

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 und Forschungsfragen	1
1.2 Abgrenzung	2
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	20
Anhang	
A Tabelle Optimale Testgrößen	22

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	11
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
A.1	Tabelle Optimale Testgrößen ¹¹	22

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 und Forschungsfragen

Zum Zeitpunkt dieser Arbeit wird seit über 2 Jahren versucht die Covid19-Pandemie einzudämmen und die Kapazitäten des Gesundheitssystems nicht zu überlasten. Ein elementarer Baustein ist hierbei 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.¹ Unternehmen testen ihre Mitarbeitern, um Infektionen frühzeitig zu erkennen und eine Verbreitung zu vermeiden. Der Nachweis einer negativen Testung ist zudem - alternativ zu einer Immunisierung - Voraussetzung für die Teilnahmen an vielen Bereichen des öffentlichen Lebens.² Die Genauigkeit der Schnelltests ist allerdings oftmals nicht ausreichend³ und weist sehr große Qualitätsunterschiede zwischen den Herstellern auf.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 nicht alle Infektionen, sodass viele Personen von einer Erkennung durch PCR ausgeschlossen sind. Hauptursache hierfür sind begrenzte Kapazitäten in den Laboren.

*"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.

¹Bundesjustizministerium, 2021.

²Landesjustizministerium Baden-Württemberg, 2022.

³Wagenhäuser et al., 2021.

⁴zerforschung, 2022.

⁵Landesjustizministerium Baden-Württemberg, 2022.

⁶Viehweger et al., 2020.

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?

1.2 Abgrenzung

Um dem Umfang dieser Arbeit gerecht zu werden, mussten Einschränkungen bei den Modellen und weitergehende Ansätzen getroffen werden. Hierdurch wurden vielversprechende Konzepte ausgelassen oder nur kurz erwähnt. Insbesondere bei hohen Prävalenzen - welche nicht primärer Teil dieser Arbeit sind - sollten diese Konzepte berücksichtigt werden.

Diese Konzepte werden hier aufgelistet und abgegrenzt. In der Arbeit werden sie erwähnt.

- **Parameter für die Beantwortung der ersten Forschungsfrage**

Die Hypothese der Arbeit ist, dass PCR durch Pooling kosteneffizienter sein kann als ein Schnelltest. Geprüft werden soll deshalb, ob PCR für eine Massentestung geeignet ist. Der Fokus liegt hierbei auf einem möglichst geringen Preis.

Die Hypothese könnte als bestätigt betrachtet werden, wenn durch PCR-Pooling vergleichbaren Kosten wie für ein Schnelltest erreichen kann. Die detaillierte Kostenstruktur für eine Testmethode ist allerdings von vielen Faktoren abhängig. Hierzu zählen neben der betrachteten Laboruntersuchung auch Raum- und Personalkosten für die Probenentnahme, Logistik und Materialkosten.

Die Kosten für die Testung variieren daher stark und sind abhängig vom Anbieter sowie den erbrachten Eigenleistungen im Unternehmen. Ein einheitlicher Preis kann aus diesem Grund nicht existieren und eine abschließende Kalkulation ist im Rahmen dieser Arbeit nicht möglich.

Für die Ziele der Arbeit ist es ausreichend zu prüfen, welcher Effizienzgewinn bei der Laboranalyse durch Pooling erreicht werden kann. Die Übertragung dieses Faktors in einen Geldbetrag und Interpretation der Kostenersparnis muss allerdings dem Leser überlassen bleiben und kann nur anhand der lokalen Marktangebote geschehen.

- **Abgrenzung des Einsatzgebiets**

Das gewünschte Einsatzgebiet der anlasslose Massentestung ist ein anderer Anwendungsfall als die Überprüfung von Verdachtsfällen. Es ist mit für PCR unüblich niedrigen Prävalenzen zu rechnen. Für die Ziele dieser Arbeit ist es somit erforderlich, große Pools zu bilden um die notwendige Kostenreduzierung zu erreichen. Aufgrund der Ungenauigkeit der Schnelltests, können einige falsch-negative Ergebnisse akzeptabel sein. Symptomatische Personen sollten weiter durch Einzeltests geprüft werden.

- **Keine Berücksichtigung fehlerhafter 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.

- **Weiteres Potenzial durch Pooling- und Nachtestungsmethoden**

Komplexere Poolingmethoden und mehrstufige Nachtestungen haben das Potenzial die Effizienz des Poolings nochmal signifikant zu steigern. Insbesondere bei hohe Prävalenzen liefern sie bessere Ergebnisse als die hier betrachteten Methoden.

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

¹Papenburg et al., 2022.

²zerforschung, 2022.

³Papenburg et al., 2022.

⁴Weishampel et al., 2022.

⁵Landesjustizministerium Baden-Württemberg, 2022.

⁶Weber und Wehrle, 1994.

⁷Kendall et al., 2021.

⁸Müller et al., 2021.

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 40 Verdopplungsschritte, wobei nicht immer eine exakte Verdopplung stattfindet.¹³ Für SARS-CoV2 sind selbst bei Pooling auch ct-Werte von 32-35 ausreichend.¹⁴

Das gesamte Verfahren benötigt im Falle von SARS-CoV2 üblicherweise vier bis fünf Stunden bis genug Genmaterial für den Nachweis vorliegt.¹⁵ Die Erkennungsrate (Sensitivität) des Verfahrens liegt bei über 95 Prozent.¹⁶

⁹Clewley, 1995.

¹⁰Clewley, 1995.

¹¹Weber und Wehrle, 1994.

¹²Weber und Wehrle, 1994.

¹³Clewley, 1995.

¹⁴Verwilt et al., 2021.

¹⁵Weber und Wehrle, 1994.

¹⁶Verwilt et al., 2021.

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

¹Gordis, 2001.

²Robert Koch-Institut, 2021.

³Viehweger et al., 2020.

⁴Verwilt et al., 2021.

⁵Viehweger et al., 2020.

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.

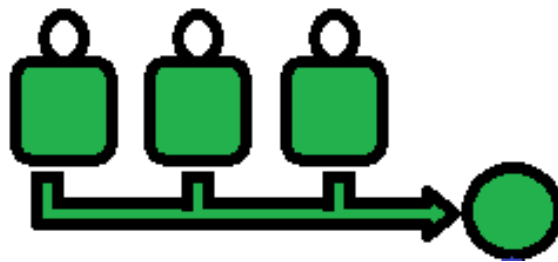


Abbildung 3.1: Pooling benötigt für drei negative Personen nur ein Test⁶

Unklare Ergebnisse

Durch Pooling besteht das Risiko, dass die Ergebnisse nicht für alle Testpersonen eindeutig interpretiert werden können.⁷ Wie häufig dies der Fall ist und welcher Anteil der Testgruppe nachuntersucht werden muss, ist abhängig von den gewählten Parametern.

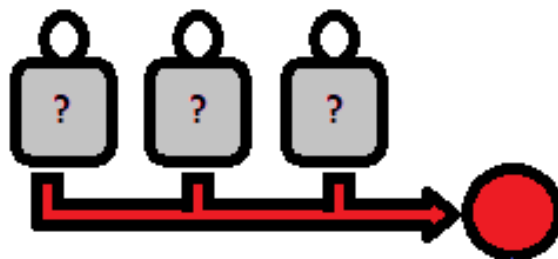


Abbildung 3.2: Ein positiven Pool kann die positive Person nicht identifizieren⁸

Hierdurch werden **Nachtestungen** der betroffenen Personen notwendig. Die Tests erfolgen hierbei nacheinander und sind statistisch unabhängig voneinander. Manche Methoden erfordern sogar mehrere sequenzielle Nachtestungen.⁹

⁶Eigene Darstellung

⁷Viehweiger et al., 2020.

⁸Eigene Darstellung

⁹Verwilt et al., 2021.

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.

Beim ersten Poolingdurchlauf muss darauf geachtet werden, die Proben untereinander nicht zu kontaminieren. Eine Verunreinigung der Originalproben würde eine spätere Nachtestung unmöglich machen.¹⁰ 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.¹¹

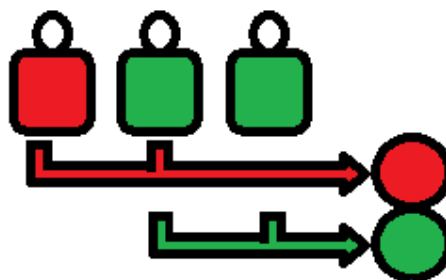


Abbildung 3.3: Überlappende Pools¹²

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.¹³

Schwierig wird es hierbei, wenn mehrere Personen innerhalb der Testgruppe positiv sind. Die positiven Tests lassen sich dann nicht mehr exakt einer Person zuordnen.¹⁴

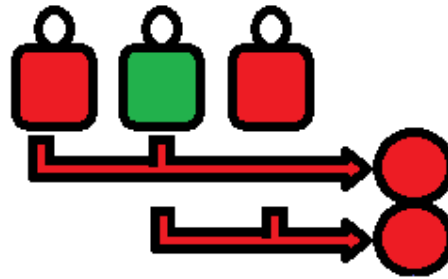
¹⁰Verwilt et al., 2021.

¹¹Kendall et al., 2021.

¹²Eigene Darstellung

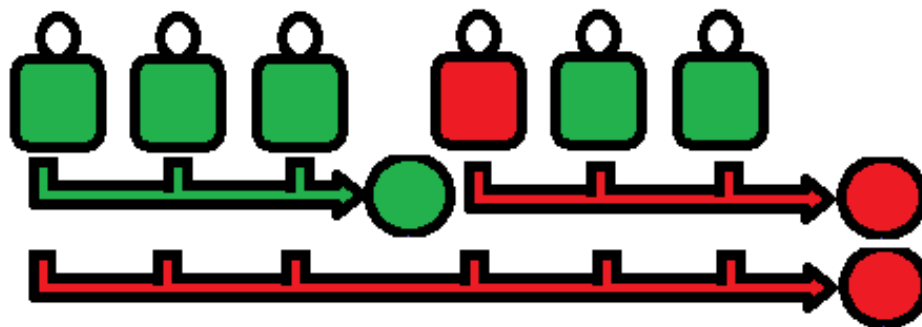
¹³Verwilt et al., 2021.

¹⁴Viehweger et al., 2020.

Abbildung 3.4: Mehrere Positivfälle¹⁵

Das Ergebnis in Abbildung 3.4 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 Pools¹⁶

Weitere Schwierigkeiten ergeben sich, wenn für Personen gemischte Ergebnisse vorliegen. In Abbildung 3.5 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.¹⁷ Für

¹⁵Eigene Darstellung

¹⁶Eigene Darstellung

¹⁷Verwilt et al., 2021.

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.¹⁸ 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.¹⁹

3.3 Ermittlung des Erwartungswertes

Als **Effizienz** einer Poolingmethode wird nachfolgend der Multiplikator bezeichnet, welcher gegenüber Einzeltestungen erzielt werden kann.²⁰ 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 $\frac{\text{AnzahlTestpersonen}}{\text{AnzahlTests}}$. 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 3.6 ergibt sich eine Effizienz von 3,0.

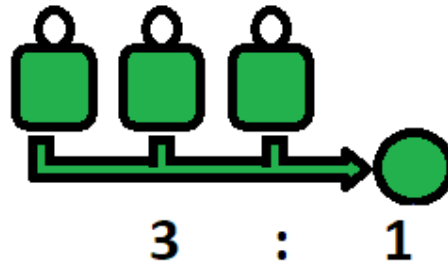
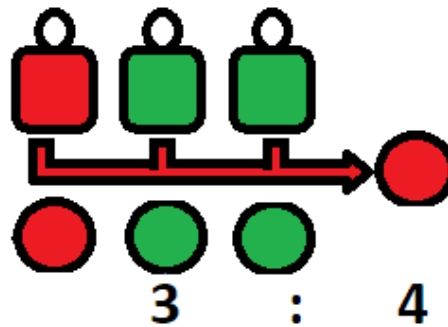
Bei einem positiven Pool wird zunächst ein Pooltest benötigt und danach ein Einzeltest für jede Person. Die Effizienz lässt sich somit beschreiben als $\frac{\text{AnzahlTestpersonen}(N)}{1\text{Pooltest}+N\text{Einzeltests}}$. Für Abbildung 3.7 liegt die Effizienz damit bei 0,75 und ist schlechter, als wenn direkt einzeln getestet worden wäre.

¹⁸Weishampel et al., 2022.

¹⁹Viehweiger et al., 2020.

²⁰Viehweiger et al., 2020.

²¹Eigene Darstellung

Abbildung 3.6: Effizienz eines negativen Pools²¹Abbildung 3.7: Effizienz eines positiven Pools²²

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.

²²Eigene 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: Effizienzsteigerungspotenzial²³

²³Eigene Darstellung, vollständige Tabelle im Anhang.

Darstellung nach Prävalenz

In Abbildung 3.8 wird die Personenanzahl vorab auf 4, 8 und 16 festgesetzt. Der Erwartungswert in Abhängigkeit der Prävalenz dargestellt. Zu erkennen ist, dass höhere Personenanzahlen 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.

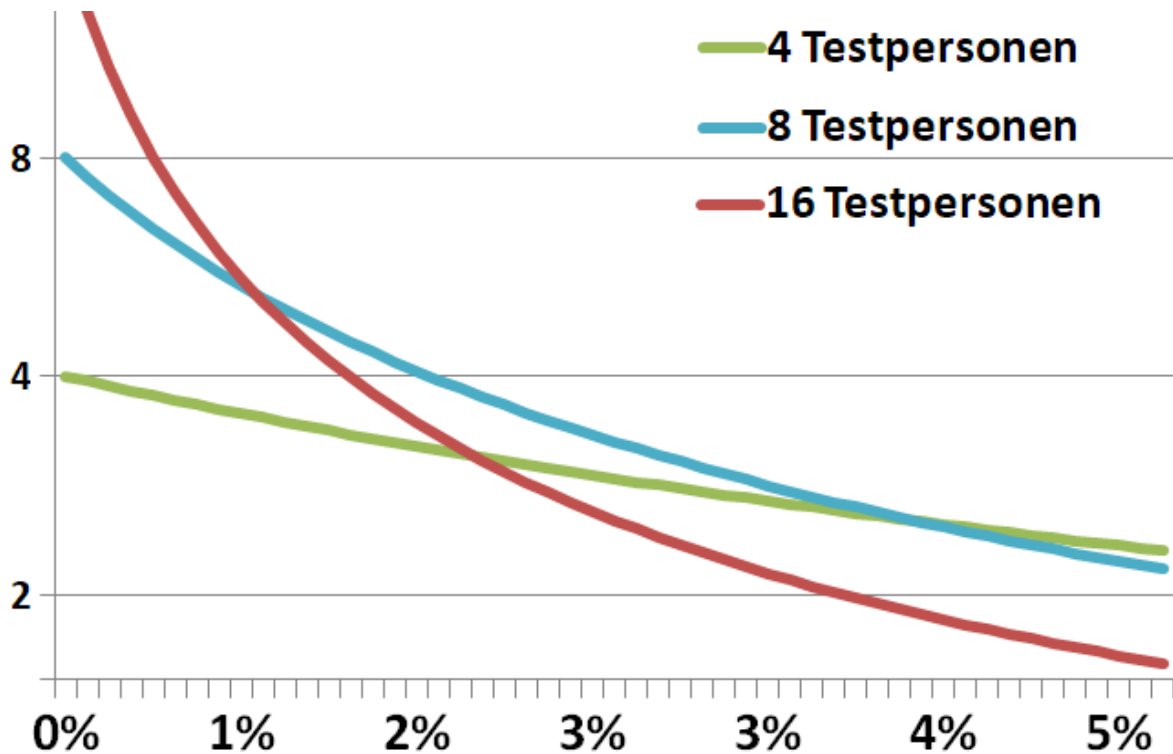


Abbildung 3.8: Effizienz unterschiedlicher Poolgrößen nach Prävalenz²⁴

²⁴Eigene Darstellung

Darstellung nach Testgröße

Alternativ zur Darstellung nach Poolgröße kann auch die Prävalenz als gegeben festgesetzt werden. In Abbildung 3.9 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.

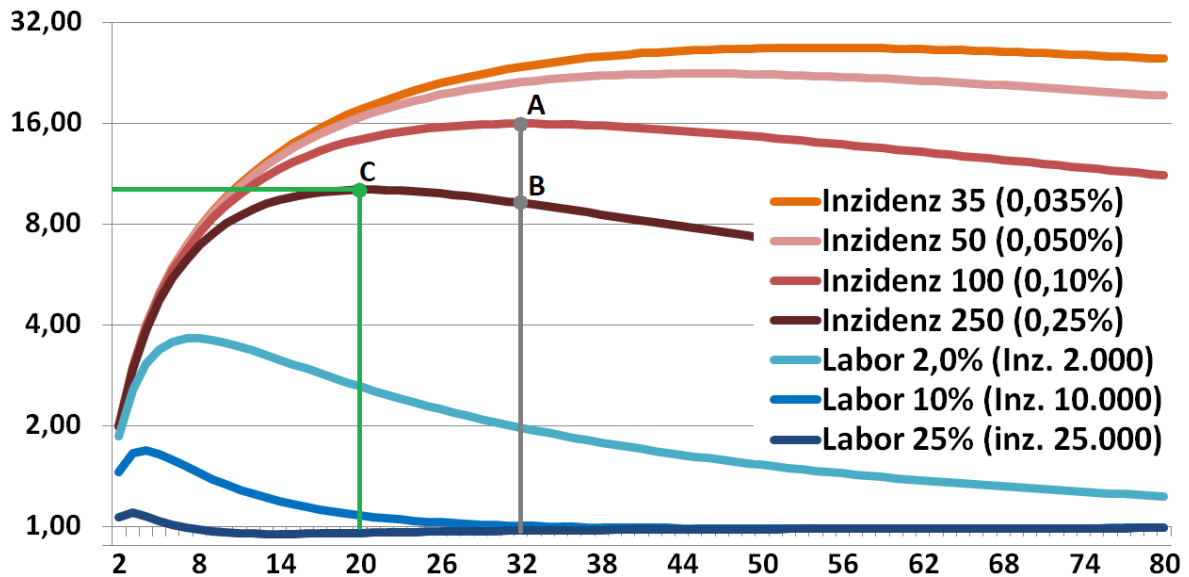


Abbildung 3.9: Effizienz eines Pools mit drei Personen nach Prävalenz²⁵

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.

²⁵Eigene 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 et al., 2020.

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.³

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.⁴ 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.

³Weber und Wehrle, 1994.

⁴Clewley, 1995.

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.⁵ 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.⁶ 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.⁷ In diesen Fällen sollten nur Schnelltest-Bescheinigungen an die negativ getesteten Personen ausgestellt werden.

⁵Bundesjustizministerium, 2021.

⁶Bundesjustizministerium, 2021.

⁷Verwilt et al., 2021.

5 Ergebnis

Erkenntnisse aus der Arbeit:

- **Anwendungsfall** Die Qualität der Schnelltests unterscheidet sich stark nach Hersteller und ist oft mangelhaft. Das PCR-Verfahren liefert im Labor nach 4-5 Stunden ein vergleichsweise sehr zuverlässiges Ergebnis. Begrenzender Faktor für mehr PCR-Tests sind fehlende Laborkapazitäten. Essentiell für jedes häufig genutzte Testverfahren ist, dass die falsch-positiv Quote sehr gering sein muss.
- **Pooling** Beim PCR-Verfahren können mehrere Proben gemeinsam getestet werden. Bereits durch einfache Poolingmethoden kann eine deutliche Effizienzsteigerung gegenüber der PCR-Einzeltestung erreicht werden. PCR ist darauf ausgelegt, geringe DNA-Menge zu vermehren und nachzuweisen. Verwässerung kein deshalb Problem. Eine Poolgröße von 20 Personen ist sicher und liefern über 95 Prozent Erkennungsrate. Bei etwas reduzierter Genauigkeit (80 Prozent) sind Pools mit dreistelligen Personen-zahlen möglich. Bei anlassbezogenen Tests ist die Prävalenz zu hoch für die hier betrachteten Pooling-Methoden. Die Effizienz gibt an, wie viele Personen pro Test getestet werden können. Sie ermöglicht den Vergleich zwischen Methoden.
- **Nachtestung** Unklare Ergebnisse werden durch Nachtestung der betroffenen Personen überprüft. Hierfür muss die Kontaminierung der Proben verhindert werden. Die Nachtestung von Pools erhöht die Zeitverzögerung des PCR-Verfahrens.
- **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.
- **Potenzial** Das Effizienzsteigerungspotenzial durch Pooling hängt direkt von der Prävalenz der Testgruppe ab. Das Potenzial ist bei geringer Prävalenz besonders hoch. Die Wahrscheinlichkeit einer Infektion in der Testgruppe hängt von der Prävalenz und Poolgröße ab. Bei niedrigen Prävalenzen können große Pools gebildet und die Effizienz stark gesteigert werden. Bei hohen Prävalenzen müssen die Pools kleiner sein, um Nachtestungen zu vermeiden.

- **Perspektiven** Über die Arbeit hinaus gibt es zahlreiche Optimierungsmöglichkeiten. **CBNAAT** könnte perspektivisch PCR ersetzen. Es liefert Ergebnisse schneller und automatisierter. Seine Funktionsweise ist zu PCR ähnlich genug um dieselben Poolingmethoden zu ermöglichen. Durch **komplexere Poolingmethoden** und mehrdimensionale Testgruppen kann eine signifikante Effizienzsteigerung gegenüber einfachen Poolingmethode erreicht werden. Insbesondere bei hohen Prävalenzen kann hierdurch ein signifikanter Effizienzgewinn erreicht werden. Die **Nachtestung** kann durch mehrstufiges Pooling optimiert 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?

Entsprechend der Hypothese der Arbeit ist das Pooling von Proben im PCR-Verfahren möglich und es lassen sich signifikante Steigerungspotenziale beobachten. Wichtig hierfür ist eine niedrige Prävalenz, wie sie bei anlasslosen Testungen und niedrigen Inzidenzen zu erwarten ist.

Bei Inzidenzwerten von 35 oder 50 - wie sie im Sommer 2021 zu beobachten - lässt sich die Effizienz um einen Faktor 22,5 oder 26,9 steigern. Selbst bei einer höheren Inzidenz von 250 lässt sich noch mehr als eine Verzehnfachung erreichen. Bei hohen Prävalenzen, wie sie in der Verdachtsfallüberprüfung vorkommen, kann mit den beobachteten Methoden kaum Effizienzgewinn erzielt werden. Hier sollten komplexere Poolingverfahren mit überlappenden Pools und mehrstufigen Nachtestungen betrachtet werden.

Ob das Verfahren damit kostengünstiger durchführbar ist als Schnelltests, muss entsprechend der Abgrenzung für den individuellen Anwendungsfall geprüft werden.

Wie könnte eine PCR-basierte Teststrategie im betrieblichen Umfeld realisiert werden?

Wie in Kapitel 4.2 ausgeführt, ist es sicherer und wirtschaftlicher das Pooling der Proben nicht im Unternehmen sondern im Labor durchzuführen. Hierdurch entfällt die Relevanz für eine umfassenden betrieblichen Implementierung. Die betriebliche Organisation beschränkt sich auf die Entnahme und Beschriftung der Proben, sodass diese ins Labor gesendet und ausgewertet werden können.

Literaturverzeichnis

- Bundesjustizministerium. (2021, 11. Oktober). *Coronavirus-Testverordnung*.
- Clewley, J. P. (1995). *The polymerase chain reaction (PCR) for human viral diagnosis*. CRC Press.
- Gordis, L. (2001). *Epidemiologie* (Dt. Erstausg.). Kilian.
- Kendall, E. A., Arinaminpathy, N., Sacks, J. A., Manabe, Y. C., Dittrich, S., Schumacher, S. G. & Dowdy, D. W. (2021). Antigen-based rapid diagnostic testing or alternatives for diagnosis of symptomatic COVID-19: A simulation-based net benefit analysis. *medRxiv*, 2020.12.16.20248357. <https://doi.org/10.1101/2020.12.16.20248357>
- Landesjustizministerium Baden-Württemberg. (2022, 9. Februar). *Corona-Verordnung Baden Württemberg*.
- Robert Koch-Institut. (2021, 25. November). *RKI-Bericht zu Testzahlen*. Robert Koch-Institut. Berlin. https://www.rki.de/DE/Content/InfAZ/N/Neuartiges_Coronavirus/Daten/Testzahlen-gesamt.html
- Müller, L., Andrée, M., Moskorz, W., Drexler, I., Walotka, L., Grothmann, R., Ptok, J., Hillebrandt, J., Ritchie, A., Rabl, D., Ostermann, P. N., Robitzsch, R., Hauka, S., Walker, A., Menne, C., Grutza, R., Timm, J., Adams, O. & Schaal, H. (2021). Age-dependent immune response to the Biontech/Pfizer BNT162b2 COVID-19 vaccination. *medRxiv*, 2021.03.03.21251066. <https://doi.org/10.1101/2021.03.03.21251066>
- Papenburg, J., Campbell, J. R., Caya, C., Dion, C., Corsini, R., Cheng, M., Menzies, D. & Yansouni, C. P. (2022). Adequacy of serial self-performed SARS-CoV-2 rapid antigen-detection testing for longitudinal mass screening in the workplace. *medRxiv*, 2022.02.10.22270805. <https://doi.org/10.1101/2022.02.10.22270805>
- Verwilt, J., Hellemans, J., Sante, T., Mestdag, P. & Vandesompele, J. (2021). Evaluation of efficiency and sensitivity of 1D and 2D sample pooling strategies for SARS-CoV-2 RT-qPCR screening purposes (PrePrint). *medRxiv - The PrePrint Server for Health Sciences*, (4). <https://doi.org/10.1101/2020.07.17.20152702>

- Viehweger, A., Kühnl, F., Brandt, C., König, B. & Rodloff, A. (2020). Increased PCR screening capacity using a multi-replicate pooling scheme (PrePrint). *medRxiv - The PrePrint Server for Health Sciences*, (2). <https://doi.org/10.1101/2020.04.16.20067603>
- Wagenhäuser, I., Knies, K., Rauschenberger, V., Eisenmann, M., McDonogh, M., Petri, N., Andres, O., Flemming, S., Gawlik, M., Papsdorf, M., Taurines, R., Böhm, H., Forster, J., Weismann, D., Weißbrich, B., Dölken, L., Liese, J., Kurzai, O., Vogel, U. & Krone, M. (2021). Clinical performance evaluation of SARS-CoV-2 rapid antigen testing in point of care usage in comparison to RT-qPCR (Elsevier, Hrsg.). *EBioMedicine*. <https://doi.org/10.1016/j.ebiom.2021.103455>
- Weber, R. & Wehrle, H. (1994). *PCR (Polymerase Kettenreaktion) im medizinischen und biologischen Labor : Handbuch für den Praktiker*. GIT-Verl. <https://www.gbv.de/dms/ohb-opac/156377519.pdf>
- Weishampel, Z. A., Young, J., Fischl, M., Fischer, R. J., Donkor, I. O., Riopelle, J. C., Schulz, J. E., Port, J. R., Saturday, T. A., van Doremalen, N., Berry, J. D., Munster, V. J. & Yinda, C. K. (2022). OraSure IntelliSwab® Rapid Antigen Test performance with the SARS-CoV-2 Variants of Concern Alpha, Beta, Gamma, Delta, and Omicron. *medRxiv*, 2022.02.02.22270254. <https://doi.org/10.1101/2022.02.02.22270254>
- zerforschung. (2022, 20. Januar). *zerforschung präsentiert: schnelltesttest.de*. Verfügbar 10. Februar 2022 unter <https://zerforschung.org/posts/schnelltesttest/>

A Tabelle Optimale Testgrößen

Inzidenz	35	50	100	250	2000	10000	25000
Prävalenz:	0,035%	0,050%	0,100%	0,250%	2,000%	10,000%	25,000%
Gruppengröße Erwartung							
2	2,00	2,00	1,99	1,98	1,85	1,45	1,07
3	2,99	2,99	2,97	2,93	2,55	1,65	1,10
4	3,98	3,97	3,94	3,85	3,05	1,68	1,07
5	4,96	4,94	4,88	4,71	3,38	1,64	1,04
6	5,93	5,89	5,79	5,51	3,56	1,57	1,01
7	6,88	6,83	6,67	6,24	3,64	1,50	0,99
8	7,82	7,75	7,52	6,90	3,646	1,44	0,98
9	8,75	8,65	8,33	7,50	3,61	1,38	0,97
10	9,66	9,52	9,09	8,02	3,53	1,33	0,96
11	10,55	10,37	9,82	8,47	3,45	1,29	0,95
12	11,43	11,20	10,50	8,86	3,35	1,25	0,95
13	12,28	11,99	11,13	9,18	3,25	1,22	0,95
14	13,10	12,75	11,72	9,45	3,15	1,19	0,95
15	13,91	13,49	12,26	9,66	3,05	1,16	0,95
16	14,69	14,19	12,76	9,83	2,95	1,14	0,95
17	15,44	14,86	13,21	9,95	2,86	1,12	0,95
18	16,17	15,50	13,62	10,04	2,77	1,10	0,95
19	16,87	16,11	13,99	10,09	2,69	1,09	0,95
20	17,55	16,68	14,32	10,118	2,62	1,08	0,96
21	18,20	17,22	14,62	10,119	2,54	1,07	0,96
22	18,82	17,73	14,88	10,10	2,47	1,06	0,96
23	19,42	18,21	15,10	10,06	2,41	1,05	0,96
24	19,99	18,66	15,29	10,00	2,35	1,04	0,96
25	20,53	19,07	15,46	9,93	2,29	1,03	0,96
26	21,04	19,46	15,59	9,86	2,24	1,03	0,96
27	21,53	19,82	15,70	9,77	2,19	1,02	0,96
28	21,99	20,15	15,79	9,67	2,14	1,02	0,97
29	22,43	20,46	15,85	9,57	2,09	1,01	0,97
30	22,84	20,74	15,90	9,46	2,05	1,01	0,97
31	23,23	20,99	15,92	9,35	2,01	1,01	0,97
32	23,59	21,22	15,934	9,24	1,97	1,00	0,97
33	23,93	21,43	15,929	9,13	1,93	1,00	0,97
34	24,25	21,61	15,91	9,01	1,90	1,00	0,97
35	24,54	21,78	15,88	8,89	1,87	1,00	0,97
36	24,81	21,92	15,83	8,78	1,84	0,99	0,97
37	25,07	22,05	15,78	8,66	1,81	0,99	0,97
38	25,30	22,15	15,72	8,54	1,78	0,99	0,97
39	25,51	22,24	15,65	8,43	1,75	0,99	0,98
40	25,70	22,32	15,57	8,31	1,73	0,99	0,98
41	25,88	22,38	15,48	8,20	1,70	0,99	0,98
42	26,04	22,42	15,39	8,09	1,68	0,99	0,98
43	26,18	22,46	15,30	7,98	1,66	0,99	0,98
44	26,31	22,476	15,20	7,87	1,63	0,99	0,98
45	26,42	22,484	15,10	7,77	1,61	0,99	0,98
46	26,52	22,481	14,99	7,66	1,60	0,99	0,98
47	26,60	22,47	14,88	7,56	1,58	0,99	0,98
48	26,67	22,44	14,77	7,46	1,56	0,99	0,98
49	26,73	22,41	14,65	7,36	1,54	0,99	0,98
50	26,77	22,37	14,54	7,27	1,52	0,99	0,98
51	26,81	22,33	14,42	7,17	1,51	0,99	0,98
52	26,83	22,27	14,30	7,08	1,49	0,99	0,98
53	26,846	22,21	14,18	6,99	1,48	0,99	0,98
54	26,850	22,14	14,06	6,90	1,46	0,99	0,98
55	26,84	22,07	13,94	6,81	1,45	0,99	0,98
56	26,83	21,99	13,82	6,73	1,44	0,99	0,98

Abbildung A.1: Tabelle Optimale Testgrößen¹

¹Eigene Darstellung