

Was sagt der Ct-Wert aus?

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 Infektiosität gezogen werden, um u.a. über Quarantäne-Maßnahmen zu entscheiden.

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.

Dies macht man sich bei vielen quantitativen Testen z.B. zur Bestimmung der Hepatitis B oder C Viruslast im Blut zu Nutze. Bei Einsatz eines genau definierten Probenmaterials (z.B. 1 ml Serum) und unter Verwendung eines validierten Standardmaterials (z.B. WHO-Standard) 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 Infektiosität haben Forscher versucht, eine Korrelation der Viruslast im Untersuchungsmaterial und der Anzuchtbarkeit der in der Probe enthaltenen Viren in Zellkultur herzustellen. Diese Arbeiten legen einen Zusammenhang zwischen Ct-Wert in der RT-PCR und Anzuchtbarkeit in Zellkultur nahe. Aus den veröffentlichten Untersuchungen lassen sich „cut-off“ Werte im Bereich von $<10^6$ Genomkopien/ml (van Kampen et al., 2020; Wolfel et al., 2020) bzw. Ct-Werte im von 31 - 34 ableiten (Arons et al., 2020; La Scola et al., 2020; https://www.rki.de/DE/Content/InfAZ/N/Neuartiges_Coronavirus/Vorl_Testung_nCoV.html).

Am RKI erhobene und bisher nicht in wissenschaftlichen Fachzeitschriften veröffentlichte Ergebnisse zeigen einen „cut-off“ bei 250 Genomkopien pro PCR-Ansatz, was in dem dort angewendeten System mit einem Ct-Wert von 30 einhergeht und ca. 2×10^4 Genomkopien/ml Tupferwaschlösung entspricht (https://www.rki.de/DE/Content/InfAZ/N/Neuartiges_Coronavirus/Vorl_Testung_nCoV.html).

Die in den verschiedenen Publikationen doch unterschiedlichen „cut-offs“ ($<10^6$ Genomkopien/ml versus 2×10^4 Genomkopien/ml, Ct 30 versus Ct 31-34) zeigen schon eine gewisse Problematik bei der Bewertung der Viruslast in Bezug auf die Infektiosität auf.

Sollten aber in Zukunft verlässlichere Daten zur Infektiosität vorliegen, wäre ein genauer quantitativer Test mit Angabe der Viruslast eine Grundvoraussetzung zur Beurteilung.

Dabei wäre jedoch auch der Zeitpunkt der Probennahme in Bezug auf den Krankheitsverlauf zu berücksichtigen. So wird der Ct-Wert 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 Symptombfreiheit noch positiv ist. Dabei wird auf zahlreiche Einschränkungen verwiesen, wie sie auch oben dargelegt sind.

Der Ct-Wert 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

Eine reine Weitergabe des von Gerät dargestellten Ct-Wertes macht aus einem qualitativen Test keinen quantitativen Test.

So schreibt das RKI:

„Der aus der real-time PCR bekannte Ct-Wert stellt nur einen semi-quantitativen und von Labor zu Labor nicht unmittelbar vergleichbaren Messwert dar, solange es keinen Bezug auf eine Referenz gibt.“ (https://www.rki.de/DE/Content/InfAZ/N/Neuartiges_Coronavirus/Vorl_Testung_nCoV.html).

Auch ist die reine Berechnung des Ct-Wertes abhängig vom verwendeten PCR-Gerät. Während eines der häufig verwendeten PCR-Geräte den Ct-Wert automatisch berechnen kann (2nd Derivative Maximum Methode), muss bei anderen Geräten eine „cut-off“-Linie zur Angabe des Ct-Wertes vom Anwender manuell gesetzt werden. D.h. der Ct-Wert für eine Probe kann hier durchaus variabel sein. Bei einem weiteren Hersteller werden die ersten 5 Zyklen der Amplifikation bei der Angabe des Ct-Wertes nicht berücksichtigt.

Um die erhaltenen Ct-Werte in eine RNA-Kopienzahl pro Reaktion umzurechnen, muss ein exakt quantifizierter Standard bei jeder PCR mitgeführt werden.

Diese quantitative Auswertung der real-time RT-PCR kann dann prinzipiell dazu dienen, geräteunabhängig Rückschlüsse von der Anzahl an RNA-Molekülen in der PCR auf die Menge von SARS-CoV-2 Viruspartikeln in einer Probe zu ziehen.

Dieser Rückschluss ist allerdings 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 dem von uns eingesetzten PCR-Test zum Nachweis der SARS-CoV-2-RNA aus Abstrichtupfern und Proben des unteren Respirationstraktes handelt es sich um einen rein qualitativen Test. Und die oben angeführten Probleme erlauben es uns nicht, quantitative Angaben, die den Richtlinien und unserem Qualitätsanspruch genügen, weiterzugeben.

Aus den gleichen Gründen ist auch eine reine Weitergabe der Ct-Werte von uns nicht zu vertreten, da ohne Vergleichsdaten und Kenntnis des Stadiums der Infektion der reine Ct-Wert in vielen Fällen keinerlei Aussagekraft besitzt. Es besteht die Gefahr, dass Patienten aus der Isolierung entlassen werden, die noch ansteckungsfähig sein könnten.

Literatur:

Arons, M.M., Hatfield, K.M., Reddy, S.C., Kimball, A., James, A., Jacobs, J.R., Taylor, J., Spicer, K., Bardossy, A.C., Oakley, L.P., et al. (2020). Presymptomatic SARS-CoV-2 Infections and Transmission in a Skilled Nursing Facility. *N Engl J Med* 382, 2081-2090.

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

La Scola, B., Le Bideau, M., Andreani, J., Hoang, V.T., Grimaldier, C., Colson, P., Gautret, P., and Raoult, D. (2020). 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* 39, 1059-1061.

van Kampen, J.J.A., Vijver, D.A.M.C.v.d., Fraaij, P.L.A., Haagsma, 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.