

Übersetzung anhand des Originalartikels in AIMS Public Health durch: Thomas Hengartner

Originalartikel

Methodische Probleme bei der Verwendung von SARS-CoV-2-Schnelltests für den Einsatz bei Massenuntersuchungen

Oliver Hirsch^{1,*}, Werner Bergholz², Kai Kisielinski³, Paul Giboni⁴ und Andreas Sönnichsen⁵

¹ Fachbereich Psychologie, FOM Hochschule für Oekonomie & Management, Birlenbacher Str. 17, 57078 Siegen, Deutschland

² International Standards Consulting GmbH, 30989 Gehrden, Deutschland

³ Private Ärztliche Praxis, 40212 Düsseldorf, Deutschland

⁴ Private Ärztliche Praxis, 22763 Hamburg, Deutschland

⁵ Abteilung für Allgemein- und Familienmedizin, Medizinische Universität Wien, Wien, Österreich

* **Korrespondenz:** Email: oliver.hirsch@fom.de.

Kurzfassung: Ziel der vorliegenden Studie ist es, Modellrechnungen zum möglichen Einsatz von SARS-CoV-2-Schnelltests als Massentests unter Verwendung der aus der evidenzbasierten Forschung gewonnenen Qualitätskriterien am Beispiel der Bundesrepublik Deutschland durchzuführen. Neben der Veranschaulichung der Problematik falsch positiver Testergebnisse wird anhand dieser Berechnungen deren möglicher Einfluss auf die 7-Tage-Inzidenz untersucht. Dieser Parameter bildete über einen längeren Zeitraum die entscheidende Grundlage für Entscheidungen über Maßnahmen zum Schutz der Bevölkerung im Zuge der COVID-Pandemie, die von der Regierung getroffen wurden. Zunächst wurden Modellberechnungen für ein Basismodell von 1.000.000 SARS-CoV-2-Schnelltests pro Woche unter Verwendung verschiedener in der Literatur berichteter Sensitivitäten und Spezifitäten durchgeführt, gefolgt von einer sequenziellen Testung der durch einen SARS-CoV-2-PCR-Test erhaltenen Anzahl Testpositiver. Darüber hinaus wurde eine Berechnung für ein aktuelles Maximalmodell auf der Grundlage von Selbsttestkontingenten des deutschen Bundesministeriums für Gesundheit durchgeführt. Unter der Annahme einer Anzahl von 1.000.000 Tests pro Woche bei einer Prävalenz von 0,5 % ergaben sich eine hohe Anzahl falsch positiver Testergebnisse, ein niedriger positiver prädiktiver Wert, ein hoher negativer prädiktiver Wert und eine Erhöhung der 7-Tage-Inzidenz durch die zusätzlichen Antigen-Schnelltests von ca. 5/100.000. Eine frühere Maximalberechnung auf der Basis von Kontingenzzahlen für Selbsttests des Bundesministeriums für Gesundheit ergab sogar einen zusätzlichen möglichen Einfluss auf die 7-Tage-Inzidenz von 84,6/100.000. Die Modellrechnungen beziehen sich jeweils auf repräsentative Bevölkerungsstichproben, die gezogen werden müssten, wenn die aufeinanderfolgenden Ergebnisse vergleichbar wären, was gegeben sein sollte, da weitreichende Maßnahmen auf diesem Parameter basieren. Die zusätzlich durchgeführten SARS-CoV-2-Schnelltests erhöhen die 7-Tage-Inzidenz in Abhängigkeit von der Anzahl der Tests deutlich und zeigen deren Abhängigkeit von der jeweiligen Anzahl der Tests. Sowohl SARS-CoV-2-Schnelltests als auch die SARS-CoV-2-PCR-Testmethode sollten ausschließlich bei Vorliegen entsprechender respiratorischer Symptome und nicht bei symptomfreien Personen eingesetzt werden.

Stichwörter: SARS-CoV-2; COVID-19; point-of-care diagnostics; rapid testing; methodology

1. Einleitung

SARS-CoV-2-Schnelltests haben als Ergänzung oder Alternative zur SARS-CoV-2-PCR-Testung durch die Möglichkeit der schnellen Vor-Ort-Testung ("Point of Care Test", POCT) Aufmerksamkeit erregt und wurden in die nationale Teststrategie des Bundesministeriums für Gesundheit der Bundesrepublik Deutschland vom 14.10.2020 sowie einzelner Bundesländer aufgenommen. Antigenschnelltests sind Medizinprodukte, die derzeit von den Herstellern selbst zertifiziert und mit einer CE-Kennzeichnung (Conformité Européenne) versehen werden können. Nicht nur in Deutschland, sondern auch in vielen anderen Ländern gelten SARS-CoV-2-Antigen-Schnelltests als vielversprechende Methode zur Eindämmung und Bekämpfung der SARS-CoV2-Pandemie. Da die POCT-Tests als Massentests in bestimmten Berufsbereichen, z.B. in Schulen oder im Alltag beim Betreten von Restaurants und Geschäften, eingesetzt werden sollen, ist es notwendig, sie aus evidenzbasierter und testtheoretischer Sicht näher zu betrachten.

In diesem Zusammenhang ist es interessant, sich die Originalanleitung für die Verwendung von Antigen-Schnelltests genauer anzusehen. Eine solche Anleitung liegt für den SARS-CoV-2 Antigen-Schnelltest der Firma SD Biosensor aus Südkorea vor, der von Roche vertrieben wird. Zunächst einmal wird darauf hingewiesen, dass beim Umgang mit den Reagenzien Handschuhe und Laborkittel zu tragen sind. Die verwendeten Proben und Materialien müssen als biologisch gefährlicher Abfall entsorgt werden. Eine einfache Entsorgung über den Hausmüll erscheint daher bedenklich. Das Testergebnis sollte nach 15-30 Minuten abgelesen werden. Wenn das Testergebnis nach mehr als 30 Minuten abgelesen wird, könnte das Testergebnis falsch sein. Das Testergebnis sollte nicht als alleinige Grundlage für eine Entscheidung herangezogen werden. Zu den Tests MEDsan und Hotgen gibt es weitere Packungsbeilagen, die im Wesentlichen die oben genannten Informationen bestätigen.

Das Positionspapier des bundesweiten Forschungsnetzwerks Angewandte Überwachung und Prüfung im Nationalen Forschungsnetzwerk der Universitätsmedizin zu COVID-19 über die Anwendungs- und Zulassungspraxis von Antigen-Schnelltests zum Nachweis des neuen Coronavirus SARS-CoV-2 enthält einige Erkenntnisse und Empfehlungen zu diesem Thema [1]. Bei korrekter Abstrichentnahme und Testdurchführung könnten hochinfektiöse Personen schnell identifiziert werden. Die diagnostische Sensitivität der Antigen-Schnelltests ist begrenzt. Trotz eines negativen Ergebnisses müssen die entsprechenden Hygienemaßnahmen weiterhin eingehalten werden. Es wird gefordert, nur Antigen-Schnelltests einzusetzen, die die vom deutschen Paul-Ehrlich-Institut (PEI), der WHO und dem Europäischen Zentrum für die Prävention und die Kontrolle von Krankheiten (ECDC) geforderten Mindestkriterien (Sensitivität >80%, Spezifität >97%) in unabhängigen, veröffentlichten Validierungsstudien erfüllt haben [2]. Diese Werte werden auch in einem Erläuterungspapier des deutschen Robert-Koch-Instituts bestätigt [3]. Antigen-Schnelltests sollten unter der Aufsicht von geschultem medizinischem Personal durchgeführt und ausgewertet werden. Die Aussagekraft des Ergebnisses ist auf etwa 24 Stunden begrenzt. In einer Gruppe von asymptomatischen Personen kann die Zahl der falsch-positiven Ergebnisse bei Antigen-Schnelltests die Zahl der richtig-positiven Ergebnisse übersteigen.

Dies ist ein bekanntes Phänomen, wenn die Krankheit selten auftritt (niedrige Prävalenz). Die Validierung der Tests sollte in kontrollierten Studien von unabhängigen Wissenschaftlern durchgeführt werden. Die Zulassung solcher diagnostischer Medizinprodukte sollte in Zukunft auf einem herstellerunabhängigen Validierungsverfahren beruhen.

2. Material und Methoden

Die 7-Tage-Inzidenz zählt die absolute Zahl der Neuerkrankungen, die innerhalb von 7 Tagen in einer bestimmten geografischen Region aufgetreten sind. In der Bundesrepublik Deutschland ist diese derzeit auf eine Einwohnerzahl von 100.000 normiert.

An dieser Stelle sei nur darauf hingewiesen, dass die 7-Tage-Inzidenz auf der Basis positiver SARS-CoV-2 PCR-Tests keine valide epidemiologische Kenngröße darstellt, da sie als abhängig von der Anzahl der Tests und den Details der Vorauswahl der getesteten Personen zu betrachten ist. Anhand der 7-Tage-Inzidenz muss festgestellt werden, dass unklar ist, woher die Tests stammen, d.h. welche Teststrategie verfolgt wurde. Die primäre Testung von Personen mit Symptomen ergibt eine höhere Testpositiv-Rate als die primäre Testung von Personen ohne Symptome, wobei insbesondere letztere mit einem hohen Risiko falsch positiver Ergebnisse verbunden ist. Studien an repräsentativen Bevölkerungstichproben würden hier mehr Klarheit schaffen, werden aber in dieser Form nicht durchgeführt.

Nach Angaben des Robert-Koch-Instituts (RKI) gehen nur positive Antigenschnelltests, die anschließend durch einen positiven SARS-CoV-2 PCR-Test bestätigt wurden, in die offiziellen Berechnungen ein [12]. Allerdings wurden nur 65 % der positiven Antigenschnelltests anschließend durch einen PCR-Test untersucht, so dass keine Aussage über die Vollständigkeit der den Gesundheitsbehörden gemeldeten positiven Antigennachweise getroffen werden kann.

Ein Cochrane-Review untersuchte Schnelltests und molekularbasierte SARS-CoV-2-Antigentests. Es wurden Publikationen bis Mitte November 2020 gesichtet [4]. Insgesamt wurden 64 Studien eingeschlossen, davon 20 Preprints ohne Peer Review, in denen 16 Antigentests und 5 molekulare Tests untersucht wurden. In den Studien wurden zahlreiche Quellen für Verzerrungen gefunden, z. B. bei der Auswahl der Teilnehmer, der fehlenden Definition eines Referenzstandards für die Abwesenheit einer Infektion und der Darstellung der Stichprobenauswahl. Die Antigentests wiesen erhebliche Unterschiede in der Empfindlichkeit zwischen den Studien auf. Die Sensitivität war in Studien mit einer niedrigen PCR-Zykluschwelle (C_t) <25 hoch (94,5%, 95% CI 91,0% bis 96,7%) im Vergleich zu C_t -Werten >25 (40,7%, 95% CI 31,8% bis 50,3%). Die Gesamtspezifität betrug 99,6% (95% CI 99,0% bis 99,8%). Bei den molekularen Tests reichten die Sensitivitäten von 73,0 % bis 100 % und die Spezifitäten von 97,2 % bis 99,7 %. Diese Durchschnittswerte sind jedoch nicht aussagekräftig für den Einsatz der Tests in einem bestimmten Umfeld und sollten daher nicht pauschal verwendet werden. Die Autoren kommen zu dem Schluss, dass die Antigen-Schnelltests Personen mit hoher Viruslast erkennen können. Die Daten über asymptomatische Personen sind begrenzt. Bei diesen hatten die Antigen-Schnelltests eine durchschnittliche Sensitivität von 58,1 % (95% CI 40,2

% bis 74,1 %) und eine durchschnittliche Spezifität von 98,9 % (95% CI 93,6 % bis 99,8 %). Sie kritisieren auch, dass es keinen Referenzstandard für die Ansteckungsfähigkeit gibt. Die RT-PCR-Methode weist die virale RNA noch Wochen nach einer Infektion nach und stuft daher Personen fälschlicherweise als infektiös ein. Die Einteilung der Ct-Werte in infektiös/nicht infektiös ist problematisch, weil die Korrelation zwischen Ct-Werten und Viruslast zwischen verschiedenen Geräten und Labors variiert. Somit fehlt offensichtlich ein Goldstandard, anhand dessen die Schnelltests validiert werden könnten, obwohl die Studien behaupten, dass der SARS-CoV-2-PCR-Test dieser Goldstandard ist [4] (S. 3). Außerdem ist bei der geringen Prävalenz der Krankheit mit einer erheblichen Anzahl falsch positiver Testergebnisse zu rechnen. Nach Ansicht der Autoren sind weitere Beweise für die Verwendung von Schnelltests bei asymptomatischen Personen erforderlich. Bei wiederholten Tests - hier müsste dann die gesamte Teststrategie und nicht nur die verwendeten Tests untersucht werden -, bei Tests außerhalb des Gesundheitswesens, z. B. in Schulen, und bei Selbsttests im Allgemeinen wurden diese, wie in den meisten Studien, von Fachleuten durchgeführt. Kritisiert wird auch, dass die Anweisungen der Testhersteller oft nicht eingehalten wurden, z. B. wurden gefrorene Proben verwendet oder es wurde eine längere Zeit zwischen Probenahme und Testung verstreichen gelassen. Aufgrund der relativ hohen Zahl falsch-positiver Tests bei einer geringen Prävalenz unter asymptomatischen Personen ist eine entsprechend hohe Zahl von RT-PCR-Folgetests erforderlich, um unnötige Quarantänemaßnahmen zu vermeiden. Die Wirksamkeit von Massentests kann nur durch cluster-randomisierte Studien untersucht werden [4] (S. 40).

Eine frühere kombinierte systematische Überprüfung und Meta-Analyse von zehn Studien ergab eine Gesamtsensitivität von 64,8 % und eine Spezifität von 98,0 % bei großer Heterogenität zwischen den Studien [5]. Die Autoren interpretieren die geringe Sensitivität im Vergleich zu SARS-CoV-2-PCR-Tests dahingehend, dass asymptomatische testpositive Personen mit Antigen-Schnelltests nicht erkannt würden und daher für Massentests ungeeignet seien. Inwieweit diese Schlussfolgerung richtig ist, wird später diskutiert.

Wir haben eine umfangreiche Literaturrecherche in den Standarddatenbanken durchgeführt, um Studien zu finden, die über den Cochrane Review von Dinnes et al. [4] und den Review und die Metaanalyse von Riccò et al. [5] hinausgehen. Der Technische Bericht des ECDC enthält weitere Studien, die Antigen-Schnelltests untersucht haben [2]. Unter Berücksichtigung der in Anhang 1 dieser Publikation aufgeführten Qualitätskriterien kann davon ausgegangen werden, dass die hier diskutierten Studien einen angemessenen Querschnitt darstellen.

Der Test der Firma SD Biosensor wurde in der Studie von Paul et al. mit einem Querschnittsdesign untersucht [6]. Allerdings wird hier bereits ein grundsätzliches Problem deutlich, denn die Autoren geben an, dass der bisherige Goldstandard für den Nachweis einer SARS-CoV-2-Infektion die Real-Time-PCR (RT-PCR) ist und diese wiederum zur Validierung des Antigen-Schnelltests in dieser und anderen Studien herangezogen wird. Aus testtheoretischer Sicht stellt dies ein erhebliches Problem dar. Denn PCR-Tests im Bereich SARS-CoV-2 sind weder standardisiert noch validiert und können ein replikationsfähiges Virus nicht direkt nachweisen [7]. Die SARS-CoV-2-PCR-Testmethode [8] wurde ihrerseits in einem Ringversuch auf ihre Gütekriterien geprüft und es kann von einer Sensitivität von bis zu 99,7% und einer Spezifität von bis zu 98,6% ausgegangen werden [9]. In der Studie von Paul et al. wurden die Tests von geschultem

medizinischem Fachpersonal und Krankenschwestern in einer interdisziplinären Notaufnahme durchgeführt. Die Sensitivität in der Gesamtstichprobe betrug 71,7 %, die Spezifität 99,5 %. Bei asymptomatischen, aber PCR-Test-positiven Patienten lag die Sensitivität bei nur 38,9 % und die Spezifität bei 99,7 %; bei Personen mit Symptomen betrug die Sensitivität 85,7 % und die Spezifität 98,3 % [6]. Die Studie zeigt auch, dass der Ct-Wert offenbar der Parameter mit dem größten Einfluss auf das Ergebnis beim SARS-CoV-2-PCR-Test ist. Ab einem Ct-Wert von 22 und kleiner lag die Nachweisrate des Antigen-Schnelltests bei 100 %. Folglich ist der Antigenschnelltest besonders zuverlässig beim Nachweis von Personen mit hoher Viruslast. Diese stammten jedoch ausschließlich von symptomatischen Personen. Diese Ergebnisse wurden in einer anderen Studie von Scohy et al. bestätigt, die hinreichend belegt, dass die Empfindlichkeit von SARS-CoV-2-Schnelltests erheblich abnimmt, wenn niedrige Viruslasten als Ct-Werte über 30 vorliegen [10].

An zwei Universitäten in Wisconsin, USA, wurden $n = 871$ asymptomatische und $n = 227$ symptomatische Personen mit dem Sofia-SARS-Antigen-Fluoreszenz-Immunoassay (FIA) getestet, und diese Ergebnisse wurden jeweils mit einem RT-PCR-Test verbunden [11]. Den Studenten und Mitarbeitern wurden Tests angeboten, und die Proben wurden an einer Universität von Gesundheitsfachkräften und an der anderen Universität von den Teilnehmern selbst unter Aufsicht entnommen. In der Gruppe der asymptomatischen Personen waren 2,0 % im RT-PCR-Test positiv. Daraus ergab sich eine Sensitivität von 41,2 % und eine Spezifität von 98,4 %. In der Gruppe der symptomatischen Personen waren 17,6 % im RT-PCR-Test positiv. Daraus ergab sich eine Sensitivität von 80,0 % und eine Spezifität von 98,9 %. Der Virusnachweis mittels Zellkultur gelang bei 34 (46,6 %) von 73 Proben, die bei beiden Tests positiv waren.

Weitere Studien zu den Qualitätskriterien von Antigen-Schnelltests sind im ergänzenden Material S1 aufgeführt und werden dort als zusätzliche Information angeführt.

Ziel der vorliegenden Studie ist es, Modellrechnungen zum möglichen Einsatz von Antigenschnelltests als Massentest unter Verwendung von Qualitätskriterien durchzuführen, die aus der evidenzbasierten Forschung, z.B. für die Bundesrepublik Deutschland, gewonnen werden konnten. Anhand dieser Berechnungen sollten auch mögliche Auswirkungen auf die 7-Tage-Inzidenz untersucht werden, da dieser Parameter über einen längeren Zeitraum die Entscheidungsgrundlage für Maßnahmen von Bund und Ländern im Zuge der COVID-19-Pandemie darstellte.

Seit September 2021 wird die bundesweite Inzidenz aufgrund einer Änderung des Infektionsschutzgesetzes durch die Krankenhauseinweisungsrate als primäre Messgröße für die Pandemie abgelöst, obwohl die 7-Tage-Inzidenz in den Medien und der Politik nach wie vor sehr präsent ist, so dass dieser Parameter weiterhin wichtig und relevant ist. Die Hospitalisierungsrate gibt Auskunft über die Belastung in Krankenhäusern. Der Wert gibt an, wie viele mit Covid-19 infizierte Patienten pro 100.000 Einwohner innerhalb von sieben Tagen ins Krankenhaus eingeliefert werden. Die Schwellenwerte für entsprechende Maßnahmen wurden auf 3, 6 und 9 Patienten pro 100.000 Einwohner festgelegt.

Die Prävalenz von COVID-19 kann für Deutschland nicht zuverlässig angegeben werden, da keine epidemiologischen Studien mit repräsentativen Stichproben vorliegen. Schätzungen, die sich auf das Jahr 2020 beziehen, liegen zwischen 0,4 und 1,8 % [13]. Katharina Schüller, Vorsitzende der Deutschen Statistischen Gesellschaft, geht davon aus, dass eine Prävalenzschätzung von derzeit 0,5 % für Deutschland angemessen ist, da das Robert-Koch-Institut die Dunkelziffer um den Faktor 5 schätzt [14]. Dieser Wert wird durch Studien aus England mit saisonabhängigen Prävalenzen von 0,4-1% [15], 0,15% in Slowenien [16], 0,6% in Island [17], 0,3% in Luxemburg [18] bestätigt. Daher wird für die Berechnungsbeispiele für die sequenzielle Teststrategie eine Prävalenzschätzung von 0,5 % verwendet, da dieser Wert für eine Punktprävalenz dieser Krankheit im Frühjahr/Sommer angemessen erscheint. Sequenziell bedeutet, dass im Alltag zunächst ein Antigen-Schnelltest durchgeführt wird. Zeigt dieser ein positives Ergebnis, muss sich die betreffende Person einem SARS-CoV-2 PCR-Test unterziehen. Darüber hinaus werden die Rechenbeispiele auch mit den in den jeweiligen Studien angegebenen parallelen Teststrategien (gleichzeitige Durchführung von Antigenschnelltests und PCR-Tests) und den ursprünglichen Prävalenzen durchgeführt.

Laut Lagebericht des Robert-Koch-Instituts wurden seit Anfang 2021 durchgängig jede Woche mindestens 1,1 Millionen SARS-CoV-2 PCR-Tests durchgeführt, in Woche 12 laut Tagesstatusbericht vom 31.3.2021 sogar 1,4 Millionen [19].

Die Berechnungen, deren Ergebnisse im Folgenden wiedergegeben werden, wurden jeweils für 1.000.000 Schnelltests pro Woche durchgeführt. Dies scheint angesichts der Verfügbarkeit dieser Tests in Discountern wie ALDI und LIDL und der Testpflicht in Schulen eine absolute Untergrenze zu sein. Konkrete Verkaufs- oder Durchführungszahlen für die Tests konnten bisher nicht ermittelt werden bzw. sind nicht veröffentlicht worden. Angesichts der ebenfalls durchgeführten Anzahl von SARS-CoV-2 PCR-Tests pro Woche erscheint diese vermutete Zahl als Grundmodell angemessen. In der Zwischenzeit können die tatsächlichen Testzahlen multiplikativ an diese Modelle angepasst werden.

Auf der Website des Bundesministeriums für Gesundheit ist zu lesen, dass für die Monate März und April 2021 Abrufkontingente in Höhe von 132,5 Millionen Selbsttests den Bundesländern zur Verfügung gestellt werden [20]. Dies entspräche einem wöchentlichen Maximum von 132,5 Millionen Tests/8 Wochen = ca. 16,5 Millionen Tests/Woche. Daher sollte auch für diesen Fall eine Modellrechnung durchgeführt werden.

Die Einwohnerzahl der Bundesrepublik Deutschland beträgt am 30.09.2020 83.190.556 [21]. Dieser Bevölkerungsstand wird als Grundlage für die Normierung der berechneten positiven Testergebnisse auf eine von der Bundesregierung angegebene 7-Tage-Inzidenz pro 100.000 Einwohner verwendet. Sie errechnet sich aus der Gesamtzahl der positiven Tests in den letzten 7 Tagen geteilt durch 83.190.556 und multipliziert mit 100.000. Eine vereinfachte Berechnung lautet: Gesamtzahl der positiven Tests in den letzten 7 Tagen geteilt durch 831,9.

Die dargestellten Berechnungen wurden mit dem Diagnostic test calculator von Alan Schwartz, University of Illinois, Chicago (<http://araw.mede.uic.edu/cgi-bin/testcalc.pl>) durchgeführt. Darüber hinaus wurde das R package mada, ein Tool für die Meta-Analyse, verwendet. Verwendet wurden R Version 4.02 und RStudio 1.2.5042.

Die folgenden Parameter werden von den genannten Programmen berechnet:

Die Sensitivität eines Tests ist der Anteil der Patienten mit der Krankheit, bei denen der

Test positiv für die Krankheit ist. Sie wird berechnet als der Quotient aus den echten Positiven (TP) geteilt durch die Summe der echten Positiven (TP) plus der Falsch-Negativen (FN): $TP/(TP + FN)$.

Die Spezifität eines Tests ist der Anteil der Patienten ohne die Krankheit, bei denen der Test negativ für die Krankheit ist. Es ist also unwahrscheinlich, dass ein spezifischer Test Personen als krank einstuft, die nicht erkrankt sind. Sie wird berechnet als Quotient aus den echten Negativen (TN) geteilt durch die Summe der echten Negativen (TN) plus der falsch Positiven (FP): $TN/(TN + FP)$.

Der positive prädiktive Wert (PPV) gibt an, wie hoch der Anteil der Personen mit positivem Testergebnis ist, die tatsächlich erkrankt sind. Er wird berechnet als der Quotient aus den echten Positiven (TP) geteilt durch die Summe der echten Positiven (TP) plus der Falsch-Positiven (FP): $TP/(TP + FP)$.

Der negative Vorhersagewert (NPV) gibt an, wie hoch der Anteil der tatsächlich gesunden Personen an allen Personen mit einem negativen Testergebnis ist. Er wird berechnet als Quotient aus den echten Negativen (TN) geteilt durch die Summe der echten Negativen (TN) plus der falsch Negativen (FN): $TN/(TN + FN)$ [22].

3. Ergebnisse

Im Folgenden werden Simulationsrechnungen mit einigen ausgewählten Studiendaten aus der Einleitung unter den im Methodenteil erläuterten Bedingungen durchgeführt. Zunächst sollen die vom Hersteller angegebenen Gütekriterien des Hotgen-Tests (Sensitivität 95,37%, Spezifität 99,13%, s.o.) auf ein sequenzielles Testdesign angewendet werden, das z.B. in einem Massentest stattfindet. Überträgt man die Werte des Hotgen-Antigen-Schnelltests auf ein solches Szenario und verwendet die im Methodenteil erläuterte Prävalenz von 0,5% für Deutschland, so erhält man 8656 falsch-positive Ergebnisse bei 1 Million Testungen (Abbildung 1). Der positive prädiktive Wert (PPV) liegt bei 35,52 %, d. h. 35,52 % der Personen, die ein positives Testergebnis aufweisen, sind tatsächlich positiv für SARS-CoV-2. Der negative Vorhersagewert (NPV) liegt bei 99,98 %, d. h. 99,98 % der Personen, die ein negatives Testergebnis aufweisen, gelten tatsächlich als negativ für SARS-CoV-2.

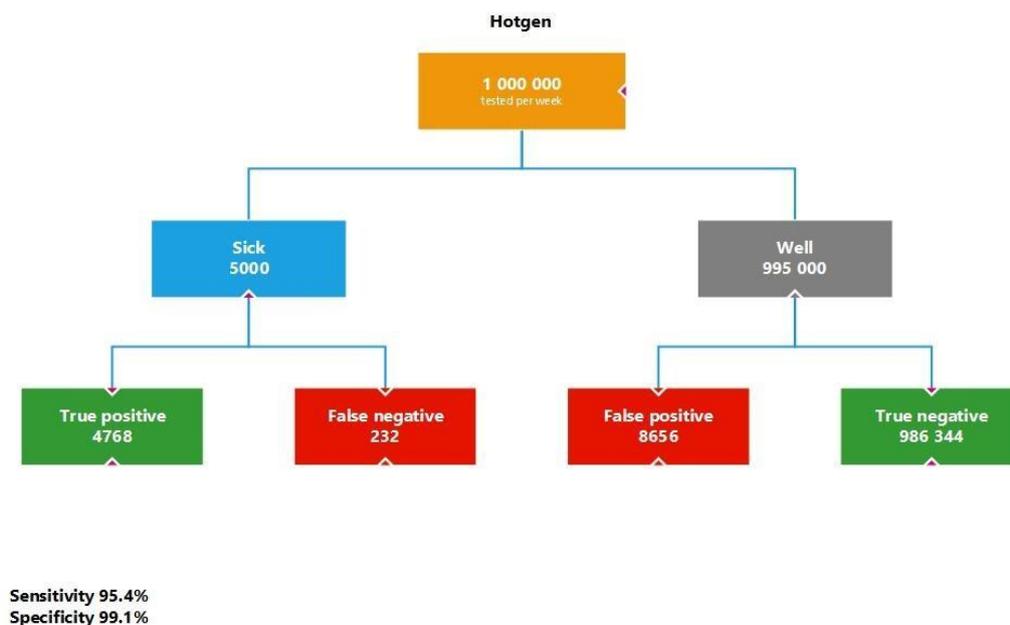


Abbildung 1. Simulationsrechnung für den Hotgen-Antigen-Schnelltest mit sequenzieller Teststrategie und einer Prävalenz von 0,5 %.

Wenn die 13.424 als positiv identifizierten Personen (4768 echte Positive + 8656 Falsch-Positive) nun erneut mit einem SARS-CoV-2-PCR-Test (Sensitivität 99,7 %, Spezifität 98,6 %) getestet werden, wird eine Prävalenz von 35,52 % angenommen, da dies die Vortest-Wahrscheinlichkeit im Umfang des PPV ist. Unter diesen Annahmen gäbe es immer noch 121 Personen, die fälschlicherweise in Quarantäne geschickt würden. Die zusätzlichen Antigen-Schnelltests würden die 7-Tage-Inzidenz um $(4754 + 121)/831,9 = 5,86/100.000$ erhöhen (Abbildung 2).

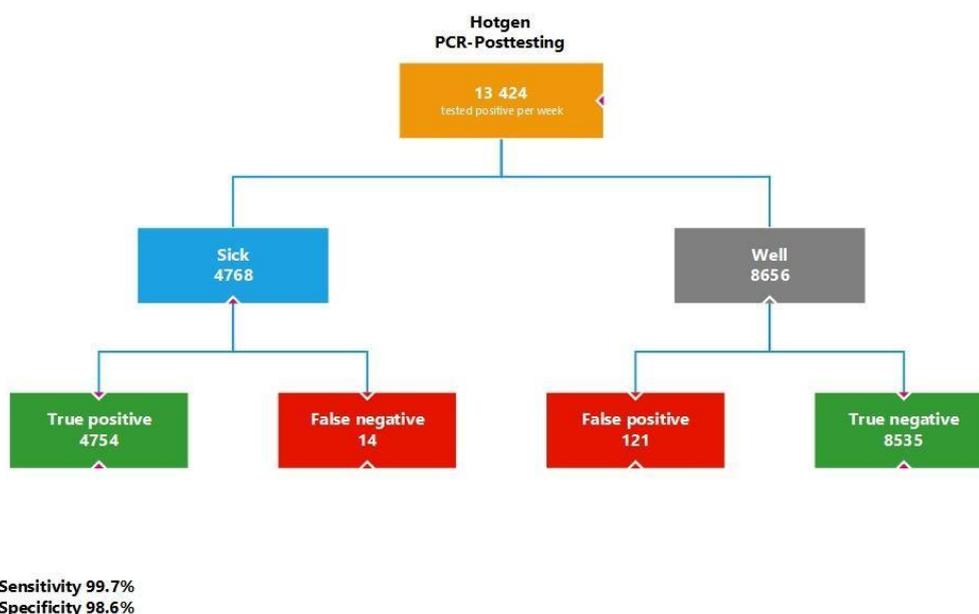


Abbildung 2. Simulationsrechnung für die PCR-Nachuntersuchung der positiven Testergebnisse des Hotgen-Antigen-Schnelltests aus Abbildung 1 mit einer Vortestwahrscheinlichkeit von 35,52 %.

Tabelle 1 zeigt die Zusammenfassung der Ergebnisse der Simulationsrechnungen für die Antigen-Schnelltests für einige in der Einleitung beschriebene Beispielstudien. Die detaillierten Analysen dieser Studien finden sich im Ergänzungsmaterial S1.

Tabelle 1. Ergebnisse der Simulationsberechnungen von Antigen-Schnelltests mit den Daten aus den jeweiligen in der Einleitung beschriebenen Studien. Diese wurden für 1'000'000 Tests pro Woche und 0,5% Prävalenz durchgeführt. Nur die Berechnung für die BMG-Daten wurde mit 16,5 Millionen Tests durchgeführt.

Daten aus der Studie	Richtig-positiv	Falsch-negativ	Falsch-positiv	Richtig-negativ	PPV	NPV
Hotgen	4768	232	8656	986,344	35.52	99.98
Cochrane	2905	2095	10,945	984,055	20.98	99.79
Wisconsin	2060	2940	15,920	979,080	11.46	99.70
Robert-Koch-Institut	4000	1000	19,900	975,100	16.74	99.90
Bundesgesundheitsministerium (BMG)	66,000	16,500	328,350	16,089,150	16.74	99.94

Es ist deutlich zu erkennen, dass mit steigender Anzahl der Tests die Zahl der falsch-positiven Ergebnisse deutlich zunimmt. Dies spiegelt sich in den Zahlen des deutschen Bundesministeriums für Gesundheit wider, die von einer Anzahl von 16,5 Millionen Tests pro 7 Tage ausgehen. Dies verdeutlicht, dass eine steigende absolute Anzahl von Tests zu einer steigenden absoluten Anzahl von falsch-positiven Testergebnissen führt.

Der negative prädiktive Wert (NPV) ist als sehr hoch anzusehen, während der positive prädiktive Wert (PPV) als niedrig einzustufen ist.

Die Personen mit positiven Testergebnissen (echte und falsch-positiv) werden dann gemäß der sequenziellen Teststrategie einem SARS-CoV-2-PCR-Test unterzogen, dessen Ergebnisse in Tabelle 2 dargestellt sind.

Tabelle 2. Ergebnisse der Simulationsberechnungen von sequenziellen SARS-CoV-2-PCR-Tests mit den Daten aus den jeweiligen in der Einleitung beschriebenen Studien. Dabei wurde von 1'000'000 Tests pro Woche und einer Prävalenz von 0.5% ausgegangen. Nur die Berechnung für die BMG-Daten wurde mit 16,5 Millionen Tests durchgeführt.

Daten aus der Studie	Richtig-positiv nach PCR	Falsch-negativ nach PCR	Falsch-positiv nach PCR	Richtig-negativ nach PCR	Anstieg der Inzidenz pro 100.000
Hotgen	4754	14	121	8535	5.86
Cochrane	2897	9	153	10,791	3.67
Wisconsin	2054	6	223	15,697	2.74
Robert-Koch-Institute	3989	12	279	19,621	5.13
Bundesgesundheitsministerium (BMG)	65,816	198	4597	323,739	84.64

Die hohe Zahl falsch positiver Testergebnisse nach einem Antigen-Schnelltest kann durch eine erneute Testung mit einem SARS-CoV-2-PCR-Test zwar deutlich reduziert werden, dennoch werden potenziell immer noch viele Tausend Menschen - vor allem, wenn man von den Maximalwerten des Bundesgesundheitsministeriums ausgeht - zu Unrecht unter Quarantäne gestellt, was erhebliche psychologische, soziale und wirtschaftliche

Auswirkungen hat. Dies wird in Abbildung 3 noch einmal verdeutlicht, in der auch Daten aus Studien abgebildet sind, deren detaillierte Analysen im Supplementary Material S1 dargestellt sind.

Die Auswirkungen der zusätzlichen Antigen-Schnelltests und der sequenziellen Testung mit dem SARS-CoV-2-PCR-Test auf die 7-Tage-Inzidenz sind bei 1 Million Antigen-Schnelltests moderat, steigen aber bei höheren Testzahlen massiv an, was die Abhängigkeit der 7-Tage-Inzidenz von der Anzahl der Tests zeigt. Dabei wird davon ausgegangen, dass aus Gründen der Vergleichbarkeit immer repräsentative Bevölkerungsstichproben aus der Allgemeinbevölkerung mit einer Prävalenz von in diesem Fall 0,5 % gezogen werden. Werden die Tests z. B. in Umgebungen mit niedriger Prävalenz durchgeführt, so ist der Einfluss der zusätzlichen Tests auf die 7-Tage-Inzidenz deutlich geringer (siehe Ergänzungsmaterial S2). Auf die klinische Validität einer solchen Inzidenzerhöhung wird in der Diskussion noch näher eingegangen.

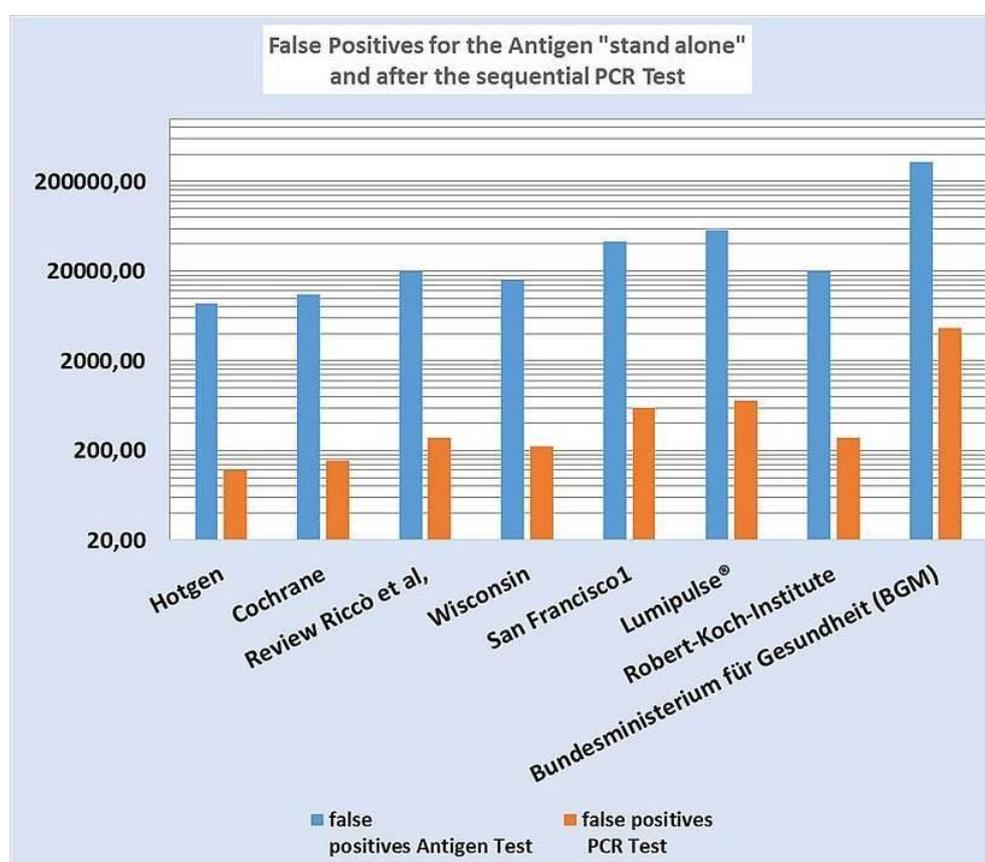


Abbildung 3. Anzahl der falsch-positiven Testergebnisse nach Antigen-Schnelltests und nach anschließenden SARS-CoV-2-PCR-Tests mit den Daten aus den jeweiligen Studien im Ergebnisteil. Diese wurden auf 1.000.000 Tests pro Woche und 0,5 % Prävalenz extrapoliert. Nur die Berechnung für die Daten des Bundesministeriums für Gesundheit (BMG) wurde mit 16,5 Millionen Tests durchgeführt. Die Ergebnisse des BMG können in die Zahlen des Robert-Koch-Instituts umgerechnet werden, indem sie durch 16,5 geteilt werden, da sie auf denselben statistischen Qualitätskriterien beruhen.

Der positive prädiktive Wert (PPV), d.h. der Anteil der Personen mit einem positiven Testergebnis, bei denen tatsächlich COVID-19 diagnostiziert wird, muss als eher gering eingeschätzt werden, da die meisten Werte im Bereich <20% liegen, was den Nutzen einer solchen Teststrategie fraglich erscheinen lässt (Abbildung 4). Dies wird auch in den aktuellen *Recommendations for national SARS-CoV-2 testing strategies and diagnostic capacities* der WHO kritisiert [23].

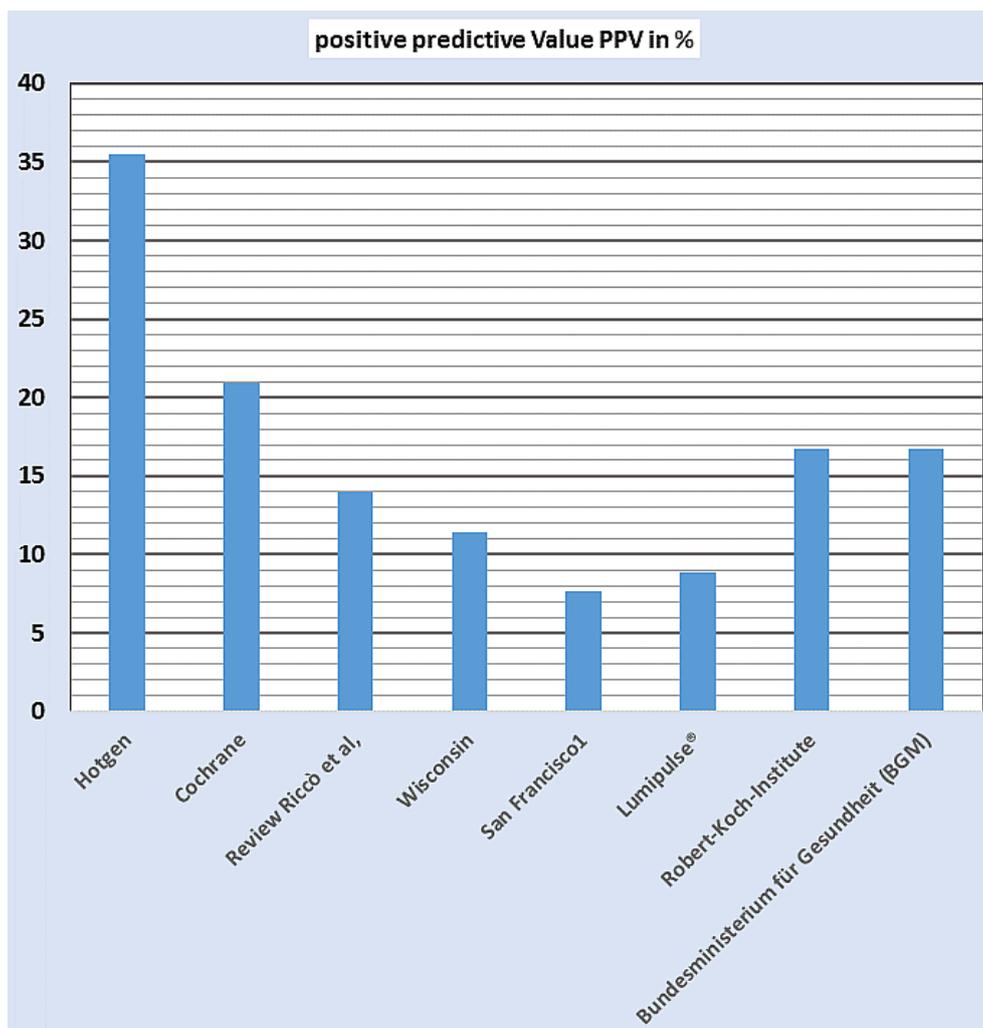


Abbildung 4. Positiver prädiktiver Wert (PPV) nach Antigen-Schnelltests mit den Daten aus den jeweiligen Studien im Ergebnisteil. Diese wurden auf 1.000.000 Tests pro Woche und 0,5% Prävalenz übertragen. Lediglich die Berechnung für die Daten des deutschen Bundesministeriums für Gesundheit (BMG) wurde mit 16,5 Millionen Tests durchgeführt.

Der negative Vorhersagewert (NPV), d. h. der Anteil der Personen mit einem negativen Testergebnis, bei denen COVID-19 tatsächlich nicht diagnostiziert wird, ist hoch. Eher theoretisch könnte ein falsch negativer Test infizierten Personen Zugang zu einer Reihe von Situationen verschaffen, die Beschränkungen unterliegen, wie z. B. Flugreisen oder Fitnessstudios. Man sollte bedenken, dass die bei Massentests verwendeten Antigen-Schnelltests bei asymptomatischen Personen durchgeführt werden, während symptomatische Personen zur weiteren Untersuchung an medizinische Einrichtungen weitergeleitet werden. Aus empirischer Sicht gibt es jedoch bisher keine Daten, die die Annahme belegen würden, dass asymptomatische Personen wesentlich zur Verursachung einer SARS-CoV-2-Infektion beitragen [23]. Im Gegenteil, es gibt belastbare empirische Daten aus einer in Wuhan durchgeführten Studie mit 10 Millionen Kontakten und PCR-Tests, die zeigen, dass selbst asymptomatische Personen, die positiv getestet wurden, keine Infektionen verursachen [24]. Diesen experimentellen Daten zufolge steht ein asymptomatischer Zustand also nicht im Zusammenhang mit der Infektiosität. Daher ist die Mehrzahl der COVID-19-Fälle asymptomatisch [25]. Die Hypothese einer asymptomatischen und präsymptomatischen Übertragung wird zwar weitgehend unterstützt, die wissenschaftliche Literatur liefert jedoch keine stichhaltigen Beweise für eine asymptomatische Ausbreitung der Krankheit in der Allgemeinbevölkerung [26]. Die wichtigsten Argumente für eine asymptomatische Verbreitung sind Fallberichte und Expertenmeinungen [27-31]. Empirisch lässt sich die Annahme, dass asymptomatische Personen Virusüberträger sind, nicht stützen [26]. Systematische Übersichten liefern keine moderate oder starke Evidenz [32-34,26]. Daher empfiehlt die WHO nicht die generelle Testung von asymptomatischen Personen, sondern nur in speziellen Umgebungen [23]. Die Erhöhung der 7-Tage-Inzidenz durch die zusätzlich durchgeführten Antigen-Schnelltests liegt nach den Simulationsrechnungen bei ca. 5/100.000 für 1.000.000 Tests. Dies ist als Basiswert zu betrachten, der als Multiplikator dienen kann, wenn die tatsächliche Anzahl der Tests pro Woche bekannt ist. Wie stark der Einfluss einer hohen Anzahl zusätzlicher Antigen-Schnelltests mit anschließender SARS-CoV-2-PCR-Testung auf die Inzidenz (zusätzlich 84,6/100.000) sein kann, zeigt das Maximalbeispiel auf Basis der vom Bundesministerium für Gesundheit (BMG) angegebenen Kontingenzzahlen von 16,5 Millionen Tests pro Woche.

4. Diskussion

4.1. Relevanz der Ergebnisse

Die Simulationsrechnungen für die Bundesrepublik Deutschland auf der Basis der evidenzbasierten Literatur zu SARS-CoV-2-Antigen-Schnelltests ergaben folgende zentrale Ergebnisse: unter der Annahme von 1.000.000 Tests pro Woche bei einer Prävalenz von 0,5 %, einer hohen Anzahl falsch positiver Testergebnisse, einem niedrigen positiven prädiktiven Wert, einem hohen negativen prädiktiven Wert, aber mit einer signifikanten Anzahl potenziell übersehener Testpositiver und einer Erhöhung der 7-Tage-Inzidenz durch die zusätzlichen Antigen-Schnelltests von ca. 5/100.000. Eine frühere Maximalberechnung auf Basis der vom BMG angegebenen Kontingentszahlen für Selbsttests ergab sogar einen zusätzlichen möglichen Einfluss auf die 7-Tage-Inzidenz von 84,6/100.000. Diese Berechnungen beruhen auf der Annahme repräsentativer Bevölkerungsstichproben aus der Allgemeinbevölkerung mit einer Prävalenz von 0,5 %. Nun könnte man argumentieren, dass die als falsch-positiv eingestuft Personen ohnehin mit einem PCR-Test nachuntersucht werden müssen und dass dieser dann diese falsch-positiven Ergebnisse aufdecken würde. Dies ist für die Mehrzahl der Betroffenen sicherlich richtig, wie unsere Berechnungen zeigen, dennoch würden mindestens mehrere hundert, möglicherweise sogar viele tausend Menschen - je nach absoluter Anzahl der Tests - zu Unrecht in die Isolation geschickt, begleitet von psychischem und wirtschaftlichem Schaden. Außerdem müssen alle positiv getesteten Personen sofort nach dem positiven Test in Quarantäne gehen, bis das PCR-Ergebnis vorliegt, in der Regel nach 1-2 Tagen.

Erschwerend kommt hinzu, dass nach Angaben des Robert-Koch-Instituts nur bei 65 % der positiven Antigen-Schnelltests ein PCR-Test durchgeführt wurde [12]. Dies wird auch durch Daten aus Südtirol (Provincia autonoma di Bolzano - Alto Adige), Italien, bestätigt. Seitdem die Antigen-Schnelltests verwendet werden, gibt es keine Korrelation zwischen der Anzahl der Antigen-Schnelltests und der Anzahl der PCR-Tests, die festgestellt werden könnte (<http://www.provinz.bz.it/sicherheit-zivilschutz/zivilschutz/aktuelle-daten-zum-coronavirus.asp#accept-cookies>). Aus den Daten aus Südtirol lässt sich ferner schließen, dass nach der Untersuchung von mehr als 80 % der Bevölkerung die Zahl der positiven Tests nur vorübergehend um etwa 1/3 zurückging.

Darüber hinaus ist zu berücksichtigen, dass ein positives Antigen-Schnelltestergebnis eine weitere, je nach Umfeld, Testkaskade von Kontaktpersonen in Gang setzen kann, die wiederum zu den in den Beispielrechnungen dargestellten Komplikationen führen kann. Gibt es genügend Kontaktpersonen (z.B. in einer Schulklasse), so kann ein exponentielles Wachstum über mehrere "Generationen" von Kontaktpersonen, angeregt durch überwiegend falsch-positive Ergebnisse, entstehen.

Die Autorengruppe des Robert-Koch-Instituts spricht auch die geringere Sensitivität und geringere Spezifität von Antigen-Schnelltests und die daraus resultierenden falsch negativen und falsch positiven Ergebnisse an. Die falsch-positiven Ergebnisse könnten durch einen anschließenden PCR-Test zumindest teilweise aufgedeckt werden [35]. Die Probenentnahme ist sehr entscheidend für die Genauigkeit des Ergebnisses, ebenso Umgebungsvariablen wie die Temperatur. Medizinische Laien können die Qualität der Proben jedoch nicht wirksam kontrollieren. Diese Tests sind für die Anwendung durch

Fachleute bestimmt. Ein positives Ergebnis bedeutet nicht die Diagnose einer SARS-CoV-2-Infektion. Die Diagnose wird erst durch den anschließenden RT-PCR-Test und die ärztliche Beurteilung gestellt. Dies entspricht der Empfehlung der WHO [36], wird aber in Deutschland nicht umgesetzt, da ein positives SARS-CoV-2 PCR-Testergebnis allein bisher ohne Berücksichtigung von Symptomen oder Ct-Werten als Infektion fehlinterpretiert wurde und somit nicht den Anforderungen des Infektionsschutzgesetzes entspricht.

Auch die Autoren des RKI stellen fest, dass die nationale Teststrategie eine gezielte und anlassbezogene Testung vorsieht. Dies ist bei Massentests von asymptomatischen Personen nicht als erfüllt anzusehen. Bei einem positiven Antigenschnelltest-Ergebnis besteht die Verpflichtung zur sofortigen häuslichen Isolierung und Nachtestung mittels RT-PCR-Screening. Erfahrungen mit adäquaten Antigentests liegen in Deutschland kaum vor [35]. Das klinisch evidenzbasierte Paradigma der Testung zur differentialdiagnostischen Abklärung und Verifizierung einer klinisch aufgrund von Symptomen gestellten Verdachtsdiagnose wird bei diesem Ansatz nicht eingehalten.

Die falsch-negativen Testergebnisse würden das Ziel, die Ausbreitung der Infektion langfristig zu verhindern, grundsätzlich in Frage stellen. Andererseits ist zu berücksichtigen, dass die Antigen-Schnelltests bei Personen mit niedriger Viruslast und hohen SARS-CoV-2 PCR-Ct-Werten korrekt mit negativen Ergebnissen reagieren und die Definition eines falsch negativen Ergebnisses auf den zweifelhaften Goldstandard des PCR-Tests zurückzuführen ist. Die durchgeführten Pseudo-Validierungsstudien zeigen eindeutig, dass Personen mit SARS-CoV-2 PCR-Test Ct-Werten ≥ 30 wahrscheinlich nicht infektiös sind [37,38], dies kann sogar bei Ct-Werten >24 der Fall sein [39,40]. Im Vergleich zu symptomatischen Patienten haben asymptomatische SARS-CoV-2 PCR-Test-positive Patienten eine niedrige Viruslast und auch nur kurze virale Ausscheidungszeiten, was ihr Risiko einer Übertragung von SARS-CoV-2 erheblich reduziert [24]. Die klinische Bedeutung einer postulierten 2,6- bzw. 8-fachen Anzahl von SARS-CoV-2-Infektionen gegenüber der Testung [41] ist angesichts der nicht vorhandenen Überlastung des deutschen Gesundheitswesens [42] und einer nicht vorhandenen Übersterblichkeit im Jahr 2020 [43] zu hinterfragen. Eine Studie in einer Pflegeeinrichtung kam zu anderen Ergebnissen: Mehr als die Hälfte der Bewohner mit positiven Testergebnissen waren zum Zeitpunkt der Testung asymptomatisch und trugen höchstwahrscheinlich zur Übertragung bei [44]. Die Autoren waren jedoch nicht in der Lage, den Beitrag der asymptomatischen und präsymptomatischen Personen zur Übertragung von SARS-CoV-2 zu quantifizieren. Die Korrelation zwischen dem Auftreten der Symptome und der Virusausscheidung war gering, da es schwierig war, das genaue Datum des Auftretens der Symptome oder Unterschiede in der Virusausscheidung in dieser Population zu messen. Die Symptome wurden von Pflegepersonal und Klinikern beurteilt. Von denjenigen, die zum Zeitpunkt der Untersuchung Symptome angaben, hatten 62 % eine kognitive Beeinträchtigung, während 56 % derjenigen, die keine Symptome angaben, ebenfalls eine kognitive Beeinträchtigung aufwiesen [44], was die Validität der Symptomanangaben in Frage stellt. Es ist unklar, ob diese Ergebnisse auf andere Situationen verallgemeinert werden können. Dennoch sollte ein gezielter Schutzansatz in solchen speziellen Umgebungen empfohlen werden.

Der inkrementelle Einfluss auf die 7-Tage-Inzidenz mag mit 5/100.000 bei 1.000.000 Tests pro Woche relativ gering erscheinen. Da die Antigenschnelltests in der Bundesrepublik Deutschland zum Zeitpunkt der Erstellung dieses Berichts jedoch noch in

den Kinderschuhen stecken, gehen wir davon aus, dass 1.000.000 Tests pro Woche eine Untergrenze darstellen, die bereits deutlich überschritten ist, da die Politiker bereits von "Bürgertests" sprechen und es eine "Bürgerpflicht" ist, sich testen zu lassen. Zudem wird der Antigenschnelltest von staatlichen Behörden wie dem dem Gesundheitsministerium unterstellten Robert-Koch-Institut massiv gefördert und massive Aufklärungskampagnen angekündigt [45]. Es ist daher zu erwarten, dass die Zahl der Antigenschnelltests deutlich zunehmen wird. Eine Verdoppelung auf 2.000.000 Tests würde dann zu einem Anstieg der 7-Tage-Inzidenz um 10/100.000 führen. Die Maximalberechnung auf Basis der vom BMG angegebenen Antigen-Schnelltest-Quoten hat die möglichen massiven Auswirkungen auf die 7-Tage-Inzidenz deutlich gemacht. Hinzu kämen die Woche für Woche durchgeführten SARS-CoV-2 PCR-Tests, die aufgrund ihrer Fehlerquote (Spezifität 98,6%) falsch positive Testergebnisse liefern. Selbst wenn die Krankheit nicht mehr vorhanden wäre (Prävalenz 0 %) und 705 520 Tests ab Kalenderwoche 25 durchgeführt würden, gäbe es 9877 falsch-positive Ergebnisse, was eine Inzidenz von 11,9/100 000 ergäbe. Die 7-Tage-Inzidenz lag Ende Juni 2021 bei etwa 5/100.000 und damit niedriger als die vorhergesagten falsch-positiven Raten. In den oben genannten Zahlen sind jedoch Mehrfachtests und andere methodische Aspekte enthalten (Vorselektion durch positive SARS-CoV-2-Schnelltests, hohe Varianzen zwischen den Labors aufgrund mangelnder Standardisierung des SARS-CoV-2-PCR-Tests; Vereinfachung des Modells durch Verwendung von Durchschnittswerten anstelle vollständiger Verteilungen; Tests in Umgebungen mit niedriger Prävalenz). Eine vollständige Erläuterung findet sich im Ergänzungsmaterial S2. Es sollte auch bedacht werden, dass Tests in Nicht-Laborumgebungen und durch ungeschultes Personal eine zusätzliche Fehlerquelle darstellen, deren Quantifizierung auf der Grundlage der bisher verfügbaren Daten nicht zuverlässig ist. Diese Beispiele zeigen deutlich, wie sorgfältig die Vor- und Nachteile einer bevölkerungsbezogenen Teststrategie abgewogen werden müssen.

Kohn et al. führen mehrere Verzerrungen auf, die bei Studien zur diagnostischen Genauigkeit auftreten können. Im vorliegenden Fall sind der unvollkommene Goldstandard-Bias und der Spektrum-Bias von Bedeutung. Wie im Folgenden gezeigt wird, ist die SARS-CoV-2-PCR-Testmethode ein äußerst unvollkommener Goldstandard, da dieser Test weder ausreichend standardisiert noch validiert ist. Infolgedessen werden in Studien immer wieder niedrige Sensitivitäten der Antigen-Schnelltests beklagt, obwohl diese darauf zurückzuführen sind, dass die SARS-CoV-2-PCR-Testpersonen mit hohen Ct-Werten als testpositiv eingestuft wurden, die eine sehr niedrige, klinisch irrelevante Viruslast haben, die der Antigen-Schnelltest richtigerweise nicht erkennt. Daher gehen einige Studien dazu über, Ct-Cut-off-Werte für die Infektiosität von Personen zu definieren, z. B. $Ct < 30$, um die Empfindlichkeit des Antigen-Schnelltests zu erhöhen. Gleichzeitig wird damit die klinische Irrelevanz höherer SARS-CoV-2-PCR-Ct-Werte eingeräumt, so dass diese Personen nicht mehr als infektiös definiert würden.

Eine Verzerrung des Spektrums ergibt sich aus der Tatsache, dass in einigen klinischen Studien symptomatische Personen (D+) in die Studien eingeschlossen wurden ("sickest of the sick"), während Personen ohne Symptome (D-) rekrutiert wurden ("wellest of the well"), so dass Sensitivität und Spezifität überschätzt wurden [46] (S. 1202).

Darüber hinaus ist die geringe oder gar nicht vorhandene Rolle der asymptomatischen und präsymptomatischen SARS-CoV-2-PCR-Test-Positiven im Infektionsprozess zu

erwähnen, bei denen ein hoher Ct-Wert vorlag. Dies wurde inzwischen in mehreren Studien gezeigt [24,34,47,48]. Die Behauptung in der Studie von Paul et al., dass sich die Viruslast von asymptomatischen Personen nicht von denen mit Symptomen unterscheidet, ist daher überraschend [6].

Das Konstrukt der "asymptomatischen Patienten" ist daher aus fachlicher Sicht generell anzuzweifeln, auch auf der Grundlage der oben erwähnten Studie aus Wuhan [24]. In dieser Studie mit fast 10 Millionen Teilnehmern gab es 300 asymptomatische, SARS-CoV-2-PCR-positive Patienten. Die Untersuchung ihrer 1174 engsten Kontaktpersonen erbrachte jedoch null PCR-positive Testergebnisse. Daraus folgt, dass diejenigen, die positiv getestet wurden, aber klinisch asymptomatisch sind, als nicht infektiös angesehen werden sollten. Dies wird auch durch die Tatsache bestätigt, dass aus den 300 positiven Proben asymptomatischer Viruskulturen in der Studie kein einziges replizierbares SARS-CoV-2-Virus gezüchtet werden konnte. In ihren neuen Empfehlungen für nationale SARS-CoV-2-Teststrategien und -Diagnosekapazitäten empfiehlt die WHO, von Massentests bei asymptomatischen Personen aufgrund der fehlenden Evidenz und der damit verbundenen Kosten abzusehen. Dies wird nur für häufig exponierte Gruppen wie Beschäftigte im Gesundheitswesen oder in Langzeitpflegeeinrichtungen empfohlen. Es wird festgestellt, dass die Evidenzbasis für die Effektivität eines breit angelegten Screenings der asymptomatischen Bevölkerung und von Selbsttests auf SARS-CoV-2 derzeit fehlt und daher nicht ausreicht, um Empfehlungen auszusprechen [23].

4.2. Verzerrung durch einen unvollkommenen Goldstandard

Verzerrung durch einen unvollkommenen Goldstandard (Imperfect gold standard bias) ist ein epidemiologischer Begriff, der von Kohn, Carpenter & Newman [46] diskutiert wird. Dieser Fachbegriff impliziert, dass das Kriterium, anhand dessen andere Tests validiert werden, selbst fragwürdige Qualitätskriterien aufweist, so dass die ungünstigen Qualitätskriterien der untersuchten Tests, die sich daraus ableiten lassen, unzulässig kritisiert werden.

Da die Verwendung der SARS-CoV-2-PCR-Testmethode als Goldstandard für die Validierung der Antigen-Schnelltests kritisiert wurde, sollen hier einige empirische Ergebnisse zur SARS-CoV-2-PCR-Testmethode diskutiert werden.

Auf die Bedeutung der Ct-Werte in der SARS-CoV-2 PCR-Testmethode wurde bereits hingewiesen. Bei Ct-Werten zwischen 10 und 20 waren in 76,6 % der Proben die Viren auch in der Zellkultur nachweisbar. Der Anteil der kulturpositiven Zellproben sank auf 24,1 % bei Ct-Werten zwischen 20 und 30 und auf 2,9 % bei Ct-Werten >30 [49]. Personen mit höheren Ct-Werten, bei denen Viren kultiviert werden konnten, hatten entsprechende klinische Symptome. Jefferson et al. kommen in ihrer Übersichtsarbeit zu dem Schluss, dass eine Virusanzucht in Zellkulturen bei Ct-Werten >24 oder wenn der Beginn der Symptome mehr als 8 Tage zurückliegt, nur selten möglich war [50]. Dies wurde in einer anderen Studie bestätigt [39]. Die Ansteckungsfähigkeit von Personen mit Ct-Werten >24 und Symptombdauer >8 Tagen ist daher sehr wahrscheinlich gering, wenn überhaupt noch vorhanden. Rao et al. kommen in ihrer Übersichtsarbeit zu grundsätzlich ähnlichen Schlussfolgerungen und plädieren dafür, dass bei PCR-Tests immer Ct-Werte angegeben werden sollten, da diese für wichtige klinische und gesundheitspolitische Entscheidungen

herangezogen werden können [51].

Die geäußerte Kritik an der Pseudo-Validierung der Antigen-Schnelltests durch die SARS-CoV-2-PCR-Testmethode wird in einem Kommentar in der renommierten Zeitschrift Lancet [7] unterstützt. Die Autoren argumentieren, dass die SARS-CoV-2-PCR-Testmethode ein ungeeigneter Goldstandard für die Validierung des SARS-CoV-2-Antigen-Schnelltests ist. Der SARS-CoV-2-PCR-Test weist RNA auch aus früheren Infektionen bei Personen nach, die keine Symptome mehr zeigen. Der Median der positiven PCR-Testergebnisse liegt bei 22-33 Tagen, während die meisten infizierten Personen 4-8 Tage lang infektiös sind. Folglich sind 50-75 % der positiven PCR-Testergebnisse postinfektiös und somit nicht akut infektiös. Daher sollten sie in den offiziellen Statistiken überhaupt nicht berücksichtigt werden. PCR-Tests können Viruskonzentrationen nachweisen, die für eine Infektion irrelevant sind, und noch Wochen bis Monate nach einer Infektion positive Ergebnisse zeigen. Daher überrascht es die Autoren nicht, dass die Antigen-Schnelltests im Vergleich zu den SARS-CoV-2-PCR-Tests eine geringe Sensitivität aufweisen, da sie Personen mit geringer Viruslast nicht erkennen. Für einen Test, aus dem gesundheitspolitische Entscheidungen abgeleitet werden, bedeutet dies, dass er seine Aufgabe absolut korrekt erfüllt hat [7] (S. 1426). Hinzuzufügen ist lediglich, dass aufgrund der ebenfalls unvollkommenen Spezifitäten der Antigen-Schnelltests enge Indikationen gestellt werden müssen und diese niemals als Massentest eingesetzt werden sollten, da dies wiederum zu falsch positiven Ergebnissen führt (d.h. mit selbstverstärkendem Effekt, siehe Modellrechnungen im Ergebnisteil).

Surkova et al. stellen fest, dass es keinen Goldstandard für die Validierung des SARS-CoV-2 PCR-Tests gibt [52]. Die Raten der falsch-positiven Testergebnisse im Großbritannien lagen im Herbst 2020 zwischen 0,8 % und 4,0 %. Bei einer geringen Vortestwahrscheinlichkeit sollten die Testergebnisse mit Vorsicht interpretiert und eine zweite Probe entnommen werden. Lühmann berichtet von niedrigen positiven Vorhersagewerten für den SARS-CoV-2-PCR-Test bei Massentests mit niedriger Prävalenz [53]. Die Wahrscheinlichkeit, bei einem positiven Testergebnis tatsächlich zu erkranken, ist daher gering. Die WHO weist darauf hin, dass bei der Diagnose von SARS-CoV-2 auch auf andere Erreger getestet werden sollte. Koinfektionen mit anderen Erregern schließen COVID-19 nicht aus und umgekehrt. Insbesondere wurde über Koinfektionen mit Influenza A berichtet. Daher ist eine fundierte Differenzialdiagnose zu empfehlen [54]. Die WHO hat in einer Information vom Januar 2021 klargestellt, dass der Ct-Wert umgekehrt proportional zur Viruslast ist, wie auch die oben genannten Studien und Reviews zeigen. Wenn die Testergebnisse nicht mit dem klinischen Bild übereinstimmen, sollte eine neue Probe entnommen werden und folglich ein neuer PCR-Test durchgeführt werden. Außerdem gibt die WHO an, dass die Prävalenz einer Krankheit den prädiktiven diagnostischen Wert beeinflusst. Je niedriger die Prävalenz ist, desto höher ist das Risiko falsch positiver Ergebnisse. Das bedeutet, dass die Wahrscheinlichkeit, dass eine Person, die ein positives PCR-Testergebnis erhält, tatsächlich mit SARS-CoV-2 infiziert ist, mit abnehmender Prävalenz sinkt, unabhängig von der gewählten Spezifität [36]. Die WHO weist weiterhin deutlich darauf hin, dass PCR-Tests nur als diagnostische Hilfsmittel betrachtet werden sollten. Folglich muss das medizinische Personal jedes Ergebnis im Zusammenhang mit dem Zeitpunkt der Probenentnahme, der Art der Probe, den klinischen Beobachtungen, der Krankengeschichte, den bestätigten Kontakten und den epidemiologischen Informationen

bewerten. Die alleinige Bewertung eines positiven SARS-CoV-2 PCR-Tests als infektiös ist daher nicht zuletzt auf der Grundlage des Infektionsschutzgesetzes unzulässig. Die Entscheidung, ob tatsächlich eine Infektion vorliegt, kann und darf nur von einem Arzt getroffen werden.

Dies wird auch durch eine aktuelle deutsche Studie bestätigt. In einer Auswertung von SARS-CoV-2-PCR-Testergebnissen aus einem Labor, das etwa 80 % der deutschen Stadt Münster mit einer Bevölkerung von etwa 313.000 Einwohnern versorgt, hatten nur 40,6 % der positiven Probanden Ct-Werte <25 , die in der COVID-19-Haushalterhebung des britischen Office for National Statistics (ONS) als infektiös gelten [40]. Daher ist es nicht geeignet, positive SARS-CoV-2-PCR-Testergebnisse einfach zu zählen, um die Infektiosität der Krankheit darzustellen, die dann zur Operationalisierung eines Krankheitsgeschehens im Rahmen eines Inzidenzparameters verwendet wird. Weiterhin ist zu erwähnen, dass es in Deutschland keine einheitliche Teststrategie gibt. Dies bedeutet, dass bereits die täglichen Inzidenzwerte nicht vergleichbar sind. Darüber hinaus kann die Gesamtzahl der in Deutschland pro Woche durchgeführten Tests nicht zuverlässig ermittelt werden, da nur ein Teil der Labore diese freiwillig an das RKI meldet.

Eine weitere Schwierigkeit bei der Validierung von Antigen-Schnelltestergebnissen und SARS-CoV-2-PCR-Testergebnissen sind Interpretationsprobleme mit den entsprechenden Viruskulturen. Es gibt keinen direkten Beweis für den Zusammenhang zwischen der Infektiosität in Zellkulturen und der Übertragbarkeit des Virus auf den Menschen. Es ist nicht bekannt, ob Personen mit niedriger Viruslast, die in Viruskulturen positiv getestet werden, zur Verbreitung des Virus beitragen. Es könnte also sein, dass die auf Zellkulturen basierende Testmethode zu empfindlich ist, um die Virusübertragung beim Menschen angemessen darzustellen. Außerdem geht man davon aus, dass die Nachweisrate von Antigen-Schnelltests im Zusammenhang mit natürlichen Mutationen beeinträchtigt wird [55]. Proben mit Ct-Werten >33 können nur selten eine Kultivierung in Viruskulturen verursachen, was eine geringe Infektiosität bedeutet [56]. In einer anderen Studie wurde in Proben mit Ct-Werten >29 keine Viruskultivierung erreicht [37]. Andere Autoren geben dagegen an, dass Ct-Werte zwischen 17 und 32 kultivierbare Virusmengen darstellen und als infektiös angenommen werden sollten, erwähnen aber im gleichen Artikel, dass noch nicht bekannt ist, wie viele SARS-CoV-2-Virionen für eine Infektion erforderlich sind [41]. Somit stellt diese Methode einen geeigneten Goldstandard für das Vorhandensein replizierbarer Viren dar, was aber nicht unbedingt gleichzeitig einen Goldstandard für die Infektiosität bedeutet.

4.3. Methodische Probleme bei wiederholten Screening-Tests

Paul et al. zitieren Empfehlungen, wonach wiederholte Tests mit Antigen-Schnelltests alle 2-3 Tage angebracht sind [6], aber dies basiert auf Modellierungen, die sich für COVID-19 häufig als ungenau erwiesen haben [57]. Die Autoren kommen zu dem Schluss, dass der Wert von Antigen-Schnelltests als Einzeltest bei asymptomatischen Personen erheblich eingeschränkt ist [6] (S. 14).

So gibt es beispielsweise Modellrechnungen, die zeigen, dass die Wirksamkeit des Screenings weitgehend von der Häufigkeit der Tests abhängt. Die Autoren räumen ein, dass

dies zu einigen falsch-positiven Ergebnissen führt, die eine unnötige Quarantäne zur Folge haben [58], aber dies wird nicht weiter diskutiert. Die Modellierung basiert nicht auf realen Proben, sondern auf konstruierten Proben, und es wird nur die Sensitivität von Schnelltests berücksichtigt, nicht aber die Spezifität.

Bei all diesen Forderungen nach regelmäßigen, wiederholten Screenings bleiben entscheidende methodische Überlegungen unberücksichtigt. Es liegt nämlich auf der Hand, dass die Wahrscheinlichkeit eines falsch-positiven Ergebnisses mit zunehmender Anzahl von Screening-Tests noch weiter steigt [59,60]. Für eine adäquate Interpretation der Ergebnisse wiederholter Messungen mit Antigen-Schnelltests bei denselben Personen wären daher andere mathematische Modelle erforderlich. Dinnes et al. kritisieren folglich, dass bei wiederholten Tests die gesamte Teststrategie und nicht nur die verwendeten Tests untersucht werden müssten [4].

Iacobucci kritisiert die wiederholten Massentests an britischen Universitäten, da sie nur eine geringe Positivrate von 0,5 % ergaben. Politische Ziele hatten Vorrang vor denen der Wissenschaft oder der Gesundheit [61]. Viele falsch-positive Ergebnisse wurden mit enormen Kosten produziert. Es werden massive Zweifel an der Wissenschaftlichkeit und ethischen Vertretbarkeit des Testprogramms geäußert und Empfehlungen ausgesprochen, es einzustellen. Stattdessen sollten nur Schüler mit entsprechenden Symptomen getestet werden. Dies ist übrigens die einzig mögliche logische Konsequenz aus der oben erwähnten Erkenntnis aus Wuhan, dass asymptomatische Personen kaum eine Infektion verursachen können und entspricht auch den jüngsten Empfehlungen der WHO [23].

5. Schlussfolgerungen

Sowohl Antigen-Schnelltests als auch die SARS-CoV-2-PCR-Testmethode sollten nur bei entsprechender Vortest-Wahrscheinlichkeit, d.h. bei entsprechender diagnostischer Hypothese, eingesetzt werden. Das bedeutet, dass sie bei Personen mit Atemwegssymptomen und nicht bei symptomfreien Personen eingesetzt werden sollten [23], denn selbst wenn die Krankheit vollständig verschwindet, wird die daraus resultierende Testpandemie aufgrund falsch positiver Ergebnisse niemals enden.

Generell ist weder die Pseudo-Validierung der Antigen-Schnelltests auf ein Verfahren wie die SARS-CoV-2-PCR-Testmethode noch die dahinter stehende Testlogik aus testtheoretischer und evidenzbasierter Sicht überzeugend:

Die Vorselektion von positiven Testergebnissen durch die Antigen-Schnelltests führt zu einer erhöhten Vortestwahrscheinlichkeit bei der Nachtestung durch die SARS-CoV-2-PCR-Tests. Dies wiederum erhöht die Positivrate der SARS-CoV-2-PCR-Tests, was nur ein Effekt der vermehrten Testung und der entsprechenden Vorselektion durch die Antigen-Schnelltests ist. Dies wird dann aber von den politischen Mandatsträgern als Verschlechterung der Infektionslage interpretiert, unabhängig von der erhöhten Anzahl der Tests. Die Positivrate wird von Politikern als Indikator für die Schwere der Situation herangezogen. Wenn die Anzahl der Tests einen Einfluss auf die Bewertung dieser Situation hat, ist dies eine unzulässige Schlussfolgerung. Außerdem ist dieser Parameter ungeeignet, da er auf einer nicht repräsentativen wöchentlichen Bevölkerungsstichprobe beruht. Erschwerend kommt hinzu, dass die Teststrategie und die Anzahl der Tests pro 100.000 regional stark variiert, so dass Vergleiche zwischen Regionen

nur bedingt aussagekräftig sind und die durchschnittliche Positivrate für Deutschland durch die fehlende Standardisierung verzerrt sein kann.

Außerdem wäre eine Differenzialdiagnose erforderlich, z. B. mittels eines Multiplex-PCR-Tests (z. B. SARS-CoV-2-qPCR Plus). Dieser würde das neue Coronavirus zusammen mit Influenza A und B sowie RSV A und B und anderen besonders häufigen Atemwegserregern nachweisen, anstatt nur einen Erreger zu testen. Daraus lässt sich schließen, dass der praktische Nutzen von Massentests mit Antigen-Schnelltests nicht nachgewiesen werden kann [23].

Aktuelle Daten zur weltweiten Infection Fatality Rate (IFR) für COVID-19 liegen bei 0,15 % [62], d.h. 99,85 % der mit COVID-19 Infizierten überleben die Erkrankung. Angesichts einer solch vergleichsweise geringen Sterblichkeitsrate und einer entsprechend hohen Überlebensrate sind die hier beschriebenen Massentests aus epidemiologischer Sicht nicht sinnvoll und nicht gerechtfertigt.

Danksagungen

Wir danken Bonita Blankart für die Übersetzung des Manuskripts.

Interessenkonflikt

Die Autoren haben keine Interessenkonflikte zu vermelden.

Literatur

1. Protzer U, Keppler O, Renz H, et al. Positionspapier des Netzwerk B-FAST im Nationalen Forschungsnetzwerk der Universitätsmedizin zu COVID-19 zur Anwendung und Zulassungspraxis von Antigen-Schnelltests zum Nachweis des neuen Coronavirus, SARS-CoV-2 (2021) .Available from: http://www.mvp.uni-muenchen.de/fileadmin/diagnostik/Teaserbilder/B-FAST_aktuell_Positionspapier_SARS-CoV-2-Ag-Schnelltests.pdf.
2. 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. Tech Rep .
3. Robert Koch Institut (RKI) Corona-Schnelltest-Ergebnisse verstehen, Berlin, 2021 Available from: https://www.rki.de/DE/Content/InfAZ/N/Neuartiges_Coronavirus/Infografik_Antigentest_PDF.pdf?__blob=publicationFile.
4. Dinnes J, Deeks JJ, Berhane S, et al. (2021) Rapid, point-of-care antigen and molecular-based tests for diagnosis of SARS-CoV-2 infection. *Cochrane Database Syst Rev* 3: CD013705.
5. Riccò M, Ferraro P, Gualerzi G, et al. (2020) Point-of-care diagnostic tests for detecting SARS-CoV-2 antibodies: a systematic review and meta-analysis of real-world data. *J Clin Med* 9: 1515. doi: 10.3390/jcm9051515
6. Robert Koch Institut (RKI) Epidemiologisches Bulletin, 2021 Available from:

https://www.rki.de/DE/Content/Infekt/EpidBull/Archiv/2021/Ausgaben/03_21.pdf?blob=publicationFile.

7. Mina MJ, Peto TE, García-Fiñana M, et al. (2021) Clarifying the evidence on SARS-CoV-2 antigen rapid tests in public health responses to COVID-19. *Lancet* 397: 1425-1427. doi: 10.1016/S0140-6736(21)00425-6
8. Corman VM, Landt O, Kaiser M, et al. (2020) Detection of 2019 novel coronavirus (2019-nCoV) by real-time RT-PCR. *Euro Surveill* 25: 2000045.
9. Zeichhardt H, Kammel M (2020) Kommentar zum Extra Ringversuch Gruppe 340 Virusgenom-Nachweis-SARS-CoV-2. Düsseldorf.
10. Scohy A, Anantharajah A, Bodéus M, et al. (2020) Low performance of rapid antigen detection test as frontline testing for COVID-19 diagnosis. *J Clin Virol* 129: 104455. doi: 10.1016/j.jcv.2020.104455
11. Pray IW, Ford L, Cole D, et al. (2021) Performance of an antigen-based test for asymptomatic and symptomatic SARS-CoV-2 testing at two University campuses - Wisconsin, September-October 2020. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 69: 1642-1647. doi: 10.15585/mmwr.mm695152a3
12. Robert Koch Institut (RKI) Antworten auf häufig gestellte Fragen zum Coronavirus SARS-CoV-2/Krankheit COVID-19, 2021. Werden die Meldedaten durch die wachsende Anzahl an Schnelltests verzerrt? Available from: <https://www.rki.de/SharedDocs/FAQ/NCOV2019/gesamt.html>.
13. Salzberger B, Buder F, Lampl BT, et al. (2020) Epidemiologie von SARS-CoV-2/COVID-19. *Gastroenterologe* 1-7.
14. Schüller K Statistikerin: Positive Schnelltests sind meist falsch – selbst wenn sie Mediziner durchführen, 2021 Available from: https://www.focus.de/gesundheit/coronavirus/corona-infizierte-fruehzeitig-erkennen-statistikerin-positive-schnelltests-sind-meist-falsch-selbst-wenn-sie-medizin-personal-durchfuehrt_id_13061305.html.
15. Pouwels KB, House T, Pritchard E, et al. (2021) Community prevalence of SARS-CoV-2 in England from April to November, 2020: results from the ONS Coronavirus Infection Survey. *Lancet Public Health* 6: e30-e38. doi: 10.1016/S2468-2667(20)30282-6
16. Vodičar PM, Oštrbenk Valenčak A, Zupan B, et al. (2020) Low prevalence of active COVID-19 in Slovenia: a nationwide population study of a probability-based sample. *Clin Microbiol Infect* 26: 1514-1519. doi: 10.1016/j.cmi.2020.07.013
17. Gudbjartsson DF, Helgason A, Jonsson H, et al. (2020) Spread of SARS-CoV-2 in the Icelandic population. *N Engl J Med* 382: 2302-2315. doi: 10.1056/NEJMoa2006100

18. Snoeck CJ, Vaillant M, Abdelrahman T, et al. (2020) Prevalence of SARS-CoV-2 infection in the Luxembourgish population: the CON-VINCE study. medRxiv .
19. Robert Koch Institut (RKI) Täglicher Lagebericht des RKI zur Coronavirus-Krankheit-2019 (COVID-19), Berlin, 2021 Available from: https://www.rki.de/DE/Content/InfAZ/N/Neuartiges_Coronavirus/Situationsberichte/Maerz_2021/2021-03-31-de.pdf?__blob=publicationFile.
20. Bundesministerium für Gesundheit (German Ministry of Health) Fragen und Antworten zu Schnell- und Selbsttests zum Nachweis von SARS-CoV-2, 2021 Available from: <https://www.bundesgesundheitsministerium.de/coronavirus/nationale-teststrategie/faq-schnelltests.html>.
21. Statistisches Bundesamt Bevölkerungsstand, 2021 Available from: <https://www.destatis.de/DE/Themen/Gesellschaft-Umwelt/Bevoelkerung/Bevoelkerungsstand/Tabellen/zensus-geschlecht-staatsangehoerigkeit-2020.html>.
22. Grobbee DE, Hoes AW (2014) Clinical epidemiology: principles, methods, and applications for clinical research Jones&Bartlett Publishers.
23. World Health Organisation Recommendations for national SARS-CoV-2 testing strategies and diagnostic capacities. Interim guidance, Geneva, 2021 Available from: <https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/342002/WHO-2019-nCoV-lab-testing-2021.1-eng.pdf?sequence=1&isAllowed=y>.
24. Cao S, Gan Y, Wang C, et al. (2020) Post-lockdown SARS-CoV-2 nucleic acid screening in nearly ten million residents of Wuhan, China. Nat Commun 11: 5917. doi: 10.1038/s41467-020-19802-w
25. Day M (2020) Covid-19: four fifths of cases are asymptomatic, China figures indicate. BMJ 369: m1375. doi: 10.1136/bmj.m1375
26. Obi OC, Odoh DA (2021) Transmission of coronavirus (SARS-CoV-2) by presymptomatic and asymptomatic COVID-19 carriers: a systematic review. Eur J Med Educ Technol 1-7.
27. Maniaci A, Iannella G, Vicini C, et al. (2020) A case of COVID-19 with late-onset rash and transient loss of taste and smell in a 15-year-old boy. Am J Case Rep 21: e925813. doi: 10.12659/AJCR.925813
28. Li DTS, Samaranayake LP, Leung YY, et al. (2021) Facial protection in the era of COVID-19: a narrative review. Oral Dis 27: 665-673. doi: 10.1111/odi.13460
29. Rothe C, Schunk M, Sothmann P, et al. (2020) Transmission of 2019-nCoV Infection

from an asymptomatic contact in Germany. *N Engl J Med* 382: 970-971. doi: 10.1056/NEJMc2001468

30. Day M (2020) Covid-19: identifying and isolating asymptomatic people helped eliminate virus in Italian village. *BMJ* 368: m1165. doi: 10.1136/bmj.m1165

31. Lubrano R, Bloise S, Testa A, et al. (2021) Assessment of respiratory function in infants and young children wearing face masks during the COVID-19 pandemic. *JAMA Netw Open* 4: e210414. doi: 10.1001/jamanetworkopen.2021.0414

32. Jefferson T, Spencer EA, Brassey J, et al. (2021) Transmission of severe acute respiratory syndrome coronavirus-2 (SARS-CoV-2) from pre and asymptomatic infected individuals. A systematic review. *Clin Microbiol Infect* S1198–743X(21)00616–9.

33. Savvides C, Siegel R (2020) Asymptomatic and presymptomatic transmission of SARS-CoV-2: a systematic review. medRxiv .

34. Qiu X, Nergiz AI, Maraolo AE, et al. (2021) Defining the role of asymptomatic and pre-symptomatic SARS-CoV-2 transmission-a living systematic review. *Clin Microbiol Infect* 27: 511-519. doi: 10.1016/j.cmi.2021.01.011

35. Seifried J, Böttcher S, Oh DY, et al. (2021) Was ist bei Antigentests zur Eigenanwendung (Selbsttests) zum Nachweis von SARS-CoV-2 zu beachten? *Epidemiologisches Bull* 8: 3-9.

36. World Health Organisation WHO Information Notice for IVD Users 2020/05. Nucleic acid testing (NAT) technologies that use polymerase chain reaction (PCR) for detection of SARS-CoV-2, 2021 Available from: <https://www.who.int/news/item/20-01-2021-who-information-notice-for-ivd-users-2020-05>.

37. Strömer A, Rose R, Schäfer M, et al. (2020) Performance of a point-of-care test for the rapid detection of SARS-CoV-2 antigen. *Microorganisms* 9: 58. doi: 10.3390/microorganisms9010058

38. Iglói Z, Velzing J, van Beek J, et al. (2021) Clinical evaluation of Roche SD Biosensor rapid antigen test for SARS-CoV-2 in Municipal Health Service Testing Site, the Netherlands. *Emerg Infect Dis* 27: 1323-1329. doi: 10.3201/eid2705.204688

39. Bullard J, Dust K, Funk D, et al. (2020) Predicting infectious severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 from diagnostic samples. *Clin Infect Dis* 71: 2663-2666. doi: 10.1093/cid/ciaa638

40. Stang A, Robers J, Schonert B, et al. (2021) The performance of the SARS-CoV-2 RT-PCR test as a tool for detecting SARS-CoV-2 infection in the population. *J Infect* 83: 244-245. doi: 10.1016/j.jinf.2021.05.022

41. Platten M, Hoffmann D, Grosser R, et al. (2021) SARS-CoV-2, CT-values, and infectivity-conclusions to be drawn from side observations. *Viruses* 13: 1459. doi: 10.3390/v13081459
42. RWI – Leibniz-Institut für Wirtschaftsforschung Analysen zum Leistungsgeschehen der Krankenhäuser und zur Ausgleichspauschale in der Corona-Krise. Ergebnisse für den Zeitraum Januar bis Dezember 2020 Im Auftrag des Bundesministeriums für Gesundheit, Essen, 2021 Available from: https://www.bundesgesundheitsministerium.de/fileadmin/Dateien/3_Downloads/C/Coronavirus/Analyse_Leistungen_Ausgleichszahlungen_2020_Corona-Krise.pdf.
43. Kowall B, Standl F, Oesterling F, et al. (2021) Excess mortality due to Covid-19? A comparison of total mortality in 2020 with total mortality in 2016 to 2019 in Germany, Sweden and Spain. *PloS One* 16: e0255540. doi: 10.1371/journal.pone.0255540
44. Arons MM, Hatfield KM, Reddy SC, et al. (2020) Presymptomatic SARS-CoV-2 infections and transmission in a skilled nursing facility. *N Engl J Med* 382: 2081-2090. doi: 10.1056/NEJMoa2008457
45. Seifried J, Böttcher S, von Kleist M, et al. (2021) Antigentests als ergänzendes instrument in der Pandemiebekämpfung. *Epidemiologisches Bull* 17: 3-14.
46. Kohn MA, Carpenter CR, Newman TB (2013) Understanding the direction of bias in studies of diagnostic test accuracy. *Acad Emerg Med* 20: 1194-1206. doi: 10.1111/acem.12255
47. Cheng HY, Jian SW, Liu DP, et al. (2020) Contact tracing assessment of COVID-19 transmission dynamics in Taiwan and risk at different exposure periods before and after symptom onset. *JAMA Intern Med* 180: 1156-1163. doi: 10.1001/jamainternmed.2020.2020
48. Madewell ZJ, Yang Y, Longini IM, et al. (2020) Household transmission of SARS-CoV-2: a systematic review and meta-analysis. *JAMA Netw Open* 3: e2031756. doi: 10.1001/jamanetworkopen.2020.31756
49. Gniazdowski V, Morris CP, Wohl S, et al. (2021) Repeat coronavirus disease 2019 molecular testing: correlation of SARS-CoV-2 culture with molecular assays and cycle thresholds. *Clin Infect Dis* 73: e860-e869. doi: 10.1093/cid/ciaa1616
50. Jefferson T, Spencer EA, Brassey J, et al. (2020) Viral cultures for COVID-19 infectious potential assessment - a systematic review. *Clin Infect Dis* ciaa1764. doi: 10.1093/cid/ciaa1764
51. Rao SN, Manissero D, Steele VR, et al. (2020) A systematic review of the clinical utility of cycle threshold values in the context of COVID-19. *Infect Dis Ther* 9: 573-586. doi: 10.1007/s40121-020-00324-3
52. Surkova E, Nikolayevskyy V, Drobniewski F (2020) False-positive COVID-19 results:

hidden problems and costs. *Lancet Respir Med* 8: 1167-1168. doi: 10.1016/S2213-2600(20)30453-7

53. Lühmann D (2020) Anlassloses Testen auf SARS-Cov-2. Für Personen, bei denen kein begründeter Verdacht auf eine Infektion vorliegt, ist die Aussagekraft eines einzelnen positiven Testergebnisses verschwindend gering. *KVH J* 9: 28-30. Available from: https://www.ebm-netzwerk.de/de/medien/pdf/ebm-9_20_kvh_journal_anlassloses-testen.pdf.

54. World Health Organisation Diagnostic testing for SARS-CoV-2. Interim guidance, Geneva, 2020 Available from: <https://apps.who.int/iris/handle/10665/334254>.

55. Kohmer N, Toptan T, Pallas C, et al. (2021) The comparative clinical performance of four SARS-CoV-2 rapid antigen tests and their correlation to infectivity in vitro. *J Clin Med* 10: 328. doi: 10.3390/jcm10020328

56. Mboumba Bouassa RS, Veyer D, Péré H, et al. (2021) Analytical performances of the point-of-care SIENNA™ COVID-19 Antigen Rapid Test for the detection of SARS-CoV-2 nucleocapsid protein in nasopharyngeal swabs: a prospective evaluation during the COVID-19 second wave in France. *Int J Infect Dis* 106: 8-12. doi: 10.1016/j.ijid.2021.03.051

57. Ioannidis JPA, Cripps S, Tanner MA (2020) Forecasting for COVID-19 has failed. *Int J Forecast* .

58. Larremore DB, Wilder B, Lester E, et al. (2021) Test sensitivity is secondary to frequency and turnaround time for COVID-19 screening. *Sci Adv* 7: eabd5393. doi: 10.1126/sciadv.abd5393

59. Gelfand AE, Wang F (2000) Modelling the cumulative risk for a false-positive under repeated screening events. *Stat Med* 19: 1865-1879. doi: 10.1002/1097-0258(20000730)19:14<1865::AID-SIM512>3.0.CO;2-M

60. Thompson ML (2003) Assessing the diagnostic accuracy of a sequence of tests. *Biostatistics* 4: 341-351. doi: 10.1093/biostatistics/4.3.341

61. Iacobucci G (2021) Covid-19: mass testing at UK universities is haphazard and unscientific, finds BMJ investigation. *BMJ* 372: n848. doi: 10.1136/bmj.n848

62. Ioannidis JPA (2021) Reconciling estimates of global spread and infection fatality rates of COVID-19: an overview of systematic evaluations. *Eur J Clin Invest* 51: e13554.