antikörpertiter am höchsten waren. Dahingehend waren die Antikörpertiter gegen das Nukleokapsid gering ausgeprägt, was darauf hindeutete, dass die Assay-Leistung eines Antigens sehr spezifisch für den Testaufbau ist und sich nicht uneingeschränkt generalisieren lässt [7]. Der Roche-Ig verwendet das Nukleokapsid als Antigen erfolgreich und weitere Studien unterstreichen die Relevanz und Bedeutung dieses Tests für Antikörperstudien [12,13,76].

Eine weitere Auffälligkeit war, dass alle Blutproben der Gruppen R+A+E und R+A gegen alle vier getesteten Varianten Antikörper aufwiesen, wohingegen die Gruppe A immer negativ blieb. Dabei war zusätzlich zu beobachten, dass die Antikörpertiterhöhe für die Rezeptorbindungsdomäne der südafrikanischen Variante eine sichtbare Absenkung verglichen mit den anderen Varianten aufwies. Dieser Effekt wurde auch in anderen Studien gefunden [8], der gleichzeitig auch mit einer verminderten Neutralisationsfähigkeit einherging [47,53,84,88]. Folglich konnte auch eine verminderte Immunität gegen diese Variante bestehen, was die Relevanz für Erkennungsmaßnahmen neuer Varianten und potentielle Impfstoffanpassungen verdeutlichte [8].

Aufgrund der Tatsache, dass es in dem Zeitraum der Blutentnahmen bei den Studienteilnehmern die genannten Varianten nicht in Deutschland gab, beziehungsweise diese sich erst danach in Deutschland ausbreiteten, wies dies auf ein kreuzreaktives Antikörperportfolio nach einer SARS-CoV-2 Infektion hin, welches auch auf die nachfolgenden Varianten mit den veränderten RBD-Domänen in unterschiedlichem Ausmaß passt. Natürlich kann nur ein Neutralisationsassay Fragen bezüglich einer Kreuzimmunität abklären, diese weist der MultiCoV-Assay nicht nach. Die Überwachung und Erforschung der RBD-Mutationen war und ist insofern bedeutsam, da die RBD:ACE2-Rezeptor Interaktion wichtig für das Andocken und Eindringen des Virus in die Zellen ist, also die Virusübertragung und Neutralisierung [8,20,86]. Eine veränderte RBD:ACE2-Rezeptor Interaktion kann unter Umständen zu einer erhöhten Infektiosität [28] und Letalität [21] der neu auftretenden Varianten führen.

Die Höhe der Antikörpertiter war für die Varianten generell höher ausgefallen als für die endemischen Coronaviren, die häufig einen baseline-nahen Titer aufwiesen. Auffällig war hierbei, dass positive Antikörper eher gegen die Spike S1 Domäne als gegen das Nukleokapsid gebildet

wurden. Darüber hinaus wurden mehr positive Antikörper gegen die endemischen Coronaviren der α-Gruppe (NL63 und 229E) gemessen als gegen die ß-Coronaviren (OC43 und HKU1).

Grundsätzlich ist es schwierig die hCoV-vermittelte Kreuzreaktivität zu analysieren, beziehungsweise festzustellen, ob eine hCoV-Infektion die Antikörperbildung nach einer SARS-CoV-2 Infektion verstärkt oder verringert. Eine weitere Studie hat herausgefunden, dass eine hohe hCoV-Immunantwort auch mit einer verstärkten Immunantwort bei einer SARS-CoV-2 Infektion einhergeht, was auf eine Kreuzstimulation hinweisen würde [1]. Zusätzlich können höhere hCoV-Antikörperspiegel einen Schutz gegen die Ansteckung mit SARS-CoV-2 darstellen, beziehungsweise die Wahrscheinlichkeit einer stationären Behandlung verringern [1]. In Abbildung 15 D wurden die NFI-Werte der dreifach positiv getesteten Personen in Bezug auf die Spike S1 Domäne von SARS-CoV-2 und den vier endemischen Coronaviren OC43, HKU1, NL63 und 229E abgebildet. Dort fiel auf, dass die NFI-Werte zu SARS-CoV-2 von allen Personen am höchsten waren, sodass eine Kreuzstimulation nach einer Infektion mit endemischen Coronaviren möglich wäre. Genauso sah man in Abbildung 15 F, dass die NFI-Werte für die Spike S1 Domäne von Person H3 (R+) in orange nur für OC43 und 229E über 1 lagen, also als positiv zu werten waren. Daher könnte das positive Ergebnis im Roche Test als eine Art Kreuzreaktion der endemischen Coronaviren interpretiert werden mit einer eher fraglichen Infektion mit SARS-CoV-2, da kein einziger NFI-Wert der sechs spezifischen Antikörper bezüglich SARS-CoV-2 der Person H3 positiv war. Folglich ist sowohl eine Kreuzstimulation der SARS-CoV-2 Immunantwort als auch eine Kreuzreaktion durch die endemischen Coronaviren möglich, sodass nur der MultiCoV-Assay tiefergehende Analysen der Immunantwort ermöglicht, da eine umfangreiche Analyse nötig ist, die alleine durch den Roche-Ig, Abbott-IgG und den Euroimmun-IgG nicht möglich sind.

Obwohl SARS-CoV-2 in der Sequenz den β-hCoVs ähnlicher ist und daher auch der Gattung der Betacoronaviren zugeordnet wird, wiesen die Blutproben im größeren Umfang Antikörper gegen α-Coronaviren (NL63 und 229E), insbesondere gegen die Spike S1 Domänen, auf. In einer weiteren MultiCoV-Ab Studie [7] wurde eine Korrelation zwischen der SARS-CoV-2 Immunantwort mit hohen α-hCoVs-Reaktionen festgestellt, welche auf eine vergleichbare Wirt-Pathogen-Interaktion zurückgeführt wurde [7]. Die Aminosäuresequenzen der N- und S-Proteine der endemischen Coronaviren haben eine Ähnlichkeitwert von circa 60 % mit SARS-CoV-2, wobei die S2-Region wohl die am stärksten konservierte Region in den verschiedenen Coronaviren erscheint und die Bedeutung für die Immunologische Antwort unterstreicht [63]. Zusätzlich wurde ein statistisch signifikantes Maß an Identitätwerten bei den humanen ß-

Coronaviren (OC43 und HKU1) mit den von SARS-CoV-2 abgeleiteten T- und B-Zell-Epitope von Protein N oder S nachgewiesen [30,63]. Vor diesem Hintergrund sind kreuzreaktive Immunantworten nicht auszuschließe, durch die umfassende Verbreitung der endemischen Coronaviren naheliegend und evolutionsbiologisch sinnvoll.

5.2 Schlussfolgerung

Für die zu erhebenden Daten aus seroepidemiologischen Studien ist es von höchster Relevanz einen Antikörpertest mit der höchst möglichen Sensitivität, Spezifität und longitudinaler Performance zu verwenden, um verlässliche Angaben machen zu können, insbesondere wenn die Seroprävalenz in der ersten Coronapandemiewelle so niedrig war wie in Deutschland. Die saarlandweite Coronavirus-Antikörper-Prävalenzstudie lies den Schluss zu, dass die Seroprävalenz der erwachsenen Bevölkerung im untersuchten Zeitraum 1,02 % (95 % KI: [0,64; 1,44]) betrug. Dies deutete auf 2,68-fach höhere Infektionszahlen hin, als man es aufgrund der PCR-gemeldeten Fälle erwartet hätte. Zusätzlich konnte die Studie eine realistische Einschätzung der Infektions-Sterbe-Rate (IFR) der Erwachsenen von 2,09 % (95 % KI: [1,48; 3,32]) darbieten, da sowohl ältere und damit gefährdetere Personen als auch Bewohner von Alten- und Pflegeheimen adäquat in den Berechnungen berücksichtigt wurden.

Diese Studie lieferte fundierte Daten aus der Phase der Coronapandemie, in der die einzelnen Coronavarianten noch nicht im Saarland verbreitet waren und Impfstoffe noch keine Zulassung hatten. Darüber hinaus konnten die ergriffenen und weiteren Maßnahmen gegen die Verbreitung von SARS-CoV-2 an diesen Daten gemessen werden und lieferten auch im internationalen Raum eine valide Basis, um Vergleiche anzustreben. So wurde in internationalen Studien das Abstandhalten zu anderen Personen über eine Distanz von mindestens einem Meter als effektivere Schutzmaßnahme als das Tragen von chirurgischen Masken ohne Abstand eingeordnet [16,37]. Jedoch stieg die Schutzwirkung mit dem Tragen von FFP-2 Atemschutzmasken an [16,37]. Dies verdeutlicht die Wichtigkeit der Einhaltung der AHA-L Regeln, um die Verbreitung von SARS-CoV-2 einzudämmen. Also Abstand, Hygiene, Alltagsmaske und lüften [115].

Die Relevanz des MultiCoV-Assays wird in der heutigen Zeit aus mehreren Gründen ersichtlich. Zum einen ist es ein Ressourcen und zeitsparendes Verfahren, welches eine sehr große Datenmenge generiert und dadurch eine differenzierte Analyse eines Patienten beziehungsweise einer Untersuchungsgruppe ermöglicht. Zum anderen kann mithilfe des MultiCoV-Assays nicht nur die Antikörperreaktion nach Impfung oder Infektion gemessen werden, sondern auch gleichzeitige Antikörper gegen endemische und pathogene Coronaviren gemessen und

potenzielle kreuzreaktive Antikörperportfolios aufgedeckt werden [116]. Dies in Zeiten in denen immer mehr verschiedene SARS-CoV-2 Impfungen verfügbar sind und immer neue SARS-CoV-2 Varianten aufkommen und sich folglich erneut die Frage nach der Wirksamkeit der Impfungen, bzw. die Wirksamkeit der verschiedenen Impfkombinationen stellt. Ein weiterer Bead-basierter Multiplex Assay (RBDCoV-ACE2) wurde entwickelt und kann indirekt neutralisierende Antikörper messen [42]. Dieser ACE2-RBD-Hemmtest zeigte zum einen, dass eine deutliche Reduktion der Bindungshemmung bei den Varianten mit der E484K Mutation (Gamma, Theta und Beta Variante) vorlag und zum anderen lag eine Korrelation zwischen den Anti-RBD-IgG-Spiegeln, der Krankheitsschwerer und der ACE2-Bindungshemmung vor [42]. Dieser Test lieferte fundierte Hinweise über den Impfschutz gegen die neu aufgekommenen Varianten und wird wohl bis zum Ende der Corona Pandemie sehr wichtig bleiben. Darüber hinaus werden Multiplex Assays auch zur Erforschung anderer Atemwegserkrankungen entwickelt [116] und bleiben ein wichtiger Bestandteil der Forschung.

6 Bibliographie

1. Abela IA, Pasin C, Schwarzmüller M, Epp S, Sickmann ME, Schanz MM, Rusert P, Weber J, Schmutz S, Audigé A, Maliqi L, Hunziker A, Hesselman MC, Niklaus CR, Gottschalk J, Schindler E, Wepf A, Karrer U, Wolfensberger A, Rampini SK, Meyer Sauteur PM, Berger C, Huber M, Böni J, Braun DL, Marconato M, Manz MG, Frey BM, Günthard HF, Kouyos RD, Trkola A (2021) Multifactorial seroprofiling dissects the contribution of pre-existing human coronaviruses responses to SARS-CoV-2 immunity. Nat Commun 12:

2. Ainsworth M, Andersson M, Auckland K, Baillie JK, Barnes E, Beer S, Beveridge A, Bibi S, Blackwell L, Borak M, Bown A, Brooks T, Burgess-Brown NA, Camara S, Catton M, Chau KK, Christott T, Clutterbuck E, Coker J, Cornall RJ, Cox S, Crawford-Jones D, Crook DW, D'Arcangelo S, Dejnirattsai W, Dequaire JMM, Dimitriadis S, Dingle KE, Doherty G, Dold C, Dong T, Dunachie SJ, Ebner D, Emmenegger M, Espinosa A, Eyre DW, Fairhead R, Fassih S, Feehily C, Felle S, Fernandez-Cid A, Fernandez Mendoza M, Foord TH, Fordwoh T, Fox McKee D, Frater J, Gallardo Sanchez V, Gent N, Georgiou D, Groves CJ, Hallis B, Hammond PM, Hatch SB, Harvala HJ, Hill J, Hoosdally SJ, Horsington B, Howarth A, James T, Jeffery K, Jones E, Justice A, Karpe F, Kavanagh J, Kim DS, Kirton R, Klenerman P, Knight JC, Koukouflis L, Kwok A, Leuschner U, Levin R, Linder A, Lockett T, Lumley SF, Marinou S, Marsden BD, Martinez J, Martins Ferreira L, Mason L, Matthews PC, Mentzer AJ, Mobbs A, Mongkolsapaya J, Morrow J, Mukhopadhyay SMM, Neville MJ, Oakley S, Oliveira M, Otter A, Paddon K, Pascoe J, Peng Y, Perez E, Perumal PK, Peto TEA, Pickford H, Ploeg RJ, Pollard AJ, Richardson A, Ritter TG, Roberts DJ, Rodger G, Rollier CS, Rowe C, Rudkin JK, Screaton G, Semple MG, Sienkiewicz A, Silva-Reyes L, Skelly DT, Sobrino Diaz A, Stafford L, Stockdale L, Stoesser N, Street T, Stuart DI, Sweed A, Taylor A, Thraves H, Tsang HP, Verheul MK, Vipond R, Walker TM, Wareing S, Warren Y, Wells C, Wilson C, Withycombe K, Young RK (2020) Performance characteristics of five immunoassays for SARS-CoV-2: a head-to-head benchmark comparison. Lancet Infect Dis 20:1390–1400

3. Akbarialiabad H, Taghrir MH, Abdollahi A, Ghahramani N, Kumar M, Paydar S, Razani B, Mwangi J, Asadi-Pooya AA, Malekmakan L, Bastani B (2021) Long COVID, a comprehensive systematic scoping review. Infection 49:1163–1186

4. Amanat F, Stadlbauer D, Strohmeier S, O Nguyen TH, Chromikova V, McMahon M, Jiang K, Asthagiri Arunkumar G, Jurczyszak D, Polanco J, Bermudez-Gonzalez M, Kleiner G, Aydillo T, Miorin L, Fierer DS, Amarilis Lugo L, Milunka Kojic E, Stoever J, H Liu ST, Cunningham-Rundles C, Felgner PL, Moran T, García-Sastre A, Caplivski D, Cheng AC, Kedzierska K, Vapalahti O, Hepojoki JM, Simon V, Krammer F A serological assay to detect SARS-CoV-2 seroconversion in humans.

5. Andrews N, Stowe J, Kirsebom F, Toffa S, Rickeard T, Gallagher E, Gower C, Kall M, Groves N, O'Connell A-M, Simons D, Blomquist PB, Zaidi A, Nash S, Iwani Binti Abdul Aziz N, Thelwall S, Dabrera G, Myers R, Amirthalingam G, Gharbia S, Barrett JC, Elson R, Ladhani SN, Ferguson N, Zambon M, Campbell CNJ, Brown K, Hopkins S, Chand M, Ramsay M, Lopez Bernal J (2022) Covid-19 Vaccine Effectiveness against the Omicron (B.1.1.529) Variant. N Engl J Med 386:1532–1546

6. Aziz NA, Corman VM, Echterhoff AKC, Müller MA, Richter A, Schmandke A, Schmidt ML, Schmidt TH, de Vries FM, Drosten C, Breteler MMB (2021) Seroprevalence and correlates of SARS-CoV-2 neutralizing antibodies from a population-based study in Bonn, Germany. Nat Commun 12:1–10

7. Becker M, Strengert M, Junker D, Kaiser PD, Kerrinnes T, Traenkle B, Dinter H, Häring J, Ghozzi S, Zeck A, Weise F, Peter A, Hörber S, Fink S, Ruoff F, Dulovic A, Bakchoul T, Baillot A, Lohse S, Cornberg M, Illig T, Gottlieb J, Smola S, Karch A, Berger K, Rammensee HG, Schenke-Layland K, Nelde A, Märklin M, Heitmann JS, Walz JS, Templin M, Joos TO, Rothbauer U, Krause G, Schneiderhan-Marra N (2021) Exploring beyond clinical routine SARS-CoV-2 serology using MultiCoV-Ab to evaluate endemic coronavirus cross-reactivity. Nat Commun 12:22

8. Becker M, Dulovic A, Junker D, Ruetalo N, Kaiser PD, Pinilla YT, Heinzel C, Haering J, Traenkle B, Wagner TR, Layer M, Mehrlaender M, Mirakaj V, Held J, Planatscher H, Schenke-Layland K, Krause G, Strengert M, Bakchoul T, Althaus K, Fendel R, Kreidenweiss A, Koeppen M, Rothbauer U, Schindler M, Schneiderhan-Marra N (2021) Immune response to SARS-CoV-2 variants of concern in vaccinated individuals. Nat

Commun 12:1–8

9. Böhmer MM, Buchholz U, Corman VM, Hoch M, Katz K, Marosevic D V., Böhm S, Woudenberg T, Ackermann N, Konrad R, Eberle U, Treis B, Dangel A, Bengs K, Fingerle V, Berger A, Hörmansdorfer S, Ippisch S, Wicklein B, Grahl A, Pörtner K, Muller N, Zeitlmann N, Boender TS, Cai W, Reich A, an der Heiden M, Rexroth U, Hamouda O, Schneider J, Veith T, Mühlemann B, Wölfel R, Antwerpen M, Walter M, Protzer U, Liebl B, Haas W, Sing A, Drosten C, Zapf A (2020) Investigation of a COVID-19 outbreak in Germany resulting from a single travel-associated primary case: a case series. Lancet Infect Dis 20:920–928

10. Bonifacius A, Tischer-Zimmermann S, Dragon AC, Gussarow D, Vogel A, Krettek U, Gödecke N, Yilmaz M, Kraft ARM, Hoeper MM, Pink I, Schmidt JJ, Li Y, Welte T, Maecker-Kolhoff B, Martens J, Berger MM, Lobenwein C, Stankov M V., Cornberg M, David S, Behrens GMN, Witzke O, Blasczyk R, Eiz-Vesper B (2021) COVID-19 immune signatures reveal stable antiviral T cell function despite declining humoral responses. Immunity 54:340-354.e6

11. Brandal LT, MacDonald E, Veneti L, Ravlo T, Lange H, Naseer U, Feruglio S, Bragstad K, Hungnes O, Ødeskaug LE, Hagen F, Hanch-Hansen KE, Lind A, Watle SV, Taxt AM, Johansen M, Vold L, Aavitsland P, Nygård K, Madslien EH (2021) Outbreak caused by the SARS-CoV-2 Omicron variant in Norway, November to December 2021. Eurosurveillance 26:

12. Burbelo PD, Riedo FX, Morishima C, Rawlings S, Smith D, Das S, Strich JR, Chertow DS, Davey RT, Cohen JI (2020) Detection of Nucleocapsid Antibody to SARS-CoV-2 is More Sensitive than Antibody to Spike Protein in COVID-19 Patients. medRxiv Prepr Serv Heal Sci

13. Burbelo PD, Riedo FX, Morishima C, Rawlings S, Smith D, Das S, Strich JR, Chertow DS, Davey RT, Cohen JI (2020) Sensitivity in detection of antibodies to nucleocapsid and spike proteins of severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 in patients with coronavirus disease 2019. J Infect Dis 222:206–213

14. Cantuti-Castelvetri L, Ojha R, Pedro LD, Djannatian M, Franz J, Kuivanen S, van der Meer F, Kallio K, Kaya T, Anastasina M, Smura T, Levanov L, Szirovicza L, Tobi A,

Kallio-Kokko H, Österlund P, Joensuu M, Meunier FA, Butcher SJ, Winkler MS, Mollenhauer B, Helenius A, Gokce O, Teesalu T, Hepojoki J, Vapalahti O, Stadelmann C, Balistreri G, Simons M (2020) Neuropilin-1 facilitates SARS-CoV-2 cell entry and infectivity. Science (80-) 370:856–860

15. Chen J, Qi T, Liu L, Ling Y, Qian Z, Li T, Li F, Xu Q, Zhang Y, Xu S, Song Z, Zeng Y, Shen Y, Shi Y, Zhu T, Lu H (2020) Clinical progression of patients with COVID-19 in Shanghai, China. J Infect 80:e1–e6

16. Chu DK, Duda S, Solo K, Yaacoub S, Schunemann H (2020) Physical Distancing, Face Masks, and Eye Protection to Prevent Person-to-Person Transmission of SARS-CoV-2 and COVID-19: A Systematic Review and Meta-Analysis. J Vasc Surg 72:1500

17. Clopper CJ, Pearson ES (1934) The Use of Confidence or Fiducial Limits Illustrated in the Case of the Binomial. Biometrika 26:404

18. Daly JL, Simonetti B, Klein K, Chen K-E, Williamson MK, Antón-Plágaro C, Shoemark DK, Simón-Gracia L, Bauer M, Hollandi R, Greber UF, Horvath P, Sessions RB, Helenius A, Hiscox JA, Teesalu T, Matthews DA, Davidson AD, Collins BM, Cullen PJ, Yamauchi Y (2020) Neuropilin-1 is a host factor for SARS-CoV-2 infection. Science (80-) 370:861–865

19. Dan JM, Mateus J, Kato Y, Hastie KM, Yu ED, Faliti CE, Grifoni A, Ramirez SI, Haupt S, Frazier A, Nakao C, Rayaprolu V, Rawlings SA, Peters B, Krammer F, Simon V, Saphire EO, Smith DM, Weiskopf D, Sette A, Crotty S (2021) Immunological memory to SARS-CoV-2 assessed for up to 8 months after infection. Science (80-) 371:

20. Davies NG, Abbott S, Barnard RC, Jarvis CI, Kucharski AJ, Munday JD, Pearson CAB, Russell TW, Tully DC, Washburne AD, Wenseleers T, Gimma A, Waites W, Wong KLM, van Zandvoort K, Silverman JD, Diaz-Ordaz K, Keogh R, Eggo RM, Funk S, Jit M, Atkins KE, Edmunds WJ (2021) Estimated transmissibility and impact of SARS-CoV-2 lineage B.1.1.7 in England. Science (80-) 372:

21. Davies NG, Jarvis CI, van Zandvoort K, Clifford S, Sun FY, Funk S, Medley G, Jafari Y, Meakin SR, Lowe R, Quaife M, Waterlow NR, Eggo RM, Lei J, Koltai M, Krauer F, Tully DC, Munday JD, Showering A, Foss AM, Prem K, Flasche S, Kucharski AJ, Abbott S, Quilty BJ, Jombart T, Rosello A, Knight GM, Jit M, Liu Y, Williams J,

Hellewell J, O'Reilly K, Chan YWD, Russell TW, Procter SR, Endo A, Nightingale ES, Bosse NI, Villabona-Arenas CJ, Sandmann FG, Gimma A, Abbas K, Waites W, Atkins KE, Barnard RC, Klepac P, Gibbs HP, Pearson CAB, Brady O, Edmunds WJ, Jewell NP, Diaz-Ordaz K, Keogh RH (2021) Increased mortality in community-tested cases of SARS-CoV-2 lineage B.1.1.7. Nature 593:270–274

22. Du M, Ma Y, Deng J, Liu M, Liu J (2022) Comparison of Long COVID-19 Caused by Different SARS-CoV-2 Strains: A Systematic Review and Meta-Analysis. Int J Environ Res Public Health 19:

23. Enjuanes L, Smerdou C, Castilla J, Anton IM, Torres JM, Sola I, Golvano J, Sanchez JM, Pintado B (1995) Development of protection against coronavirus induced diseases: A review. Springer New York LLCURL: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/8830481/

24. Fehr AR, Perlman S (2015) Coronaviruses: An overview of their replication and pathogenesis. Springer New YorkURL: /pmc/articles/PMC4369385/

25. Fernández-de-las-Peñas C, Notarte KI, Peligro PJ, Velasco JV, Ocampo MJ, Henry BM, Arendt-Nielsen L, Torres-Macho J, Plaza-Manzano G (2022) Long-COVID Symptoms in Individuals Infected with Different SARS-CoV-2 Variants of Concern: A Systematic Review of the Literature. Viruses 14:

26. Fink S, Ruoff F, Stahl A, Becker M, Kaiser P, Traenkle B, Junker D, Weise F, Ruetalo N, Hörber S, Peter A, Nelde A, Walz J, Krause G, Baillot A, Schenke-Layland K, Joos TO, Rothbauer U, Schneiderhan-Marra N, Schindler M, Templin MF (2021) Multiplexed Serum Antibody Screening Platform Using Virus Extracts from Endemic Coronaviridae and SARS-CoV-2. ACS Infect Dis 7:1596–1606

27. Fischer B, Knabbe C, Vollmer T (2020) SARS-CoV-2 IgG seroprevalence in blood donors located in three different federal states, Germany, March to June 2020. Eurosurveillance 25:2001285

28. Graham MS, Sudre CH, May A, Antonelli M, Murray B, Varsavsky T, Kläser K, Canas LS, Molteni E, Modat M, Drew DA, Nguyen LH, Polidori L, Selvachandran S, Hu C, Capdevila J, Koshy C, Ash A, Wise E, Moore N, Mori M, Cortes N, Lynch J, Kidd S, Fairley DJ, Curran T, McKenna JP, Adams H, Fraser C, Golubchik T, Bonsall D, Hassan-Ibrahim MO, Malone CS, Cogger BJ, Wantoch M, Reynolds N, Warne B,

Maksimovic J, Spellman K, McCluggage K, John M, Beer R, Afifi S, Morgan S, Marchbank A, Price A, Kitchen C, Gulliver H, Merrick I, Southgate J, Guest M, Munn R, Workman T, Connor TR, Fuller W, Bresner C, Snell LB, Patel A, Charalampous T, Nebbia G, Batra R, Edgeworth J, Robson SC, Beckett AH, Aanensen DM, Underwood AP, Yeats CA, Abudahab K, Taylor BE, Menegazzo M, Clark G, Smith W, Khakh M, Fleming VM, Lister MM, Howson-Wells HC, Berry L, Boswell T, Joseph A, Willingham I, Jones C, Holmes C, Bird P, Helmer T, Fallon K, Tang J, Raviprakash V, Campbell S, Sheriff N, Blakey V, Williams LA, Loose MW, Holmes N, Moore C, Carlile M, Wright V, Sang F, Debebe J, Coll F, Signell AW, Betancor G, Wilson HD, Eldirdiri S, Kenyon A, Davis T, Pybus OG, du Plessis L, Zarebski AE, Raghwani J, Kraemer MU, Francois S, Attwood SW, Vasylyeva TI, Escalera Zamudio M, Gutierrez B, Torok ME, Hamilton WL, Goodfellow IG, Hall G, Jahun AS, Chaudhry Y, Hosmillo M, Pinckert ML, Georgana I, Moses S, Lowe H, Bedford L, Moore J, Stonehouse S, Fisher CL, Awan AR, BoYes J, Breuer J, Harris KA, Brown JR, Shah D, Atkinson L, Lee JC, Storey N, Flaviani F, Alcolea-Medina A, Williams R, Vernet G, Chapman MR, Levett LJ, Heaney J, Chatterton W, Pusok M, Xu-McCrae L, Smith DL, Bashton M, Young GR, Holmes A, Randell PA, Cox A, Madona P, Bolt F, Price J, Mookerjee S, Ragonnet-Cronin M, Nascimento FF, Jorgensen D, Siveroni I, Johnson R, Boyd O, Geidelberg L, Volz EM, Rowan A, Taylor GP, Smollett KL, Loman NJ, Quick J, McMurray C, Stockton J, Nicholls S, Rowe W, Poplawski R, McNally A, Martinez Nunez RT, Mason J, Robinson TI, O'Toole E, Watts J, Breen C, Cowell A, Sluga G, Machin NW, Ahmad SSY, George RP, Halstead F, Sivaprakasam V, Hogsden W, Illingworth CJ, Jackson C, Thomson EC, Shepherd JG, Asamaphan P, Niebel MO, Li KK, Shah RN, Jesudason NG, Tong L, Broos A, Mair D, Nichols J, Carmichael SN, Nomikou K, Aranday-Cortes E, Johnson N, Starinskij I, da Silva Filipe A, Robertson DL, Orton RJ, Hughes J, Vattipally S, Singer JB, Nickbakhsh S, Hale AD, Macfarlane-Smith LR, Harper KL, Carden H, Taha Y, Payne BA, Burton-Fanning S, Waugh S, Collins J, Eltringham G, Rushton S, O'Brien S, Bradley A, Maclean A, Mollett G, Blacow R, Templeton KE, McHugh MP, Dewar R, Wastenge E, Dervisevic S, Stanley R, Meader EJ, Coupland L, Smith L, Graham C, Barton E, Padgett D, Scott G, Swindells E, Greenaway J, Nelson A, McCann CM, Yew WC, Andersson M, Peto T, Justice A, Eyre D, Crook D, Sloan TJ, Duckworth N, Walsh S, Chauhan AJ, Glaysher S, Bicknell K, Wyllie S, Elliott S, Lloyd A, Impey R, Levene N, Monaghan L, Bradley DT, Wyatt T, Allara E, Pearson C, Osman H, Bosworth A, Robinson E, Muir P, Vipond IB, Hopes R, Pymont HM, Hutchings S, Curran MD,

Parmar S, Lackenby A, Mbisa T, Platt S, Miah S, Bibby D, Manso C, Hubb J, Chand M, Dabrera G, Ramsay M, Bradshaw D, Thornton A, Myers R, Schaefer U, Groves N, Gallagher E, Lee D, Williams D, Ellaby N, Harrison I, Hartman H, Manesis N, Patel V, Bishop C, Chalker V, Ledesma J, Twohig KA, Holden MTG, Shaaban S, Birchley A, Adams A, Davies A, Gaskin A, Plimmer A, Gatica-Wilcox B, McKerr C, Moore C, Williams C, Heyburn D, De Lacy E, Hilvers E, Downing F, Shankar G, Jones H, Asad H, Coombes J, Watkins J, Evans JM, Fina L, Gifford L, Gilbert L, Graham L, Perry M, Morgan M, Bull M, Cronin M, Pacchiarini N, Craine N, Jones R, Howe R, Corden S, Rey S, Kumziene-SummerhaYes S, Taylor S, Cottrell S, Jones S, Edwards S, O'Grady J, Page AJ, Mather AE, Baker DJ, Rudder S, Aydin A, Kay GL, Trotter AJ, Alikhan NF, de Oliveira Martins L, Le-Viet T, Meadows L, Casey A, Ratcliffe L, Simpson DA, Molnar Z, Thompson T, Acheson E, Masoli JA, Knight BA, Ellard S, Auckland C, Jones CR, Mahungu TW, Irish-Tavares D, Haque T, Hart J, Witele E, Fenton ML, Dadrah A, Symmonds A, Saluja T, Bourgeois Y, Scarlett GP, Loveson KF, Goudarzi S, Fearn C, Cook K, Dent H, Paul H, Partridge DG, Raza M, Evans C, Johnson K, Liggett S, Baker P, Bonner S, Essex S, Lyons RA, Saeed K, Mahanama AIK, Samaraweera B, Silveira S, Pelosi E, Wilson-Davies E, Williams RJ, Kristiansen M, Roy S, Williams CA, Cotic M, Bayzid N, Westhorpe AP, Hartley JA, Jannoo R, Lowe HL, Karamani A, Ensell L, Prieto JA, Jeremiah S, Grammatopoulos D, Pandey S, Berry L, Jones K, Richter A, Beggs A, Best A, Percival B, Mirza J, Megram O, Mayhew M, Crawford L, Ashcroft F, Moles-Garcia E, Cumley N, Smith CP, Bucca G, Hesketh AR, Blane B, Girgis ST, Leek D, Sridhar S, Forrest S, Cormie C, Gill HK, Dias J, Higginson EE, Maes M, Young J, Kermack LM, Gupta RK, Ludden C, Peacock SJ, Palmer S, Churcher CM, Hadjirin NF, Carabelli AM, Brooks E, Smith KS, Galai K, McManus GM, Ruis C, Davidson RK, Rambaut A, Williams T, Balcazar CE, Gallagher MD, O'Toole Á, Rooke S, Hill V, Williamson KA, Stanton TD, Michell SL, Bewshea CM, Temperton B, Michelsen ML, Warwick-Dugdale J, Manley R, Farbos A, Harrison JW, Sambles CM, Studholme DJ, Jeffries AR, Darby AC, Hiscox JA, Paterson S, Iturriza-Gomara M, Jackson KA, Lucaci AO, Vamos EE, Hughes M, Rainbow L, Eccles R, Nelson C, Whitehead M, Turtle L, Haldenby ST, Gregory R, Gemmell M, Wierzbicki C, Webster HJ, de Silva TI, Smith N, Angyal A, Lindsey BB, Groves DC, Green LR, Wang D, Freeman TM, Parker MD, Keeley AJ, Parsons PJ, Tucker RM, Brown R, Wyles M, Whiteley M, Zhang P, Gallis M, Louka SF, Constantinidou C, Unnikrishnan M, Ott S, Cheng JKJ, Bridgewater HE, Frost LR, Taylor-Joyce G, Stark R, Baxter L, Alam MT, Brown PE, Aggarwal D, Cerda

AC, Merrill T V., Wilson RE, McClure PC, Chappell JG, Tsoleridis T, Ball J, Buck D, Todd JA, Green A, Trebes A, MacIntyre-Cockett G, de Cesare M, Alderton A, Amato R, Ariani C V., Beale MA, Beaver C, Bellis KL, Betteridge E, Bonfield J, Danesh J, Dorman MJ, Drury E, Farr BW, Foulser L, Goncalves S, Goodwin S, Gourtovaia M, Harrison EM, Jackson DK, Jamrozy D, Johnston I, Kane L, Kay S, Keatley JP, Kwiatkowski D, Langford CF, Lawniczak M, Letchford L, Livett R, Lo S, Martincorena I, McGuigan S, Nelson R, Palmer S, Park NR, Patel M, Prestwood L, Puethe C, Quail MA, Rajatileka S, Scott C, Shirley L, Sillitoe J, Spencer Chapman MH, Thurston SA, Tonkin-Hill G, Weldon D, Rajan D, Bronner IF, Aigrain L, Redshaw NM, Lensing S V., Davies R, Whitwham A, Liddle J, Lewis K, Tovar-Corona JM, Leonard S, Durham J, Bassett AR, McCarthy S, Moll RJ, James K, Oliver K, Makunin A, Barrett J, Gunson RN, Hammers A, Chan AT, Wolf J, Spector TD, Steves CJ, Ourselin S (2021) Changes in symptomatology, reinfection, and transmissibility associated with the SARS-CoV-2 variant B.1.1.7: an ecological study. Lancet Public Heal 6:e335–e345

29. Graham RL, Baric RS (2010) Recombination, Reservoirs, and the Modular Spike: Mechanisms of Coronavirus Cross-Species Transmission. J Virol 84:3134–3146

30. Grifoni A, Sidney J, Zhang Y, Scheuermann RH, Peters B, Sette A (2020) A Sequence Homology and Bioinformatic Approach Can Predict Candidate Targets for Immune Responses to SARS-CoV-2. Cell Host Microbe 27:671-680.e2

31. Grubaugh ND, Hanage WP, Rasmussen AL (2020) Making Sense of Mutation: What D614G Means for the COVID-19 Pandemic Remains Unclear. Cell 182:794–795

32. Gupta A, Madhavan M V., Sehgal K, Nair N, Mahajan S, Sehrawat TS, Bikdeli B, Ahluwalia N, Ausiello JC, Wan EY, Freedberg DE, Kirtane AJ, Parikh SA, Maurer MS, Nordvig AS, Accili D, Bathon JM, Mohan S, Bauer KA, Leon MB, Krumholz HM, Uriel N, Mehra MR, Elkind MSV, Stone GW, Schwartz A, Ho DD, Bilezikian JP, Landry DW (2020) Extrapulmonary manifestations of COVID-19. Nat Med 26:1017–1032

33. Harvey WT, Carabelli AM, Jackson B, Gupta RK, Thomson EC, Harrison EM, Ludden C, Reeve R, Rambaut A, Peacock SJ, Robertson DL (2021) SARS-CoV-2 variants, spike mutations and immune escape. Nat Rev Microbiol 19:409–424

34. Henss L, Scholz T, Von Rhein C, Wieters I, Borgans F, Eberhardt FJ, Zacharowski K,

Ciesek S, Rohde G, Vehreschild M, Stephan C, Wolf T, Hofmann-Winkler H, Scheiblauer H, Schnierle BS (2021) Analysis of Humoral Immune Responses in Patients with Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 Infection. J Infect Dis 223:56–61

35. Hoffmann M, Kleine-Weber H, Schroeder S, Krüger N, Herrler T, Erichsen S, Schiergens TS, Herrler G, Wu NH, Nitsche A, Müller MA, Drosten C, Pöhlmann S (2020) SARS-CoV-2 Cell Entry Depends on ACE2 and TMPRSS2 and Is Blocked by a Clinically Proven Protease Inhibitor. Cell 181:271-280.e8

36. Hou YJ, Chiba S, Halfmann P, Ehre C, Kuroda M, Dinnon KH, Leist SR, Schäfer A, Nakajima N, Takahashi K, Lee RE, Mascenik TM, Graham R, Edwards CE, Tse L V., Okuda K, Markmann AJ, Bartelt L, Silva A De, Margolis DM, Boucher RC, Randell SH, Suzuki T, Gralinski LE, Kawaoka Y, Baric RS (2020) SARS-CoV-2 D614G variant exhibits efficient replication ex vivo and transmission in vivo. Science (80-) 370:1464–1468

37. Howard J, Huang A, Li Z, Tufekci Z, Zdimal V, van der Westhuizen HM, von Delft A, Price A, Fridman L, Tang LH, Tang V, Watson GL, Bax CE, Shaikh R, Questier F, Hernandez D, Chu LF, Ramirez CM, Rimoin AW (2021) An evidence review of face masks against COVID-19. Proc Natl Acad Sci U S A 118:

38. Huang AT, Garcia-Carreras B, Hitchings MDT, Yang B, Katzelnick LC, Rattigan SM, Borgert BA, Moreno CA, Solomon BD, Trimmer-Smith L, Etienne V, Rodriguez-Barraquer I, Lessler J, Salje H, Burke DS, Wesolowski A, Cummings DAT (2020) A systematic review of antibody mediated immunity to coronaviruses: kinetics, correlates of protection, and association with severity. Nat Commun 11:1–16

39. Huang C, Wang Y, Li X, Ren L, Zhao J, Hu Y, Zhang L, Fan G, Xu J, Gu X, Cheng Z, Yu T, Xia J, Wei Y, Wu W, Xie X, Yin W, Li H, Liu M, Xiao Y, Gao H, Guo L, Xie J, Wang G, Jiang R, Gao Z, Jin Q, Wang J, Cao B (2020) Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China. Lancet 395:497–506

40. Huergo LF, Selim KA, Conzentino MS, Gerhardt ECM, Santos ARS, Wagner B, Alford JT, Deobald N, Pedrosa FO, De Souza EM, Nogueira MB, Raboni SM, Souto D, Rego FGM, Zanette DL, Aoki MN, Nardin JM, Fornazari B, Morales HMP, Borges VA, Nelde

A, Walz JS, Becker M, Schneiderhan-Marra N, Rothbauer U, Reis RA, Forchhammer K (2021) Magnetic Bead-Based Immunoassay Allows Rapid, Inexpensive, and Quantitative Detection of Human SARS-CoV-2 Antibodies. ACS Sensors 6:703–708

41. Junker D, Dulovic A, Becker M, Wagner TR, Kaiser PD, Traenkle B, Kienzle K, Bunk S, Struemper C, Haeberle H, Schmauder K, Ruetalo N, Malek N, Althaus K, Koeppen M, Rothbauer U, Walz JS, Schindler M, Bitzer M, Göpel S, Schneiderhan-Marra N (2022) COVID-19 patient serum less potently inhibits ACE2-RBD binding for various SARS-CoV-2 RBD mutants. Sci Rep 12:1–13

42. Junker D, Dulovic A, Becker M, Wagner TR, Kaiser PD, Traenkle B, Kienzle K, Bunk S, Struemper C, Haeberle H, Schmauder K, Ruetalo N, Malek N, Althaus K, Koeppen M, Rothbauer U, Walz JS, Schindler M, Bitzer M, Göpel S, Schneiderhan-Marra N (2022) COVID-19 patient serum less potently inhibits ACE2-RBD binding for various SARS-CoV-2 RBD mutants. Sci Rep 12:1–13

43. Kirtipal N, Bharadwaj S, Kang SG (2020) From SARS to SARS-CoV-2, insights on structure, pathogenicity and immunity aspects of pandemic human coronaviruses. Infect Genet Evol 85:104502

44. Koopmans M (2021) SARS-CoV-2 and the human-animal interface: outbreaks on mink farms. Lancet Infect Dis 21:18–19

45. Korber B, Fischer WM, Gnanakaran S, Yoon H, Theiler J, Abfalterer W, Hengartner N, Giorgi EE, Bhattacharya T, Foley B, Hastie KM, Parker MD, Partridge DG, Evans CM, Freeman TM, de Silva TI, Angyal A, Brown RL, Carrilero L, Green LR, Groves DC, Johnson KJ, Keeley AJ, Lindsey BB, Parsons PJ, Raza M, Rowland-Jones S, Smith N, Tucker RM, Wang D, Wyles MD, McDanal C, Perez LG, Tang H, Moon-Walker A, Whelan SP, LaBranche CC, Saphire EO, Montefiori DC (2020) Tracking Changes in SARS-CoV-2 Spike: Evidence that D614G Increases Infectivity of the COVID-19 Virus. Cell 182:812-827.e19

46. Korber B, Fischer WM, Gnanakaran S, Yoon H, Theiler J, Abfalterer W, Hengartner N, Giorgi EE, Bhattacharya T, Foley B, Hastie KM, Parker MD, Partridge DG, Evans CM, Freeman TM, de Silva TI, Angyal A, Brown RL, Carrilero L, Green LR, Groves DC, Johnson KJ, Keeley AJ, Lindsey BB, Parsons PJ, Raza M, Rowland-Jones S, Smith N,

Tucker RM, Wang D, Wyles MD, McDanal C, Perez LG, Tang H, Moon-Walker A, Whelan SP, LaBranche CC, Saphire EO, Montefiori DC (2020) Tracking Changes in SARS-CoV-2 Spike: Evidence that D614G Increases Infectivity of the COVID-19 Virus. Cell 182:812-827.e19

47. Kuzmina A, Khalaila Y, Voloshin O, Keren-Naus A, Boehm-Cohen L, Raviv Y, Shemer-Avni Y, Rosenberg E, Taube R (2021) SARS-CoV-2 spike variants exhibit differential infectivity and neutralization resistance to convalescent or post-vaccination sera. Cell Host Microbe 29:522-528.e2

48. Lachenbruch PA, Lwanga SK, Lemeshow S (1991) Sample Size Determination in Health Studies: A Practical Manual. J Am Stat Assoc 86:1149

49. Larsen HD, Fonager J, Lomholt FK, Dalby T, Benedetti G, Kristensen B, Urth TR, Rasmussen M, Lassaunière R, Rasmussen TB, Strandbygaard B, Lohse L, Chaine M, Møller KL, Berthelsen ASN, Nørgaard SK, Sönksen UW, Boklund AE, Hammer AS, Belsham GJ, Krause TG, Mortensen S, Bøtner A, Fomsgaard A, Mølbak K (2021) Preliminary report of an outbreak of SARS-CoV-2 in mink and mink farmers associated with community spread, Denmark, June to November 2020. Eurosurveillance 26:1

50. Lemprière S (2021) SARS-CoV-2 detected in olfactory neurons. Nat Rev Neurol 17:63

51. Lippi G, Nocini R, Henry BM (2022) Analysis of online search trends suggests that SARS-CoV-2 Omicron (B.1.1.529) variant causes different symptoms. J Infect 84:e76–e77

52. Liu L, Wang P, Nair MS, Yu J, Rapp M, Wang Q, Luo Y, Chan JFW, Sahi V, Figueroa A, Guo X V., Cerutti G, Bimela J, Gorman J, Zhou T, Chen Z, Yuen KY, Kwong PD, Sodroski JG, Yin MT, Sheng Z, Huang Y, Shapiro L, Ho DD (2020) Potent neutralizing antibodies against multiple epitopes on SARS-CoV-2 spike. Nature 584:450–456

53. Liu Y, Liu J, Xia H, Zhang X, Fontes-Garfias CR, Swanson KA, Cai H, Sarkar R, Chen W, Cutler M, Cooper D, Weaver SC, Muik A, Sahin U, Jansen KU, Xie X, Dormitzer PR, Shi P-Y (2021) Neutralizing Activity of BNT162b2-Elicited Serum. N Engl J Med 384:1466–1468

54. Lohse S, Sternjakob-Marthaler A, Lagemann P, Schöpe J, Rissland J, Seiwert N, Pfuhl

T, Müllendorff A, Kiefer LS, Vogelgesang M, Vella L, Denk K, Vicari J, Zwick A, Dr. Lang I, Weber G, Geisel J, Rech J, Schnabel B, Hauptmann G, Holleczek B, Scheiblauer H, Wagenpfeil S, Smola S (2022) German federal-state-wide seroprevalence study of 1st SARS-CoV-2 pandemic wave shows importance of long-term antibody test performance. Commun Med

55. Luchsinger LL, Ransegnola BP, Jin DK, Muecksch F, Weisblum Y, Bao W, George PJ, Rodriguez M, Tricoche N, Schmidt F, Gao C, Jawahar S, Pal M, Schnall E, Zhang H, Strauss D, Yazdanbakhsh K, Hillyer CD, Bieniasz PD, Hatziioannou T (2020) Serological assays estimate highly variable SARS-CoV-2 neutralizing antibody activity in recovered COVID-19 patients. J Clin Microbiol 58:

56. Marot S, Malet I, Leducq V, Zafilaza K, Sterlin D, Planas D, Gothland A, Jary A, Dorgham K, Bruel T, Attali V, Baresse I, Beurton A, Boddaert J, Bourmaleau J, Catala M, Demoule A, Dunoyer V, Esteban-Amarilla C, Hausfater P, Haziot N, Ip Q, Kubis N, Lhoest L, Lubetzki C, Marion F, Morawiec E, Mourtada L, Orcel B, Morelot-Panzini C, Raux M, Reinhard C, Riquier C, Roubertier X, Weiss N, Zalc B, Burrel S, Boutolleau D, Schwartz O, Gorochov G, Calvez V, Marcelin AG (2021) Rapid decline of neutralizing antibodies against SARS-CoV-2 among infected healthcare workers. Nat Commun 12:1–7

57. Matheson NJ, Lehner PJ (2020) How does SARS-CoV-2 cause COVID-19? Science (80-) 369:510–511

58. Matschke J, Lütgehetmann M, Hagel C, Sperhake JP, Schröder AS, Edler C, Mushumba H, Fitzek A, Allweiss L, Dandri M, Dottermusch M, Heinemann A, Pfefferle S, Schwabenland M, Sumner Magruder D, Bonn S, Prinz M, Gerloff C, Püschel K, Krasemann S, Aepfelbacher M, Glatzel M (2020) Neuropathology of patients with COVID-19 in Germany: a post-mortem case series. Lancet Neurol 19:919–929

59. Meinhardt J, Radke J, Dittmayer C, Franz J, Thomas C, Mothes R, Laue M, Schneider J, Brünink S, Greuel S, Lehmann M, Hassan O, Aschman T, Schumann E, Chua RL, Conrad C, Eils R, Stenzel W, Windgassen M, Rößler L, Goebel HH, Gelderblom HR, Martin H, Nitsche A, Schulz-Schaeffer WJ, Hakroush S, Winkler MS, Tampe B, Scheibe F, Körtvélyessy P, Reinhold D, Siegmund B, Kühl AA, Elezkurtaj S, Horst D, Oesterhelweg L, Tsokos M, Ingold-Heppner B, Stadelmann C, Drosten C, Corman VM,

Radbruch H, Heppner FL (2021) Olfactory transmucosal SARS-CoV-2 invasion as a port of central nervous system entry in individuals with COVID-19. Nat Neurosci 24:168–175

60. Mittal A, Verma V (2021) Connections between biomechanics and higher infectivity: a tale of the D614G mutation in the SARS-CoV-2 spike protein. Signal Transduct Target Ther 6:

61. Notarte KI, Catahay JA, Velasco JV, Pastrana A, Ver AT, Pangilinan FC, Peligro PJ, Casimiro M, Guerrero JJ, Gellaco MML, Lippi G, Henry BM, Fernández-de-las-Peñas C (2022) Impact of COVID-19 vaccination on the risk of developing long-COVID and on existing long-COVID symptoms: A systematic review. eClinicalMedicine 53:

62. Ortolan A, Lorenzin M, Felicetti M, Doria A, Ramonda R (2020) Does gender influence clinical expression and disease outcomes in COVID-19? A systematic review and meta-analysis. Int J Infect Dis 99:496–504

63. Piccaluga PP, Malerba G, Navari M, Diani E, Concia E, Gibellini D (2021) Cross-Immunization Against Respiratory Coronaviruses May Protect Children From SARS-CoV2: More Than a Simple Hypothesis? Front Pediatr 8:

64. Plante JA, Liu Y, Liu J, Xia H, Johnson BA, Lokugamage KG, Zhang X, Muruato AE, Zou J, Fontes-Garfias CR, Mirchandani D, Scharton D, Bilello JP, Ku Z, An Z, Kalveram B, Freiberg AN, Menachery VD, Xie X, Plante KS, Weaver SC, Shi PY (2021) Spike mutation D614G alters SARS-CoV-2 fitness. Nature 592:116–121

65. Poethko-Müller C, Prütz F, Buttmann-Schweiger N, Fiebig J SG German and international studies on SARS-CoV-2 seroprevalence. J Heal Monit 5(S4) 2–15

66. Pritsch M, Radon K, Bakuli A, Le Gleut R, Olbrich L, Guggenbüehl Noller JM, Saathoff E, Castelletti N, Garí M, Pütz P, Schälte Y, Frahnow T, Wölfel R, Rothe C, Pletschette M, Metaxa D, Forster F, Thiel V, Rieß F, Diefenbach MN, Fröschl G, Bruger J, Winter S, Frese J, Puchinger K, Brand I, Kroidl I, Hasenauer J, Fuchs C, Wieser A, Hoelscher M (2021) Prevalence and risk factors of infection in the representative covid-19 cohort munich. Int J Environ Res Public Health 18:

67. Rissland J Studienprotokoll SaarCoPS .

68. Runkel S, Kowalzik F, Gehring S, Winter J, Grandt CL, Marron M, Seifert-Hitzler S, Hitzler WE (2020) Prevalence of severe acute respiratory syndrome coronavirus-2-specific antibodies in german blood donors during the COVID-19 pandemic. Clin Lab 6:2133–2137

69. Scheiblauer H, Nübling CM, Wolf T, Khodamoradi Y, Bellinghausen C, Sonntagbauer M, Esser-Nobis K, Filomena A, Mahler V, Maier TJ, Stephan C (2022) Antibody response to SARS-CoV-2 for more than one year − kinetics and persistence of detection are predominantly determined by avidity progression and test design. J Clin Virol 146:105052

70. Schilling J, Lehfeld A, Schumacher D, Ullrich A DM Krankheitsschwere der ersten COVID-19-Welle in Deutschland basierend auf den Meldungen gemäß Infektionsschutzgesetz. J Heal Monit 5(S11) 2–20 DOI 1025646/7169

71. Schulte-Schrepping J, Reusch N, Paclik D, Baßler K, Schlickeiser S, Zhang B, Krämer B, Krammer T, Brumhard S, Bonaguro L, De Domenico E, Wendisch D, Grasshoff M, Kapellos TS, Beckstette M, Pecht T, Saglam A, Dietrich O, Mei HE, Schulz AR, Conrad C, Kunkel D, Vafadarnejad E, Xu CJ, Horne A, Herbert M, Drews A, Thibeault C, Pfeiffer M, Hippenstiel S, Hocke A, Müller-Redetzky H, Heim KM, Machleidt F, Uhrig A, Bosquillon de Jarcy L, Jürgens L, Stegemann M, Glösenkamp CR, Volk HD, Goffinet C, Landthaler M, Wyler E, Georg P, Schneider M, Dang-Heine C, Neuwinger N, Kappert K, Tauber R, Corman V, Raabe J, Kaiser KM, Vinh MT, Rieke G, Meisel C, Ulas T, Becker M, Geffers R, Witzenrath M, Drosten C, Suttorp N, von Kalle C, Kurth F, Händler K, Schultze JL, Aschenbrenner AC, Li Y, Nattermann J, Sawitzki B, Saliba AE, Sander LE, Angelov A, Bals R, Bartholomäus A, Becker A, Bezdan D, Bonifacio E, Bork P, Clavel T, Colome-Tatche M, Diefenbach A, Dilthey A, Fischer N, Förstner K, Frick JS, Gagneur J, Goesmann A, Hain T, Hummel M, Janssen S, Kalinowski J, Kallies R, Kehr B, Keller A, Kim-Hellmuth S, Klein C, Kohlbacher O, Korbel JO, Kurth I, Ludwig K, Makarewicz O, Marz M, McHardy A, Mertes C, Nöthen M, Nürnberg P, Ohler U, Ossowski S, Overmann J, Peter S, Pfeffer K, Poetsch AR, Pühler A, Rajewsky N, Ralser M, Rieß O, Ripke S, Nunes da Rocha U, Rosenstiel P, Schiffer P, Schulte EC, Sczyrba A, Stegle O, Stoye J, Theis F, Vehreschild J, Vogel J, von Kleist M, Walker A, Walter J, Wieczorek D, Ziebuhr J (2020) Severe COVID-19 Is Marked by a Dysregulated Myeloid Cell Compartment. Cell 182:1419-1440.e23

72. Seow J, Graham C, Merrick B, Acors S, Pickering S, Steel KJA, Hemmings O, O'Byrne A, Kouphou N, Galao RP, Betancor G, Wilson HD, Signell AW, Winstone H, Kerridge C, Huettner I, Jimenez-Guardeño JM, Lista MJ, Temperton N, Snell LB, Bisnauthsing K, Moore A, Green A, Martinez L, Stokes B, Honey J, Izquierdo-Barras A, Arbane G, Patel A, Tan MKI, O'Connell L, O'Hara G, MacMahon E, Douthwaite S, Nebbia G, Batra R, Martinez-Nunez R, Shankar-Hari M, Edgeworth JD, Neil SJD, Malim MH, Doores KJ (2020) Longitudinal observation and decline of neutralizing antibody responses in the three months following SARS-CoV-2 infection in humans. Nat Microbiol 5:1598–1607

73. Streeck H, Schulte B, Kümmerer BM, Richter E, Höller T, Fuhrmann C, Bartok E, Dolscheid-Pommerich R, Berger M, Wessendorf L, Eschbach-Bludau M, Kellings A, Schwaiger A, Coenen M, Hoffmann P, Stoffel-Wagner B, Nöthen MM, Eis-Hübinger AM, Exner M, Schmithausen RM, Schmid M, Hartmann G (2020) Infection fatality rate of SARS-CoV2 in a super-spreading event in Germany. Nat Commun 11:1–12

74. Strengert M, Becker M, Ramos GM, Dulovic A, Gruber J, Juengling J, Lürken K, Beigel A, Wrenger E, Lonnemann G, Cossmann A, Stankov M V., Dopfer-Jablonka A, Kaiser PD, Traenkle B, Rothbauer U, Krause G, Schneiderhan-Marra N, Behrens GMN (2021) Cellular and humoral immunogenicity of a SARS-CoV-2 mRNA vaccine in patients on haemodialysis. EBioMedicine 70:

75. Sudre CH, Murray B, Varsavsky T, Graham MS, Penfold RS, Bowyer RC, Pujol JC, Klaser K, Antonelli M, Canas LS, Molteni E, Modat M, Jorge Cardoso M, May A, Ganesh S, Davies R, Nguyen LH, Drew DA, Astley CM, Joshi AD, Merino J, Tsereteli N, Fall T, Gomez MF, Duncan EL, Menni C, Williams FMK, Franks PW, Chan AT, Wolf J, Ourselin S, Spector T, Steves CJ (2021) Attributes and predictors of long COVID. Nat Med 27:626–631

76. Sun B, Feng Y, Mo X, Zheng P, Wang Q, Li P, Peng P, Liu X, Chen Z, Huang H, Zhang F, Luo W, Niu X, Hu P, Wang L, Peng H, Huang Z, Feng L, Li F, Zhang F, Li F, Zhong N, Chen L (2020) Kinetics of SARS-CoV-2 specific IgM and IgG responses in COVID-19 patients. Emerg Microbes Infect 9:940–948

77. Sungnak W, Huang N, Bécavin C, Berg M, Queen R, Litvinukova M, Talavera-López C, Maatz H, Reichart D, Sampaziotis F, Worlock KB, Yoshida M, Barnes JL, Banovich

NE, Barbry P, Brazma A, Collin J, Desai TJ, Duong TE, Eickelberg O, Falk C, Farzan M, Glass I, Gupta RK, Haniffa M, Horvath P, Hubner N, Hung D, Kaminski N, Krasnow M, Kropski JA, Kuhnemund M, Lako M, Lee H, Leroy S, Linnarson S, Lundeberg J, Meyer KB, Miao Z, Misharin A V., Nawijn MC, Nikolic MZ, Noseda M, Ordovas-Montanes J, Oudit GY, Pe'er D, Powell J, Quake S, Rajagopal J, Tata PR, Rawlins EL, Regev A, Reyfman PA, Rozenblatt-Rosen O, Saeb-Parsy K, Samakovlis C, Schiller HB, Schultze JL, Seibold MA, Seidman CE, Seidman JG, Shalek AK, Shepherd D, Spence J, Spira A, Sun X, Teichmann SA, Theis FJ, Tsankov AM, Vallier L, van den Berge M, Whitsett J, Xavier R, Xu Y, Zaragosi LE, Zerti D, Zhang H, Zhang K, Rojas M, Figueiredo F (2020) SARS-CoV-2 entry factors are highly expressed in nasal epithelial cells together with innate immune genes. Nat Med 26:681–687

78. Tai W, He L, Zhang X, Pu J, Voronin D, Jiang S, Zhou Y, Du L (2020) Characterization of the receptor-binding domain (RBD) of 2019 novel coronavirus: implication for development of RBD protein as a viral attachment inhibitor and vaccine. Cell Mol Immunol 17:613–620

79. Takahashi T, Ellingson MK, Wong P, Israelow B, Lucas C, Klein J, Silva J, Mao T, Oh JE, Tokuyama M, Lu P, Venkataraman A, Park A, Liu F, Meir A, Sun J, Wang EY, Casanovas-Massana A, Wyllie AL, Vogels CBF, Earnest R, Lapidus S, Ott IM, Moore AJ, Anastasio K, Askenase MH, Batsu M, Beatty H, Bermejo S, Bickerton S, Brower K, Bucklin ML, Cahill S, Campbell M, Cao Y, Courchaine E, Datta R, DeIuliis G, Geng B, Glick L, Handoko R, Kalinich C, Khoury-Hanold W, Kim D, Knaggs L, Kuang M, Kudo E, Lim J, Linehan M, Lu-Culligan A, Malik AA, Martin A, Matos I, McDonald D, Minasyan M, Mohanty S, Muenker MC, Naushad N, Nelson A, Nouws J, Nunez-Smith M, Obaid A, Ott I, Park HJ, Peng X, Petrone M, Prophet S, Rahming H, Rice T, Rose KA, Sewanan L, Sharma L, Shepard D, Silva E, Simonov M, Smolgovsky M, Song E, Sonnert N, Strong Y, Todeasa C, Valdez J, Velazquez S, Vijayakumar P, Wang H, Watkins A, White EB, Yang Y, Shaw A, Fournier JB, Odio CD, Farhadian S, Dela Cruz C, Grubaugh ND, Schulz WL, Ring AM, Ko AI, Omer SB, Iwasaki A (2020) Sex differences in immune responses that underlie COVID-19 disease outcomes. Nature 588:315–320

80. Tolksdorf K, Buda S, Schilling J (2021) Aktualisierung zur „Retrospektiven Phaseneinteilung der COVID-19-Pandemie in Deutschland". Epidemiol Bull 37:13–14

81. Treskova-Schwarzbach M, Haas L, Reda S, Pilic A, Borodova A, Karimi K, Koch J, Nygren T, Scholz S, Schönfeld V, Vygen-Bonnet S, Wichmann O, Harder T (2021) Pre-existing health conditions and severe COVID-19 outcomes: an umbrella review approach and meta-analysis of global evidence. BMC Med 19:1–26

82. Varga Z, Flammer AJ, Steiger P, Haberecker M, Andermatt R, Zinkernagel AS, Mehra MR, Schuepbach RA, Ruschitzka F, Moch H (2020) Endothelial cell infection and endotheliitis in COVID-19. Lancet 395:1417–1418

83. Wagner R, Peterhoff D, Beileke S, Günther F, Berr M, Einhauser S, Schütz A, Niller HH, Steininger P, Knöll A, Tenbusch M, Maier C, Korn K, Stark KJ, Gessner A, Burkhardt R, Kabesch M, Schedl H, Küchenhoff H, Pfahlberg AB, Heid IM, Gefeller O, Überla K (2021) Estimates and Determinants of SARS-Cov-2 Seroprevalence and Infection Fatality Ratio Using Latent Class Analysis: The Population-Based Tirschenreuth Study in the Hardest-Hit German County in Spring 2020. Viruses 13:1118

84. Wang P, Nair MS, Liu L, Iketani S, Luo Y, Guo Y, Wang M, Yu J, Zhang B, Kwong PD, Graham BS, Mascola JR, Chang JY, Yin MT, Sobieszczyk M, Kyratsous CA, Shapiro L, Sheng Z, Huang Y, Ho DD (2021) Antibody resistance of SARS-CoV-2 variants B.1.351 and B.1.1.7. Nature 593:130–135

85. World Health Organization (2020) “Immunity passports” in the context of COVID-19. WHO - Sci Br 1–2

86. Yan R, Zhang Y, Li Y, Xia L, Guo Y, Zhou Q (2020) Structural basis for the recognition of SARS-CoV-2 by full-length human ACE2. Science (80-) 367:1444–1448

87. Yurkovetskiy L, Wang X, Pascal KE, Tomkins-Tinch C, Nyalile TP, Wang Y, Baum A, Diehl WE, Dauphin A, Carbone C, Veinotte K, Egri SB, Schaffner SF, Lemieux JE, Munro JB, Rafique A, Barve A, Sabeti PC, Kyratsous CA, Dudkina N V., Shen K, Luban J (2020) Structural and Functional Analysis of the D614G SARS-CoV-2 Spike Protein Variant. Cell 183:739-751.e8

88. Zhou D, Dejnirattisai W, Supasa P, Liu C, Mentzer AJ, Ginn HM, Zhao Y, Duyvesteyn HME, Tuekprakhon A, Nutalai R, Wang B, Paesen GC, Lopez-Camacho C, Slon-Campos J, Hallis B, Coombes N, Bewley K, Charlton S, Walter TS, Skelly D, Lumley SF, Dold C, Levin R, Dong T, Pollard AJ, Knight JC, Crook D, Lambe T, Clutterbuck

E, Bibi S, Flaxman A, Bittaye M, Belij-Rammerstorfer S, Gilbert S, James W, Carroll MW, Klenerman P, Barnes E, Dunachie SJ, Fry EE, Mongkolsapaya J, Ren J, Stuart DI, Screaton GR (2021) Evidence of escape of SARS-CoV-2 variant B.1.351 from natural and vaccine-induced sera. Cell 184:2348-2361.e6

89. Zhou L, Xu Z, Guerra J, Rosenberg AZ, Fenaroli P, Eberhart CG, Duh EJ (2021) Expression of the SARS-CoV-2 receptor ACE2 in human retina and diabetes—implications for retinopathy. Investig Ophthalmol Vis Sci 62:

90. Zhou P, Yang X Lou, Wang XG, Hu B, Zhang L, Zhang W, Si HR, Zhu Y, Li B, Huang CL, Chen HD, Chen J, Luo Y, Guo H, Jiang R Di, Liu MQ, Chen Y, Shen XR, Wang X, Zheng XS, Zhao K, Chen QJ, Deng F, Liu LL, Yan B, Zhan FX, Wang YY, Xiao GF, Shi ZL (2020) A pneumonia outbreak associated with a new coronavirus of probable bat origin. Nature 579:270–273

91. Ziegler CGK, Allon SJ, Nyquist SK, Mbano IM, Miao VN, Tzouanas CN, Cao Y, Yousif AS, Bals J, Hauser BM, Feldman J, Muus C, Wadsworth MH, Kazer SW, Hughes TK, Doran B, Gatter GJ, Vukovic M, Taliaferro F, Mead BE, Guo Z, Wang JP, Gras D, Plaisant M, Ansari M, Angelidis I, Adler H, Sucre JMS, Taylor CJ, Lin B, Waghray A, Mitsialis V, Dwyer DF, Buchheit KM, Boyce JA, Barrett NA, Laidlaw TM, Carroll SL, Colonna L, Tkachev V, Peterson CW, Yu A, Zheng HB, Gideon HP, Winchell CG, Lin PL, Bingle CD, Snapper SB, Kropski JA, Theis FJ, Schiller HB, Zaragosi LE, Barbry P, Leslie A, Kiem HP, Flynn JAL, Fortune SM, Berger B, Finberg RW, Kean LS, Garber M, Schmidt AG, Lingwood D, Shalek AK, Ordovas-Montanes J, Banovich N, Brazma A, Desai T, Duong TE, Eickelberg O, Falk C, Farzan M, Glass I, Haniffa M, Horvath P, Hung D, Kaminski N, Krasnow M, Kuhnemund M, Lafyatis R, Lee H, Leroy S, Linnarson S, Lundeberg J, Meyer K, Misharin A, Nawijn M, Nikolic MZ, Pe'er D, Powell J, Quake S, Rajagopal J, Tata PR, Rawlins EL, Regev A, Reyfman PA, Rojas M, Rosen O, Saeb-Parsy K, Samakovlis C, Schiller H, Schultze JL, Seibold MA, Shepherd D, Spence J, Spira A, Sun X, Teichmann S, Theis F, Tsankov A, van den Berge M, von Papen M, Whitsett J, Xavier R, Xu Y, Zhang K (2020) SARS-CoV-2 Receptor ACE2 Is an Interferon-Stimulated Gene in Human Airway Epithelial Cells and Is Detected in Specific Cell Subsets across Tissues. Cell 181:1016-1035.e19

92. Zou X, Chen K, Zou J, Han P, Hao J, Han Z (2020) Single-cell RNA-seq data analysis

on the receptor ACE2 expression reveals the potential risk of different human organs vulnerable to 2019-nCoV infection. Front Med 14:185–192

93. WHO Coronavirus (COVID-19) Dashboard | WHO Coronavirus (COVID-19) Dashboard With Vaccination Data. URL: https://covid19.who.int/

94. RKI - Coronavirus SARS-CoV-2 - SARS-CoV-2: Virologische Basisdaten sowie Virusvarianten. URL: https://www.rki.de/DE/Content/InfAZ/N/Neuartiges_Coronavirus/Virologische_Basisdaten.html;jsessionid=25C87DEA3C75C9EBE23EF01C70401635.internet072?nn=13490888

95. Tracking SARS-CoV-2 variants. URL: https://www.who.int/en/activities/tracking-SARS-CoV-2-variants/

96. Coronavirus: Neue Variante bereits seit November in Niedersachsen. URL: https://www.weser-kurier.de/niedersachsen/coronavirus-neue-variante-bereits-seit-november-in-niedersachsen-doc7e43leykbkj18dddg2eb

97. RKI - Coronavirus SARS-CoV-2 - Berichte zu Virusvarianten von SARS-CoV-2 in Deutschland. URL: https://www.rki.de/DE/Content/InfAZ/N/Neuartiges_Coronavirus/DESH/Berichte-VOC-tab.html

98. Südafrika-Variante des Coronavirus erstmals in Deutschland entdeckt. URL: https://www.faz.net/aktuell/politik/inland/suedafrika-variante-des-coronavirus-erstmals-in-deutschland-entdeckt-17142849.html

99. RKI - Infektionskrankheiten A-Z - SARS-CoV-2: Virologische Basisdaten sowie Virusvarianten. URL: https://www.rki.de/DE/Content/InfAZ/N/Neuartiges_Coronavirus/Virologische_Basisdaten.html?nn=2386228#doc14716546bodyText10

100. A clinical case definition of post COVID-19 condition by a Delphi consensus, 6 October 2021. URL: https://www.who.int/publications/i/item/WHO-2019-nCoV-Post_COVID-19_condition-Clinical_case_definition-2021.1

101. Saarland - Chronologie der Corona-Fallzahlen. URL: https://www.saarland.de/DE/portale/corona/service/chronologie/chronologie_node.html

102. RKI COVID-19 Germany. URL: https://experience.arcgis.com/experience/478220a4c454480e823b17327b2bf1d4/page/page_0/

103. RKI - CORONA-MONITORING lokal - Corona-Monitoring lokal. URL: https://www.rki.de/DE/Content/Gesundheitsmonitoring/Studien/cml-studie/Factsheet_Kupferzell.html

104. Ergebnisse aus STAAB-COVID - einBLICK - Online-Magazin der Universität Würzburg. URL: https://www.uni-wuerzburg.de/aktuelles/einblick/single/news/ergebnisse-aus-staab-covid/

105. SARS-CoV-2: Eine dynamische bundesweit-repräsentative Untersuchung (Corona-BUND Studie) | Projekt | ifo Institut. URL: https://www.ifo.de/node/58999

106. UKE - Pressemitteilung - Nur geringe Anzahl an Blutspendenden weist Antikörper gegen neuartiges Corona-Virus auf. URL: https://www.uke.de/allgemein/presse/pressemitteilungen/detailseite_95424.html

107. Universitätsklinikum des Saarlandes - SaarCoPS. URL: https://www.uniklinikum-saarland.de/de/einrichtungen/kliniken_institute/infektionsmedizin/virologie/saarcops/

108. Veröffentlichung der Corona-Warn-App. URL: https://www.bundesregierung.de/breg-de/suche/veroeffentlichung-der-corona-warn-app-1760892

109. ELISA :: EUROIMMUN AG. URL: https://www.euroimmun.de/de/produkte/nachweismethoden/elisa/

110. ChLIA | EUROIMMUN AG. URL: https://www.euroimmun.de/de/produkte/nachweismethoden/chlia/

111. Elecsys® Anti-SARS-CoV-2 S | roche.de. URL: https://www.roche.de/diagnostik-produkte/produktkatalog/tests-parameter/elecsys-anti-sars-cov-2-s/

112. Luminex Multiplex Assay Principle: R&D Systems. URL: https://www.rndsystems.com/resources/technical/luminex-assay-principle

113. Saarland - Statistik - KVIII Pflegestatistik - 2019. URL: https://www.saarland.de/stat/DE/_downloads/aktuelleBerichte/K/KVIII.html

114. Epidemiological profile on SARS-CoV-2 and COVID-19. Berlin. URL: https://www.ecdc.europa.eu/en/covid-19/surveillance/case-definition

115. Schutz und Prävention | Zusammen gegen Corona. URL: https://www.zusammengegencorona.de/faqs/covid-19/schutz-und-praevention/

116. Team Adaptive Infektionskrankheiten-Diagnostik | Forschung | Helmholtz-Zentrum für Infektionsforschung. URL: https://www.helmholtz-hzi.de/de/forschung/forschungsschwerpunkte/bakterielle-und-virale-krankheitserreger/epidemiologie/team-adaptive-infektionskrankheiten-diagnostik/

Literatur gem. Vorgaben des Medizinischen Fakultät der UdS.

7 Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Anti-SARS-CoV-2 Antikörpertests [54] 19

Tabelle 2: Identitätswert und Ähnlichkeit der N- und S-Aminosäuresequenzen von SARS-CoV-2 mit den endemischen Coronaviren in % [41], Tabelle von mir modifiziert nach [41]. 23

Tabelle 3: Übersicht der messbaren Antikörper im MultiCoV-Ab 24

Tabelle 4: Assay Performance Daten [54]. Diese Tabelle wurde mir von Dr. Stefan Lohse zur Verfügung gestellt. 28

Tabelle 5: Ergebnisse der SARS-CoV-2 Antikörpertests [54]. Diese Tabelle wurde mir von Dr. Anna Sternjakob-Marthaler zur Verfügung gestellt. 35

8 Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Struktur von SARS-CoV-2 [43] 7

Abbildung 2: Ablaufplan in der Arztpraxis; Quelle: KVS 15

Abbildung 3: Ablauf der Studie 17

Abbildung 4: ELISA Testprinzip [29] 20

Abbildung 5: CMIA Testprinzip [110] 21

Abbildung 6: ECLIA: Elektrochemilumineszenz-Immunoassay Testprinzip [111] in Rot Anmerkung von mir 22

Abbildung 7: Übersicht Luminex Assay Prinzip [112] 25

Abbildung 8: Assay Performance Daten [54]. Diese Abbildung wurde mir von Dr. Stefan Lohse zur Verfügung gestellt. 28

Abbildung 9: Unterschiede in der Längsschnittleistung von SARS-CoV-2-Antikörpertestsystemen [54] Diese Abbildung wurde mir von Dr. Stefan Lohse zur Verfügung gestellt. 31

Abbildung 10: Heatmap mit PCR, Symptome und Infektionsverdacht [54]. Diese Abbildung wurde mir von Dr. Anna Sternjakob-Marthaler zur Verfügung gestellt. 37

Abbildung 11: MultiCoV-Ab spezifisch für SARS-CoV-2 mit Spike Trimer, Rezeptorbindungsdomäne (RBD) und Spike S1 Domäne 40

Abbildung 12: MultiCoV-Ab spezifisch für SARS-CoV-2 mit Spike S2 Domäne, Nukleokapsid und Nukleokapsid N-terminale Domäne 42

Abbildung 13: MultiCoV-Ab SARS-CoV-2 nach Gruppen R+A+E, R+A und R mit jeweils Spike Trimere, RBD, S1, S2, N und N-NTD 44

Abbildung 14: MultiCoV-Ab SARS-CoV-2 NFI-Wertevergleich nach Gruppen R+A+E, R+A, R, A und E mit jeweils Spike Trimere, RBD, S1, S2, N und N-NTD. 45

Abbildung 15: MultiCoV-Ab Varianten und Endemische Coronaviren 46

Abbildung 16: MultiCoV-Ab RBD Varianten 48

Abbildung 17: MultiCoV-Ab Anzahl positive 49

Abbildung 18: MultiCoV-Ab OC43 mit S1, N und N-NTD 51

Abbildung 19: MultiCoV-Ab HKU1 mit S1, N und N-NTD 53

Abbildung 20: MultiCoV-Ab NL63 mit S1, N und N-NTD 54

Abbildung 21: MultiCoV-Ab 229E mit S1, N und N-NTD 56

9 Publikation und Danksagung

9.1 Publikation

Stefan Lohse, Anna Sternjakob-Marthaler, **Paul Lagemann**, Jakob Schöpe , Jürgen Rissland, Nastasja Seiwert, Thorsten Pfuhl, Alana Müllendorff, Laurent S. Kiefer, Markus Vogelgesang, Luca Vella, Katharina Denk, Julia Vicari, Anabel Zwick, Dr. Isabelle Lang, Gero Weber, Jürgen Geisel, Jörg Rech, Bernd Schnabel, Gunter Hauptmann, Bernd Holleczek, Heinrich Scheiblauer**,** Stefan Wagenpfeil, Sigrun Smola (2022) German federal-state-wide seroprevalence study of 1st SARS-CoV-2 pandemic wave shows importance of long-term antibody test performance. *Communications Medicine*

9.2 Danksagung

Ich möchte Frau Prof. Dr. med. Smola für die Möglichkeit danken, diese Doktorarbeit an Ihrem Institut durchführen zu dürfen.

Ich danke meinem Betreuer Dr. rer. nat. Stefan Lohse für die hervorragende Betreuung, die wertvollen Ratschläge und die konstruktive Kritik während der gesamten Dauer von SaarCoPS und auch während meiner Doktorarbeit. Ich danke allen Mitarbeitern des Instituts für das sehr angenehme Arbeitsklima und die Hilfsbereitschaft in der Durchführung der Antikörpertests. Insbesondere möchte ich mich bei Frau Barara Best, Frau Daniela Gladel und Frau Lissy Schneider danken für die hervorragende Zusammenarbeit bei der Antikörpertestung. Natürlich gilt mein Dank auch Herrn Dr. rer. Nat. Thorsten Pfuhl für die Hilfe nicht nur bei technischen Problemen.

Zusätzlich möchte ich Dr. rer. nat. Anna Sternjakob und Dr. rer. nat. Stefan Lohse danken für die Bereitstellung der vielen Abbildungen und Tabellen.

Natürlich bedanke ich mich bei meiner Familie für die Unterstützung und den finanziellen Rückhalt über die gesamte Dauer meines Studiums, genauso wie ich mich bei den vielen Personen bedanken möchte, die diese Doktorarbeit korrekturgelesen haben.

10 Lebenslauf

Aus datenschutzrechtlichen Gründen wird der Lebenslauf in der elektronischen Fassung der Dissertation nicht veröffentlicht,

11 Eidesstattliche Versicherung

Erklärung gemäß § 7 Abs. 1 Nr. 2:

Ich erkläre hiermit an Eides statt, dass ich die vorliegende Arbeit ohne unzulässige Hilfe Dritter und ohne Benutzung anderer als der angegebenen Hilfsmittel angefertigt habe. Die aus anderen Quellen direkt oder indirekt übernommenen Daten und Konzepte sind unter Angabe der Quelle gekennzeichnet.

Bei der Auswahl und Auswertung folgenden Materials haben mir die nachstehend aufgeführten Personen in der jeweils beschriebenen Art und Weise unentgeltlich geholfen:

Name/Tätigkeit	Art der Hilfestellung
Dr. Stefan Lohse	Bereitstellung der Abb. 8 und 9, sowie der Tabelle 4; Hilfe und Anleitung bei der Grafischen Darstellung der MultiCoV-Abb.
Dr. Anna Marthaler	Bereitstellung der Abb. 10 und Tabelle 5
Barbara Best	Einweisung in Euroimmun-IgG Testung und komplette Durchführung
Prof. Geisel und Frau Meng	Durchführung des gesamten Roche-Ig Test
Frau Daniela Gladel und Lissy Schneider	Einweisung in Abbott-IgG Testung und Unterstützung bei der Durchführung und der Problemlösung

Weitere Personen waren an der inhaltlich-materiellen Erstellung der vorliegenden Arbeit nicht beteiligt. Insbesondere habe ich nicht die entgeltliche Hilfe von Vermittlungs- bzw. Beratungsdiensten (Promotionsberaterinnen/Promotionsberater oder anderer Personen) in Anspruch genommen. Außer den Angegebenen hat niemand von mir unmittelbar oder mittelbar geldwerte Leistungen für Arbeiten erhalten, die im Zusammenhang mit dem Inhalt der vorgelegten Dissertation stehen.

Die Arbeit wurde bisher weder im Inland noch im Ausland in gleicher oder in ähnlicher Form in einem anderen Verfahren zur Erlangung des Doktorgrades einer anderen Prüfungsbehörde vorgelegt.

Ich versichere an Eides statt, dass ich nach bestem Wissen die Wahrheit gesagt und nichts verschwiegen habe.

Die Bedeutung der eidesstattlichen Erklärung und die strafrechtlichen Folgen einer unrichtigen oder unvollständigen eidesstattlichen Erklärung sind mir bekannt.

Homburg, den 22.03.2024

Eidesstattliche Versicherung:

Belehrung

Die Medizinische Fakultät der Universität des Saarlandes verlangt eine Eidesstattliche Versicherung über die Eigenständigkeit der erbrachten wissenschaftlichen Leistungen. Weil der Gesetzgeber der Eidesstattlichen Versicherung eine besondere Bedeutung beimisst und sie erhebliche Folgen haben kann, hat der Gesetzgeber die Abgabe einer falschen eidesstattlichen Versicherung unter Strafe gestellt. Bei vorsätzlicher (also wissentlicher) Abgabe einer falschen Erklärung droht eine Freiheitsstrafe bis zu drei Jahren oder eine Geldstrafe. Eine fahrlässige Abgabe (also Abgabe, obwohl Sie hätten erkennen müssen, dass die Erklärung nicht den Tatsachen entspricht) kann eine Freiheitsstrafe bis zu einem Jahr oder eine Geldstrafe nach sich ziehen. Die entsprechenden Strafvorschriften sind in § 156 StGB (falsche Versicherungen an Eides Statt) und in § 161 StGB (fahrlässiger Falscheid, fahrlässige falsche Versicherung an Eides Statt) wiedergegeben.

§ 156 StGB: Falsche Versicherung an Eides Statt

Wer vor einer zur Abnahme einer Versicherung an Eides Statt zuständigen Behörde eine solche Versicherung falsch abgibt oder unter Berufung auf eine solche Versicherung falsch aussagt, wird mit Freiheitsstrafe bis zu drei Jahren oder mit Geldstrafe bestraft.

§ 161 StGB: Fahrlässiger Falscheid, fahrlässige falsche Versicherung an Eides Statt:

(1) Wenn eine der in den § 154 bis 156 bezeichneten Handlungen aus Fahrlässigkeit begangen worden ist, so tritt Freiheitsstrafe bis zu einem Jahr oder Geldstrafe ein.

(2) Straflosigkeit tritt ein, wenn der Täter die falsche Angabe rechtzeitig berichtigt. Die Vorschriften des § 158 Abs. 2 und 3 gelten entsprechend.