

Diagnostische Bedeutung und Aussagekraft der derzeit am Markt befindlichen Analysensysteme für den Erreger SARS-CoV-2 in Bezug auf die Sinnhaftigkeit der Testung asymptomatischer Menschen

Dagmar Häusler, BSc. – Biomedizinische Analytikerin im Jänner 2021

Unter Berücksichtigung geltender Normen und Qualitätsstandards ist die Durchführung von molekularbiologischen Tests wie auch Antigen-Tests auf den Erreger SARS-CoV-2, die in der COVID-19-Notmaßnahmenverordnung § 11. Abs. 4 gefordert wird, nicht zuverlässig, weil die verwendeten Tests nicht für diese Anwendung geeignet sind. Testungen an asymptomatischen Menschen brechen alle gültigen Normen und Regularien der guten Laborpraxis. Laborbefunde dienen dazu, Gesunde von Kranken zu unterscheiden und nicht Gesunde als asymptomatische Kranke darzustellen.

Begründung		1
1.1	Beschreibung der Testverfahren – PCR und Antigen	
1.2	Fehlende Eignung der verwendeten Testverfahren	2
1.3	Befunderhebung ohne Hinzuziehung von Fachpersonal	3
1.4	Missbräuchliche Verwendung ungeeigneter Testsysteme durch die Labore	3
1.5	Fehlende Vergleichbarkeit der Ergebnisse der verwendeten Testmethoden	4
1.6	Fehlender Nachweis für präsymptomatische Ansteckung	5
Referenzen		5

Begründung

1.1 Beschreibung der Testverfahren – PCR und Antigen

Der direkte Erregernachweis kann mittels molekularbiologischer Polymerase Kettenreaktion (PCR) oder durch einen Antigen Test (AG-Test) erfolgen. Die PCR kann immer nur Bruchstücke der Ziel RNA oder DNA eines Erregers nachweisen. Der Antigen-Test detektiert im Gegensatz zum PCR Test die auf dem Virus vorhandenen Oberflächenstrukturen mittel immunchromatographischer Methode, weist jedoch eine sehr schlechtere Sensitivität auf [8, 6].

Hier eine Erklärung der unterschiedlichen Funktionsweisen der im Moment verwendeten Methoden:

Der direkte Erregernachweis kann nur mittels molekularbiologischer Polymerase Kettenreaktion (PCR) oder durch einen Antigen Test (AG-Test) erfolgen.

Dabei werden immer nur Bruchstücke der Ziel RNA oder DNA eines Erregers nachgewiesen.

Der Antigen-Test detektiert im Gegensatz zum PCR Test die auf dem Virus vorhandenen Oberflächenstrukturen mittels einer immunchromatographischen Methode, weist jedoch eine sehr viel schlechtere Sensitivität auf [8, 6].

9 Jänner 2021 Seite 1 von 6

Das Prinzip der **PCR Testung** besteht aus drei einfachen Schritten:

- Denaturierung,
- Anlagerung und
- Elongation.

Die in der Probe befindliche Ribonukleinsäuren (RNA) werden im Fall der SARS-CoV-2 Diagnostik im ersten Arbeitsschritt in doppelsträngige Desoxyribonukleinsäure (DNA) umgebaut. Danach folgt im zweiten Schritt die Denaturierung dieser DNA: der Doppelstrang wird unter Einwirkung von Hitze getrennt. In der Phase der Anlagerung binden nach einer Abkühlungsphase die vorher zugegebenen komplementären Sequenzen die "Primer" an die Zielsequenz. Im letzten Schritt des Zyklus wird die Temperatur wieder erhöht und im Rahmen der Elongation wird nun die Zielsequenz neu, durch zugesetzte Desoxynukleotiden, konstruiert [8].

Nach erfolgter Reaktion können die so künstlich hergestellten Bruchstücke der Erbinformation mittels fluoreszenzmarkiertem Farbstoff sichtbar gemacht und damit detektiert werden. In den verschiedenen Studien werden je nach angewendetem Assay unterschiedliche Nachweisgrenzen genannt – jedoch liegt hier ein grobes Detektionslimit (Limit of Detection, LoD) bei ca. 10¹ Kopien viraler Nukleinsäure je Reaktion.

Die PCR kann nur den Nachweis für das Vorhandensein bestimmter DNA Sequenzen liefern, jedoch nicht zwischen toten und lebenden Quellen unterscheiden. Generell ist daher zu sagen, dass aufgrund der Komplexität und der vielen Störfaktoren dieser Methode die derzeitige praktizierte Anwendung als Screeningtest höchst fragwürdig ist [8, 1].

Ein **Antigen-Test** weist mittels immunchemischer Reaktion einen entstandenen Antigen-Antikörper-Farbpartikel-Komplex nach. Alle für die Reaktion notwendigen Komponenten sind auf einer Nitrocellulose Membran fixiert. Ist im Probenmaterial also das Oberflächenprotein von SARS-CoV-2 enthalten, so bindet dies beim Durchfließen der genannten Membran an spezifische Antikörper und lässt sich durch Farbumschlag mit dem bloßen Auge erkennen. Die hier erwähnten Nachweisgrenzen sind um ein Vielfaches höher als bei der PCR und bewegen sich in etwa zwischen 10⁴ und 10⁶, daher sind diese beiden diagnostischen Werkzeuge nicht vergleichbar [6].

1.2 Fehlende Eignung der verwendeten Testverfahren

Die österreichische Bundesregierung hat am 20.11.2020 die **Teststrategie für freiwillige Massentestungen** mit Antigen-Test präsentiert. Als Kooperationspartner wurde hier unter anderem die Firma Roche Diagnostics angegeben. Der klinische Evaluierungsprozess dieser Tests (SARS-CoV-2 Rapid Antigen Test Kit) ist in einem Preprint Paper auch online verfügbar. Die Evaluierung wurde anhand von 970 Patientenproben vom Menschen mit milden Erkältungssymptomen durchgeführt.

- 1) Der geplante Test mit dem SARS-CoV-2 Rapid Antigen Test Kit kann nicht zwischen SARS-CoV und SARS-CoV-2 spezifischen Merkmalen unterscheiden.
- 2) Zusätzlich entspricht der geplante Einsatz an asymptomatischen Patienten nicht der Herstellerzulassung: er wurde nicht für diesen Zweck evaluiert (auf seine Wirksamkeit überprüft). Eine Anwendung an asymptomatischen Patienten ist laut Herstellerstudie nur theoretisch anzudenken, jedoch per Zulassung nicht möglich.

Daher ist davon auszugehen, dass der Antigen- Test nicht geeignet ist, Infektionen mit Sars-Cov2-bei den asymptomatisch getesteten Mitarbeitern im Gesundheitswesen nachzuweisen.

Die **molekularbiologische Erregerdetektion (PCR**) wurde und wird von der Österreichischen Gesellschaft für Laboratoriumsmedizin und klinische Chemie (ÖGLMKC) als Goldstandard (Bericht der European Commission vom 16.04.2020) definiert, obwohl sie nicht geeignet ist, Infektionen mit Sars-Cov-2 nachzuweisen, zumal zur Zeit keine Alternative verfügbar ist.

Selbiges Dokument [1] beschreibt auch, dass zwar Bruchstücke der viralen RNA im Probenmaterial von symptomatischen und präsymptomatischen Menschen nachgewiesen werden können, diese Ergebnisse jedoch in Zusammenschau mit anderen patientenspezifischen Erhebungen und Befunden gestellt werden müssen und nicht allein für die weitere Behandlungsentscheidung, Vorgehensweise und/oder Therapieentscheidung verwendet werden dürfen [1, 2].

Daher ist davon auszugehen, dass auch der PCR Test nicht geeignet ist, Infektionen mit Sars-Cov2 bei den asymptomatisch getesteten Mitarbeitern im Gesundheitswesen nachzuweisen.

Weltweit und auch in Österreich kommt eine Vielzahl von Testsysteme (z.B. Antigen, Antikörper und PCR) zum Einsatz, die allesamt ausschließlich für den Gebrauch am symptomatischen Patienten zugelassen sind. Dies gilt sowohl für Systeme beruhend auf dem Testprinzip der Polymerase Kettenreaktion als auch den verfügbaren Antigen Tests (kurz auch als "Schnelltest" bezeichnet). Eine Übersicht über die am Markt verfügbaren In-vitro-Diagnostika bietet die Österreichische Gesellschaft für Qualitätssicherung und Standardisierung medizinisch Diagnostischer Untersuchungen (ÖQUASTA) mit der Veröffentlichung einer Commercial Devices Liste [5].

Bei der Diagnostik von SARS-CoV-2 aus Probenmaterial klinisch asymptomatischer Patienten bei Screeningmaßnahmen sowohl im privatwirtschaftlichen freiwilligen Setting als auch bei den wöchentlichen Testungen klinisch asymptomatischer Mitarbeiter, wird hier daher schon beim Schritt der Präanalytik gegen allgemeingültige Regeln verstoßen (Fehlen von Symptomen). Daher kann das angewandte Testvorgehen aufgrund der ungeeigneten Testpopulation nicht die in der Zulassung garantierten Leistungsdaten (bzgl. Spezifität und Sensitivität) erbringen.

1.3 Befunderhebung ohne Hinzuziehung von Fachpersonal

In der Diagnostik und Feststellung von pathologischen Veränderungen im menschlichen Organismus, wird im Laborkontext immer anhand allgemein geltender Standards, das im Anschluss an eine Analyse erhobene Ergebnis bewertet und erst nach Prüfung auf Plausibilität durch einen Arzt oder entsprechend ausgebildetes Personal als Befund freigegeben. Diese Vorgehensweise ist flächendeckend und unabhängig von vorliegenden Zertifizierungen und/oder Akkreditierungen der Organisationen (z.B. Krankenhäuser) einzuhalten [6].

1.4 Missbräuchliche Verwendung ungeeigneter Testsysteme durch die Labore

Die im medizinischen Labor gültige Akkreditierungsnorm ISO 15189 (aktuell gültig in der Version von 2014, *Medizinische Laboratorien - Anforderungen an die Qualität und Kompetenz*) sieht hier folgende Vorgehensweise vor:

"Das Laboratorium muss Untersuchungsverfahren anwenden, einschließlich der Verfahren zur Auswahl und Entnahme von Teilproben, die den Erfordernissen der Nutzer der Laborleistungen entsprechen und für die Untersuchung geeignet sind".

In unserem Fall hieße das, dass das Untersuchungsmaterial ausschließlich von Testpersonen mit klinischen Symptomen stammen darf, damit das Ergebnis als valide zu betrachten ist. Sonst dürfte das Labor die Testung nicht durchführen. Die Aussage, ob der Patient vor der Testung Symptome aufwies, kann im Einzelfall der verpflichtenden Dokumentation für die Rückverfolgbarkeit eines Laborbefundes im jeweiligen Labor entnommen werden [7].

1.5 Fehlende Vergleichbarkeit der Ergebnisse der verwendeten Testmethoden

§ 11. (4) Absatz 2, der COVID-19-Notmaßnahmenverordung (BGBI. II Nr. 479/2020) ist grundlegend in Frage zu stellen:

"...aufgrund der medizinischen Laborbefunde, insbesondere aufgrund des CT-Werts >30, davon ausgegangen werden kann, dass keine Ansteckungsgefahr mehr besteht."

Im klinischen Alltag finden derzeit schwer vergleichbare Systeme, unter nicht Labortestungen vergleichbaren Bedingungen, mit nicht vergleichbarem Probenmaterial als Basis für das Test Anwendung, somit ist diese Aussage pauschal nicht anwendbar und die Testergebnisse nicht vergleichbar – unabhängig vom Ct-Wert.

Personen, die im Gesundheitswesen arbeiten, dürfen mit einem solchen Befund arbeiten gehen, selbst, wenn er unter nicht vergleichbaren Bedingungen ermittelt wurde. Sämtliche andere Testprobanden müssen sich – ungeachtet einer potenziellen Nicht-Infektiosität - unter harte Quarantänebedingungen begeben.

Dieser Aussage wiederspricht auch am 7.11.2020 die ÖGLMKC:

"Bei der Interpretation des Ct-Wertes sind daher unbedingt mehrere Einflussfaktoren wie der Zeitpunkt im Erkrankungsverlauf und die Qualität der Probennahme sowie die Materialart bzw. der Abstrichort, die Aufarbeitung und das verwendete Testsystem zu berücksichtigen. Aus dem Ct-Wert allein ist ohne Berücksichtigung dieser Einflussfaktoren aus Sicht der ÖGLMKC keine sichere Aussage zur Infektiosität ableitbar. Zu fordern wäre in diesem Zusammenhang die Entwicklung quantitativer SARS-CoV-2 PCR Tests, die dem Wunsch nach einer quantitativen Beurteilung der Viruslast besser entsprechen." [1].

Der Bezug zur Aussagekraft des Testergebnisses unter Berücksichtigung des Cycle Threshold (Ct) Wertes wurde bereits durch ein richtungsweisendes Urteil des Berufungsgerichts Lissabon hergestellt. Daher darf ich sinngemäß aus dem Urteil zitieren:

"...eine medizinische Diagnose kann nur durch ärztliches Personal gestellt werden. Es liegt nicht im Ermessen einer Behörde jemanden für krank, krankheitsverdächtig oder ansteckungsverdächtig einzuschätzen [10]."

Eine weitere Quelle besagt, dass die Ergebnisse der Studie Jaafar et al. hier richtungsweisend anzusehen sind: wenn bei einem Lauf 30 Zyklen durchgeführt werden, sinkt die Zuverlässigkeit des Tests auf 20 % [11].

Zum oben genannten Ergebnis kommt auch eine am 6. Dezember 2020 publizierte Studie der Österreichische Gesellschaft für Qualitätssicherung und Standardisierung medizinisch-diagnostischer Untersuchungen (ÖQUASTA) in Kooperation mit dem Institut für Virologie der Medizinischen Universität Wien. Daten die im Zuge eines Ringversuches erhoben wurden, stelle dar, dass die derzeit in Österreich befindlichen Systeme für PCR Tests nicht untereinander vergleichbar sind. Aufgrund von fehlender Standardisierung der Tests und Systeme ist davon abzuraten diese Ergebnisse alleinig für Maßnahmen und Patientenentscheidungen heranzuziehen [13].

Dies gilt auch für einen positiven Antigen-Test ohne klinische Symptome gesagt werden:

Aus diagnostischer Sicht ist hier eine zulassungskonforme Verwendung bezüglich der Symptomatik des Patienten einzufordern. Dasselbe gilt für den gesamten Prozess der Befundherstellung.

Materialentnahme, Analyse und Ergebnisinterpretation ist nur durch per Gesetz autorisiertes Personal zulässig.

1.6 Fehlender Nachweis für präsymptomatische Ansteckung

Die Durchführung der von der Regierung geplanten Massentestungen sind nur zur Entdeckung von Infizierungen ohne Symptome sinnvoll.

Alle derzeit vorliegenden Studien für die **Annahme einer möglichen präsymptomatischen Ansteckung** treffen hier keine klare Aussage. Eine anfänglich propagierte Studie mit dem Titel: "*Transmission of 2019-nCoV Infection from an Asymptomatic Contact in Germany"* aus dem New England Journal of Medicine (NEJM) wurde und wird nach wie vor als Begründung für die Durchführung von PCR-Tests an asymptomatischen Personen verwendet [4].

Die Daten der Untersuchungen wurden bei genauerer Betrachtung schon vor dem Datum der eigentlichen Veröffentlichung durch die Ergebnisse der Recherche des Magazin *Science* entkräftet und sowohl das Robert Koch Institut (RKI) als auch das NEJM haben sich für eine Korrektur dieser Fehlaussage ausgesprochen: Die Ansteckungsgefahr durch eine asymptomatische Person erscheint eher unwahrscheinlich [5].

Eine neuere Studie aus Wuhan, bei der ein Massentest an fast allen Einwohnern von Wuhan (10 Millionen) durchgeführt wurden, kam zu dem Ergebnis, dass asymptomatische Sars-Cov-2-"positiv" getestete Personen nicht infektiös sind, d.h. den Virus nicht übertragen können [12].

Referenzen

- [1] Österreichische Gesellschaft für Laboratoriumsmedizin und klinische Chemie (ÖGLMKC), Labordiagnostik bei Coronavirus SARS-CoV-2, Version 1.6., 07.11.2020. [zitiert 2020 Nov 23]. Verfügbar unter: Österreichische Gesellschaft für Laboratoriumsmedizin und Klinische Chemie (oeglmkc.at)
- [2] European Commission, Current performance of COVID-19 test methods and devices and proposed performance criteria Working document of Commission services, Version vom16.04.2020. [zitiert 2020 Nov 23]. Verfügbar unter: DocsRoom European Commission (europa.eu)
- [3] The New England Journal of Medicine, Transmission of 2019-nCoV Infection from an Asymptomatic Contact in Germany, 05.03.2020. [zitiert 2020 Nov 23]. Verfügbar unter: <u>Transmission of 2019-nCoV Infection from an Asymptomatic Contact in Germany (nejm.org)</u>
- [4] Deutsches Ärzteblatt, 2019-nCoV: Doch keine Übertragung durch asymptomatische Infizierte in Bayern? 04.02.2020. [zitiert 2020 Nov 23]. Verfügbar unter: 2019-nCoV: Doch keine Übertragung durch asymptomatische Infizierte in. (aerzteblatt.de)
- [5] Österreichische Gesellschaft für Qualitätssicherung und Standardisierung medizinischdiagnostischer Untersuchungen (ÖQUASTA), Annex 1 Commercial devices, 1. Durchgang, laufende Aktualisierung. [zitiert 2020 Nov 23]. Verfügbar unter: https://oequasta.at/de/
- [6] Hallbach, J. (2019): Klinische Chemie und Hämatologie, Biomedizinische Analytik für MTLA und Studium, 4. Auflage, Stuttgart: Thieme Verlag.
- [7] ÖNORM EN ISO 15189:2007, Medizinische Laboratorien, Besondere Anforderungen an die Qualität und Kompetenz, Wien: Österreichisches Normungsinstitut.
- [8] Reinhard, T. (2018): Molekularbiologische Methoden, 2. Auflage, Stuttgart: Verlag Eugen Ulmer.
- [9] medRxiv, The preprint server for health sciences, [zitiert am 2020 Nov 24]. Verfügbar unter: Clinical evaluation of the Roche/SD Biosensor rapid antigen test with symptomatic, non-hospitalized patients in a municipal health service drive-through testing site | medRxiv
- [10] VLex Portugal, Acórdão nº 1783/20.7T8PDL.L1-3 de Tribunal da Relação de Lisboa, 11 de Novembro de 2020, [zitiert am 2020 Nov 24]. Verfügbar unter: Acórdão nº

- <u>1783/20.7T8PDL.L1-3 de Tribunal da Relação de Lisboa, 11 de Novembro de 2020 Jurisprudência VLEX 851822033</u>
- [11] Infectious Diseases Society of America, Jaafar et. al. Correlation Between 3790 Quantitative Polymerase Chain Reaction—Positives Samples and Positive Cell Cultures, Including 1941 Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 Isolates, [zitiert am 2020 Nov 24]. Verfügbar unter: Correlation Between 3790 Quantitative Polymerase Chain Reaction—Positives Samples and Positive Cell Cultures, Including 1941 Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 Isolates | Clinical Infectious Diseases | Oxford Academic (oup.com)
- [12] Post-lockdown SARS-CoV-2 nucleic acid screening in nearly ten million residents of Wuhan, China, nature, Article number: 5917 (2020)

 https://www.nature.com/articles/s41467-020-19802-w
- [13] Variability of cycle threshold values in an external quality assessment scheme for detection of the SARS-CoV-2 virus genome by RT-PCR, [zitiert am 2021 Jan 08]. Verfügbar unter: ÖQUASTA Home (oequasta.at)