Corona-Testverfahren – einfach erklärt

Fast alles über RT-PCR-Testverfahren, Antikörpertests und die sogenannten Schnelltests

Quellen: Clinical and Translational Medicine, Mai 2020; Infection Ecology & Epidemiology, 14.04.2020; Public Health, 18.04.2020; International Journal of Molecular Sciences, 08.04.2020; Journal of Clinical Virology, April 2020; NZZ, 16.05., 17.05., 30.06. 2020; aerzteblatt.de 117/24/12./Juni 2020

Bei der Bekämpfung der Corona-Pandemie spielen Tests eine grosse Rolle. Die Hoffnung besteht, dass sich mit jederzeit verfügbaren Tests das Auftreten neuer Corona-Fälle rasch identifizieren und dann mit entsprechenden Massnahmen auch eindämmen lässt. **Allerdings ist grundsätzlich kein Testverfahren perfekt.** Es gibt bei allen Testverfahren immer sowohl **falsch positive** als auch **falsch negative** Testergebnisse. Für die Einschätzung der Zuverlässigkeit eines Tests sind die beiden Parameter **Sensitivität** und **Spezifität** von entscheidender Bedeutung.

«Die Sensitivität ist der Prozentsatz, mit dem eine erkrankte Person als positiv getestet wird. Ein Test mit einer Sensitivität von 98% identifiziert 98 von 100 Infektionen und 2 nicht. Die Kehrseite eines hoch sensitiven Tests: Er kann viele falsch-positive Befunde liefern, wenn er nicht spezifisch genug ist. Die Spezifität ist der Prozentsatz, zu dem nicht infizierte Personen als gesund erkannt werden. Ein Test mit einer Spezifität von 95% liefert bei 5 von 100 Gesunden ein falsch-positives Ergebnis.»
(aerzteblat.de, 117/24/2020, A 1194)

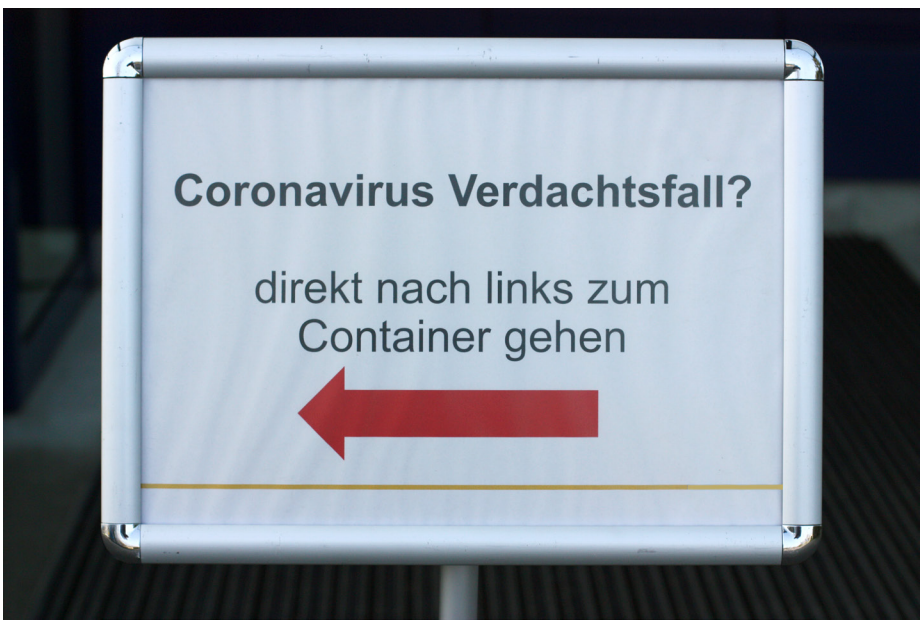

Bild: © Alexius-Kommunikation

Das bedeutet für die Praxis beispielsweise, wenn ein Test eine hohe Spezifität aber eine geringere Sensitivität hat, dass man bei einem positiven Testresultat relativ sicher von einer Virusinfektion ausgehen kann, bei einem negativen Testresultat und vorhandenen Symptomen hingegen einen erneuten Test durchführen sollte. **Zur korrekten Interpretation von Testergebnissen siehe den vollständigen Ärzteblatt-Artikel in der Infobox.**

Sie wollen überprüfen, ob Sie positive und negative Testergebnisse richtig zuordnen können? Bitte Sehr: die Universität Hamburg lädt Sie ein, vier Aussagen dazu zu ergänzen, die richtigen Antworten können Sie sich anschliessend anzeigen lassen.

Link zur Wissensplattform Gesundheit der Universität Hamburg: https://www.gesundheit.uni-hamburg.de/projekte/ebm-at-school/medizinische-testergebnisse/falsch-positiv-richtig-positiv.html

Weltweit wird sehr unterschiedlich getestet. Dies kann mit unterschiedlich gut ausgestatteten Gesundheitssystemen, mit Fragen der Finanzierung und Kostenerstattung, mit der Verfügbarkeit von Tests, unterschiedlichen Laborkapazitäten, politischen Entscheidungen und lokalen Bedrohungslagen zusammenhängen. **Wissenschaftlich streng**

abgestützte Testregime gibt es in der Praxis nicht. So kommt es aufgrund aktueller Entwicklungen und entsprechender Berichterstattung wechselnd immer wieder zu gähnender Leere oder zu Anstürmen auf Teststationen. Die Corona-Tracing-Apps werden diese Wellen grösser werden lassen, denn viele Personen, die eine Kontaktwarnung erhalten, reagieren hektisch, wollen sofort einen Corona-Test, anstatt sich, wie vorgesehen, zuerst an eine Hotline zu wenden, um sich beraten zu lassen. Eine Ansteckung ist erst Tage nach einer Infektion nachweisbar. Viele Leute hoffen, mit einem negativen Testergebnis um eine verordnete Quarantäne herumzukommen. Das ist natürlich eine Illusion.

Generell gibt es bei der Corona-Diagnostik drei unterschiedliche Testverfahren: das RT-PCR-Testverfahren, Antikörpertests für den Nachweis der Immunantwort des Körpers sowie die sogenannten Schnelltests. Inzwischen gibt es mehr als 150 verschiedene Test-Produkte auf dem Markt, darunter sowohl Produkte für den Nachweis des Erregers als auch für den Nachweis einer durchgemachten Infektion.

Bild: © Alexius-Kommunikation

RT-PCR-Testverfahren

Der RT-PCR-Test ist das gängige Testverfahren, wenn von den Nasen-Rachen-Abstrichen die Rede ist. Der RT-PCR-Test ist ein molekularer Test. Das Kürzel RT-PCR (engl.) steht für **Reverse Transcriptase Polymerase Chain Reaction**, zu deutsch, **Reverse Transkriptase Polymerase Kettenreaktion**. In den Testlaboren werden die eingesendeten Nasen-Rachen-Abstriche in einem aufwendigen, mehrstufigen Verfahren analysiert: Die durch einen Abstrich gewonnene Sekretprobe wird gelöst, um sie vom Probenstäbchen zu isolieren. Untersucht wird ein bestimmter Abschnitt der Viren-RNA. Um an die RNA zu gelangen, muss eine Lipid-Schicht mithilfe von Enzymen (Proteinasen) entfernt werden. Durch mehrfaches Lysieren, Zentrifugieren und Auswaschen wird die Vieren-RNA isoliert. Anschliessend kommt es zum eigentlichen PCR-Test, indem die isolierte Viren-RNA mit einem sogenannten Master-Mix (hochspezifische Mischung aus verschiedenen Reagenzien, um die erstrangige RNA zu verdoppeln) gemischt wird. Die Analyse erfolgt vollautomatisch in speziellen Analysegeräten (Thermocycler). Die Analyse im Gerät dauert etwa zwei Stunden. Es kommt zu einer milliardenfachen Vermehrung der Viren-RNA, dadurch lässt sich der Erreger nachweisen. Das Gerät misst die Vermehrungsrate und gibt diese als Kurvenverlauf aus. Anhand dieser Vermehrungs-Verlaufs-Kurven lässt sich beurteilen, ob ein Patient mit SARS-CoV-2 infiziert ist. Häufig kommt ein Zweifach-Test zum Einsatz, bei dem direkt zwei verschiedene Viren-RNA-Abschnitte parallel vermehrt und analysiert werden, um die Test-Sensitivität zu erhöhen. **Hersteller von RT-PCR-Tests für SARS-CoV-2 müssen an regelmässigen Ringversuchen teilnehmen, um in Bezug auf Sensitivität und Spezifität ihrer Tests bestimmte Mindestanforderungen zu erfüllen.**

Kleiner Exkurs: Voraussetzungen für die Durchführung von PCR-Tests

Man braucht für einen PCR-Test eine spezifische Nukleotid-Sequenz, die milliardenfach multipliziert werden soll. Das Herausfinden der benötigten Nukleotid-Sequenz erfolgt durch Software-Programme (z.B. GolayMetaMiner). Damit eine Nukleotid-Sequenz für PCR verwendet werden kann, muss sie eine Mindestlänge von 0,5 nm haben. Für SARS-CoV-2 gibt es drei verschiedene Sequenzen, die sich für PCR-Tests verwenden lassen. Ein spezifischer Primer leitet die Duplizierung der erstrangigen RNA ein.

Antikörpertests – Nachweis der Immunantwort

Der Körper reagiert bei einer Infektion mit SARS-CoV-2 auf bestimmte Proteine dieses Virus mit einer Immunreaktion. Diese Immunreaktion besteht im Wesentlichen aus einer körpereigenen Herstellung von Proteinen, die das fremde Virus angreifen. Die in der Immunantwort gebildeten Antikörper lagern sich an der Virushülle an. Einerseits wird so das Eindringen des Virus in die Körperzellen verhindert, anderseits werden die mit Antikörpern besetzten Viren von den Fresszellen erkannt und vernichtet. Antikörpertests weisen nach, ob der Körper bei einer Infektion Antikörper hergestellt hat.

Der Nachweis von Antikörpern gegen SARS-CoV-2 kann durch das **ELISA-Verfahren** (Enzyme Linked Immunoassay) gelingen. Die gesuchten Antikörper sind IgM (Immunglobulin M) und IgG (Immunglobulin G). IgM ist ein Antikörper, der sich in der Akutphase frühestens vier bis sechs Tage nach Infizierung mit SARS-CoV-2 nachweisen lässt (Median von 10-13 Tagen). Nach etwa sieben Wochen ist IgM meist nicht mehr nachweisbar. IgG ist ein Antikörper, der etwa 14 Tage nach Symptombeginn auftreten kann. Nach etwa drei Wochen nach Symptombeginn weisen nahezu alle Patienten IgG-Antikörper auf. Die Bildung von Antikörpern variiert von Patient zu Patient, sodass auch der Zeitpunkt der Testung eine grosse Rolle bei der Testgenauigkeit spielen kann. Diese hohe Variabilität der Antikörper hat dazu geführt, dass meistens auf beide Antikörper gleichzeitig getestet wird.

IgM und IgG sind zwar Antikörper, die sich in Reaktion auf SARS-CoV-2 bilden, sie sind jedoch kein eindeutiges Indiz für Immunität. Der Nachweis von SARS-CoV-2-spezifischen Antikörpern schließt die Infektiosität eines Patienten nicht aus.
Neben dem Nachweis einer stattgefundenen Infektion mit SARS-CoV-2 hoffen die Forschenden, auch eine mögliche Immunität nachweisen zu können. **Ein guter Ansatz dafür sind Antikörper, die gegen die Rezeptorbindedomäne (RBD) des Spike-Proteins gerichtet sind.** Diese müssten das Eindringen des Virus in die Zelle verhindern können. Einige Hersteller bieten bereits ELISA-Tests zum Nachweis solcher Antikörper an. Das Erkenntnisinteresse richtet sich auf die Frage, ob Patienten, bei denen dieser Antikörper nach einer SARS-CoV-2-Infektion nachgewiesen wurde, sich bei einer zweiten Infektionswelle nicht mehr anstecken können.

Auch bei der aktuellen Entwicklung von Medikamenten zur Behandlung von SARS-CoV-2 und von geeigneten Impfstoffen liegt der Fokus auf dem **Spike-Protein**. Gelingt es, das Spike-Protein unwirksam zu machen, kann sich das Virus nicht mehr an eine Zelle binden und in sie eindringen. Das wäre ein Durchbruch in der Suche nach einem geeigneten SARS-CoV-2-Impfstoff.

Bild: © Alexius-Kommunikation

Für Antikörpertests wird das Blut von Probanden untersucht. Die Auswertungen von Antikörpertests sind insbesondere für Epidemiologen interessant, um den Verlauf von Infektionen beurteilen zu können und damit bessere Modellierungen zu erzielen. Wenn Probanden im Rahmen von Studien mehrmals über einen längeren Zeitraum getestet werden, lassen sich Erkenntnisse

darüber gewinnen, wie lange die potenziell schützenden Proteine im Blut bleiben. Daher sind diese Antikörpertests nicht so brauchbar bei der Diagnostik einzelner Patienten. «Zu lange dauert es, bis Mediziner überhaupt ein relativ akkurates Testergebnis erwarten können. Und selbst dann wissen sie nicht sicher, ob die Antikörper auf eine aktuelle oder schon länger zurückliegende Infektion zurückgehen. Die Cochrane-Forscher [Forscher des Cochrane-Netzwerkes mit der Analyse von 54 Studien zu 25 kommerziellen sowie von Kliniken selbst entwickelten Antikörpertests] empfehlen Antikörpertests daher allenfalls zur Abklärung uneindeutiger Fälle.» (SZ, 30.06.2020)

Die grosse Verwirrung: Schnelltests

Sogenannte Schnelltests sollen direkt vor Ort innerhalb kürzester Zeit anzeigen, ob Betroffene bereits mit SARS-CoV-2 Kontakt hatten oder aktuell infiziert sind. Die Vorteile der Schnelltests sind, dass sie erstens schneller Testergebnisse liefern, zweitens einfacher in der Handhabung sind, keine Laborleistungen in Anspruch nehmen und in einigen Fällen nur wenige Tropfen Blut benötigen. Verwirrung schafft dabei, **dass mit dem Begriff Schnelltest unterschiedliche Testverfahren gemeint sein können**. Schnelltests gibt es als Schnell-PCR-Test-Kits, als Antigen-Schnelltests und als Antikörper-Schnelltests.

Beim **PCR-Schnelltest** weist man die Virus-RNA nach. Beim **Antigen-Schnelltest** weist man Oberflächeneigenschaften des Virus nach. Ein Nachteil der Antigen-Schnelltests liegt in ihrer geringeren Sensitivität und Spezifität im Vergleich zum PCR-(Schnell-)Test. Während diese PCR-Schnelltests und Antigentests den Erreger nachweisen, zeigen die **Antikörper-Schnelltests**, eine bereits stattgefundene Immunreaktion nach einer Infektion an.

Corona-Testcontainer; Bild: © Alexius-Kommunikation

Beim Antikörper-Schnelltest enthält das Test-Kit Antigene und Enzyme. Um mit einem Test-Kit auf SARS-CoV-2 zu untersuchen, braucht man nur einige Tropfen Blut und etwa 10 bis 15 Minuten Zeit. Diese Test-Kits sind meist Kombinations-Tests, die IgG- und IgM-Antikörper nachweisen können (z.B. Doppelantigen-Sandwich-Immunassay, Handelsname Elecsys® der Firma Roche, Testzeit: 18 Minuten).Auf dem Test-Kit befinden sich spezifische Teile des Virus, die die Aktivierung von IgM respektive IgG starten. Das Enzym auf dem Test-Kit bindet sich an die Antikörper IgM und IgG. Im gebundenen Zustand ist das Enzym wirkungsfähig und löst eine Verfärbung des Teststreifens auf dem Test-Kit aus. Im Ergebnis ist der Teststreifen entweder verfärbt und das Testergebnis positiv, oder der Teststreifen bleibt unverändert und das Testergebnis ist negativ.

Die WHO empfiehlt den Einsatz von Antikörper-Schnelltests nur im Kontext von Forschungsprojekten. Der Virologe Hendrik Streek und sein Team vom Universitätsklinikum Bonn stellten in ihren Studien fest, dass der Blut-Schnelltest zwei Drittel der SARS-CoV-2-Infizierten nicht erkannte.

Das Mantra: Testen, Testen, Testen

Zur Eindämmung der SARS-CoV-2-Pandemie gilt das Testen von Risikogruppen und/oder Verdachtsfällen als ein Königsweg. Dieser Königsweg hat allerdings viele Hürden und Schwachstellen. Tests

kosten Geld und binden Ressourcen, daher sollte ihr Einsatz wissenschaftlich fundiert und in ein Gesamtkonzept eingebunden sein. Grundsätzlich haben alle Testverfahren Fehlerquoten, eine hundertprozentige Sicherheit gibt es nicht. Dazu kommt, dass bei jedem Testverfahren eine Infektion erst mehrere Tage nach Ansteckung sicher diagnostiziert werden kann. In dieser Phase können Menschen bereits ansteckend sein, ohne es zu wissen.

Ein negatives Testergebnis kann also generell zu einem falschen Sicherheitsgefühl führen. Positive Testergebnisse geben Aufschluss über die Pandemie-Verläufe, über die Notwendigkeit sowie die Wirksamkeit von Schutzmassnahmen, insbesondere von Quarantänemassnahmen. Eine grosse Wissenslücke in der Forschung betrifft die Immunität nach Genesung oder nach symptomfreier Infektion.

Bild: © Alexius-Kommunikation

Tests sind ein ganz wesentlicher Baustein zur Eindämmung von SARS-CoV-2. Effektiv sind sie nur in Kombination mit Schutzmassnahmen, mit der Entwicklung von Medikamenten zur Behandlung von Erkrankten und vor allem mit der Entwicklung eines Impfstoffs. Test liefern aber wichtige Daten für die Erforschung von Verbreitungswegen und Krankheitsverläufen. Diese Daten bilden sowohl für die aktuelle Pandemie als auch für zukünftige Seuchen die Grundlage für Modellrechnungen und Massnahmenkataloge.

Link zum YouTube-Video der RWTH Aachen zum PCR-Testverfahren (4:29 min): https://www.youtube.com/watch?v=xcYuyuL6-yw

Link zum NDR mit der Übersicht über alle Folgen des Podcasts vom Virologen Christian Drosten, Leiter der Virologie an der Berliner Charité (mehr als 50 Folgen): https://www.ndr.de/nachrichten/info/podcast4684.html

Link zum YouTube-Video der Tagesschau vom 03.07.2020, Studie zur Ausbreitung des Corona-Virus (1:59 min): https://www.youtube.com/watch?v=dVzXrg5voa8

Link zum YouTube-Video der Bundeszentrale für gesundheitliche Aufklärung (BZgA), Corona Wissen kompakt: Test auf das Coronavirus (1:24 min): https://www.youtube.com/watch?v=VxBYSVm4Zwc

Link zu Kekulés Corona-Kompass auf MDR, Folgenübersicht (in Folge 75: Mit mehr Tests zweite Welle verhindern 45:25 min): https://www.mdr.de/nachrichten/podcast/kekule-corona/index.html

Link zu Roche Diagnostics Elecsys® Allgemeine Infos: https://www.roche.de/diagnostics/tests-parameter/elecsys-anti-sars-cov-2.html?q=Factsheet%20Elecsys%C2%AE#Allgemeine-Informationen-zu-SARS-CoV-2

Link zur «Ischgl-Studie» der Medizinischen Universität Innsbruck: https://www.i-med.ac.at/mypoint/news/746359.html

Infobox: Testergebnisse richtig interpretieren

Quelle: A 1194 Deutsches Ärzteblatt | Jg. 117 | Heft 24 | 12. Juni 2020

PCR-Tests auf SARS-CoV-2 Ergebnisse richtig interpretieren

«Hilfestellung bei der folgen-schweren Frage: Mit welcher Wahrscheinlichkeit ist eine positiv getestete Person tatsächlich positiv und eine negativ getestete tatsächlich negativ? Im Fokus stehen zwei Faktoren.

Probenahme und Genauigkeit

*RT-PCR-Tests weisen virale RNA nach. Für die operative Zuverlässigkeit des Tests selbst sind die **Sensitivität und die Spezifität** wesentliche Parameter. Die **Sensitivität** ist der Prozentsatz, mit dem eine erkrankte Person als positiv getestet wird. Ein Test mit einer Sensitivität von 98 % identifiziert 98 von 100 Infektionen und 2 nicht. Die Kehrseite eines hoch sensitiven Tests: Er kann viele falsch-positive Befunde liefern, wenn er nicht spezifisch genug ist. Die Spezifität ist der Prozentsatz, zu dem nicht infizierte Personen als gesund erkannt werden. Ein Test mit einer Spezifität von 95 % liefert bei 5 von 100 Gesunden ein falsch-positives Ergebnis. Bei Angaben zu Sensitivität und Spezifität der in Deutschland verwendeten PCR-Tests halten sich sowohl das Robert Koch-Institut als auch das nationale Konsiliarlabor am Institut für Virologie der Charité bedeckt. Die oft zitierte, nahezu 100-prozentige Sensitivität unter Laborbedingungen dürfte in der Praxis nie erreicht werden, schon weil beim Testen selbst erhebliche Unsicherheitsfaktoren hinzukommen. So weist beispielsweise jeder Test die Viren nur in einem bestimmten Zeitfenster nach. So enthielten Abstrichproben vom Rachen vermehrungsfähige Viren bis zum 4., aus dem Sputum bis zum 8. Tag nach Symptombeginn. Falsch-negative Ergebnisse könnten auch aufgrund schlechter Probenqualität oder unsachgemäßem Transport nicht ausgeschlossen werden, warnt das Robert Koch-Institut unter seinen Hinweisen zur Testung. Empfohlen wird bei Patienten mit initial negativem PCR-Test, aber begründetem Verdacht auf eine SARS-CoV-2-Infektion eine Wiederholung des Tests. Ein systematischer Review, der 957 negativ getestete Personen durch einen wiederholten Abstrich überprüfte, fand in den 5 Einzelstudien eine Rate initial falsch-negativer Ergebnisse zwischen 2 % und 29 %. Das entspricht einer „effektiven" Sensitivität der Tests zwischen 71 % und 98 %. Bei dieser niedrigen Sensitivität und moderaten Spezifität habe ein positiver PCR-Test auf SARS-CoV-2 mehr Gewicht als ein negatives Resultat, betonen die Autoren im BMJ. Umgekehrt solle man sich bei einem Patienten mit verdächtigen Symptomen niemals auf ein einziges negatives Testergebnis verlassen.*

Die Vortestwahrscheinlichkeit

*Um die wirkliche Erkrankungswahrscheinlichkeit, ausgedrückt als positiver oder negativer Vorhersagewert nach einem Test, zu beurteilen, sollten Ärzte die **Vortestwahrscheinlichkeit** hinzuziehen (das gilt nicht nur für COVID-19). Das geschätzte Risiko für die Erkrankung ergibt sich zum einen durch die klinische Einschätzung der betroffenen Person und ihres Umfeldes: Hatte die Kontakt mit Infizierten, kommt sie aus einem Risikogebiet? Sind ihr Alter, die Symptome und Befunde mit COVID-19 vereinbar? Bestehen Vorerkrankungen, kommen Differenzialdiagnosen infrage? Des Weiteren ist die Prävalenz der Erkrankung in der Population relevant. Im Patientengut eines Allgemeinarztes in der Uckermark wird die Prävalenz von COVID-19 von vornherein niedriger zu schätzen sein als in einem Altersheim mit bereits einigen infizierten Bewohnern. (…)*

Das bedeutet: In einer Population mit niedriger Prävalenz – z. B. 3 %, wie bevölkerungsweit bei CO-VID-19 anzunehmen – und unter der Prämisse einer niedrigen effektiven Test-Sensitivität von 70 % ist der positive Vorhersagewert äußerst schwach. Ein (falsch) positiver Test kann aber eine Quarantäne der Person zur Folge haben. Je höher die Prävalenz und damit die Vortestwahrscheinlichkeit, desto höher ist die Aussagekraft eines positiven Tests einzustufen und desto niedriger ist der negative Vorhersagewert. Ein hoher Anteil infizierter Personen bleibt unentdeckt, wird nicht isoliert und kann andere anstecken – wenn nicht doch ein zweites Mal getestet wird. Fazit: Bei einer hohen anzunehmenden Wahrscheinlichkeit für das Vorliegen einer SARS-CoV-2-Infektion ist ein einzelner negativer Test kein Freibrief. (…)»