

Duale Hochschule Baden-Württemberg - CAS

Forschungsprojektarbeit 1

Optimierung von Testkapazitäten durch PCR-Pooling

Studiengang Wirtschaftsinformatik

Verfasser(in):	Daniel Jacobi
Matrikelnummer:	8041730
Firma:	Volksbank Backnang eG
Abteilung:	Marktfolge Aktiv - Firmenkunden
Kurs:	Wirtschaftsinformatik
Studiengangsleiter:	Prof. Dr. Martin, Prof. Dr. Kessel
Wissenschaftliche(r) Betreuer(in):	Prof. Dr. Martin
Firmenbetreuer(in):	Herr Stephan Denz
Bearbeitungszeitraum:	14.12.2021 – 14.02.2022

Inhaltsverzeichnis

Abbildungsverzeichnis	ii
Kurzfassung (Abstract)	iii
1 Einleitung	1
1.1 Problemstellung	1
1.2 Zielsetzung und Forschungsfrage	2
1.3 Abgrenzung	3
2 Das PCR Verfahren	4
2.1 Übersicht der Covid19-Teststrategie	4
2.2 Beschreibung des PCR-Verfahrens	5
3 PCR-Pooling	6
3.1 Parameter und Kenngrößen	6
3.2 Umgang mit dem Ergebnis	7
3.3 Ermittlung des Erwartungswertes	10
3.4 Optimierung der Poolgröße	12
4 Ausblick und Potenziale	15
4.1 Komplexe Poolingmethoden	15
4.2 Betriebliche Implementierung	16
5 Ergebnis	18
Literaturverzeichnis	21

Abbildungsverzeichnis

3.1	Pooling benötigt für drei negative Personen nur ein Test ¹	7
3.2	Ein positiven Pool kann die positive Person nicht identifizieren ²	7
3.3	Überlappende Pools ³	8
3.4	Mehrere Positivfälle ⁴	9
3.5	Überlappende Pools ⁵	9
3.6	Effizienz eines negativen Pools ⁶	10
3.7	Effizienz eines positiven Pools ⁷	11
3.8	Effizienz unterschiedlicher Poolgrößen nach Prävalenz ⁸	13
3.9	Effizienz eines Pools mit drei Personen nach Prävalenz ⁹	14
4.1	Zweidimensionaler Pool mit einer positiven Probe ¹⁰	15

Kurzfassung (Abstract)

Deutsch

Die vorliegende Arbeit hat zum Ziel, die Effizienz der PCR-Analyse durch Pooling der Proben zu erhöhen. Beantwortet werden soll die Frage, ob sich die Effizienz des PCR-Verfahrens durch Pooling stark genug steigern lässt, um eine wirtschaftliche Alternative für das Einsatzgebiet von Schnelltests zu bieten? Weiter wird untersucht, wie eine PCR-basierte Teststrategie im betrieblichen Umfeld realisiert werden könnte.

Erläutert wurden zunächst Methoden für die Testung und Grundlegende Konzepte des Poolings. Es wurde die Effizienzsteigerungspotenzial durch Pooling aufgezeigt und errechnet. Auf dieser Basis wurden PrePrints mit weitergehenden Poolingkonzepten analysiert, um zu prüfen ob diese weiteres Steigerungspotenzial bieten.

Ergebnis...

Englisch

The aim of this research paper is to increase the efficiency of PCR analysis by pooling samples. The question to be answered is whether the efficiency of the PCR process can be increased strongly enough by pooling to offer an economical alternative for the application of rapid tests? Further, it will be investigated how a PCR-based testing strategy could be realized in an operational environment.

Methods for testing and basic concepts of pooling were first explained. The potential for efficiency gains through pooling was shown and calculated. On this basis, PrePrints with more advanced pooling concepts were analyzed to see if they offer further potential for increase.

1 Einleitung

1.1 Problemstellung

Die Covid19-Pandemie existiert zum Zeitpunkt dieser Arbeit seit über 2 Jahren. Mit unterschiedlichsten Maßnahmen wird versucht, die weitere Ausbreitung einzudämmen und die Kapazitäten des Gesundheitssystems nicht zu überlasten. Neben Impfungen und Masken zählen auch Einschränkungen des öffentlichen Lebens und die Nachverfolgung von Infektionsketten zu den ergriffenen Maßnahmen.¹

Ein elementarer Baustein der Pandemiestrategie ist zudem die Massentestung der Bevölkerung auf Infektion mit SARS-CoV2. Hierbei erfolgt die anlasslose Massentestung üblicherweise mit Antigen-Schnelltests, während Verdachtsfälle über PCR-Tests überprüft werden.² Unternehmen testen ihre Mitarbeitern, um Infektionen frühzeitig zu erkennen und eine Verbreitung zu vermeiden. Der Nachweis einer negativen Testung ist - alternativ zu einer Immunisierung - Voraussetzung für die Teilnahmen an vielen Bereichen des öffentlichen Lebens.³

Die Genauigkeit der Schnelltests ist allerdings oftmals nicht ausreichend. Die Zulassungsstudien der Schnelltests zeigen sehr große Unterschiede in der Qualität. (Hersteller) erkennt selbst bei geringer Viruslast XX Prozent der Infektionen (Hersteller) dagegen zeigt selbst bei sehr hoher Virenlast nur XX Prozent der Infizierten richtig an.⁴

Im Frühjahr 2022 wurde die Kapazität für PCR-Testungen durch die stark gestiegenen Infektionszahlen überschritten. Deshalb wurde die Möglichkeit für PCR-Testungen im Januar 2022 stark eingeschränkt.⁵ Das qualitativ hochwertigere PCR-Verfahren steht seitdem nur noch zur Überprüfung eines positiven Antigen-Schnelltests zur Verfügung. Diese erkennen allerdings wie oben ausgeführt nicht alle Infektionen, sodass viele Personen von einer Erkennung durch PCR ausgeschlossen sind.

¹(Quelle Verordnung)

²(Quelle Verordnung)

³(Quelle Verordnung)

⁴Zerforschung Jan 2022

⁵Quelle neue Testverordnung

1.2 Zielsetzung und Forschungsfrage

*"In most laboratories, the screening capacity is limited by the number of PCR reactions that can be performed in a day. It is, therefore, desirable to maximize the number of samples that can be tested per reaction."*⁶

Im Laufe der Pandemie wurden von vielen Forschungsgruppen und Laboren Methoden entwickelt, um PCR-Pooling durchzuführen. Diese machen es möglich, Patienten gemeinsam zu testen und Analysekapazitäten einzusparen. Ziel der Arbeit ist es, die Kosten einer PCR-Testung zu senken und vorhandene Laborkapazitäten effizienter zu nutzen. Hierfür soll das PCR-Poolingmethoden betrachtet werden.

Die Arbeit hat zum Ziel, die folgenden **Forschungsfragen** zu beantworten:

- **Lässt sich die Effizienz des PCR-Verfahren durch Pooling stark genug steigern, um eine wirtschaftliche Alternative für das Einsatzgebiet von Schnelltests zu bieten?**
- **Wie könnte eine PCR-basierte Teststrategie im betrieblichen Umfeld realisiert werden?**

Die Hypothese der Arbeit ist, dass PCR durch Pooling effizienter sein kann als Schnelltests. Hierfür soll überprüft werden, wie sich die Kosten des PCR-Verfahrens durch Pooling entwickeln. Geprüft werden soll deshalb die Tauglichkeit für eine Massentestung. Hierbei ist vor allem ein geringer Preis ausschlaggebend.

Diese Hypothese dieser Arbeit wird als bestätigt betrachtet, wenn das PCR-Pooling bei vergleichbaren Kosten wie ein Schnelltest eine höhere Erkennungsrate bietet.

⁶Viehweger Z21-23

1.3 Abgrenzung

Um dem Umfang dieser Arbeit gerecht zu werden, mussten einige Einschränkungen an den Modellen getroffen und weitergehende Ansätze ausgelassen werden. Diese werden hier kurz aufgeführt und an geeigneter Stelle in der Arbeit als Ausblick erwähnt.

- **Einsatzgebiet**

Das gewünschte Einsatzgebiet ist der Ersatz von Schnelltests anlasslose Massentestung geeignet ist. Die Überprüfung von Verdachtsfällen ist als Anwendungsfall zu trennen. Hierdurch ist mit für PCR unüblich niedrigen Prävalenzen zu rechnen. Um sich mit Schnelltests messen zu können, ist es notwendig die Prioritäten der PCR-Methode ähnlich festzulegen. Für die Ziele dieser Arbeit ist es somit erforderlich, große Pools zu bilden um die notwendige Kostenreduzierung zu erreichen. Durch die bereits diskutierte niedrige Erkennungsrate vieler Schnelltests, kann auch beim PCR-Pooling ein Verlust an Genauigkeit akzeptiert werden. Die Kostenoptimierung steht hierbei im Vordergrund, sodass einige falsch-negative Ergebnisse akzeptabel sein können. Aus Gründen der Sicherheit und Geschwindigkeit sollten Personen mit Symptomen durch klassische Einzeltests verifiziert werden.

- **Fehlerhafte Testergebnisse und Fehlanwendung**

Der Umgang mit fehlerhaften Ergebnissen wird in Kapitel 3.2 und Kapitel 4.2 theoretisch diskutiert. Mögliche Fehlerquoten fanden allerdings keinen Einzug in die Berechnungsmodelle für die Optimierung. Basierend auf den Empfehlungen in Kapitel 4.2 in Verbindung mit den Parametern welche in Kapitel 3.4 für die Optimierung verwendet werden, ist keine unüblich hohe Fehlerquote zu erwarten.

- **Veränderungen der PCR-Zyklen durch Pooling**

Da gepoolte Proben verwässert sind, müssen für einige Methoden weitere PCR-Zyklen eingeplant werden. Die Effizienz aller betrachteten Methoden würde um ungefähr 10 Prozent niedriger ausfallen. Dies wurde in den Modellen nicht berücksichtigt.

- **Potenzial durch mehrstufige Testung**

Bei Testumgebungen in denen hohe Prävalenzen zu erwarten sind, kann eine mehrstufige Testung sinnvoller als eine Einzelnachtestung sein.

- **Potenzial durch komplexere Poolingmethoden**

Komplexere Poolingmethoden haben das Potenzial die Effizienz des Poolings nochmal signifikant zu steigern.

2 Das PCR Verfahren

2.1 Übersicht der Covid19-Teststrategie

Rapid-Antigen-Schnelltest eignen sich durch geringe Kosten und schnelle Ergebnisse für eine Massentestung auf Bevölkerungsebene.¹ Ihre Qualität unterscheidet sich allerdings deutlich zwischen den Herstellern.² Die Quote von falsch-positiven Ergebnissen ist sehr niedrig, was für eine Massentestung auf Bevölkerungsebene essentiell ist.³ Die Probe ist hierbei nach Entnahme nur 60min stabil,⁴ sodass die Auswertung vor Ort erfolgen muss. Ein positiver Schnelltest ist Voraussetzung für die Teilnahme am PCR-Verfahren.⁵

Das **PCR-Verfahren** ist seit vielen Jahren der Standard in der Forensik⁶ und im Nachweis von Viruserkrankungen. Es bietet eine hohe Erkennungsrate und ist für geschultes Personal relativ einfach durchführbar. Notwendig sind allerdings spezielle Geräte, weshalb die Tests üblicherweise nicht vor Ort sondern in Laboren durchgeführt werden. Die eigentliche Testzeit von 4-5 Stunden wird hierdurch um den Transportweg der Proben verlängert.

Cartridge-Based-NAAT ist ein Verfahren, welches mit zu PCR vergleichbarer Präzision bereits 60 Minuten ein Ergebnis liefert. Es nutzt Einweg-Container für die Proben jedes Patienten, welche durch ein vollautomatisches Diagnosegerät verarbeitet werden. Der hohe Automatisierungsgrad soll die Reduzierung von Kosten und Fehlern ermöglichen. Die Methode wurde wenige Jahre vor der Pandemie gegen Tuberkulose entwickelt und zwischenzeitlich auf den neuen Virustyp angepasst.⁷

IgG Antigen Tests messen durch eine Blutentnahme den Spiegel der neutralisierenden Antikörper. Das Verfahren wird zur Erkennung einer vergangenen Infektion und zur Kontrolle der Impfwirksamkeit eingesetzt. Zur Diagnostik einer akuten Infektion ist es nicht geeignet, weshalb es für diese Arbeit keine Relevanz hat.⁸

¹Quelle tägliche Kosten Test

²Zerforschung / Schnelltesttest

³Quelle Bayessches Theorem

⁴Quelle Schnelltest nur 60min stabil

⁵Quelle Verordnung

⁶Quelle Forensik PCR

⁷60min bis ergebnis, Sens 80-80, Spez 90-95 Quelle Auskommentiert

⁸Quelle IgG Antikörper / Paper von Lenz-Website

2.2 Beschreibung des PCR-Verfahrens

Das PCR-Verfahren (polymerase-chain-reaction) hat zum Ziel, das Vorhandensein einer Gensequenz in einer Probe nachzuweisen. Im Zusammenhang mit der Pandemie wird versucht, die Gensequenz von SARS-CoV2 in der Speichelprobe eines Patienten nachzuweisen, was auf eine akute Infektion hindeuten würde.⁹

Funktionsweise des Verfahrens

Die Probe wird hierfür nach der Entnahme zunächst in einer Flüssigkeit gelöst, welche Proteine und Fette auflöst.¹⁰ Hierdurch wird in einer positiven Probe die Hülle des Virus aufgelöst, sodass dessen RNA frei in der Flüssigkeit treibt. Die Flüssigkeit wird dann in mehreren Zyklen erhitzt und abgekühlt. Durch das Erhitzen verliert der DNA-Doppelstrang seine Wasserstoffbrückenbindung und löst sich zu zwei RNA-Einzelsträngen.¹¹ Diese liegen anschließend einzeln vor und können nach dem Abkühlen von der RNA-Polymerase wieder zu einem Doppelstrang vervollständigt werden.¹²

Parameter des Verfahrens

Die DNA-Menge wird hierdurch in jedem Zyklus verdoppelt. Ziel dieser Polymerase-Kettenreaktion ist es, die Ziel-DNA durch genug Zyklen so lange zu vermehren, bis eine messbare Menge vorliegt. Die Anzahl der Zyklen wird dabei als ct-Wert angegeben. Eine gängige Zyklenanzahl sind XX Verdopplungsschritte, wobei nicht immer eine exakte Verdopplung stattfindet.¹³

Das gesamte Verfahren benötigt im Falle von SARS-CoV2 üblicherweise vier bis fünf Stunden bis genug Genmaterial für den Nachweis vorliegt.¹⁴ Die Erkennungsrate (Sensitivität) des Verfahrens liegt bei XX Prozent.¹⁵

⁹Quelle Interpretation

¹⁰Quelle Trägerflüssigkeit

¹¹Quelle Auswirkung erhitzen

¹²Quelle Polymerase

¹³Quelle ct Wert

¹⁴Quelle Dauer

¹⁵Quelle Sensitivität PCR

3 PCR-Pooling

3.1 Parameter und Kenngrößen

Die **Prävalenz** ist die Quote, mit welcher eine Krankheit in einer Bevölkerungsgruppe auftritt.¹ Sie ist ähnlich dem Konzept der Inzidenz, welche sich auf die Gesamtbevölkerung bezieht. Bei einer anlassbezogenen Testung werden meist deutlich höhere Prävalenzen beobachtet. Gemäß RKI-Wochenbericht sind zwischenzeitlich über 40 Prozent der PCR-Tests positiv.²

Das PCR-Verfahren ist darauf ausgelegt, geringe DNA-Mengen zu einer nachweisbaren Menge zu vermehren. Die Verwässerung der Probe ist deshalb bis zu einem gewissen Punkt unproblematisch für den Nachweis. Hierdurch wird ein **Pooling** von mehreren Testpersonen möglich. Die Proben der Patienten werden zunächst zu einem Pool zusammengefasst und anschließend gemeinsam getestet.

Das Verfahren funktioniert grundsätzlich auch bei hoher Verdünnung. Die Erkennungsrate sinkt hierbei allerdings. Eine Grenze bis zu welchem Punkt das Verfahren funktioniert, gibt es nicht. Das Verfahren verliert mit zunehmender **Verwässerung** stufenlos an Genauigkeit. Abgewogen werden muss deshalb zwischen Präzision und Kostenersparnis.

Eine Poolgröße von bis zu 20 Personen ist laut Viehweger "comfortable above the detection rate"³ Andere Gruppe halten Poolgrößen von bis zu 90 Personen für akzeptabel.⁴ Es ist zu beachten, dass bei größeren Pools mehr Verdopplungsschritte notwendig sind, um dieselbe Virenmenge in der Probe zu erhalten. Beim Pooling von 16 Personen liegt beispielsweise eine um 2^4 niedrigere Virenlast vor. Deshalb müssen 4 weitere Zyklen eingeplant werden.⁵

¹Leon Gordis S37

²RKI Wochenbericht

³Vieweger v1

⁴Quelle 2 Pooling Verwässerung

⁵Vieweger v1

3.2 Umgang mit dem Ergebnis

- Ein **Negatives Poolergebnis** bedeutet, dass **jede Einzelprobe negativ** war. Es wurde somit durch einen Test festgestellt, dass alle Personen im Pool negativ sind.
- Ein **Positives Poolergebnis** bedeutet, dass **mindestens eine Einzelprobe positiv** war. In diesem Fall müssen weitere Tests durchgeführt werden, um die positiven Einzelpersonen zu ermitteln.

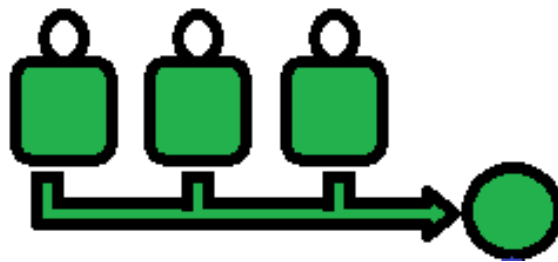


Abbildung 3.1: Pooling benötigt für drei negative Personen nur ein Test⁶

Unklare Ergebnisse

Durch Pooling besteht das Risiko, dass die Ergebnisse nicht für alle Testpersonen eindeutig interpretiert werden können. Wie häufig dies der Fall ist und welcher Anteil der Testgruppe nachuntersucht werden muss, ist abhängig von den gewählten Parametern.

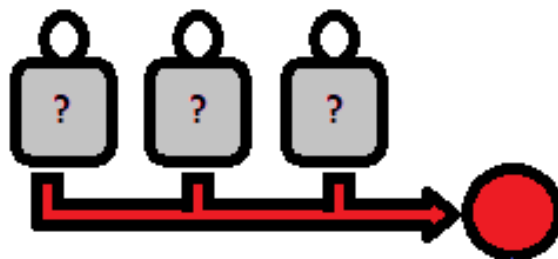


Abbildung 3.2: Ein positiven Pool kann die positive Person nicht identifizieren⁷

Hierdurch werden **Nachtestungen** der betroffenen Personen notwendig. Die Tests erfolgen hierbei nacheinander und sind statistisch unabhängig voneinander. Manche Methoden erfordern sogar mehrere sequenzielle Nachtestungen.

⁶Eigene Darstellung

⁷Eigene Darstellung

Um Nachtestungen zu ermöglichen, müssen die Proben ausreichend Substanz für mehrere Testungen enthalten. Durch die erneute Testung verlängert sich der Zeitraum, bevor für alle Testpersonen das Ergebnis fest steht. Dies kann abhängig von der Situation in welcher der Test benötigt wird nicht akzeptabel sein.

Beim ersten Poolingdurchlauf muss darauf geachtet werden, die Proben untereinander nicht zu kontaminieren. Eine Verunreinigung der Originalproben würde eine spätere Nachtestung unmöglich machen.

Um eine **Kontamination** durch das Pooling zu verhindern, sollte die komplette Matrix vor dem Pooling einmal dupliziert werden. Die für den aktuellen Test notwendigen Proben werden hierbei entnommen und im Duplikat gepoolt. Für diesen Duplikationsschritt gibt es spezialisierte Laborgeräte, sodass dies in einem Arbeitsschritt für alle Proben durchgeführt werden kann - teilweise sogar automatisiert.⁸

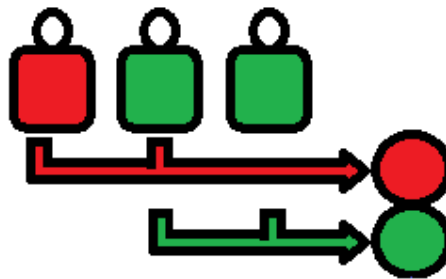


Abbildung 3.3: Überlappende Pools⁹

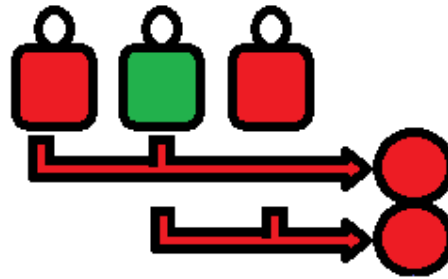
Überlappende Pools

Um das Problem der Nachtestungen zu lösen, kann man mehrere überlappende Tests durchführen. Aus der Kombination der Ergebnisse ist es theoretisch möglich, die infizierte Person zu triangulieren.

Schwierig wird es hierbei, wenn mehrere Personen innerhalb der Testgruppe positiv sind. Die positiven Tests lassen sich dann nicht mehr exakt einer Person zuordnen.

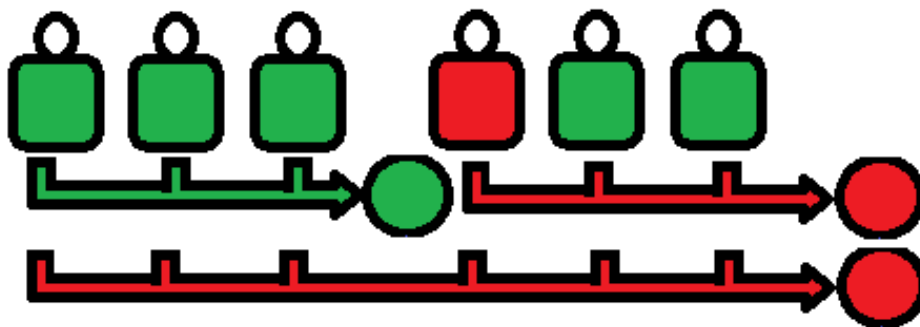
⁸<https://www.genengnews.com/wp-content/uploads/2019/07/Eppendorf.jpg>

⁹Eigene Darstellung

Abbildung 3.4: Mehrere Positivfälle¹⁰

Das Ergebnis in Abbildung X.X legt nahe, dass die mittlere Person infiziert ist. Beide Pools fallen positiv aus und nur die mittlere Person ist Teil beider Testgruppen. Für diese Person wäre es somit naheliegend ein falsch-positives Ergebnis mitzuteilen.

Die Kosten der Testung erhöhen sich zudem für alle Testgruppen, da durch diese Strategie für die erste Testrunde bereits zwei Tests notwendig sind, um eine Testgruppe von drei Personen abzubilden.

Abbildung 3.5: Überlappende Pools¹¹

Weitere Schwierigkeiten ergeben sich, wenn für Personen gemischte Ergebnisse vorliegen. In Abbildung X.X sind bei den drei Personen der rechten Testgruppe beide Pooltests positiv ausgefallen. In dieser Gruppe sind höchstwahrscheinlich eine oder mehrere Personen infiziert und die Gruppe muss nachgetestet werden.

Bei den Personen der linken Gruppe liegt allerdings ein positives und ein negatives Ergebnis vor. Theoretisch kann durch das negative Ergebnis ausgeschlossen werden, dass eine Person dieser Gruppe infiziert ist. In der Praxis ist allerdings kein Test 100 Prozent zuverlässig. Für

¹⁰Eigene Darstellung

¹¹Eigene Darstellung

diese Personen liegt somit ein positiver Pool vor und das Negativergebnis könnte fehlerhaft sein. Testet man nun zur Sicherheit nochmal alle?

Die **sicherste Variante** wäre, alle Personen nachzutesten die Teil eines positiven Pools waren. Hierdurch wäre der Mehrwert durch das Pooling allerdings schnell verloren. Abhängig vom Anwendungsfall kann es dagegen akzeptabel sein, einige Infektionen nicht zu erkennen. Dies ist bei anlasslosen Massentestungen der Fall sein in denen kein Negativzertifikat ausgestellt wird. Die Kostenoptimierung steht hierbei im Vordergrund, sodass **einige falsch-negative Ergebnisse akzeptabel** sein können.

In der Praxis sollte meist ein Mittelweg gewählt werden. Dieser könnte beispielsweise sein, alle mutmaßlich negativen Personen einer Testgruppe in einem gemeinsamen Pool nachzutesten. Dieser Pool hat damit eine erwartete Prävalenz von null und sollte immer negativ ausfallen. Hierdurch kann ermittelt werden, ob beim ersten Durchlauf Fehler passiert sind und Personen übersehen wurden. Sollte dieser Pool positiv werden, müssen alle Teilnehmer einzeln nachgetestet werden. Hierdurch werden bereits drei sequenzielle Durchläufe notwendig. Die Übermittlung des Testergebnisses wird hierdurch stark verzögert, was ebenfalls Probleme verursachen kann.

3.3 Ermittlung des Erwartungswertes

Als **Effizienz** einer Poolingmethode wird nachfolgend der Multiplikator bezeichnet, welcher gegenüber Einzeltestungen erzielt werden kann.¹² Diese ist Abhängig von der Größe der Testgruppe und der Anzahl der Tests die erforderlich sind, um den Infektionsstatus jeder Person zu klassifizieren. Die Effizienz lässt sich somit beschreiben als $\frac{\text{AnzahlTestpersonen}}{\text{AnzahlTests}}$.

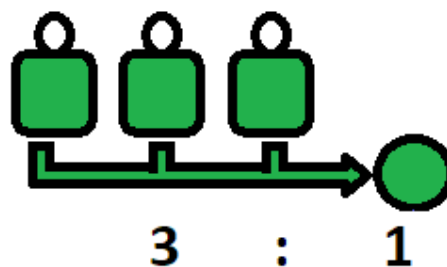


Abbildung 3.6: Effizienz eines negativen Pools¹³

¹²Quelle Wörtlich Viehweger Einleitung

Im bestmöglichen Fall ist die gesamte Testgruppe nicht infiziert. Hierdurch fallen im ersten Durchlauf alle Tests negativ aus und die gesamte Testgruppe kann als negativ markiert werden. Im Beispiel der Abbildung X.X ergibt sich eine Effizienz von 3,0.

Bei einem positiven Pool wird zunächst ein Pooltest benötigt und danach ein Einzeltest für jede Person. Die Effizienz lässt sich somit beschreiben als $\frac{\text{AnzahlTestpersonen}(N)}{1\text{Pooltest} + N\text{Einzeltests}}$. Für Abbildung X.X liegt die Effizienz damit bei 0,75 und ist schlechter, als wenn direkt einzeln getestet worden wäre.

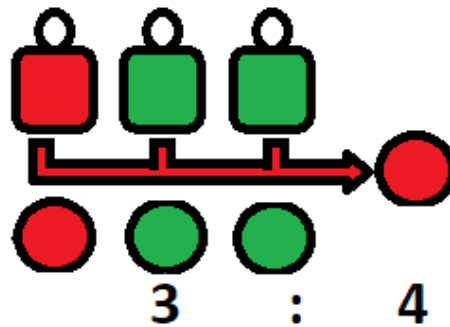


Abbildung 3.7: Effizienz eines positiven Pools¹⁴

Der **Erwartungswert für die Effizienz** kann als Kennzahl für die Bewertung von Teststrategien eingesetzt werden. Die benötigte Anzahl der Tests ist abhängig vom Ergebnis der Pooltests.

- **Alle Ergebnisse negativ:** Keine Nachtestungen. Effizienz 3,0.
- **Poolergebnis positiv:** Einzelne Nachtestungen. Effizienz 0,75.

Der Erwartungswert ergibt sich aus diesen beiden Szenarien, gewichtet nach ihrer Eintrittswahrscheinlichkeit. Die Wahrscheinlichkeit, dass jemand innerhalb der Testgruppe infiziert ist, hängt von der Prävalenz und der Größe der Testgruppe ab.

¹³Eigene Darstellung

¹⁴Eigene Darstellung

3.4 Optimierung der Poolgröße

Im vorherigen Kapitel wurde aufgezeigt, dass die Effizienz einer Poolingmethode von zwei Parametern abhängt. In Kombination ergeben diese beiden Werte die Wahrscheinlichkeit, mit welcher infizierte Personen innerhalb der Testgruppe sind.

- **Prävalenz** Hieraus ergibt sich die Wahrscheinlichkeit, mit der Personen infiziert sind. Bei der Durchführung von Tests ist die Prävalenz ein externer Faktor. Sie ist abhängig von der aktuellen Inzidenz und dem Anlass für die Testung.
- **Größe der Testgruppe** Diese kann vom Labor frei gewählt werden.

Dieser Zusammenhang ergibt die Funktion für den Erwartungswert:

$$\frac{\text{Personenzahl}}{(1 - (1 - \text{Prvalenz})^{\text{Personenzahl}}) \cdot (\text{Personenzahl} + 1) + ((1 - \text{Prvalenz})^{\text{Personenzahl}}) \cdot 1)}$$

Effizienzkurven

Für jede gegebene Prävalenz, lassen sich durch Auswahl der Personenanzahl unterschiedliche Verläufe der Effizienzkurve erreichen. Die Anzahl der Personen pro Pool sollte deshalb anhand der Prävalenz gewählt werden, um den Erwartungswert zu maximieren.

Der Erwartungswert(Personenzahl, Prävalenz) lässt sich auch als Graph darstellen. Wenn man eine der Variablen als Rahmenbedingung festsetzt, lässt sich der andere Wert gemeinsam mit der Effizienz als Diagramm zeichnen.

Inzidenz	Prävalenz	Personenzahl	Effizienz
35	0,00035	54	26,9
50	0,00050	45	22,5
100	0,00100	32	15,9
250	0,00250	21	10,1
2.000	0,02	8	3,6
10.000	0,10	4	1,7
25.000	0,25	3	1,1

Tabelle 3.1: Effizienzsteigerungspotenzial¹⁵

¹⁵Eigene Darstellung. Eine vollständige Gegenüberstellung in tabellarischer Form ist im Anhang dargestellt.

Darstellung nach Prävalenz

In Abbildung X.X wird die Personenanzahl vorab auf 4, 8 und 16 festgesetzt. Der Erwartungswert in Abhängigkeit der Prävalenz dargestellt. Zu erkennen ist, dass höhere Personen-zahlen bei niedrigen Prävalenzen die Effizienz enorm steigern können. Wenn die Prävalenz allerdings steigt, werden die großen Pools schnell anfällig für Nachtestungen und verlieren so überproportional an Effizienz.

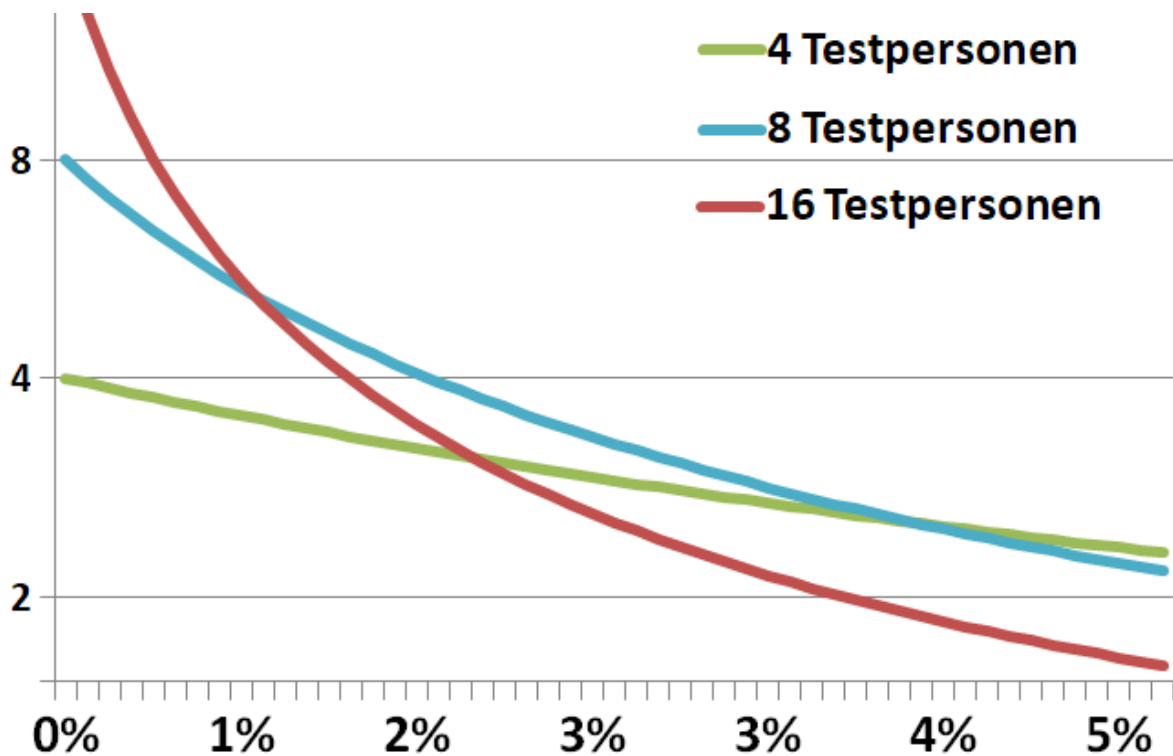


Abbildung 3.8: Effizienz unterschiedlicher Poolgrößen nach Prävalenz¹⁶

¹⁶Eigene Darstellung

Darstellung nach Testgröße

Alternativ zur Darstellung nach Poolgröße kann auch die Prävalenz als gegeben festgesetzt werden. In Abbildung X.X wird hierfür jedes Prävalenzniveau als eigener Graph dargestellt. Das Optimum für die aktuelle Prävalenz liegt hierbei immer am Hochpunkt. Die Poolgröße und hieraus resultierende Effizienz kann direkt auf den Achsen abgelesen werden.

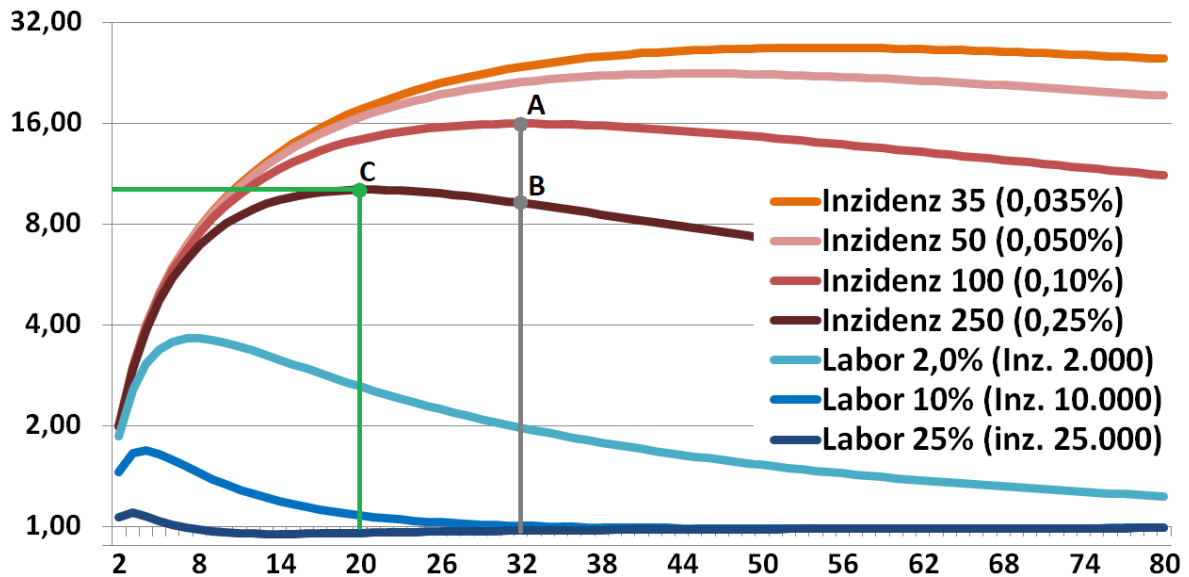


Abbildung 3.9: Effizienz eines Pools mit drei Personen nach Prävalenz¹⁷

Punkt A

Die bisherige Inzidenz lag bei 100. Das Pooling an Punkt A war mit 32 Personen effizient und erreichte einen Faktor von 15,93.

Punkt B

Wenn die Inzidenz sich auf 250 erhöht, sinkt die Effizienz bei unveränderten Poolgröße auf Punkt B. Die Effizienz ist nur noch 9,24.

Punkt C

Für das neue Inzidenzniveau bei 250 kann das Pooling optimiert werden, indem die Poolgröße auf 20 gesenkt wird. Dies bewirkt eine Linksverschiebung entlang der 250-Linie zu Punkt C. Hier kann eine Effizienz von 10,12x erwartet werden.

¹⁷Eigene Darstellung

4 Ausblick und Potenziale

4.1 Komplexe Poolingmethoden

Mehrdimensionale Pools haben das Ziel, durch Überlappung der Pools den Bedarf einer Nachtestung bei einzelnen Positivfällen zu minimieren. Die Testpersonen werden in einer $A \times B$ -Matrix angeordnet. Die Proben werden dann für jede Spalte und jede Reihe gepoolt. Allgemein formuliert lässt sich sagen: Testbedarf pro Person = $\frac{A+B}{A \cdot B}$

	Pool-A1	Pool-A2	Pool-A3	Pool-A4
Pool-B1	Probe11	Probe12	Probe13	Probe14
Pool-B2	Probe21	Probe22	Probe23	Probe24
Pool-B3	Probe31	Probe32	Probe33	Probe34
Pool-B4	Probe41	Probe42	Probe43	Probe44

Abbildung 4.1: Zweidimensionaler Pool mit einer positiven Probe¹

Für eine Testgruppe von 16 Personen, welche in einer 4×4 Matrix angeordnet sind, werden somit $4+4$ Tests benötigt. Die Effizienz läge bei 2,0 wenn alle Personen negativ getestet werden. Vergleichen mit dem eindimensionalen Poolingmethoden klingt das zunächst nicht nach sehr viel. Allerdings ist diese Methode robust gegen einzelne Positivfälle. Dies kann bei hohen Prävalenzen einen Vorteil bietet, da nicht alle Testpersonen erneut getestet werden müssen. Zwei Positivfälle lassen sich beispielsweise mit nur vier Nachtestungen auflösen. Hieraus ergibt sich, dass 16 Personen mit $8+4$ Tests aufgelöst wurden. Die Methode behält also selbst bei zwei positiven Proben eine Effizienz von 1,33 und verspricht damit deutlich robuster gegen hohe Prävalenzen zu sein.

Viehweger beschreibt eine Poolingmethode, um bei einer Prävalenz von 2 Prozent noch eine Effizienzsteigerung um den Faktor 5,0 zu erreichen.² Die in dieser Arbeit beschriebene Methode kommt hier nur auf einen Erwartungswert von 3,6. Für die Überprüfung von Verdachtsfällen mit hohen Prävalenzen, sollten deshalb diese komplexeren Poolingmethoden geprüft werden.

¹Eigene Darstellung

²Viehweger Z14

4.2 Betriebliche Implementierung

Pooling im Unternehmen

Das Pooling wird bei diesem Ansatz von Mitarbeitern des Unternehmens durchgeführt. Das Labor muss nicht einmal zwangsläufig wissen, dass Pooling durchgeführt wird. Abhängig vom Grad der Verwässerung sollte diese Information allerdings mitgeteilt werden, um die Anzahl der Zyklen zu erhöhen.

Von einer Probenverarbeitung im Unternehmen birgt mehrere Risiken, welche durch eine Auswertung im Labor vermieden werden können.

- **Unsachgemäße Handhabung**

Für Mitarbeiter besteht ein Ansteckungsrisiko und die Proben könnten durch fehlerhafte Verarbeitung kontaminiert oder zerstört werden.

- **Effiziente Verarbeitung**

Im Labor stehen geeignete Geräte und erfahrenes Personal zur Verfügung. Durch die Routine können eine höhere Geschwindigkeit und Qualität erreicht werden.

Eine Verarbeitung im Unternehmen wird deshalb grundsätzlich nicht empfohlen. Unternehmen mit der Möglichkeit ein vollwertiges Labor einzurichten, sind hiervon ausgenommen.

Pooling im Labor

Beim Pooling im Labor werden im Unternehmen nur die Proben entnommen, beschriftet und an das Labor gesendet. Hierdurch wird Arbeitsaufwand an das Labor verlagert und es wird ein Labor benötigt, welches das Pooling anbietet. Das Pooling wird hierdurch von medizinisch geschultem Personal mit angemessenen Werkzeugen durchgeführt. Eine Durchführung des Poolings im Labor wird deshalb empfohlen.

Organisation im Unternehmen

Bei der Auswahl der Poolgröße muss auf die Praktikabilität von Logistik und Organisation geachtet werden.

Bei Einführung des Systems könnte man allen Mitarbeitern Klebetiketten mit personalisiertem Barcode zusenden. Wenn die Person an einer Testung teilnimmt, bringt sie den Codeaufkleber mit und dieser wird auf das Teströhrchen geklebt. Die Tests werden gesammelt an das Labor gesendet und dort ausgewertet. Zurück übermittelt werden die Testergebnisse nach Barcodenummer. Die Ergebnisse können vom Unternehmen über die Nummer einer Person zugeordnet werden. Personenbezogene Daten verlassen nach diesem System nicht das Unternehmen. Zur Ermittlung von Kontaktpersonen könnten Abteilungen herangezogen werden oder die Mitarbeiter pflegen die Kontaktlisten selbst.

Die Probenentnahme muss von einer geschulten Person beaufsichtigt werden, um Fehlanwendung und Missbrauch zu verhindern. Hierfür gibt es in vielen Betrieben bereits Personal, welches für die Beaufsichtigung der 3G-Nachweise zugelassen ist.³ Die Abfallmenge ließe sich durch reinigungsfähige Glasröhrchen und einen Flüssigkeitsbehälter gering halten.

Ausstellung von Zertifikaten

In den Corona-Verordnungen wird unterschieden zwischen Schnelltests und PCR-Tests. Mit dem Nachweis eines negativen PCR-Tests ist es möglich, Zutritt zu Veranstaltungen und Geschäften zu erhalten. Der Gesetzgeber trennt hierbei klar zwischen den präzisen PCR-Tests und ungenauen Schnelltests.⁴ Es ist anzunehmen, dass der Gesetzgeber hierbei kein oder nur ein schwaches Pooling eingerechnet hat.

Durch das Pooling großer Gruppen, könnte die Erkennungsgenauigkeit des PCR-Tests reduziert sein. In diesen Fällen sollten nur Schnelltest-Bescheinigungen an die negativ getesteten Personen ausgestellt werden.

Test⁵

³§XXXX

⁴Verordnung PCR Schnelltest

⁵Testmann et al., 2015.

5 Ergebnis

Erkenntnisse der Arbeit

Zusammenfassend kann aus der Forschungsarbeit abgeleitet werden:

- **Pooling** Das PCR-Verfahren kann genutzt werden, um mehrere Proben gemeinsam zu testen.
- **Einfache Poolingmethoden** Bereit durch einfache Poolingmethoden mit Nachtestung im Falle eines positiven Pools kann eine deutliche Effizienzsteigerung gegenüber der PCR-Einzeltestung erreicht werden.
- **Komplexe Poolingmethoden** Durch komplexere Analysen und mehrdimensionale Testgruppen kann eine signifikante Effizienzsteigerung gegenüber einfachen Poolingmethode erreicht werden. Insbesondere bei hohen Prävalenzen kann durch komplexe Poolingmethoden ein signifikanter Effizienzgewinn erreicht werden.
- **Potenzial** Das Effizienzsteigerungspotenzial durch Pooling hängt direkt von der Prävalenz der Testgruppe ab. Das Potenzial ist bei geringer Prävalenz besonders hoch.
- **Testort** Vor Ort im Unternehmen sollte nur die Probenentnahme durchgeführt werden. Hintergrund hier sind die effizienteren Methoden und das geschulte Personal, welchen in Laboren zur Verfügung steht.
- **Verzögerung** PCR basierte Verfahren liefern zwangsläufig ein späteres Ergebnis als Schnelltests
- **Erkenntnis**
 - CBNAAT könnte perspektivisch PCR ersetzen. Es liefert Ergebnisse schneller und automatisierter. Seine Funktionsweise ist zu PCR ähnlich genug um dieselben Poolingmethoden zu ermöglichen.
 - Die Nachtestung kann durch mehrstufiges Pooling optimiert werden.
 - Die Zulassungsstudien der Schnelltests zeigen große Unterschiede in deren Qualität.

- Begrenzender Faktor der Testkapazitäten sind die Reaktionen welche im Labor durchgeführt werden.
- Für massentestung geringe falsch-positiv Quote essentiell
- Übliche Zyklenanzahl XX / Weitere für Pooling
- PCR-Ergebnis nach 4-5 Stunden / Sensitivität XX Prozent
- Bei Verdachtsüberprüfung über 40 Positiv. Mit den hier betrachteten Methoden kein Pooling sinnvoll.
- Verwässerung kein Problem. PCR ist darauf ausgelegt geringe DNA-Menge zu vermehren und nachzuweisen. Poolgröße 20 sicher. Bis XX akzeptabel.
- Unklare Ergebnisse werden durch Nachtestung der betroffenen Personen überprüft.
- Kontamination der Proben muss verhindert werden um Nachtestung zu ermöglichen.
- Vergleich Teststrategien mit Erwartungswert für die Effizienz. Effizienz gibt an, wie viele Personen für eine gegebene Menge der knappen Resource "PCR-Kapazitäten" getestet werden können.
- Wahrscheinlichkeit eines positivfalles im Pool hängt von Prävalenz und Poolgröße ab. Pools so groß wie möglich wählen, aber klein genug dass die Positivwahrscheinlichkeit im Rahmen bleibt. Bei niedrigen Prävalenzen können große Pools gebildet und die Effizienz stark gesteigert werden. Bei höheren Prävalenzen müssen diese Pools aber zu häufig nachgetestet werden.

Fazit zu den Forschungsfrage

Lässt sich die Effizienz des PCR-Verfahren durch Pooling stark genug steigern, um eine wirtschaftliche Alternative für das Einsatzgebiet von Schnelltests zu bieten?

Die Hypothese der Arbeit ist, dass PCR durch Pooling effizienter sein kann als Schnelltests. Hierfür soll überprüft werden, wie sich die Kosten des PCR-Verfahrens durch Pooling entwickeln. Geprüft werden soll deshalb die Tauglichkeit für eine Massentestung. Hierbei ist vor allem ein geringer Preis ausschlaggebend.

Diese Hypothese dieser Arbeit wird als bestätigt betrachtet, wenn das PCR-Pooling bei vergleichbaren Kosten wie ein Schnelltest eine höhere Erkennungsrate bietet.

Wie könnte eine PCR-basierte Teststrategie im betrieblichen Umfeld realisiert werden? Da die primäre Hypothese in Kapitel XX widerlegt wurde, entfällt die Relevanz für die Erarbeitung einer umfassenden betrieblichen Teststrategie. Trotzdem bleibt festzuhalten, dass das PCR-Verfahren in der Schwerpunkttestung eine erhöhte Zuverlässigkeit gegenüber Schnelltests bietet. Anstelle einer umfassenden Implementierung werden deshalb Grundsätze für die Durchführung von PCR-Pooling diskutiert.

Literaturverzeichnis

Testmann, H., Demofrau, M. & Checker, E. (2015). Das Testen von Artikeln. *Int. Journal of Testing*, 5(2), 111–222.