

Studienprotokoll

C19.CHILD Hamburg

Infektions- und Seroprävalenz sowie klinischer Verlauf der Infektion mit dem neuartigen Coronavirus SARS-CoV-2 bei Kindern 0-18 Jahre im Raum Hamburg

Studienakronym: **COVID-19 Child Health Investigation of Latent Disease in Hamburg**
Version 1.0 vom 17.04.2020

Antragstellerin:

Prof. Dr. med. Ania C. Muntau
Klinikdirektorin, Klinik für Kinder- und Jugendmedizin
Universitätsklinikum Hamburg-Eppendorf
Gebäude O47, Martinistraße 52
20246 Hamburg
Telefon: +49 (0) 40 7410-56133
Fax: +49 (0) 40 7410-55107
Email: muntau@uke.de

Vertreter:

Prof. Dr. med. Søren W. Gersting
Leiter, University Children's Research
Universitätsklinikum Hamburg-Eppendorf
Gebäude N27, Martinistr. 52
20246 Hamburg
Email: gersting@uke.de

Prof. Dr. med. Thomas S. Mir
Stellvertretender Leiter, Kinderkardiologie/Herzchirurgie für angeborene Herzfehler
Universitäres Herz- und Gefäßzentrum
Universitätsklinikum Hamburg-Eppendorf
Gebäude O47, Martinistraße 52
20246 Hamburg
Email: mir@uke.de

Teilnehmende Kliniken

Universitätsklinikum Hamburg-Eppendorf (UKE)
Klinik für Kinder- und Jugendmedizin
 Leitung: Prof. Dr. med. Ania C. Muntau

Universitätsklinikum Hamburg-Eppendorf (UKE)
Universitäres Herzzentrum
Klinik für Kinderkardiologie
 Leitung: Prof. Dr.med. Rainer Kozlik-Feldmann

Universitätsklinikum Hamburg-Eppendorf (UKE)
Klinik für Pädiatrische Hämatologie und Onkologie
 Leitung: Prof. Dr.med. Stefan Rutkowski
 Martinstraße 52, 20246 Hamburg

Universitätsklinikum Hamburg-Eppendorf (UKE)
Sektion Pädiatrische Stammzelltransplantation und Immunologie
 Universitätsklinikum Hamburg – Eppendorf (UKE)
 Leitung: Prof. Dr. med. Ingo Müller
 Email: i.mueller@uke.de

Universitätsklinikum Hamburg-Eppendorf (UKE)
Klinik und Poliklinik für Kinderchirurgie
 Leitung: Prof. Dr. med. Konrad Reinshagen
 Email: k.reinshagen@uke.de

Altonaer Kinderkrankenhaus
 Leitung: Prof. Dr. Philippe Stock
 Bleickenallee 38, 22763 Hamburg

Katholisches Kinderkrankenhaus Wilhelmstift
 Leitung: Prof. Dr. med. Peter H. Höger
 Liliencronstraße 130, 22149 Hamburg

Helios Mariahilf Klinik Hamburg
 Leitung: Dr. med. Caroline Schmitt
 Stader Straße 203C, 21075 Hamburg

Universitätsklinikum Hamburg-Eppendorf (UKE)
Klinik für Geburtshilfe und Pränatalmedizin
 Leitung: Prof. Dr. med. K. Hecher
 Email: k.hecher@uke.de
 Labor für Experimentelle Feto-maternale Medizin
 Leitung: Prof. Dr. med. P. Arck
 Email: p.ack@uke.de

Inhaltsverzeichnis

1. Darstellung der Studienrationale und des bisherigen Wissenstandes	4
2. Zielsetzung des Forschungsvorhabens	4
3. Studienplan.....	5
3.1 Ethik	5
3.2 Studiendesign	5
3.3 Methoden	5
3.3.1 Fragebögen und Case Report Forms	5
3.3.2 SARS-CoV-2 (COVID-19) PCR im Nasen-Rachenabstrich	5
3.3.3 SARS-CoV-2 (COVID-19) Antikörperbestimmung	6
3.3.4 Immunphänotypisierung.....	6
3.3.5 Metabolomics.....	6
3.3.6 HLA-Typisierung	6

3.3.7 Genomics.....	6
3.3.8 Sequenzierung des Virusgenoms	6
3.3.9 Einsicht in die Krankenakte.....	6
3.3.10 Asservierung von Restmaterial aus der klinischen Routine	6
3.4 Statistik.....	7
3.4.1 Begründung der Fallzahl.....	7
3.4.2 Vorgesehene statistische Analyse-Methoden, einschließlich der Zeitpunkte für ggf. geplante Zwischenauswertungen.	7
3.5 Primäre / Sekundäre Endpunkte	7
3.5.1 Primärer Endpunkt.....	7
3.5.2 Sekundäre Endpunkte	8
3.6 Ein- und Ausschlusskriterien der Studie.....	8
3.6.1 Einschlusskriterien	8
3.6.2 Ausschlusskriterien	8
3.7 Rekrutierung der Probanden	8
3.8 Studienablauf	9
3.8.1 Ablauf der C19.CHILD Screening-Phase.....	9
3.8.2 Ablauf der Follow-up-Phase.....	9
3.8.3 Gesunde Kontrollgruppe	10
3.9 Potentielle Risiken und Vorteile für die Studienteilnehmer.....	10
3.9.1 Potentielle Risiken	10
3.9.2 Potentielle Vorteile	10
3.9.3 Aufwandsentschädigung und Versicherung.....	10
3.10 Stichprobenumfang	10
3.11 Studiendauer.....	10
3.12 Dokumentation und Vertraulichkeit	11
3.13 Auswertung und Veröffentlichung	11
4. Abkürzungsverzeichnis.....	11
5. Literaturverzeichnis	13

1. Darstellung der Studienrationale und des bisherigen Wissensstandes

COVID-19, verursacht durch das neue zoonotische SARS (*Severe Acute Respiratory Syndrome*) Coronavirus (SARS-CoV-2), breitet sich aktuell weltweit von Mensch zu Mensch als pandemisch verlaufende Infektion mit hoher Morbidität und Mortalität aus. SARS-CoV-2 Infektionen bei Kindern wurden bereits im frühen Stadium der Pandemie beobachtet (Lipsitch et al., 2020). Zur Epidemiologie und klinischen Ausprägung von COVID-19 in der kindlichen Bevölkerung ist 5 Monate nach Auftreten der ersten Infektionsfälle im Dezember 2019 wenig bekannt. Der Anteil von mit SARS-CoV-2-infizierten Kindern in der bundesdeutschen Bevölkerung ist nicht bekannt. Bisher verfügbare Daten deuten darauf hin, dass Kinder sich weniger häufig infizieren als Erwachsene (Robert-Koch-Institut, 2020), auch verläuft COVID-19 bei Kindern eher als milde bis mittelschwere Atemwegserkrankung mit oder ohne Fieber (Dong et al., 2020; Wei et al., 2020). Die Notwendigkeit einer intensivmedizinischen Behandlung ist bei Kindern nur selten berichtet worden (Dong et al., 2020; Lee et al., 2020; Qiu et al., 2020; Shen et al., 2020). Einerseits besteht die Annahme, dass Kinder weniger anfällig für eine Infektion mit SARS-CoV-2 bzw. für einen schweren COVID-19-Verlauf sind (Lee et al., 2020). Andere Studien legen nahe, dass der Anteil an asymptomatisch infizierten Patienten in der pädiatrischen Population am höchsten ist, obwohl belastbare Studien zur Prävalenz und Inzidenz bisher nicht verfügbar sind (Dong et al., 2020; Du et al., 2020; Qiu et al., 2020; Xu et al., 2020).

Es ist nicht bekannt, ob und in welcher Form ein relevanter Anteil der Kinder ohne Vorerkrankungen oder der chronisch kranken Kinder Symptome entwickelt. Die Daten weisen jedoch darauf hin, dass das Vorliegen von Risikofaktoren, bspw. Fehlbildungen oder maligne Erkrankungen, auch bei Kindern zu einem schweren Verlauf der SARS-CoV-2-Infektion führen kann (Lu et al., 2020). In der Erwachsenenpopulation verursacht insbesondere das Vorliegen einer Herz-Kreislauf-Erkrankung ein erhebliches zusätzliches Risiko für einen schweren COVID-19-Verlauf (Tan and Aboulhosn, 2020; Zhou et al., 2020). Zum Risiko von Kindern mit Herzerkrankungen gibt es bislang keine Daten. Ebenso ungeklärt ist der Einfluss einer Immunsuppression bei Kindern auf den COVID-19-Verlauf (D'Antiga, 2020). In der Literatur sind Fälle bekannt, bei denen SARS-CoV-2 von asymptomatischen Personen vor der Symptomentwicklung übertragen wurde (Bai et al., 2020; Tong et al., 2020). Eine besondere Bedeutung kommt daher der Quantifizierung von kindlichen SARS-CoV-2-Infektionen mit milden bis asymptomatischen Krankheitsverläufen zu, die häufig unerkannt bleiben. Dabei kann die Charakterisierung des immunologischen Phänotyps sowie der Interaktion des Virus mit dem kindlichen Immunsystem zum Verständnis der klinischen Verläufe und möglicherweise zur Identifikation von protektiven Faktoren beitragen. Zur Frage, welchen epidemiologischen Anteil Kinder und Jugendliche bei der Übertragung von SARS-CoV-2-Infektionen haben, besteht eine unzureichende Datenlage, die Antwort ist jedoch von enormer Bedeutung für die öffentliche Gesundheit.

Eine verbesserte Datenlage zur Prävalenz von akuten SARS-CoV-2-Infektionen und zur Seroprävalenz mit einem anzunehmenden Schutz vor Neuinfektion bei gesunden Kindern und solchen mit chronischen Erkrankungen wird eine Anpassung der Maßnahmen für beide Gruppen ermöglichen. Andererseits muss die Datenlage zu den molekularen Mechanismen bei kindlichen SARS-CoV-2-Infektionen erheblich verbessert werden, um eine adäquate Versorgung dieser Kinder auf Grundlage wissenschaftlicher Evidenz zu gewährleisten und Behandlungskonzepte anpassen zu können.

2. Zielsetzung des Forschungsvorhabens

Aktuelle Untersuchungen zu COVID-19 befassen sich überwiegend mit Erwachsenen. Kinder und Jugendliche spielen möglicherweise eine wichtige Rolle bei der Verbreitung der Infektion mit dem SARS-CoV-2-Virus in der Bevölkerung. Die Studie C19.CHILD Hamburg soll daher kurzfristig Daten zur Infektions- und Seroprävalenz für SARS-CoV-2 sowie zum klinischen Verlauf von COVID-19 bei Kindern und Jugendlichen im Alter zwischen 0 und 18 Jahren liefern. Hierbei werden Kinder und Jugendliche ohne und mit chronischer Erkrankung gesondert betrachtet. Die Studie gliedert sich in eine **Screening-Phase** (6 Wochen, Untersuchung von 6.000 Probanden) und in eine **Follow-up-Phase** (6 Monate, Untersuchung aller in Bezug auf qPCR und/oder Serologie positiv Getesteten).

Das primäre Ziel der Studie ist die Untersuchung der Prävalenz der Infektion mit SARS-CoV-2 (qPCR im Nasen-Rachen-Abstrich) bei ambulant und stationär behandelten Kindern und Jugendlichen in teilnehmenden Hamburger Kinderkliniken. Die Auswertung erfolgt in vier unabhängigen Subgruppen: (i) symptomfreie Kinder und Jugendliche ohne Grunderkrankung; (ii) symptomfreie Kinder und Jugendliche mit Grunderkrankung; (iii) Kinder und Jugendliche mit Symptomen einer Infektion mit SARS-CoV-2 ohne Grunderkrankung; (iv) Kinder und Jugendliche mit Symptomen einer Infektion mit

SARS-CoV-2 mit Grunderkrankung.

Sekundäre Ziele der Studie sind

in der **Screening-Phase** die Erhebung von Informationen zu Symptomen, Kontakten und Grunderkrankungen (Fragebogen) sowie zur Entwicklung von Antikörpern gegen SARS-CoV-2.

In der **Follow-up-Phase** erfolgt eine eingehende klinische, immunologische, biochemische und genetische Charakterisierung aller Kinder und Jugendlichen mit positivem Testergebnis in qPCR und/oder Serologie zu den Zeitpunkten 0, 3 und 6 Monate. Erneut erfolgt die Auswertung in den vier o. g. unabhängigen Subgruppen unter besonderer Beachtung von Gruppen mit spezifischen Grunderkrankungen (onkologische Erkrankungen, Herz-Kreislaufkrankungen, Z. n. Organ- oder Stammzelltransplantation, angeborene oder erworbene Immundefekte, neurodegenerative Erkrankungen, angeborene Stoffwechselerkrankungen). Darüber hinaus werden zur Charakterisierung von Übertragungsketten Kontaktpersonen im selben Haushalt (Erwachsene und Kinder) mittels qPCR und Serologie auf eine frische oder stattgehabte Infektion mit SARS-CoV-2 untersucht.

3. Studienplan

3.1 Ethik

Diese Studie wird in Einklang mit der Deklaration von Helsinki in ihrer Version von Fortaleza, 2013 geplant und durchgeführt.

3.2 Studiendesign

Für die C19.CHILD Hamburg-Studie werden Kinder im Alter von 0 bis 18 Jahren im Raum Hamburg rekrutiert. Es handelt sich um eine multizentrische, prospektive Beobachtungsstudie. Die Studie gliedert sich in zwei Phasen, die C19.CHILD **Screening-Phase** und die C19.CHILD **Follow-up-Phase**. Die Screening-Phase dauert 6 Wochen und liefert die Daten zur primären Fragestellung dieser Studie (Prävalenz der Infektion durch SARS-CoV-2 in der pädiatrischen Population im Raum Hamburg). Außerdem soll die Screening-Phase potentielle Studienteilnehmer für die Follow-up-Phase identifizieren. Die Follow-up-Phase widmet sich den sekundären Fragestellungen (Krankheitsverläufe bei COVID-19, Pathomechanismen, krankheitsspezifische Risikofaktoren bei chronisch kranken Kindern, Interaktion des kindlichen Immunsystems mit SARS-CoV-2, Risikofaktoren im kindlichen Metabolom und Genom, Einfluss von Mutationen des Virus). In die Follow-up-Phase aufgenommen werden sollen alle Studienteilnehmer, die in der Screening-Phase mittels PCR und/oder Serologie positiv auf das SARS-CoV-2 getestet wurden, sowie die im selben Haushalt lebenden Kontaktpersonen zwischen 0 und 18 Jahren. Zusätzlich soll eine gesunde Kontrollgruppe für die Follow-up-Phase gebildet werden.

3.3 Methoden

3.3.1 Fragebögen und Case Report Forms

In der Screening-Phase der C19.CHILD Studie werden Daten im Fragebogen C19.CHILD_Q erhoben.

In der Follow-up-Phase werden klinische Daten und Angaben der Patienten und ihren Eltern mit dem klinischen Datenerfassungsbogen (Case Report Form) C19.CHILD_CRF erfasst. Hierbei handelt es sich um eine modifizierte und ins Deutsche übersetzte Version des von der WHO anerkannten und international validierten ISARIC Frage- und Datenerfassungsbogens (*International Severe Acute Respiratory and emerging Infection Consortium*).

3.3.2 SARS-CoV-2 (COVID-19)-PCR aus Nasen-Rachen-Abstrich

Der Nasen-Rachen-Abstrich erfolgt studienbedingt. Die PCR-Untersuchung in der Screening-Phase erfolgt im Forschungslabor der Kinderklinik auf einer eigenen PCR-Plattform, die für diese Studie etabliert wurde. Die verwendeten Reagenzien sind für Forschungszwecke bestimmt. Es werden ausschließlich Geräte im Forschungslabor verwendet. Die Untersuchungen im Rahmen der Screening-

Phase gehen daher nicht zu Lasten der Routinediagnostik.

Der Bestätigungstest bei Erhebung eines positiven Befundes im Forschungslabor sowie alle weiteren SARS-CoV-2 qPCR Untersuchungen (Untersuchung von Kontaktpersonen im selben Haushalt) werden im Rahmen der Routinediagnostik vom Institut für Mikrobiologie durchgeführt.

3.3.3 SARS-CoV-2 (COVID-19)-Antikörperbestimmung

Die serologische Testung ist studienbedingt. Sie wird im Rahmen einer wissenschaftlichen Kooperation im Institut für Mikrobiologie durchgeführt.

3.3.4 Immunphänotypisierung

Diese Analysen fordern eine studienbedingte Blutentnahme. Aus dem Blut wird die Zellenfraktion (PBMC, *peripheral blood mononuclear cells*) und Plasma im Forschungslabor des University Children's Research mittels etablierter Methoden getrennt und asserviert. Die asservierten Proben werden für FACS Analysen diverser Zellpopulationen der angeborenen und adaptiven Immunität verwendet. Im Plasma werden für die Immunantwort wichtige Zytokine bestimmt und die neutrophiläre außerzelluläre Fallen (*neutrophil extracellular traps*, *NETosis*) vermessen. Für diese Untersuchungen werden ausschließlich Reagenzien und Geräte verwendet, die für Forschungszwecke bestimmt sind.

3.3.5 Metabolomics

Für die nicht gezielte Untersuchung diverser Metaboliten (*untargeted metabolomics*) werden im Rahmen der Studie folgende Proben an die Anschrift der Firma Bruker BioSpin MRI GmbH verschickt: 5 ml Urin, Stuhlproben sowie 0,5 ml Serum

3.3.6 HLA-Typisierung

Die HLA-Typisierung erfolgt in einem zertifizierten HLA-Labor.

3.3.7 Genomics

Diese Untersuchungen erfolgen in repräsentativ ausgewählten Fällen: wenig symptomatische Fälle sowie schwere Verläufe von COVID-19. In Kooperation mit dem Institut für Humangenetik am UKE sollen genetische Variationen untersucht werden, bis hin zur Gesamtgenom-Sequenzierung, um genetische Risikoprofile zu erstellen. Dabei sollen sowohl protektive Varianten als auch genetische Risikokonstellationen in Bezug auf COVID-19 erkannt werden. Für diese Untersuchungen wird basierend auf dem unabhängigen Votum der Ethikkommission der Ärztekammer Hamburg (**PV7038** „Identifizierung neuer Krankheitsgene und krankheitsassoziierter genetischer Varianten mittels genomweiter Analysen“ Version 3 – September 2019, Institut für Humangenetik, UKE) separat aufgeklärt.

3.3.8 Sequenzierung des Virusgenoms

Die Sequenzierung des Virusgenoms wird in repräsentativen Fällen über die Kooperation mit dem Institut für Mikrobiologie, Zentrum für Diagnostik (Dr. med. Marc Lütgehetmann, Prof. Dr. Med. Martin Aepfelbacher) erfolgen.

3.3.9 Einsicht in die Krankenakte

Bei entsprechender Einwilligung der Probanden und deren Sorgeberechtigten sollen medizinische Daten und Befunde, die im Rahmen der klinischen Routineversorgung erhoben werden für die Auswertung der C19.CHILD Studie in pseudonymisierter Form zur Verfügung gestellt werden.

3.3.10 Asservierung von Restmaterial aus der klinischen Routine

Bei entsprechender Einwilligung der Studienteilnehmer und deren Sorgeberechtigten sollen biologische Proben, die im Rahmen der klinischen Routine genommen werden, und von denen nach der Diagnostik Restmaterial verbleibt (z.B. Stuhl, Urin, Blut, BAL, Liquor, Gewebeproben und Lymphknoten nach

Operationen, usw.) für diese Studie in pseudonymisierter Form asserviert und für immunologische, mikrobiologische und metabolische Analysen zur Verfügung gestellt werden.

3.4 Statistik

Die biometrische Planung dieser Studie erfolgte durch Prof. Dr. Antonia Zapf (Institut für Medizinische Biometrie und Epidemiologie, Universitätsklinikum Hamburg-Eppendorf, Martinistr. 52, 20246 Hamburg, a.zapf@uke.de).

3.4.1 Begründung der Fallzahl

Da die Studienergebnisse von Relevanz für die öffentliche Gesundheit sind, wird eine schnelle Durchführung angestrebt. Deshalb ist eine Rekrutierungszeit von sechs Wochen geplant. Laut Abfrage bei den beteiligten Studienzentren ist eine Rekrutierung von 6.470 Teilnehmern in diesem Zeitraum realistisch. Eine Verlängerung des Rekrutierungszeitraums auf 10 Wochen und dadurch eine Erhöhung der Fallzahl auf 10.000 Teilnehmer wäre möglich.

Da weder bezüglich der Anteile der vier Subgruppen noch bezüglich der Prävalenzen in den Subgruppen Vorwissen existiert, soll nach 3.000 Teilnehmern eine entblindete Zwischenanalyse durchgeführt werden. Das Ziel der Zwischenanalyse ist, basierend auf den Anteilen der Subgruppen und den zugehörigen Prävalenzen, über die weitere Rekrutierung zu entscheiden. So kann es sinnvoll sein, die Rekrutierung nur in manchen Subgruppen fortzuführen. Die maximale Gesamtzahl an Studienteilnehmern beträgt 10.000.

Unter der konservativsten Annahme einer Prävalenz von 50%, werden 381 Studienteilnehmer benötigt um ein zweiseitiges 95% Wilson-Score-Intervall mit einer Breite von 10% zu erhalten (ca. von 45% bis 55%). Für eine Breite von 5% zweiseitig (ca. von 47.5% bis 52.5%) werden 1533 Studienteilnehmer benötigt. Je niedriger die Prävalenzen sind, desto niedriger ist die benötigte Fallzahl.

Da die geplante Studie explorativ ist wird der Fehler 1 Art nicht für die entstehende Multiplizität korrigiert.

3.4.2 Vorgesehene statistische Analyse-Methoden, einschließlich der Zeitpunkte für ggf. geplante Zwischenauswertungen.

Zwischenanalyse

Eine entblindete Zwischenauswertung findet statt, nachdem die Screeningergebnisse von 3.000 Studienteilnehmern vorliegen. Eine Veröffentlichung der Ergebnisse ist bei großer Relevanz für die Gesellschaft möglich.

Primäre Analyse

Für die primäre Analyse werden die Prävalenzen in den vier Subgruppen, jeweils mit dem zweiseitigen 95% Wilson Score-Intervall geschätzt.

Sekundäre Analysen

Die sekundären Endpunkte werden explorativ mit Hilfe deskriptiver Kenngrößen (abhängig von der Verteilung: Mittelwert und Standardabweichung, Median und Interquartilsabstand oder absolute und relative Häufigkeiten) durchgeführt. Weiterhin können Regressionsanalysen durchgeführt werden, um potentielle Krankheitsspezifische Risikofaktoren zu identifizieren. Im Rahmen der sekundären Analysen werden die Patientengruppen mit den verschiedenen Grunderkrankungen (angeborene und erworbene Immundefekte, Herz/Kreislaufkrankung, onkologische Erkrankung, Lungenerkrankung, Z. n. Transplantation u. a.) separat analysiert.

Für die Studienteilnehmer aus der PRINCE-Kohorte werden die im Rahmen der PRINCE-Studie erhobenen Daten mit in die Analysen für die C19.CHILD-Studie aufgenommen.

3.5 Primäre / Sekundäre Endpunkte

3.5.1 Primärer Endpunkt

Prävalenz der Infektion mit SARS-CoV-2 (Nasen-Rachen-Abstrich, qPCR); Auswertung in vier unabhängigen Subgruppen: symptomfreie Kinder und Jugendliche mit und ohne Grunderkrankung und Kinder und Jugendliche mit Symptomen einer Infektion mit SARS-CoV-2 und mit oder ohne zusätzliche Grunderkrankung.

3.5.2 Sekundäre Endpunkte

Screening-Phase

- Informationen zu Symptomen, Kontakten und Grunderkrankungen (Fragebogen)
- Seroprävalenz der Infektion mit SARS-CoV-2 (Nachweis von SARS-CoV-2 Antikörper im Serum)

Follow-up-Phase

- Klinische Symptome (Anamnese und körperliche Untersuchung)
- Bildgebung bei klinischer Indikation (Sonographie, Röntgen/CT-Thorax)
- T-, B- und NK-Zellpopulationen und myeloide Zellen im Blut (Durchflusszytometrie)
- Neutrophiläre außerzelluläre Fallen (*neutrophil extracellular traps*, NETosis)
- Zytokine im Plasma
- HLA-Typisierung
- qPCR für SARS-CoV-2 im Verlauf (Nasen-Rachenabstrich)
- SARS-CoV-2 Serologie im Verlauf
- Mikrobiomanalyse (Stuhl)
- Biochemischer Phänotyp in Urin, Stuhl, Blut (Metabolomics, NMR-Spektroskopie)
- Genotyp (*whole genome sequencing*) in ausgewählten Fällen
- Sequenzierung des Virusgenoms in ausgewählten Fällen
- Nasen-Rachen-Abstrich für qPCR sowie Serologie bei allen im Haushalt lebenden Personen

3.6 Ein- und Ausschlusskriterien der Studie

3.6.1 Einschlusskriterien

- Kinder und Jugendliche im Alter 0-18 Jahre
- Behandlung in einem der teilnehmenden Krankenhäuser oder Erstvorstellung aus Eigeninitiative in der C19.CHILD-Studienambulanz
- Elterliche und kindliche Einwilligung in die Studie

3.6.2 Ausschlusskriterien

- Frühgeborene < 37 SSW
- Fehlende sprachliche oder sonstige Verständigungsmöglichkeit mit den Sorgeberechtigten
- Fehlende Einwilligung in die Studie

3.7 Rekrutierung der Probanden

1.) Ambulante und stationäre Patienten im Alter zwischen 0 und 18 Jahren aller Hamburger Kinderkliniken werden direkt durch den behandelnden Arzt oder die behandelnde Ärztin rekrutiert.

2.) Gesunde Kinder zwischen 0 und 18 Jahren, die für die Studie rekrutiert werden, beispielsweise Geschwisterkinder von chronisch Kranken pädiatrischen Patienten oder begleitende Kinder im ambulanten und stationären Bereich der teilnehmenden Kinderkliniken.

3.) Teilnehmer der *PRINCE*-Studie werden von der jeweiligen Studienkoordination kontaktiert und über die Möglichkeit der Studienteilnahme in der C19.CHILD-Studie informiert.

4.) Kinder, die im selben Haushalt lebende Kontaktpersonen von SARS-CoV-2 positiven Studienteilnehmern sind, werden direkt in die Follow-up-Phase eingeschlossen, die Screening-Phase entfällt in diesem Fall.

Gesunde Kontrollgruppe

Für die Datenauswertung der immunologischen und metabolischen Untersuchungen der Follow-up-Phase ist die Bildung einer alters- und geschlechtsangepassten, gesunden Kontrollgruppe notwendig. Diese Gruppe wird aus Studienteilnehmern der Gruppen 2 und 3 gebildet. Die Rekrutierung erfolgt unter Steuerung der Studienleitung und unter Berücksichtigung der Geschlechts- und Altersverteilung identifizierter Studienteilnehmer mit einer SARS-CoV-2 Infektion.

3.8 Studienablauf

3.8.1 Ablauf der C19.CHILD Screening-Phase

Ambulante und stationäre Patienten der teilnehmenden Hamburger Kinderkliniken werden von den behandelnden Ärzten für die C19.CHILD Studie rekrutiert. Die Abnahme des tiefen Nasen-Rachen-Abstriches für die qPCR und der Blutprobe für die Antikörperbestimmung (0,5-2 ml Serum) für SARS-CoV-2 erfolgt im behandelnden Krankenhaus. Die Nicht-Einwilligung in die Blutentnahme schließt die Teilnahme an der Studie nicht aus. Die Probanden und Eltern füllen den Fragebogen C19.CHILD_Q aus. Der Fragebogen, sowie Abstrich- und Blutprobe werden pseudonymisiert und in gesicherten Paketen unter Einhaltung aller relevanten Gesetze und Leitlinien für die biologische Sicherheit an das University Children's Research (UCR) am Universitätsklinikum Eppendorf verschickt. Das UCR führt die PCR-Untersuchung aus dem Nasen-Rachen-Abstrich durch, die Untersuchung auf SARS-CoV-2-Antikörper erfolgt im Institut für Mikrobiologie am UKE. Für Probanden mit negativer PCR und Serologie für SARS-CoV-2 ist die Studie beendet.

3.8.2 Ablauf der Follow-up-Phase

In die Follow-up-Phase werden Probanden mit positivem PCR- oder IgG-Nachweis auf SARS-CoV-2, sowie die im selben Haushalt lebenden Kontaktpersonen zwischen 0 und 18 Jahren aufgenommen. Sollte das Forschungslabor des UCR im Rahmen der Screening-Phase einen positiven Befund für die SARS-CoV-2-qPCR erheben, oder die Serologie für SARS-CoV-2 positiv auffallen, erfolgt eine Entblindung der Probe durch die Studienleiterin oder ihren Vertreter. Es erfolgt eine unmittelbare Kontaktaufnahme zur Familie und es wird eine kurzfristige Vorstellung des Studienteilnehmers sowie aller im selben Haushalt lebenden Kontaktpersonen in der C19.CHILD-Studienambulanz vereinbart. Die Vorstellung in der Studienambulanz erfolgt zu einem definierten Zeitpunkt unter maximalen Sicherheitsvorkehrungen in einem von außen zugänglichen abgeschlossenen Raum in der Notaufnahme der Kinderklinik, das Personal trägt vollständige Schutzkleidung nach Empfehlungen des Robert-Koch-Instituts (www.rki.de). Hier werden ein Nasen-Rachen-Abstrich für eine erneute SARS-CoV-2 qPCR, sowie eine Blutprobe für die SARS-CoV-2 Serologie beim Studienteilnehmer entnommen. Beide Proben werden als Routinediagnostik im Institut für Mikrobiologie analysiert. Im Falle der Bestätigung eines positiven Befundes in der SARS-CoV-2-qPCR erfolgt die fristgerechte Meldung durch das Institut für Mikrobiologie an das zuständige Gesundheitsamt. Die Kommunikation des positiven Befundes an die Familie des positiv getesteten Kindes erfolgt ebenfalls durch die Mitarbeiter des Instituts für Mikrobiologie oder durch Mitarbeiter der Krankenhaushygiene. Beim Studienteilnehmer werden nach separater Aufklärung auch sämtliche Untersuchungen der Follow-up-Phase durchgeführt, um zweizeitige Blutentnahmen zu vermeiden. Darüber hinaus werden alle im selben Haushalt lebenden Personen untersucht. Die erwachsenen Personen erhalten einen Nasen-Rachen-Abstrich für die SARS-CoV-2-qPCR sowie eine Blutentnahme für die Serologie. Da die im gleichen Haushalt lebenden Kinder mit an Sicherheit grenzender Wahrscheinlichkeit infiziert sind, werden sie in die Follow-up-Phase aufgenommen und durchlaufen sie in gleicher Weise wie der primär positiv getestete Studienteilnehmer. Die qPCR und die Serologie der im gleichen Haushalt lebenden Kontaktpersonen werden im Institut für Mikrobiologie untersucht. Bei Erhebung eines positiven qPCR-Befundes ist das Vorgehen wie oben für den primären Studienteilnehmer beschrieben. Über die qPCR und Serologie hinaus werden folgende Daten von erwachsenen im gleichen Haushalt lebenden Kontaktpersonen in pseudonymisierter Form in die Auswertung der Studie aufgenommen: Geschlecht, Alter, Verwandtschaftsgrad zum Studienpatienten. Im Rahmen dieser Vorstellung erfolgt bereits die erste Visite der Follow-up-Phase für die kindlichen Studienteilnehmer. Die anamnestischen Angaben für die Patienten, sowie klinische Verlaufparameter werden im klinischen Datenerhebungsbogen C19.CHILD_CRF erfasst, es erfolgt eine eingehende klinische Untersuchung durch einen Kinderarzt. Es werden die Stuhl- und Urinproben abgegeben und es erfolgt die studienbedingte Blutentnahme (5-20 ml je nach Alter). Aus diesen Proben erfolgen die

studienbedingten immunologischen, mikrobiologischen und metabolischen Untersuchungen wie beschrieben unter 3.3. Die Studienteilnehmer werden je nach klinischer Indikation stationär am Kinder-UKE aufgenommen, oder wieder nach Hause entlassen.

Bei den Kontrollvisiten 3 und 6 Monate nach Studienbeginn werden die klinischen Verlaufsparemeter im C19.CHILD_CRF erfasst, eine körperliche Untersuchung durchgeführt und die SARS-CoV-2 Antikörper aus 0,5-2 ml Serum bestimmt. Nach 6 Monaten ist die Studie beendet, jedoch könnten chronisch kranke Patienten, die am Kinder-UKE in Dauerbetreuung sind, weiter verfolgt werden.

3.8.3 Gesunde Kontrollgruppe

Für Studienteilnehmer dieser Gruppe ist eine einzige Vorstellung in der Studienambulanz vorgesehen. Bei dieser Vorstellung werden die Fragebögen C19.CHILD_Q und C19.CHILD_CRF ausgefüllt und alle studienbedingten Untersuchungen durchgeführt. Es erfolgen folgende Probenentnahmen: studienbedingte Blutentnahmen, Urin und Stuhlproben für immunologische und metabolische Untersuchungen, HLA-Typisierung, Serologie für SARS-CoV-2.

3.9 Potentielle Risiken und Vorteile für die Studienteilnehmer

3.9.1 Potentielle Risiken

Es besteht das geringe Risiko, das mit der Blutentnahme und dem Nasen-Rachenabstrich einhergeht. Die Blutentnahmen werden ausschließlich von kinderärztlichem Personal durchgeführt. Der Nasen-Rachenabstrich wird von kinderärztlichem Personal oder Kinderkrankenpflege-Personal unter ärztlicher Verantwortung durchgeführt.

Für gesunde Probanden, die in der C19.CHILD Studienambulanz vorstellig werden besteht eine Ansteckungsgefahr. Diese wird jedoch durch die strenge Einhaltung der Kriterien des Robert-Koch-Instituts auf ein Minimum reduziert. Für die C19.CHILD-Studie wird eine eigene Studienambulanz eröffnet, die Abläufe und Schutzmaßnahmen für die biologische Sicherheit in dieser Ambulanz erfolgen nach den Kriterien des Robert-Koch-Instituts (Isolation, Vollschutzkleidung des Personals).

3.9.2 Potentielle Vorteile

Asymptomatische Studienteilnehmer sowie symptomatische Studienteilnehmer ohne Risikofaktoren für COVID-19 haben aktuell keine Möglichkeit, einen Routinetest auf Vorliegen der Infektion zu erhalten. Den Teilnehmern der C19.CHILD-Studie wird die Möglichkeit zum Screening auf eine Infektion mit SARS-CoV-2, sowie auf das Vorliegen von Antikörpern gegen das Virus angeboten, die sie auf anderem Wege nicht bekommen würden. Zudem wird im Falle eines positiven Befundes eine umfangreiche medizinische Untersuchung und Nachbetreuung angeboten, sowie die Untersuchung aller im selben Haushalt lebenden Kontaktpersonen auf SARS-CoV-2 mittels qPCR und Serologie. In der Literatur sind zahlreiche Fälle mit COVID-19 beschrieben, die nach einer initialen asymptomatischen Phase eine sekundäre Verschlechterung bis hin zur Entwicklung schwerwiegender Symptome gezeigt haben. Kinder mit einer SARS-CoV-2 Infektion, die in der Screening-Phase der C19.CHILD-Studie erkannt werden, werden schneller medizinisch versorgt und damit wird das Risiko auf einen schweren Krankheitsverlauf mit hoher Wahrscheinlichkeit reduziert.

3.9.3 Aufwandsentschädigung und Versicherung

Eine Aufwandsentschädigung entfällt. Eine Wege-Unfallversicherung wird für die Probanden und jeweils zwei Begleitpersonen in der Follow-up-Phase abgeschlossen.

3.10 Stichprobenumfang

Es sollen 6.000 Probanden in die Screening-Phase aufgenommen werden. Nach einer Zwischenanalyse kann die Probandenzahl auf bis zu 10.000 gesteigert werden.

3.11 Studiendauer

9 Monate insgesamt für die Screening-Phase und die Follow-up-Phase.

3.12 Dokumentation und Vertraulichkeit

Die Dokumentation der in der Studie erhobenen Daten erfolgt entweder über ein Web-Formular (eCRF) oder in Papierform. Bei der Meldung über den eCRF hat die jeweilige teilnehmende Klinik einen Zugang zu einem von CTC North bereitgestellten eCRF. Dort werden die Daten der Studienteilnehmer und, sofern erforderlich, dessen Sorgeberechtigten durch den jeweiligen Prüfarzt eingegeben. Dies erfolgt über zwei Eingabemasken. In der ersten Eingabe-Maske wird für den Studienteilnehmer ein Pseudonym vergeben. Dies setzt sich aus einer fortlaufenden Teilnehmerzahl (beginnend mit 1) und der statischen Instituts-Kennzahl zusammen. Dieses Pseudonym wird fortan bei der weiteren Betreuung des Teilnehmenden (z.B. Beschriftung der Proben) verwendet. In der zweiten Eingabemaske werden die Klardaten des Teilnehmenden sowie dessen Kontaktdaten erfasst. Diese werden mit einem zweiten Pseudonym versehen, das automatisiert generiert wird. Nach dem Absenden in das eCRFs sind die Daten für die Mitarbeitende selbst nicht mehr abrufbar.

Medizinische Daten und Befunde, die im Rahmen der klinischen Routineversorgung erhoben werden, werden für die Auswertung dieser Studie in pseudonymisierter Form zur Verfügung gestellt und in die Studiendatenbank pseudonymisiert eingetragen.

Qualitätskontroll- (QC) und Datenvalidierungsverfahren wie z.B. programmierte automatische Bearbeitungs- und Konsistenzkontrollen gewährleisten die Genauigkeit der Daten unmittelbar bei der Eingabe in den eCRF. Der eCRF, der zur Erfassung der Daten verwendet wird, ist vollständig CFR part 11-konform. Daher ist sie zugriffsbeschränkt, erfordert elektronische Signaturen, unterhält einen elektronischen Audit-Trial und bietet entsprechende Backup-Funktionalitäten.

Nach Datenbankschluss werden die Daten aus der Studiendatenbank exportiert und zur statistischen Analyse elektronisch an den zuständigen Biometriker übermittelt.

3.13 Auswertung und Veröffentlichung

Die Ergebnisse dieser Studie sollen in einer Peer-Review-Zeitschrift veröffentlicht werden.

Prof. Dr. Ania C. Muntau
Ärztliche Direktorin
der Klinik für
Kinder- und Jugendmedizin

Prof. Dr. Søren W. Gersting
Leiter Forschungszentrum
der Klinik für
Kinder- und Jugendmedizin

Prof. Dr. Thomas S. Mir
Stellv. Klinikdirektor
der Klinik für
Kinderkardiologie

4. Abkürzungsverzeichnis

ACE	Angiotensin Converting Enzyme
ARDS	Acute Respiratory Distress Syndrome
BAL	Bronchoalveoläre Lavage
C19.CHILD	Covid-19 Child Health Investigation of Latent Disease
COVID-19	Corona Virus Disease 2019
CTC	Clinical Trial Center
DGPI	Deutsche Gesellschaft für Pädiatrische Infektiologie
Dr	Doktor
Dr med	Doktor der Medizin
ELISA	Enzyme-Linked Immunosorbent Assay
FACS	Fluorescence-Activated Cell Sorting
HLA	Human Leukocyte Antigen
Ig	Immunglobulin
ISARIC	International Severe Acute Respiratory and Emerging Infection Consortium
MCAD	Medium-Chain-Acyl-CoA-Dehydrogenase
NET	Neutrophil Extracellular Traps, Neutrophiläre außerzelluläre Fallen
NMR	Nuclear Magnetic Resonance
PBMC	Peripheral Blood Mononuclear Cells
PRINCE	Prenatal Identification of Children's Health
Prof	Professor
RT-PCR	Real Time Polymerase Chain Reaction
SARS-CoV-2	Severe Acute Respiratory Syndrome CoronaVirus 2
SOP	Standard Operating Procedure
SSW	Schwangerschaftswoche
u. a.	und andere
UCR	University Children's Research
UHZ	Universitäres Herz- und Gefäßzentrum
UKE	Universitätsklinikum Hamburg – Eppendorf
usw.	und so weiter
WHO	World Health Organization
z. B.	zum Beispiel
Z. n.	Zustand nach

5. Literaturverzeichnis

Bai, Y., Yao, L., Wei, T., Tian, F., Jin, D.-Y., Chen, L., and Wang, M. (2020). Presumed Asymptomatic Carrier Transmission of COVID-19. *JAMA*.

D'Antiga, L. (2020). Coronaviruses and immunosuppressed patients. The facts during the third epidemic. *Liver Transpl.*

Dong, Y., Mo, X., Hu, Y., Qi, X., Jiang, F., Jiang, Z., and Tong, S. (2020). Epidemiological Characteristics of 2143 Pediatric Patients With 2019 Coronavirus Disease in China. *Pediatrics* e20200702.

Du, Z., Nugent, C., Cowling, B.J., and Meyers, L.A. (2020). Hundreds of severe pediatric COVID-19 infections in Wuhan prior to the lockdown. *MedRxiv* 2020.03.16.20037176.

Lee, P.I., Hu, Y.L., Chen, P.Y., Huang, Y.C., and Hsueh, P.R. (2020). Are children less susceptible to COVID-19? *J. Microbiol. Immunol. Infect.*

Lipsitch, M., Swerdlow, D.L., and Finelli, L. (2020). Defining the Epidemiology of Covid-19 - Studies Needed. *N. Engl. J. Med.*

Lu, X., Zhang, L., Du, H., Zhang, J., Li, Y.Y., Qu, J., Zhang, W., Wang, Y., Bao, S., Li, Y., et al. (2020). SARS-CoV-2 Infection in Children. *N. Engl. J. Med.*

Qiu, H., Wu, J., Hong, L., Luo, Y., Song, Q., and Chen, D. (2020). Clinical and epidemiological features of 36 children with coronavirus disease 2019 (COVID-19) in Zhejiang, China: an observational cohort study. *Lancet Infect. Dis.*

Robert-Koch-Institut (2020). Täglicher Lagebericht des RKI zur Coronavirus-Krankheit-2019 (COVID-19).

Shen, K., Yang, Y., Wang, T., Zhao, D., Jiang, Y., Jin, R., Zheng, Y., Xu, B., Xie, Z., Lin, L., et al. (2020). Diagnosis, treatment, and prevention of 2019 novel coronavirus infection in children: experts' consensus statement. *World J. Pediatr.*

Tan, W., and Aboulhosn, J. (2020). The cardiovascular burden of coronavirus disease 2019 (COVID-19) with a focus on congenital heart disease. *Int. J. Cardiol.*

Tong, Z.-D., Tang, A., Li, K.-F., Li, P., Wang, H.-L., Yi, J.-P., Zhang, Y.-L., and Yan, J.-B. (2020). Potential Presymptomatic Transmission of SARS-CoV-2, Zhejiang Province, China, 2020. *Emerg. Infect. Dis. J.* 26.

Wei, M., Yuan, J., Liu, Y., Fu, T., Yu, X., and Zhang, Z.-J. (2020). Novel Coronavirus Infection in Hospitalized Infants Under 1 Year of Age in China. *JAMA* 323, 1313–1314.

Xu, Y., Li, X., Zhu, B., Liang, H., Fang, C., Gong, Y., Guo, Q., Sun, X., Zhao, D., Shen, J., et al. (2020). Characteristics of pediatric SARS-CoV-2 infection and potential evidence for persistent fecal viral shedding. *Nat. Med.*

Zhou, F., Yu, T., Du, R., Fan, G., Liu, Y., Liu, Z., Xiang, J., Wang, Y., Song, B., Gu, X., et al. (2020). Clinical course and risk factors for mortality of adult inpatients with COVID-19 in Wuhan, China: a retrospective cohort study. *Lancet*.