

Testkits der IVD-Industrie

Bei infizierten Personen lässt sich die Infektion entweder direkt oder indirekt nachweisen. Im Falle des direkten Nachweises werden Viruspartikel detektiert, wie z. B. das Genom oder Proteine der Virushülle. Im Falle des indirekten Nachweises adressiert man das Immunsystem des Körpers, welches im Laufe einer Infektion z. B. spezifische Antikörper gegen den Erreger produziert.

Folgende Tests werden für die Diagnostik einer COVID-19-Infektion von den Mitgliedern des VDGH angeboten:

Proben-Aufbereitung mittels Extraktionskits

Für die Isolierung der Erreger-RNA werden die anhaftenden Zellen (Virus und menschliche Schleimhaut) des Abstrichtupfers lysiert und die Erbinformationen extrahiert. Dabei muss die menschliche DNA von der viralen RNA getrennt werden. Ein klassischer Extraktionskit enthält **Reagenzien zum Aufschluss** der Zellen und **Zentrifugationssäulen oder magnetische Beads** zum Aufreinigen der Erreger-RNA. Es gibt jedoch auch andere, physikalische Aufschlussverfahren.

RT-PCR mittels Kits, die nötige PCR-Reagenzien enthalten

Der Name [*real time Reverse-Transkriptase-Polymerase-Kettenreaktion*](#) benennt bereits zwei essenzielle Enzyme, die für den Ablauf der Reaktion benötigt werden: Das Enzym **reverse Transkriptase** schreibt die extrahierte RNA in die sogenannte cDNA (copyDNA) um und das Enzym **DNA-Polymerase** kann den vorliegenden cDNA-Strang ablesen und einen komplementären Strang synthetisieren. Diese polymerase-katalysierte Reaktion findet in mehreren Zyklen statt.

Ein **PCR-Test-Kit** muss demnach neben **Reaktionspuffern** und **DNA-Bausteinen** auch diese beiden aufgereinigten Enzyme enthalten. Ebenfalls elementar sind die **Oligos**, kurze DNA-Fragmente wie die **Primer** und die **Probe**. Diese sind passend für das SARS-CoV-2-Genom designed und binden hochspezifisch an die extrahierte und umgeschriebene cDNA. Die *real time* RT-PCR läuft auf sogenannten **Thermocyclern**, die innerhalb kurzer Zeit zwischen verschiedenen Temperaturstufen wechseln können, was für den korrekten Ablauf der PCR essenziell ist.

Viele PCR-Reagenzien können universell auf den PCR-Geräten verschiedener Hersteller verwendet werden.

Integrierte Komplettsysteme für den direkten Erregernachweis

Verschiedene Mitglieder des VDGH bieten neben den einzelnen Komponenten auch **Komplettslösungen** an: Große technische Geräte übernehmen dabei die Probenaufreinigung (Extraktion) und die anschließende RT-PCR – **vollautomatisiert**.

Kartuschensysteme (Schnelltests) für den direkten Erregernachweis

Diese Kartuschensysteme werden auch „Schnelltests“ genannt, da die Ergebnisse im Vergleich zur herkömmlichen Vorgehensweise nach einer kürzeren Zeitspanne vorliegen. Der Erregernachweis erfolgt hier aber auch über RT-PCR. Dafür werden **Einmalkartuschen** verwendet, in die nur der Abstrichtupfer eingeführt werden muss. Die anschließende Analyse läuft in dem kleinen Gerät vollautomatisiert ab.

Indirekter Erregernachweis über serologische Verfahren im medizinischen Labor

Der indirekte Nachweis einer SARS-CoV-2-Infektion kann über den **Nachweis von Antikörpern** gegen den Erreger erfolgen. Dazu wird eine Blutprobe benötigt, in der sich frühe (IgM) oder späte (IgG) Antikörper detektieren lassen. Das Nachweisprinzip beruht auf der **Antigen-Antikörper-Reaktion** und folgende Komponenten werden für den entsprechenden Nachweis benötigt:

-)] **eine präparierte Mikrotiterplatte, an die körpereigene Antikörper aus der Blutprobe binden können (u. a. Antikörper gegen SARS-CoV-2),**
-)] **ein passendes Antigen, das nur von Antikörpern gegen SARS-CoV-2 gebunden werden kann (ein synthetisches Protein des neuen Corona-Virus),**
-)] **ein Detektionsantikörper, der wiederum das Antigen binden kann und z. B. farblich markiert oder enzymgekoppelt ist,**
-)] **zusätzlich nötige Reagenzien für den enzymgekoppelten Farbumschlag.**

Im Falle einer SARS-CoV-2-Infektion können die entsprechend gebildeten Antikörper an die Mikrotiterplatte binden und die Folgeschritte korrekt ablaufen. Liegen keine spezifischen Antikörper gegen SARS-CoV-2 vor, können zwar andere körpereigene Antikörper an die Platte binden, allerdings erfolgt dann keine Bindung des Antigens und auch keine Bindung des Detektionsantikörpers. Der Farbumschlag bleibt aus.

Serologische Nachweisverfahren als Schnelltest

Neben den laborbasierten Tests gibt es auch sogenannte Schnelltests, die im Prinzip ähnlich zu einem herkömmlichen Schwangerschaftstest funktionieren. Ein Blutstropfen aus der Fingerbeere wird auf eine chromatographische Membran pipettiert, mit Puffer verdünnt und nach etwa 10 bis 15 Minuten erscheinen entsprechende Linien, die IgM- oder IgG-Antikörper gegen SARS-CoV-2 indizieren. Die Antikörper werden auf der Membran fixiert und wiederum durch farblich markierte Antigene gekennzeichnet.

Direkter Erregernachweis über das [Antigennachweisverfahren](#)

Ebenfalls basierend auf der Antigen-Antikörper-Reaktion erfolgt die Diagnose über Virusantigene. Es handelt sich dabei wieder um einen direkten Nachweis des Erregers SARS-CoV-2, allerdings nicht über seine Erbinformation, sondern über die Proteine, die in der Virushülle vorhanden sind. In diesem Fall können markierte Antikörper die viralen Antigene (= SARS-CoV-2-Proteine) aus der Speichel- oder Stuhlprobe erkennen.

Entsprechende Tests werden aktuell noch entwickelt und könnten ebenfalls als Schnelltest auf den Markt gebracht werden. Die Testkomponenten bestehen analog zu den serologischen Nachweisverfahren aus **farblich markierten Komponenten der Antigen-Antikörper-Reaktion**.

15.04.2020