

DISSERTATION

Nachweis von SARS-CoV-2 mittels Antigenschnelltest und PCR in
Abhängigkeit von Symptomatik und Hospitalisierungsstatus

Detection of SARS-CoV-2 via antigen test and PCR
depending on symptoms and hospitalisation

zur Erlangung des akademischen Grades
Doctor medicinae (Dr. med.)

vorgelegt der Medizinischen Fakultät
Charité – Universitätsmedizin Berlin

von
Felix Jonas Lange

Erstbetreuung: Prof. Dr. Dr. Thomas Schneider

Datum der Promotion: 29.11.2024

Inhaltsverzeichnis

Abstrakt	1
Abstract	2
1. Einleitung	3
a. SARS-CoV-2 Pandemie.....	3
b. Coronaviren	3
c. Virusnachweisverfahren.....	4
d. Quantitative Echtzeit-Reverse Transkriptase Polymerasekettenreaktion (RT-qPCR) für den Nachweis einer SARS-CoV-2 Infektion.....	4
e. Antigen Point of Care Tests (POCT) als Ergänzung zur PCR für die Nationale Teststrategie	5
f. Antigenschnelltestentwicklung in der Pandemie.....	6
g. Pandemiewellen.....	7
h. Schutzmaßnahmen.....	8
i. Zielsetzung der Dissertation.....	8
2. Material und Methoden	8
a. Versuchsreihe 1: Ermittlung der Nachweisgrenze von 13 Antigenschnelltests	8
b. Versuchsreihe 2: Patientenkollektiv	9
c. Abstrichentnahme	10
d. Persönliche Schutzausrüstung.....	10
e. Anamnesebogen	10
f. Statistische Auswertung	11
g. Einverständniserklärung	11
h. Ethikvotum.....	11
i. Studienregister.....	11
3. Ergebnisse	11
a. Vorversuch: Vergleich der Herstellerangaben von 13 Antigenschnelltests	11
b. Ermittlung der Nachweisgrenze zur Auswahl eines Schnelltests	13
c. Klinische Studie	14
i. Statistische Auswertung	14
ii. Deskriptive Auswertung.....	16
iii. Verteilung der Ct-Werte	17
iv. Stichprobe des Routinelabors.....	18
4. Diskussion	19

a.	Vergleich der Nachweisgrenze der Testsysteme und Auswahl eines Testverfahrens.	19
b.	Zusammenhang zwischen Symptomatik und Sensitivität.....	20
c.	Hospitalisierungsstatus	21
d.	Symptomatik	21
e.	Selbsttest und Präanalytik.....	21
f.	Impfstatus.....	22
g.	Verteilung der Ct-Werte.....	22
h.	Stichprobe des Routinelabors	23
i.	Ausblick: Diagnostische und ‚klinische Empfehlung‘	23
	Literaturverzeichnis	26
	Eidesstattliche Versicherung	33
	Curriculum Vitae	34
	Danksagung	35

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Schematische Darstellung von SARS-CoV-2	3
Abbildung 2: Fotos von exemplarischen Testergebnissen.	14
Abbildung 3: Boxplot zur Ct-Wertverteilung der symptomatischen und asymptomatischen Patienten	18
Abbildung 4: Balkendiagramm der Ergebnisse der Stichprobe vom 01.01.2021 – 27.01.2021 (N-Gen)	19
Abbildung 5: Balkendiagramm der Ergebnisse der Stichprobe vom 01.01.2021 – 27.01.2021 (Nsp2-Gen)	19

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Testname und Chargennummer aus Versuch 1	9
Tabelle 2: Vergleich der Herstellerangaben zu den eingesetzten Antigenschnelltests mit Schwerpunkt auf den durchgeführten klinischen Studien	12
Tabelle 3: Ergebnisse der Testungen von Charge 1 der in Versuch 1 eingesetzten Tests	13
Tabelle 4: Ergebnisse der Testungen von Charge 2 der in Versuch 1 eingesetzten Tests	14
Tabelle 5: Vierfeldertafeln zur Sensitivitäts- und Spezifitätsberechnung der Antigenschnelltests	15
Tabelle 6: Auflistung der Ergebnisse aller hospitalisierten Patienten	16
Tabelle 7: Symptomatik aller untersuchten Patienten mit COVID-spezifischen Symptomen	17

Abkürzungsverzeichnis

ACE-2	Angiotensin-konvertierendes Enzym 2
BAnz	Bundesanzeiger
BAS	Bundesamt für Soziale Sicherung
BfArM	Bundesinstitut für Arzneimittel und Medizinprodukte
CDC	Centers for Disease Control and Prevention
CE	Conformité Européenne
CI	Konfidenzintervall
COVID-19	Coronavirus-Krankheit-2019
Ct	Cycle threshold
IVD	In-vitro-Diagnostika
LFIA	Lateral Flow Immunoassay
LOD	Limit of Detection
MERS	Middle East Respiratory Syndrome
NAT	Nukleinsäure-amplifizierende Tests
N1-Gene	Nukleokapsidgen 1
N2-Gene	Nukleokapsidgen 2
N-Protein	Nukleokapsidprotein
Nsp2-Gen	Non-structural Protein 2 Gen
PEI	Paul-Ehrlich-Institut
RAT	Rapid Antigen Test
RNS	Ribonukleinsäure
RT-PCR	Reverse Transkriptase Polymerasekettenreaktion
RT-qPCR	Quantitative Echtzeit-Reverse Transkriptase Polymerasekettenreaktion
SARS-CoV-2	Schweres Akutes Respiratorisches Syndrom Typ 2
S-Protein	Spikeprotein
STIKO	Ständige Impfkommision
TestV	Testverordnung
TMPRSS2	Transmembrane Serinprotease 2
WHO	Weltgesundheitsorganisation
VOC	Variant of concern
VOI	Variant of Interest
VUM	Variant under monitoring

Abstrakt

Hintergrund

Während der SARS-CoV-2 Pandemie wurden sowohl Antigenschnelltests zum Nachweis von Virusproteinen als auch PCR-Verfahren zum Nachweis von viraler RNA entwickelt und großflächig eingesetzt. Durch das enorme Testaufkommen wurde der Stellenwert des Antigenschnelltests als zuverlässiges und weitreichend verfügbares Testverfahren im Verlauf der Pandemie diskutiert. Zu Beginn der Pandemie gaben Antigentesthersteller hohe, mit den Ergebnissen der PCR vergleichbare, Sensitivitäten für ihre Antigenschnelltests an. Diese Sensitivitäten wurden in der vorliegenden Arbeit im Vergleich zur PCR überprüft.

Methoden

Dazu wurden zunächst gepoolte Kontrollproben parallel mit PCR und Antigenschnelltest untersucht, um anschließend Patientenproben mit dem geeignetsten Antigenschnelltest im Vergleich zur PCR zu untersuchen.

Ergebnisse

Besonders auffällig waren die Güteunterschiede der Nachweisgrenzen zwischen den verschiedenen Testsystemen. Nur 3 von 13 untersuchten Tests zeigten eine annähernd ausreichende Nachweisgrenze. Von diesen Antigenschnelltests wurden PCR-positive Proben mit einem Ct-Wert von bis zu 25 erkannt. Insgesamt zeigte sich eine analytische Sensitivität der Schnelltests von 51,28% im Vergleich zur PCR. Unter realen Bedingungen zeigten sich bei 149 Getesteten signifikante Unterschiede zwischen der symptomatischen Sensitivität: 50 % (95% CI: 34,5% bis 65,5%, p-Wert: <0,0001) und asymptomatischen Sensitivität: 28,6 % (95% CI: 13,8% bis 50%, p-Wert: 0,0005). Diese Untersuchung zeigt, dass klinische Faktoren wie die Symptomatik und eine Umfeldanamnese einbezogen werden müssen.

Zusammengenommen zeigte sich eine Sensitivität von 43,6 % (95% CI: 31,4% bis 56,7%, p-Wert: <0,0001).

Diskussion

Daraus lässt sich ableiten, dass von den Herstellern selbstvalidierte Testsysteme nur mit Bedacht einsetzbar sind. Eine unabhängige Evaluation der CE-Zertifizierung ist unerlässlich. Die Diskrepanz zwischen den von Herstellern angegebenen Sensitivitäten und den unter realen Einsatzbedingungen beobachteten Leistungen der Antigenschnelltests wirft erhebliche Zweifel bezüglich Vorgehensweise der Testevaluation der Hersteller auf. Es wird deutlich, dass die anfängliche Hoffnung auf eine schnelle, einfache und effiziente Screening-Methode durch die praktischen Erfahrungen gedämpft wird. In Anbetracht der hier erhobenen Daten sollte die Zuverlässigkeit von Antigenschnelltests für das Screening auf SARS-CoV-2 zurückhaltend eingeschätzt werden. Sofern der Anwender über die Möglichkeit verfügt, eine Validierung durchzuführen, sollte diese vorgenommen werden. Durch die geringe Sensitivität der Schnelltests, besonders bei symptomlosen Personen mit einer wahrscheinlich geringen Viruslast, sollte mit falsch negativen Ergebnissen gerechnet werden. Die Ergebnisse dieser Arbeit legen nahe, dass eine kontinuierliche Überwachung und die Bewertung der Testleistung wichtig sind, um sicherzustellen, dass nur die zuverlässigsten Antigenschnelltests verwendet werden.

Abstract

Introduction

During the SARS-CoV-2 pandemic, both rapid antigen tests for the detection of viral proteins and PCR methods for the detection of viral RNA were developed and used on a large scale. Due to the enormous volume of tests, the importance of rapid antigen tests as a reliable and widely available test method during the pandemic was discussed. At the beginning of the pandemic, antigen test manufacturers reported high sensitivities for their rapid antigen tests that were comparable to the results of PCR. These sensitivities were tested in this study in comparison to PCR.

Methods

For this purpose, pooled control samples were first tested in parallel with PCR and various rapid antigen tests. Afterwards, patient samples were tested with the most suitable rapid antigen test in comparison to the PCR.

Results

The differences in the quality of the detection limits between the various test systems were particularly striking. Only 3 of 13 tests showed an almost sufficient detection limit. Of these rapid antigen tests, PCR-positive samples with a Ct value of up to 25 were detected. Overall, the analytical sensitivity of the rapid tests was 51.28% compared to PCR testing.

Under real-life conditions, 149 subjects tested showed significant differences between symptomatic sensitivity: 50% (95% CI: 34,5% bis 65,5%, p-value: <0,0001) and asymptomatic sensitivity: 28.6% (95% CI: 13,8% bis 50%, p-value: 0,0005). This study shows that clinical factors such as symptoms and an environmental history must be taken into account. The overall sensitivity was 43.6% (95% CI: 31,4% bis 56,7%, p-value: <0,0001).

Discussion

This study suggests that test systems self-validated by the manufacturers can only be used with great caution. An independent evaluation of CE certification is essential. The discrepancy between the sensitivities stated by the manufacturers and the performance of the rapid antigen tests observed under real conditions of use raises considerable questions regarding the manufacturers' test evaluation procedures.

The initial hope for a quick, simple and efficient screening method has been dampened by practical experience. In view of the data collected here, the reliability of rapid antigen tests for screening for SARS-CoV-2 should be assessed very cautiously. If the user has the possibility to carry out a validation, this should be done. Due to the low sensitivity of the rapid tests, especially in asymptomatic persons with a presumably low viral load, false negative results should be expected.

The results of this work suggest that continuous monitoring and evaluation of test performance are important to ensure that only the most reliable rapid antigen tests are used.

1. Einleitung

a. SARS-CoV-2 Pandemie

Anfang 2020 wurde das zu den Beta-Coronaviren gehörende ‚severe acute respiratory syndrome coronavirus type 2‘ (SARS-CoV-2) als Auslöser von der Coronavirus-Krankheit-2019 (COVID-19) identifiziert (RKI 2021). Das Virus hat wahrscheinlich einen zoonotischen Ursprung in China. Durch die hohe Infektiosität von SARS-CoV-2 verbreitete sich das Virus weltweit, sodass die WHO am 11. März 2020 eine Pandemie ausgerufen hat (Ghebreyesus, T WHO 2020). Weltweit gibt es bisher über 6,9 Millionen Todesfälle, die mit einer COVID-19 Erkrankung zusammenhängen. Besonders stark betroffen sind Ballungsgebiete in denen Menschen auf engstem Raum zusammenleben. Dies ist auf den Hauptübertragungsweg zurückzuführen. Der Hauptübertragungsweg ist die respiratorische Aufnahme virushaltiger Partikel aus Aerosolen der Ausatemluft (Ji Y et al. 2018, Chen X et al. 2021). Die mittlere Inkubationszeit beträgt 5,2 Tage (Li Q et al. 2020). Um die Ansteckungsgefahr zu verringern, bietet es sich an, infektiöse Personen zu identifizieren und unter Quarantäne zu stellen. Es gilt vor allem asymptomatische Virusträger rechtzeitig zu entdecken, um Ansteckungen zu verhindern. Dafür wurde eine nationale Teststrategie entwickelt (TestV BAnz AT 2021). Diese wurde im Verlauf der Pandemie laufend aktualisiert.

b. Coronaviren

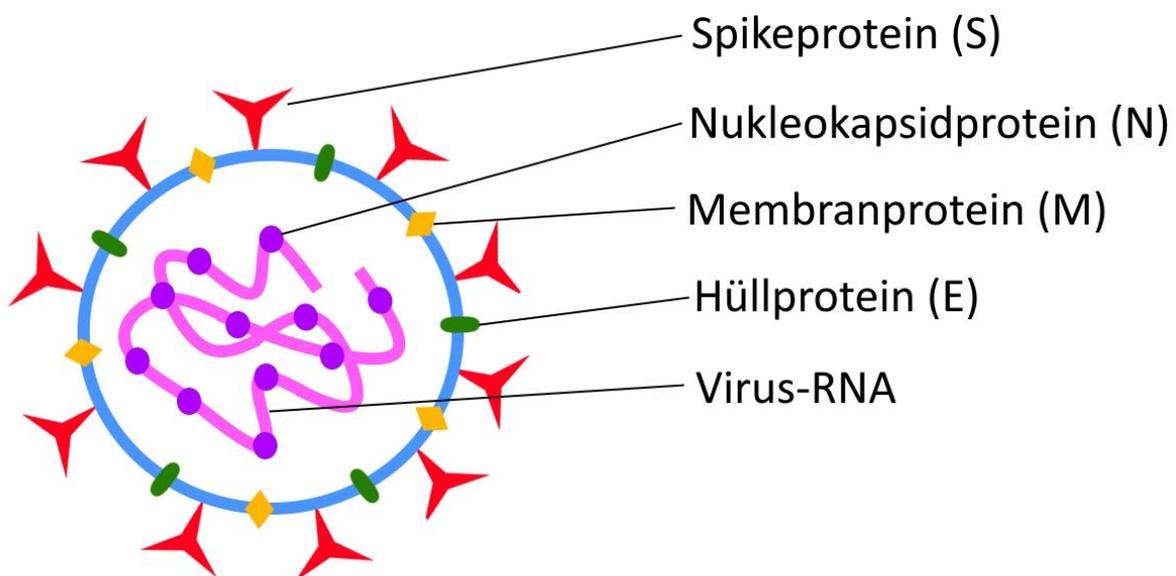


Abbildung 1: Schematische Darstellung von SARS-CoV-2

Coronaviren sind unter Säugetieren und Vögeln weit verbreitet. Die Fähigkeit zur homologen Rekombination ermöglicht es, auf neue Wirtsspezies überzugehen (Graham and Baric 2010). Weltweit sind sieben humanpathogene Coronaviren bekannt. Das namensgebende Merkmal sind die 1966 erstmals mit dem Elektronenmikroskop dargestellten Spikeproteine (S-Proteine). Diese 20-25nm langen S-Proteine (Laue et al. 2021) bilden mit den Envelopeproteinen (E-Proteinen) und den Membranproteinen (M-Proteinen) die

Virusmembran. Die Virusmembran umgibt das Nukleokapsid, welches aus dem Nukleokapsidprotein (N-Protein) und dem Virusgenom besteht. Die aus 30 Kilobasen bestehende und somit längste bekannte virale Einzelstrang-RNA des Virus kodiert für die S-, E-, M- und N-Proteine und die den Replikase-Transkriptase-Komplex bildenden Nicht-Struktur Proteine 1-16 (Nsp) (Yao et al. 2020, Fehr and Perlman 2015). Das Virus bindet mittels S-Protein an der Wirtszelle und gelangt hauptsächlich über den ACE-2-Rezeptor, unterstützt durch die Protease TMPRSS2, in die Wirtszelle (Hoffmann et al. 2020, Bestle et al. 2020). Besonders die Epithelzellen der oberen Atemwege exprimieren ACE-2-Rezeptoren und TMPRSS2 zugleich. Dadurch vermehren sich die Viren hauptsächlich in den Nasenepithelzellen und schädigen die infizierten Zellen (Xu et al. 2020, Sungnak et al. 2020). Darüber hinaus zeigen Coronaviren einen Organtropismus für Lungen, Rachen, Herz, Leber, Gehirn und Nieren (Stein et al. 2022, Puellas et al. 2020). Für den Nachweis von Viren bieten sich Proben aus den erreichbaren oberen Atemwegen an.

c. Virusnachweisverfahren

Die Entnahme von Rachenabstrichen ist eine leicht tolerierbare Nachweismethode (Wölfel R et al. 2020). Im nasopharyngealen Abstrich findet sich eine höhere Viruslast als in oropharyngealen Abstrichen. So ist der kombinierte naso- und oropharyngeale Abstrich in Kombination mit einem Antigentest oder der PCR die optimale Nachweismethode (WHO, 2020; RKI, 2021b). Der meist aus Kunststoff und Kunstfaser (Nylon-Flockfaser-Abstrichtupfer) bestehende Abstrichtupfer wird durch die Nase in den Rachenraum eingeführt und für wenige Sekunden an der Rachenwand gerieben. Die sich dort vermehrenden Viren und Zellen werden losgelöst und mit Hilfe des Tupfers in eine Transportlösung überführt. Die Viren und Zellen verteilen sich in der Transportlösung und ermöglichen somit eine mehrfache Testung der Probe. Der sicherste Weg eine Infektion zu erkennen, ist der Nachweis von Virusgenomen mittels molekularbiologischer Verfahren. Das in der Diagnostik etablierte Verfahren der Reverse Transkriptase Polymerasekettenreaktion (RT-PCR) stellt die präferierte Methode dar.

d. Quantitative Echtzeit-Reverse Transkriptase Polymerasekettenreaktion (RT-qPCR) für den Nachweis einer SARS-CoV-2 Infektion

Der bestehende Goldstandard für den Nachweis einer SARS-CoV-2 Infektion ist die Real-Time RT-Polymerasekettenreaktion. Durch die RT-qPCR können kleinste Mengen der Virus-RNA nachgewiesen werden. Die gewonnenen Abstriche werden in Transportmedien überführt. Gekühlt können die Proben bis zu 72 Stunden bei 2-8°C gelagert werden. Für spätere Testungen müssen die Proben bei -70°C asserviert werden. Für die Durchführung der PCR gibt es mehrere Protokolle. Ein Protokoll zum Nachweis ist das Verfahren der Centers for Disease Control and Prevention (CDC 2021). Mit Hilfe der PCR werden spezifische Teile des Virusgenoms vermehrt. Dazu gehören die non-structural Gene (Nsp) sowie die Nukleokapsidgene 1 und 2. In jeder Probe wird bakterielle 16S RNS als Kontrolle vermehrt. Zum Nachweis von SARS-CoV-2 werden die spezifischen Genabschnitte 2019-nCoV N1 und N2 vermehrt. Wenn nach 40 Amplifikationszyklen die spezifischen N1 und N2 Gene nicht parallel amplifiziert werden können, handelt es sich um ein negatives Ergebnis. Wenn die 16S-RNA nach 40 Amplifikationszyklen nicht amplifiziert werden kann, handelt es sich um ein ungültiges Ergebnis. Eine Ausnahme bildet die Konstellation: Beide N-Gene können vermehrt

werden und die 16S-RNA kann nicht vermehrt werden, so wird der Untersuchungslauf als valide und positiv gewertet. Wenn nur eines der beiden N-Gene amplifiziert werden kann, muss die Probe erneut prozessiert werden. Die Anzahl der zur Sichtbarmachung der Virusgenome benötigten Amplifikationszyklen ist im Ergebnis als Cycle threshold-Wert angegeben (Ct). Bei der Erhöhung des Ct-Werts handelt es sich bei jeder Stufe um eine Verdopplung der in der Probe vorhandenen Menge an RNA. Es ergibt sich ein exponentielles Wachstum pro Stufe. Das bedeutet, je niedriger der Ct-Wert, umso höher ist die Menge viraler RNA in der Probe. Werte <40 Ct beider N-Gene sprechen für eine Infektion. Da die Entnahme der Probe nicht standardisiert ist und keinen festen Volumenbezugspunkt besitzt, ist das Ergebnis nicht verlässlich zu quantifizieren. Medizinische Labore benötigen in der Regel nach Eintreffen der Proben ungefähr 24 Stunden zur Durchführung der PCR-Analytik und Rückübermittlung der Befunde. Die Kapazitäten der Laboratorien waren zwischenzeitlich durch Lieferengpässe der Hersteller von Laborverbrauchsmaterialien sowie Reagenzien limitiert. Des Weiteren erlaubt die RT-PCR den Nachweis von Virusgenomen, die auch intrazellulär vorliegen können. Dadurch ist nicht zwangsläufig auch auf die Präsenz infektiöser Partikel rückzuschließen, besonders wenn nur sehr wenig virale RNA in der Probe vorliegt.

e. Antigen Point of Care Tests (POCT) als Ergänzung zur PCR für die Nationale Teststrategie

Parallel zur PCR wurden sogenannte Antigenschnelltests etabliert, um patientennah eine Infektion detektieren zu können. Ziel ist es, möglichst sensitiv und spezifisch Nicht-Infizierte von Infizierten unterscheiden zu können. Sie bieten den Vorteil, virale Proteine nachzuweisen, was zumindest den Rückschluss zulässt, dass die virale RNA noch aktiv abgelesen wird. Allerdings muss bei den Antigenschnelltests von einer geringeren Sensitivität im Vergleich zur PCR ausgegangen werden, da das vorhandene Protein direkt nachgewiesen wird und nicht wie bei der PCR stark vermehrt werden kann. Antigen Schnelltests sollen vor allem in Pflegeeinrichtungen und Altenheimen vulnerable Patienten schützen. Diese Strategie wurde ab Oktober 2020 propagiert. Auch im Gesundheitswesen waren ab November 2021 regelmäßige Antigenschnelltests durchzuführen. Positive Schnelltests müssen entsprechend der Nationalen Teststrategie durch eine PCR bestätigt werden. Die Schnelltests basieren auf dem sogenannten Lateral Flow Immuno-Assay Prinzip (LFIA). Antikörper gegen Proteine eines nachzuweisenden Erregers werden auf einer Trägersubstanz immobilisiert. Diese fangen spezifische Virusproteine in einem Antigen-Antikörper-Komplex ein. Typischerweise wird in diesen Testsystemen das die Virusmembran bildende Nukleokapsidprotein (N-Protein) nachgewiesen. Die im Extraktionspuffer gelöste Probe läuft mit Hilfe von Kapillarkräften entlang des Trägers, auf dem für das Antigen spezifische Antikörper immobilisiert sind. Die Antikörper-Antigen Reaktion wird durch einen irreversiblen Farbumschlag sichtbar gemacht. Im Kontrollstreifen werden unterschiedliche Reagenzinhalt des Extraktionspuffers (z.B. Hühneralbumin) mittels geeigneter Antikörper immobilisiert und dargestellt. Eine entsprechende Kontrollreaktion hilft den Testablauf als gültig oder ungültig zu qualifizieren.

f. Antigenschnelltestentwicklung in der Pandemie

Es wurden zahlreiche Testsysteme für den Nachweis von SARS-CoV-2 entwickelt. In der ersten Phase der Pandemie wurden die Rahmenbedingungen für die Zulassung von In-vitro Diagnostika gelockert. Mit der Zeit entwickelten die Aufsichtsbehörden Anforderungen, die die Testhersteller mindestens erfüllen mussten. Das Paul-Ehrlich-Institut entwickelte und publizierte diese Mindestkriterien. Laut dieser Kriterien musste ein Schnelltest eine diagnostische Sensitivität von >80% im Abgleich mit nicht selektierten PCR-positiven Proben nachweisen. Dafür mussten in klinischen Studien mindestens 100 Personen mit COVID-19-Symptomen, sieben Tage nach Symptombeginn, als Testkollektiv für die Ermittlung der Sensitivität herangezogen werden. Außerdem mussten die Tests eine diagnostische Spezifität von >97% aufweisen. Für die Ermittlung der Spezifität mussten mindestens 100 asymptomatische Personen ohne konkretes Expositionsrisiko als Testkollektiv herangezogen werden. Außerdem sollte eine nicht näher spezifizierte Anzahl von Proben mit verwandten humanen Coronaviren (z.B. Human coronavirus 229E, OC43, NL63 sowie MERS coronavirus) zur Überprüfung der Kreuzreaktivität in die Ermittlung der Testcharakteristika eingeschlossen werden. Des Weiteren sollten Untersuchungsproben mit anderen Infektionserregern (z.B. Influenza A, Influenza B, RSV) sowie möglicherweise interferierende Antigene bei Nasenabstrichen als Probenmatrix (z.B. Staphylococcus aureus) einbezogen werden. Auch eventuelle Virusmutationen des Spikeproteins sollen zuverlässig erkannt werden (BfArM 2020, PEI 2021). Diese Kriterien mussten von Tests erfüllt sein, um in Deutschland vom Bundesinstitut für Arzneimittel und Medizinprodukte (BfArM) gelistet zu werden. Die Liste der Testhersteller wurde im Laufe der Pandemie kontinuierlich aktualisiert. Es gab zeitweise 286 vom BfArM gelistete Antigentests zum Nachweis von SARS-CoV-2 für den Einsatz am Point of Care ohne eine Ablesung mittels eines Gerätes (Stand 15.01.2021) (BfArM 2020). Die ermittelten Testspezifikationen mussten nicht von unabhängigen Studien überprüft werden. Bei einer unabhängigen Untersuchung von 122 Antigenschnelltests zwischen September 2020 und April 2021 wurden 96 Schnelltests identifiziert, die eine Sensitivität >75% bei Proben mit einem Ct-Wert von <25 aufwiesen. Nur 20 Tests wiesen eine Sensitivität > 75% bei Proben mit einem Ct-Wert zwischen 25-30 auf (Scheiblauer et. al 2021). Kein Test erreichte die Sensitivitätsgrenze bei der Testung von asymptomatischen Patienten. Darüber hinaus erfüllten nur 17 von 20 Tests die Anforderung einer Spezifität von >97% (Dinnes et al. 2022). Es ist davon auszugehen, dass viele der von den Herstellern CE-klassifizierten Tests die vom PEI erlassenen Mindestkriterien nicht erfüllen.

Die Liste (Common RAT list) ist seit dem 29. Juni 2022 auf der Website des PEI als gemeinsame Liste der Europäischen Kommission: Public Health verlinkt. Seit dem Umzug der Webseite haben sich die Mindestanforderungen verschärft. Die 282 gelisteten Antigenschnelltests werden nun in Kategorie A und B eingeteilt. Alle Tests müssen die gemeinsamen Kriterien des Health Security Committees erfüllen. Für die Kategorie A muss mindestens eine prospektive klinische Studie nach den Kriterien des Health Security Committees vorliegen. In dieser Studie muss mindestens eine Sensitivität von 80% bei einer Testung von nicht selektierten symptomatischen Patienten innerhalb von 7 Tagen seit Symptombeginn oder asymptomatischen Patienten mit einer durch einen RT-PCR bestätigten Infektion mit SARS-CoV-2 gezeigt werden. Andernfalls müssen die Tests eine Sensitivität von mindestens 90% bei der Testung von Proben mit einer bestätigten

SARS-CoV-2 Infektion mit einem Ct-Wert über 25 aufweisen. Die Studienpopulation muss mindestens 100 Probanden mit einer durch die RT-PCR nachgewiesenen und 300 Probanden mit einer durch die RT-PCR ausgeschlossenen SARS-CoV-2 Infektion beinhalten. Die Tests müssen mindestens eine Spezifität von >98% aufweisen. Für die Kategorie B muss mindestens eine retrospektive in-vitro Studie nach den Kriterien des Health Security Committees vorliegen. Die Tests müssen mindestens eine analytische Sensitivität von 80% oder eine Sensitivität über 90% bei Proben mit einem Ct-Wert über 25 aufweisen. Auch die Tests der Kategorie B müssen mindestens eine Spezifität von 98% aufweisen (EC 2023).

Weitere Mindestanforderungen sind eine CE-Kennzeichnung und eine Zulassung in mindestens einem der 27 EU-Mitgliedsstaaten. Um eine CE-Kennzeichnung zu erhalten, muss ein Hersteller nachweisen, dass der Antigenschnelltest die EU-weiten Anforderungen an Sicherheit, Gesundheitsschutz und Umweltschutz erfüllt. Die seit dem 26.05.2022 in Kraft getretene IVD-Richtlinie stuft SARS-CoV-2 als Risikogruppe D-Pathogen und dadurch die Nachweistests in die höchste Risikoklasse ein. Somit muss für die Zulassung eines Tests eine benannte Konformitätsbewertungsstelle die Klassifizierung überprüfen. Die bisher zugelassenen Tests verlieren im Mai 2025 ihre CE-Kennzeichnung (BfArM 2020). In Deutschland müssen durch das PEI genehmigte klinische Leistungsstudien durchgeführt werden, um eine CE-Klassifizierung zu erhalten.

g. Pandemiewellen

Seit dem Beginn der Pandemie wurden die deutschlandweiten Infektionszahlen tagesaktuell vom Robert Koch-Institut veröffentlicht. Dadurch konnte das Gesamtgeschehen retrospektiv in zuerst 3 und später 8 epidemiologische Phasen eingeteilt werden (Schilling et al. 2021, Tolksdorf et al. 2022). Diese Einteilung beinhaltet 6 Pandemiewellen mit erhöhtem Infektionsgeschehen und zwei Plateauphasen in den Sommermonaten 2020 und 2021. Die Wellen sind besonders durch die steigenden und fallenden Inzidenzen gekennzeichnet. Zusätzlich stellt der Nachweis von Virusmutationen einen zentralen Aspekt in der Einteilung dar. Diese Virusmutationen wurden ständig von der WHO überwacht und als variant of concern (VOC), variant of interest (VOI) und variant under monitoring (VUM) klassifiziert (WHO 2023, WHO 2023b). Besondere Beachtung bedarf es dabei den Varianten Alpha (B.1.1.7), Beta (B.1.351), Gamma (P.1), Delta (B.1.617.2) und seit Ende November 2021 Omikron (B.1.1.529 und Sublinien). Diese vom RKI als besorgniserregende VOC eingestuft Virusmutationen unterscheiden sich epidemiologisch durch veränderte Transmissibilität, Virulenz, Infektiosität oder Effektivität von Gegenmaßnahmen und Nachweismethoden vom Indexvirus aus Wuhan (WHO 2021). Die zum Zeitpunkt der Abfassung dieser Arbeit vorherrschende Virusvariante Omikron-BA.5 und ihre Sublinien weisen eine erhöhte Affinität zum ACE-2-Rezeptor auf und sind nicht auf die Protease TMRPSS2 angewiesen, um in die Zellen einzudringen (Peacock et al. 2022). Durch diese Veränderungen sind bereits Immunevasionen beschrieben (Andreano et al. 2021, Greaney et al. 2021, Starr et al. 2020, Weisblum et al. 2020, Zahradnik et al. 2021). Strukturelle Veränderungen der Rezeptorbindungsdomäne in den oberflächlichen S-Proteinen werden häufig beobachtet und begünstigen die Entstehungen von Escape Varianten (Telenti et al. 2022, Willett et al. 2022). Über Mutationen in den von den Antigenschnelltests nachgewiesenen N-Proteinen ist

wenig bekannt. Dennoch müssen die Antigenschnelltests stetig validiert werden, um zu überprüfen, ob die überwiegend auftretenden Virusmutationen sicher erkannt werden.

h. Schutzmaßnahmen

Ein wichtiger Anteil der Infektionsprävention ist die Einhaltung von Hygienemaßnahmen und das Tragen persönlicher Schutzausrüstung. Seit dem 29. April 2020 galt deutschlandweit eine von der Bundesregierung erlassene allgemeine Maskenpflicht in Geschäften und in öffentlichen Verkehrsmitteln. Diese Regeln wurden im Laufe der Pandemie regelmäßig aktualisiert und am 01. Oktober 2022 im Infektionsschutzgesetz § 28b festgehalten. Darüber hinaus wurden der allgemeinen Bevölkerung Infektionspräventionsmaßnahmen empfohlen. Dazu gehörten das Tragen einer FFP2-Schutzmaske, ein Sicherheitsabstand von 1,5 m zu anderen Personen, die Händedesinfektion und das regelmäßige Händewaschen (§ 28b IfSG, Talic et al. 2021, Chu et al. 2020).

i. Zielsetzung der Dissertation

Ziel der Untersuchung war es, den Nutzen der zur Verfügung stehenden Nachweisverfahren im klinischen Alltag zu prüfen und eine Empfehlung für die Anwender zu erarbeiten, wann ein Antigentest und wann eine PCR zum Nachweis einer Infektion eingesetzt werden sollte.

Es ergeben sich die folgenden Hypothesen:

- Es besteht ein Zusammenhang zwischen der beobachteten Symptomatik der Patienten und der Sensitivität der Antigenschnelltests.
- Es besteht ein Zusammenhang zwischen dem Hospitalisierungsstatus und der Sensitivität der Antigenschnelltests.
- Die Indikationsstellung zur Durchführung von Antigenschnelltests hängt von der Symptomatik des Patienten ab.

Um diese Hypothesen zu überprüfen, wurden die folgenden beschriebenen Untersuchungen durchgeführt.

2. Material und Methoden

a. Versuchsreihe 1: Ermittlung der Nachweisgrenze von 13 Antigenschnelltests

Für diesen Versuch wurde eine Poolprobe mit einem Volumen von 20 ml hergestellt. Die Auswahl der Patientenrestproben erfolgte durch Dr. Mark Wasner. Hierfür wurden Proben der Routinemikrobiologie mit niedrigen Ct-Werten eingefroren und für die Versuchsreihe nach dem Auftauen gepoolt. Die Ct-Werte der Poolprobe wurden parallel zur Versuchsreihe pro amplifiziertem Gen (N-Gen und Nsp2-Gen) ermittelt. Die Ct-Werte betragen für das N-Gen 15,98 und das Nsp2-Gen 16,72. Aus dieser Poolprobe wurden 2 Verdünnungsreihen erstellt. Dafür wurden jeweils 2 ml der Poolprobe entnommen und mit 18 ml physiologischer Kochsalzlösung gemischt. Das Gemisch wurde mittels Vortexmischer bei 2500U/min 30 Sekunden lang homogenisiert. In einer Verdünnungsreihe wurde die Probe in jedem Schritt um den Faktor 10 verdünnt. Insgesamt wurden 7 Verdünnungsstufen erstellt. Im Verlauf wurden die beiden separaten Verdünnungsreihen zusammengeführt. Aus jeder Verdünnungsstufe wurden 5ml zusammengeführt. Es wurden 100 µl der Extraktionspuffer der Antigenschnelltests und 100 µl der vorbereiteten Probe in 1,5ml Eppendorf

Reaktionsgefäße überführt. Diese wurden mittels Vortexmischer homogenisiert. Die so vorbereiteten Proben wurden parallel auf die Auftragsstellen der Antigenschnelltests aufgebracht. Es wurden pro Test 2 Testkassetten im Parallelansatz prozessiert. Pro Test wurden zwei Chargen, sofern vorhanden, verwendet. Die Ergebnisse wurden nach 15 Minuten abgelesen und mittels Fotografie dokumentiert. Dieses Verfahren wurde auf jede Verdünnungsstufe angewendet. Die Verdünnungsstufe 7 wurde ausschließlich in Test 1-3 prozessiert. Die verdünnten Proben wurden mittels Routine-PCR untersucht, um den Ct-Wert der Probe zu ermitteln.

Analog zu diesem Vorgehen wurde eine Negativkontrolle vorbereitet und prozessiert.

Tabelle 1: Testname und Chargennummer aus Versuch 1

	Testname	Charge 1	Charge 2
Test 1	Clinitest	2010192	2011099
Test 2	AMP Rapid Test	20100009	20110001
Test 3	Coronavirus Ag Rapid Test	2010217	2010219
Test 4	Standard Q COVID-19 Ag	QCO3020042P/SUB: P-1	QCO3020042P/SUB: P-2
Test 5	GA CoV-2 Antigen Rapid	20398002/1	20398002/1
Test 6	CerTest SARS-CoV-2	SC012E418	SC009K391
Test 7	NovaTest	20201105	20201105
Test 8	MEDsan	25AG0120201116S	25AG0120201116S
Test 9	JoinStar	COV2011001L	COV2011001L
Test 10	VivaDiag	SE2011034	SE2011034
Test 11	Hightop	COV-1201159	COV-1201159
Test 12	RealJ	202011007	202011007
Test 13	Spucktest	COV04S-2010S404	COV04S-2010S404

b. Versuchsreihe 2: Patientenkollektiv

In der vorliegenden Studie wurden 149 Patienten im Alter von 18-89 Jahre eingeschlossen. Voraussetzung für die Teilnahme war der klinische Verdacht auf eine Infektion mit SARS-CoV-2 oder der Kontakt zu einer infizierten Person, sowie eine unterschriebene Einwilligungserklärung. Es wurden keine Ausschlusskriterien definiert. Von den 149 Probanden waren 137 Patienten im Fieber- und Testzentrum Bernburg vorstellig geworden und 12 Patienten befanden sich in den Aneos Kliniken der Region Ost in stationärer Behandlung. Die Patienten wurden in 4 Patientengruppen zu 3 Zeitpunkten während der Pandemie eingeschlossen. Die erste Patientengruppe umfasste 56 Patienten im Fieberzentrum Bernburg im Januar 2021 während der zweiten Pandemiewelle. Die zweite Patientengruppe umfasste 42 Patienten im Fieberzentrum Bernburg im Mai 2021 während der dritten Pandemiewelle (VOC Alpha). Die dritte Patientengruppe umfasste 39 Patienten

im Fieberzentrum Bernburg während der vierten Pandemiewelle (VOC Delta Herbst/Winter). Die vierte Patientengruppe umfasste 12 hospitalisierte Patienten ebenfalls im Mai 2021 während der vierten Pandemiewelle (Tolksdorf K et al. 2022). Von den hospitalisierten Patienten lagen 5 Patienten auf einer Normalstation im Klinikum Aschersleben, 1 Patient auf der Intensivstation im Klinikum Aschersleben, 2 Patienten auf einer Normalstation im Klinikum Bernburg und 4 Patienten auf einer Normalstation im Klinikum Staßfurt. Im Rahmen des Einschusses der Patienten der ersten Untersuchungsgruppe vom Januar 2021 wurden von Dr. Mark Wasner anonymisierte Ct-Werte aus der Routinelaboruntersuchung zwischen dem 01.01.2021 und dem 27.01.2021 zur Verfügung gestellt. Dabei wurde von 393 Proben das Nsp2-Gen prozessiert. Von weiteren 357 Proben wurde das N-Gen prozessiert. Alle Untersuchungen wurden mit Hilfe des Gerätes QuantStudio 6 der Firma ThermoFisher Scientific durchgeführt.

c. Abstrichentnahme

Alle Patienten wurden im Rahmen einer klinischen Untersuchung mittels Nasopharyngealabstrich in einem Antigenschnelltest der Firma Orient Gene (Coronavirus Ag Rapid Test) und der RT-PCR auf eine Infektion mit SARS-CoV-2 getestet. Der Antigenschnelltest wurde nach 15 Minuten ausgewertet. Die Ergebnisse der RT-PCR wurden unter Angabe des Ct-Werts ermittelt. Für jede Probe wurden das N-Gen und das Nsp2-Gen amplifiziert.

d. Persönliche Schutzausrüstung

Die standardmäßige persönliche Schutzausrüstung bei Abstrichentnahme bestand aus einer FFP2-Maske, einem Einwegkittel, einer Haube und Einweghandschuhen.

e. Anamnesebogen

Während der klinischen Untersuchung wurden die Symptome und der Krankheitsverlauf der Patienten in einem Anamnesebogen dokumentiert. Des Weiteren wurden das Geburtsdatum der Patienten, Symptome, vorherige Infektionen, der Impfstatus, eine vorangegangene Hospitalisierung, vorherige Testergebnisse der RT-PCR und der Antigentestungen sowie ein mögliches Kontaktdaten mit einer infizierten Person erhoben.

Die Leitsymptome einer COVID-19-Erkrankung sind Husten, Fieber, Schnupfen und Störung des Geruchs- und/oder Geschmackssinns (RKI 2021; Schilling et al. 2021b). Die Patienten wurden mit Fokus auf die beschriebenen 4 Leitsymptome im Rahmen einer klinischen Untersuchung in zwei Gruppen unterteilt.

In Gruppe 1 befinden sich Patienten, die mindestens ein Leitsymptom aufwiesen. In Gruppe 2 finden sich Patienten, die an keinem der Leitsymptome litten.

Es zeigten 59 Patienten zum Zeitpunkt der Testung mindestens ein Leitsymptom, 90 Patienten zeigten keine Leitsymptome und galten somit als asymptomatisch. Grund für die Testung dieser Patienten waren unspezifische Symptome, ein vorheriger positiver Selbsttest oder der Kontakt zu einem positiv getesteten Patienten. Im Anschluss an die Untersuchung wurden die Daten eingescannt und in einer Datenbank in Microsoft Excel gesammelt.

f. Statistische Auswertung

Die erhobenen Daten wurden mit Hilfe des Programms GraphPad PRISM analysiert und aufbereitet. Für die Berechnung der Sensitivität, Spezifität, p-Werte und des 95%-Konfidenzintervalls wurde der exakte Fisher-Test verwendet.

g. Einverständniserklärung

Die Einverständniserklärung für die eingeschlossenen Patienten findet sich als Muster in der Anlage.

h. Ethikvotum

Die Arbeit wurde nach der Deklaration von Helsinki – Ethische Grundsätze für die medizinische Forschung am Menschen durchgeführt. Der Ethikantrag wurde durch die Ärztekammer Sachsen-Anhalt (Aktenzeichen 54/21) geprüft und bewilligt.

i. Studienregister

Die klinische Studie wurde in der International Clinical Trials Registry Plattform der WHO registriert und genehmigt (Studienregister: DRKS00028072).

3. Ergebnisse

a. Vorversuch: Vergleich der Herstellerangaben von 13 Antigenschnelltests

Laut In-vitro-Diagnostika Verordnung ist es notwendig, jedes in den Verkehr gebrachte Testverfahren anhand des eigenen Untersuchungskollektivs in Bezug zu stellen (BfArM, 2020). Es wurden insgesamt 13 CE-markierte Antigenschnelltests in die Untersuchung einbezogen. Zunächst wurden die Packungsbeilagen von 13 Antigenschnelltests verglichen und ihre Nachweisgrenzen gegenübergestellt, um einen hochwertigen Antigenschnelltest zu identifizieren.

In der Versuchsreihe wurden die folgenden Tests verwendet: Clinitest, AMP Rapid Test, Orient Gene Coronavirus Ag Rapid Test, SD Biosensor Standard Q COVID-19 Ag, GA CoV-2 Antigen Rapid, CerTest SARS-CoV-2, NovaTest Rapid Antigen, MEDsan Antigen Rapid Test, Joinstar COVID-19 Antigenschnelltest, VivaDiag PRO, Hightop, RealJ und PCL AG Saliva Gold (siehe Tabelle 2).

Ein Schwerpunkt wurde auf die Beschreibung der in die klinischen Studien eingeschlossenen Kollektive gelegt. Diese Kollektive sind entscheidend für die Berechnung der anzunehmenden diagnostischen Sensitivität. In Tabelle 2 wird die Sensitivität aus den Herstellerangaben der Antigenschnelltests dargestellt.

Tabelle 2: Vergleich der Herstellerangaben zu den eingesetzten Antigenschnelltests mit Schwerpunkt auf den durchgeführten klinischen Studien

Testname	Relative Sensitivität (Herstellerangabe)	Anzahl der untersuchten Proben	Einschlusskriterien für die klinische Studien
1: Clinitest (US)	96,72 % (95 % CI: 88,65 % - 99,60%)	317	Keine Angabe
2: AMP Rapid Test (AT)	97,3% (95% CI: 90,0% - 99,8%)	250	Keine Angabe
3: Orient Gene Coronavirus Ag Rapid Test (CN)	96,72 % (95 % CI: 88,65 % - 99,60%)	317	Keine Angabe
4: SD Biosensor Standard Q COVID-19 Ag (Korea)	96,52% (111/115, 95% CI: 91,33 - 99,04%) Ct-Werte der getesteten Proben <24 Ct: 97,6% (164); <27 Ct: 96,5% (199); <30 Ct: 95,5% (220); <33 Ct: 93% (238)	426	Klinischer Verdacht auf eine SARS-CoV-2 Infektion
5: GA CoV-2 Antigen Rapid (DE)	96,4% (95 CI: 89,8% - 99,2%)	204	Keine Angabe
6: CerTest SARS-CoV-2 (Onestep test)	92,9% (95 CI: 76,5% - 99,1%)	262	Verdacht auf SARS-CoV-2 Infektion
7: NovaTest	97.5% (95% CI: 91,5% - 99,3%)	363	Keine Angabe
8: MEDsan	92,50%	620	Nur symptomatische Personen
9: JoinStar	95% (95%CI: 86,08 - 98,96%)	90	Keine Angabe
10: VivaDiag PRO	97,06% (95%CI: 91,71% ~ 99,99%)	533	Nur Symptomatische Patienten
11: Hightop	95% (CI: 88,83% - 97,85%)	500	Verdacht auf SARS-CoV-2 Infektion
12: RealJ	96,17% (95%CI: 92,51% - 98,17%)	659	Keine Angabe
13: PCL AG Saliva Gold	Speichel: 94,29% (95% CI: 80,84% - 99,30%) Abstrich: 90,00% (95% CI: 85,00% - 99,30%)	Speichel: 105 Abstrich: 45	Vorherige positive RT-PCR

Abkürzungen: CI = Konfidenzintervall; Ct = cycle threshold

b. Ermittlung der Nachweisgrenze zur Auswahl eines Schnelltests

Aus Tabelle 3 und 4 lässt sich mit Hilfe der Nachweisgrenzen der Schnelltests eine analytische Sensitivität berechnen. Die Poolprobe und die daraus erzeugten Verdünnungsstufen 1-5 wurden in die Berechnungen einbezogen. Insgesamt wurden 156 Antigenschnelltests gewertet. Davon wurden 80 Tests als richtig positiv und 76 Tests als falsch negativ gewertet. Daraus ergibt sich eine analytische Sensitivität von 51,28% im Vergleich zu der PCR. Die in Tabelle 3 erfassten Angaben zur diagnostischen Sensitivität der Hersteller hinsichtlich der analytischen Sensitivität wurden nicht erreicht. Zur Berechnung der diagnostischen Sensitivität der Hersteller wurden in 5 der 13 Tests nur Patienten einbezogen, bei denen der klinische Verdacht auf eine SARS-CoV-2 Infektion bestand. Bei 1 der 13 Tests war ein vorheriges positives PCR-Ergebnis das Auswahlkriterium. Bei 7 der 13 Tests gab es keine Angaben über die Auswahlkriterien der Patienten.

Durch die Ergebnisse der Versuchsreihen konnte der Coronavirus Ag Rapid Test (Test 3) von Orient Gene als qualitativ hochwertiger Test identifiziert werden. Dieser Test wurde in den weiteren Schritten verwendet.

Tabelle 3: Ergebnisse der Testungen von Charge 1 der in Versuch 1 eingesetzten Tests

Charge 1	Verdünnung	Test 1	Test 2	Test 3	Test 4	Test 5	Test 6	Test 7	Test 8	Test 9	Test 10	Test 11	Test 12	Test 13	Ct-Wert N-Gen	Ct-Wert Nsp2-Gen
Poolprobe naiv		pos	pos	pos	pos	pos	pos	pos	pos	pos (s)	pos	pos	pos	pos	15,98	16,72
Verdünnung 1	10 ⁻¹	pos	pos	pos	pos	pos	pos	pos	pos	neg	pos	pos	pos	pos	19,07	19,76
Verdünnung 2	10 ⁻²	pos	pos	pos	pos	pos (s)	pos (s)	pos	pos	neg	pos (s)	pos	pos (s)	pos	22,02	22,74
Verdünnung 3	10 ⁻³	pos (s)	pos (s)	pos (s)	neg	neg	neg	pos (s)	neg	neg	neg	pos (s)	neg	pos (s)	25,10	25,84
Verdünnung 4	10 ⁻⁴	neg	pos (s)	pos (s)	neg	neg	neg	neg	neg	neg	neg	neg	neg	neg	28,29	28,89
Verdünnung 5	10 ⁻⁵	neg	neg	neg	neg	neg	neg	neg	neg	neg	neg	neg	neg	neg	32,57	33,18
Verdünnung 6	10 ⁻⁶	neg	neg	neg	neg	neg	neg	neg	neg	neg	neg	neg	neg	neg	neg	34,45
Verdünnung 7	10 ⁻⁷	neg	neg	neg											neg	neg
Negativkontrolle		neg	neg	neg	neg	neg	neg	neg	neg	neg	neg	neg	neg	neg	neg	neg

Abkürzungen: pos = positiv; pos (s) = positiv mit abgeschwächter Bandenintensität; neg = negativ

Tabelle 4: Ergebnisse der Testungen von Charge 2 der in Versuch 1 eingesetzten Tests

Charge 2	Verdünnung	Test 1	Test 2	Test 3	Test 4	Test 5	Test 6	Test 7	Test 8	Test 9	Test 10	Test 11	Test 12	Test 13	Ct-Wert N-Gen	Ct-Wert Nsp2-Gen
Poolprobe naiv		pos	pos	pos	pos	pos	pos	pos	pos	pos (s)	pos	pos	pos	pos	15,98	16,72
Verdünnung 1	10 ⁻¹	pos	pos	pos	pos	pos	pos	pos	pos	neg	pos	pos	pos	pos	19,07	19,76
Verdünnung 2	10 ⁻²	pos	pos	pos	pos	pos (s)	pos (s)	pos	pos	neg	pos (s)	pos	pos (s)	pos	22,02	22,74
Verdünnung 3	10 ⁻³	pos (s)	pos (s)	pos (s)	neg	neg	neg	pos (s)	neg	neg	neg	pos (s)	neg	pos (s)	25,10	25,84
Verdünnung 4	10 ⁻⁴	pos (s)	neg	neg	neg	neg	neg	neg	neg	neg	neg	neg	neg	neg	28,29	28,89
Verdünnung 5	10 ⁻⁵	neg	neg	neg	neg	neg	neg	neg	neg	neg	neg	neg	neg	neg	32,57	33,18
Verdünnung 6	10 ⁻⁶	neg	neg	neg	neg	neg	neg	neg	neg	neg	neg	neg	neg	neg	neg	34,45
Verdünnung 7	10 ⁻⁷	neg	neg	neg											neg	neg
Negativkontrolle		neg	neg	neg	neg	neg	neg	neg	neg	neg	neg	neg	neg	neg	neg	neg

Abkürzungen: pos = positiv; pos (s) = positiv mit abgeschwächter Bandenintensität; neg = negativ

c. Klinische Studie

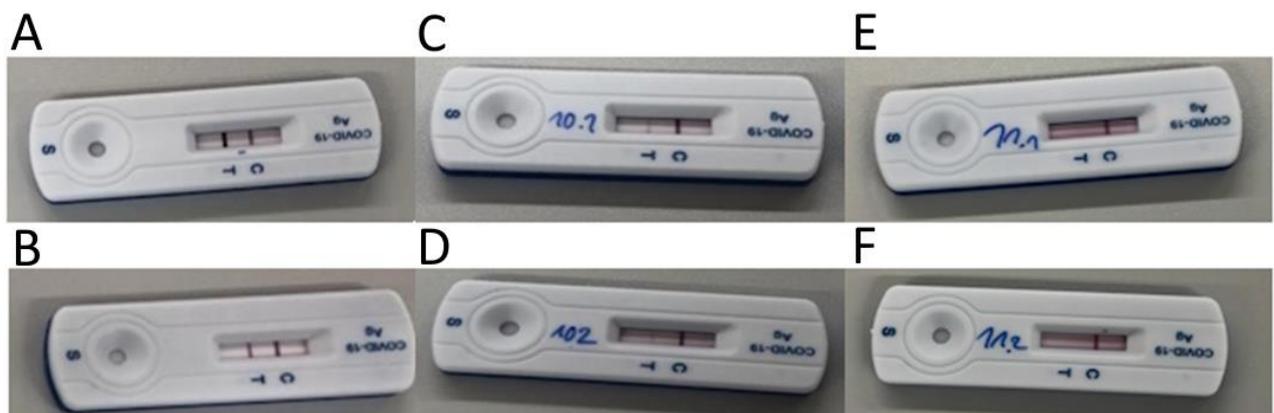


Abbildung 2: Fotos von exemplarischen Testergebnissen.

Positive Testergebnisse (pos) in A und B. Positive Testergebnisse mit niedriger Bandenintensität (pos (s)) in C und D. Negative Testergebnisse (neg) in E und F.

i. Statistische Auswertung

Von 149 eingeschlossenen Patienten zeigten 59 Patienten mindestens ein Leitsymptom einer COVID-19 Erkrankung. 25/59 Patienten hatten ein Symptom, 27/59 Patienten hatten zwei Symptome und 7/59 Patienten hatten drei Symptome. Bei 23/59 Patienten konnte zum Zeitpunkt der Untersuchung eine Infektion mit SARS-CoV-2 mittels PCR ausgeschlossen

werden. Bei diesen Patienten fiel auch der Antigenschnelltest negativ aus. 36/59 Patienten (61%) waren zum Zeitpunkt der Untersuchung nachweislich mit SARS-CoV-2 infiziert. Bei 18 Patienten fiel das Ergebnis des Antigenschnelltests positiv aus. Die Ct-Werte dieser Patienten lagen zwischen 12-32 (Mittelwert: 20,61). Bei weiteren 18 Patienten fiel das Ergebnis des Antigenschnelltests negativ aus. Die Ct-Werte dieser Patienten lagen zwischen 20-35 (Mittelwert: 30,5). Aus diesen Werten ergibt sich eine Sensitivität der Antigenschnelltests bei symptomatischen Patienten von 50% (95% CI: 34,5% bis 65,5%, p-Wert: <0,0001). Die Spezifität der Schnelltests beträgt bei den symptomatischen Patienten 100%.

Von 149 eingeschlossenen Patienten zeigten 90 kein Leitsymptom einer COVID-19-Infektion. 6 Patienten gaben eine unspezifische Schmerzsymptomatik an. Bei 21/90 asymptomatischen Patienten (23,3%) konnte eine SARS-CoV-2 Infektion mittels PCR nachgewiesen werden. Bei 6/21 Patienten fielen die Antigenschnelltests positiv aus. Die Ct-Werte dieser Patienten lagen zwischen 13-27 (Mittelwert: 20). Bei 15/21 Patienten fielen die Antigenschnelltests negativ aus. Die Ct-Werte dieser Patienten lagen zwischen 20-39 (Mittelwert: 31,86). Bei 69/90 Patienten wurde eine SARS-CoV-2 Infektion mittels PCR ausgeschlossen. Bei 1/69 Patienten fiel der Antigenschnelltest positiv aus. Bei 68/69 fiel der Antigenschnelltest negativ aus. Aus diesen Werten ergibt sich eine Sensitivität der Antigenschnelltests bei asymptomatischen Patienten von 28,6% (95% CI: 13,8% bis 50%, p-Wert: 0,0005). Die Spezifität der Schnelltests beträgt bei den symptomatischen Patienten 98,88%.

Insgesamt beträgt die Sensitivität der Antigenschnelltests 43,6 % (95% CI: 31,4% bis 56,7%, p-Wert <0,0001). Die Spezifität der Antigenschnelltests beträgt 99,1%.

Tabelle 5: Vierfeldertafeln zur Sensitivitäts- und Spezifitätsberechnung der Antigenschnelltests

Symptomatische Patienten	PCR pos.	PCR neg.
POCT pos.	18	0
POCT neg.	18	41
	Sensitivität*	50 % (95% CI: 34,5% bis 65,5%)
	Spezifität*	100 %
Asymptomatische Patienten	PCR pos.	PCR neg.
POCT pos.	6	1
POCT neg.	15	68
	Sensitivität*	28,6 % (95% CI: 13,8% bis 50%)
	Spezifität*	98,9 %
Screening aller Patienten	PCR pos.	PCR neg.
POCT pos.	24	1
POCT neg.	31	109
	Sensitivität*	43,6 % (95% CI: 31,4% bis 56,7%)
	Spezifität*	99,1 %

Abkürzungen: CI = Konfidenzintervall; neg = negativ; POCT = Point of Care Test; PCR = Polymerasekettenreaktion; pos = positiv; *berechnet mit Fisher's exact test in GraphPad PRISM

ii. Deskriptive Auswertung

Hospitalisierungsstatus der in die Studie eingeschlossenen Patienten:

12/149 Patienten waren zum Zeitpunkt der Untersuchung hospitalisiert. Bei 8 der hospitalisierten Patienten konnte mittels PCR eine SARS-CoV-2 Infektion nachgewiesen werden. Nur bei 2/12 Patienten fiel der Antigenschnelltest positiv aus. Diese Patienten hatten eine Hospitalisierungsdauer von 9 (Ct 21) und 14 (Ct 32) Tagen. Bei 5 der hospitalisierten Patienten wurde im Verlauf des Klinikaufenthalts eine Pneumonie diagnostiziert. Bei 3/5 Patienten war die Pneumonie zum Zeitpunkt des Antigenschnelltests bereits abgeklungen. Die Hospitalisierungsdauer der Patienten betrug zwischen 9 und 54 Tagen. Bei dem Patienten mit einer Liegezeit von 54 Tagen konnte mittels PCR eine Infektion nachgewiesen werden (Ct 36). 9/12 Patienten wurden mit Sauerstoff versorgt. Davon wurde ein Patient invasiv beatmet.

Tabelle 6: Auflistung der Ergebnisse aller hospitalisierten Patienten

Patient	Hospitalisierungsdauer in Tagen bei Abnahme	Symptomatik	PCR (Ct)	POCT	Sauerstoffgabe
Hospitalisiert 1	9	Ja	21	pos	Nein
Hospitalisiert 2	15	Ja	24	neg	Ja
Hospitalisiert 3	8	Nein	29	neg	Ja
Hospitalisiert 4	33	Ja	31	neg	Ja
Hospitalisiert 5	14	Ja	32	pos	Ja
Hospitalisiert 6	54	Ja	34	neg	Nein
Hospitalisiert 7	26	Ja	35	neg	Ja, invasiv
Hospitalisiert 8	43	Nein	36	neg	Ja
Hospitalisiert 9	31	Nein	neg	neg	Ja
Hospitalisiert 10	22	Nein	neg	neg	Ja
Hospitalisiert 11	28	Nein	neg	neg	Nein
Hospitalisiert 12	16	Nein	neg	neg	Ja

Abkürzungen: Ct = Cycle threshold; neg = negativ; POCT = Point of Care Test; PCR = Polymerasekettenreaktion; pos = positiv

Symptomatik aller in die Studie eingeschlossenen Patienten:

41/149 Patienten litten während der Untersuchung an einer Hustensymptomatik. Bei 25/41 (61%) dieser Patienten konnte eine SARS-CoV-2 Infektion mittels PCR nachgewiesen werden. Bei 16/41 (39%) der Patienten fiel der Antigenschnelltest positiv aus. 41/149 Patienten litten

während der Untersuchung an einer Schnupfensymptomatik. Bei 25/41 (61%) dieser Patienten konnte eine SARS-CoV-2 Infektion mittels PCR nachgewiesen werden. Bei 16/41 (39%) der Patienten fiel der Antigenschnelltest positiv aus. 15/149 Patienten zeigten während der Untersuchung eine Störung des Geruchs-/Geschmackssinns. Bei 9/15 (60%) dieser Patienten konnte eine SARS-CoV-2 Infektion mittels PCR nachgewiesen werden. Bei 2/15 (13,3%) Patienten fiel der Antigenschnelltest positiv aus. 2/149 Patienten litten während der Untersuchung an Fieber. Bei 2/2 (100%) dieser Patienten konnte eine SARS-CoV-2 Infektion mittels PCR nachgewiesen werden. Bei 1/2 (50%) fiel der Antigenschnelltest positiv aus.

Tabelle 7: Symptomatik aller untersuchten Patienten mit COVID-spezifischen Symptomen

Symptom	Anzahl der Patienten	Ct-Wert (Mittelwert)	POCT pos.
Husten	41	12-35 (24,2)	16
Fieber	2	20-35 (27,5)	1
Schnupfen	41	12-35 (23,2)	16
Störung Geruch/Geschmack	15	20-34 (27,3)	2

Abkürzungen: Ct = Cycle threshold; POCT pos. = Point of Care Test positiv

Selbsttests aller in der Studie eingeschlossenen Patienten unmittelbar vor der Untersuchung:

19/149 Patienten gaben an, bereits einen positiven Antigenselbsttest am Tag der Untersuchung gemacht zu haben. Lediglich bei 8/19 dieser Patienten konnte mittels PCR eine SARS-CoV-2 Infektion nachgewiesen werden. Bei 6 dieser 8 Patienten fielen Antigenschnelltests positiv aus. Bei den 11 PCR-negativen Patienten fielen auch die Antigenschnelltests negativ aus.

Impfstatus aller in die Studie eingeschlossenen Patienten:

18/149 Patienten waren zum Zeitpunkt der Studienteilnahme vollständig geimpft. Von diesen 18 Personen waren zum Zeitpunkt der Untersuchung 14 Personen zweifach und 4 Personen dreifach geimpft. Weitere 24 der 149 Patienten haben bereits eine Impfdosis erhalten. Bei 11/18 vollständig geimpften Patienten konnte eine Infektion mit SARS-CoV-2 mittels PCR bestätigt werden (Ct 15-36). Bei 6/11 dieser Patienten wurde die Infektion im Antigenschnelltest erkannt (Ct 15-28). 10/18 der vollständig geimpften Patienten zeigten Symptome. Von den geimpften Patienten waren 8 nachweislich mit SARS-CoV-2 infiziert. 5 dieser Patienten wurden im Antigenschnelltest erkannt.

iii. Verteilung der Ct-Werte

Bei den 59 symptomatischen Patienten wurden bei den 36 PCR-positiven Proben Ct-Werte von 12-35 mit einem Mittelwert von 25,56 ermittelt. Bei den 90 asymptomatischen Patienten wurden bei den 21 PCR-positiven Proben Ct-Werte von 13-39 mit einem Mittelwert von 28,48 ermittelt. Dies zeigt, dass die symptomatischen Probanden eine höhere Viruslast als asymptomatische Probanden zeigen.

Die Ct-Wertverteilung der beiden Gruppen unterscheidet sich signifikant voneinander (p-Wert <0,0001).

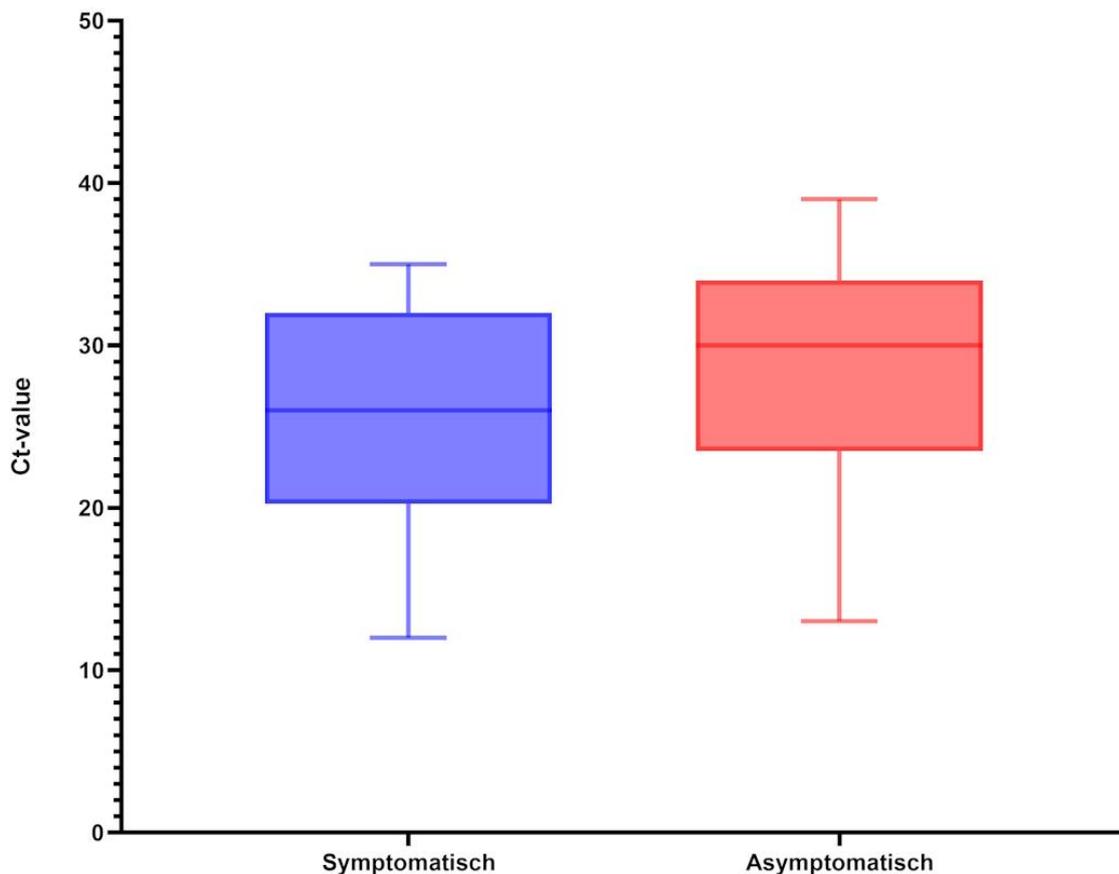


Abbildung 3: Boxplot zur Ct-Wertverteilung der symptomatischen und asymptomatischen Patienten

iv. Stichprobe des Routinelabors

Um die erhobenen Daten bezüglich Aussagekraft in den Kontext der realen Ct-Wertverteilung zu setzen, wurde diese in einem größeren Untersuchungskollektiv ermittelt.

Insgesamt wurden zwischen dem 01.01.2021 und dem 27.01.2021 750 Proben im Routinelabor der KH Labor mittels PCR prozessiert. Es wurde von 393 Proben das N-Gen und von 357 Proben das Nsp2-Gen in der PCR prozessiert. Die Ct-Werte wurden auf zwei Dezimalstellen genau ermittelt und anschließend auf ganze Zahlen gerundet. Die Ergebnisse wurden in die Gruppen <16, 16-18, 19-21, 22-24, 25-27, 28-30, 31-33 und ≥ 34 eingeteilt.

Die ermittelte Nachweisgrenze liegt für das N-Gen bei 25,10 Ct und für das Nsp2-Gen bei 25,84 Ct. Daraus ergibt sich, dass 43,8% (N-Gen) und 45,4% (Nsp2-Gen) der Proben durch Antigenschnelltests sicher erkannt werden.

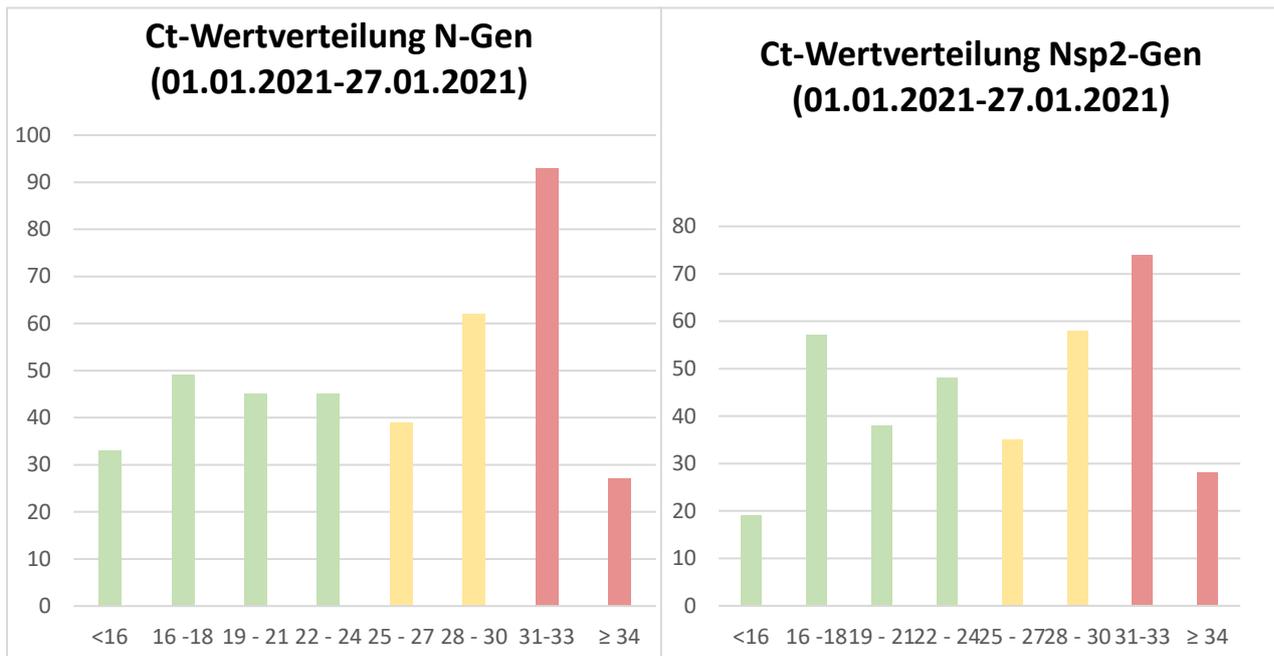


Abbildung 4: Balkendiagramm der Ergebnisse der Stichprobe vom 01.01.2021 – 27.01.2021 (N-Gen)

Abbildung 5: Balkendiagramm der Ergebnisse der Stichprobe vom 01.01.2021 – 27.01.2021 (Nsp2-Gen)

4. Diskussion

a. Vergleich der Nachweisgrenze der Testsysteme und Auswahl eines Testverfahrens

Vergleicht man die Herstellerangaben der geprüften Testverfahren fällt auf, dass nur 2 von 13 Tests Angaben zu den klinischen Einschlusskriterien der ausgewählten Proben ausweisen. Auch die Anzahl der untersuchten Proben differierte stark. Alle Hersteller gaben Sensitivitäten über 90% an. Ohne eine detaillierte Charakterisierung der Patientenkollektive, die für die Validierung der Testverfahren eingesetzt wurden, sind die Herstellerangaben nur mit großen Einschränkungen verwertbar. Nur ein Hersteller gab zusätzlich Informationen über die erreichte Sensitivität bei unterschiedlichen Ct-Werten der Proben an. Die Daten aller Testhersteller lassen annehmen, dass alle Schnelltests zum Screening von symptomatischen und asymptomatischen Patienten geeignet sind. Die vorliegenden Ergebnisse finden die Herstellerangaben zur Sensitivität in keinem Fall wieder. Es findet sich in dieser Arbeit lediglich eine analytische Sensitivität aller Schnelltests von 51,28% bei gesichert PCR-positiven Proben. Der Unterschied zwischen der analytischen und der diagnostischen Sensitivität ist dabei zu beachten. Die analytische Sensitivität wird über die Nachweisgrenze im Vergleich zum bestehenden Goldstandard definiert. Sie ist also ein Vergleichsparameter, der nur bedingt Aussagen über den Einsatz unter realen Bedingungen zulässt. Die diagnostische Sensitivität hingegen definiert wie viele erkrankte Personen von der Untersuchungsmethode erfasst werden. Der Vergleich der Herstellerangaben mit den erzielten Ergebnissen zeigt, dass die Nachweisgrenze in Bezug auf die Viruskonzentration deutlich niedriger ist als beschrieben. Lediglich Proben der zweiten Verdünnungsstufe (Ct 22,02) konnten, mit Ausnahme des Tests Nr. 9, positiv gewertet werden. Bereits in der nächsten Titerstufe (Viruskonzentration 25,10 Ct) konnten nur 6 von 13 Tests Virusprotein nachweisen. In dem durchgeführten Prüfverfahren ist ein zusätzlicher Verdünnungsschritt

bei der Beurteilung der Ergebnisse zu berücksichtigen. Der Abstrichtupfer wurde zunächst im Transportmedium des eSwab Systems gelöst und nicht direkt in den Probenpuffer des Testverfahrens überführt. Der Schritt des Probenpooling und die parallele Bestimmung der Viruslast in jeder Verdünnungsstufe mittels PCR ermöglichte dennoch einen objektiven Vergleich der Testverfahren.

Es muss darauf hingewiesen werden, dass die untersuchten Poolproben routinemäßig im Labor eingefroren wurden und kein Stabilisator hinzugegeben wurde. Proteine reagieren im Vergleich zu DNA-Molekülen empfindlicher auf das Einfrieren. Es wurde darauf geachtet, dass die Proben bei -30°C gelagert wurden und nicht wiederholt aufgetaut und erneut eingefroren wurden. Der Einfluss auf die Testsensitivität oder Spezifität war nicht Bestandteil dieser Arbeit.

Mit Hilfe des vorliegenden Versuchsansatzes wurden die Nachweisgrenzen der Verfahren und mögliche Unterschiede zwischen Chargen ermittelt. Die Ergebnisse zeigen, dass Schwankungen der Nachweisrate zwischen zwei Chargen in Höhe einer Titerstufe möglich sind. Für Anwender bedeutet das, möglichst lange mit einer Charge zu arbeiten, um vergleichbare Werte zu generieren. Bei Chargenwechseln sollte die Nachweisgrenze mit bekannten Proben überprüft werden. Die Tests 1, 2 und 3 zeigten ähnliche Sensitivitäten. Test 3 wurde aufgrund der ermittelten Testperformance und der Verfügbarkeit ausgewählt und in der vorliegenden Arbeit verwendet. Die signifikanten Unterschiede hinsichtlich Herstellerangaben und gefundenen Messergebnissen hinterlassen prinzipielle Zweifel an der Methode Antigenschnelltests als Screeningverfahren, vor allem in der Phase mit niedriger Viruslast zu Beginn der Infektion, einzusetzen.

Ein dem entwickelten Prüfverfahren sehr ähnlicher Ansatz wurde vom Paul-Ehrlich-Institut vorgeschlagen und angewandt, um die Güte von Antigenschnelltests unabhängig von den Herstellerangaben zu überprüfen (Scheiblauer et al. 2021).

Es ist jedem Anwender zu empfehlen, die Angaben der Hersteller zu prüfen, bevor Testsysteme zu diagnostischen Zwecken zum Einsatz kommen.

b. Zusammenhang zwischen Symptomatik und Sensitivität

Die Ergebnisse dieser Arbeit zeigen, dass die Sensitivität der Antigenschnelltests bei symptomatischen Patienten höher ist als bei asymptomatischen Patienten.

In einem kürzlich erschienenen Review von Dinnes et al. (2022) wird im Mittel von 155 Studien eine Sensitivität von 73% (,Range': 34,3 bis 91,3%) für symptomatische und eine Sensitivität von 54,7 % (,Range': 28,6% bis 77,8%) für asymptomatische Patienten beim Einsatz von Schnelltests ermittelt. Die Autoren betonen die Wichtigkeit unabhängiger Beurteilung eingesetzter Testverfahren. Die breite ,Range' gibt an, dass es große Güteunterschiede in den Testverfahren gibt. Die Tests sollten nur eingesetzt werden, sofern die PCR nicht zur Verfügung steht und respiratorische Symptome vorliegen.

Es muss im Rahmen der Pandemie berücksichtigt werden, dass Patienten mit typischen Symptomen mit einer höheren Wahrscheinlichkeit infiziert sind. Dadurch ergibt sich ein noch größerer Zusammenhang zwischen den Symptomen und der diagnostischen Sensitivität der Schnelltests.

Einen weiteren Faktor stellt die Viruslast dar. Niedrige Ct-Werte korrelieren mit einer hohen Viruslast und einem hohen Virusproteingehalt (Rabaan et al 2021, Puhach et al. 2023). In den vorliegenden Ergebnissen bestätigt sich diese Annahme. Der Ct Wert korreliert im Trend mit der Positivitätsrate des Antigenschnelltests. Je niedriger der Ct-Wert, desto häufiger fanden sich positive Signale im Antigentest. Dieser Trend bestätigt sich in vergleichbaren Arbeiten (Scheiblaue et al. 2021, Landaas et al. 2021, Krüttgen et al. 2021).

c. Hospitalisierungsstatus

Während der Hospitalisierungsphase, die mehr als 8 Tage andauerte, wurde nur in 2 Fällen ein positiver Antigenschnelltest erhoben. In beiden Fällen wiesen die Patienten noch Hauptsymptome auf. Bei angegebener Atemnot wurden 8 Patienten mit Sauerstoff versorgt und 1 Patient invasiv auf einer Intensivstation beatmet. Nur drei Patienten wiesen Ct-Werte <30 auf, die als Maß einer möglichen Infektiosität betrachtet werden können. Wie von van Kampen et al. (2021) beschrieben, beträgt die durchschnittliche Virusausscheidung bei hospitalisierten Patienten im Mittel 8 Tage. Nach 15,2 Tagen ist kaum noch eine Virusausscheidung nachweisbar. Zum Abstrichzeitpunkt im Rahmen dieser Untersuchung wurden die Patienten nur in die Häuslichkeit entlassen, wenn ein negativer PCR-Test bescheinigt wurde. Die vorliegenden Daten erlauben keine Beurteilung des Nutzens eines Antigenschnelltests in Bezug auf den Hospitalisierungsstatus.

d. Symptomatik

In den dargelegten Ergebnissen zeigt sich, dass die Schnelltestabstriche am häufigsten Patienten mit den Symptomen Schnupfen oder Husten erkennen. Ein möglicher Grund dafür ist, dass bei dem durchgeführten Kombiabstrich die Viren, welche in den oberen Atemwegen sitzen, gut erfasst werden. Es ist auch zu beachten, dass die Symptome Schnupfen und Husten die häufigsten Symptome der Erkrankung sind (Schilling et al. 2021b). Patienten die an einer Störung des Geschmacks-/Geruchssinns leiden, werden seltener erkannt. Der Verlust des Geschmacks- und Geruchssinns, welcher am ehesten durch eine Nervenschädigung verursacht wird, ist vermutlich ein späteres Symptom der Erkrankung, dessen Pathophysiologie noch nicht abschließend geklärt ist (Ganesh et al. 2021, Doty 2022).

In Bezug auf das Symptom Fieber liegen nicht genügend Daten vor, um das Ergebnis zu diskutieren.

e. Selbsttest und Präanalytik

In der vorliegenden Untersuchung berichteten 19/149 Patienten im Selbsttest ein positives Ergebnis am selben Tag erhalten zu haben. Bei einer ordnungsgemäßen Durchführung mit dem ausgewählten Test konnten nur 6 Patienten als antigenpositiv bestätigt werden. Dies unterstreicht die sorgfältige Auswahl des Tests sowie die Wichtigkeit der Präanalytik. Bei der Vielzahl der zu Verfügung stehenden Selbsttests spielt die Güte der Verfahren eine große Rolle. Ein Rückschluss auf die Güte der von den Probanden verwendeten Selbsttests ist nicht möglich. Es ist prinzipiell anzunehmen, dass durch die geringe Entnahme von nasalem Sekret die Sensitivität dieser Tests geringer ist als bei professionellen Tests. Die Präanalytik umfasst die Probenentnahme, die Lagerung und ihren Transport. Eine unsachgemäße Probenentnahme, beispielsweise durch ungeschultes Personal oder unsaubere Materialien, kann zu verfälschten Ergebnissen führen. Ebenso ist die unsachgemäße Lagerung der Proben

und des Testbestecks bei nicht optimalen Temperaturen oder zu langen Zeiträumen ein Risikofaktor. Dadurch kann die Stabilität der Viren, der DNA oder der Testmaterialien beeinträchtigt werden. Der unsachgemäße Transport der Proben kann zu Beschädigungen oder Kontamination führen, was ebenfalls die Zuverlässigkeit der Tests gefährdet. Daher ist eine sorgfältige Beachtung der präanalytischen Schritte von entscheidender Bedeutung, um genaue und verlässliche Ergebnisse bei Antigenschnelltests und PCR-Tests zu gewährleisten. Dies unterstreicht die Notwendigkeit einer qualifizierten Schulung des medizinischen Personals und einer sorgfältigen Planung und Umsetzung der präanalytischen Phase in Gesundheitseinrichtungen.

f. Impfstatus

In den vorliegenden Ergebnissen konnte keine klare Korrelation zwischen Impfstatus und Antigennachweis gefunden werden. Der Impfstatus der Patienten sollte dennoch als mögliche Fehlerquelle beachtet werden. Es zeigte sich in der Zulassungsstudie von AstraZeneca durch Vaxzevria ein Unterschied der Viruslast und Dauer der Ausscheidung von Viruspartikeln bei den Studienteilnehmern. Auch Patienten, welche sich nach einer Impfung infizierten, zeigten eine geringere initiale und totale Viruslast. Dies zeigt sich besonders auch in der PCR bei infizierten geimpften Patienten durch einen erhöhten Ct-Wert. Auch die durchschnittliche Zeit, in der Viren nachgewiesen werden können, ist bei geimpften infizierten Patienten um eine Woche verkürzt (Emary et al. 2021). Daraus resultiert eine niedrigere Transmissionsrate, die einen höheren Schutz vor schwerer Erkrankung erzeugt (Puhach et al. 2022).

g. Verteilung der Ct-Werte

Der Ct-Wert von symptomatischen und asymptomatischen Patienten unterscheidet sich in den Ergebnissen signifikant. Der Zeitpunkt der Infektion muss bei der Interpretation der Ct-Werte beachtet werden. Sinkt der Ct-Wert im Verlauf, darf davon ausgegangen werden, dass die Infektiosität steigt. Im Krankheitsverlauf steigt der Ct-Wert an und die Infektiosität nimmt ab (Cevik et al. 2020, Puhach et al. 2023). Ein sicherer Zeitpunkt, zu dem ein Patient nicht mehr infektiös ist, kann allerdings nicht mit Sicherheit bestimmt werden. Die hohe Viruslast eines Patienten korreliert mit einer hohen Übertragungswahrscheinlichkeit (Marks et al. 2021). In der Literatur wird ein Ct-,cut-off'-Wert von 31-34 als Parameter einer möglichen Infektiosität definiert. Der Zusammenhang von Viruslast und der Anzüchtbarkeit von Viren in Zellkulturen wurde von zahlreichen Autoren beschrieben (La Scola B et al. 2020, Arons et al. 2020, Wölfel et al. 2020, Kleist et al. 2020, Perera et al. 2020). Die Ct-,cut-off'-Werte sind jedoch aufgrund der mangelnden Vergleichbarkeit mit Vorsicht zu interpretieren. Hierzu zählen die Abnahmequalität, die Tupferbeschaffenheit, die Beschaffenheit des Transportmediums und das gewonnene und eingesetzte Volumen (Matheussen et al. 2020). Zusätzlich sind die PCR-Verfahren und Angaben zu den Ct-Werten je nach Labor verschieden. Deswegen ist ein Ct-Wert nicht absolut, sondern nur relativ zur Methode in eine Bewertung einzubeziehen. Durch die vorliegenden Ergebnisse bleibt das diagnostische Fenster zwischen der PCR und den Antigenschnelltests zwischen 25-31 geöffnet. Patienten mit einem Ct-Wert von 25-31, die höchstwahrscheinlich ansteckend sind, werden von den meisten Schnelltests nicht erkannt. Des Weiteren ist die Möglichkeit einer Übertragung durch asymptomatische Virusträger zu beachten (Van Vinh Chau N et al. 2020).

h. Stichprobe des Routinelabors

Um diese Zahlen besser einordnen zu können, müssen die Ergebnisse mit den Daten aus dem Routinelabor verglichen werden. Wird ein großzügiger Ct-,cut-off'-Wert von 31 angenommen, liegen etwa 26% (101/393) der Proben, bei denen das N-Gen prozessiert wurde, im offenen diagnostischen Fenster zwischen 25-30. Auch bei den Proben, bei denen das Nsp2-Gen prozessiert wurde, liegen etwa 26% (93/357) der Proben im offenen diagnostischen Fenster zwischen 25-30 Ct. Nur rund 47% (185/393) der Proben, bei denen das N-Gen prozessiert wurde und nur rund 48% (172/357) der Proben, bei denen das Nsp2-Gen prozessiert wurde, weisen einen Ct-Wert von 25 oder kleiner auf. Das bedeutet, dass weniger als die Hälfte der mittels PCR prozessierten Proben unter optimalen Bedingungen von ausgewählten Schnelltestsystemen erkannt werden. Es ist nicht auszuschließen, dass diese Statistik auch Wiederholungstests von Patienten beinhaltet.

i. Ausblick: Diagnostische und ,klinische Empfehlung'

Vor dem Ausbruch der Pandemie hatten Antigenschnelltests bei viralen respiratorischen Erkrankungen, wie zum Beispiel Influenza, einen geringen Stellenwert. Diese Schnelltests funktionieren nach dem gleichen Prinzip wie die Antigenschnelltests zum Nachweis von SARS-CoV-2. Auch bei den Influenzaschnelltests variiert die Sensitivität stark und liegt je nach Subtyp zwischen 10-80% mit einem Mittelwert von etwa 50-70% (Faix et al. 2009, WHO 2010, CDC 2016). In der Regel werden Schnelltests für Influenza nicht mehr empfohlen. Ein wichtiger Indikator für den Einsatz eines diagnostischen Tests ist der positive Vorhersagewert. Dieser berechnet sich aus der Sensitivität, der Prävalenz und der Spezifität eines Tests. Je höher die Prävalenz einer Erkrankung, desto weniger sensitiv muss ein diagnostischer Test sein, um einen guten positiven Vorhersagewert zu erfüllen. In den Hochphasen der Pandemie mit hohen Fallzahlen könnte man die geringe Sensitivität der Antigenschnelltests tolerieren. Dennoch sollte das diagnostische Fenster, das zwischen dem Infektionszeitpunkt und dem Krankheitsausbruch liegt, bestmöglich geschlossen werden. Die Nachweisgrenze der Viruslast mittels Antigentest stellt eine Einschränkung dar. Der Nachweis mittels PCR hilft das diagnostische Fenster annähernd zu schließen. Für den sicheren Nachweis einer Infektion wird auch bei Influenza ein PCR-Test empfohlen (WHO 2010, CDC 2016). Darüber hinaus gilt es generell die Patienten zu isolieren und so weiteren Infektionen vorzubeugen. Flankiert werden alle Maßnahmen durch eine sorgfältige Anamnese und eine Umfeldanalyse. Die Erkrankungswahrscheinlichkeit steigt mit dem wissentlichen Kontakt mit einer infizierten Person an (Cevik et al. 2021).

Die Ergebnisse der Schnelltests müssen immer im Kontext weiterer diagnostischer Maßnahmen und unter Berücksichtigung der klinischen Symptomatik interpretiert werden, um eine möglichst präzise Einschätzung der Infektionslage zu gewährleisten.

Des Weiteren entstehen durch die Verwendung von flächendeckenden Antigenschnelltests hohe Kosten. Insgesamt wurden im Verlauf der Pandemie 17,83 Mrd. Euro für Corona-Tests von der Bundesrepublik Deutschland aufgewendet. Davon entfielen 5 Mrd. Euro auf die Erstattung von Sachkosten für Antigenschnelltests und 3,2 Mrd. Euro auf den Nachweis mittels PCR (BAS 2024). Es stellt sich die Frage, ob der enorme finanzielle Einsatz den Nutzen der Antigenschnelltests rechtfertigt.

Eine Chance das diagnostische Fenster weitgehend zu schließen und Kosten zu sparen ist ein PCR-Pooling von zu untersuchenden Proben. Bei diesem Verfahren werden mehrere Proben gemeinsam also ‚gepooled‘ in der PCR prozessiert. Nur im Falle einer positiven Probe in einer Kohorte müssen die einzelnen Mitglieder dieser Poolprobe erneut prozessiert werden. Dafür müssen keine weiteren Proben entnommen werden. Die Größe der getesteten Pools kann an die Prävalenz und die Testkapazität angepasst werden (Schmidt et al 2020, Bilder et al. 2020, Lohse et al. 2020). Bei besonders niedriger Prävalenz haben Poolgrößen von bis zu 32 Proben eine ausreichende Sensitivität. Bei hoher Prävalenz ist es immer noch möglich, 3 Proben gepooled zu testen (Bilder et al 2021). Bei zukünftigen pandemischen Ereignissen sollte überlegt werden, ob nicht grundsätzlich ausschließlich Hochdurchsatz-PCR-Verfahren eingesetzt werden sollten. Nachteil dieses Konzeptes ist eine längere Wartezeit auf Ergebnisse.

In Bezug auf die Verwendung der Antigenschnelltests zum Screening potenzieller Infektionen und somit zur Prävention sollten auch andere infektionspräventive Maßnahmen beachtet werden. Kein diagnostischer Test ersetzt die präventiven Schutzmaßnahmen. Dadurch, dass die Übertragung von SARS-CoV-2 über Aerosole und Tröpfcheninfektion geschieht, stellen FFP2-Masken einen hochwertigen Schutz dar. Darüber hinaus sind die Basishygienemaßnahmen wie eine Händedesinfektion, das Händewaschen und ein ausreichender Sicherheitsabstand ergänzend notwendig, um Infektionen zu verhindern (§ 28b IfSG, Talic et al. 2021, Chu et al. 2020). Besonders in Gesundheitseinrichtungen stellt die ordnungsgemäße Anwendung persönlicher Schutzausrüstung die wichtigste Präventionsmaßnahme für weitere Infektionen dar.

Escape-Varianten wie Omikron stellen eine weitere Herausforderung für Antigenschnelltests und PCR-Tests im Zusammenhang mit COVID-19 dar. Diese Varianten weisen Mutationen im Spike-Protein des Virus auf, was dazu führen kann, dass herkömmliche Antigenschnelltests möglicherweise weniger empfindlich sind und Schwierigkeiten bei der Erkennung des Virus aufweisen. Die genetischen Veränderungen in Omikron können auch die PCR-Testergebnisse beeinflussen, da die Primer möglicherweise nicht mehr effizient an die veränderte Virus-RNA binden. Dies kann dazu führen, dass infizierte Personen trotz Vorliegens des Virus falsch negative Testergebnisse erhalten.

Die hier gezeigten stark abweichenden Ergebnisse zur Sensitivität unterstreichen die Wichtigkeit einer herstellerunabhängigen Validierung (Krüger et al. 2020). Folglich sollte jeder Anwender vor dem Einsatz des Testsystems dieses möglichst an seinem Untersuchungskollektiv validieren. Die Erfassung möglicher Symptome sowie eine Umfelddiagnostik sollte sehr sorgfältig vorgenommen werden. Die Validierung ist nur wenigen Anwendern, die über ein entsprechendes PCR-Labor verfügen, vorbehalten.

Des Weiteren bedienen sich einige Hersteller an einer vorgetäuschten Sicherheit durch Antigenschnelltests als eine Verkaufsstrategie für ihre Produkte. So zeigt auch eine Pressemitteilung von der Firma Roche ein Diagramm, welches ihre Schnelltests als besonders sensitiv und sicher darstellt (Roche Diagnostics 2020). Dieses Diagramm suggeriert einen fast vollständigen Nachweis von infektiösen Personen durch Antigenschnelltests. Der Ursprung dieser Kurve liegt allerdings bei einer schematischen Darstellung eines Krankheitsverlaufs für

eine Analyse von sozioökonomischen Übertragungsfaktoren. Dieser Arbeit liegen keine Daten zugrunde (Cevik et al. 2021). Auch in neueren Arbeiten, welche die Pandemie abschließend betrachten, wird versucht, die Infektiosität an die Antigenschnelltestergebnisse zu knüpfen. Hierzu werden als ausschlaggebende Parameter die Inkubationszeit und die Zeitspanne eines positiven Testergebnisses betrachtet (Puhach et al. 2023). Wenn man diese Parameter miteinander vergleicht, ist die Möglichkeit mit Hilfe der PCR über einen sehr langen Zeitraum auch die virale RNA von inaktiven Viren nachzuweisen ein Nachteil. Mit Hilfe eines Ct-,cut-offs' wurde während der Pandemie diesem Umstand Rechnung getragen. Die Aussage, dass die Zeitspanne der Infektiosität näher an der Zeitspanne eines positiven Antigenschnelltestergebnisses liegt, ist dennoch mit Vorsicht zu genießen.

Die genannten Faktoren unterstreichen die Wichtigkeit der konstanten Evaluation der eingesetzten Maßnahmen im Verlauf, aber auch am Ende einer Pandemie.

Die vorliegenden Ergebnisse zeigen einen deutlichen Unterschied der Güte der verschiedenen Tests. Auch die diagnostische Sensitivität des Schnelltests mit der besten Nachweisgrenze liegt weit unter den von der WHO erlassenen Mindestanforderungen. Die ‚Range‘ der Nachweisgrenzen umfasste 3 Verdünnungsstufen, also eine Verminderung der Konzentration um den Faktor 1000. Es war den Testherstellern von Beginn der Pandemie bis zum 22.05.2022 möglich eine Selbstvalidierung durchzuführen, um ein CE-Zertifikat zu erlangen (BfArM 2020). Dadurch sind die meisten Testsysteme ohne einheitliche Qualitätsstandards auf den Markt gekommen. Die Testsysteme ohne erneute unabhängige Validierung verlieren erst im Mai 2025 ihre Zertifizierungen. Bis dahin ist für Anwender bei der Auswahl eines geeigneten Testsystems besondere Vorsicht geboten.

Die verwendeten Schnelltests wurden zum Zeitpunkt der Studie aus einem breiten Anbieterspektrum ausgewählt. Es ist zu beachten und zu erwarten, dass neuere Testverfahren, die durch eine unabhängige Zertifizierung geprüft wurden, höhere Sensitivitäten aufweisen könnten.

Zusammenfassend scheint es bislang nicht möglich, den Einsatz von Antigenschnelltests für das allgemeine Screening zu empfehlen. Einige Autoren sprechen sich dafür aus, dass Antigenschnelltests ein gutes Mittel darstellen, die Infektiosität zu erkennen und somit weitreichend für Screenings eingesetzt werden können (Schlenger 2022, Puhach et al 2023). Bislang kann kein diagnostischer Test die Infektiosität mit Sicherheit nachweisen. Besonders die Bedeutung der hier aufgezeigten Güteunterschiede und die sehr breite Range der Sensitivitäten der Testsysteme muss in weitere Empfehlungen einbezogen werden. Zusätzlich lässt die geringe Sensitivität bei asymptomatischen Patienten große Zweifel für eine solche generelle Empfehlung aufkommen. Der Einsatz von Schnelltests bei symptomatischen Patienten ist derzeit die einzig zu empfehlende Indikation.

Literaturverzeichnis

1. 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., Tanwar, S., Dyal, J. W., Harney, J., Chisty, Z., Bell, J. M., Methner, M., Paul, P., Carlson, C. M., McLaughlin, H. P., Thornburg, N., Public Health–Seattle and King County and CDC COVID-19 Investigation Team (2020). Presymptomatic SARS-CoV-2 Infections and Transmission in a Skilled Nursing Facility. *The New England journal of medicine*, 382(22), 2081–2090. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa2008457>
2. BAS, Bundesamt für Soziale Sicherung 2024 – Zahlungen für Corona-Tests unterteilt nach KV-Bezirken (in Mio. Euro) (Stand 22.01.2024) (https://www.bundesamtsozialesicherung.de/fileadmin/redaktion/Covid19_Krankenhausentlastungsgesetz/20230201_Zahlungen_fuer_Corona-Tests_unterteilt_nach_KV-Bezirken__in_Mio._Euro___Stand_22.01.2024_.pdf) (18.02.2024)
3. Bestle, D., Heindl, M. R., Limburg, H., Van Lam van, T., Pilgram, O., Moulton, H., Stein, D. A., Harges, K., Eickmann, M., Dolnik, O., Rohde, C., Klenk, H. D., Garten, W., Steinmetzer, T., & Böttcher-Friebertshäuser, E. (2020). TMPRSS2 and furin are both essential for proteolytic activation of SARS-CoV-2 in human airway cells. *Life science alliance*, 3(9), e202000786. <https://doi.org/10.26508/lsa.202000786>
4. BfArM - Bundesministerium für Arzneimittel und Medizinprodukte (2017) EU-Verordnung für In-vitro-Diagnostika (IVDR) (<https://eur-lex.europa.eu/legal-content/DE/TXT/PDF/?uri=CELEX:32017R0746&from=DE>) (25.01.2020)
5. BfArM – Bundesministerium für Arzneimittel und Medizinprodukte (2020), Liste der Antigen-Tests zum direkten Erregernachweis des Coronavirus SARS-CoV-2, Stand 15.01.2021 (<https://antigentest.bfarm.de/ords/antigen/r/antigentests-auf-sars-cov-2/liste-der-antigentests?session=16643253892231&tz=1:00>) (26.01.2020)
6. Bilder, C. R., Iwen, P. C., & Abdalhamid, B. (2021). Pool Size Selection When Testing for Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2. *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America*, 72(6), 1104–1105. <https://doi.org/10.1093/cid/ciaa774>
7. Bilder, C. R., Iwen, P. C., Abdalhamid, B., Tebbs, J. M., & McMahan, C. S. (2020). Tests in short supply? Try group testing. *Significance (Oxford, England)*, 17(3), 15–16. <https://doi.org/10.1111/1740-9713.01399>
8. CDC – Centers for Disease Control and Prevention (2016) Guidance for Clinicians on the Use of Rapid Influenza Diagnostic Tests (Stand: 25.10.2016) (https://www.cdc.gov/flu/pdf/professionals/diagnosis/clinician_guidance_ridt.pdf) (23.12.2023)
9. CDC – Interim Guidelines for Collecting, Handling, and Testing Clinical Specimens for COVID-19, Stand 06.01.2021 (https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/lab/guidelines-clinical-specimens.html?CDC_AA_refVal=https%3A%2F%2Fwww.cdc.gov%2Fcoronavirus%2F2019-ncov%2Fguidelines-clinical-specimens.html#print) (09.01.2020)

10. Cevik, M., Tate, M., Lloyd, O., Maraolo, A. E., Schafers, J., & Ho, A. (2020). SARS-CoV-2, SARS-CoV, and MERS-CoV viral load dynamics, duration of viral shedding, and infectiousness: a systematic review and meta-analysis. *The Lancet. Microbe*, 2(1),
11. Cevik, M., Marcus, J. L., Buckee, C., & Smith, T. C. (2021). Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 (SARS-CoV-2) Transmission Dynamics Should Inform Policy. *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America*, 73(Suppl 2), S170–S176. <https://doi.org/10.1093/cid/ciaa1442>
12. e13–e22. [https://doi.org/10.1016/S2666-5247\(20\)30172-5](https://doi.org/10.1016/S2666-5247(20)30172-5)
13. Chen, X., Zhou, X., Xia, X., Xie, X., Lu, P., & Feng, Y. (2021). Modeling of the transport, hygroscopic growth, and deposition of multi-component droplets in a simplified airway with realistic thermal boundary conditions. *Journal of aerosol science*, 151, 105626. <https://doi.org/10.1016/j.jaerosci.2020.105626>
14. Chu DK, Akl EA, Duda S, et al. Physical distancing, face masks, and eye protection to prevent person-to-person transmission of SARS-CoV-2 and COVID-19: a systematic review and meta-analysis. *Lancet*. 2020;395(10242):1973-1987. doi:10.1016/S0140-6736(20)31142-9
15. Dinnes, J., Sharma, P., Berhane, S., van Wyk, S. S., Nyaaba, N., Domen, J., Taylor, M., Cunningham, J., Davenport, C., Ditttrich, S., Emperador, D., Hooft, L., Leeflang, M. M., McInnes, M. D., Spijker, R., Verbakel, J. Y., Takwoingi, Y., Taylor-Phillips, S., Van den Bruel, A., Deeks, J. J., Cochrane COVID-19 Diagnostic Test Accuracy Group (2022). Rapid, point-of-care antigen tests for diagnosis of SARS-CoV-2 infection. *The Cochrane database of systematic reviews*, 7(7), CD013705. <https://doi.org/10.1002/14651858.CD013705.pub3>
16. Doty R. L. (2022). Olfactory dysfunction in COVID-19: pathology and long-term implications for brain health. *Trends in molecular medicine*, 28(9), 781–794. <https://doi.org/10.1016/j.molmed.2022.06.005>
17. EC – European Commission, Directorate-General for Health and Food Safety (2023) - EU Common list of COVID-19 antigen tests (Stand 15.03.2023) (https://health.ec.europa.eu/publications/eu-common-list-covid-19-antigen-tests_en) (14.06.2023)
18. Emary, K. R. W., Golubchik, T., Aley, P. K., Ariani, C. V., Angus, B., Bibi, S., Blane, B., Bonsall, D., Cicconi, P., Charlton, S., Clutterbuck, E. A., Collins, A. M., Cox, T., Darton, T. C., Dold, C., Douglas, A. D., Duncan, C. J. A., Ewer, K. J., Flaxman, A. L., Faust, S. N., ... Oxford COVID-19 Vaccine Trial Group (2021). 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 (London, England)*, 397(10282), 1351–1362. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(21\)00628-0](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(21)00628-0)
19. European Centre for Disease Prevention and Control. (2020) Options for the use of rapid antigen tests for COVID-19 in the EU/EEA and the UK. 19 November 2020. ECDC: Stockholm; 2020. (<https://www.ecdc.europa.eu/en/publications-data/options-use-rapid-antigen-tests-covid-19-eueea-and-uk>) (28.01.2021)
20. Faix, D. J., Sherman, S. S., & Waterman, S. H. (2009). Rapid-test sensitivity for novel swine-origin influenza A (H1N1) virus in humans. *The New England journal of medicine*, 361(7), 728–729. <https://doi.org/10.1056/NEJMc0904264>

21. Fehr, A. R., & Perlman, S. (2015). Coronaviruses: an overview of their replication and pathogenesis. *Methods in molecular biology* (Clifton, N.J.), 1282, 1–23. https://doi.org/10.1007/978-1-4939-2438-7_1
22. Ganesh, A., Reis, I. R., Varma, M., Patry, D. G., & Cooke, L. J. (2022). Neurological and Head/Eyes/Ears/Nose/Throat Manifestations of COVID-19: A Systematic Review and Meta-Analysis. *The Canadian journal of neurological sciences. Le journal canadien des sciences neurologiques*, 49(4), 514–531. <https://doi.org/10.1017/cjn.2021.180>
23. Ghebreyesus, T, 2020, WHO Director-General’s opening remarks at the media briefing on COVID-19 – 11 March 2020, hrsg. durch World Health Organisation (<https://www.who.int/director-general/speeches/detail/who-director-general-s-opening-remarks-at-the-media-briefing-on-covid-19---11-march-2020>) (26.01.2021)
24. Graham, R. L., & Baric, R. S. (2010). Recombination, reservoirs, and the modular spike: mechanisms of coronavirus cross-species transmission. *Journal of virology*, 84(7), 3134–3146. <https://doi.org/10.1128/JVI.01394-09>
25. Hoffmann, M., Kleine-Weber, H., Schroeder, S., Krüger, N., Herrler, T., Erichsen, S., Schiergens, T. S., Herrler, G., Wu, N. H., Nitsche, A., Müller, M. A., Drosten, C., & Pöhlmann, S. (2020). SARS-CoV-2 Cell Entry Depends on ACE2 and TMPRSS2 and Is Blocked by a Clinically Proven Protease Inhibitor. *Cell*, 181(2), 271–280.e8. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2020.02.052>
26. Ji, Y., Qian, H., Ye, J., Zheng, X. The impact of ambient humidity on the evaporation and dispersion of exhaled breathing droplets: A numerical investigation. *Journal of aerosol science*. 2018;115:164-72. <https://doi.org/10.1016/j.jaerosci.2017.10.009>
27. Kleist M, Ruehe B, Oh DY et al. Abwägung der Dauer von Quarantäne und Isolierung bei COVID-19 *Epid Bull* 2020;39:3–11 | DOI 10.25646/7140
28. Krüger, L. J., Tanuri, A., Lindner, A. K., Gaeddert, M., Köppel, L., Tobian, F., Brümmer, L. E., Klein, J. A. F., Lainati, F., Schnitzler, P., Nikolai, O., Mockenhaupt, F. P., Seybold, J., Corman, V. M., Jones, T. C., Drosten, C., Gottschalk, C., Weber, S. F., Weber, S., Ferreira, O. C., ... Study Team (2022). Accuracy and ease-of-use of seven point-of-care SARS-CoV-2 antigen-detecting tests: A multi-centre clinical evaluation. *EBioMedicine*, 75, 103774. <https://doi.org/10.1016/j.ebiom.2021.103774>
29. Krüttgen, A., Cornelissen, C. G., Dreher, M., Hornef, M. W., Imöhl, M., & Kleines, M. (2021). Comparison of the SARS-CoV-2 Rapid antigen test to the real star SARS-CoV-2 RT PCR kit. *Journal of virological methods*, 288, 114024. <https://doi.org/10.1016/j.jviromet.2020.114024>
30. La Scola, B., Le Bideau, M., Andreani, J., Hoang, V. T., Grimaldier, C., Colson, P., Gautret, P., & 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. *European journal of clinical microbiology & infectious diseases : official publication of the European Society of Clinical Microbiology*, 39(6), 1059–1061. <https://doi.org/10.1007/s10096-020-03913-9>
31. Landaas, E. T., Storm, M. L., Tollånes, M. C., Barlind, R., Kran, A. B., Bragstad, K., Christensen, A., & Andreassen, T. (2021). Diagnostic performance of a SARS-CoV-2 rapid antigen test in a large, Norwegian cohort. *Journal of clinical virology : the*

- official publication of the Pan American Society for Clinical Virology, 137, 104789.
<https://doi.org/10.1016/j.jcv.2021.104789>
32. Laue, M., Kauter, A., Hoffmann, T., Möller, L., Michel, J., & Nitsche, A. (2021). Morphometry of SARS-CoV and SARS-CoV-2 particles in ultrathin plastic sections of infected Vero cell cultures. *Scientific reports*, 11(1), 3515.
<https://doi.org/10.1038/s41598-021-82852-7>
 33. Li, Q., Guan, X., Wu, P., Wang, X., Zhou, L., Tong, Y., Ren, R., Leung, K. S. M., Lau, E. H. Y., Wong, J. Y., Xing, X., Xiang, N., Wu, Y., Li, C., Chen, Q., Li, D., Liu, T., Zhao, J., Liu, M., Tu, W., Feng, Z. (2020). Early Transmission Dynamics in Wuhan, China, of Novel Coronavirus-Infected Pneumonia. *The New England journal of medicine*, 382(13), 1199–1207. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa2001316>
 34. Lohse, S., Pfuhl, T., Berkó-Göttel, B., Rissland, J., Geißler, T., Gärtner, B., Becker, S. L., Schneitler, S., & Smola, S. (2020). Pooling of samples for testing for SARS-CoV-2 in asymptomatic people. *The Lancet. Infectious diseases*, 20(11), 1231–1232.
[https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(20\)30362-5](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(20)30362-5)
 35. Marks, M., Millat-Martinez, P., Ouchi, D., Roberts, C. H., Alemany, A., Corbacho-Monné, M., Ubals, M., Tobias, A., Tebé, C., Ballana, E., Bassat, Q., Baro, B., Vall-Mayans, M., G-Beiras, C., Prat, N., Ara, J., Clotet, B., & Mitjà, O. (2021). Transmission of COVID-19 in 282 clusters in Catalonia, Spain: a cohort study. *The Lancet. Infectious diseases*, 21(5), 629–636. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(20\)30985-3](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(20)30985-3)
 36. Matheeussen, V., Corman, V. M., Donoso Mantke, O., McCulloch, E., Lammens, C., Goossens, H., Niemeyer, D., Wallace, P. S., Klapper, P., Niesters, H. G., Drosten, C., Ieven, M., & RECOVER project and collaborating networks (2020). International external quality assessment for SARS-CoV-2 molecular detection and survey on clinical laboratory preparedness during the COVID-19 pandemic, April/May 2020. *Euro surveillance : bulletin Européen sur les maladies transmissibles = European communicable disease bulletin*, 25(27), 2001223. <https://doi.org/10.2807/1560-7917.ES.2020.25.27.2001223>
 37. Peacock TP, Brown JC, Zhou J, et al. The altered entry pathway and antigenic distance of the SARS-CoV-2 Omicron variant map to separate domains of spike protein. *bioRxiv*; 2022. DOI: 10.1101/2021.12.31.474653.
 38. PEI – Paul-Ehrlich-Institut (2021) Mindestkriterien für SARS-CoV-2 Antigentests im Sinne von § 1 Abs. 1 Satz 1 TestVO: Antigenschnelltests (https://www.pei.de/SharedDocs/Downloads/DE/newsroom/dossiers/mindestkriterien-sars-cov-2-antigentests-01-12-2020.pdf?__blob=publicationFile&v=6) (26.01.2020)
 39. Perera, R. A. P. M., Tso, E., Tsang, O. T. Y., Tsang, D. N. C., Fung, K., Leung, Y. W. Y., Chin, A. W. H., Chu, D. K. W., Cheng, S. M. S., Poon, L. L. M., Chuang, V. W. M., & Peiris, M. (2020). SARS-CoV-2 Virus Culture and Subgenomic RNA for Respiratory Specimens from Patients with Mild Coronavirus Disease. *Emerging infectious diseases*, 26(11), 2701–2704. <https://doi.org/10.3201/eid2611.203219>
 40. Puelles, V. G., Lütgehetmann, M., Lindenmeyer, M. T., Sperhake, J. P., Wong, M. N., Allweiss, L., Chilla, S., Heinemann, A., Wanner, N., Liu, S., Braun, F., Lu, S., Pfefferle, S., Schröder, A. S., Edler, C., Gross, O., Glatzel, M., Wichmann, D., Wiech, T., Kluge, S.,

- Huber, T. B. (2020). Multiorgan and Renal Tropism of SARS-CoV-2. *The New England journal of medicine*, 383(6), 590–592. <https://doi.org/10.1056/NEJMc2011400>
41. Puhach, O., Adea, K., Hulo, N. et al. Infectious viral load in unvaccinated and vaccinated individuals infected with ancestral, Delta or Omicron SARS-CoV-2. *Nat Med* 28, 1491–1500 (2022). <https://doi.org/10.1038/s41591-022-01816-0>
 42. Puhach, O., Meyer, B. & Eckerle, I. SARS-CoV-2 viral load and shedding kinetics. *Nat Rev Microbiol* 21, 147–161 (2023). <https://doi.org/10.1038/s41579-022-00822-w>
 43. Rabaan, A. A., Tirupathi, R., Sule, A. A., Aldali, J., Mutair, A. A., Alhumaid, S., Muzaaheed, Gupta, N., Koritala, T., Adhikari, R., Bilal, M., Dhawan, M., Tiwari, R., Mitra, S., Emran, T. B., & Dhama, K. (2021). Viral Dynamics and Real-Time RT-PCR Ct Values Correlation with Disease Severity in COVID-19. *Diagnostics (Basel, Switzerland)*, 11(6), 1091. <https://doi.org/10.3390/diagnostics11061091>
 44. RKI – Robert-Koch-Institut (2021) Epidemiologischer Steckbrief zu SARS-CoV-2 und COVID 19, Stand 25.01.2021 (https://www.rki.de/DE/Content/InfAZ/N/Neuartiges_Coronavirus/Steckbrief.html;jsessionid=9FBFEF2E0C583ACD97C768ECF6EC43C30.internet062?nn=13490888#doc13776792bodyText1) (25.01.2021)
 45. RKI – Robert-Koch-Institut (2021b) Hinweise zur Testung von Patienten auf Infektion mit dem neuartigen Coronavirus SARS-CoV-2, Stand 25.01.2021 (https://www.rki.de/DE/Content/InfAZ/N/Neuartiges_Coronavirus/Vorl_Testung_nCoV.html;jsessionid=E743725038E40F6C4C0564E6A90C7DAC.internet081?nn=13490888) (26.01.2021)
 46. Roche Diagnostics 2020 - Infiziert gleich infektiös? Der diagnostische Unterschied zwischen dem SARS-CoV-2 Rapid Antigen Test und der PCR (https://assets.cwp.roche.com/f/94122/7e5369eef1/05-flyer-sars-cov-2_infiziert_v2_ansicht.pdf) (25.07.2023)
 47. Scheiblauer, H., Filomena, A., Nitsche, A., Puyskens, A., Corman, V. M., Drosten, C., Zwirgmaier, K., Lange, C., Emmerich, P., Müller, M., Knauer, O., & Nübling, C. M. (2021). Comparative sensitivity evaluation for 122 CE-marked rapid diagnostic tests for SARS-CoV-2 antigen, Germany, September 2020 to April 2021. *Euro surveillance : bulletin Europeen sur les maladies transmissibles = European communicable disease bulletin*, 26(44), 2100441. <https://doi.org/10.2807/1560-7917.ES.2021.26.44.2100441>
 48. Schilling, J., Buda, S., Fischer, M., Goerlitz, L., Grote, U., Haas, W., Hamouda, O., Prahm, K., Tolksdorf, K. (2021): Retrospektive Phaseneinteilung der COVID-19-Pandemie in Deutschland bis Februar 2021 *Epid Bull* 2021;15:8-17 | DOI 10.25646/8149
 49. Schilling, J., Tolksdorf, K., Marquis, A., Faber, M., Pfoch, T., Buda, S., Haas, W., Schuler, E., Altmann, D., Grote, U., Diercke, M., & RKI COVID-19 Study Group (2021b). Die verschiedenen Phasen der COVID-19-Pandemie in Deutschland: Eine deskriptive Analyse von Januar 2020 bis Februar 2021 [The different periods of COVID-19 in Germany: a descriptive analysis from January 2020 to February 2021]. *Bundesgesundheitsblatt, Gesundheitsforschung, Gesundheitsschutz*, 64(9), 1093–1106. <https://doi.org/10.1007/s00103-021-03394-x>

50. Schlenger, R L. Antigentests auf SARS-CoV-2: Was die Aussagekraft bestimmt Dtsch Arztebl 2022; 119(51-52): A-2297 / B-1895 (<https://www.aerzteblatt.de/int/article.asp?id=228979>)
51. Schmidt, M., Hoehl, S., Berger, A., Zeichhardt, H., Hourfar, K., Ciesek, S., & Seifried, E. (2020). Novel multiple swab method enables high efficiency in SARS-CoV-2 screenings without loss of sensitivity for screening of a complete population. *Transfusion*, 60(10), 2441–2447. <https://doi.org/10.1111/trf.15973>
52. Stein, S. R., Ramelli, S. C., Grazioli, A., Chung, J. Y., Singh, M., Yinda, C. K., Winkler, C. W., Sun, J., Dickey, J. M., Ylaya, K., Ko, S. H., Platt, A. P., Burbelo, P. D., Quezado, M., Pittaluga, S., Purcell, M., Munster, V. J., Belinky, F., Ramos-Benitez, M. J., Boritz, E. A., Chertow, D. S. (2022). SARS-CoV-2 infection and persistence in the human body and brain at autopsy. *Nature*, 612(7941), 758–763. <https://doi.org/10.1038/s41586-022-05542-y>
53. Sungnak, W., Huang, N., Bécavin, C., Berg, M., Queen, R., Litvinukova, M., Talavera-López, C., Maatz, H., Reichart, D., Sampaziotis, F., Worlock, K. B., Yoshida, M., Barnes, J. L., & HCA Lung Biological Network (2020). SARS-CoV-2 entry factors are highly expressed in nasal epithelial cells together with innate immune genes. *Nature medicine*, 26(5), 681–687. <https://doi.org/10.1038/s41591-020-0868-6>
54. Talic S, Shah S, Wild H, Gasevic D, Maharaj A, Ademi Z et al. Effectiveness of public health measures in reducing the incidence of covid-19, SARS-CoV-2 transmission, and covid-19 mortality: systematic review and meta-analysis *BMJ* 2021; 375 :e068302 doi:10.1136/bmj-2021-068302
55. Telenti, A., Hodcroft, E. B., & Robertson, D. L. (2022). The Evolution and Biology of SARS-CoV-2 Variants. *Cold Spring Harbor perspectives in medicine*, 12(5), a041390. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a041390>
56. TestV BAnz AT (2021) – Bundesgesundheitsministerium für Gesundheit, Bundesanzeiger, Verordnung zum Anspruch auf Testung in Bezug auf einen direkten Erregernachweis des Coronavirus SARS-CoV-2 (Coronavirus-Testverordnung – TestV) BAnz AT 27.01.2021 V2
57. Tolksdorf, K., Loenenbach, A., Buda, S.: Dritte Aktualisierung der „Retrospektiven Phaseneinteilung der COVID-19-Pandemie in Deutschland“ *Epid Bull* 2022;38:3-6 | DOI 10.25646/10598
58. van Kampen, J. J. A., van de Vijver, D. A. M. C., Fraaij, P. L. A., Haagmans, B. L., Lamers, M. M., Okba, N., van den Akker, J. P. C., Endeman, H., Gommers, D. A. M. P. J., Cornelissen, J. J., Hoek, R. A. S., van der Eerden, M. M., Hesselink, D. A., Metselaar, H. J., Verbon, A., de Steenwinkel, J. E. M., Aron, G. I., van Gorp, E. C. M., van Boheemen, S., Voermans, J. C., ... van der Eijk, A. A. (2021). Duration and key determinants of infectious virus shedding in hospitalized patients with coronavirus disease-2019 (COVID-19). *Nature communications*, 12(1), 267. <https://doi.org/10.1038/s41467-020-20568-4>
59. Van Vinh Chau N, Lam VT, Dung NT, et al. The Natural History and Transmission Potential of Asymptomatic Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 Infection. *Clin Infect Dis*. 2020;71(10):2679-2687. doi:10.1093/cid/cia711

60. WHO - World Health Organization (2010) Use of Influenza Rapid Diagnostic Tests (Stand 01.01.2010) (<https://www.who.int/publications/i/item/9789241599283>) (23.12.2023)
61. WHO – World Health Organization (2020) Laboratory testing for 2019 novel coronavirus (2019-nCoV) in suspected human cases, Interim guidance <https://www.who.int/publications/i/item/10665-331501> (26.01.2021)
62. WHO – World Health Organization (2020b) Antigen-detection in the diagnosis of SARS-CoV-2 infection using rapid immunoassays, Interim guidance (<https://www.who.int/publications/i/item/antigen-detection-in-the-diagnosis-of-sars-cov-2infection-using-rapid-immunoassays>) (28.01.2021)
63. WHO – World Health Organization (2020c) COVID-19 Target product profiles for priority diagnostics to support response to the COVID-19 pandemic v.1.0 (<https://www.who.int/publications/m/item/covid-19-target-product-profiles-for-priority-diagnostics-to-support-response-to-the-covid-19-pandemic-v.0.1>) (28.01.2021)
64. WHO - World Health Organization (2021) COVID-19 Weekly Epidemiological Update (Suppl. 25 February 2021), Special Edition: Proposed working definitions of SARS-CoV-2 Variants of Interest and Variants of Concern (World Health Organization) (<https://www.who.int/publications/m/item/covid-19-weekly-epidemiological-update>) (22.01.2022).
65. WHO – World Health Organization (2023) Tracking SARS-CoV-2 variants. (Stand 16.02.2024) (<https://www.who.int/en/activities/tracking-SARS-CoV-2-variants/>) (24.02.2024)
66. WHO – World Health Organization (2023b) Updated working definitions and primary actions for SARS-CoV-2 variants (Stand 04.10.2023) (<https://www.who.int/publications/m/item/updated-working-definitions-and-primary-actions-for--sars-cov-2-variants>) (24.02.2024)
67. Willett, B.J., Grove, J., MacLean, O.A. et al. SARS-CoV-2 Omicron is an immune escape variant with an altered cell entry pathway. *Nat Microbiol* 7, 1161–1179 (2022). <https://doi.org/10.1038/s41564-022-01143-7>
68. Wölfel, R., Corman, V. M., Guggemos, W., Seilmaier, M., Zange, S., Müller, M. A., Niemeyer, D., Jones, T. C., Vollmar, P., Rothe, C., Hoelscher, M., Bleicker, T., Brünink, S., Schneider, J., Ehmann, R., Zwirgmaier, K., Drosten, C., & Wendtner, C. (2020). Virological assessment of hospitalized patients with COVID-2019. *Nature*, 581(7809), 465–469. <https://doi.org/10.1038/s41586-020-2196-x>
69. Xu, Z., Shi, L., Wang, Y., Zhang, J., Huang, L., Zhang, C., Liu, S., Zhao, P., Liu, H., Zhu, L., Tai, Y., Bai, C., Gao, T., Song, J., Xia, P., Dong, J., Zhao, J., & Wang, F. S. (2020). Pathological findings of COVID-19 associated with acute respiratory distress syndrome. *The Lancet. Respiratory medicine*, 8(4), 420–422. [https://doi.org/10.1016/S2213-2600\(20\)30076-X](https://doi.org/10.1016/S2213-2600(20)30076-X)
70. Yao, H., Song, Y., Chen, Y., Wu, N., Xu, J., Sun, C., Zhang, J., Weng, T., Zhang, Z., Wu, Z., Cheng, L., Shi, D., Lu, X., Lei, J., Crispin, M., Shi, Y., Li, L., & Li, S. (2020). Molecular Architecture of the SARS-CoV-2 Virus. *Cell*, 183(3), 730–738.e13. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2020.09.018>

Eidesstattliche Versicherung

„Ich, Felix Jonas Lange, versichere an Eides statt durch meine eigenhändige Unterschrift, dass ich die vorgelegte Dissertation mit dem Thema: ‚Nachweis von SARS-CoV-2 mittels Antigenschnelltest und PCR in Abhängigkeit von Symptomatik und Hospitalisierungsstatus/Detection of SARS-CoV-2 via antigen test and PCR depending on symptoms and hospitalisation‘ selbstständig und ohne nicht offengelegte Hilfe Dritter verfasst und keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel genutzt habe.

Alle Stellen, die wörtlich oder dem Sinne nach auf Publikationen oder Vorträgen anderer Autoren/innen beruhen, sind als solche in korrekter Zitierung kenntlich gemacht. Die Abschnitte zu Methodik (insbesondere praktische Arbeiten, Laborbestimmungen, statistische Aufarbeitung) und Resultaten (insbesondere Abbildungen, Graphiken und Tabellen) werden von mir verantwortet.

Ich versichere ferner, dass ich die in Zusammenarbeit mit anderen Personen generierten Daten, Datenauswertungen und Schlussfolgerungen korrekt gekennzeichnet und meinen eigenen Beitrag sowie die Beiträge anderer Personen korrekt kenntlich gemacht habe (siehe Anteilserklärung). Texte oder Textteile, die gemeinsam mit anderen erstellt oder verwendet wurden, habe ich korrekt kenntlich gemacht.

Meine Anteile an etwaigen Publikationen zu dieser Dissertation entsprechen denen, die in der untenstehenden gemeinsamen Erklärung mit dem/der Erstbetreuer/in, angegeben sind. Für sämtliche im Rahmen der Dissertation entstandenen Publikationen wurden die Richtlinien des ICMJE (International Committee of Medical Journal Editors; www.icmje.org) zur Autorenschaft eingehalten. Ich erkläre ferner, dass ich mich zur Einhaltung der Satzung der Charité – Universitätsmedizin Berlin zur Sicherung Guter Wissenschaftlicher Praxis verpflichte.

Weiterhin versichere ich, dass ich diese Dissertation weder in gleicher noch in ähnlicher Form bereits an einer anderen Fakultät eingereicht habe.

Die Bedeutung dieser eidesstattlichen Versicherung und die strafrechtlichen Folgen einer unwahren eidesstattlichen Versicherung (§§156, 161 des Strafgesetzbuches) sind mir bekannt und bewusst.“

Datum

Unterschrift

Curriculum Vitae

Mein Lebenslauf wird aus datenschutzrechtlichen Gründen in der elektronischen Version meiner Arbeit nicht veröffentlicht.

Danksagung

Prof. Dr. Dr. Thomas Schneider danke ich für die engagierte Betreuung dieser Arbeit, das Vertrauen in meine Fähigkeiten sowie die stete Diskussionsbereitschaft, die mich sehr motiviert hat.

Dr. Verena Moos danke ich für ihre wertvollen Ratschläge, ihre motivierende Art und die stets offenen Türen. Ihre fachliche Unterstützung und ihr Engagement haben wesentlich zum Fortschritt dieser Arbeit beigetragen.

Dr. Mark Wasner danke ich für die gute Zusammenarbeit im Labor und die hervorragende Einführung und Betreuung bei den Versuchen. Seine praktische Unterstützung und Geduld haben mir geholfen, viele Herausforderungen im Labor zu meistern.

Dem Gesundheitsamt Salzlandkreis danke ich für die Möglichkeit, im Testzentrum Bernburg während der Pandemie Patienten zu rekrutieren. Ihre Unterstützung war für den praktischen Teil dieser Arbeit von unschätzbarem Wert.

Abschließend möchte ich all denjenigen danken, die mich auf meinem Weg unterstützt und begleitet haben. Eure Hilfe und Ermutigung haben einen wesentlichen Beitrag zum Gelingen dieser Arbeit geleistet.