

HYGIENE MONITOR

Nr. 7–9/2020

J a h r g a n g 26



**Coronatests: Positiv bedeutet
nicht unbedingt infektiös!**

Seite 2

IMPRESSUM

Redaktion und für den Inhalt verantwortlich:

Prim. Assoc. Prof. Dr. Christoph Aspöck
Universitätsklinik für Hygiene und Mikrobiologie
Karl Landsteiner Privatuniversität, Universitätsklinikum St. Pölten

Namentlich gekennzeichnete Artikel sind die persönliche und/oder wissenschaftliche Meinung des Verfassers und müssen daher nicht mit der Meinung des für Inhalt und Redaktion Verantwortlichen übereinstimmen.

Wissenschaftlicher Beirat:

Univ.-Prof. Dr. Franz Allerberger, Wien, Univ.-Prof. Dr. Horst Aspöck, Wien, Univ.-Prof. Dr. Andrea Grisold, Graz, PD Dr. Markus Hell, Salzburg, Univ.-Prof. Dr. Alexander M. Hirschl, Wien, Univ.-Prof. Dr. Walter Koller, Wien, Univ.-Prof. Dr. Cornelia Lass-Flörl, Innsbruck, Univ.-Prof. Dr. Regina Sommer, Wien, Ass.-Prof. PD Dr. Dr. Miranda Suchomel, Wien, Univ.-Prof. Dr. Günther Wewalka, Wien, Univ.-Prof. Dr. Birgit Willinger, Wien

Herausgeber: Mag. Wolfgang Chlud

Verlag und Korrespondenzadresse:

UNIVERSIMED

MEDIZIN IM FOKUS
Cross Media Content GmbH

Geschäftsführung: Dr. med. Bartosz Chłap, MBA
1150 Wien, Markgraf-Rüdiger-Straße 6–8
Tel.: 01/876 79 56, Fax: 01/876 79 56-20

schülke +

Coronatests: Positiv bedeutet nicht unbedingt infektiös!

Seit Beginn der Coronakrise wird versucht, Menschen, die mit dem Virus infiziert sind, möglichst rasch als Virusträger zu erkennen, um durch gezieltes Vorgehen eine Übertragung auf andere Menschen verhindern zu können. Bei Patienten im Spital handelt es sich dabei um klassische Isoliermaßnahmen, bei nicht hospitalisierten Erkrankten um Absonderungsmaßnahmen und bei asymptomatischen Virusträgern um Quarantänemaßnahmen. Sie gelten nach wie vor als der wichtigste Beitrag, um Clusterbildungen zu vermeiden, und werden daher auf Basis der Befunde durch die Gesundheitsbehörde veranlasst.

Für die Diagnostik stehen einerseits der direkte Nachweis mittels Polymerase-Kettenreaktion (engl. polymerase chain reaction, PCR) und andererseits der indirekte Nachweis mittels spezifischer Antikörper zur Verfügung. Beim Screening, also der Suche in bestimmten Bevölkerungsgruppen, sowie für die Bestätigung bei Verdacht aufgrund der Fallkriterien ist nach wie vor die PCR vor allem aufgrund ihrer hohen Sensitivität die Methode der Wahl.

In der ersten Zeit wurde ein positiver Test immer als Ausdruck einer Infektiosität gewertet, daher wurden weitgehend einheitliche Quarantänemaßnahmen ausgesprochen. Die Zahl der Fälle mit positivem Ergebnis, aber offenbar schon einige Zeit zurückliegender Infektion ist erst mit der Ausbreitung stark angestiegen. In Einzelfällen ist ein Virusgenomnachweis aus respiratorischen Proben bis 60 Tage nach Symptombeginn möglich (Zheng et al.). Mittlerweile ist klar, dass bei vielen Patienten ein Virusnachweis über einen längeren Zeitraum möglich, die Infektiosität aber nicht mehr gegeben ist. In diesen Fällen sind daher entsprechende Isoliermaßnahmen nicht mehr angebracht und im Sinn der Entlastung der Allgemeinheit und insbesondere der medizinischen Institutionen deshalb ein differenziertes Vorgehen unbedingt nötig.

Dem wird auch in der Empfehlung des Bundesministeriums für Soziales, Gesundheit, Pflege und Konsumentenschutz zur Entlassung von Covid-19-Fällen aus der Absonderung vom 9. Juli 2020, aktualisiert am 23. Juli 2020 Rechnung getragen, und erstmals wird der sogenannte Ct-Wert in Anlehnung an Empfehlungen des Robert-Koch-Instituts in Berlin herangezogen. Das kann vor allem helfen, positiv getestete Mitarbeiter von Gesundheitseinrichtungen früher als bisher wieder am Arbeitsplatz einzusetzen. Allerdings ist zu beobachten, dass das Abgehen von Absonderungen trotz positiver Tests noch immer Unbehagen hervorruft. Im Folgenden sollen daher die verschiedenen Kriterien zur Einschätzung der Infektiosität beleuchtet werden.

Zeit und klinischer Verlauf

Es konnte gezeigt werden, dass bei den meisten Patienten zwei bis drei Tage vor dem Ausbruch der Symptomatik das Virus nachgewiesen und daher auch übertragen werden kann. Andererseits wird eine Infektiosität nach ungefähr einer Woche der Symptomatik ziemlich unwahrscheinlich. Dies gilt insbesondere, wenn die Symptomatik mittlerweile abgeklungen ist, weil diese an sich ja die Virusausscheidung fördert. Daher sehen die oben genannten Empfehlungen vor, dass 10 Tage nach Symptombeginn und nach 48 Stunden Symptombefreiheit – mit entsprechenden Befunden je nach Schwere der Krankheit – eine Entlassung aus der Absonderung möglich ist.

Zielstrukturen der PCR

Mit der PCR werden auf molekularbiologischem Weg spezifische Abschnitte der Kernsäure („Targets“) eines Erregers logarithmisch auf eine Menge vervielfältigt, die einen Nachweis ermöglicht. Diese Methode ist nicht nur sehr sensitiv, sondern auch sehr spezifisch, was in Zusammenhang mit anderen bekannten Coronaviren relevant ist. Heute sind sieben humanmedizinisch bedeutsame Coronaviren bekannt: Vier davon (HKU1, NL63, OC43 und 229E) verursachen milde Symptome und sind in manchen Multiplex-Panels zur Abklärung von Symptomen im Respirationstrakt enthalten, weil sie bis zu 30% dieser Infektionen verursachen können. Die restlichen drei Vertreter können sehr schwere Infektionen hervorrufen, es handelt sich um SARS-CoV-1 (Pandemie 2002 bis 2004), MERS-CoV (ausgehend vom Mittleren Osten ab 2012) und eben das neue SARS-CoV-2.

Die mittlerweile vielfach erhältlichen kommerziellen PCR-Kits kopieren sehr spezifische Regionen, die nach ihren Orten im Virus mit Buchstaben benannt werden: E (für „envelope“), S (für „spike“), N (für „nucleocapsid“) und RdRP (für RNA-dependent RNA polymerase). Die PCR ist so spezifisch, dass mit dem Nachweis der Targets S, N und RdRP nur das neue Virus detektiert wird und keines der anderen. Lediglich die E-Region kodiert für die Corona-Untergruppe der Sarbecoviren und würde daher auch bei SARS-CoV-1 und bei einigen Fledermaus-assoziierten Stämmen positiv werden. Allerdings wurde SARS-CoV-1 seit der damaligen Pandemie nicht mehr nachgewiesen und die betroffenen Fledermäuse kommen bei uns nicht vor, daher ist auch diese Region de facto spezifisch für das neue Virus. Jedenfalls kann also ein positiver Befund auf kein anderes humanmedizinisch infrage kommendes Coronavirus,

auch nicht auf die oben genannten häufigen, eher harmlosen Stämme, zurückzuführen sein.

Die meisten kommerziell verfügbaren PCR-Tests detektieren zwei oder drei, einzelne auch vier Targets. Dies dient der Steigerung der Sensitivität, Tests mit nur einer Zielsequenz sollen nicht verwendet werden. War zu Beginn noch der positive Nachweis aller in einem Test vorgesehenen Zielstrukturen für ein positives Ergebnis nötig, so wurde dies nach einiger Zeit insofern revidiert, als auch nur ein bzw. zwei nachgewiesene Gene als ausreichend für ein positives Ergebnis gewertet werden. Damit soll verhindert werden, dass positive Fälle fälschlich als negativ ausgewiesen werden.

Andererseits steigt damit die Wahrscheinlichkeit, dass mit dem Verlauf der Infektion bei wiederholter PCR weniger Targets erkannt werden als zu Beginn, weil die Viruslast abnimmt. Dies ist also keine Reduktion der Spezifität des Tests, sondern auf eine Verringerung des Ausgangsmaterials zurückzuführen. Diese Beobachtung kann auch mit einer Abnahme der Infektiosität einhergehen, als „Verlaufsparameter“ ist dies aber nicht geeignet, weil eher alle Targets gleichzeitig negativ werden, vor allem, wenn der Test nur zwei enthält.

Antikörpertests

Der Antikörperrnachweis belegt den Kontakt mit dem Virus, wobei im Regelfall ungefähr fünf Tage nach Symptombeginn IgM-Antikörper nachweisbar sind und ungefähr zehn Tage nach Symptombeginn IgG-Antikörper auftreten. Wie auch bei anderen Infektionen verschwinden IgM-Antikörper eher bald, daher spricht ein Ergebnis „IgG-positiv und IgM-negativ“ dafür, dass die Infektion schon eine gewisse Zeit zurückliegt. Es kann zwar von den IgG-Antikörpern nicht automatisch auf eine Immunität geschlossen werden, allerdings kann angenommen werden, dass der Höhepunkt der Infektion einige Zeit zurückliegt und daher auch die Infektiosität nicht mehr besteht.

Andererseits sind die oftmals positiven IgM-Ergebnisse problematisch, weil sie eine frische Infektion suggerieren, obwohl sie auch noch bestehen können, wenn die Infektiosität bereits abgeklungen ist. Mitunter können hier unterschiedliche Ergebnisse mit verschiedenen Tests bei derselben Probe beobachtet werden. Auch von anderen Infektionen ist die lange Persistenz der IgM-Antikörper bekannt. Wenn auch IgG-Antikörper nachgewiesen werden, können Aviditätstests helfen, weil sie die Stärke der Bindung der Antikörper messen, die wiederum mit der Dauer der Infektion zunimmt. Insgesamt haben Antikörperuntersuchungen gezeigt, dass die Durchseuchung der Bevölkerung geringer ist, als allge-

mein erwartet wurde. Zwar zeigen Ausnahmen in sogenannten Hot Spots hohe Werte, aber offenbar kommt es nicht im erwarteten Ausmaß zur nachweisbaren Antikörperbildung. Dazu kommt noch die Problematik falsch positiver Ergebnisse, daher sind Neutralisationstests essentiell, um die Spezifität zu belegen (siehe auch *Hygiene Monitor* 04–06/2020). Insgesamt können Antikörpertests also nur eingeschränkt für die Bewertung der Infektiosität herangezogen werden.

Ct-Wert

Der wohl am besten geeignete Parameter zur Bewertung der Infektiosität ist der Ct-Wert, auf den auch in der Empfehlung vom 23. Juli mehrfach Bezug genommen wird (<https://www.sozialministerium.at/Informationen-zum-Coronavirus/Coronavirus---Fachinformationen.html>).

Er beschreibt jenen Zyklus der PCR, bei dem ein exponentieller Anstieg von Kopien erkennbar ist („threshold cycle“). Hintergrund dafür ist die sogenannte Echtzeit-PCR (Real-Time-PCR). Bei der klassischen Methode ist nach der eigentlichen PCR eine Detektion nötig, die dann zeigt, ob der gesuchte Erreger in der Probe vorhanden war oder nicht. Die Analyse besteht also aus zwei von einander unabhängigen Schritten, nämlich der Vervielfältigung und dem Nachweis. Die Entwicklung der Real-Time-PCR war ein Meilenstein, weil diese Echtzeit-PCR-Technologie drei große Vorteile bringt:

1. Die Probenröhrchen müssen nach der PCR nicht mehr für die Detektion geöffnet werden. Es entfällt somit das Risiko einer Laborkontamination durch PCR-Produkte, was bis dahin Hauptursache für falsch positive Ergebnisse war.
2. Die Gesamtzeit der Analyse verkürzt sich, weil die beiden Teile zeitgleich ablaufen, sodass derartige Untersuchungen mittlerweile innerhalb einer Stunde möglich sind.
3. Durch die zeitgleiche Messung besteht die Möglichkeit einer Quantifizierung, es kann also nicht nur die Aussage getroffen werden, dass der Erreger in der Probe ist, sondern auch, in welcher Menge. Dies funktioniert durch den Einsatz von Sonden, die mit Fluoreszenzfarbstoff markiert sind. Die Stärke der Fluoreszenz des Reporterfarbstoffes ist proportional zur gebildeten DNA-Menge und es kann jener Zyklus gemessen werden, bei dem der Schwellenwert („threshold“) erreicht wird, bei dem ein eindeutiges Fluoreszenzsignal detektiert wird. Je mehr Kernsäure schon zu Beginn der PCR in der Probe war, desto mehr Kopien entstehen in den Polymerisierungszyklen und desto früher erreicht die Fluoreszenz den Schwellenwert.

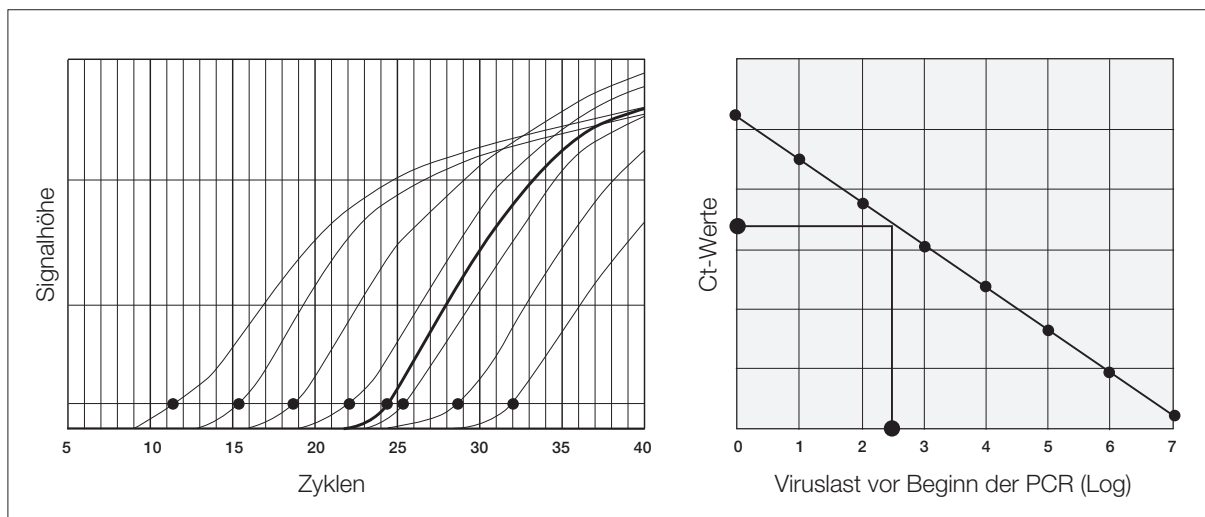


Abb.: In der Real-Time-PCR wird der Ct-Wert gemessen (links). Er ist umso höher, je geringer die Viruslast in der Probe war (rechts).

Anwendung des Ct-Werts für Coronatests

Verschiedene Studien haben sich mit der Korrelation der Virusgenomlast im Untersuchungsmaterial (Rachenabstrich) und der Anzuchtbarkeit der in der Probe enthaltenen Viren in einer Zellkultur als Maß für die Infektiosität beschäftigt. Dabei zeigte sich, dass die Virusanzucht 10 Tage nach Symptombeginn nur in Einzelfällen gelang. Außerdem wurde nach einem Zusammenhang zwischen Ct-Wert und Anzuchtbarkeit gesucht. Dabei zeigte sich in einer Studie, dass bei einem Schwellenwert, der erst ab dem 25. Zyklus erreicht wurde, keine Virusvermehrung möglich war. Weitere Analysen sprechen für eine gute Reproduzierbarkeit dieser Erkenntnisse, sodass der Ct-Wert für die Interpretation von persistierenden PCR-Ergebnissen hilfreich sein kann. Wenn mehr als 30 von üblicherweise 40 ablaufenden Zyklen notwendig sind, bis ein Signal erkennbar ist, war die Virusmenge zu Beginn der PCR offenbar so gering, dass eine Infektiosität nicht anzunehmen ist.

Resümee

Mit Fortdauer der Coronakrise und zunehmender Testung werden immer öfter positive PCR-Ergebnisse generiert, die nicht mit einer Infektiosität gleichzusetzen sind. Trotzdem sind diese keineswegs falsch positiv, denn das würde ja bedeuten, dass sie in Abwesenheit des Virus ein positives Ergebnis bringen. Die gegenständlichen Ergebnisse sind labortechnisch korrekt, also richtig positiv, allerdings Ausdruck einer Persistenz des Virus über den Zeitraum der Infektiosität hinaus. Insbesondere für den Umgang mit medizinischem Personal ist es wichtig, diesen Aspekt zu erkennen. Die Bewertung verschiedener Targets und die Serologie lassen dies nur sehr eingeschränkt zu.

Der Ct-Wert ist vergleichsweise ein gut geeigneter Parameter und kann daher in Ergänzung zur Dauer der Symptomatik herangezogen werden. Trotzdem sind entsprechende Interpretationen mit Vorsicht zu treffen, da die Ausgangszahl auch von der Probengewinnung abhängig ist. Je nach Tiefe des Abstrichs und den verwendeten Materialien kann die Viruslast in der Probe erheblich schwanken. Es kann also durch die Erhöhung des Ct-Wertes in aufeinanderfolgenden Proben eines Patienten nur dann auf ein Nachlassen der Viruslast und damit der Infektiosität geschlossen werden, wenn die Qualität der Probenentnahme vergleichbar ist.

Derzeit wird in den diagnostischen Labors diskutiert, ob der Ct-Wert in jedem Fall zusätzlich zum PCR-Ergebnis auf dem Befund angegeben werden soll. Keinesfalls ist der Wert als alleiniger Parameter ausreichend, um eine Absonderung aufzuheben, daher ist ein zusätzlicher Textbaustein überlegenswert, sinngemäß etwa: „Bei einem Wert über 30, mindestens 10 Tage nach Symptombeginn und 48 h Symptommfreiheit gilt eine Infektiosität als unwahrscheinlich“. Ein zusätzlich vorliegender Nachweis von IgG-Antikörpern untermauert diese Einschätzung, weil diese ja üblicherweise ca. 10 Tage nach Symptombeginn nachweisbar sind. Als Einschränkung für die Interpretation des Ct-Wertes muss erwähnt werden, dass bei Immundefekten die Ausscheidung von vermehrungsfähigem Virus und damit die Infektiosität verlängert sein können.

Jedenfalls ist es zu begrüßen, wenn der Ct-Wert zur Interpretation herangezogen wird, damit Menschen, von denen keine Infektionsgefahr mehr ausgeht, nicht unnötig lang isoliert oder abgesondert werden.

Christoph Aspöck