

# VIRUSNACHWEIS: EINE WELT VOLLER TESTS

## RT-PCR-METHODE

Als Goldstandard für den Nachweis einer SARS-COV-2-Infektion gilt der [RT-PCR-Test](#), kurz für Reverse-Transkriptase-Polymerase-Kettenreaktion. Theoretisch kann man bei dieser Methode von einer hohen Sensitivität und Spezifität ausgehen – wenn man alles richtig macht. So schliesst ein negatives PCR-Ergebnis die Möglichkeit einer Infektion nicht vollständig aus. Falsch-negative Ergebnisse können z.B. aufgrund schlechter Probenqualität, unsachgemäßem Transport oder ungünstigem Zeitpunkt (bezogen auf den Krankheitsverlauf) der Probenentnahme nicht ausgeschlossen werden, schreibt etwa das [Robert Koch Institut](#). Doch wie funktioniert der Test überhaupt?

Die Technik ist eine Kombination aus zwei biochemischen Verfahren: Zunächst muss die einzelsträngige RNA, aus der das Virus besteht, in DNA (komplementäre DNA, cDNA) umgewandelt werden. Denn im Gegensatz zu DNA ist RNA ziemlich instabil. Die Umwandlung geschieht mithilfe des Enzyms Reverse Transkriptase (RT). Anschliessend lässt sich die DNA vervielfältigen (Amplifizierung mittels PCR). Nur durch die gezielte Vermehrung genau definierter Abschnitte des Virusgenoms ist es möglich, das Virus überhaupt nachzuweisen.

Die PCR verläuft dabei in mehreren Schritten und die jeweiligen biochemischen Reaktionen finden bei unterschiedlichen Temperaturen statt (zwischen 55°C und 96°C). Diese Temperaturzyklen müssen etwa 40 Mal durchgeführt werden, damit genügend DNA detektiert werden kann. Heutzutage läuft das automatisch in einem Thermocycler ab und dauert etwa 2 Stunden.

Wird dabei bereits im laufenden Verfahren die Menge der gebildeten DNA in Echtzeit (Real Time) bestimmt, bezeichnet man das als qPCR ([quantitative PCR](#)). Die Detektion der DNA verläuft dabei zum Beispiel mittels eines Fluoreszenzfarbstoffs, der an die eingebauten Nukleotide gekoppelt ist. Je mehr Fluoreszenz, desto mehr DNA und desto mehr ursprüngliche Virus-RNA ist in der Probe enthalten.

## PCR ALS POINT-OF-CARE-LÖSUNG

Aufgrund dieser knappen Ressourcen versuchen Hersteller, das Problem jetzt mit Point-of-Care-Lösungen anzugehen. Ziel dabei ist es, die RT-PCR dermassen zu vereinfachen, dass die

Technik direkt in einer Arztpraxis oder in der Klinik durchgeführt werden kann. So stellte etwa das Unternehmen Bosch ein neues Analysegerät vor. Es funktioniert wie eine RT-PCR, eine aufwändige Aufbereitung der Proben entfällt aber durch ein spezielles Kartuschensystem. Darin sind alle benötigten Reagenzien bereits vorhanden. Der Test läuft anschliessend vollautomatisiert ab. Über Sensitivität und Spezifität liegen für den aktuellen Coronavirus SARS-CoV-2 noch keine öffentlichen Angaben vor, es ist bloß die Rede von einer „Genauigkeit von über 95 Prozent“.

Neu ist das Prinzip des Geräts nicht, auch andere Firmen wie Qiagen bieten solche Point-of-care-Systeme (POC) bereits an. Sie alle beruhen auf der PCR-Methodik, nur eben in einfacherer Handhabung. Nachteilig sind hier sicherlich die hohen Kosten im niedrigen fünfstelligen Bereich pro Analysegerät.

## **DIE ISOTHERME DNA-AMPLIFIKATION**

Als weitere Testmethode für SARS-CoV-2 wird jetzt auch eine relativ neue Technik angewandt, die so ähnlich wie die RT-PCR funktioniert: Die isotherme DNA-Amplifikation. Im Gegensatz zur Polymerase-Kettenreaktion (PCR) erfolgen die Reaktionen aber bei konstanter Temperatur. Da die Temperaturzyklen wegfallen, ist der Test um einiges schneller. Die Firma Abbott wirbt damit, mit ihrem Point-of-Care-Analysegerät eine Infektion schon in 5-15 Minuten feststellen zu können. [In den USA habe das Gerät bereits eine Zulassung](#). Auch hier gibt es keine Daten zur Sensitivität und Spezifität.

Bioingenieure aus den USA haben die isotherme DNA-Amplifikation speziell für den Einsatz für den SARS-CoV-2-Nachweis weiterentwickelt. Sie nennen ihre Methode All-in-One-Dual CRISPR-Cas12a (AIOD-CRISPR). Der Vorteil dieser Methode ist, dass nur wenige Kopien der Virus-RNA für die Detektion ausreichen. Hierbei handelt es sich allerdings erst um experimentelle Ansätze, die noch keine Anwendung finden. Für eine detaillierte Beschreibung dieser Methode gibt es [hier](#) einen Artikel zum Thema.

## **ANTIKÖRPER-SCHNELLTESTS**

Neben dem direkten Nachweis des Virus-Genoms eignen sich auch virale Proteine ([Antigene](#)) und entsprechende [Antikörper](#) des Wirtes für die Detektion.

Der Nachweis von Antikörpern ist im Prinzip einfach in der Handhabung. Die Methode heisst lateral flow test und funktioniert im Fall von SARS-CoV-2 so:

In einer Testkassette befindet sich eine Matrix, auf der sich gentechnisch erzeugte Bestandteile von Virus-Hüllproteinen befinden. Diese Antigene erkennt unser Immunsystem, an diese docken die körpereigenen Antikörper an. Gibt man nun einen Tropfen Blut auf die Kassette, wandert dieser mitsamt einem speziellen Puffermittel über den Teststreifen. Enthält das Blut IgM- oder IgG-Antikörper binden diese an die auf der Matrix befindlichen Antigene und der Teststreifen verfärbt sich an der Stelle, ähnlich eines Schwangerschaftstests.

Ein Nachteil der Antikörper-Schnelltests: Es dauert unter Umständen einige Tage, bis sich die Antikörper im Körper gebildet haben. Daher kann der Test negativ ausfallen, auch wenn eine Infektion vorliegt. An die Spezifität eines PCR-Tests kommt diese Methode daher nicht heran. Doch die Antikörper-Methode hat auch einen Vorteil: Mit ihr lässt sich herausfinden, wer schon infiziert war. Damit liesse sich relativ einfach die Immunität der Bevölkerung feststellen. Ein PCR-Test kann das nicht.

## **ELISA-TESTS**

Für das breite Screening der Bevölkerung könnte sich auch ein weiterer immunologischer Test anbieten, der Enzyme-Linked Immunosorbent Assay, kurz [ELISA](#). Das [berichtet zumindest eine Forschergruppe](#) aus New York über ihren entwickelten Test. Auch diese Methode basiert auf der Bildung eines Antigen-Antikörper-Komplexes. Der Nachweis erfolgt über einen sekundären Antikörper, der eine enzymatische Farbreaktion katalysiert. Mittels Photometer kann die Reaktion quantitativ gemessen werden. Laut Wissenschaftler ist ihre Methode genauer als bisherige Antikörper-Schnelltests und ELISA-Tests. Als Antigen benutzen sie rekombinante Fragmente des Spike-Proteins.

In der Auswahl der Antigene unterscheiden sich auch die verschiedenen bereits erhältlichen ELISA-Testkits. Welche Proteine dabei genau genutzt werden, geben die Hersteller oft nicht genau bekannt. Das Spike-Protein scheint aber die offensichtlich beste Wahl zu sein, da es das Protein ist, das das Virus für den Eintritt in die Wirtszelle benötigt.

Noch scheint die RT-PCR trotz möglicher Fehlerquellen die beste Wahl zum Nachweis des Virus zu sein. Fragt sich nur, wie lange noch. Denn Forscher und Unternehmen arbeiten weltweit daran bestehende Tests zu verbessern und neue Methoden zu entwickeln.