

Diplomarbeit

**Erhebung der diagnostischen Leistungsparameter eines
SARS-CoV-2-Antigentests bei neurologisch-
internistischen Notfallpatient*innen mit COVID-19
Verdacht am LKH-Universitätsklinikum Graz**

eingereicht von

Martin Dragnev

zur Erlangung des akademischen Grades

Doktor der gesamten Heilkunde

(Dr. med. univ.)

an der

Medizinischen Universität Graz

ausgeführt am

Universitätsklinikum für Innere Medizin

Klinische Abteilung für Infektiologie

unter der Anleitung von

Assoz. Prof.ⁱⁿ Priv.-Doz.ⁱⁿ Dr.ⁱⁿ med.univ. Ines Zollner-Schwetz
und

Univ.-Prof. Dr.med.univ. Robert Krause

Eidesstattliche Erklärung

Ich erkläre ehrenwörtlich, dass ich die vorliegende Arbeit selbstständig und ohne fremde Hilfe verfasst habe, andere als die angegebenen Quellen nicht verwendet habe und die den benutzten Quellen wörtlich oder inhaltlich entnommenen Stellen als solche kenntlich gemacht habe.

Graz, am 07.10.2021

Martin Dragnev eh

Danksagungen

Ich möchte mich bei meinen Eltern dafür bedanken, dass sie mich stets auf allen meinen Wegen begleitet und unterstützt haben, egal wohin diese führten.

Ein großer Dank gilt auch Frau Assoz. Prof.ⁱⁿ Priv.-Doz.ⁱⁿ Dr.ⁱⁿ med.univ. Ines Zollner-Schwetz für die wertvolle Unterstützung und die engagierte Betreuung im Rahmen dieser Diplomarbeit.

Inhaltsverzeichnis

Danksagungen	3
Inhaltsverzeichnis	4
Abkürzungen	5
Abbildungsverzeichnis	7
Tabelleverzeichnis	8
Zusammenfassung	9
Abstract	10
1. Einleitung	11
1.1 Erregerdiagnostik in der COVID-19 Pandemie	11
1.2 Relevante diagnostische Verfahren im Überblick	12
1.3 Leistungsparameter von diagnostischen Tests	15
1.4 Diagnostikrelevante Biologie des SARS-Coronavirus-2	17
1.5 Dynamiken viraler Transmission und Detektionsgrenzen der Nachweisverfahren	18
1.6 Zielsetzungen der Diplomarbeit	20
2. Methodik	22
2.1 Patient*innen	22
2.2 Testungen	22
2.3 Statistik	23
3. Ergebnisse	24
3.1 Beschreibung des Gesamtkollektivs	24
3.2 Klinische Performance des SARS-CoV-2 Rapid Antigen Test	26
3.3 Klinische Performance des SARS-CoV-2 Rapid-Antigen Test gemessen an den Ct-Werten RT-PCR-positiv getesteter Patient*innen	27
4. Diskussion	30
4.1 Vergleich der ermittelten Sensitivität und Spezifität mit den Herstellerangaben	30
4.2 Praktische Auswirkung der abweichenden Sensitivität auf die prädiktiven Werte des SARS-CoV-2 Rapid Antigen Test	31
4.3 Diskussion der Leistungsparameter des Antigentests im Kontext der Ct-Werte als Indikator für die Infektiösität	33
4.4 Der Einsatz von SARS-CoV-2 Antigentests als Diagnostik- und Screeningmaßnahme	35
4.5 Limitationen und Stärken	37
4.6 Ausblick auf künftige Forschungsfragen	39
4.7 Conclusio	39
Literaturverzeichnis	41

Abkürzungen

WHO	Weltgesundheitsorganisation (engl.: World Health Organization)
COVID-19	Coronavirus-Krankheit-2019 (engl. coronavirus disease 2019)
RT-PCR:	Reverse-Transkriptase-Polymerase-Kettenreaktion (engl. reverse transcription polymerase chain reaction)
SARS-CoV-2	Schweres-akutes-Atemwegssyndrom-Coronavirus Typ 2 (engl.: severe acute respiratory syndrome coronavirus type 2)
POCT	engl.: Point-of-Care-Testing
RT-LAMP	Reverse-Transkriptase Schleifen-vermittelte isothermale Amplifikation (engl.: loop-mediated isothermal amplification)
RNA	Ribonukleinsäure (engl.: ribonucleic acid)
cDNA	Komplementär- Desoxyribonukleinsäure (engl.: complementary deoxyribonucleic acid)
dNTP	Desoxyribonukleosidtriphosphate
qRT-PCR	quantitative Echtzeit-PCR-Untersuchungen (engl.: real-time quantitative polymerase chain reaction)
Ct	Cycle-Threshold
PPV	positiver prädiktiver Wert (engl.: positive predictive value)
NPV	negativ prädiktiver Wert (engl.: negative predictive value)
RP	Richtig-positiv
FP	Falsch-positiv
RN	Richtig-negativ
FN	Falsch-negativ
Kb	Kilobasen
SARS-CoV-1	Schweres-akutes-Atemwegssyndrom-Coronavirus Typ 1 (engl.: severe acute respiratory syndrome coronavirus type 1)
MERS-CoV	Middle East respiratory syndrome-related coronavirus
ORF	offener Leserahmen (engl.: open reading frame)
S-Protein	Spike-Protein
E-Protein	Envelope-Protein
M-Protein	Membran-Protein
N-Protein	Nukleokapsid-Protein

TMPRSS2-Protease	transmembrane Serinprotease 2 (engl.: transmembrane protease serine subtype 2)
ACE-2 Rezeptoren	Angiotensin-konvertierendes Enzym 2 (engl.: Angiotensin-converting enzyme 2)
CDC	Centers for Disease Control and Prevention
RKI	Robert Koch-Institut
BASG	Bundesamt für Sicherheit im Gesundheitswesen
ECDC	Europäisches Zentrum für die Prävention und die Kontrolle von Krankheiten (engl.: European Centre for Disease Prevention and Control)
BMSGPK	Bundesministerium für Soziales, Gesundheit, Pflege und Konsumentenschutz

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Schematischer Ablauf der quantitativen RT-PCR-Untersuchung (qRT-PCR).....	13
Abbildung 2: Interpretation des SARS-CoV-2 Rapid Antigen Test der Firmen SD-Biosensor/Roche	15
Abbildung 3: Schematischer Aufbau des SARS-Coronavirus-2	17
Abbildung 4: Eintritt des SARS-Coronavirus-2 in die Wirtszelle.....	18
Abbildung 5: Dynamiken viraler Transmission bei COVID-19 und Detektionsgrenzen eines Antigentest und einer RT-PCR.....	20
Abbildung 6: Verteilung chronischer Grunderkrankungen im Gesamtkollektiv (n=160) kategorisiert nach betroffenen Organsystemen	25
Abbildung 7: Anzahl durchschnittlich erkrankter Organsysteme in den verschiedenen Altersgruppen des Gesamtkollektivs (n=160).....	26
Abbildung 8: Ct-Werte (E-Gensequenz) der richtig-positiven und falsch-negativen Antigentest-Ergebnisse gemessen an der RT-PCR.....	28
Abbildung 9: Ct-Werte (N2-Gensequenz) der richtig-positiven und falsch-negativen Antigentest-Ergebnisse gemessen an der RT-PCR.....	28

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Bestimmung der Leistungsparameter eines neuen diagnostischen Tests	16
Tabelle 2: Altersverteilung im Gesamtkollektiv (n=160)	24
Tabelle 3: Therapiesetting und 30-Tage-Überlebensrate im Gesamtkollektiv	24
Tabelle 4: Ergebnisse des SARS-CoV-2 Rapid Antigen Test im Vergleich mit den Ergebnissen einer SARS-CoV-2 RT-PCR.....	26
Tabelle 5: Ct-Werte der E- und N2-Gensequenzen in den Subgruppen der richtig-positiv und falsch-negativ getesteten Patient*innen.....	27
Tabelle 6: Richtig-positive und falsch-negative Antigentest-Ergebnisse gemessen an den Ergebnissen der RT-PCR für die Subgruppen mit Ct-Werten ≤ 25 , 26-30 und ≥ 31	29
Tabelle 7: Bestimmung der prädiktiven Werte mit einer Antigentest-Sensitivität von 60,7% und -Spezifität von 99,68% an einer hypothetischen Kohorte von 10.000 Patient*innen	32
Tabelle 8: Bestimmung der prädiktiven Werte mit einer Antigentest-Sensitivität von 96,52% und -Spezifität von 99,68% (Herstellerangaben) an einer hypothetischen Kohorte von 10.000 Patient*innen.....	32

Zusammenfassung

Hintergrund: Mit dem Beginn der COVID-19 Pandemie im März 2020 hat die mikrobiologische Erregerdiagnostik rund um das SARS-Coronavirus-2 einen großen Stellenwert in der medizinischen, gesellschaftlichen und medialen Diskussion eingenommen. Neben dem diagnostischen Goldstandard, der Reverse-Transkriptase-Polymerase-Kettenreaktion (RT-PCR), haben sich Antigentests in vielen Bereichen des Gesundheitssektors und des öffentlichen Lebens als Mittel der Wahl etabliert. Da das Inverkehrbringen solcher Antigentests gemäß der Richtlinie 98/79/EG des Europäischen Parlaments und des Europäischen Rates ein Konformitätsbewertungsverfahren erfordert, welches der alleinigen Verantwortung des Herstellers obliegt, ist es von entscheidender Bedeutung, die Angaben des Herstellers zur Testsensitivität und -spezifität durch Feldstudien in der klinischen Praxis zu validieren. Die Zielsetzung dieser Diplomarbeit war es, die Sensitivität und Spezifität des SARS-CoV-2 Rapid Antigen Test der Firmen SD-Biosensor/Roche anhand einer Kohorte von 160 Patient*innen der internistisch-neurologischen Notaufnahme des LKH-Universitätsklinikums Graz zu bestimmen und die erhobenen Werte mit den Herstellerangaben zu vergleichen und zu diskutieren.

Methoden: Im Zeitraum vom 18. November 2020 bis zum 30. November 2020 wurden 160 Patient*innen mit COVID-19 Verdacht parallel mit dem SARS-CoV-2 Rapid Antigen Test der Firmen SD-Biosensor/Roche und einer SARS-CoV-2 RT-PCR (GeneXpert® – Cepheid oder LIAISON® MDX – DiaSorin Molecular) getestet. Die Probenentnahme für beide Untersuchungen erfolgte mittels nasopharyngealem Abstrich. Die Ergebnisse der RT-PCR dienten der Validierung der Antigentestergebnisse und der Bestimmung der Sensitivität und Spezifität als Referenzmethode.

Ergebnisse: Die Prävalenz einer COVID-19 Infektion in dem untersuchten Gesamtkollektiv betrug 35% (56/160). Gemessen an den Ergebnissen der RT-PCR Untersuchung lieferte der SARS-CoV-2 Rapid Antigen Test 34 richtig-positive und 22 falsch-negative Ergebnisse. 104 Patient*innen wurden richtig-negativ und null falsch-positiv getestet. Daraus ergeben sich für den SARS-CoV-2 Rapid Antigen Test eine Sensitivität von 60,7% (95% KI: 47,9-73,5) und eine Spezifität von 100% (95% KI: 100-100).

Diskussion: SD-Biosensor/Roche geben für den SARS-CoV-2 Rapid Antigen Test eine Sensitivität von 96,52% (95% KI: 91,11-99,04) und eine Spezifität von 99,68 (95% KI: 98,22-99,99) an. Somit konnte bei der Sensitivität des Tests, nicht aber bei der Spezifität, eine deutliche Abweichung von den Herstellerangaben beobachtet werden.

Abstract

Background: Since the beginning of the COVID-19 pandemic in March 2020, diagnostic tests for SARS-CoV-2 infections have been at the forefront of the medical and public discussion. Next to RT-PCR testing, which is considered to be the gold standard in the diagnosis of COVID-19, antigen rapid diagnostic tests (Ag-RDT) are frequently used in many public health surveillance activities. According to the directive 98/79/EG of the European Parliament and the European Council, the distribution of Ag-RDTs as a tool for in vitro diagnostics is subject to a conformity assessment procedure. The latter can be carried out under the sole responsibility of the manufacturer, if the Ag-RDTs are marketed for the usage by medical professionals. Therefore, it is of utmost importance that independent authorities and scientists validate the manufacturers claims in terms of test sensitivity and specificity, before the tests are implemented in public health activities. The aim of this diploma thesis is to determine the diagnostic sensitivity and specificity of the SARS-CoV-2 Rapid Antigen Test by SD-Biosensor/Roche in a real-life clinical setting, using a sample of 160 specimens that were collected from patients in the emergency department of the University Hospital Graz. These results are compared to the manufacturers self-assessment and discussed in the context of related literature.

Methods: Two sequential nasopharyngeal swabs were obtained from 160 patients in the emergency department of the University Hospital Graz between November 18, 2020 and November 30, 2020. One swab was used to conduct the SARS-CoV-2 Rapid Antigen Test by SD-Biosensor/Roche and the other one for a SARS-CoV-2 RT-PCR test (GeneXpert® – Cepheid or LIAISON® MDX – DiaSorin Molecular). The results of the RT-PCR were used for the validation of the AG-RDT results and the calculation of its sensitivity and specificity.

Results: The prevalence of a SARS-CoV-2 infection in the observed cohort was 35% (56/160). Using the results of the RT-PCR as a reference method, the SARS-CoV-2 Rapid Antigen Test showed 34 true positive, 22 false negative, 104 true negative and zero false positive test results. This translates into a test sensitivity of 60,7% (95% KI: 47,9-73,5) and a specificity of 100% (95% KI: 100-100).

Discussion: For the SARS-CoV-2 Rapid Antigen Test the manufacturer reports a sensitivity of 96,52% (95% KI: 91,11-99,04) and a specificity of 99,68 (95% KI: 98,22-99,99). The results of the field study conducted in this diploma thesis show a large deviation in test sensitivity, but not in test specificity.

1. Einleitung

1.1 Erregerdiagnostik in der COVID-19 Pandemie

Am 11. März 2020 hat der Generaldirektor der Weltgesundheitsorganisation (WHO), Dr. Tedros Adhanom Ghebreyesus, den Ausbruch der Coronavirus-Krankheit-2019 (COVID-19) offiziell zur Pandemie erklärt (1). Seitdem stellt die Eindämmung von COVID-19 die Menschheit vor große und ständig wechselnde Herausforderungen. Eines der wichtigsten Instrumente, um die Ausbreitung dieser viralen Infektionskrankheit unter Kontrolle zu halten, ist der großflächige Einsatz mikrobiologischer Erregerdiagnostik. Hierfür stehen eine Vielzahl an Testverfahren zur Verfügung, wobei sich diese grundsätzlich in Nukleinsäure-gestützte Verfahren und Protein-gestützte Verfahren einteilen lassen (2). Als diagnostischer Goldstandard gilt der direkte Nachweis viraler Genomsequenzen mittels Reverser-Transkriptase-Polymerase-Kettenreaktion (RT-PCR) (3). Obwohl Corman et al. (4) bereits im Januar 2020 den ersten hochsensitiven und -spezifischen RT-PCR-Test entwickelt haben und viele weitere Forschungsgruppen und Hersteller mit eigenen Tests folgten, konnte die rasante, globale Ausbreitung von COVID-19 nicht gestoppt werden. Die Gründe dafür waren einerseits die Neuheit und die Kontagiösität des zugrundeliegenden Virus, dem *severe acute respiratory syndrome coronavirus type 2* (SARS-CoV-2), sowie andererseits die Einschränkungen, der zu dieser Zeit verfügbaren Diagnostikmethoden. Limitierende Faktoren des breitflächigen Einsatzes der RT-PCR waren hierbei vor allem die Notwendigkeit entsprechend ausgestatteter Labore mit ausreichend geschultem Personal und die Einhaltung rigider Hygiene- und Qualitätsstandards. Hinzukommt, dass neben den logistischen Aspekten rund um die Probenentnahme und den Transport, ein direkter Erregernachweis mittels RT-PCR im Schnitt zwischen zwei und acht Stunden dauert (2). In Hochinzidenzphasen der Pandemie kann es außerdem aufgrund der hohen Nachfrage an Testungen zu einer Überlastung von Laborpersonal und -kapazitäten sowie zu einer Knappheit an Reagenzien kommen (5). Da sich durch diese Faktoren die Diagnose und in weiterer Folge die Kontaktverfolgung und Isolation von potenziell hochkontagiösen Personen naturgemäß hinauszögert, besteht großer Bedarf an hochsensitiven und schnellen diagnostischen Tests, die patient*innennah außerhalb von Zentrallaboratorien durchgeführt werden können (sog. Point-of-Care-Testing, POCT).

Neben einigen Nukleinsäure-basierten Nachweisverfahren (z.B. RT-LAMP) eignen sich hierfür in erster Linie SARS-CoV-2-Antigentests (fortan nur noch als Antigentests

bezeichnet), die spezifische virale Proteine mittels Immunchromatographie nachweisen können. Entscheidende Vorteile der Antigentests sind, dass sie bereits innerhalb von 15-30 Minuten ein Ergebnis liefern und auch von Personen ohne labormedizinische Qualifikationen durchgeführt werden können (6). Systematische Übersichtsarbeiten von Dinnes et al. (7) und Bruning et al. (8) haben gezeigt, dass Antigentests den RT-PCR-Tests in Bezug auf die Sensitivität sowohl bei SARS-CoV-2 als auch bei anderen viral-respiratorischen Erregern unterlegen sind. Die Autor*innen haben ebenfalls feststellen können, dass die Ergebnisse der verschiedenen Antigentesthersteller untereinander eine große Variabilität aufweisen. Nichtsdestotrotz können Antigentests bei der Eindämmung der COVID-19 Pandemie eine entscheidende Rolle spielen, da sie nicht nur kostengünstig und breitflächig einsetzbar sind, sondern zudem bei infizierten Personen, bei denen positive SARS-CoV-2 Viruskulturen im Labor nachweisbar sind, bessere positiv prädiktive Werte als die RT-PCR aufweisen (9). Antigentests können also trotz niedrigerer Sensitivität, infizierte Personen, die kultivierbare Viruspartikel ausscheiden und somit als kontagiös einzustufen sind, zuverlässig identifizieren (10-12).

1.2 Relevante diagnostische Verfahren im Überblick

Das am weitesten verbreitete Nukleinsäure-gestützte Nachweisverfahren für SARS-CoV-2 ist die RT-PCR (13). Hierbei handelt es sich um eine Untersuchung, die mit der reversen Transkription (RT) und der Polymerase-Kettenreaktion (PCR) zwei molekularbiologische Verfahren zum Nachweis kleinster Mengen viraler Ribonukleinsäure (RNA) vereint und als Goldstandard in der SARS-CoV-2 Diagnostik gilt (3). Das Grundprinzip dieses Verfahrens basiert auf der initialen Umwandlung viraler RNA in Komplementär-Desoxyribonukleinsäure (cDNA) und der anschließenden Amplifikation dieser cDNA im Rahmen der Polymerase-Kettenreaktion. Die Umwandlung von RNA in cDNA erfolgt durch eine RNA-abhängige DNA-Polymerase (reverse Transkriptase), die mit Hilfe spezieller DNA-Primer an die virale RNA bindet und Desoxyribonukleosidtriphosphate (dNTP) als Bausteine für die Synthese der cDNA nutzt (14). Die cDNA dient der Polymerase-Kettenreaktion als Ausgangssubstanz und wird mittels entsprechender Gen-spezifischer Primer, DNA-Polymerase und dNTPs vervielfältigt.

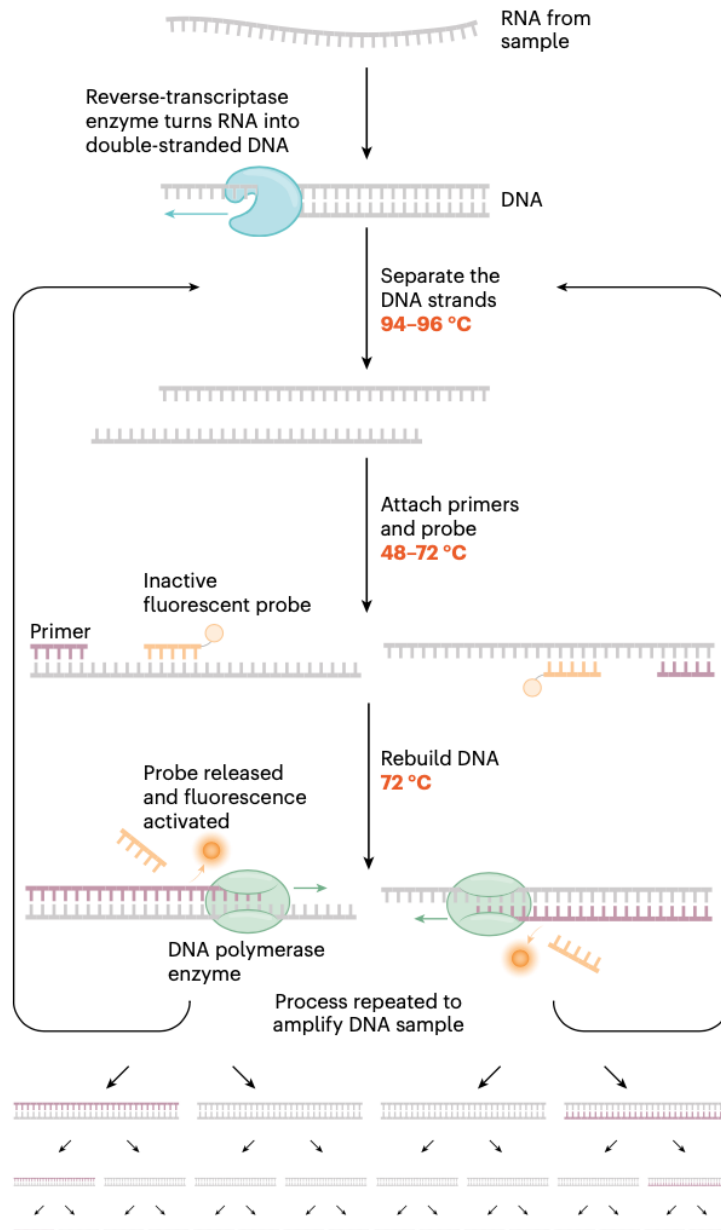


Abbildung 1: Schematischer Ablauf der quantitativen RT-PCR-Untersuchung (qRT-PCR)

Abbildung aus Guglielmi G. The explosion of new coronavirus tests that could help to end the pandemic. *Nature* 2020 Jul;583(7817):506-509.

Moderne PCR-Systeme verfügen über die Möglichkeit, die Menge der amplifizierten DNA-Sequenzen mittels fluoreszierender Farbstoffe in Echtzeit zu bestimmen. Bei diesen sogenannten quantitativen Echtzeit-PCR-Untersuchungen (qRT-PCR) werden routinemäßig cycle-threshold-(Ct)-Werte als semiquantitative Maße für die zugrundeliegende Viruskonzentration der Probelösung angegeben. Der Ct-Wert ist dabei als der

Verdopplungszyklus definiert, bei dem die Fluoreszenz der amplifizierten DNA erstmals einen bestimmten Schwellenwert übersteigt (15). Dementsprechend besteht eine inverse Relation zwischen dem Ct-Wert und der Viruskonzentration der Probelösung, da bei höherer Ausgangskonzentration der Schwellenwert der photometrisch bestimmten Fluoreszenz früher überschritten wird. Bei der Interpretation von Ct-Werten gilt es unbedingt zu beachten, dass die Werte verschiedener qRT-PCR-Systeme nur eingeschränkt miteinander verglichen werden können, da sich die Verfahren in Bezug auf die Extraktion der Nukleinsäuren aus der Probe, der Amplifikationseffizienz sowie in vielen weiteren Punkten unterscheiden können (16). Der schematische Ablauf einer quantitativen RT-PCR-Untersuchung ist in Abbildung 1 dargestellt.

Antigentests zählen zu den Protein-gestützten Nachweisverfahren und basieren auf dem Prinzip der Immunchromatographie. Grundprinzip dieses Verfahrens ist der qualitative Nachweis spezifischer Antigene in einer Probelösung mit Hilfe von farbkonjugierten Antikörpern. Sind in einer Probelösung die gesuchten Antigene vorhanden, reagieren diese nach dem Auftragen auf den Teststreifen mit den darauf angebrachten farbkonjugierten Antikörpern, sodass ein Antigen-Antikörper-Farbpartikel-Komplex entsteht. Dieser migriert durch die Kapillarwirkung des Teststreifens in Richtung der Testlinie, die wiederum mit immobilisierten Antikörpern gegen Bestandteile des gebildeten Immunkomplexes beschichtet ist. Durch die Bindung des Komplexes mit den immobilisierten Antikörpern kommt es zu dessen Anreicherung im Bereich der Testlinie und zu derer sichtbaren Verfärbung. Der im Rahmen dieser Diplomarbeit verwendete SARS-CoV-2-Agentest der Firmen SD-Biosensor/Roche besteht aus einer Nitrocellulose-Membran, die auf ihrer Oberfläche eine mit monoklonalen Anti-SARS-CoV-2-Antikörpern beschichtete Testlinie und eine mit monoklonalen Anti-Huhn-IgY-Antikörpern beschichtete Kontrolllinie aufweist (6). Außerdem ist die Nitrocellulose-Membran mit mobilen, farbkonjugierten Antikörpern gegen das Nukleokapsid-Antigen des SARS-Coronavirus-2 beschichtet (6). Findet sich letzteres in der aufgetragenen Probelösung kommt es zur Ausbildung des Antigen-Antikörper-Farbpartikel-Komplexes, welcher dann in Richtung der Testlinie migriert und dort mit den immobilisierten Anti-SARS-CoV-2-Antikörpern reagiert. Der Test ist als positiv zu werten, wenn sowohl die Kontrolllinie als auch die Testlinie innerhalb von 15-30 Minuten nach dem Auftragen der Probelösung farbig sichtbar werden. Die korrekte

Interpretation des SARS-CoV-2-Antigentest der Firmen SD-Biosensor/Roche ist in Abbildung 2 dargestellt.

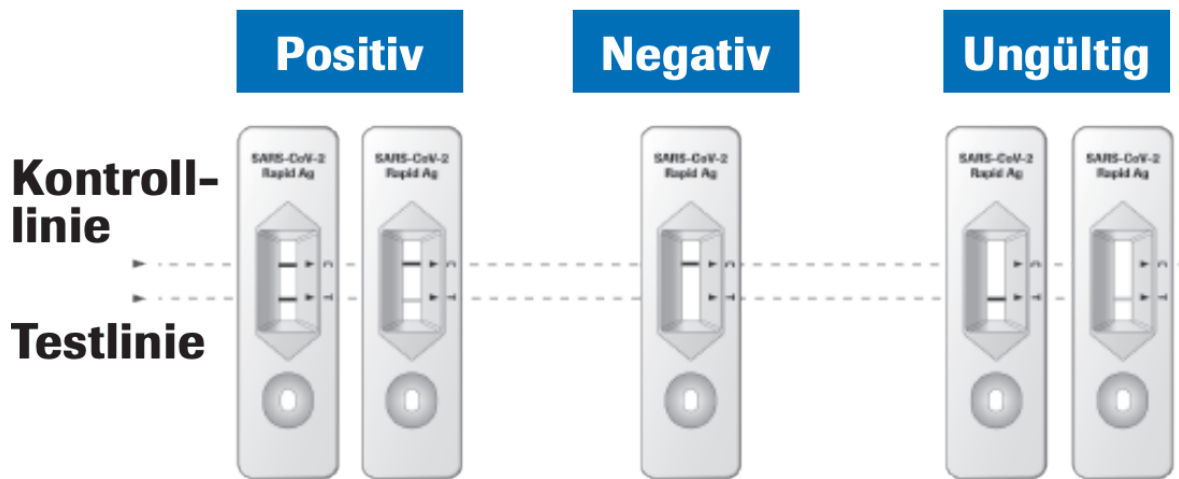


Abbildung 2: Interpretation des SARS-CoV-2 Rapid Antigen Test der Firmen SD-Biosensor/Roche

Abbildung aus Roche Diagnostics Deutschland GmbH. SARS-CoV-2 Antigen test. Verfügbar unter: https://assets.cwp.roche.com/f/94122/x/07638aba23/1-40338-2_onepager_sars-cov-2_a4_v2_low_ksc-c-roche.pdf. Abgerufen am 04.10.2021.

1.3 Leistungsparameter von diagnostischen Tests

Um die Leistung eines diagnostischen Labortests zu beschreiben, werden in der Medizin die Sensitivität, die Spezifität, der positiv prädiktive Wert (PPV) und der negativ prädiktive Wert (NPV) als statistische Kenngrößen ermittelt (17). Die Bestimmung dieser Parameter erfolgt stets in Bezug auf die Ergebnisse des etablierten Goldstandards. Als Goldstandard bezeichnet man dabei das diagnostische Verfahren, das zu einem gegebenen Zeitpunkt am besten dazu geeignet ist, das Vorliegen einer bestimmten Krankheit nachzuweisen (18). Wird also ein neuer diagnostischer Test eingeführt, muss dessen diagnostische Leistung anhand eines Vergleichs mit dem Goldstandard bestimmt werden. Weisen sowohl der Goldstandard als auch der neue diagnostische Test auf das Vorliegen der Erkrankung hin, spricht man von einem konkordant-positivem Ergebnis; die Untersuchung mit dem neuen Test ist richtig-positiv. Umgekehrt gilt, dass bei einem konkordant-negativen Ergebnis die Untersuchung mit dem neuen Test richtig-negativ ist. Ist hingegen das Ergebnis des neuen diagnostischen Tests negativ, obwohl eine Erkrankung durch den Goldstandard nachweislich vorliegt, so ist die Untersuchung mit dem neuen Test falsch-negativ. Weist der Test eine Erkrankung nach, obwohl diese nicht durch den Goldstandard bestätigt wird, so ist das Ergebnis falsch-positiv.

Die Sensitivität entspricht der Wahrscheinlichkeit, mit der ein diagnostischer Test einer nachweislich erkrankten Person ein positives Testergebnis liefert bzw. diese als krank identifiziert (19). Umgekehrt entspricht die Spezifität der Wahrscheinlichkeit, mit der ein diagnostischer Test eine nachweislich gesunde Person als gesund identifiziert bzw. ihr ein negatives Testergebnis liefert (19). Der PPV eines Tests sagt aus, mit welcher Wahrscheinlichkeit ein positives Testergebnis tatsächlich positiv ist bzw. mit welcher Wahrscheinlichkeit sich das Vorhandensein der Erkrankung diagnostizieren lässt (20). Der NPV eines Tests besagt hingegen, mit welcher Wahrscheinlichkeit ein negatives Testergebnis tatsächlich negativ ist bzw. mit welcher Wahrscheinlichkeit die Abwesenheit einer Erkrankung diagnostiziert werden kann (20). Im Gegensatz zur Sensitivität und Spezifität sind der PPV und der NPV von der Prävalenz der untersuchten Erkrankung in der Bevölkerung abhängig. Die Prävalenz ist als die Häufigkeit einer bestimmten Erkrankung innerhalb einer Population zu einem gegebenen Zeitpunkt definiert. Unter der Voraussetzung von gleichbleibenden Bedingungen steigt mit zunehmender Prävalenz der PPV eines Tests, während der NPV bei zunehmender Prävalenz abnimmt. Tabelle 1 fasst die Bestimmung der Leistungsparameter für einen neu eingeführten diagnostischen Test zusammen.

		Goldstandard		
		negativ	positiv	
neuer Test	negativ	richtig-negativ (RN)	falsch-negativ (FN)	NPV: $RN/(RN+FN)$
	positiv	falsch-positiv (FP)	richtig-positiv (RP)	PPV: $RP/(RP+FP)$
		Spezifität: $RN/(RN+FP)$	Sensitivität: $RP/(RP+FN)$	

Tabelle 1: Bestimmung der Leistungsparameter eines neuen diagnostischen Tests

Die Mindestanforderungen für die Sensitivität und Spezifität eines diagnostischen Tests sind grundsätzlich kontextabhängig (21). So sollte beispielsweise ein Test, welcher der endgültigen Diagnose einer Erkrankung dient und somit wegweisend für die Therapie ist, eine sehr hohe Sensitivität bei ausreichend hoher Spezifität aufweisen. Auf der anderen Seite, kann ein Screening-Test (z.B. ein Antigentest) gewisse Abstriche in der Sensitivität dadurch kompensieren, dass er kostengünstig, breitflächig und hochfrequentiert eingesetzt wird (21). Eine Modellierungsstudie von Larremore et al. (22) konnte zeigen, dass im Rahmen der COVID-19 Pandemie, die Testfrequenz und die verstrichene Zeit bis zum

Testergebnis einen größeren Beitrag zur Eindämmung der Pandemie durch Screeningmaßnahmen liefern als die Testsensitivität.

1.4 Diagnostikrelevante Biologie des SARS-Coronavirus-2

Viren der Familie der *Coronaviridae* sind membranumhüllte, einzelsträngige RNA-Viren, deren Genom, mit einer Länge von etwa 30kb, das größte aller bekannten RNA-Viren ist (23). In der Gattung der *Betacoronaviridae* weist SARS-CoV-2 eine genetische Übereinstimmung von etwa 79% zu SARS-CoV-1 und etwa 50% zu MERS-CoV auf (24). Dementsprechend ähneln auch die Struktur des Viruspartikels und die Organisation des Genoms derer, der bereits bekannten Betacoronaviren. Das virale Genom kodiert einerseits in einem langen offenen Leserahmen für die zwei großen Polyproteine ORF1a und ORF1b, die in weiterer Folge in nicht-strukturelle und für die Replikation zuständige Proteine prozessiert werden, sowie andererseits für die vier Strukturproteine Spike/S, Envelope/E, Membran/M und Nukleokapsid/N (25). Bei den S-, E- und M-Proteinen handelt es sich um Bestandteile der Virusmembran, die das Nukleokapsid umhüllt, welches sich wiederum aus den N-Proteinen und der daran gebundenen viralen RNA zusammensetzt (23).

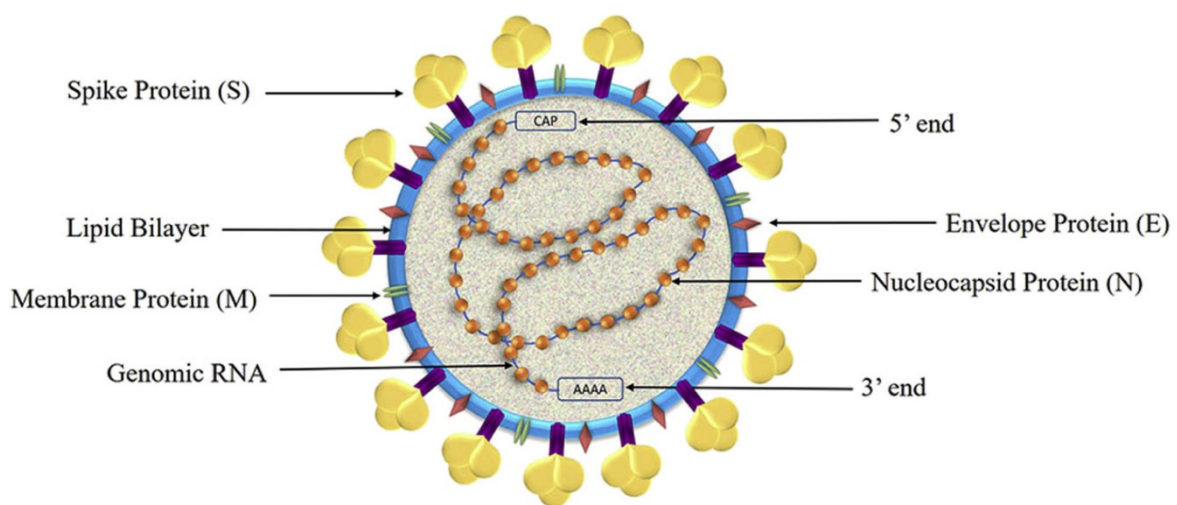


Abbildung 3: Schematischer Aufbau des SARS-Coronavirus-2

Abbildung aus Satarker S, Nampoothiri M. Structural Proteins in Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus-2. Arch Med Res 2020 Aug;51(6):482-491.

Die entscheidende Rolle für die Invasion der Wirtszellen spielt bei SARS-CoV-2, wie zuvor auch bei SARS-CoV-1, das S-Protein, das unterstützt durch die TMPRSS2-Proteasen der Wirtszellen an deren ACE-2 Rezeptoren bindet und dann die Fusion der Virusmembran mit

der Zellmembran einleitet (26). Alle genannten viralen Genomsequenzen und Proteine können im Rahmen der Diagnostik als Erregernachweis dienen, wobei Nukleinsäure-gestützte Verfahren (z.B. RT-PCR) häufig die E-, S-, ORF1 und N-Sequenzen nachweisen und Protein-gestützte Verfahren (z.B. Antigentests) häufig das N-Protein detektieren (4,7).

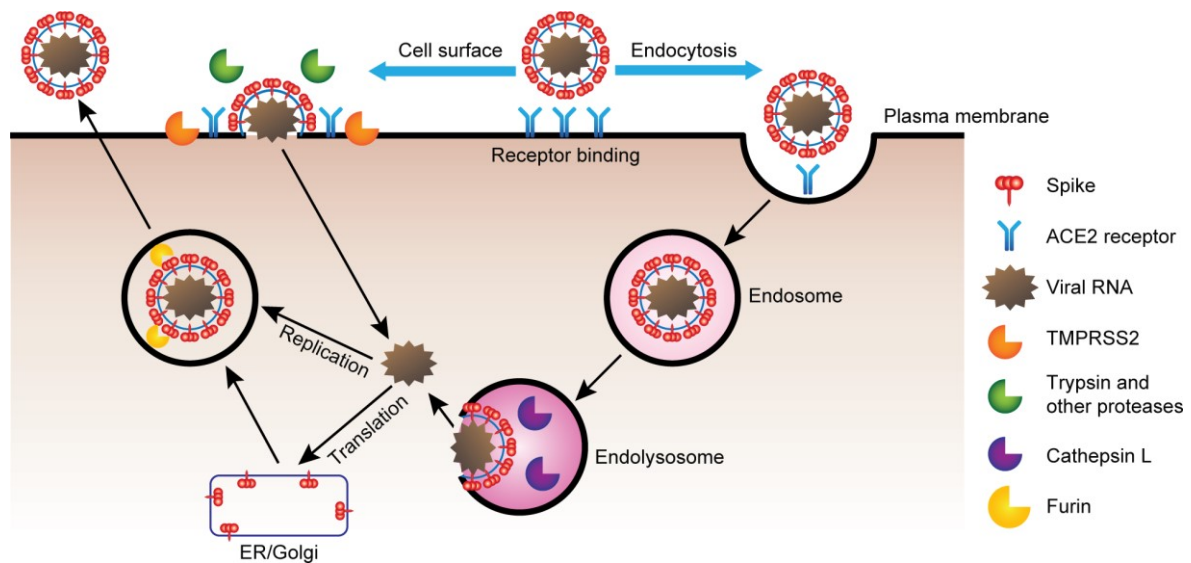


Abbildung 4: Eintritt des SARS-Coronavirus-2 in die Wirtszelle

Abbildung aus Murgolo N, Therien AG, Howell B, Klein D, Koeplinger K, Lieberman LA, et al. SARS-CoV-2 tropism, entry, replication, and propagation: Considerations for drug discovery and development. *PLoS Pathog* 2021 Feb 17;17(2):e1009225.

1.5 Dynamiken viraler Transmission und Detektionsgrenzen der Nachweisverfahren

Die amerikanischen Centers for Disease Control and Prevention (CDC) und das deutsche Robert Koch Institut (RKI) nennen als Hauptübertragungsweg einer SARS-CoV-2 Infektion die Aufnahme virushaltiger Partikel und deren Kontakt mit menschlichen Schleimhäuten (27,28). Explizit werden die Inhalation von virushaltigen Tröpfchen und Aerosolen sowie Schmierinfektionen über kontaminierte Hände beschrieben (27,28). Evidenz für die Übertragung von SARS-Coronaviren in Form von Tröpfchen oder Aerosolen konnte bereits während der SARS-CoV-1 Pandemie in den Jahren 2002 und 2003 gesammelt werden (29,30). Zahlreiche Untersuchungen zur Übertragungsdynamik in Gruppen infizierter Patient*innen sowie der erfolgreiche Nachweis replizierender Viruskulturen aus respiratorischen Proben konnten den Verdacht vergleichbarer Übertragungswege für SARS-CoV-2 bereits in der frühen Phase der COVID-19 Pandemie bestätigen (31-34). Ein wesentlicher Unterschied zu SARS-CoV-1 ist jedoch, dass ein Infektionsrisiko nicht nur von symptomatischen Patient*innen, sondern auch von asymptomatisch- und vor allem von

präsymptomatisch-infizierten Patient*innen ausgeht (35-37). Präsymptomatisch-infizierte Personen sind solche, die zum Zeitpunkt der Übertragung noch keine Symptome aufweisen, diese jedoch im weiteren Verlauf der Infektion entwickeln (38). Asymptomatisch-infizierte Personen entwickeln trotz einer Infektion zu keinem Zeitpunkt krankheitsspezifische Symptome und scheinen bezüglich der Virusübertragung verglichen mit präsymptomatischen und symptomatischen Personen eine untergeordnete Rolle zu spielen (37-39). Die mittlere Inkubationszeit bei SARS-CoV-2, d.h. die Zeitspanne zwischen der Infektion und dem ersten Auftreten von Symptomen, wird in den Auswertungen verschiedener Meta-Analysen zwischen 5 und 6,5 Tagen angenommen (40-42). Cevik et al. (11) zeigten in einer systematischen Übersichtsarbeit und Meta-Analyse, dass die Ausscheidung viraler RNA über die oberen Atemwege im Mittel 17 Tage (95% KI: 15,5-18,6) bis hin zu einem Maximum von 83 Tagen andauert. Die Autor*innen zeigten ebenfalls, dass trotz hoher Mengen viraler RNA im Probematerial, über den neunten Tag nach Symptombeginn hinaus keine replizierenden Viren in Zellkulturen isoliert werden konnten (11). Somit ist davon auszugehen, dass die Ansteckungsgefahr durch eine infizierte Person in den Tagen kurz vor Symptombeginn ansteigt, zur Zeit des Symptombeginns und bis zu 5 Tage danach ein Maximum erreicht und anschließend, bis hin zum neunten Tag nach Symptombeginn, kontinuierlich abnimmt (11,37).

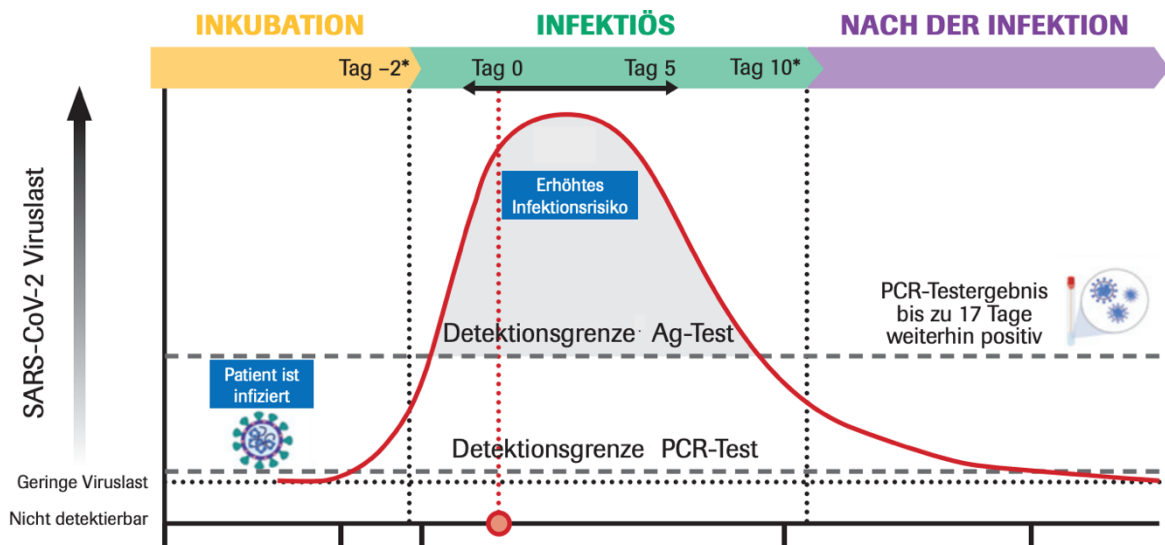


Abbildung 5: Dynamiken viraler Transmission bei COVID-19 und Detektionsgrenzen eines Antigentest und einer RT-PCR

Abbildung aus Roche Diagnostics Deutschland GmbH. Infiziert gleich infektiös? Verfügbar unter: https://assets.cwp.roche.com/f/94122/x/caab12fe70/05-flyer-sars-cov-2_infiziert_v2_ansicht.pdf. Abgerufen am 04.10.2021; Abbildung adaptiert nach Cevik M, Marcus JL, Buckee C, Smith TC. Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 (SARS-CoV-2) Transmission Dynamics Should Inform Policy. *Clin Infect Dis* 2021 Jul 30;73(Suppl 2):S170-S176.

Die Detektionsgrenze der RT-PCR für das SARS-Cov2 Virus ist deutlich niedriger als die des Antigentests. Grund dafür ist, die im Rahmen der RT-PCR stattfindende Replikation des Ausgangsmaterials, welche beim Antigentest nicht erfolgt. Auf diese Weise können bei der RT-PCR bereits kleinste Mengen viraler RNA erfolgreich detektiert werden. Umgekehrt gilt für den Antigentest, dass die Menge an Ausgangsmaterial, d.h. viralem Protein, über einem höheren Schwellenwert liegen muss, damit der Test ein richtig-positives Ergebnis liefert (21). Die niedrige Detektionsgrenze der RT-PCR kann allerdings zu persistierenden positiven Testergebnissen führen, welche den Zeitraum, in dem eine Person als infektiös gilt, deutlich überschreiten (10,11). Dies zeigt, dass die RT-PCR zwar eine äußerst sensitive Untersuchungsmethode ist, jedoch bezüglich des Nachweises replizierender und somit infektiöser Viren eine niedrige Spezifität aufweist (10).

1.6 Zielsetzungen der Diplomarbeit

In Europa handelt es sich bei Antigentests gemäß der Richtlinie 98/79/EG des Europäischen Parlaments und des Europäischen Rates um In-vitro-Diagnostika, für deren Inverkehrbringen der Hersteller die Auflagen dieser Richtlinie zu erfüllen hat (43). Diese

beinhaltet für Antigentests, die nicht zur Selbstanwendung gedacht sind, ein Konformitätsbewertungsverfahren, das der alleinigen Verantwortung des Herstellers obliegt. Da eine Verifizierung der Konformitätsbewertung durch nationale Institutionen wie dem Bundesamt für Sicherheit im Gesundheitswesen (BASG) in Österreich nicht erfolgt, empfiehlt die Europäische Kommission, Antigentests entwicklerunabhängigen Validierungen zu unterziehen, bevor sie in der klinischen Praxis eingesetzt werden (44). Ein SARS-Cov-2-Antigentest wird dabei durch die Ergebnisse einer RT-PCR Untersuchung, welche als Goldstandard gilt, validiert. Die WHO empfiehlt für die Mindestanforderung eines solchen Antigentests eine Sensitivität von $\geq 80\%$ und eine Spezifität von $\geq 97\%$, während das European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC), vor allem in Gebieten mit niedriger COVID-19 Prävalenz, eine Mindestsensitivität $\geq 90\%$ und -spezifität $\geq 97\%$ empfiehlt (45,46).

Um sicherzustellen, dass ein verwendeter Antigentest über ausreichend hohe Leistungsparameter verfügt, ist es also von großer praktischer Bedeutung, die Angaben des Herstellers durch Feldstudien in der klinischen Praxis zu validieren. Die primäre Zielsetzung dieser Arbeit war es daher, die Sensitivität und Spezifität des SARS-CoV-2 Rapid Antigen Test von SD-Biosensor/Roche anhand einer Kohorte von 160 Patient*innen der internistisch-neurologischen Notaufnahme des LKH-Universitätsklinikums Graz zu bestimmen und die erhobenen Werte mit den Herstellerangaben zu vergleichen. Dazu wurden über einen Zeitraum von 2 Wochen Patient*innen mit COVID-19 Verdacht parallel mit einem Antigentest und einem RT-PCR-Test auf das Vorliegen einer Infektion mit SARS-CoV-2 untersucht. Für die Berechnung der Sensitivität und Spezifität des Antigentests wurden die Ergebnisse der durchgeführten RT-PCR-Untersuchung als Referenzwert herangezogen. Die Ergebnisse dieser Arbeit sollen dazu dienen, Erfahrungen im Einsatz mit Antigentests im Rahmen der COVID-19 Pandemie zu sammeln und entsprechende Rückschlüsse für deren Einsatz im öffentlichen Gesundheitssektor und für das Management positiv getesteter Personen zu ermöglichen. Dabei war es neben der Bestimmung der Leistungsparameter des Antigentests von besonderem Interesse, das Auftreten von richtig-positiven und falsch-negativen Testergebnissen in Bezug zur Viruslast der infizierten Personen zu setzen. Um dieser Fragestellung nachzugehen, wurden die Ct-Werte der RT-PCR-Systeme als Anhaltspunkt für die zugrundeliegende Viruskonzentration herangezogen und für den Vergleich der richtig-positiv und falsch-negativ getesteten Personen genutzt.

2. Methodik

2.1 Patient*innen

Im Zeitraum vom 18. November 2020 bis zum 30. November 2020 erfolgte eine parallele Testung von 160 Patient*innen der internistisch-neurologischen Notaufnahme des LKH-Universitätsklinikums Graz mittels SARS-CoV-2-Antigentest und einer SARS-CoV-2 RT-PCR. Die getestete Population setzte sich hierbei aus Patient*innen zusammen, die aufgrund eines internistisch-neurologischen Problems selbstständig oder über den Rettungsdienst die Notaufnahme konsultierten und durch das Klinikpersonal als potenzieller COVID-19 Verdachtsfall identifiziert wurden. Als solche wurden Patient*innen klassifiziert, wenn sie bestimmte Kriterien eines standardisierten Triage-Protokolls erfüllten. Zu diesen zählten das Vorliegen von Symptomen eines respiratorischen Infekts (Husten, Schnupfen, Halsschmerzen, Atemnot, Fieber), von anderen COVID-19-assoziierten Symptomen (Störung des Geruchs- und/oder Geschmackssinns, Kopf- und Gliederschmerzen, Appetitlosigkeit, Gewichtsverlust, Übelkeit, Bauchschmerzen, Erbrechen, Durchfall, Konjunktivitis, Hautausschlag, Lymphknotenschwellung, Apathie, Somnolenz) sowie der Kontakt zu einem bestätigten COVID-19 Fall innerhalb der letzten 14 Tage.

2.2 Testungen

Für die Durchführung der beiden Testungen wurden den Patient*innen zwei konsekutive nasopharyngeale Abstriche durch diplomiertes Gesundheits- und Pflegepersonal des LKH-Universitätsklinikums Graz entnommen. Die Antigen-Testung erfolgte unmittelbar vor Ort mit dem SARS-CoV-2 Rapid Antigen Test der Firmen SD-Biosensor/Roche gemäß den Herstellervorgaben. Bei dem Ziel-Antigen dieses Tests handelt es sich um das Nukleokapsid/N (6). Das Probenmaterial für die RT-PCR-Testung wurde an das Klinische Institut für Medizinische und Chemische Labordiagnostik des LKH-Universitätsklinikums Graz gesandt und dort analysiert, wobei 150 Untersuchungen mit dem GeneXpert[®]-System der Firma Cepheid und 10 Untersuchungen mit dem LIAISON[®] MDX-System der Firma DiaSorin Molecular durchgeführt wurden. Als semiquantitatives Maß für die Viruskonzentration wurden bei den beiden RT-PCR-Systemen die cycle-threshold-(Ct)-Werte für die entsprechenden viralen Gensequenzen angegeben. Beide verwendeten Systeme weisen jeweils zwei unterschiedliche virale Gensequenzen nach (sog. Dual-Targeting) um die Sensitivität und Spezifität der Untersuchung zu erhöhen. Das GeneXpert[®]-System weißt die N2- und E-Sequenzen und das LIAISON[®] MDX-System die

ORF1ab- und S-Sequenzen nach (47,48). Die Ergebnisse der Antigen-Testungen und der RT-PCR-Testungen wurden digital im Krankenhausinformationssystem Medocs® erfasst. Die Verarbeitung der Ergebnisse für Forschungszwecke wurde durch die Ethikkommission der Medizinischen Universität Graz genehmigt.

2.3 Statistik

Als Analysesoftware für die deskriptive und induktive Statistik wurde Version 26 von IBM® SPSS® Statistics verwendet. Sensitivität, Spezifität, PPV und NPV des SARS-CoV-2 Rapid Antigen Test wurden anhand einer Kreuztabelle errechnet, wobei die Ergebnisse der RT-PCR-Untersuchung als Referenzwert herangezogen wurden. Die entsprechenden 95% Konfidenzintervalle (KI) wurden mit Hilfe eines Onlinerechners bestimmt (<https://www2.ccrb.cuhk.edu.hk/stat/confidence%20interval/Diagnostic%20Statistic.htm>).

Um die mittleren Ct-Werte der richtig-positiv getesteten Personen mit denen der falsch-negativ getesteten Personen zu vergleichen wurde der Mann-Whitney-U-Test verwendet. Da sich Ct-Werte systemübergreifend nur eingeschränkt vergleichen lassen und lediglich 10 Patient*innen mit dem LIAISON® MDX-System untersucht wurden, beschränkt sich die untenstehende Analyse der Ct-Werte auf die 150 Patient*innen, die mit dem GeneXpert®-System untersucht wurden. Eine statistische Signifikanz wurde bei p-Werten kleiner einer Irrtumswahrscheinlichkeit von 5% angenommen.

3. Ergebnisse

3.1 Beschreibung des Gesamtkollektivs

Das Gesamtkollektiv umfasste 160 Patient*innen der internistisch-neurologischen Notaufnahme des LKH-Universitätsklinikums Graz, wovon 75 (46,9%) männlich und 85 (53,1%) weiblich waren. Das mittlere Alter lag bei 67 Jahren mit einer Standardabweichung von 19 Jahren und einer Spannweite von 18 bis 99 Jahren. Das mediane Lebensalter lag bei 73 Jahren. Die geschlechterspezifische Altersverteilung ist Tabelle 2 zu entnehmen. Von den 160 getesteten Personen wurden 98 Patient*innen für eine stationäre Behandlung aufgenommen und vier Patient*innen mussten intensivmedizinisch versorgt werden. Die restlichen 58 Patient*innen wurden ambulant betreut. Die 30-Tage-Überlebensrate betrug in der Gruppe der nachverfolgten Patient*innen (n=77) 81,8%. 83 Patient*innen sind für die Nachbeobachtung verloren gegangen. Tabelle 3 zeigt die Übersicht für die 30-Tage-Überlebensrate und das Therapiesetting in dem die Patient*innen nach der Beurteilung in der Notaufnahme betreut wurden.

		Geschlecht		
		"männlich"	"weiblich"	Gesamt
Alter	Mittelwert	65	68	67
	Standardabweichung	18	20	19
	Median	67	74	73
	Maximum	95	99	99
	Minimum	23	18	18

Tabelle 2: Altersverteilung im Gesamtkollektiv (n=160)

		Anzahl
Therapiesetting	ambulant	58
	stationär	98
	ICU	4
30d Überleben	ja	63
	nein	14
	loss of follow-up	83

Tabelle 3: Therapiesetting und 30-Tage-Überlebensrate im Gesamtkollektiv

Die Verteilung der chronischen Grunderkrankungen im Gesamtkollektiv ist in Abbildung 6 dargestellt, wobei die zugrundeliegenden Erkrankungen einer übergestellten Kategorie zugeordnet wurden. Die Zuordnung erfolgte dabei entsprechend dem primär betroffenen Organsystem mit der Zunahme onkologischer, rheumatologischer und psychiatrischer Erkrankungen als eigenständige Kategorien. Die Auswertung zeigte, dass 104 von 160 (65%) Patient*innen von mindestens einer chronischen Erkrankung des kardiovaskulären Systems betroffen waren. Somit handelte es sich bei den kardiovaskulären Erkrankungen um die Gruppe der führenden chronischen Erkrankungen innerhalb des beobachteten Patient*innenkollektivs. Die Subgruppenanalyse des getesteten Patient*innenkollektivs in Abbildung 7 zeigt weiterhin, dass die durchschnittliche Anzahl an erkrankten Organsystemen mit steigendem Alter zunahm.

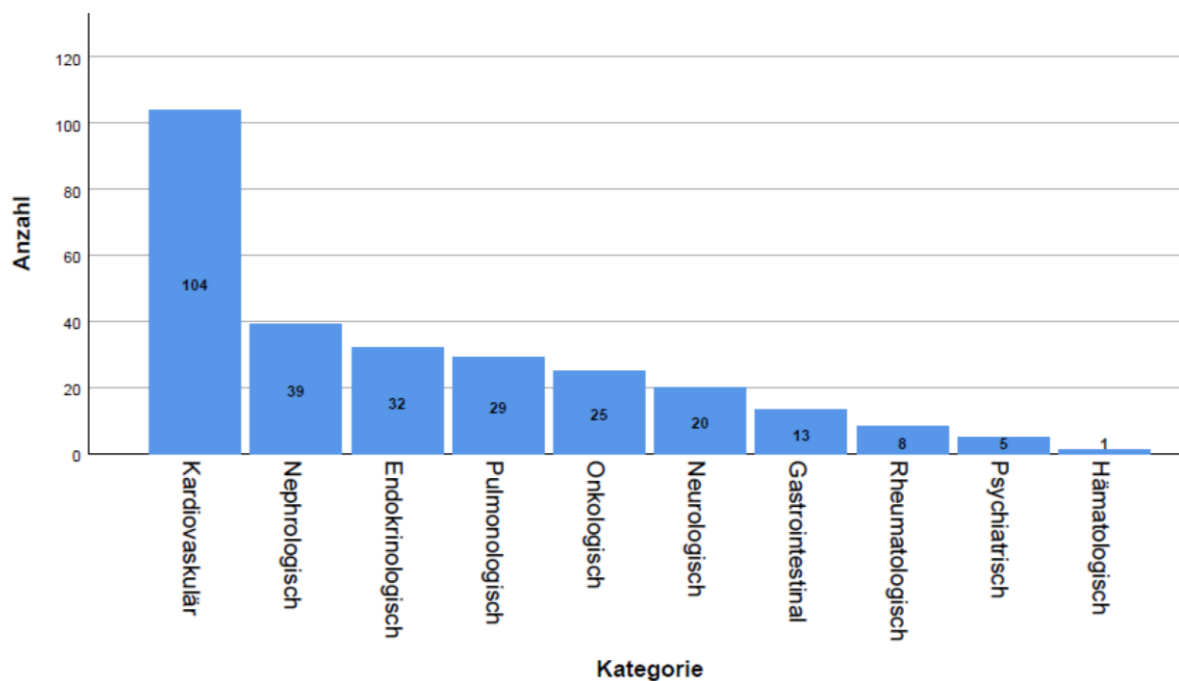


Abbildung 6: Verteilung chronischer Grunderkrankungen im Gesamtkollektiv (n=160) kategorisiert nach betroffenen Organsystemen

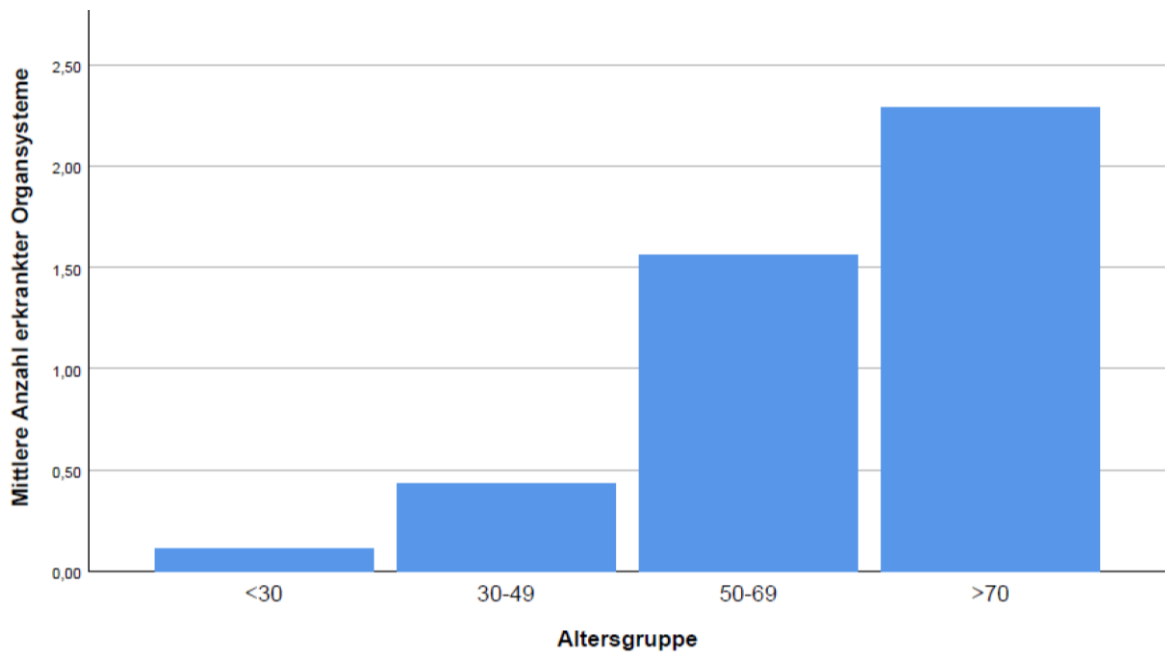


Abbildung 7: Anzahl durchschnittlich erkrankter Organsysteme in den verschiedenen Altersgruppen des Gesamtkollektivs (n=160)

3.2 Klinische Performance des SARS-CoV-2 Rapid Antigen Test

Es wurden 160 Patient*innen zeitgleich mittels Antigentest und RT-PCR auf das Vorliegen einer Infektion mit SARS-CoV-2 untersucht. Tabelle 4 fasst die Ergebnisse dieser Untersuchungen zusammen. Die Prävalenz einer COVID-19 Infektion in dem untersuchten Gesamtkollektiv lag bei 35% (56/160). Gemessen an den Ergebnissen der RT-PCR Untersuchung lieferte der SARS-CoV-2 Rapid Antigen Test 34 richtig-positive und 22 falsch-negative Ergebnisse. 104 Patient*innen wurden richtig-negativ und null falsch-positiv getestet. Daraus ergeben sich für den SARS-CoV-2 Rapid Antigen Test eine Sensitivität von 60,7% (95% KI: 47,9-73,5), eine Spezifität von 100% (95% KI: 100-100), ein PPV von 100% (95% KI: 100-100) und ein NPV von 82,5% (95% KI: 76,1-89,2).

		RT-PCR		Gesamt
		negativ	positiv	
Antigentest	negativ	104	22	126
	positiv	0	34	34
Gesamt		104	56	160

Tabelle 4: Ergebnisse des SARS-CoV-2 Rapid Antigen Test im Vergleich mit den Ergebnissen einer SARS-CoV-2 RT-PCR

3.3 Klinische Performance des SARS-CoV-2 Rapid-Antigen Test gemessen an den Ct-Werten RT-PCR-positiv getesteter Patient*innen

Der Vergleich der Ct-Werte der E- und N2-Gensequenzen für die Gruppen der richtig-positiv und falsch-negativ getesteten Patient*innen zeigte, dass ein statistisch signifikanter Unterschied im Verteilungsmuster vorliegt ($p < 0,001$). In der Gruppe der richtig-positiv getesteten Patient*innen betrug der mittlere Ct-Wert für die E-Gensequenz 20 mit einer Standardabweichung von 5. Die erhobenen Werte erstreckten sich von 11 bis 31 und der Median lag bei 19. In der Gruppe der Falsch-negativen konnten höhere Werte beobachtet werden. Der Mittelwert betrug hier 31 mit einer Standardabweichung von 3 und einem Median von 31. Das Minimum lag bei 26 und das Maximum bei 38. Die deskriptive Statistik der ermittelten Ct-Werte für die E- und N2-Gensequenzen können Tabelle 5 entnommen werden. Eine graphische Darstellung der Ergebnisse erfolgt durch die Boxplots in den Abbildungen 8 und 9.

		Richtig-positiv	Falsch-negativ
E-Gensequenz	Mittelwert	20	31
	Standardabweichung	5	3
	Median	19	31
	Minimum	11	26
	Maximum	31	38
N2-Gensequenz	Mittelwert	22	34
	Standardabweichung	5	4
	Median	22	34
	Minimum	13	29
	Maximum	34	42

*Tabelle 5: Ct-Werte der E- und N2-Gensequenzen in den Subgruppen der richtig-positiv und falsch-negativ getesteten Patient*innen*

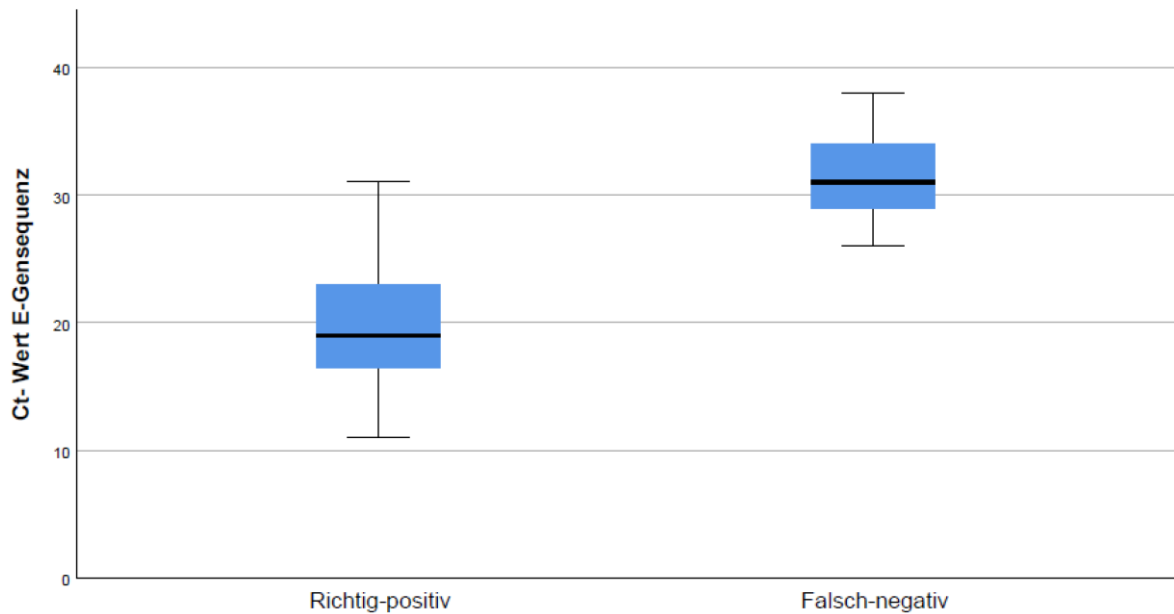


Abbildung 8: Ct-Werte (E-Gensequenz) der richtig-positiven und falsch-negativen Antigentest-Ergebnisse gemessen an der RT-PCR

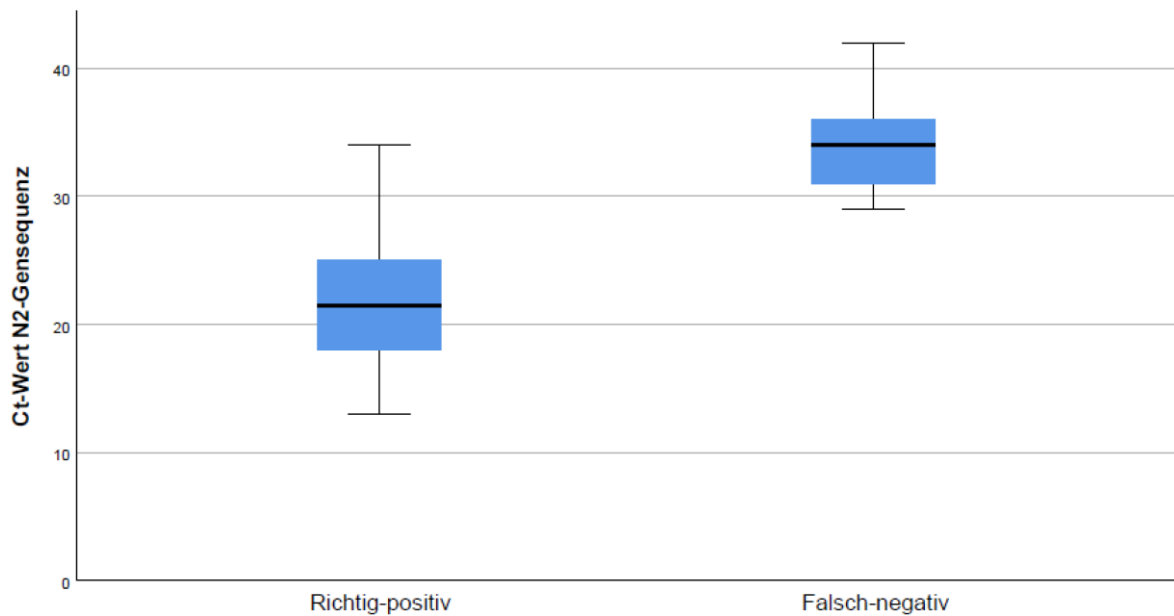


Abbildung 9: Ct-Werte (N2-Gensequenz) der richtig-positiven und falsch-negativen Antigentest-Ergebnisse gemessen an der RT-PCR

Die Analyse in Tabelle 6 zeigt, dass 19 der insgesamt 22 falsch-negativen Antigen-Testergebnisse in der Subgruppe RT-PCR-positiv getesteter Patient*innen mit Ct-Werten größer 30 aufgetreten sind. Die Sensitivität des Antigentests beträgt in dieser Gruppe somit 9,5% (95% KI: 9,1-9,9). In der Gruppe der Patient*innen mit Ct-Werten zwischen 26-30 wurden 3 Personen falsch-negativ und 6 Personen richtig-positiv getestet, woraus sich eine Sensitivität von 66,7% (95% KI: 65,7-67,7) ergibt. Für die Subgruppe der RT-PCR-positiv getesteten Patient*innen mit Ct-Werten von 25 oder kleiner beträgt die Sensitivität des Antigentests 100% (95% KI: 100-100).

		Ct-Wert			Gesamt
		≤25	26-30	≥31	
Antigentest	falsch-negativ	0	3	19	22
	richtig-positiv	26	6	2	34
Gesamt		26	9	21	56

Tabelle 6: Richtig-positive und falsch-negative Antigentest-Ergebnisse gemessen an den Ergebnissen der RT-PCR für die Subgruppen mit Ct-Werten ≤25, 26-30 und ≥31

4. Diskussion

4.1 Vergleich der ermittelten Sensitivität und Spezifität mit den Herstellerangaben

Der im Rahmen dieser Diplomarbeit verwendete SARS-CoV-2 Rapid Antigen Test der Firmen SD-Biosensor/Roche besitzt laut Herstellerangaben eine Sensitivität von 96,52% (95% KI: 91,11-99,04) und eine Spezifität von 99,68 (95% KI: 98,22-99,99) (6). Die Bestimmung der Leistungsparameter erfolgte hierbei anhand von prospektiven, randomisierten Einfachblindstudien in Brasilien und Indien, in denen 115 positive Proben für die Bestimmung der Sensitivität und 311 negative Proben für die Bestimmung der Spezifität genutzt wurden (6). Die Auswertung der Ergebnisse in Tabelle 4 zeigt, dass sich im Rahmen dieser Diplomarbeit eine Sensitivität von 60,7% (95% KI: 47,9-73,5) und eine Spezifität von 100% (95% KI: 100-100) für den SARS-CoV-2 Rapid Antigen Test ergeben. Somit konnte bei der Sensitivität des Tests, nicht aber bei der Spezifität, eine deutliche Abweichung von den Herstellerangaben beobachtet werden.

Vergleicht man die Ergebnisse anderer Studien mit denen dieser Arbeit, so zeichnet sich ein ähnliches Bild ab. Eine systematische Übersichtsarbeit von Dinnes et al. (7) untersuchte die Ergebnisse von 48 Studien zur Bestimmung der diagnostischen Leistungsparameter verschiedener SARS-CoV-2 Antigentests gemessen an den Ergebnissen von parallel durchgeführten RT-PCR Untersuchungen. Die Autor*innen konnten zeigen, dass die ermittelten Sensitivitätsangaben der einzelnen Studien eine beachtliche Variabilität aufweisen, die ermittelten Spezifitäten jedoch meist nahe an den Herstellerangaben liegen (7). Die durchschnittliche Sensitivität der verschiedenen SARS-CoV-2 Antigentestsysteme in dem untersuchten Gesamtkollektiv (21.614 Proben) betrug 68,9% (95% KI: 61,8-75,1) und die durchschnittliche Spezifität 99,6% (95% KI: 99,0- 99,8) (7). Die Subgruppenanalyse der Studien mit dem SARS-CoV-2 Rapid Antigen Test der Firmen SD-Biosensor/Roche ergab eine durchschnittliche Sensitivität von 79,3% (95% KI: 69,6-86,6%) und eine durchschnittliche Spezifität von 98,5% (95% KI: 97,9-98,9); beschränkte man diese Analyse auf die Studien, bei denen die Testdurchführung genau nach Herstellerangaben erfolgte, so ergibt sich eine durchschnittliche Sensitivität und Spezifität von 85,8% (95% KI: 80,5-89,8) und 99,2% (95% KI: 98,2-99,6) (7). In einer analogen systemischen Übersichtsarbeit konnten Bruning et al. (8) vergleichbare Ergebnisse für andere viral-respiratorische Erreger wie Influenzaviren (Sensitivität 61,1%, Spezifität 98,9%) und das Humane Respiratorische Synzytial-Virus (Sensitivität 75,3%, Spezifität 98,7%) nachweisen.

4.2 Praktische Auswirkung der abweichenden Sensitivität auf die prädiktiven Werte des SARS-CoV-2 Rapid Antigen Test

In dem hier untersuchten Gesamtkollektiv (n=160) betrug die Prävalenz der SARS-CoV-2 Infektion 35% (56/160). Für diese Prävalenz ergaben sich ein PPV von 100% (95% KI: 100-100) und ein NPV von 82,5% (95% KI: 76,1-89,2). Die hohe Prävalenz war darauf zurückzuführen, dass es sich bei den untersuchten Personen um Patient*innen der Notaufnahme handelt, die entsprechend eines Triage-Systems als COVID-19 Verdachtsfälle identifiziert wurden. Somit gilt es zu beachten, dass die beobachtete Prävalenz nicht repräsentativ für die Verbreitung der COVID-19 Infektion in der Gesamtbevölkerung war. Da in der untersuchten Kohorte keine falsch-positiven Antigentestergebnisse aufgetreten sind und die Spezifität entsprechend bei 100% liegt, würde der PPV auch bei sinkender Prävalenz gleichbleiben, während der NPV erwartungsgemäß steigen würde.

Die Abhängigkeit des PPV und des NPV von der zugrundeliegenden Prävalenz einer Erkrankung innerhalb der Bevölkerung wurde bereits in der Einleitung dieser Diplomarbeit beschrieben. Um dieses Abhängigkeitsverhältnis genauer zu erörtern zeigt Tabelle 7 eine Beispielrechnung mit der ermittelten Sensitivität (hier: 60,7%) und Spezifität (hier: 100%) für eine hypothetische Kohorte von 10.000 getesteten Patient*innen und einer Prävalenz von 1%, 5% und 10%. Letztere entspricht 100, 500 und 1000 Erkrankten. Da der PPV eines Tests bei einer Spezifität von 100% definitionsgemäß bei 100% liegt, wird hier exemplarisch mit der Spezifitätsangabe des Herstellers von 99,68% gerechnet. Der Wert 1-NPV entspricht dem Prozentsatz der infizierten jedoch Antigen-negativ getesteten Patient*innen. Tabelle 8 zeigt die gleiche Beispielrechnung unter Verwendung der Sensitivitäts- und Spezifitätsangaben des Herstellers.

		RP	FP	RN	FN	PPV (%)	NPV (%)	1-NPV (%)
Prävalenz	1%	61	32	9868	39	65,6	99,6	,4
	5%	303,5	30	9470	196,5	91,0	98,0	2,0
	10%	607	29	8971	393	95,4	95,8	4,2

*Tabelle 8: Bestimmung der prädiktiven Werte mit einer Antigentest-Sensitivität von 60,7% und -Spezifität von 99,68% an einer hypothetischen Kohorte von 10.000 Patient*innen*

		RP	FP	RN	FN	PPV (%)	NPV (%)	1-NPV (%)
Prävalenz	1%	97	32	9868	3	75,2	99,96	,04
	5%	483	30	9470	17	94,1	99,8	,2
	10%	965	29	8971	35	97,1	99,6	,4

*Tabelle 7: Bestimmung der prädiktiven Werte mit einer Antigentest-Sensitivität von 96,52% und -Spezifität von 99,68% (Herstellerangaben) an einer hypothetischen Kohorte von 10.000 Patient*innen*

Die Ergebnisse in Tabelle 7 und 8 zeigen, dass die absolute Anzahl an richtig-negativen und falsch-positiven Antigentestergebnissen in beiden Beispielrechnungen identisch ist. Dies ist auf die gleichbleibende Spezifität von 99,68% zurückzuführen. Wird hingegen die Sensitivität auf 96,52% anstatt 60,7% festgelegt, führt dies zu einem Anstieg der richtig-positiven Testergebnisse und zu einer Reduktion der falsch-negativen Testergebnisse. Entsprechend kommt es auch zu einer Erhöhung des PPV bzw. NPV, da der relative Anteil der richtig-positiven Testergebnisse an allen positiven Testergebnissen steigt bzw. der relative Anteil der falsch-negativen Testergebnisse an allen negativen Testergebnissen sinkt. Der Vergleich zwischen Tabelle 7 und 8 zeigt auch, dass die Höhe der Sensitivität eines gegebenen Tests vor allem in Phasen hoher Prävalenz eine wichtige Rolle spielt, da bei niedrigerer Sensitivität sonst große Mengen falsch-negativer Testergebnisse beobachtet werden können (49). Dies spiegelt sich auch in dem Wert 1-NPV wider. Bei einer Testsensitivität von 60,7% und einer Prävalenz von 10% beträgt der Anteil der infizierten und somit potenziell infektiösen Personen an der Gruppe der negativ-getesteten Patient*innen 4,2%, während er sich bei einer Testsensitivität von 96,52% auf 0,4% beläuft. Für die Spezifität eines gegebenen Tests gilt umgekehrt, dass vor allem in Phasen niedriger Prävalenz bzw. geringer Vortestwahrscheinlichkeit hohe Anforderungen gelten müssen, um die absolute Anzahl falsch-positiver Testergebnisse und die daraus resultierenden Konsequenzen (z.B. Absonderungsbescheide) zu minimieren.

4.3 Diskussion der Leistungsparameter des Antigentests im Kontext der Ct-Werte als Indikator für die Infektiösität

Tabelle 6 zeigt die Anzahl richtig-positiver und falsch-negativer Antigentest-Ergebnisse gemessen an den Ergebnissen der RT-PCR für die Subgruppen mit Ct-Werten ≤ 25 , 26-30 und ≥ 31 . Mit Hilfe dieser Ergebnisse kann die Sensitivität des Antigentests innerhalb der einzelnen Subgruppen bestimmt werden. Die Auswertung zeigt, unter Berücksichtigung niedriger Fallzahlen, dass die Sensitivität des Antigentests mit steigendem Ct-Wert deutlich abnimmt. So beträgt die Sensitivität 100% (95% KI: 100-100) in der Gruppe mit Ct-Werten kleiner-gleich 25, 66,7% (95% KI: 65,7-67,7) in der Gruppe mit Ct-Werten zwischen 26 und 30 und 9,5% (95% KI: 9,1-9,9) in der Gruppe mit Ct-Werten größer-gleich 31. Das bedeutet, dass im Rahmen dieser Studie, die Fähigkeit des SARS-CoV-2 Rapid Antigen Test einer infizierten Person ein positives Testergebnis zu liefern mit steigendem Ct-Wert abnimmt.

Der Vergleich mit bestehender Literatur zeigt eine ähnliche Tendenz. In ihrer systematischen Übersichtsarbeit zur Bestimmung der diagnostischen Leistungsparameter verschiedener SARS-CoV-2 Antigentests zeigten Dinnes et al. (7) in einer Subgruppenanalyse, dass die durchschnittliche Sensitivität für höhere Viruslasten bei 94,5% (95% KI: 91,0-96,7) und für niedrigere Viruslasten bei 40,7% (95% KI: 31,8-50,3) liegt. In den einzelnen Studien, die in dieser Analyse enthalten sind, wurden hohe Viruslasten bei Ct-Werten < 25 oder ≤ 25 und niedrige Viruslasten bei Ct-Werten > 25 oder ≥ 25 angenommen (7). Wurde der Grenzwert für hohe Viruslasten mit einem Ct-Wert von ≤ 32 bzw. 33 definiert, so zeigten die Autor*innen, dass die durchschnittliche Sensitivität der verwendeten Antigentests für hohe Viruslasten bei 82,5% (95% KI: 74,0-88,6) und für niedrige Viruslasten bei 8,9% (95% KI: 3,3-21,7) liegt (7). Diese Ergebnisse werden durch die Auswertungen einer anderen systematischen Übersichtsarbeit und Meta-Analyse unterstützt (50).

Die Ct-Werte RT-PCR-positiv getesteter Patient*innen können als Indikator für die Viruslast im entnommenen Probematerial herangezogen werden, wobei, wie eingangs beschrieben, eine inverse Relation zwischen dem Ct-Wert und der Viruskonzentration in der Probelösung besteht (9). Hierbei gilt es jedoch zu beachten, dass ein positives RT-PCR Testergebnis lediglich dem Nachweis viraler RNA dient und nicht in der Lage ist zwischen infektiösen und nicht-infektiösen Patient*innen zu unterscheiden. Pekosz et al. (9) konnten in einer Studie zeigen, dass der PPV der RT-PCR bezogen auf die Infektiösität der getesteten

Personen bei einer Prävalenz von 11,2% bei 73,7% (95% KI, 60,8-85,3) liegt und somit 26,3% der positiv-getesteten Patient*innen nicht infektiös waren. Flächendeckende oder hochfrequentierte Testungen mit der RT-PCR bergen also das Risiko, vor allem in Phasen hoher Prävalenz, zur Absonderung bzw. Isolierung zahlreicher nicht-infektiöser Personen im Sinne der gesetzlichen Quarantäneanordnung zu führen. Aus diesem Grund besteht ein großes praktisches Interesse darin, das Ausmaß der Infektiösität eines Individuums von dem Ct-Wert der RT-PCR Untersuchung abzuleiten und in weiterer Folge zu untersuchen, ob Antigentests in dem Zeitraum hoher Infektiösität eine ausreichende Sensitivität aufweisen.

Untersuchungen von Probematerialien aus den oberem Atemwegen zeigten, dass die Viruslast, gemessen an den Ct-Werten der RT-PCR Untersuchungen, zum Zeitpunkt des Symptombeginns ein Maximum erreicht und anschließend im weiteren Krankheitsverlauf kontinuierlich abnimmt (11,37,51). Bei asymptomatischen Personen scheint zum Zeitpunkt der Infektion die Menge ausgeschiedener viraler RNA vergleichbar hoch zu sein wie bei symptomatischen Personen (11). Des Weiteren scheint ein starker Zusammenhang zwischen dem Ct-Wert und der Infektiösität einer Person zu bestehen. Die Infektiösität eines Individuums wird grundsätzlich bei dem Vorliegen einer positiven Viruskultur angenommen. Die Autor*innen mehrerer Studien konnten zeigen, dass mit steigendem Ct-Wert die Wahrscheinlichkeit eine positive Viruskultur aus der Probe zu isolieren abnimmt (10,11,51,52). In Bullard et al. (10) konnten keine Viruskulturen bei Ct-Werten >24 isoliert werden, während in La Scola et. al (52) positive Viruskulturen bis zu Ct-Werten von 33 isoliert werden konnten. Singanayagam et al. (51) konnten in 5 von 60 Proben mit Ct-Werten ≥ 35 positive Viruskulturen isolieren. Dies zeigt, dass der Ct-Wert zwar als Indikator für die Infektiösität dienen kann, in seltenen Fällen jedoch auch ein Infektionspotenzial von Personen mit hohen Ct-Werten ausgehen kann.

Die Auswertung der Ergebnisse dieser Diplomarbeit und der Vergleich mit bestehender Literatur zeigen, dass SARS-CoV-2 Antigentests bei hohen Viruslasten und somit hochinfektiösen Patient*innen ($Ct \leq 25$) eine hohe Sensitivität aufweisen (7,50). Mit steigendem Ct-Wert und sinkender Viruslast sinkt jedoch auch die Sensitivität, was zu einer steigenden Anzahl an falsch-negativen Testergebnissen führt. Der mittlere Ct-Wert der falsch-negativ getesteten Patient*innen lag in dem hier untersuchten Kollektiv bei 31 (E-Gensequenz) bzw. 34 (N2-Gensequenz). Es ist davon auszugehen, dass vom Großteil dieser

falsch-negativ getesteten Personen keine Ansteckungsgefahr ausging. Eine potenzielle Infektiosität kann retrospektiv jedoch nicht mit absoluter Sicherheit ausgeschlossen werden, da in seltenen Fällen eine Infektionsgefahr von Personen mit hohen Ct-Werten ausgehen kann und letztere sowohl in der Anfangsphase der Inkubationszeit, als auch am Ende der Infektion beobachtet werden können (11,51,52).

4.4 Der Einsatz von SARS-CoV-2 Antigentests als Diagnostik- und Screeningmaßnahme

Nationale Teststrategien haben in vielen Ländern eine tragende Rolle in der Bekämpfung der COVID-19 Pandemie eingenommen. Die österreichische Strategie umfasst neben den behördlich veranlassten Testungen von Personen mit COVID-19-Symptomen und Kontaktpersonen von bestätigten SARS-CoV-2-Fällen auch spezifische sowie bevölkerungsweite Screeningprogramme (53). Während die behördlich angeordneten Testungen dem Zweck dienen, Personen mit einer hohen Vortestwahrscheinlichkeit auf das Vorliegen einer SARS-CoV-2-Infektion zu untersuchen und ggf. eine Quarantäneanordnung zu veranlassen, zielen die spezifischen und bevölkerungsweiten Screeningprogramme darauf ab, das Übertragungsrisiko in vulnerablen oder exponierten Personengruppen zu reduzieren und prä- bzw. asymptomatisch Infizierte in der Allgemeinbevölkerung frühzeitig zu erkennen (53). Dafür kommen hauptsächlich die hier besprochenen RT-PCR-Untersuchungen und Antigentests verschiedener Hersteller zum Einsatz, wobei erstere vor allem bei behördlich veranlassten Testungen und letztere primär im Rahmen der Screeningprogramme verwendet werden (53,54). Nicht nur bei nationalen Teststrategien, sondern auch grundsätzlich gilt, dass die Leistungsparameter der einzelnen Testverfahren sowie die Sinnhaftigkeit ihrer Verwendung stets im Kontext des konkreten Einsatzgebietes diskutiert werden müssen. Soll ein Test zur endgültigen Diagnose einer gegebenen Erkrankung genutzt werden, so sollte er eine möglichst hohe Sensitivität aufweisen, damit die Anzahl an falsch-negativen Testergebnissen minimiert wird und möglichst wenigen Patient*innen eine adäquate Therapie verwehrt bleibt. Das gleiche Prinzip gilt bei der Eindämmung von Infektionskrankheiten wie COVID-19 für Personen, die Kontakt zu einer nachweislich infizierten Person hatten und somit eine hohe Vortestwahrscheinlichkeit für die Infektion aufweisen. Bei bevölkerungsweiten Screeningprogrammen können hingegen gewisse Abstriche in der Sensitivität durch hochfrequentierte, günstige und breitflächige Testungen kompensiert werden (21). Larremore et al. (22) zeigten in ihrer

Modellierungsstudie, dass eine höhere Testfrequenz und eine kürzere Zeit bis zum Erhalt des Testergebnisses zu einer deutlichen Reduktion der Gesamtinfektionen und der Reproduktionszahl führen können, während die Erhöhung der Testsensitivität nur eine marginale Wirkung hat. Wichtig hierbei ist jedoch, dass die Spezifität eines solchen Screeningstests, vor allem bei niedriger Prävalenz, möglichst hoch ist, da der Test andernfalls einen niedrigen PPV und viele falsch-positive Testergebnisse zur Folge hat. Dies könnte das Vertrauen der Bevölkerung in die entsprechende Screeningmaßnahme reduzieren und somit deren Effektivität dezimieren (21).

Die Ergebnisse dieser Diplomarbeit und der Vergleich mit bestehender Literatur zur Erhebung der Leistungsparameter von SARS-CoV-2-Antigentests zeigen, dass die Sensitivität von Antigentests in klinischen Validierungsstudien häufig unter den Herstellerangaben liegt und der Sensitivität von SARS-CoV-2 RT-PCR-Untersuchungen grundsätzlich unterlegen ist (7,50). Die Spezifität von Antigentests liegt hingegen sowohl bei dem hier untersuchten SARS-CoV-2 Rapid Antigen Test der Firmen SD Biosensor/Roche, als auch bei anderen Antigentestsystemen, nahe an den Herstellerangaben und an der Spezifität von RT-PCR-Untersuchungen (7,50). Abweichungen der Testsensitivität von den Herstellerangaben können vor allem in Phasen hoher Prävalenz zu einem Anstieg der falsch-negativen Antigentestergebnisse und einer Reduktion des NPV führen. Um eine möglichst hohe Sensitivität zu gewährleisten, sollte die Durchführung des Tests und die Interpretation des Ergebnisses durch geschultes Personal und streng nach den Vorgaben des Herstellers erfolgen (45). Da falsch-negative Antigentestergebnisse auch dann nicht ausgeschlossen werden können, sollte das Testergebnis stets als Momentaufnahme verstanden werden und nicht zur Vernachlässigung sonstiger Hygienerichtlinien führen. Erfordern die Umstände der Testung eine besonders hohe Testsensitivität, z.B. um den Zugang zu vulnerablen Gruppen in Pflegeheimen zu gewährleisten, um eine konkrete Kontaktperson zu identifizieren oder eine therapieentscheidende Diagnose zu stellen, sollte auf eine RT-PCR-Untersuchung zurückgegriffen werden (21). Außerdem sollten positive Antigentestergebnisse in Phasen niedriger Prävalenz mit einer RT-PCR bestätigt werden um die Auswirkungen von falsch-positiven Ergebnissen zu minimieren (46). Umgekehrt sollten Antigentests stets dann zum Einsatz kommen, wenn RT-PCR-Untersuchungen den Anforderungen der Testmaßnahme nicht gerecht werden. Dies ist beispielsweise bei Screeningprogrammen der Fall, die auf bevölkerungsweite und hochfrequentierte Testungen

setzen. Hier können Antigentests einen entscheidenden Beitrag zur Eindämmung des Infektionsgeschehens leisten (9,21,22). Weiterhin sollten Antigentests dort zum Einsatz kommen, wo RT-PCR-Untersuchungen aufgrund überlasteter Kapazitäten, hoher Anschaffungskosten entsprechender Testsysteme oder dem Bedarf eines schnellen Testergebnisses nicht durchführbar sind (45).

4.5 Limitationen und Stärken

Die Ergebnisse dieser Diplomarbeit und deren Diskussion sollten unter Berücksichtigung einiger Limitationen erfolgen. Bei dem hier genutzten SARS-CoV-2 Rapid Antigen Test der Firmen SD-Biosensor/Roche handelt es sich um einen Antigentest, der nur zur Anwendung durch Fachpersonal zugelassen ist. Daher gilt es zu beachten, dass sich die hier beschriebenen Ergebnisse nicht ohne Weiteres auf die mittlerweile verfügbaren SARS-CoV-2-Antigentests zur Selbstanwendung übertragen lassen. Erste Studien, die selbstdurchgeführte Antigentests durch Abstriche im Bereich der mittleren Nasenmuschel mit Antigentests vergleichen, die von Fachpersonal mittels nasopharyngealen Abstrichen durchgeführt wurden, zeigten, dass die Tests zur Selbstanwendung eine etwas niedrigere Sensitivität aufweisen (55,56). Weiterhin sollte berücksichtigt werden, dass auch ein direkter Vergleich mit anderen Antigentests, die für die Anwendung durch Fachpersonal zugelassen sind, nur eingeschränkt möglich ist, da zwischen den Tests verschiedener Hersteller eine große Variabilität bezüglich der Leistungsparameter beobachtet werden kann (7).

Die Betrachtung des Ct-Wertes als Anhaltspunkt für die Infektiosität einer infizierten Person obliegt ebenfalls einigen wichtigen Limitationen. Zunächst können präanalytische Faktoren wie die Art und der Ort der Probenentnahme sowie die Zusammensetzung und die Menge des Transportmediums die Höhe des Ct-Werts beeinflussen (57). Entscheidend sind jedoch vor allem analytische Faktoren des verwendeten PCR-Systems wie die Effizienz der RNA-Extraktion aus dem Probematerial, die Auswahl der Primer (v.a. für die Reverse Transkriptase) und der Zielsequenzen, sowie die regelmäßige Kalibration des PCR-Geräts (15). Aufgrund dieser und weiterer Einflussfaktoren kann eine signifikante Varianz bei den Ct-Werten verschiedener Echtzeit-PCR-Systeme und auch in geringerem Ausmaß bei den Ct-Werten eines einzelnen Systems beobachtet werden (57).

Bei dem hier untersuchten Kollektiv handelte es sich um Patient*innen, die durch das Klinikpersonal anhand eines standardisierten Triage-Protokolls als potenzielle COVID-19 Verdachtsfälle identifiziert wurden. Eine Differenzierung in einen symptomatischen, asymptomatischen oder präsymptomatischen Erkrankungszustand ist nicht erfolgt. Dinnes et al. (7) konnten in ihrer systemischen Übersichtsarbeit zeigen, dass die durchschnittliche Sensitivität von SARS-CoV-2 Antigentests bei symptomatischen Patient*innen höher ist als bei asymptomatischen Patient*innen. Die Autor*innen konnten auch zeigen, dass die durchschnittliche Sensitivität der Tests in der ersten Woche nach Symptombeginn höher ist als in der zweiten Woche nach Symptombeginn (7). Der Zeitpunkt des Symptombeginns sollte grundsätzlich einen wichtigen Parameter bei der Interpretation von RT-PCR- und Antigentests darstellen, da die Ausscheidung von Virusbestandteilen mit Symptombeginn ein Maximum erreicht und danach kontinuierlich abnimmt (37). Außerdem konnte eine Ausscheidung von replikationsfähigem Virus über den neunten Tag nach Symptombeginn hinaus in einer systemischen Übersichtsarbeit nicht beobachtet werden (11).

Zu den Stärken dieser Diplomarbeit zählt, dass die RT-PCR-Testung von 150 Patient*innen, mit dem GeneXpert®-System der Firma Cepheid am Klinischen Institut für Medizinische und Chemische Labordiagnostik des LKH-Universitätsklinikums Graz erfolgt ist. Da zur Analyse der Probenmaterialien also stets das gleiche System und Labor genutzt wurden, lies sich die Auswirkung der oben beschriebenen Einflussfaktoren auf die Interpretation und Aussagekraft von Ct-Werten minimieren. Des Weiteren sind die Probenentnahmen für Antigen- und RT-PCR-Testungen unter kontrollierten und standardisierten Bedingungen durch diplomiertes Gesundheits- und Pflegepersonal erfolgt. Eine weitere Stärke ist, dass das Profil des untersuchten Patient*innenkollektivs bezüglich der Geschlechterverteilung und den Grunderkrankungen in etwa dem Profil der österreichischen Allgemeinbevölkerung entspricht. Abbildung 6 zeigt, dass es sich bei den kardiovaskulären Erkrankungen um die Gruppe der führenden chronischen Erkrankungen innerhalb des Patient*innenkollektivs handelte. Dieses Ergebnis deckt sich mit den Ergebnissen der Statistik Austria, die im Auftrag des Bundesministeriums für Soziales, Gesundheit, Pflege und Konsumentenschutz (BMSGPK) feststellen konnte, dass die essentielle Hypertonie in den Gruppen der 60 bis 74-jährigen und über 75-jährigen mit 41,9% und 54,5% die häufigste chronische Erkrankung der österreichischen Bevölkerung im Jahre 2019 ist (58). Abbildung 7 zeigt weiterhin, dass die durchschnittliche Anzahl an erkrankten Organsystemen im untersuchten

Patient*innenkollektiv mit steigendem Alter zunahm. Eine ähnliche Tendenz konnte von der Statistik Austria in der Österreichischen Gesundheitsbefragung 2019 insofern beobachtet werden, als dass der relative Anteil an chronisch erkrankten Personen stetig über die Altersgruppen hinweg zunimmt (58).

4.6 Ausblick auf künftige Forschungsfragen

Die im Zuge dieser Diplomarbeit durchgeführten Probenentnahmen erfolgten im Zeitraum vom 18. November 2020 bis zum 30. November 2020. Somit handelte es sich bei dem hier untersuchten Kollektiv um eine Gruppe nicht-geimpfter Patient*innen. Im Rahmen der Zulassungsstudien der mRNA- und Vektorimpfstoffe gegen SARS-CoV-2 konnte nachgewiesen werden, dass die vollständige Immunisierung in den Gruppen der geimpften Personen eine deutliche Reduktion von symptomatischen Infektionen und schweren Krankheitsverläufen zur Folge hat (59-61). Obwohl im weiteren Verlauf bestätigt werden konnte, dass geimpfte Personen grundsätzlich ein geringeres Risiko aufweisen sich mit SARS-CoV-2 zu infizieren, konnten trotz vollständigem Impfschutz Durchbruchinfektionen beobachtet werden (62-64). Die durchschnittlichen Ct-Werte geimpfter und infizierter Personen waren in einer großen Studie zur Effektivität des Impfstoffs Comirnaty/BNT162b2 der Firmen Biontech/Pfizer signifikant höher als die durchschnittlichen Ct-Werte nicht-geimpfter Personen (64). Dementsprechend konnten auch weniger richtig-positive bzw. mehr falsch-negative Antigentestergebnisse bei geimpften Personen mit RT-PCR-bestätigter Infektion beobachtet werden (64). Eine wichtige Aufgabe künftiger Studien wird es daher sein, die Sensitivität und Spezifität von Antigentests bei geimpften Personen zu erheben und zu untersuchen, welches Infektionsrisiko von falsch-negativen und richtig-positiven Testergebnissen ausgeht. Weiterhin sollte aufgrund der steigenden Verbreitung von selbstdurchgeführten Antigentests eine analoge Analyse für Antigentests erfolgen, bei denen die Probenentnahme im Bereich der mittleren Nasenmuschel oder des Nasenvorhofs erfolgt.

4.7 Conclusio

Die Ergebnisse dieser Diplomarbeit zeigen, dass im Rahmen der durchgeführten Feldstudie eine deutliche Abweichung der Sensitivität des untersuchten SARS-CoV-2 Antigentests von den Herstellerangaben beobachtet werden konnte. Darüber hinaus konnte gezeigt werden, dass die Sensitivität des Antigentests bei infizierten Patient*innen mit steigendem Ct-Wert der parallel durchgeführten RT-PCR-Untersuchungen abnimmt. Die Spezifität lag hingegen

nahe an der Angabe des Herstellers. Abweichungen in der Testsensitivität kommen vor allem in Phasen hoher Prävalenz zum Tragen, da in diesem Fall größere Mengen falsch-negativer Testergebnisse beobachtet werden können.

Literaturverzeichnis

- (1) Ghebreyesus T. WHO Director-General's opening remarks at the media briefing on COVID-19 - 11 March 2020. 2020; Available at: <https://www.who.int/director-general/speeches/detail/who-director-general-s-opening-remarks-at-the-media-briefing-on-covid-19---11-march-2020>. Accessed 02.08.2021.
- (2) Weissleder R, Lee H, Ko J, Pittet MJ. COVID-19 diagnostics in context. *Sci Transl Med* 2020 Jun 3;12(546):eabc1931. doi: 10.1126/scitranslmed.abc1931.
- (3) World Health Organization. Diagnostic testing for SARS-CoV-2: interim guidance, 11 September 2020. 2020; Available at: <https://apps.who.int/iris/handle/10665/334254>. Accessed 02.08.2021.
- (4) 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. *Euro Surveill* 2020 Jan;25(3):2000045. doi: 10.2807/1560-7917.ES.2020.25.3.2000045.
- (5) Guglielmi G. The explosion of new coronavirus tests that could help to end the pandemic. *Nature* 2020 Jul;583(7817):506-509.
- (6) Roche Deutschland Holding GmbH. SARS-CoV-2 Rapid Antigen Test. Available at: https://assets.cwp.roche.com/f/94122/x/2bfe52794a/2-packungsbeilage_sars-cov-2_rapid_antigen_test-c-roche.pdf. Accessed 02.08.2021.
- (7) Dinnes J, Deeks JJ, Adriano A, Berhane S, Davenport C, Dittrich S, et al. Rapid, point-of-care antigen and molecular-based tests for diagnosis of SARS-CoV-2 infection. *Cochrane Database Syst Rev* 2020 Aug 26;8:CD013705.
- (8) Bruning AHL, Leeflang MMG, Vos, J. M. B. W., Spijker R, de Jong MD, Wolthers KC, et al. Rapid Tests for Influenza, Respiratory Syncytial Virus, and Other Respiratory Viruses: A Systematic Review and Meta-analysis. *Clin Infect Dis* 2017 Sep 15;65(6):1026-1032.
- (9) 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* 2021 Jan 20.
- (10) 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 17;71(10):2663-2666.
- (11) 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 Jan;2(1):e13-e22.

- (12) Möckel M, Corman VM, Stegemann MS, Hofmann J, Stein A, Jones TC, et al. SARS-CoV-2 antigen rapid immunoassay for diagnosis of COVID-19 in the emergency department. *Biomarkers* 2021 May;26(3):213-220.
- (13) Carter LJ, Garner LV, Smoot JW, Li Y, Zhou Q, Saveson CJ, et al. Assay Techniques and Test Development for COVID-19 Diagnosis. *ACS Cent Sci* 2020;6(5):591-605.
- (14) Bachman J. Reverse-transcription PCR (RT-PCR). *Methods Enzymol* 2013;530:67-74.
- (15) Bustin SA, Mueller R. Real-time reverse transcription PCR (qRT-PCR) and its potential use in clinical diagnosis. *Clin Sci (Lond)* 2005 Oct;109(4):365-379.
- (16) Nurmi J, Wikman T, Karp M, Lövgren T. High-performance real-time quantitative RT-PCR using lanthanide probes and a dual-temperature hybridization assay. *Anal Chem* 2002 Jul 15;74(14):3525-3532.
- (17) Pepe MS. The statistical evaluation of medical tests for classification and prediction. 1. publ. ed. Oxford: Oxford Univ. Press; 2003.
- (18) Parikh R, Mathai A, Parikh S, Chandra Sekhar G, Thomas R. Understanding and using sensitivity, specificity and predictive values. *Indian J Ophthalmol* 2008;56(1):45-50.
- (19) Altman DG, Bland JM. Diagnostic tests. 1: Sensitivity and specificity. *BMJ* 1994 Jun 11;308(6943):1552.
- (20) Altman DG, Bland JM. Diagnostic tests 2: Predictive values. *BMJ* 1994 Jul 9;309(6947):102.
- (21) Mina MJ, Andersen KG. COVID-19 testing: One size does not fit all. *Science* 2021 Jan 8;371(6525):126-127.
- (22) Larremore DB, Wilder B, Lester E, Shehata S, Burke JM, Hay JA, et al. Test sensitivity is secondary to frequency and turnaround time for COVID-19 screening. *Sci Adv* 2021 Jan 1;7(1):eabd5393. doi: 10.1126/sciadv.abd5393. Print 2021 Jan.
- (23) Masters PS. The molecular biology of coronaviruses. *Adv Virus Res* 2006;66:193-292.
- (24) Lu R, Zhao X, Li J, Niu P, Yang B, Wu H, et al. Genomic characterisation and epidemiology of 2019 novel coronavirus: implications for virus origins and receptor binding. *Lancet* 2020 Feb 22;395(10224):565-574.
- (25) Hu B, Guo H, Zhou P, Shi ZL. Characteristics of SARS-CoV-2 and COVID-19. *Nat Rev Microbiol* 2021 Mar;19(3):141-154.

- (26) 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 16;181(2):271-280.e8.
- (27) Centers for Disease Control and Prevention. Scientific Brief: SARS-CoV-2 Transmission . 2021; Available at: https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/science/science-briefs/sars-cov-2-transmission.html?CDC_AA_refVal=https%3A%2F%2Fwww.cdc.gov%2Fcoronavirus%2F2019-ncov%2Fscience%2Fscience-briefs%2Fscientific-brief-sars-cov-2.html#anchor_1619805150492. Accessed 12.08.2021.
- (28) Robert Koch Institut. Epidemiologischer Steckbrief zu SARS-CoV-2 und COVID-19. 2021; Available at: https://www.rki.de/DE/Content/InfAZ/N/Neuartiges_Coronavirus/Steckbrief.html;jsessionid=5831EE1B8696800F2AE793240D7BD6AE.internet072?nn=2386228#doc13776792bodyText2. Accessed 12.08.2021.
- (29) Li Y, Huang X, Yu IT, Wong TW, Qian H. Role of air distribution in SARS transmission during the largest nosocomial outbreak in Hong Kong. *Indoor Air* 2005 Apr;15(2):83-95.
- (30) Yu IT, Li Y, Wong TW, Tam W, Chan AT, Lee JH, et al. Evidence of airborne transmission of the severe acute respiratory syndrome virus. *N Engl J Med* 2004 Apr 22;350(17):1731-1739.
- (31) Li Q, Guan X, Wu P, Wang X, Zhou L, Tong Y, et al. Early Transmission Dynamics in Wuhan, China, of Novel Coronavirus-Infected Pneumonia. *N Engl J Med* 2020 Mar 26;382(13):1199-1207.
- (32) COVID-19 Investigation Team. Clinical and virologic characteristics of the first 12 patients with coronavirus disease 2019 (COVID-19) in the United States. *Nat Med* 2020 Jun;26(6):861-868.
- (33) Chan JF, Yuan S, Kok KH, To KK, Chu H, Yang J, et al. A familial cluster of pneumonia associated with the 2019 novel coronavirus indicating person-to-person transmission: a study of a family cluster. *Lancet* 2020 Feb 15;395(10223):514-523.
- (34) Wang D, Hu B, Hu C, Zhu F, Liu X, Zhang J, et al. Clinical Characteristics of 138 Hospitalized Patients With 2019 Novel Coronavirus-Infected Pneumonia in Wuhan, China. *JAMA* 2020 Mar 17;323(11):1061-1069.
- (35) Robert Koch Institut. Zur fortgesetzten SARS-Surveillance in Deutschland. 2004; Available at: https://www.rki.de/DE/Content/InfAZ/S/SARS/Surveillance.pdf?__blob=publicationFile. Accessed 13.08.2021.
- (36) 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 28;382(22):2081-2090.

- (37) 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):672-675.
- (38) Ferretti L, Wymant C, Kendall M, Zhao L, Nurtay A, Abeler-Dörner L, et al. Quantifying SARS-CoV-2 transmission suggests epidemic control with digital contact tracing. *Science* 2020 May 8;368(6491):eabb6936. doi: 10.1126/science.abb6936. Epub 2020 Mar 31.
- (39) Byambasuren O, Cardona M, Bell K, Clark J, McLaws M, Glasziou P. Estimating the extent of asymptomatic COVID-19 and its potential for community transmission: Systematic review and meta-analysis. *Official Journal of the Association of Medical Microbiology and Infectious Disease Canada* 2020 Dec;5(4):223-234.
- (40) Khalili M, Karamouzian M, Nasiri N, Javadi S, Mirzazadeh A, Sharifi H. Epidemiological characteristics of COVID-19: a systematic review and meta-analysis. *Epidemiol Infect* 2020 Jun 29;148:e130.
- (41) McAloon C, Collins Á, Hunt K, Barber A, Byrne AW, Butler F, et al. Incubation period of COVID-19: a rapid systematic review and meta-analysis of observational research. *BMJ Open* 2020 Aug 16;10(8):e039652-039652.
- (42) Elias C, Sekri A, Leblanc P, Cucherat M, Vanhems P. The incubation period of COVID-19: A meta-analysis. *Int J Infect Dis* 2021 Mar;104:708-710.
- (43) Directive 98/79/EC of the European Parliament and of the Council of 27 October 1998 on in vitro diagnostic medical devices. 2012; Available at: <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/ALL/?uri=CELEX:01998L0079-20120111>. Accessed 02.08.2021.
- (44) Commission Recommendation (EU) 2020/1743 of 18 November 2020 on the use of rapid antigen tests for the diagnosis of SARS-CoV-2 infection. 2020; Available at: <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/TXT/?uri=CELEX:32020H1743>. Accessed 02.08.2021.
- (45) World Health Organization. Antigen-detection in the diagnosis of SARS-CoV-2 infection using rapid immunoassays: interim guidance, 11 September 2020. 2020; Available at: <https://apps.who.int/iris/handle/10665/334253>. Accessed 02.08.2021.
- (46) European Centre for Disease Prevention and Control. Options for the use of rapid antigen tests for COVID-19 in the EU/EEA and the UK. 2020; Available at: <https://www.ecdc.europa.eu/en/publications-data/options-use-rapid-antigen-tests-covid-19-eueea-and-uk>. Accessed 02.08.2021.
- (47) DiaSorinMolecularLCC. Simplexa™ COVID-19 Direct REF MOL4150 Rev.09 (English). 2020; Available at: <https://www.fda.gov/media/136286/download>. Accessed 04.08.2021.
- (48) CepheidEuropeSAS. Gebrauchsanweisung Xpert® Xpress SARS-CoV-2 . 2020; Available at:

<https://www.cephheid.com/Package%20Insert%20Files/Xpert%20Xpress%20SARS-CoV-2%20Assay%20GERMAN%20Package%20Insert%20302-3787-DE%2C%20Rev.%20B.pdf>. Accessed 04.08.2021.

(49) Mercer TR, Salit M. Testing at scale during the COVID-19 pandemic. *Nat Rev Genet* 2021 Jul;22(7):415-426.

(50) Brümmer LE, Katzenschlager S, Gaeddert M, Erdmann C, Schmitz S, Bota M, et al. Accuracy of novel antigen rapid diagnostics for SARS-CoV-2: A living systematic review and meta-analysis. *PLoS Med* 2021 Aug 12;18(8):e1003735.

(51) Singanayagam A, Patel M, Charlett A, Lopez Bernal J, Saliba V, Ellis J, 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 Aug;25(32):2001483. doi: 10.2807/1560.

(52) 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):1059-1061.

(53) Bundesministerium für Soziales, Gesundheit, Pflege und Konsumentenschutz (BMSGPK). Österreichische Teststrategie SARS-CoV-2. Available at: https://www.sozialministerium.at/dam/jcr:cc1471e2-154b-48bc-aad6-d43ce13d7098/210407_Teststrategie_DE_v2_pdfUA.pdf. Accessed 31.08.2021.

(54) Bundesministerium für Soziales, Gesundheit, Pflege und Konsumentenschutz (BMSGPK). Behördliche Vorgangsweise bei SARS-CoV-2 Kontaktpersonen: Kontaktpersonennachverfolgung. Available at: https://www.sozialministerium.at/dam/jcr:0606b9e2-72f6-4589-9816-2107c7c46e7f/Behoerdliche_Vorgangsweise_bei_SARS-CoV-2_Kontaktpersonen_Kontaktpersonennachverfolgung.pdf. Accessed 01.09.2021.

(55) Klein JAF, Krüger LJ, Tobian F, Gaeddert M, Lainati F, Schnitzler P, et al. Head-to-head performance comparison of self-collected nasal versus professional-collected nasopharyngeal swab for a WHO-listed SARS-CoV-2 antigen-detecting rapid diagnostic test. *Med Microbiol Immunol* 2021 Aug;210(4):181-186.

(56) Lindner AK, Nikolai O, Kausch F, Wintel M, Hommes F, Gertler M, et al. Head-to-head comparison of SARS-CoV-2 antigen-detecting rapid test with self-collected nasal swab versus professional-collected nasopharyngeal swab. *Eur Respir J* 2021 Apr 15;57(4):2003961. doi: 10.1183/13993003.03961-2020. Print 2021 Apr.

(57) Rhoads D, Peaper DR, She RC, Nolte FS, Wojewoda CM, Anderson NW, et al. College of American Pathologists (CAP) Microbiology Committee Perspective: Caution Must Be Used in Interpreting the Cycle Threshold (Ct) Value. *Clin Infect Dis* 2021 May 18;72(10):e685-e686.

- (58) Klimont J. Österreichische Gesundheitsbefragung 2019. 2020; Available at: [https://www.sozialministerium.at/Themen/Gesundheit/Gesundheitssystem/Gesundheitsberichte/%C3%96sterreichische-Gesundheitsbefragung-2014-\(ATHIS\).html](https://www.sozialministerium.at/Themen/Gesundheit/Gesundheitssystem/Gesundheitsberichte/%C3%96sterreichische-Gesundheitsbefragung-2014-(ATHIS).html). Accessed 09.08.2021.
- (59) Polack FP, Thomas SJ, Kitchin N, Absalon J, Gurtman A, Lockhart S, et al. Safety and Efficacy of the BNT162b2 mRNA Covid-19 Vaccine. *N Engl J Med* 2020 Dec 31;383(27):2603-2615.
- (60) Baden LR, El Sahly HM, Essink B, Kotloff K, Frey S, Novak R, et al. Efficacy and Safety of the mRNA-1273 SARS-CoV-2 Vaccine. *N Engl J Med* 2021 Feb 4;384(5):403-416.
- (61) Voysey M, Clemens SAC, Madhi SA, Weckx LY, Folegatti PM, Aley PK, et al. Safety and efficacy of the ChAdOx1 nCoV-19 vaccine (AZD1222) against SARS-CoV-2: an interim analysis of four randomised controlled trials in Brazil, South Africa, and the UK. *Lancet* 2021 Jan 9;397(10269):99-111.
- (62) Thompson MG, Burgess JL, Naleway AL, Tyner HL, Yoon SK, Meece J, et al. Interim Estimates of Vaccine Effectiveness of BNT162b2 and mRNA-1273 COVID-19 Vaccines in Preventing SARS-CoV-2 Infection Among Health Care Personnel, First Responders, and Other Essential and Frontline Workers - Eight U.S. Locations, December 2020-March 2021. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 2021 Apr 2;70(13):495-500.
- (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. *Lancet* 2021 Apr 10;397(10282):1351-1362.
- (64) Regev-Yochay G, Amit S, Bergwerk M, Lipsitch M, Leshem E, Kahn R, et al. Decreased infectivity following BNT162b2 vaccination: A prospective cohort study in Israel. *Lancet Reg Health Eur* 2021 Aug;7:100150.