



Factsheet

Abschätzung der Ansteckungsfähigkeit mittels PCR

Von den Laboren wird häufig gefordert, dass zu einem positiven Corona PCR-Test auch der Ct-Wert (= Cp-Wert) mitgeteilt wird. Aus diesem Ct-Wert sollen Rückschlüsse über die Ansteckungsfähigkeit (Kontagiosität) gezogen werden, um u.a. über Quarantäne-Maßnahmen zu entscheiden. Das Robert Koch-Institut macht dazu jetzt andere Vorgaben, die wir mit der Einführung eines semiquantitativen Nachweises erfüllen können.

Der Ct-Wert, der bei vielen PCR-Geräten angegeben wird, ist die Anzahl der durchgeführten Zyklen, nach denen während der PCR ein positives Signal detektiert wird. Je später das positive Signal detektiert wird (d.h. je höherer der Ct-Wert), umso weniger Virus-RNA war in der Probe enthalten.

So entspricht ein um den Wert 3,3 höherer Ct in etwa einer Verdünnung der Originalprobe von 1:10. Der Ct-Wert stellt also einen semi-quantitativen Messwert dar, zur Quantifizierung bedarf es eines Bezugs auf eine Referenz.

Bei vielen quantitativen Testen, z.B. zur Bestimmung der Hepatitis B oder C Viruslast im Blut, erfolgt dieser Bezug durch Einsatz eines genau definierten Probenmaterials (z.B. 1 ml Vollblut) und unter Verwendung eines validierten Standardmaterials (z.B. WHO-Standard). Damit lässt sich aus dem Ct-Wert ausreichend genau die Viruslast im Ausgangsmaterial berechnen. Zur Ausführung eines solchen quantitativen PCR-Tests gibt es auch eindeutige Qualitätsvorgaben und Richtlinien (Rili-BÄK, Tabelle B 3-1a – Interne Qualitätssicherung bei Bestimmung der Nukleinsäurekonzentration in Blut/Plasma/Serum).

Da es inzwischen einige Studien gibt, die einen Zusammenhang zwischen SARS-CoV-2-Viruslast und Infektiosität bzw. Kontagiosität zeigen, liegt der Wunsch nach einem quantitativen Test nahe. Als Maß für die Ansteckungsfähigkeit haben Forscher die Viruslast im Untersuchungsmaterial mit der Anzuchtbarkeit der in der Probe enthaltenen Viren in Zellkultur korreliert. Diese Arbeiten ergeben einen Zusammenhang zwischen Viruslast in der RT-PCR und Anzuchtbarkeit in Zellkultur. Aus den veröffentlichten Untersuchungen lassen sich "cut-off" Werte im Bereich von $<10^6$ Genomkopien/ml ableiten (van Kampen et al., 2020; Wolfel et al., 2020; https://www.rki.de/DE/Content/InfAZ/N/Neuartiges_Coronavirus/Vorl_Testung_nCoV.html),

Mit Stand vom 18. Mai 2021 benennt das RKI eine Viruslast von $<10^6$ pro Milliliter Untersuchungsmaterial als mögliches zusätzliches Entlasskriterium aus der Isolierung nach schwerer Infektion (mit Sauerstoffpflichtigkeit) und für besondere Personengruppen (siehe hierzu „CO-VID-19: Entlassungskriterien aus der Isolierung. Orientierungshilfe für Ärztinnen und Ärzte“).

Wir haben daher einen PCR-Test zur Abschätzung der Viruslast (gemessen gegen eine Referenz) etabliert. Damit sind die laborinternen Einflüsse (Aufbereitung und Extraktion



der Nukleinsäure, Geräte- und testchargenabhängige Faktoren) kontrolliert. Bei gezielter Anforderung (nach den u.g. vom RKI definierten Kriterien) geben wir zusätzlich zum Ergebnis „nachgewiesen“ auf dem Befund an, ob die Viruslast unter oder über 10^6 Kopien pro ml Probenmaterial lag.

Krankheitsstadium berücksichtigen

Die Viruslast ist vom Zeitpunkt der Probennahme in Bezug auf den Krankheitsverlauf abhängig. So wird sie in den Hinweisen des RKI zum Testen nur als mögliches („kann“) zusätzliches Entlasskriterium bei schwerem Verlauf (mit Sauerstoffbedürftigkeit) genannt, falls die PCR frühestens 10 Tage nach Symptombeginn und nach mindestens 48 Stunden Symptombefreiheit bzw. „nachhaltiger klinischer Besserung“ noch positiv ist. Dabei wird auf zahlreiche Einschränkungen verwiesen, wie sie auch unten dargelegt sind.

Die Viruslast wird weder für die Entscheidung über Isolierung und Entisolierung bei Erstdiagnose herangezogen, noch wird eine PCR-Kontrolle bei leichtem oder asymptomatischem Verlauf empfohlen, hier gelten allein die zeitlichen Kriterien, auch bei medizinischem Personal. Siehe auch: M.J. Binnicker, 2020.

Die Viruslast in der Probe ist im Gegensatz zu Vollblut sowohl bei Abstrichproben als auch bei Proben des unteren Respirationstraktes (BAL, Sputum) von vielen sehr variablen Faktoren beeinflusst, dazu zählen unter anderem:

- Beschaffenheit des Tupfers (unterschiedliche Kunststoffe, beflockt, schwammartig, gewickelt)
- Konsistenz des Sputums und der BAL
- Trockentupfer versus Tupfer mit Transportmedium
- Transportmedium (Amies-Medium, Kochsalz, Wasser)
- Abstrichort
- Transporttemperatur
- Volumen der Flüssigkeit, in der der Tupfer ausgewaschen wird
- Methode zur Aufreinigung der Probe (eingesetztes Volumen, Volumen nach der Aufreinigung, Extraktionsgerät)

Zusammenfassung

Bei gezielter Anforderung aus separat eingesandtem Material können wir anhand eines in diesen Fällen mitgeführten Standards angeben, ob in einer SARS-CoV-2-positiven Probe mehr oder weniger als 10^6 Virusgenomkopien pro ml vorliegen.

Der Nachweis der SARS-CoV-2-RNA aus Abstrichtupfern und Proben des unteren Respirationstraktes bedingt, dass die Quantifizierung sich nur auf Schritte im Labor beziehen kann und es sich nicht um eine quantitative Analyse im Sinne der RiLi-BÄK (Richtlinie der Bundesärztekammer für laboratoriumsmedizinische Untersuchungen) handelt.

Die Methode soll nur in solchen Fällen angewendet werden, in denen das RKI eine Einbeziehung in die Entscheidung zur Aufhebung von Isolierungsmaßnahmen bei ehemals sauerstoffpflichtigen Covid-19-Patienten empfiehlt.

Für Erstdiagnose und zur Verlaufsbeurteilung in allen anderen Fällen ist die Methode nicht geeignet und wird nicht empfohlen.



Literatur

Binnicker, M.J. (2020). Challenges and Controversies to Testing for COVID-19, *J Clin Microbiol*, Vol. 58, Issue 11, e01695-20.

van Kampen, J.J.A., Vijver, D.A.M.C.v.d., Fraaij, P.L.A., Haagmans, B.L., Lamers, M.M., Okba, N., Akker, J.P.C.v.d., Endeman, H., Gommers, D.A.M.P.J., Cornelissen, J.J., et al. (2020). Shedding of infectious virus in hospitalized patients with coronavirus disease-2019 (COVID-19): duration and key determinants. *medRxiv*.

Wolfel, R., Corman, V.M., Guggemos, W., Seilmaier, M., Zange, S., Muller, M.A., Niemeyer, D., Jones, T.C., Vollmar, P., Rothe, C., et al. (2020). Virological assessment of hospitalized patients with COVID-2019. *Nature* 581, 465-469.