

AUS DEM LEHRSTUHL
FÜR MEDIZINISCHE MIKROBIOLOGIE UND HYGIENE
PROF. DR. DR. ANDRE GESSNER
DER FAKULTÄT FÜR MEDIZIN
DER UNIVERSITÄT REGENSBURG

CONTRIBUTION OF HIGH VIRAL LOADS, DETECTION OF VIRAL
ANTIGEN AND SEROCONVERSION TO SEVERE ACUTE
RESPIRATORY SYNDROME CORONAVIRUS 2 INFECTIVITY

Inaugural – Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades der Medizin
der Fakultät für Medizin
der Universität Regensburg

vorgelegt von
FELIX BUDER

2022

Diese Arbeit widme ich meinem Großvater Dr. Wolfgang BUDER.

AUS DEM LEHRSTUHL
FÜR MEDIZINISCHE MIKROBIOLOGIE UND HYGIENE
PROF. DR. DR. ANDRE GESSNER
DER FAKULTÄT FÜR MEDIZIN
DER UNIVERSITÄT REGENSBURG

CONTRIBUTION OF HIGH VIRAL LOADS, DETECTION OF VIRAL
ANTIGEN AND SEROCONVERSION TO SEVERE ACUTE
RESPIRATORY SYNDROME CORONAVIRUS 2 INFECTIVITY

Inaugural – Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades der Medizin
der Fakultät für Medizin
der Universität Regensburg

vorgelegt von
FELIX BUDER

2022

Dekan:
1. Berichterstatterin:
2. Berichterstatter:
Tag der mündlichen Prüfung:

Prof. Dr. Dirk Hellwig
Prof. Dr. Barbara Schmidt
Prof. Dr. Bernd Salzberger
16.05.2022

Deutschsprachige Zusammenfassung der wissenschaftlichen Originalarbeit

CONTRIBUTION OF HIGH VIRAL LOADS, DETECTION OF VIRAL ANTIGEN AND
SEROCONVERSION TO SEVERE ACUTE RESPIRATORY SYNDROME
CORONAVIRUS 2 INFECTIVITY

Felix Buder, Markus Bauswein, Clara L. Magnus, Franz Audebert, Henriette Lang, Christof Kundel, Karin Distler, Edith Reuschel, Matthias Lubnow, Thomas Müller, Dirk Lunz, Bernhard Graf, Stephan Schmid, Martina Müller, Hendrik Poeck, Frank Hanses, Bernd Salzberger, David Peterhoff, Jürgen J. Wenzel, Barbara Schmidt, Benedikt M. J. Lampl

THE JOURNAL OF INFECTIOUS DISEASES

2022

vorgelegt von

FELIX BUDER

INHALTSVERZEICHNIS

ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS.....	2
DEUTSCHSPRACHIGE ZUSAMMENFASSUNG DER WISSENSCHAFTLICHEN ORIGINALARBEIT	3
WISSENSCHAFTLICHE ORIGINALARBEIT.....	19
ERKLÄRUNG NACH § 6 ABS. 5 NR. 2 DER PROMOTIONSORDNUNG.....	29
LEBENS LAUF	30
DANKSAGUNG	31

Abkürzungsverzeichnis

ACE	Angiotensin-konvertierendes Enzym (engl. <i>angiotensin converting enzyme</i>)
AgPOCT	Antigen-Schnelltest (engl. <i>antigen point-of-care-test</i>)
CDC	Bundesbehörde für Gesundheitsschutz der Vereinigten Staaten (engl. <i>Centers for Disease Control and Prevention</i>)
COVID-19	Coronavirus-Krankheit 2019 (engl. <i>coronavirus disease 2019</i>)
DMEM	Zellkultur-Medium (engl. <i>Dulbecco's Modified Eagle's Medium</i>)
ELISA	Enzym-gekoppelter Immuntest (engl. <i>enzyme-linked immunosorbent assay</i>)
HIV	Humanes Immundefizienz-Virus
IgG	Immunglobulin G
IQR	Interquartilenabstand (engl. <i>interquartile range</i>)
IU	Internationale Einheit (engl. <i>international unit</i>)
MERS-CoV	MERS-Coronavirus (engl. <i>Middle East Respiratory Syndrome</i>)
mL	Milliliter
mM	Millimolar
mRNA	Boten-Ribonukleinsäure (engl. <i>messenger ribonucleic acid</i>)
NPV	Negativer prädiktiver Wert
p	Signifikanzwert
RBD	Rezeptorbindende Domäne
RNA	Ribonukleinsäure (engl. <i>ribonucleic acid</i>)
RT-qPCR	Reverse Transkriptase quantitative Echtzeit-Polymerase-Kettenreaktion (engl. <i>reverse transcriptase quantitative polymerase chain reaction</i>)
s.	Siehe
SARS-CoV	SARS-Coronavirus (engl. <i>severe acute respiratory syndrome</i>)
SARS-CoV-2	SARS-Coronavirus 2 (engl. <i>SARS coronavirus type 2</i>)
TMPRSS2	Transmembrane Serinprotease 2 (engl. <i>transmembrane protease serine subtype 2</i>)
VOC	Besorgniserregende Virusvarianten (engl. <i>variants-of-concern</i>)
WHO	Weltgesundheitsorganisation (engl. <i>World Health Organization</i>)
µg	Mikrogramm

Deutschsprachige Zusammenfassung der wissenschaftlichen Originalarbeit

Die vorliegende wissenschaftliche Arbeit untersuchte, inwiefern sich anhand von Surrogatparametern die Infektiosität von SARS-CoV-2 (engl. *severe acute respiratory syndrome coronavirus type 2*) vorhersagen lässt. Diese Zusammenfassung gibt einen Überblick über die Ergebnisse und diskutiert deren Anwendbarkeit im Hinblick auf die aktuell zirkulierenden besorgniserregenden SARS-CoV-2-Virusvarianten (engl. *Variants-of-concern*, VOC).

Einleitung und Fragestellung des Projektes

Das neuartige Coronavirus SARS-CoV-2 ist ein umhülltes einzelsträngiges RNA-Virus, das der Gruppe der Beta-Coronaviren zugeordnet wird. SARS-CoV-2 breitet sich in einem seit der Spanischen Grippe nicht gekanntem Ausmaß aus und löste eine weltweit anhaltende Pandemie aus (1). In der letzten Dekade fanden mit SARS-CoV (engl. *severe acute respiratory syndrome coronavirus*) sowie MERS-CoV (engl. *middle east respiratory syndrome*) zwei zoonotische Übertragungen aus der Familie der Beta-Coronaviren statt (2–5). Das Coronavirus RaTG13, dessen natürliches Reservoir die Fledermausgattung *Rhinolophus affinis* ist, weist mit einer 96%igen Gemeinsamkeit eine große Ähnlichkeit zum SARS-CoV-2-Genom auf (6). Noch näher verwandt sind Coronaviren, die in Schuppentieren nachgewiesen wurden (7). Primärpräventiven Maßnahmen wie massiven Kontakteinschränkungen und einer rapiden Impfstoffentwicklung zum Trotz findet weiterhin eine weltweite Übertragung von SARS-CoV-2 statt. Stand Dezember 2021 sind über 260 Millionen SARS-CoV-2-Infektionen sowie mehr als 5 Millionen SARS-CoV-2 assoziierte Todesfälle bekannt (8).

SARS-CoV-2 besitzt 16 Nicht-Strukturproteine und 4 Strukturproteine (E-, M-, N- und S-Protein) (9–11). Durch Bindung viraler Spike-Proteine an den ACE-2 Rezeptor (engl. *angiotensin converting enzyme 2*) und Spaltung durch die TMPRSS2-Protease (engl. *transmembrane protease serine subtype 2*) gelangt SARS-CoV-2 in die Wirtszelle (12). SARS-CoV-2-Varianten können den individuellen Krankheitsverlauf sowie den pandemischen Verlauf maßgeblich beeinflussen, sodass molekulare Surveillance und Anpassungen infektionspräventiver Maßnahmen von herausragender Bedeutung sind. Änderungen der genetischen Sequenz von SARS-CoV-2 können das Eindringen in die Wirtszelle begünstigen oder die Erkennung von Epitopen durch B- oder T-Zellen erschweren und so eine Immunevasion (engl. *immune escape*) bewirken. Mutationen an der Stelle D614G (Austausch eines Aspartats=D an Position 614 des Spike-Proteins durch Glycin=G) erhöhten die Affinität

zum ACE-2-Rezeptor und damit verbunden die Infektiosität (13,14). Die D614G-Variante wurde dadurch in Europa und dann weltweit zur vorherrschenden Virusvariante und verdrängte den ursprünglich in Wuhan aufgetretenen Wildtyp. Die Weltgesundheitsorganisation (WHO) stuft Virusvarianten als besorgniserregende Varianten (variants of concerns, VOCs) ein, falls diese eine erhöhte Infektiosität, eine erhöhte Virulenz oder einen Immunescape gegenüber der Antikörperantwort bei Genesenen und Geimpften hervorrufen (15). Stand August 2021 sind vier Virusvarianten als VOCs (VOC Alpha, Beta, Gamma und Delta) deklariert (16). Die Virusvariante B.1.1.7 (VOC Alpha) wurde erstmals im Dezember 2020 in Großbritannien nachgewiesen (17). Die Mutation N501Y an der Rezeptorbindedomäne, die ebenfalls für VOC Beta (B.1.351) und Gamma (P.1) beschrieben ist, führt zu einer verstärkten Bindung am ACE-2-Rezeptor (18,19). VOC Alpha weist dadurch eine erhöhte Infektiosität auf und verdrängte in vielen Ländern die dort vorherrschenden Virusvarianten. Die effektive Reproduktionszahl, ein Maß für die Anzahl an Personen, die ein Infizierter ansteckt, war um 43-100% erhöht (20,21). Während kontrovers diskutiert wird, ob VOC Alpha prolongierte und/oder schwerere Verläufe der Erkrankung auslöst, konnte keine Immunevasion festgestellt werden, sodass alle bisher zugelassenen Vakzine gegenüber VOC Alpha mutmaßlich wirksam sind (22,23). B.1.351 (VOC Beta) wurde erstmals im Dezember 2020 in Südafrika nachgewiesen und weist in der rezeptorbindenden Domäne (RBD) die Mutationen K417N sowie E484K auf. Beide Mutationen stehen im Zusammenhang mit einer verminderten Wirkung neutralisierender Antikörper, sodass eine reduzierte Impfwirksamkeit diskutiert wird (24–26). P.1 (VOC Gamma) ist primär in Brasilien die dominierende Variante und verfügt mit K417N sowie E484K über die gleichen Mutationen in der rezeptorbindenden Domäne, sodass auch für VOC Gamma eine Immunevasion beschrieben wurde (27). Sowohl VOC Beta als auch VOC Gamma wurden in Deutschland nur vereinzelt nachgewiesen. B.1.617.2 (VOC Delta) ist neben VOC Alpha die zweite besorgniserregende Variante, die sich in Deutschland in relevantem Ausmaß verbreitete (28,29). Eine erleichterte Infektion wird der Mutation L452R durch erhöhte ACE-2-Rezeptor Affinität (29) sowie der Mutation P681R durch verstärkte Spaltung des Spikeproteins zugeschrieben (30). 12% der Kontaktpersonen von VOC-Delta-Infizierten steckten sich mit dem Virus an; dies entspricht einer 50%igen Erhöhung der Rate an sekundären Infektionen gegenüber VOC Alpha (31). Neben der erhöhten Übertragbarkeit weisen höhere Hospitalisierungsraten sowie schwerere klinische Verläufe auf eine verstärkte Virulenz hin (31–33). *In vitro* zeigten Seren von Geimpften sowie Genesenen eine abgeschwächte Wirkung der neutralisierenden Antikörper gegenüber der Virusvariante (34). Diese Immunevasion konnte in epidemiologischen Studien nur teilweise bestätigt werden. Während Lopez Bernal et

al. eine hohe Schutzrate vor Infektionen mit VOC Delta nach vollständiger Impfung nachwies (88% bei Impfung mit BNT162b2 (Pfizer–BioNTech), 68% bei Impfung mit ChAdOx1 nCoV-19 (AstraZeneca)) (35), beobachtete die Bundesbehörde für Gesundheitsschutz der Vereinigten Staaten (engl. *Centers for Disease Control and Prevention*, kurz: CDC) eine signifikant geringere Impfwirksamkeit in den USA seit der Ausbreitung von VOC Delta. Schützte eine vollständige Impfung bis zum 9. April 2021 zu 91% vor einer Infektion, sank bis zum 14. August 2021 die Wirksamkeit auf 66% an Orten mit VOC Delta als vorherrschender Variante (36).

Zur Eindämmung unkontrollierter Übertragungen von SARS-CoV-2, die einen Anstieg an klinischen Komplikationen und Todesfällen durch COVID-19 nach sich ziehen würden, sind individuelle Restriktionen wie die Isolierung von Infizierten während des infektiösen Zeitraums notwendig. Um eine zuverlässige Infektionskontrolle ohne unverhältnismäßige Einschränkung individueller Grundrechte zu gewährleisten, ist eine möglichst präzise Erfassung des infektiösen Zeitraums von herausragender Bedeutung. Da die Evolution des Virus auch eine veränderte Infektiosität nach sich ziehen kann, sollten möglichst einfach zu erhebende Parameter gewählt werden, um ein fortlaufendes Monitoring zu ermöglichen.

Methoden

In der vorliegenden Studie wurden PatientInnen eingeschlossen, die nach Infektion mit SARS-CoV-2 entweder intensivmedizinisch am Universitätsklinikum in Regensburg behandelt oder bei einem milden Verlauf ambulant versorgt wurden (siehe Abbildung Z1). Alle PatientInnen gaben eine schriftliche Einverständniserklärung ab. Der Zeitraum der Datenerhebung erstreckte sich für hospitalisierte PatientInnen von März bis Mai 2020 und erfolgte retrospektiv. Dabei wurden bevorzugt PatientInnen mit einem prolongierten Verlauf eingeschlossen, bei denen respiratorische Proben zu einem frühen seronegativen und einem späten seropositiven Zeitpunkt verfügbar waren. Die prospektive Datenerhebung für PatientInnen mit einer ambulanten Versorgung erstreckte sich von März bis Dezember 2020. Eingeschlossen wurden PatientInnen mit einem positiven SARS-CoV-2 PCR-Test innerhalb der letzten 72 Stunden. Die Datenerhebung kam den Vorgaben der Ethikkommission nach (Ref. Nr. 20-1785-101 bzw. 20-1918-101). Respiratorisches Material wurde zur Virusisolierung, zur Viruslastbestimmung und zum SARS-CoV-2 Antigen-Nachweis mittels Antigen-Schnelltest verwendet. Proben, die nicht unmittelbar nach Gewinnung analysiert wurden, wurden bei -80°C eingefroren.

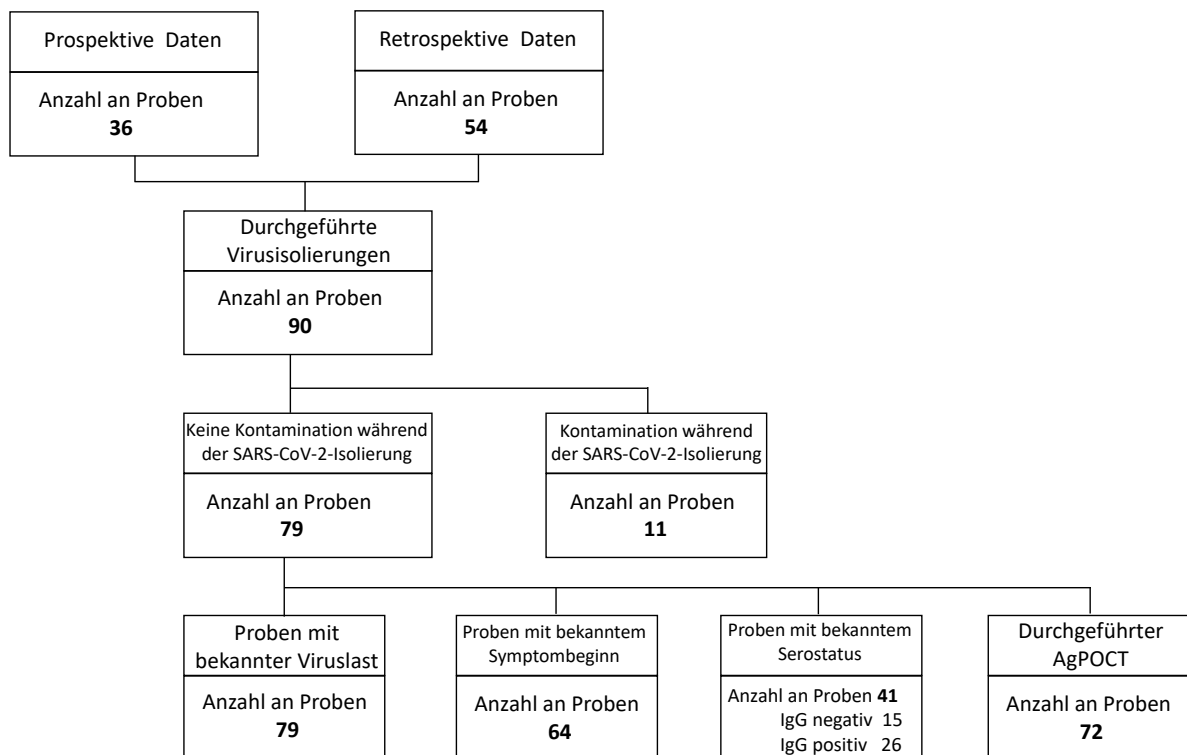


Abbildung Z1. Schematische Darstellung der Proben-Processing.

Die Virusisolierung erfolgte mithilfe von Verozellen im DMEM (engl. *Dulbecco's modified Eagle's Medium*), das mit 10 % fötalem Kälberserum, 100 IU/mL Penicillin, 100 µg/mL Streptomycin, 2 mM L-Glutamin und 2.5 µg/mL Amphotericin B supplementiert wurde. Am Tag nach der Infektion wurde der Überstand verworfen und durch frisches Medium ersetzt. Sieben Tage nach Infektion wurde zur Viruslastbestimmung eine Reverse Transkriptase quantitative Echtzeit-Polymerase-Kettenreaktion (RT-qPCR) des Überstands durchgeführt. Die Virusisolierung der B.1.1.7-Variante erfolgte nach dem gleichen Ablauf auf der CaCo-2 Zelllinie. Vorab wurde festgelegt, dass Viruslasten oberhalb von 10^6 RNA Kopien/ml als positive Virusisolierung zu werten sind. In diesem Fall enthielt die Probe vermehrungsfähige Viren und wurde daher als potenziell infektiös betrachtet. Das SARS-CoV-2 E-Gen, das für Virusmembran-Proteine kodiert, wurde nach einem Protokoll von Corman et al. mit Hilfe des StepOnePlus Real-Time PCR Systems (ThermoFisherScientific, Schwerte, Deutschland) amplifiziert (37). Zur Quantifizierung wurde ein *in vitro* transkribierter RNA-Standard verwendet (38) und damit die Höhe der Viruslast quantifiziert. Die RNA-Isolierung aus der respiratorischen Probe wurde mithilfe des EZ1 Virus Mini Kits v2.0 (Qiagen, Hilden, Deutschland) und dem dafür vom Hersteller vorgesehenen Extraktionsautomaten Advanced XL

Plattform EZ1 durchgeführt. Die RT-qPCR erfolgte nach dem oben beschriebenen Schema. Zur Mutationsanalyse von VOC Alpha erfolgte der Nachweis der vorliegenden Abweichungen vom Wildtyp-Genom ("del HV69/70" und "N501Y") mittels variantenspezifischer RT-qPCR und wurde gemäß den Anweisungen des Herstellers durchgeführt (TIB MOLBIOL, Berlin, Deutschland).

Der qualitative Nachweis von SARS-CoV-2-Antigen wurde mit einem Antigen-Schnelltest (engl. *antigen point-of-care-test*) der Firma Roche (SARS-CoV-2 Rapid Antigen Test) erbracht. Dazu wurden - wie zuvor von Corman et al. publiziert - 50 µl der respiratorischen Probe in die vom Hersteller mitgelieferte Pufferlösung pipettiert (39). Die weiteren Abläufe wurden gemäß den Empfehlungen des Herstellers durchgeführt.

Der Zeitpunkt des Symptombeginns wurde definiert als der Tag des ersten Auftretens von COVID-19 typischen Symptomen (u.a. Fieber, Rhinitis, Husten, Dyspnoe, Riech- und Geschmacksverlust). Bei infizierten Personen mit bekanntem Symptombeginn galt diese Angabe gleichzeitig als Erkrankungsbeginn. Bei asymptomatischen Infizierten oder nicht dokumentiertem Symptombeginn war der Erkrankungsbeginn definiert als der Tag mit erstmaliger Detektion von SARS-CoV-2 RNA in der RT-PCR.

Der Nachweis von SARS-CoV-2 IgG-Antikörpern erfolgte, analog zum bereits veröffentlichten Protokoll von Peterhoff et al., mithilfe der semi-quantitativen *in-house*-Methode als Bindung an die Wildtyp-SARS-CoV-2 Rezeptor-Bindedomäne (40).

Für alle Prädiktoren der Infektiosität wurde eine binäre, univariate logistische Regression durchgeführt. Für dichotome Variablen erfolgte zusätzlich ein zweiseitiger exakter Fisher-Test. Das Signifikanzniveau wurde auf $p < 0.05$ festgelegt.

Ergebnisse

Insgesamt 79 respiratorische Proben von 59 PatientInnen (30 weiblich, 29 männlich) wurden eingeschlossen. 25 PatientInnen wurden auf den Intensivstationen der Universitätsklinik in Regensburg behandelt, 34 PatientInnen erhielten eine ambulante Versorgung (s. Tabelle 1 der Originalpublikation). Bei 14 respiratorischen Proben gelang eine Virusisolierung (17.7%). Die Viruslast wurde bei allen Proben bestimmt. Bei 59 respiratorischen Proben war

der Symptombeginn bei den PatientInnen bekannt, bei 5 respiratorischen Proben waren die PatientInnen asymptomatisch, bei 15 Proben wurde kein Symptombeginn dokumentiert. Ein AgPOCT konnte bei 73 Proben durchgeführt werden. Der SARS-CoV-2-Antikörperstatus war bei 41 Proben bekannt. Bei 16 respiratorischen Proben waren die PatientInnen zum Zeitpunkt des Abstrichs seronegativ, in 25 Fällen seropositiv.

Die mediane Viruslast bei positiven Isolaten betrug $1,35 \times 10^6$ RNA-Kopien/ml (IQR, $2,89 \times 10^5$ - $4,45 \times 10^7$ RNA-Kopien/ml) und war im Vergleich zu negativen Isolierungen um das 52-fache erhöht ($p=0,002$) (s. Abbildung 1A der Originalpublikation). Dieses Ergebnis deckt sich mit vorherigen Publikationen, die ebenfalls eine Korrelation der Viruslast mit der Isolierung aufzeigten (41–45). Mit Erhöhung der Viruslast um eine Logstufe erhöhte sich die Wahrscheinlichkeit einer erfolgreichen Isolierung um das Zweifache (s. Tabelle 2 der Originalpublikation).

In Übereinstimmung mit vorherigen Publikationen korrelierte ein positiver Nachweis von viralem Antigen mittels AgPOCT mit einer hohen Viruslast (46,47). In der vorliegenden Arbeit zeigten Proben mit einem positiven AgPOCT 589-fach höhere Viruslasten im Vergleich zu Proben mit negativem AgPOCT ($p<0,001$) (s. Abbildung 1C der Originalpublikation). Der AgPOCT war bei 14 Proben (19.17%) positiv, davon gelang bei 7 dieser Proben eine Virusisolierung. Der Nachweis von Antigen war mit einer 7-fach erhöhten Wahrscheinlichkeit einer Isolierung von SARS-CoV-2 verbunden (s. Tabelle 2 der Originalpublikation).

Eine Isolierung von SARS-CoV-2 gelang innerhalb der ersten 10 Tage nach Symptombeginn signifikant häufiger (s. Tabelle 2 der Originalpublikation). Bei respiratorischen Proben, die über diesen Zeitraum hinaus abgenommen wurden, sank die Wahrscheinlichkeit einer erfolgreichen Isolierung um 84%. Wenn mehrere Proben pro Person disponibel waren, konnte SARS-CoV-2 bevorzugt aus der zeitlich ersten Probe isoliert werden (s. Abb. 2B der Originalpublikation). Unerwarteterweise wurde SARS-CoV-2 aus einer Probe isoliert, die 167 Tage nach erstmaligem Virusnachweis gewonnen wurde. Diese Patientin wurde aufgrund eines malignen Lymphoms mit dem monoklonalen B-Zell-Antikörper Rituximab behandelt und war während des gesamten Beobachtungszeitraums symptomatisch geblieben.

Ein Hauptergebnis der wissenschaftlichen Arbeit war jedoch das Nicht-Gelingen von Virusisolierungen bei seropositiven PatientInnen. Lediglich bei einer Patientin mit grenzwertig

positiven SARS-CoV-2-Antikörpern (s. Abbildung 2C der Originalpublikation) war die Virusisolierung positiv. Umgekehrt konnte bei 44% aller respiratorischen Proben mit negativer Serologie SARS-CoV-2 isoliert werden. Die Wahrscheinlichkeit einer Virusisolierung war bei Nachweis von SARS-CoV-2-Antikörpern um 91% reduziert. Die Viruslast in respiratorischen Proben war signifikant niedriger bei PatientInnen mit positivem Serostatus ($p=0,004$) (s. Abbildung 2A der Originalpublikation). Zur Überprüfung, ob diese Ergebnisse auch für VOCs konsistent sind, wurden zusätzlich 22 respiratorische Proben mit nachgewiesener B.1.1.7-Infektion (VOC Alpha) untersucht. Aus den Proben von 10 seropositiven PatientInnen konnte SARS-CoV-2 nicht isoliert werden, während bei 10 von 12 Proben (83,3%), die von Patienten ohne SARS-CoV-2-Antikörper stammten, die Virusisolierung gelang (s. Abb. 3A der Originalpublikation).

Zusammenfassend zeigen die vorliegenden Ergebnisse, dass eine Virusisolierung mit der Höhe der Viruslast, dem Nachweis von Antigen, einem frühen Zeitpunkt nach Auftreten der Symptome und dem Fehlen von SARS-CoV-2-Antikörpern korreliert.

Diskussion und Einordnung der Arbeit in aktuelle Forschungsergebnisse

Die vorliegende Arbeit untersuchte, inwiefern die Viruslast, der Zeitraum der Infektion seit Symptombeginn, der Antigen-Nachweis und der Antikörperstatus Aussagen über die Vorhersage der Infektiosität von SARS-CoV-2 ermöglichen.

Dass eine hohe Viruslast und ein früher Zeitpunkt der Infektion mit der Infektiosität korrelieren, deckt sich mit vorangehenden Publikationen (41,44,45,48). Bei positiven Isolaten war die Viruslast im Ausgangsmaterial signifikant höher, während bei Proben, deren Symptombeginn länger als 10 Tage zurücklag, signifikant seltener SARS-CoV-2 isoliert werden konnte. Trotz Korrelation beider Parameter mit der Infektiosität war eine zuverlässige Prädiktion der Infektiosität in der vorliegenden Studie nur eingeschränkt möglich. So gelang eine Virusisolierung bei Proben mit einer Viruslast von über 1×10^6 RNA Kopien/ml und einem Beginn der Symptomatik vor weniger als 10 Tagen nur bei 50% (5/10) der respiratorischen Proben (s. Abbildung 1B der Originalpublikation). Umgekehrt konnte SARS-CoV-2 aus einer Probe mit einer Viruslast von $1,8 \times 10^3$ RNA Kopien/ml isoliert werden. Besonders eindrucksvoll war eine erfolgreiche Virusisolierung knapp 6 Monate nach erstmaligem

Virusnachweis. Die Patientin hatte mutmaßlich aufgrund einer Behandlung mit Rituximab keine Antikörper bilden können.

Hintergrund zur Untersuchung des AgPOCT zur Prädiktion der Infektiosität war die Hypothese, dass ein Antigen-Nachweis - aufgrund einer geringeren Sensitivität im Vergleich zur PCR-Methode - bevorzugt Proben mit einer hohen Viruslast erkennt und hohe Viruslasten wiederum mit der Infektiosität korrelieren (39). Die Detektion von hohen Viruslasten mittels AgPOCT zeigte sich auch in der vorliegenden Arbeit. Respiratorische Proben mit einem positiven Antigen-Nachweis hatten eine um knapp tausendfach höhere Viruslast verglichen mit Proben, bei denen der Antigen-Nachweis negativ war. Auffallend war, dass der AgPOCT bei einem Großteil der Proben negativ ausfiel und somit der Test mit einem hohen negativen prädiktiven Wert für eine Virusisolierung verbunden war. Dagegen konnte bei der Hälfte der Proben mit einem positiven Antigen-Nachweis SARS-CoV-2 isoliert werden. Ob sich der hier festgestellte positive prädiktive Wert von 50% auf das reale Pandemiegeschehen übertragen lässt, ist bisher nicht erforscht. Es erscheint wahrscheinlich, dass bei einem Einsatz in einer Kohorte mit niedrigerer Inzidenz als in der Studienkohorte die Vorhersagekraft des AgPOCTs reduziert wäre. Verdeutlicht wird dies bei Betrachtung der Aussagekraft von HIV-Schnelltests. Es wird vermutet, dass 10.800 Menschen in Deutschland eine bisher nicht diagnostizierte HIV-Infektion haben (49). Bei einer Spezifität von ca. 99,8% würde bei wahlloser Testung in Deutschland nur jedes 15. positive Testergebnis eine Neuinfektion mit HIV korrekt vorhersagen. Es erscheint daher schlüssig, dass der Einsatz der AgPOCT unmittelbar vom Inzidenzwert abhängt und daher in Situationen mit einer erhöhten Vortestwahrscheinlichkeit infektiöse Proben zuverlässiger detektieren kann. Ob AgPOCT verlässlich Antigen bei Geimpften oder bei Durchbruchinfektionen nachweist, ist unklar. Da mRNA-basierte Impfstoffe die Proteinexpression des Spike-Proteins anregen, Antigentests wiederum in den meisten Fällen N-Protein nachweisen, erscheinen falsch-positive AgPOCTs nach einer Impfung unwahrscheinlich. Daher sollten auch für Geimpfte die Viruslast sowie die Vortestwahrscheinlichkeit die entscheidenden Faktoren für einen zuverlässigen Einsatz der AgPOCTs sein.

Die Arbeit zeigt eindrucksvoll, dass bei Vorhandensein von IgG-Antikörpern gegen die SARS-CoV-2-Rezeptorbindedomäne eine Virusisolierung in den überwiegenden Fällen nicht gelang. Somit ist trotz Nachweis einer Viruslast anzunehmen, dass diese PatientInnen nicht ansteckungsfähig sind. Aufgrund des hohen negativ prädiktiven Wertes (NPV) ist das

Vorhandensein von SARS-CoV-2 Antikörpern, die mit der Neutralisierung korrelieren (40,41), ein geeignetes Surrogat für die Terminierung der Infektiosität und kann zur Beendigung der Quarantäne hinzugezogen werden (13). Bei Betrachtung der immunsupprimierten PatientInnen wird ersichtlich, dass SARS-CoV-2-IgG nicht nur ein Surrogat für die Terminierung der Infektiosität ist, sondern dass dieser Korrelation auch eine Kausalität zugrunde liegen kann. So konnten insgesamt 22 respiratorische Proben von immunsupprimierten PatientInnen gewonnen werden. Alle 5 Proben mit positiver SARS-CoV-2 Isolierung wurden von seronegativen PatientInnen gewonnen. Dagegen waren 11 der 17 Proben mit negativer Isolierung von seropositiven PatientInnen, die größtenteils Rekonvaleszentenplasma erhielten. Hieraus wird ersichtlich, dass nicht die Immunsuppression per se, sondern das Fehlen von Antikörpern für eine prolongierte Infektiosität und Virusausscheidung determiniert. Die Verabreichung von Rekonvaleszentenplasma erfolgte im Frühjahr 2020 regelmäßig bei PatientInnen auf der Intensivstation. Zwar scheint das Vorhandensein von Antikörpern die Infektiosität zu beeinflussen, eine Cochrane Übersichtsarbeit konnte allerdings keine klinische Verbesserung oder Verringerung der Gesamtmortalität feststellen, sodass die Gabe von Rekonvaleszentenplasma aktuell nicht routinemäßig empfohlen wird (50).

Variants-of-concern (VOC) sind besorgniserregende SARS-CoV-2 Virusvarianten und wurden erstmals im Dezember 2020 für SARS-CoV-2 beschrieben (17,51). Da der Zeitraum der Datenerhebung in unserer Erhebung vom Frühjahr bis Herbst 2020 stattfand, war unklar, ob die Studienergebnisse auf VOCs übertragbar waren. Dazu wurden in der vorliegenden Studie zusätzlich respiratorische Proben mit nachgewiesener B.1.1.7-Linie (VOC Alpha) untersucht. Wie oben bereits beschrieben, konnte bei keiner Probe von seropositiven PatientInnen SARS-CoV-2 isoliert werden, während bei 10 von 12 Proben (83,3%) von IgG-negativen PatientInnen eine Virusisolierung gelang (s. Abbildung 3A der Originalpublikation). Dieses Ergebnis unterstreicht eindrucksvoll die Bedeutung von SARS-CoV-2 IgG bei der Terminierung des infektiösen Zeitraums. Eine Vorveröffentlichung aus Israel, die neben der Wirksamkeit von BNT162b2 (Pfizer/Biontech) auch die Infektiosität nach einer Infektion bei Geimpften untersuchte, präsentierte ähnliche Ergebnisse (52). Die zweifache Impfung mit BNT162b2 verhinderte eine Infektion zu 81%. Das relative Risiko für Infektiosität war bei geimpften Haushaltsmitgliedern nach einer Durchbruchinfektion im Vergleich zu Ungeimpften auf 0,22 reduziert. Da sich die israelische Kohorte zu über 90% mit VOC Alpha infizierte, ist die Wahrscheinlichkeit einer Übertragung von VOC Alpha bei Vorhandensein von SARS-CoV-2-Antikörpern als gering einzuschätzen. Während eine Immunevasion von VOC Alpha

unwahrscheinlich ist, trägt der L452R-Aminosäureaustausch von VOC Delta dazu bei, neutralisierenden Antikörpern zu entkommen (29). VOC Delta zeigt im Vergleich zu anderen besorgniserregenden Varianten dreimal höhere Raten an Durchbruchinfektionen (53). Die Immunevasion sowie die erleichterte Übertragung durch verstärkte Spaltung des Spikeproteins (54) könnten so eine zunehmende Ausbreitung von VOC Delta in Ländern mit fortgeschrittener Impfkampagne wie Deutschland erklären. Allgemeingültige Aussagen sind daher nicht möglich und sollten am aktuellen Pandemiegeschehen und momentan zirkulierenden VOCs validiert werden.

Die Viruslast von VOC Alpha war in der vorliegenden Arbeit höher als in der Studienkohorte. Zusammen mit dem vermehrten Gelingen einer Virusisolierung erscheint eine erhöhte Infektiosität von VOC Alpha wahrscheinlich. Dies deckt sich mit aktuellen Publikationen, die eine höhere Viruslast und einen prolongierten infektiösen Zeitraum feststellten (55–57). Für die aktuell weit verbreitete VOC Delta ist eine 1260-fach höhere Viruslast gegenüber dem Wildtyp beschrieben (58). Auffallend ist, dass sich die Viruslast bei Durchbruchinfektionen mit der Deltavariante nicht signifikant gegenüber der Viruslast bei Ungeimpften unterscheidet (53,59). Sowohl bei vollständig Geimpften als auch bei Ungeimpften konnte ein Gros der Proben mit hohen Viruslasten isoliert werden (60). Der infektiöse Zeitraum bei einer Infektion mit VOC Delta zeigt sich jedoch bei Geimpften kürzer als bei suszeptiblen Personen (61). Somit könnte die Viruslast auch bei Geimpften als Marker für die Ansteckungsfähigkeit eingesetzt werden, während der Zeitraum der Infektion seit Symptombeginn bei Durchbruchinfektionen mit VOC Delta an Aussagekraft verlieren könnte.

Der zuverlässige Einsatz von AgPOCTs hängt wie oben beschrieben maßgeblich von der Vortestwahrscheinlichkeit sowie der Höhe der Viruslast ab. Für VOC Alpha ist beschrieben, dass infizierte Geimpfte eine niedrigere Viruslast aufweisen (62,63), sodass Einbußen der Sensitivität zu erwarten sind. Für VOC Delta ist die Höhe der Viruslast unabhängig vom Impfstatus. Obwohl momentan unklar ist, ob AgPOCTs zuverlässig ansteckungsfähige VOCs erkennen, erscheint ein Einsatz auch in Populationen mit einem hohen Anteil an vollständig Geimpften sinnvoll. Durch das niederschwellige Angebot von AgPOCTs und der unmittelbaren Kenntnis des Ergebnisses ergeben sich zwei potenziell sinnvolle Einsatzmöglichkeiten: Einerseits ermöglichen AgPOCTs eine umgehende Abklärung bei Personen mit COVID-19 typischen Symptomen, andererseits bieten AgPOCTs die Möglichkeit eines regelmäßigen Screenings beispielsweise an Schulen oder sonstigen Gemeinschaftseinrichtungen (64,65).

Durch regelmäßige Testungen können hohe Viruslasten zuverlässiger erkannt werden und so die Sensitivität erhöht werden. Es ist daher nicht auszuschließen, dass in der aktuellen Studienkohorte durch regelmäßige Testungen auch mehr infektiöse Proben hätten detektiert werden können.

Welche Empfehlungen zur Isolierung von Infizierten lassen sich anhand der vorliegenden Daten und aktueller Forschungsergebnisse ableiten? Ein Antigen-Nachweis mittels AgPOCT gelingt bei hohen Viruslasten und kann in Populationen mit VOC Delta als vorherrschender Variante auch bei Geimpften eingesetzt werden. PatientInnen mit hohen Viruslasten oder positivem AgPOCT sind mutmaßlich infektiös und sollten isoliert werden (43). Zum Ausschluss eines falsch-positiven Ergebnisses können positive AgPOCT durch eine PCR-Testung bestätigt werden. Bei leichten Verläufen kann die Isolierung frühestens sieben bis neun Tage nach dem ersten Auftreten von Symptomen aufgehoben werden. Dieses Intervall deckt sich mit einer aktuellen Übersichtsarbeit, die eine Ansteckungsfähigkeit 10 Tage nach Auftreten der Symptome in hohem Maße für unwahrscheinlich ansieht (44). Die in vielen Ländern angewandte symptom-basierte Strategie sollte aufgrund des zunehmenden Impffortschritts angepasst bzw. erweitert werden. Zum einen zeigen Geimpfte öfters abgeschwächte Symptome, sodass Infektionen übersehen werden können (66). Zum anderen ergeben sich Hinweise, dass der infektiöse Zeitraum bei Personen mit neutralisierenden Antikörpern (durch vorherige Infektion oder Impfung) verkürzt ist (63). Eine gesonderte Betrachtung ist daher nötig, um eine unverhältnismäßig lange Isolierung von Infizierten zu vermeiden. Serologische Testungen sind, gemessen an dem Verlust der Arbeitskraft durch häusliche Isolierung, ökonomisch günstig und können zur Abklärung der Aufhebung einer häuslichen Isolierung beitragen. Besonders in Situationen mit einer prolongierten Virusausscheidung erscheint die Messung von IgG-Antikörpern gegen SARS-CoV-2 sinnvoll. Inwiefern serologische Testungen auch für VOCs mit einer vermuteten Immunevasion empfohlen werden können, ist unklar. Bei Impfdurchbrüchen könnte eine separate Testung auf IgGs gegen das N-Protein sinnvoll sein, die eine humorale Immunantwort aufgrund einer Infektion anzeigt. Die nachgewiesenen neutralisierenden Antikörper wären dann mutmaßlich als Reaktion auf die Infektion mit einer VOC zu werten und eine infektiöse Virusausscheidung somit eher unwahrscheinlich. Um eine Ausbreitung von SARS-CoV-2 wirkungsvoll zu unterbinden, sind primärpräventive Maßnahmen wie die AHA+L-Regel (Abstand, Hygieneregeln, Alltagsmaske, Lüften) und Impfungen weiterhin von herausragender Bedeutung.

Summarium

Die vorliegende Arbeit konnte die Infektiosität von SARS-CoV-2 besser charakterisieren und darauf aufbauend gesundheitspolitische als auch klinische Erkenntnisse zum Umgang mit infektiösen Infizierten gewinnen. Hohe Viruslasten und ein positiver AgPOCT korrelierten mit der Isolierung von SARS-CoV-2. 10 Tage nach Symptombeginn nahm die Rate an Virusisolierungen signifikant ab, ebenso beim Nachweis von SARS-CoV-2-Antikörpern. Die vorliegenden Daten lassen den Rückschluss zu, Infizierte beim Nachweis von hohen Viruslasten oder einem positiven AgPOCT zu isolieren. Mit zunehmendem Abstand zum Symptombeginn sowie dem Vorhandensein von SARS-CoV-2 IgG können restriktive Maßnahmen aufgehoben werden. Aufgrund der fortwährenden Entwicklung von SARS-CoV-2 sollten Forschungsergebnisse für aufgetretene VOCs validiert und daraus abgeleitete Maßnahmen gegebenenfalls angepasst werden.

Literaturverzeichnis

1. Petersen E, Koopmans M, Go U, Hamer DH, Petrosillo N, Castelli F, et al. Comparing SARS-CoV-2 with SARS-CoV and influenza pandemics. *Lancet Infect Dis*. 2020 Sep;20(9).
2. Alagaili AN, Briese T, Mishra N, Kapoor V, Sameroff SC, de Wit E, et al. Middle East Respiratory Syndrome Coronavirus Infection in Dromedary Camels in Saudi Arabia. *mBio*. 2014 May;5(2).
3. Guan Y, Zheng BJ, He YQ, Liu XL, Zhuang ZX, Cheung CL, et al. Isolation and Characterization of Viruses Related to the SARS Coronavirus from Animals in Southern China. *Science*. 2003;302(5643):276–8.
4. Zaki AM, van Boheemen S, Bestebroer TM, Osterhaus ADME, Fouchier RAM. Isolation of a Novel Coronavirus from a Man with Pneumonia in Saudi Arabia. *N Engl J Med*. 2012 Nov;367(19).
5. Drosten C, Günther S, Preiser W, van der Werf S, Brodt H-R, Becker S, et al. Identification of a Novel Coronavirus in Patients with Severe Acute Respiratory Syndrome. *N Engl J Med*. 2003 May;348(20).
6. Zhou P, Yang X-L, Wang X-G, Hu B, Zhang L, Zhang W, et al. A pneumonia outbreak associated with a new coronavirus of probable bat origin. *Nature*. 2020 Mar;579(7798).
7. Lam TT-Y, Jia N, Zhang Y-W, Shum MH-H, Jiang J-F, Zhu H-C, et al. Identifying SARS-CoV-2-related coronaviruses in Malayan pangolins. *Nature*. 2020 Jul 9;583(7815):282–5.
8. WHO. Coronavirus (COVID-19) Dashboard. <https://covid19.who.int/>. 2021.
9. Kim D, Lee J-Y, Yang J-S, Kim JW, Kim VN, Chang H. The Architecture of SARS-CoV-2 Transcriptome. *Cell*. 2020 May 14;181(4):914-921.e10.
10. V'kovski P, Kratzel A, Steiner S, Stalder H, Thiel V. Coronavirus biology and replication: implications for SARS-CoV-2. *Nat Rev Microbiol*. 2021 Mar;19(3):155–70.
11. Neuman BW, Buchmeier MJ. Supramolecular Architecture of the Coronavirus Particle. Ziebuhr J, editor. *Adv Virus Res*. 2016 Jan 1;96:1–27.
12. Hoffmann M, Kleine-Weber H, Schroeder S, Krüger N, Herrler T, Erichsen S, et al. SARS-CoV-2 Cell Entry Depends on ACE2 and TMPRSS2 and Is Blocked by a Clinically Proven Protease Inhibitor. *Cell*. 2020 Apr;181(2).
13. Korber B, Fischer WM, Gnanakaran S, Yoon H, Theiler J, Abfalterer W, et al. Tracking Changes in SARS-CoV-2 Spike: Evidence that D614G Increases Infectivity of the COVID-19 Virus. *Cell*. 2020 Aug;182(4).
14. Yurkovetskiy L, Wang X, Pascal KE, Tomkins-Tinch C, Nyalile TP, Wang Y, et al. Structural and Functional Analysis of the D614G SARS-CoV-2 Spike Protein Variant. *Cell*. 2020 Oct;183(3).
15. WHO. Weekly epidemiological update - 25 February 2021. <https://www.who.int/publications/m/item/covid-19-weekly-epidemiological-update>. 2021.
16. WHO. Weekly epidemiological update on COVID-19 - 24 August 2021. <https://www.who.int/publications/m/item/weekly-epidemiological-update-on-covid-19---24-august-2021>. 2021.
17. Public Health England. Investigation of novel SARS-CoV-2 variant 202012/01: technical briefing 1. https://assets.publishing.service.gov.uk/government/uploads/system/uploads/attachment_data/file/959438/Technical_Briefing_VOC_SH_NJL2_SH2.pdf. 2020.
18. Gu H, Chen Q, Yang G, He L, Fan H, Deng Y-Q, et al. Adaptation of SARS-CoV-2 in BALB/c mice for testing vaccine efficacy. *Science*. 2020 Sep;369(6511).
19. Starr TN, Greaney AJ, Hilton SK, Ellis D, Crawford KHD, Dingens AS, et al. Deep Mutational Scanning of SARS-CoV-2 Receptor Binding Domain Reveals Constraints on Folding and ACE2 Binding. *Cell*. 2020 Sep;182(5).
20. Davies NG, Abbott S, Barnard RC, Jarvis CI, Kucharski AJ, Munday JD, et al.

- Estimated transmissibility and impact of SARS-CoV-2 lineage B.1.1.7 in England. *Science*. 2021 Apr;372(6538).
21. Volz E, Mishra S, Chand M, Barrett JC, Johnson R, Geidelberg L, et al. Assessing transmissibility of SARS-CoV-2 lineage B.1.1.7 in England. *Nature*. 2021 May;593(7858).
 22. Abu-Raddad LJ, Chemaitelly H, Butt AA. Effectiveness of the BNT162b2 Covid-19 Vaccine against the B.1.1.7 and B.1.351 Variants. *N Engl J Med*. 2021 Jul;385(2).
 23. Muik A, Wallisch A-K, Sanger B, Swanson KA, Muhl J, Chen W, et al. Neutralization of SARS-CoV-2 lineage B.1.1.7 pseudovirus by BNT162b2 vaccine-elicited human sera. *Science*. 2021 Mar;371(6534).
 24. Weisblum Y, Schmidt F, Zhang F, DaSilva J, Poston D, Lorenzi JC, et al. Escape from neutralizing antibodies by SARS-CoV-2 spike protein variants. *eLife*. 2020 Oct 28;9:e61312.
 25. Wang Z, Schmidt F, Weisblum Y, Muecksch F, Barnes CO, Finkin S, et al. mRNA vaccine-elicited antibodies to SARS-CoV-2 and circulating variants. *Nature*. 2021 Apr 22;592(7855):616–22.
 26. Chen RE, Zhang X, Case JB, Winkler ES, Liu Y, VanBlargan LA, et al. Resistance of SARS-CoV-2 variants to neutralization by monoclonal and serum-derived polyclonal antibodies. *Nat Med*. 2021 Apr;27(4):717–26.
 27. Hoffmann M, Arora P, Gro R, Seidel A, Hornich BF, Hahn AS, et al. SARS-CoV-2 variants B.1.351 and P.1 escape from neutralizing antibodies. *Cell*. 2021 Apr;184(9):2384-2393.e12.
 28. Peacock TP, Sheppard CM, Brown JC, Goonawardane N, Zhou J, Whiteley M, et al. The SARS-CoV-2 variants associated with infections in India, B.1.617, show enhanced spike cleavage by furin. *bioRxiv*. 2021. Available from: <https://www.biorxiv.org/content/early/2021/05/28/2021.05.28.446163> [Preprint: not peer reviewed]
 29. Motozono C, Toyoda M, Zahradnik J, Saito A, Nasser H, Tan TS, et al. SARS-CoV-2 spike L452R variant evades cellular immunity and increases infectivity. *Cell Host Microbe*. 2021 Jul;29(7).
 30. Saito A, Irie T, Suzuki R, Maemura T, Nasser H, Uriu K, et al. Enhanced fusogenicity and pathogenicity of SARS-CoV-2 Delta P681R mutation. *Nature*. 2021.
 31. Public Health England. SARS-CoV-2 variants of concern and variants under investigation in England: technical briefing 14. https://assets.publishing.service.gov.uk/government/uploads/system/uploads/attachment_data/file/991343/Variants_of_Concern_VOC_Technical_Briefing_14.pdf. 2021.
 32. Sheikh A, McMenamin J, Taylor B, Robertson C. SARS-CoV-2 Delta VOC in Scotland: demographics, risk of hospital admission, and vaccine effectiveness. *The Lancet*. 2021 Jun;397(10293).
 33. Fisman DN, Tuite AR. Progressive Increase in Virulence of Novel SARS-CoV-2 Variants in Ontario, Canada. *medRxiv*. 2021. Available from: <https://www.medrxiv.org/content/early/2021/08/04/2021.07.05.21260050> [Preprint: not peer reviewed]
 34. Planas D, Veyer D, Baidaliuk A, Staropoli I, Guivel-Benhassine F, Rajah MM, et al. Reduced sensitivity of SARS-CoV-2 variant Delta to antibody neutralization. *Nature*. 2021 Aug;596(7871):276–80.
 35. Lopez Bernal J, Andrews N, Gower C, Gallagher E, Simmons R, Thelwall S, et al. Effectiveness of Covid-19 Vaccines against the B.1.617.2 (Delta) Variant. *N Engl J Med*. 2021 Aug;385(7).
 36. Fowlkes A, Gaglani M, Groover K, Thiese MS, Tyner H, Ellingson K, et al. Effectiveness of COVID-19 Vaccines in Preventing SARS-CoV-2 Infection Among Frontline Workers Before and During B.1.617.2 (Delta) Variant Predominance - Eight U.S. Locations, December 2020-August 2021. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep*. 2021 Aug 27;70(34):1167–9.

37. Corman VM, Landt O, Kaiser M, Molenkamp R, Meijer A, Chu DK, et al. Detection of 2019 novel coronavirus (2019-nCoV) by real-time RT-PCR. *Eurosurveillance*. 2020;25(3).
38. Hitzentbichler F, Bauernfeind S, Salzberger B, Schmidt B, Wenzel JJ. Comparison of Throat Washings, Nasopharyngeal Swabs and Oropharyngeal Swabs for Detection of SARS-CoV-2. *Viruses*. 2021 Apr;13(4).
39. Corman VM, Haage VC, Bleicker T, Schmidt ML, Mühlemann B, Zuchowski M, et al. Comparison of seven commercial SARS-CoV-2 rapid point-of-care antigen tests: a single-centre laboratory evaluation study. *Lancet Microbe*. 2021 Jul;2(7).
40. Peterhoff D, Glück V, Vogel M, Schuster P, Schütz A, Neubert P, et al. A highly specific and sensitive serological assay detects SARS-CoV-2 antibody levels in COVID-19 patients that correlate with neutralization. *Infection*. 2021 Feb;49(1).
41. Bullard J, Dust K, Funk D, Strong JE, Alexander D, Garnett L, et al. Predicting Infectious Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 From Diagnostic Samples. *Clin Infect Dis*. 2020 Dec;71(10).
42. Arons MM, Hatfield KM, Reddy SC, Kimball A, James A, Jacobs JR, et al. Presymptomatic SARS-CoV-2 Infections and Transmission in a Skilled Nursing Facility. *N Engl J Med*. 2020 May;382(22).
43. La Scola B, Le Bideau M, Andreani J, Hoang VT, Grimaldier C, Colson P, et al. Viral RNA load as determined by cell culture as a management tool for discharge of SARS-CoV-2 patients from infectious disease wards. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2020 Jun;39(6).
44. Wölfel R, Corman VM, Guggemos W, Seilmaier M, Zange S, Müller MA, et al. Virological assessment of hospitalized patients with COVID-2019. *Nature*. 2020 May;581(7809).
45. van Kampen JJA, van de Vijver DAMC, Fraaij PLA, Haagmans BL, Lamers MM, Okba N, et al. Duration and key determinants of infectious virus shedding in hospitalized patients with coronavirus disease-2019 (COVID-19). *Nat Commun*. 2021 Dec;12(1).
46. Pekosz A, Parvu V, Li M, Andrews JC, Manabe YC, Kodsi S, et al. Antigen-Based Testing but Not Real-Time Polymerase Chain Reaction Correlates With Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 Viral Culture. *Clin Infect Dis Off Publ Infect Dis Soc Am*. 2021 Nov 2;73(9):e2861–6.
47. Albert E, Torres I, Bueno F, Huntley D, Molla E, Fernández-Fuentes MÁ, et al. Field evaluation of a rapid antigen test (Panbio™ COVID-19 Ag Rapid Test Device) for COVID-19 diagnosis in primary healthcare centres. *Clin Microbiol Infect*. 2021 Mar;27(3).
48. He X, Lau EHY, Wu P, Deng X, Wang J, Hao X, et al. Temporal dynamics in viral shedding and transmissibility of COVID-19. *Nat Med*. 2020 May;26(5).
49. an der Heiden M, Marcus U, Kollan C, Schmidt D, Gunsenheimer-Bartmeyer B, Bremer V. Schätzung der Zahl der HIV-Neuinfektionen und der Gesamtzahl von Menschen mit HIV in Deutschland, Stand Ende 2019. *Epid Bull*. 2020;48:3–16.
50. Piechotta V, Iannizzi C, Chai KL, Valk SJ, Kimber C, Dorando E, et al. Convalescent plasma or hyperimmune immunoglobulin for people with COVID-19: a living systematic review. *Cochrane Database of Systematic Reviews*. 2021.
51. WHO. Weekly epidemiological update - 22 December 2020. <https://www.who.int/publications/m/item/weekly-epidemiological-update---22-december-2020>. 2020.
52. Layan M, Gilboa M, Gonen T, Goldenfeld M, Meltzer L, Andronico A, et al. Impact of BNT162b2 vaccination and isolation on SARS-CoV-2 transmission in Israeli households: an observational study. *medRxiv*. 2021. Available from: <https://www.medrxiv.org/content/early/2021/07/16/2021.07.12.21260377> [Preprint: not peer reviewed]
53. Musser JM, Christensen PA, Olsen RJ, Long SW, Subedi S, Davis JJ, et al. Delta variants of SARS-CoV-2 cause significantly increased vaccine breakthrough COVID-19 cases

- in Houston, Texas. medRxiv. 2021. Available from: <https://www.medrxiv.org/content/early/2021/08/01/2021.07.19.21260808> [Preprint: not peer reviewed]
54. Liu Y, Liu J, Johnson BA, Xia H, Ku Z, Schindewolf C, et al. Delta spike P681R mutation enhances SARS-CoV-2 fitness over Alpha variant. bioRxiv. 2021. Available from: <https://www.biorxiv.org/content/early/2021/08/24/2021.08.12.456173> [Preprint: not peer reviewed]
55. Calistri P, Amato L, Puglia I, Cito F, Di Giuseppe A, Danzetta ML, et al. Infection sustained by lineage B.1.1.7 of SARS-CoV-2 is characterised by longer persistence and higher viral RNA loads in nasopharyngeal swabs. *Int J Infect Dis.* 2021 Apr;105.
56. Kidd M, Richter A, Best A, Cumley N, Mirza J, Percival B, et al. S-Variant SARS-CoV-2 Lineage B.1.1.7 Is Associated With Significantly Higher Viral Load in Samples Tested by TaqPath Polymerase Chain Reaction. *J Infect Dis.* 2021 May;223(10).
57. Jones TC, Biele G, Mühlemann B, Veith T, Schneider J, Beheim-Schwarzbach J, et al. Estimating infectiousness throughout SARS-CoV-2 infection course. *Science.* 2021 Jul;373(6551).
58. Li B, Deng A, Li K, Hu Y, Li Z, Xiong Q, et al. Viral infection and transmission in a large, well-traced outbreak caused by the SARS-CoV-2 Delta variant. medRxiv. 2021. Available from: <https://www.medrxiv.org/content/early/2021/07/23/2021.07.07.21260122> [Preprint: not peer reviewed]
59. Brown CM, Vostok J, Johnson H, Burns M, Gharpure R, Sami S, et al. Outbreak of SARS-CoV-2 Infections, Including COVID-19 Vaccine Breakthrough Infections, Associated with Large Public Gatherings — Barnstable County, Massachusetts, July 2021. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep.* 2021 Aug;70(31).
60. Riemersma KK, Grogan BE, Kita-Yarbro A, Halfmann PJ, Segaloff HE, Kocharian A, et al. Shedding of Infectious SARS-CoV-2 Despite Vaccination. medRxiv. 2021. Available from: <https://www.medrxiv.org/content/early/2021/08/24/2021.07.31.21261387> [Preprint: not peer reviewed]
61. Chia PY, Xiang Ong SW, Chiew CJ, Ang LW, Chavatte J-M, Mak T-M, et al. Virological and serological kinetics of SARS-CoV-2 Delta variant vaccine-breakthrough infections: a multi-center cohort study. medRxiv. 2021. Available from: <https://www.medrxiv.org/content/early/2021/07/31/2021.07.28.21261295> [Preprint: not peer reviewed]
62. Levine-Tiefenbrun M, Yelin I, Katz R, Herzl E, Golan Z, Schreiber L, et al. Initial report of decreased SARS-CoV-2 viral load after inoculation with the BNT162b2 vaccine. *Nat Med.* 2021 May;27(5).
63. Emary KRW, Golubchik T, Aley PK, Ariani CV, Angus B, Bibi S, et al. Efficacy of ChAdOx1 nCoV-19 (AZD1222) vaccine against SARS-CoV-2 variant of concern 202012/01 (B.1.1.7): an exploratory analysis of a randomised controlled trial. *The Lancet.* 2021 Apr;397(10282).
64. Wagenhäuser I, Knies K, Rauschenberger V, Eisenmann M, McDonogh M, Petri N, et al. Clinical performance evaluation of SARS-CoV-2 rapid antigen testing in point of care usage in comparison to RT-qPCR. *EBioMedicine.* 2021 Jul;69.
65. Iglói Z, Velzing J, van Beek J, van de Vijver D, Aron G, Ensing R, et al. Clinical Evaluation of Roche SD Biosensor Rapid Antigen Test for SARS-CoV-2 in Municipal Health Service Testing Site, the Netherlands. *Emerg Infect Dis.* 2021 May;27(5).
66. Bergwerk M, Gonen T, Lustig Y, Amit S, Lipsitch M, Cohen C, et al. Covid-19 Breakthrough Infections in Vaccinated Health Care Workers. *N Engl J Med.* 2021 Oct 14;385(16):1474–84.

Wissenschaftliche Originalarbeit

Contribution of High Viral Loads, Detection of Viral Antigen and Seroconversion to Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 Infectivity

Felix Buder,¹ Markus Bauswein,¹ Clara L. Magnus,¹ Franz Audebert,² Henriette Lang,² Christof Kundel,³ Karin Distler,³ Edith Reuschel,⁴ Matthias Lubnow,⁵ Thomas Müller,⁵ Dirk Lutz,⁶ Bernhard Graf,⁶ Stephan Schmid,⁷ Martina Müller,⁷ Hendrik Poeck,⁸ Frank Hanses,^{9,10} Bernd Salzberger,¹⁰ David Peterhoff,¹ Jürgen J. Wenzel,¹¹ Barbara Schmidt,¹¹ and Benedikt M. J. Lampl,¹² 

¹Institute of Medical Microbiology and Hygiene, University of Regensburg, Regensburg, Germany, ²Praxiszentrum Alte Mälzerei, Regensburg, Germany, ³Medizinische Klinik 1, Hospital Barmherzige Brüder, Regensburg, Germany, ⁴University Department of Obstetrics and Gynecology at the Hospital St Hedwig of the Order of St John, University of Regensburg, Regensburg, Germany, ⁵Department of Internal Medicine II, University Hospital Regensburg, Regensburg, Germany, ⁶Department of Anesthesiology, University Hospital Regensburg, Regensburg, Germany, ⁷Department of Internal Medicine I, University Hospital Regensburg, Regensburg, Germany, ⁸Department of Internal Medicine III, Hematology and Oncology, University Hospital Regensburg, Regensburg, Germany, ⁹Emergency Department, University Hospital Regensburg, Regensburg, Germany, ¹⁰Department of Infection Prevention and Infectious Diseases, University Hospital Regensburg, Regensburg, Germany, ¹¹Institute of Clinical Microbiology and Hygiene, University Hospital Regensburg, Regensburg, Germany, and ¹²Public Health Department Regensburg, Germany

Background. From a public health perspective, effective containment strategies for severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2) should be balanced with individual liberties.

Methods. We collected 79 respiratory samples from 59 patients monitored in an outpatient center or in the intensive care unit of the University Hospital Regensburg. We analyzed viral load by quantitative real-time polymerase chain reaction, viral antigen by point-of-care assay, time since onset of symptoms, and the presence of SARS-CoV-2 immunoglobulin G (IgG) antibodies in the context of virus isolation from respiratory specimens.

Results. The odds ratio for virus isolation increased 1.9-fold for each log₁₀ level of SARS-CoV-2 RNA and 7.4-fold with detection of viral antigen, while it decreased 6.3-fold beyond 10 days of symptoms and 20.0-fold with the presence of SARS-CoV-2 antibodies. The latter was confirmed for B.1.1.7 strains. The positive predictive value for virus isolation was 60.0% for viral loads >10⁷ RNA copies/mL and 50.0% for the presence of viral antigen. Symptom onset before 10 days and seroconversion predicted lack of infectivity with negative predictive values of 93.8% and 96.0%.

Conclusions. Our data support quarantining patients with high viral load and detection of viral antigen and lifting restrictive measures with increasing time to symptom onset and seroconversion. Delay of antibody formation may prolong infectivity.

Key words. SARS-CoV-2; infectivity; viral load; viral antigen; seroconversion; public health.

Severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2) infection was first detected in Wuhan, Hubei Province, China, and has since rapidly become a global pandemic [1, 2]. High numbers of infections, protracted courses of disease in intensive care units (ICUs) [3, 4], and limited treatment options [5] have imposed a heavy burden on the healthcare system. To limit complications and deaths from coronavirus disease 2019 (COVID-19), nonpharmacological interventions like containment strategies are of key relevance [6–9]. Individual restrictions, such as isolating infected persons, are necessary to prevent uncontrolled transmission. To achieve this, knowledge about the excretion of infectious viruses is crucial.

Infectivity is defined as the period of time during which an infection can be transmitted. Virus isolation in cell culture is considered the best surrogate for infectivity, because SARS-CoV-2 propagation requires replication-competent virus. Detection of SARS-CoV-2 RNA by reverse-transcription polymerase chain reaction (RT-PCR) has become the reference standard for diagnosis of infection. In early phases of the illness, viral loads are correlated with infectious virus [10–12]. As reported, shedding of infectious SARS-CoV-2 was most pronounced around the onset of symptoms until 1 week thereafter [11–13]. The kinetics of virus excretion contrast with those of SARS-CoV infections and pandemic influenza, in which viral loads peak 5–7 days or 2 days after symptom onset, respectively [14, 15]. However, SARS-CoV-2 RNA may remain positive in respiratory samples beyond the usual period of infectivity [10, 11, 16]. In individual cases, infectious virus has been detected beyond a 2-week period in severely ill and immunocompromised subjects [10, 17].

Antigen point-of-care tests (AgPOCTs) are provided by many suppliers and offer economic benefits, simplicity of use, and rapid results compared with RT-PCR assays. These advantages

Received 25 May 2021; editorial decision 11 August 2021; accepted 24 August 2021; published online August 24, 2021.

Correspondence: Benedikt M. J. Lampl, Public Health Department Regensburg, Altmühlstraße 3, 93059 Regensburg, Germany (Benedikt.Lampl@landratsamt-regensburg.de).

The Journal of Infectious Diseases® 2022;225:190–8

© The Author(s) 2021. Published by Oxford University Press for the Infectious Diseases Society of America. All rights reserved. For permissions, e-mail: journals.permissions@oup.com. <https://doi.org/10.1093/infdis/jiab415>

contrast with lower sensitivity, resulting in positive test results only with high viral loads [18, 19]. Depending on the supplier, positive results may correlate with viral loads at which infectivity is likely to occur [19]. However, studies correlating antigen test results with virus isolation, thus allowing direct statements about infectivity, are rare [20].

Individuals testing positive for SARS-CoV-2 are usually quarantined to interrupt the chain of SARS-CoV-2 transmission. In several countries, symptom-based strategies are implemented for the isolation of infected persons. For mild and moderate courses of disease, national public health institutes (eg, the US Centers for Disease Control and Prevention and the Robert Koch-Institute in Germany) and the World Health Organization recommend isolation for ≥ 10 days, starting from the onset of symptoms or an initial positive test result in asymptomatic cases. The time of isolation required to safely prevent further infections is highly dependent on infectivity.

The necessity of isolating SARS-CoV-2-positive cases based on the putative duration of infectivity, however, has implications for infection control as well as for social constraints of individuals and their environment. It is therefore highly relevant to better characterize the predictors of infectivity so as not to disproportionately restrict personal freedom while meeting the interests of infection control. Because virus isolation is time consuming and labor intensive, this method is not applicable for large-scale analyses. The aim of the current study was to determine whether time since onset of symptoms, viral load, and rapid antigen detection as well as presence of SARS-CoV-2 antibodies are suitable predictors of infectivity.

MATERIAL AND METHODS

Selection of Patients

This study collected data from 25 adult patients hospitalized for a severe course of disease at the ICU of the University Hospital Regensburg (COVUR study) from March to May 2020, and from 34 patients at an early stage of disease, who visited an outpatient practice with a positive SARS-CoV-2 RT-PCR result in the preceding 72 hours or were quarantined by the respective public health departments between May and December 2020. Details of the 2 patient groups are presented in Table 1. The occurrence of COVID-19-typical symptoms in the patients (eg, fever, rhinitis, cough, shortness of breath, loss of smell and/or taste) was assessed as accurately as possible by the treating physicians in the outpatient clinic and in the emergency department of the University Hospital and documented in the patient file. All patients provided written informed consent. Patient samples were either used as fresh samples or stored at -80°C before analysis of viral loads, AgPOCT results, virus isolation, and SARS-CoV-2 immunoglobulin G (IgG) antibodies, as approved by the ethical commission of the Faculty for Medicine, University

Table 1. Basic Characteristics of Patients Treated at the Outpatient Center or in the Intensive Care Unit of the University Hospital Regensburg

Patient Characteristic	Patients, No. (%) ^a	
	Outpatients (n = 34)	ICU Patients (n = 25)
Female sex	20 (58.8)	10 (40.0)
Age, median (IQR), y	29.0 (24.0–47.8)	53.0 (47.0–63.0)
Immunosuppression	1 (2.9)	9 (36.0)
Duration of hospitalization, median (IQR), d	0	35.0 (24.0–49.0)
Convalescent plasma transfusion	1	14 (56.0)
Pulmonary infiltration on chest CT ^b	NA	22 (91.7)
Oxygen therapy	0	23 (92.0)

Abbreviations: CT, computed tomography; ICU, intensive care unit; IQR, interquartile range; NA, not available.

^aData represent no. (%) of patients unless otherwise specified.

^bAs evaluated by specialists in radiology.

of Regensburg (references 20-1918-101 and 20-1785-101, respectively).

RT-PCR Testing

RNA was extracted from oropharyngeal swab samples, throat washings, and tracheal aspirates using the EZ1 Virus Mini Kit v2.0 on the EZ1 Advanced XL platform (Qiagen). The SARS-CoV-2 envelope gene was amplified using a published protocol [21] with the StepOnePlus Real-Time PCR System (Thermo Fisher Scientific). For absolute quantification, an in vitro-transcribed assay-specific RNA standard was used, as described elsewhere [22]. The 95% limit of detection was determined to be 300 RNA copies/mL. Bacteriophage MS2 served as an internal control for isolation, reverse-transcription, and amplification.

Identification of B.1.1.7 Variant of Concern

Mutation analysis for B.1.1.7 (variant of concern [VOC] alpha) was performed using real-time RT-PCR and melting curve analysis using the VirSNiP SARS-CoV-2 Spike assays del HV69/70 and N501Y (TIB MOLBIOL), according to the manufacturer's instructions.

AgPOCT Protocol

The Roche SARS-CoV-2 Rapid Antigen Test was used as the AgPOCT. Following a published protocol, 50 μL of the respiratory specimen was added to the extraction buffer tube [19]. Subsequent procedures were performed according to the recommendations of the manufacturer. The 50% and 95% limits of detection of the AgPOCT were determined to be 3.4×10^5 and 4.6×10^6 SARS-CoV-2 RNA copies/mL, respectively (Supplementary Figure 1). Test results of the study were evaluated by 2 persons and were photodocumented.

SARS-CoV-2 Antibodies

SARS-CoV-2 IgG antibodies were determined using a semiquantitative in-house enzyme-linked immunosorbent

assay based on the SARS-CoV-2 receptor-binding domain, as described elsewhere [23].

Time of Seroconversion

Time of seroconversion was defined as the day of the first detection of SARS-CoV-2 IgG antibodies in relation to specimen collection.

Onset of Symptoms and Onset of Disease

Onset of symptoms was defined as the day when COVID-19-typical symptoms were first noticed by the patient. In these patients, the onset of symptoms was identical with the onset of disease; in asymptomatic patients and patients without documented onset of symptoms, the day of the first detection of SARS-CoV-2 with quantitative RT-PCR was considered the onset of disease.

Virus Isolation

SARS-CoV-2 was isolated from respiratory specimens using Vero cells. Cells were cultivated in Dulbecco modified Eagle medium supplemented with 10% heat-inactivated fetal calf serum (Sigma-Aldrich), 90-U/mL streptomycin, 0.3-mg/mL glutamine, 200-U/mL penicillin, and 2.5- μ g/mL amphotericin B (PAN Biotech). For virus isolation, 500–1000 μ L of respiratory specimens were added to the cell cultures. One day after infection, supernatants were completely removed and replaced by fresh medium. Seven days after infection, virus isolation was considered positive when viral loads in cell culture supernatants were $>10^6$ RNA copies/mL, using the quantitative RT-PCR approach described above. Isolation of B.1.1.7 strains was performed accordingly, using the colorectal carcinoma cell line CaCo-2 (CLS Cell Lines Service).

Statistical Analysis

All variables were evaluated with respect to virus isolation. Viral loads were \log_{10} -transformed before statistical analysis. Undetectable viral loads were set to 10^0 RNA copies/mL before transformation. Asymptomatic cases were excluded from all analyses involving symptom onsets. Binary univariate logistic regression analysis was performed for all predictors of infectivity. Categorical variables were also evaluated using 2-tailed Fisher exact probability tests. All analyses were performed using SPSS 26.0 software, defining statistical significance as $P < .05$. Figures were compiled using GraphPad Prism software, version 8.4.2.

RESULTS

Characterization of Study Cohort

This study included 79 respiratory specimens of 59 patients (29 male, 30 female), including 34 samples provided from patients in ambulatory care or being monitored by the Public Health Department and 45 samples provided by patients treated in the ICUs of the University Hospital Regensburg. The median

patient age (interquartile range [IQR]) was 48 (29.50–59.75) years. The median viral load (IQR) of respiratory specimens was 6.80×10^4 (4.75×10^3 to 1.81×10^6) RNA copies/mL; 24 samples (30.4%) had SARS-CoV-2 RNA levels $>10^6$ copies/mL, while 12 specimens (15.2%) were below detection level. Fourteen samples each (17.7%) were positive for AgPOCT and virus isolation.

SARS-CoV-2 antibody status was available for 41 samples; 25 were obtained from patients who were seropositive and 16 from those who were seronegative at the time of respiratory specimen collection, respectively. Fifteen samples were obtained from patients with unknown onset of symptoms, and 5 from patients who remained asymptomatic. In all patients with known onset of symptoms ($n = 59$), the median duration (IQR) between symptom onset and collection of respiratory samples was 11 (6.0–28.0) days. For further analyses, symptom and disease onset, SARS-CoV-2 RNA levels, detection of viral antigen, and IgG antibodies at the time of sample collection were correlated with SARS-CoV-2 isolation from respiratory specimens.

Correlation Between High Viral Loads in Respiratory Specimens and SARS-CoV-2 Isolation

Previous reports indicated that high SARS-CoV-2 RNA levels were correlated with the detection of infectious viruses in airway samples [10–12, 24, 25]. We confirmed these data in our study cohort, showing 52-fold higher viral loads in samples with positive compared with negative SARS-CoV-2 isolation in cell culture (6.14 vs $4.40 \log_{10}$ RNA copies/mL; $P = .002$) (Figure 1A). The median viral load (IQR) in the former group was 1.35×10^6 (2.89×10^5 to 4.45×10^7) RNA copies/mL. Of note, we were able to isolate virus from samples with viral loads below this threshold, including 1 sample with a viral load of 1.8×10^3 RNA copies/mL. On the other hand, several samples with viral loads $>1.0 \times 10^7$ RNA copies/mL did not result in successful virus isolation. Virus isolation was most likely to occur in the first 10 days after onset of clinical symptoms (Figure 1B). Surprisingly, SARS-CoV-2 was isolated from 1 respiratory specimen obtained 167 days after the onset of severe COVID-19 infection. This patient had been treated with rituximab in the setting of malignant lymphoma and had remained symptomatic throughout the entire observation period.

Correlation Between Positive AgPOCT Results in Respiratory Samples and SARS-CoV-2 Isolation

Antigen detection in airway samples was reported to be associated with high viral loads and successful virus isolation [26, 27]. In line with these data, samples of our study cohort contained 589-fold higher viral loads with positive compared with negative AgPOCT results (7.17 vs $4.40 \log_{10}$ RNA copies/mL; $P < .001$) (Figure 1C). SARS-CoV-2 was successfully isolated

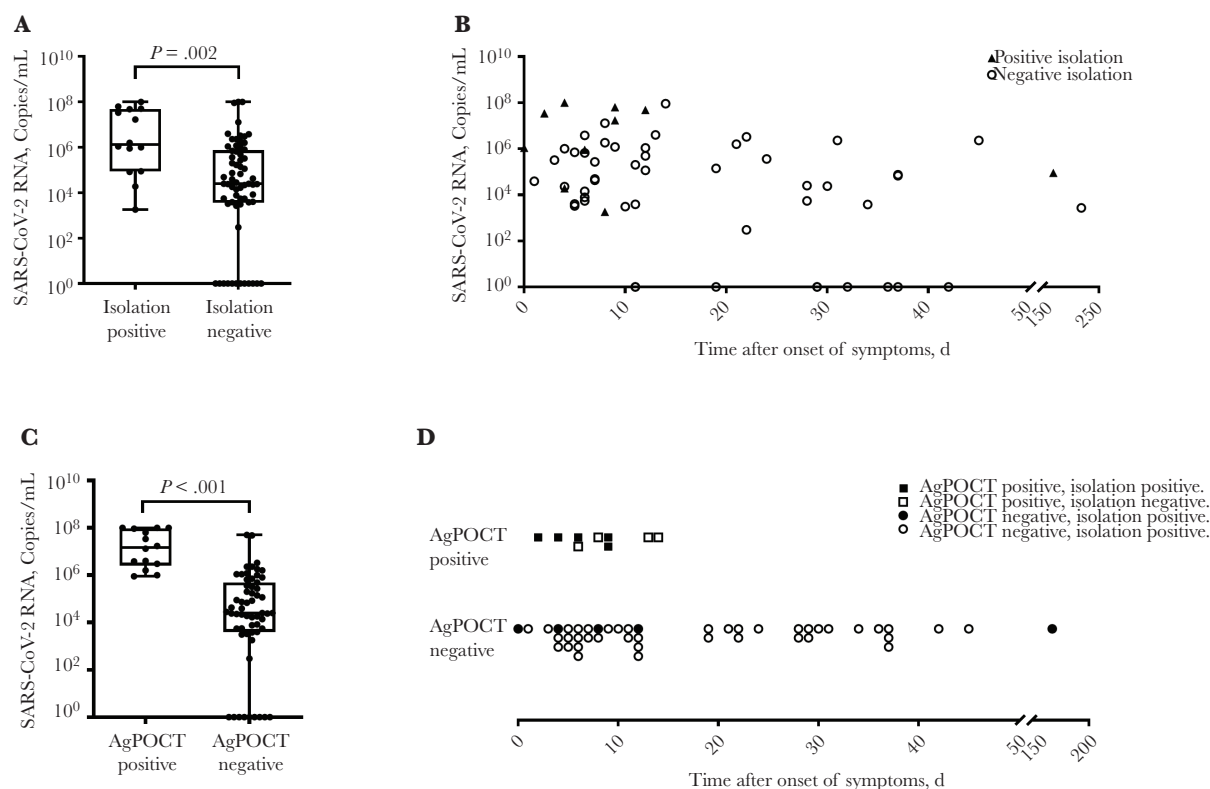


Figure 1. Correlation of severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2) RNA and antigen loads in respiratory specimens of patients with the timeline of infectivity. *A*, Comparison of viral loads obtained by real-time quantitative polymerase chain reaction in samples with or without successful SARS-CoV-2 isolation in cell culture. *B*, Distribution of samples with positive and negative virus isolation as a function of days after onset of symptoms. *C*, Comparison of SARS-CoV-2 RNA levels in respiratory specimens with positive and negative antigen point-of-care test (AgPOCT) results. *D*, Distribution of samples with positive and negative AgPOCT as well as positive and negative virus isolation as a function of days after onset of symptoms. Box plots show median and interquartile ranges plus maximal and minimal values of viral loads, which were compared after logarithmic transformation using Student *t* tests. Samples with undetectable viral loads were set to 10^0 RNA copies/mL.

from 7 of 14 samples with a positive AgPOCT result, while the others remained negative. Viral antigen was not detected beyond 16 days after onset of symptoms (Figure 1D).

Association Between Detection of SARS-CoV-2 Antibodies and Lack of Virus Isolation

As shown above, viral RNA loads and antigen detection in airway samples of our study were correlated with virus isolation. However, “outliers” occurred with successful virus isolation despite low RNA levels and lack of virus isolation despite high viral loads. Most striking was the isolation of SARS-CoV-2 in an airway sample nearly 6 months after onset of disease, as described above. SARS-CoV-2 IgG had not developed in this patient, probably owing to treatment with rituximab, which prompted us to investigate the role of these antibodies in infectivity. Viral loads in airway samples were 28-fold higher when SARS-CoV-2 IgG was absent versus present in the serum (6.36 vs 4.92 \log_{10} RNA copies/mL, respectively; $P = .004$) (Figure 2A). In 7 patients with follow-up samples, SARS-CoV-2 was preferentially isolated

from the earliest specimen, while later samples were consistently negative (Figure 2B). This situation was reflected in the timeline, showing that, with one exception, virus isolation was not successful in samples with documented IgG seroconversion before collection of respiratory samples (Figure 2B). In conclusion, successful virus isolation clustered with high viral loads, sampling shortly after onset of symptoms, and seroconversion after collection of respiratory specimens (Supplementary Figure 2).

To find out whether the presence of SARS CoV-2 antibodies similarly limited the infectivity of VOCs, we investigated 22 respiratory samples that harbored B.1.1.7 strains with a deletion at position 69/70 and mutation N501Y in the viral spike protein according to real-time PCR and melting curve analysis. We were able to isolate virus from 10 of 12 samples obtained from patients without SARS-CoV-2 antibodies, but in none of 10 samples from seropositive donors ($P < .001$; Fisher exact test) (Figure 3). These data confirmed that SARS-CoV-2 antibodies similarly restricted VOC alpha infectivity.

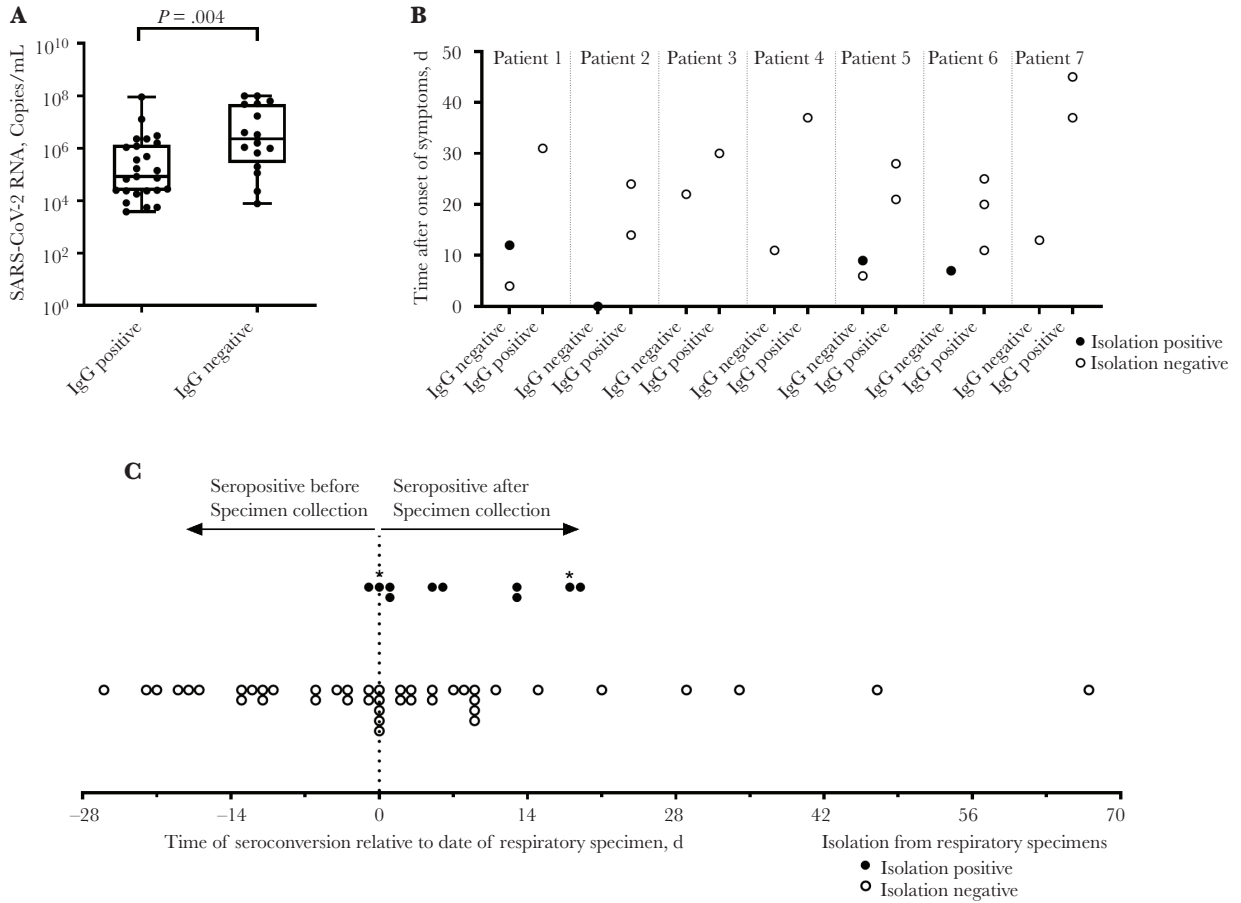


Figure 2. Correlation of severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2) immunoglobulin G (IgG) antibody status with the timeline of infectivity of wild-type strains. *A*, Comparison of SARS-CoV-2 RNA concentrations in respiratory samples obtained from seropositive and seronegative patients. Box plots show medians and interquartile ranges plus maximal and minimal values of viral loads, which were compared after logarithmic transformation using Student *t* tests. *B*, Intra-individual courses of virus isolations in 7 patients as a function of days after onset of symptoms and SARS-CoV-2 IgG serostatus. *C*, Time of seroconversion with respect to sampling of respiratory specimen and virus isolation. Samples marked with an asterisk indicate the last negative SARS-CoV-2 IgG measurement in patients without seroconversion during the observation period.

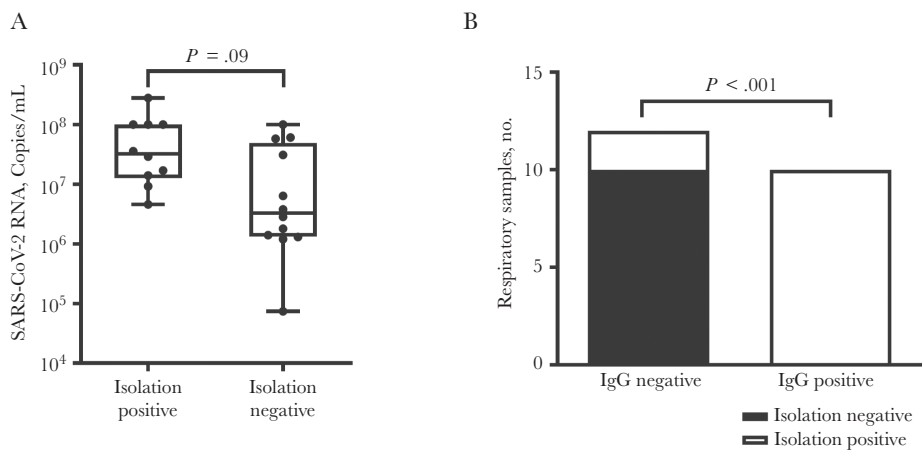


Figure 3. Correlation of severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2) immunoglobulin G (IgG) status with the isolation of B.1.1.7 viruses from respiratory samples ($n = 22$). *A*, Comparison of SARS-CoV-2 RNA levels in the respiratory specimens of these patients, stratified according to virus isolation. *B*, Frequency of B.1.1.7 isolation in patients with or without SARS-CoV-2 IgG antibodies.

Table 2. Contribution of Viral Load, Duration of Symptoms, Timing of Seropositivity, and Presence of Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 Antigen in Respiratory Specimen to Isolation of Infectious Virus^a

Parameter	OR (95% CI)	P Value
SARS-CoV-2 RNA (79 samples)		
Continuous (log ₁₀ RNA copies/mL)	1.93 (1.23–3.02)	.004
Categorical		
≤4 vs >4 log ₁₀ RNA copies/mL	7.61 (.94–61.86)	.06
≤5 vs >5 log ₁₀ RNA copies/mL	3.75 (1.06–13.24)	.04
≤6 vs >6 log ₁₀ RNA copies/mL	6.00 (1.74–20.65)	.004
≤7 vs >7 log ₁₀ RNA copies/mL	11.44 (2.65–49.46)	.001
AgPOCT (73 samples)		
Categorical (positive vs negative)	7.43 (2.00–27.58)	.003
Time since onset of disease (all; 79 samples)		
Continuous (days)	1.00 (.98–1.02)	.91
Categorical		
≤7 vs >7 d	0.44 (.14–1.42)	.17
≤10 vs >10 d	0.21 (.06–.81)	.02
Time since onset of symptoms (in patients with known onset date; 59 samples)		
Continuous (days)	1.00 (.98–1.02)	.94
Categorical		
≤7 vs >7 d	0.44 (.11–1.75)	.24
≤10 vs >10 d	0.16 (.03–.83)	.03
IgG antibodies at time of respiratory specimen collection (41 samples)		
Categorical (yes vs no)	0.05 (.01–.50)	.01
Immunosuppression (79 samples)		
Categorical (yes vs no)	1.57 (.46–5.34)	.47

Abbreviations: AgPOCT, antigen point-of-care tests; CI, confidence interval; IgG, immunoglobulin G; OR, odd ratio; SARS-CoV-2 RNA, severe acute respiratory syndrome coronavirus 2.

^aDetermined with binary univariate logistic regression model.

Prediction of Virus Isolation

To date, high viral loads and the presence of viral antigen in airway samples, recent onset of symptoms, and lack of seroconversion have been confirmed as determinants of virus isolation in our study cohort. However, the extent to which each of these factors contributed to infectivity was still unclear. For these purposes, we analyzed all parameters using a binary logistic regression model (Table 2). In this analysis, the likelihood of virus isolation was increased 1.9-fold for each log₁₀ level of SARS-CoV-2 RNA. The probability increased 3.8-, 6.0-, and 11.4-fold with viral loads above 1.0×10^5 , 1.0×10^6 , and 1.0×10^7 RNA copies/mL compared with viral loads at or below these thresholds. Detection of viral antigen increased the odds ratio 7.4-fold. By contrast, it was reduced by 79% if the onset of symptoms was >10 days earlier. When SARS-CoV-2 IgG antibodies were present, the probability was reduced by 91%.

Furthermore, we examined the sensitivity and specificity with which each parameter predicted virus isolation from respiratory samples (Table 3). Sensitivities decreased and specificities increased with increasing SARS-CoV-2 RNA concentrations (Supplementary Figure 3A). A threshold of 1.0×10^7 RNA copies/mL resulted in positive and negative predictive values of 60.0% and 88.4%, respectively. Antigen test results were associated with a positive predictive value of 50.0% and a negative predictive value of 88.1%. An interval of ≥10 days between the onset of symptoms and the collection of airway samples resulted in a negative predictive value of 93.8% (Table 3 and Supplementary Figure 3B). SARS-CoV-2 IgG antibodies were associated with a negative predictive value of 96.0%. In summary, the best predictors for infectivity were viral loads $>1.0 \times 10^7$ RNA copies/mL.

Table 3. Sensitivity, Specificity, and Predictive Values of Defined Categories of Viral Load, Duration of Symptoms, Timing of Seropositivity, and Presence of Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 Antigen for Predicting Infectivity of Respiratory Specimens^a

Parameter	Samples, No.	P Value	Sensitivity, %	Specificity, %	Positive Predictive Value, %	Negative Predictive Value, %
SARS-CoV-2 RNA						
≤4 vs >4 log ₁₀ RNA copies/mL	79	.03	92.9	36.9	24.1	96.0
≤5 vs >5 log ₁₀ RNA copies/mL	79	.04	71.4	60.0	27.8	90.7
≤6 vs >6 log ₁₀ RNA copies/mL	79	.008	64.3	76.9	37.5	90.9
≤7 vs >7 log ₁₀ RNA copies/mL	79	.002	42.9	93.9	60.0	88.4
AgPOCT (positive vs negative)	73	.004	50.0	88.1	50.0	88.1
Time since onset of disease (all)						
≤7 vs >7 d	79	.23	57.1	63.1	25.0	87.2
≤10 vs >10 d	79	.02	78.6	56.9	28.2	92.5
Time since onset of symptoms (in patients with known onset date)						
≤7 vs >7 d	59	.28	50.0	69.3	25.0	87.2
≤10 vs >10 d	59	.03	80.0	50.9	29.6	93.8
IgG antibodies at time of respiratory specimen collection (yes vs no)	41	.003	87.5	72.2	43.8	96.0

Abbreviations: AgPOCT, antigen point-of-care test; IgG, immunoglobulin G; SARS-CoV-2 RNA, severe acute respiratory syndrome coronavirus 2.

^aDetermined with Fisher exact test.

and detection of viral antigen, while absence of infectivity was best predicted by the presence of SARS-CoV-2 IgG antibodies and a long interval from the onset of symptoms.

DISCUSSION

Our study investigated the relevance of 4 different parameters for the isolation of SARS-CoV-2 in cell culture, namely SARS-CoV-2 RNA levels and viral antigen in respiratory specimens in addition to time after onset of symptoms and IgG antibodies in the serum. We confirmed previously reported findings that the risk of infectivity increases with increasing viral load [10, 11]. However, virus load as unique predictor for infectivity allows only limited conclusions, because infectivity usually terminates after 10 days [10–12, 24, 28], while SARS-CoV-2 RNA is detectable in respiratory samples for an average of 17 days [16]. Furthermore, conversion of Ct values into viral loads is dependent on laboratory-specific validation [29, 30]. In line with these data, we were unable to define a threshold for infectivity. We could isolate virus from a sample harboring only 1.8×10^3 RNA copies/mL at an early stage of infection as evident from the absence of SARS-CoV-2 IgG antibodies in the serum. In contrast, several samples with viral loads $>1 \times 10^7$ RNA copies/mL failed to support virus isolation, most likely owing to the presence of antibodies. This may be particularly important for patients treated in ICUs who received convalescent plasma. Therefore, viral load can only be considered as a surrogate parameter, which should be interpreted together with clinical information.

Point-of-care testing of viral antigen captures the samples with the highest viral load. In our study, a positive AgPOCT result was associated with a 7.4-fold increased likelihood of virus isolation, while a negative result was associated with a low probability of infectivity, even with positive PCR results. In the predictive model, AgPOCT missed half of the samples with positive virus isolation but identified the other half, providing the chance to quarantine these individuals and limit viral spread. How much this proportion contributes to the incidence of infection at the population level needs to be investigated, in particular because AgPOCT results are available within minutes, whereas PCR tests (and thus the measures to be taken) take much longer. Therefore, broad AgPOCT testing, with the limitation of missing low viral loads, especially at the onset of infectivity, may be combined with targeted PCR in high-risk situations and for confirmation. A considerable proportion of infections are transmitted before diagnosis, as viral shedding begins before symptoms appear. This situation calls for vaccination and hygiene as the main primary prevention approach; the contribution of broad PCR or antigen screening remains to be further investigated [31].

Furthermore, our study revealed a significant decrease of virus isolation 10 days after the onset of symptoms. This time interval is slightly longer than previously reported [11], possibly

caused by the inclusion of 45 samples from patients treated in the ICU during the first COVID-19 wave in Regensburg. These patients did not receive regular dexamethasone but had a severe course of disease. Fifteen patients received convalescent plasma, and 2 patients each were treated with anakinra, remdesivir, and hydroxychloroquine. A total of 10 patients were immunosuppressed, had rheumatological diseases, lymphomas or leukemia, were transplant recipients, or had received corticosteroids for >4 weeks before the onset of disease.

Of note, we observed prolonged virus shedding in 1 patient after B-cell depletion, which resolved after administration of convalescent plasma. However, we were not able to isolate virus from all samples collected in the first days after symptom onset. This was still the case when all samples were excluded for which the exact onset of symptoms was unknown. Thus, “days after onset of symptoms” as unique predictor for infectivity allowed only limited conclusions in our study. From a public health perspective, it seems important to differentiate between the majority of “uncomplicated” courses and those with preexisting conditions or immunosuppressive medication [32]. Not immunosuppression per se, but the lack of SARS-CoV-2 antibodies appears to be crucial for prolonged virus excretion. This goes in hand with the fact that the majority of immunosuppressed patients received convalescent plasma during their ICU stay.

The most striking result of our study was the pronounced effect of seroconversion on virus isolation. Once SARS-CoV-2 IgG antibodies directed against the receptor-binding domain of SARS-CoV-2 were present in the serum, virus isolation was no longer possible—with the exception of 1 patient, who was borderline positive for SARS-CoV-2 IgG and had recently seroconverted. The presence of IgG antibodies corresponding to neutralizing activity [33] was associated with a high negative predictive value and therefore seems to be a suitable marker for the decision to suspend quarantine [10]. Notably, we were able to confirm these findings for VOC alpha. Further studies are needed for VOCs beta and gamma, which harbor mutations that contribute to virus escape from neutralizing antibodies (K417N, E484K). We attempted to include and calculate all data in a multivariate model. However, the predictions of the univariate models were not improved, likely owing to the small sample size of our cohort [34] and multicollinearity, which prevented the identification of independent variables through close correlation of all variables. In addition, the exact day of seroconversion remained unclear in our study, because SARS-CoV-2 antibody status was not analyzed on a regular basis. Another limitation is that virus isolation in cell culture, although considered a surrogate for natural infection, may underestimate true infectivity.

What can be recommended based on our data and the data of other groups? Patients with high viral loads and/or a positive AgPOCT result (confirmed by PCR) should be considered infectious and quarantined, regardless of whether they are

symptomatic or not [35]. In uncomplicated cases, isolation can be lifted no earlier than 7–9 days after the onset of symptoms, when the patient has recovered. This interval fits well with a recent review that considers infectivity beyond 10 days after onset of symptoms to be very unlikely [36] and another study that failed to detect replicative viral intermediates beyond 8 days after onset of illness [37].

Measurement of SARS-CoV-2 IgG antibodies seems to be most useful in complicated cases with prolonged viral shedding, especially if the patient has developed a severe infection, is immunosuppressed, or has conditions that delay antibody formation. The pandemic is most likely driven by virus transmission through presymptomatic and asymptomatic carriers, when the infected person is not yet aware of the infection [13, 38, 39]. As the disease subsides, infectivity will be much lower, also because those affected are encouraged to continue to adhere to hygiene measures. The data in our study originate from the first COVID-19 wave in Germany, so the relevance of these recommendations remains to be seen for the current VOCs, which are apparently characterized by increased infectivity [40] and reduced susceptibility to neutralizing antibodies [41, 42]. With all due caution, the detection of SARS-CoV-2 IgG antibodies can be expected to mark loss of infectivity here as well.

Notes

Acknowledgments. We thank the Virology Molecular Diagnostics team at the Institute of Clinical Microbiology and Hygiene, University Hospital Regensburg, for expert technical assistance, the colleagues of the Public Health Service in the Upper Palatinate and Lower Bavaria for collaboration, and Andre Gessner for continuous support.

Financial support. This work was supported by the Bavarian Ministry of Science and Art, within the pandemic responsiveness fund.

Potential conflicts of interest. All authors: No reported conflicts. All authors have submitted the ICMJE Form for Disclosure of Potential Conflicts of Interest. Conflicts that the editors consider relevant to the content of the manuscript have been disclosed.

References

1. Zhu N, Zhang D, Wang W, et al. A novel coronavirus from patients with pneumonia in China, 2019. *N Engl J Med* **2020**; 382:727–33.
2. Huang C, Wang Y, Li X, et al. Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China. *Lancet* **2020**; 395:497–506.
3. Guan WJ, Ni ZY, Hu Y, et al. Clinical characteristics of coronavirus disease 2019 in China. *N Engl J Med* **2020**; 382:1708–20.
4. Pan H, Peto R, Henao-Restrepo AM, et al; WHO Solidarity Trial Consortium. Repurposed antiviral drugs for Covid-19—interim WHO Solidarity Trial results. *N Engl J Med* **2021**; 384:497–511.
5. Song Y, Zhang M, Yin L, et al. COVID-19 treatment: close to a cure? a rapid review of pharmacotherapies for the novel coronavirus (SARS-CoV-2). *Int J Antimicrob Agents* **2020**; 56:106080.
6. Contreras S, Dehning J, Loidolt M, et al. The challenges of containing SARS-CoV-2 via test-trace-and-isolate. *Nat Commun* **2021**; 12:378.
7. Flaxman S, Mishra S, Gandy A, et al; Imperial College COVID-19 Response Team. Estimating the effects of non-pharmaceutical interventions on COVID-19 in Europe. *Nature* **2020**; 584:257–61.
8. Kretzschmar ME, Rozhnova G, Bootsma MCJ, van Boven M, van de Wijgert JHHM, Bonten MJM. Impact of delays on effectiveness of contact tracing strategies for COVID-19: a modelling study. *Lancet Public Health* **2020**; 5:e452–9.
9. Sharma M, Mindermann S, Rogers-Smith C, et al. Understanding the effectiveness of government interventions in Europe's second wave of COVID-19. *medRxiv* [Preprint: not peer reviewed]. 26 March 2021. Available from: <https://www.medrxiv.org/content/10.1101/2021.03.25.21254330v1>.
10. van Kampen JJA, van de Vijver D, Fraaij PLA, et al. Duration and key determinants of infectious virus shedding in hospitalized patients with coronavirus disease-2019 (COVID-19). *Nat Commun* **2021**; 12:267.
11. Wolfel R, Corman VM, Guggemos W, et al. Virological assessment of hospitalized patients with COVID-2019. *Nature* **2020**; 581:465–9.
12. Bullard J, Dust K, Funk D, et al. Predicting infectious SARS-CoV-2 from diagnostic samples. *Clin Infect Dis* **2020**; 71:2663–6.
13. He X, Lau EHY, Wu P, et al. Temporal dynamics in viral shedding and transmissibility of COVID-19. *Nat Med* **2020**; 26:672–5.
14. Cheng PK, Wong DA, Tong LK, et al. Viral shedding patterns of coronavirus in patients with probable severe acute respiratory syndrome. *Lancet* **2004**; 363:1699–700.
15. Petersen E, Koopmans M, Go U, et al. Comparing SARS-CoV-2 with SARS-CoV and influenza pandemics. *Lancet Infect Dis* **2020**; 20:e238–44.
16. Cevik M, Tate M, Lloyd O, Maraolo AE, Schafers J, Ho A. SARS-CoV-2, SARS-CoV, and MERS-CoV viral load dynamics, duration of viral shedding, and infectiousness: a systematic review and meta-analysis. *Lancet Microbe* **2021**; 2:e13–e22.
17. Aydillo T, Gonzalez-Reiche AS, Aslam S, et al. Shedding of viable SARS-CoV-2 after immunosuppressive therapy for cancer. *N Engl J Med* **2020**; 383:2586–8.

18. Mak GC, Cheng PK, Lau SS, et al. Evaluation of rapid antigen test for detection of SARS-CoV-2 virus. *J Clin Virol* **2020**; 129:104500.
19. Corman VM, Haage VC, Bleicker T, et al. Comparison of seven commercial SARS-CoV-2 rapid point-of-care antigen tests: a single-centre laboratory evaluation study. *Lancet Microbe* **2021**; 2:e311–e319.
20. Igli Z, Velzing J, van Beek J, et al. Clinical evaluation of Roche SD Biosensor rapid antigen test for SARS-CoV-2 in municipal health service testing site, the Netherlands. *Emerg Infect Dis* **2021**; 27:1323–9.
21. Corman VM, Landt O, Kaiser M, et al. Detection of 2019 novel coronavirus (2019-nCoV) by real-time RT-PCR. *Euro Surveill* **2020**; 25:2000045.
22. Hitzenbichler F, Bauernfeind S, Salzberger B, Schmidt B, Wenzel JJ. Comparison of throat washings, nasopharyngeal swabs and oropharyngeal swabs for detection of SARS-CoV-2. *Viruses* **2021**; 13:653.
23. Peterhoff D, Glück V, Vogel M, et al. A highly specific and sensitive serological assay detects SARS-CoV-2 antibody levels in COVID-19 patients that correlate with neutralization. *Infection* **2021**; 49:75–82.
24. Arons MM, Hatfield KM, Reddy SC, et al; Public Health–Seattle and King County and CDC COVID-19 Investigation Team. Presymptomatic SARS-CoV-2 infections and transmission in a skilled nursing facility. *N Engl J Med* **2020**; 382:2081–90.
25. La Scola B, Le Bideau M, Andreani J, et al. Viral RNA load as determined by cell culture as a management tool for discharge of SARS-CoV-2 patients from infectious disease wards. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* **2020**; 39:1059–61.
26. Albert E, Torres I, Bueno F, et al. Field evaluation of a rapid antigen test (Panbio COVID-19 Ag Rapid Test Device) for COVID-19 diagnosis in primary healthcare centres. *Clin Microbiol Infect* **2021**; 27:472 e7–e10.
27. Pekosz A, Parvu V, Li M, et al. Antigen-based testing but not real-time polymerase chain reaction correlates with severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 viral culture. *Clin Infect Dis* **2021**:ciaa1706.
28. Team C-I. Clinical and virologic characteristics of the first 12 patients with coronavirus disease 2019 (COVID-19) in the United States. *Nat Med* **2020**; 26:861–8.
29. Dahdouch E, Lázaro-Perona F, Romero-Gómez MP, Mingorance J, García-Rodríguez J. Ct values from SARS-CoV-2 diagnostic PCR assays should not be used as direct estimates of viral load. *J Infect* **2021**; 82:414–51.
30. Matheussen V, Corman VM, Donoso Mantke O, et al.; RECOVER project and collaborating networks. International external quality assessment for SARS-CoV-2 molecular detection and survey on clinical laboratory preparedness during the COVID-19 pandemic, April/May 2020. *Euro Surveill* **2020**; 25:2001223.
31. Pavelka M, Van-Zandvoort K, Abbott S, et al; CMMID COVID-19 working group; Inštitút Zdravotných Analýz. The impact of population-wide rapid antigen testing on SARS-CoV-2 prevalence in Slovakia. *Science* **2021**; 372:635–41.
32. Widders A, Broom A, Broom J. SARS-CoV-2: The viral shedding vs infectivity dilemma. *Infect Dis Health* **2020**; 25:210–5.
33. Werner M, Pervan P, Gluck V, et al. Evaluation of a broad panel of SARS-CoV-2 serological tests for diagnostic use. *J Clin Med* **2021**; 10:1580.
34. Green SB. How many subjects does it take to do a regression analysis. *Multivariate Behav Res* **1991**; 26:499–510.
35. Singanayagam A, Patel M, Charlett A, et al. Duration of infectiousness and correlation with RT-PCR cycle threshold values in cases of COVID-19, England, January to May 2020. *Euro Surveill* **2020**; 25:2001483.
36. Walsh KA, Spillane S, Comber L, et al. The duration of infectiousness of individuals infected with SARS-CoV-2. *J Infect* **2020**; 81:847–56.
37. Perera RAPM, Tso E, Tsang OTY, et al. SARS-CoV-2 Virus culture and subgenomic RNA for respiratory specimens from patients with mild coronavirus disease. *Emerg Infect Dis* **2020**; 26:2701–4.
38. Lavezzo E, Franchin E, Ciavarella C, et al; Imperial College COVID-19 Response Team; Imperial College COVID-19 Response Team. Suppression of a SARS-CoV-2 outbreak in the Italian municipality of Vo'. *Nature* **2020**; 584:425–9.
39. Wei WE, Li Z, Chiew CJ, Yong SE, Toh MP, Lee VJ. Presymptomatic transmission of SARS-CoV-2—Singapore, January 23–March 16, 2020. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* **2020**; 69:411–5.
40. Sheikh A, McMenamin J, Taylor B, Robertson C; Public Health Scotland and the EAVE II Collaborators. SARS-CoV-2 Delta VOC in Scotland: demographics, risk of hospital admission, and vaccine effectiveness. *Lancet* **2021**; 397:2461–2.
41. Edara VV, Pinsky BA, Suthar MS, et al. Infection and vaccine-induced neutralizing-antibody responses to the SARS-CoV-2 B.1.617 variants. *N Engl J Med* **2021**; 385:664–6.
42. Lustig Y, Zuckerman N, Nemet I, et al. Neutralising capacity against Delta (B.1.617.2) and other variants of concern following Comirnaty (BNT162b2, BioNTech/Pfizer) vaccination in health care workers, Israel. *Euro Surveill* **2021**; 26:2100557.

Erklärung nach § 6 Abs. 5 Nr. 2 der Promotionsordnung

Ich erkläre hiermit, 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. Insbesondere habe ich nicht die entgeltliche Hilfe von Vermittlungs- bzw. Beratungsdiensten (Promotionsberater oder andere Personen) in Anspruch genommen. Niemand hat von mir unmittelbar oder mittelbar geldwerte Leistungen für die Arbeit erhalten, die im Zusammenhang mit dem Inhalt der vorgelegten Dissertation stehen. Die Arbeit wurde bisher weder im In- noch im Ausland in gleicher oder ähnlicher Form einer anderen Prüfungsbehörde vorgelegt.

Lebenslauf

Felix Buder

Geboren am 19.11.1994 in Chêne-Bougeries (Genf, Schweiz)

Ausbildung

2014 – 2021	Studium der Humanmedizin in Regensburg
2013	Ausbildung zum Rettungssanitäter
2013 – 2014	Freiwilliges Soziales Jahr im Rettungsdienst
2005 – 2013	Gymnasium am Rotenbühl (Eliteschule des Sports)
2000 – 2005	École française de Sarrebruck et Dilling

Publikationen

Buder F, Hitzenbichler F, Ehrenstein B, Salzberger B. Der Ausbruch von COVID-19 in China. Internist. 2020 Aug;61(8):776-781.

Salzberger B, **Buder F**, Lampl B, Ehrenstein B, Hitzenbichler F, Hanses F. Epidemiologie von SARS-CoV-2-Infektion und COVID-19. Internist. 2020 Aug;61(8):782-788.

Salzberger B, **Buder F**, Lampl B, Ehrenstein B, Hitzenbichler F, Holzmann T, Schmidt B, Hanses F. Epidemiology of SARS-CoV-2. Infection. 2021 Apr;49(2):233-239.

Buder F, Bauswein M, Magnus CL, Audebert F, Lang H, Kundel C, Distler K, Reuschel E, Lubnow M, Müller T, Lunz D, Graf B, Schmid S, Müller M, Poeck H, Hanses F, Salzberger B, Peterhoff D, Wenzel JJ, Schmidt B, Lampl B. Contribution of High Viral Loads, Detection of Viral Antigen and Seroconversion to Severe Acute Respiratory. The Journal of Infectious Diseases. 2022 Jan;225(2):190–198.

Meister TL, Gottsauner JM, Schmidt B, Heinen N, Todt D, Audebert F, **Buder F**, Lang H, Gessner A, Steinmann E, Vielsmeier V, Pfaender S, Cieplik F. Mouthrinses against SARS-CoV-2 - High antiviral effectivity by membrane disruption in vitro translates to mild effects in a randomized placebo-controlled clinical trial. Virus Research. 2022 May 2;316:198791.

Danksagung

Mein Dank gilt in erster Linie meiner Doktormutter Frau Prof. Dr. Barbara Schmidt. Speziell Ihre herausragende Betreuung und Ihre Besonnenheit habe ich sehr zu schätzen gewusst. Vor dem Hintergrund der herausfordernden Zeit während der COVID-19-Pandemie empfinde ich tiefste Bewunderung für Ihre ununterbrochene Unterstützung und den intensiven Austausch, die mir ein eigenständiges wissenschaftliches Arbeiten erst ermöglicht haben. Eine bessere Doktormutter, Betreuerin und Förderin hätte ich mir nicht wünschen können. Vielen, vielen Dank!

Mein Dank gilt auch der gesamten Arbeitsgruppe von Frau Prof. Dr. Schmidt für den herzlichen und kollegialen Umgang. Hervorheben möchte hier zum einen Prof. Dr. Jürgen Wenzel und Dr. Markus Bauswein und ihre wertvollen statistischen Ratschläge. Zum anderen gilt mein Dank Anette Rohrhofer und Clara Magnus für das freundschaftliche Verhältnis, sodass ich die tägliche Arbeit im Labor als ausgesprochen angenehm und lehrreich empfunden habe.

Meinen Dank möchte ich auch bei Dr. Audebert, Dr. Henriette Lang, Dr. Christof Kundel, Karin Distler, PD Edith Reuschel, PD Matthias Lubnow, Prof. Thomas Müller, Dr. Dirk Lunz, Prof. Bernhard Graf, Dr. Stephan Schmid, Prof. Dr. Martina Müller, Prof. Hendrik Poeck, PD Frank Hanes, Dr. David Peterhoff und Dr. Benedikt Lampl ausdrücken, die an der Studie beteiligt waren und wertvolle Arbeit für die Erhebung der Daten investiert haben.

Besonders bedanken möchte ich mich auch bei Herrn Dr. Prof. Bernd Salzberger. Die kurze, aber doch sehr intensive Zeit in Ihrer Abteilung war äußerst einprägsam für mich. Die Möglichkeit während der ungewissen Zeit zum Ausbruch des Pandemiegeschehens bei Ihnen arbeiten zu dürfen und zudem wissenschaftlich gefördert zu werden, empfinde ich als großes Glück.

Von den Erfahrungen, die ich am Institut für Sport- und Präventivmedizin in Saarbrücken um Prof. Dr. Tim Meyer gesammelt habe, habe ich für meine Promotion stark profitiert. Danke, dass ich meine ersten wissenschaftlichen Versuche bei euch absolvieren durfte.

Mein größter Dank gilt meinen Eltern, meinen beiden Brüdern und meiner Jugendliebe Sophie Weiler. Eure bedingungslose Liebe ist mein größtes Glück.