



## **Toelichting SARS-CoV-2 PCR**

**RIVM 12 oktober 2020**

### **Verloop van een SARS-CoV-2 besmetting**

Met SARS-CoV-2 besmetting bedoelen we hier een productieve infectie met het SARS-CoV-2 virus. Zodra SARS-CoV-2 virus een luchtwegcel heeft geïnfecteerd begint de productie van nieuwe SARS-CoV-2 virussen en worden nieuwe cellen geïnfecteerd die ook weer virus gaan produceren. De piek in virusproductie wordt bereikt rond het moment dat klachten van besmetting zich openbaren. Klachten ontstaan door de reactie van het menselijk lichaam op de besmetting. Door de afweerreactie van het menselijk lichaam neemt bij een normaal verlopende infectie de hoeveelheid geproduceerd virus vervolgens af. In dit proces worden geïnfecteerde cellen opgeruimd. Restanten van genetisch materiaal van het virus kunnen langere tijd in niet opgeruimde cellen aanwezig blijven terwijl er geen virus meer wordt geproduceerd. Een besmetting met SARS-CoV-2 virus leidt niet altijd tot het ontstaan van klachten. Dat hangt af van de mate van de reactie van het menselijk lichaam op de besmetting en de snelheid waarmee het menselijk lichaam geïnfecteerde cellen en virussen kan opruimen.

### **De PCR-test**

De PCR-test is wereldwijd de gouden standaard om besmettingen met SARS-CoV-2 virus aan te tonen. De PCR-test wordt op dit moment ook op monsters afgenomen in de GGD-teststraten als standaard gebruikt om vast te stellen of mensen met klachten die passen bij een acute luchtweginfectie besmet zijn met het SARS-CoV-2 virus.

De PCR-test is erg gevoelig, omdat hele kleine hoeveelheden genetisch materiaal van het SARS-CoV-2 virus in een monster van een patiënt zichtbaar gemaakt kunnen worden. Gedurende de test wordt het genetisch materiaal in verschillende reactierondes vermenigvuldigd. Afhankelijk van de hoeveelheid geïsoleerd genetisch materiaal kan het virus na een aantal reactierondes aangetoond worden. Het aantal reactierondes dat nodig is om het genetisch materiaal zichtbaar te maken wordt uitgedrukt in een cycle threshold (Ct)-waarde voor de meeste PCR-testen. Hoe hoger de Ct-waarde, hoe minder genetisch materiaal er bij aanvang van de PCR-test in het monster van de patiënt aanwezig was. Dit is geen absolute waarde voor de hoeveelheid virus maar slechts een indicatie. De Ct-waarde bij een bepaalde hoeveelheid virus kan verschillen, onder andere afhankelijk van welke PCR-test in een laboratorium gebruikt wordt, maar bijvoorbeeld ook hoe goed de neuskeelwat is afgenomen. Naast de PCR-test zijn er testen (onder andere de TMA en LAMP testen) in gebruik die op een andere manier het genetisch materiaal van het SARS-CoV-2 virus vermenigvuldigen maar geen Ct-waarde genereren. Uitgezonderd de beschouwing over Ct waarden geldt de beschouwing over de PCR-test in dit document ook voor deze technieken.

Voor het uitvoeren van de PCR-test wordt gebruik gemaakt van medische en andere laboratoria die een goed kwaliteitssysteem hebben (een ISO15189-accreditatie of vergelijkbaar). Een norm die niet alleen in Nederland, maar ook in andere landen worden toegepast. Daarnaast hebben deze laboratoria laten zien met testen van kwaliteitspanels van referentiemonsters, die door het RIVM geleverd worden, dat hun PCR-test workflows voldoen aan de hoogste standaard.

Om te bepalen of de PCR-test positief of negatief is hanteren sommige laboratoria een bepaalde Ct of andere afkapwaarde terwijl andere laboratoria geen afkapwaarde gebruiken, maar vermenigvuldigingscurves van genetisch materiaal van het virus beoordelen of een combinatie van beiden gebruiken. De keuze voor methode van beoordelen van een PCR-test wordt per laboratorium onderbouwd in de eigen validatie en gebruikte testalgoritmen en kan dus verschillen tussen laboratoria en gebruikte testen. Voor "laag-positieve" resultaten, een positieve signaal in de buurt van de detectiegrens van de PCR-test, geldt dat elk laboratorium een eigen algoritme heeft hoe hiermee om te gaan. Dit kan inhouden dat er een bevestigingstest gedaan wordt op hetzelfde materiaal of dat nieuw materiaal gevraagd wordt van enkele dagen later.

De PCR-test heeft een hoge gevoeligheid; het detecteert tussen de 1 tot 10 kopieën SARS-CoV-2 virus genetisch materiaal (RNA) per PCR-test. De PCR-test heeft ook een hoge specificiteit. Dit is van belang, omdat er ook andere virussen circuleren die luchtweginfecties veroorzaken met klachten die op die van COVID-19 lijken, zoals het rhinovirus en het influenzavirus. De SARS-CoV-2 PCR-test detecteert deze andere virussen niet. De SARS-CoV-2 PCR-test kan daarom de aanwezigheid van SARS-CoV-2 genetisch materiaal in een monster van een patiënt betrouwbaar detecteren.

### **Hoe betrouwbaar is de SARS-CoV-2 PCR-test om een besmetting vast te stellen?**

De SARS-CoV-2 PCR-test is het meest betrouwbaar als mensen de meeste virusdeeltjes produceren. Dat is dus op de dag dat de klachten beginnen en een aantal dagen daarna. Mensen kunnen al positief zijn vlak voor de klachten beginnen. De klinische sensitiviteit, het percentage personen positief met de PCR-test van de werkelijk met SARS-CoV-2 virus besmette personen, wordt mede bepaald door tijdstip van afname van een monster ten opzichte van tijdstip dat mensen het virus hebben opgelopen, het type monster en door de kwaliteit van afname van een monster. Het meeste virus bij een acute infectie wordt gevonden in een gecombineerd neusmonster met keelmonster. Uitgaande van correct afgenomen monsters stijgt de sensitiviteit van 0% op moment van overdracht van het virus tot circa 30% 4 dagen later en 60% op moment van ontstaan klachten op dag 5 na besmetting. Daarna stijgt de sensitiviteit door tot circa 80% op dag 8 na besmetting waarna de sensitiviteit langzaam afneemt tot circa 30% 21 dagen na infectie. De afname van percentage PCR-test positief vanaf 8 dagen na besmetting hangt samen met genezing, klaring van de infectie. De percentages zijn mediane gegevens en kunnen tussen individuen verschillen. De klinische specificiteit, percentage negatief met de PCR-test als iemand niet besmet, wordt hoog

ingeschat. Dat betekent dat het percentage positief met de PCR-test als iemand niet besmet is, zogenaamde foutief positieve uitslag, laag is.

#### Foutief positieve uitslagen

Het vaststellen van het aantal foutief positieve uitslagen kan alleen gebeuren als personen met een positieve PCR-test vervolgd worden en er geen enkele andere aanwijzing gevonden wordt die een besmetting met SARS-CoV-2 bewijst. Dat kan met een tweede PCR-test op een ander monstertype, een aantal dagen later. Omdat dit niet systematisch gebeurt kan niet gezegd worden hoe het aandeel foutief positieven zich ontwikkelt. Wel is bekend dat het aandeel foutief positieven bij deze PCR-test erg laag ligt vanwege drie redenen: 1) de SARS-CoV-2 PCR-test kent een hoge technische specificiteit, 2) het SARS-CoV-2 virus komt momenteel frequent voor in de samenleving en 3) het beleid is dat je alleen bij corona-gerelateerde klachten laat testen. De schattingen van experts verschillen, maar veelal wordt aangenomen dat het percentage foutief positieven nu maximaal 1% bedraagt. Dit lage percentage is belangrijk, omdat we betrouwbare cijfers nodig hebben om de aanwezigheid van het SARS-CoV-2 virus te monitoren. En omdat we willen voorkomen dat mensen onnodig in thuisquarantaine moeten. Thuisquarantaine is nodig om het virus niet verder te laten verspreiden door personen waarbij een besmetting met de PCR-test is vastgesteld.

#### Besmet versus besmettelijk

Het feit dat uit een PCR-test blijkt dat genetisch materiaal van het SARS-CoV-2 virus in de luchtwegen te vinden is, en je dus besmet bent, betekent niet automatisch dat je op het moment van detectie van het genetisch materiaal ook besmettelijk voor anderen bent, het SARS-CoV-2 virus kunt overdragen aan een ander personen die daardoor ook besmet raakt. Het is bekend dat delen van het genetisch materiaal van het SARS-CoV-2 virus weken in de keel of neus kan achterblijven, nadat iemand de besmetting al heeft doorgemaakt. We weten ook dat de besmettelijkheid in sterke mate samenhangt met de aanwezigheid van klachten als neusverkoudheid en hoesten, omdat hierbij druppeltjes en aerosolen worden geproduceerd waarin zich besmettelijk virus bevindt. Die kunnen bij inademen door een ander persoon tot besmetting leiden. Daarom wordt momenteel geadviseerd dat mensen zich alleen laten testen als er dergelijke klachten zijn. Echter, iemand die contact heeft gehad met een Covid-19 patiënt maar geen klachten heeft, kan in de dagen daarop wel klachten ontwikkelen en alsnog bijdragen aan verspreiding van het virus. Ook daarom is quarantaine belangrijk. Of iemand besmettelijk is, en dus het SARS-CoV-2 virus kan overdragen, zou in het laboratorium bepaald kunnen worden door een PCR positief monster te kweken op levende cellen. Echter, dat duurt 1 tot 2 weken en moet in een laboratorium met hoog veiligheidsniveau (BSL-3) gebeuren, waardoor dit niet in grote aantallen getest kan worden. Er zijn maar weinig laboratoria die deze capaciteit routinematig beschikbaar hebben. Daarom geldt als vuistregel dat zolang de PCR-test aangeeft dat er virus genetisch materiaal detecteerbaar aanwezig is, iemand zeer waarschijnlijk ook besmettelijk is. Elke persoon die een besmetting met SARS-CoV-2 doormaakt en geneest passeert het stadium dat er nog weinig rest virus genetisch materiaal detecteerbaar is en dan niet meer besmettelijk is. Luchtwegklachten zijn

dan vaak ook al verdwenen. In de teststraten worden in de regel personen in dat stadium van COVID-19 niet bemonsterd. Voor de diagnostiek in de teststraten is dat dus geen probleem.

Op dit moment is nog niet bekend bij hoeveel infectieuze virusdeeltjes in een monster van een patiënt iemand besmettelijk is, wat de precieze correlatie is tussen hoeveelheid virus genetisch materiaal in een monster en hoeveelheid infectieus virus en daarmee dus ook niet in hoeverre de hoogte van een Ct-waarde correleert met de mate van besmettelijkheid van een persoon. Ook zijn de Ct-waarden tussen verschillende testsystemen van verschillende fabrikanten en verschillende laboratoria niet volledig vergelijkbaar. We weten uit onderzoek dat er een relatie is tussen de hoogte van een Ct-waarde en de kans dat het lukt om het virus uit een besmet persoon te kweken, maar we kennen niet de precieze relatie tussen kweekbaarheid en mate van besmettelijkheid.

Kortom, bij klachten in combinatie met een positieve PCR-test gaan we er vooralsnog vanuit dat iemand ook besmettelijk voor anderen is.

### **Referenties**

Aanvullende informatie diagnostiek Covid-19 <https://lci.rivm.nl/covid-19/bijlage/aanvullend>

Bonten, NTVG <https://www.ntvg.nl/artikelen/covid-19-een-fout-positieve-pcr-testuitslag/volledig>

Kucirka LM, Lauer SA, Laeyendecker O, Boon D, Lessler J. Variation in False-Negative Rate of Reverse Transcriptase Polymerase Chain Reaction-Based SARS-CoV-2 Tests by Time Since Exposure. *Ann Intern Med.* 2020;173(4):262-267. doi:10.7326/M20-1495