



Over de betrouwbaarheid van de PCR-test voor SARS-CoV-2

Analytische/technische betrouwbaarheid

De analytische/technische **sensitiviteit** van de PCR-test is dat deze tussen 1-10 kopieën genetisch materiaal van het SARS-CoV-2 in een PCR reactie detecteert (1, 10, 11). Dit weten we omdat bij validatie van de PCR-test de limiet van detectie wordt bepaald (3, 12).

De analytische/technische **specificiteit** van de PCR-test is dat deze alleen genetisch materiaal van het SARS-CoV-2 virus detecteert. Soms bevat een PCR-test nog een component, of alleen een component, die SARS virussen detecteert in de groep van SARS virussen waartoe SARS-CoV-2 behoort. Omdat alleen SARS-CoV-2 uit deze groep van SARS virussen in mensen voorkomt, is deze component voor diagnostiek in mensen ook specifiek voor SARS-CoV-2. De PCR-test detecteert dus geen andere virussen en bacteriën die klachten kunnen geven die lijken op die van COVID-19 of die bij mensen zonder klachten in de luchtweg kunnen voorkomen, zoals griepvirus, verkoudheidsvirus en *Chlamydia pneumoniae*. Dit weten we omdat bij validatie van de PCR-test heel uitgebreid de kruisreactiviteit van de PCR-test met deze virussen en bacteriën wordt uitgetest (3, 12).

Er is een **kwaliteitscontrole programma** wat vanuit de WHO referentielaboratoria in Nederland, gevestigd bij het RIVM en het Erasmus MC, de kwaliteit van de gebruikte PCR-testen in Nederlandse laboratoria bewaakt (13, 14). Deze kwaliteitscontrole betreft controle op zowel de analytische/technische sensitiviteit als de analytische/technische specificiteit van de uitgevoerde PCR-testen, inclusief de efficiëntie van extractie van genetisch materiaal van het virus uit klinische monsters. Verdere informatie over de PCR-test staat hier: <https://www.rivm.nl/coronavirus-covid-19/testen> (10).

Klinische betrouwbaarheid

De PCR-test bepaalt of een getest persoon genetisch materiaal van het SARS-CoV-2 bij zich heeft en daarmee of een persoon met het virus geïnfecteerd is. Een persoon die het SARS-CoV-2 virus bij zich heeft kan daar ziek van worden of niet. Het percentage van met SARS-CoV-2 geïnfecteerde personen wat ziek wordt is niet precies bekend; schattingen voor geen tot milde symptomen lopen uiteen van 5 tot 80% (5). Een recente meta-analyse geeft een samenvattend percentage voor asymptomatische infectie van 15.6% (95% CI, 10.1%-23.0%), waarbij er grote verschillen kunnen zijn tussen specifieke groepen SARS-CoV-2 positieve personen (4).

In het huidige document wordt geen onderscheid gemaakt tussen PCR-test positief en besmettelijk en PCR-test positief en niet besmettelijk. Een beschouwing hierover staat hier: https://www.rivm.nl/sites/default/files/2020-11/Toelichting%20PCR_RIVM.pdf (11).

De klinische betrouwbaarheid van de PCR-test is afhankelijk van een groot aantal factoren:

- De **analytische/technische sensitiviteit en specificiteit** van de PCR-test (zie hierboven)
- De hoeveelheid SARS-CoV-2 aanwezig in de bovenste luchtweg van iemand die geïnfecteerd is; het hoogst enkele dagen na infectie (ongeacht of de geïnfecteerde persoon symptomen krijgt) en houdt dan enkele dagen aan waarna het minder wordt doordat het lichaam het virus opruimt. De **vooraf-kans** op een positieve PCR-test is dus het hoogst als een persoon 2 tot 10 dagen na infectie wordt bemonsterd.
- De kwaliteit van het afgenomen monster om te testen met de PCR-test; het meest sensitief is om zowel een monster te nemen van de keel (orofarynx) en uit de neus (nasofarynx of tenminste hoog in de neus). Mensen die monsters afnemen worden getraind om dit goed te doen. De **vooraf-kans** op een positieve PCR-test is dus het hoogst als een persoon op een juiste manier wordt bemonsterd.
- Of een persoon symptomen heeft of niet; bij iemand met symptomen die passen bij COVID-19 is de **vooraf-kans** op een positieve PCR-test hoger dan bij een persoon die geen klachten heeft; vooral in de eerste dagen na ontstaan van symptomen. Symptomatisch testen versus asymptomatisch testen.
- Of een persoon enkele dagen voor het testen een hoge waarschijnlijkheid van besmetting heeft of niet; iemand die dicht bij een COVID-19 patiënt is geweest heeft een veel hogere **vooraf-kans** om PCR-test positief te worden dan iemand die willekeurig van de straat wordt 'geplukt'. Hoe langer een persoon dichtbij een COVID-19 patiënt is geweest hoe groter de **vooraf-kans** voor die persoon om PCR-test positief te worden. Screening met strikte casusdefinitie en bron en contactonderzoek versus algemene populatie screening.
- Hoe hoog de **prevalentie** is van circulatie van het virus; bij hoge prevalentie is de **vooraf-kans** dat bij een persoon het virus gedetecteerd wordt hoger dan bij een lage **prevalentie**. In het land kunnen er regionale verschillen in prevalentie zijn en daardoor dus ook verschillen in de **vooraf-kans** om PCR-test positief te worden.

Bovenstaande factoren bepalen de kans of een positieve PCR-test correct aangeeft of een geteste persoon het genetisch materiaal van het SARS-CoV-2 virus bij zich heeft en of een negatieve PCR-test correct aangeeft of de geteste persoon het genetisch materiaal van het SARS-CoV-2 virus niet bij zich heeft. Om daar vat op te krijgen worden een aantal grootheden gebruikt, **klinische sensitiviteit** en **klinische**

specificiteit en **positief voorspellende waarde** (PPV) en **negatief voorspellende waarde** (NPV) van de PCR-test en de afhankelijkheid van die grootheden van **prevalentie** en **vooraf-kans** om geïnfecteerd te zijn (13, 14).

De **klinische sensitiviteit** geeft de waarschijnlijkheid aan dat de PCR-test positief is als de geteste persoon COVID-19 heeft (% correct positief). Voor de SARS-CoV-2 PCR-test wordt deze op basis van analyse van veel publicaties geschat op **67 tot 98%** (2, 6, 7, 8, 9). Deze range is vooral het gevolg van de variatie in virusuitscheiding, type en juistheid van afgenomen monster en tijdstip van bemonstering bij een COVID-19 patiënt. Hier kan dus een **fout-negatief** resultaat voorkomen; in 2 tot 33% van personen met COVID-19.

De **klinische specificiteit** geeft de waarschijnlijkheid aan dat de PCR-test negatief is als de geteste persoon geen COVID-19 heeft (% correct negatief). Voor de SARS-CoV-2 PCR test wordt deze op basis van analyse van veel publicaties geschat op **96 tot 99.5%** (2, 6, 7, 8, 9). Deze range is vooral het gevolg van de analytische/technische specificiteit van de gebruikte PCR-testen. Hier kan dus een **fout-positief** resultaat voorkomen; in 0.5 tot 4% van personen zonder COVID-19.

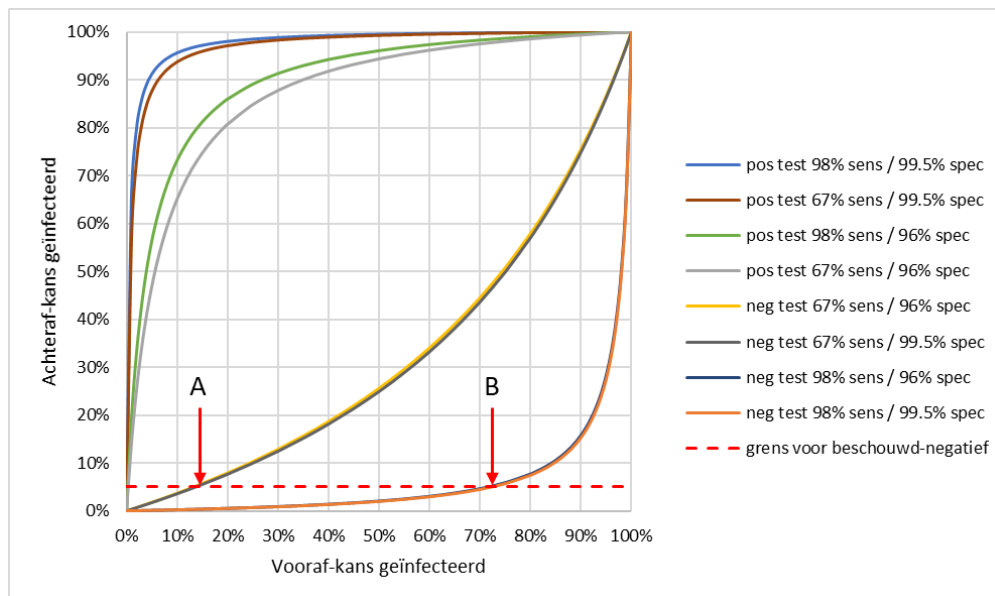
De **positief voorspellende waarde** (PPV) geeft de waarschijnlijkheid aan dat de geteste persoon COVID-19 heeft als de PCR-test positief is.

De **negatief voorspellende waarde** (NPV) geeft de waarschijnlijkheid aan dat de geteste persoon geen COVID-19 heeft als de PCR-test negatief is.

Zoals hierboven aangegeven is de **klinische sensitiviteit** en **klinische specificiteit** afhankelijk van de **vooraf-kans** dat een positieve PCR-test correct positief is en een negatieve PCR-test correct negatief. Omdat dit zo is wordt daarvan gebruik gemaakt om met hoogste zekerheid de personen te identificeren die COVID-19 hebben en bijdragen aan verspreiding. Daarom werd in het begin van de epidemie met een strenge casusdefinitie gewerkt van typische symptomen en mogelijk contact met COVID-19 positieve personen (o.a. reishistorie China). En is een voorwaarde om te laten testen het hebben van symptomen (10, 13). Het testen van personen zonder symptomen wordt nu toegevoegd aan het testbeleid. De **vooraf-kans** dat een positieve PCR-test correct positief is en een negatieve PCR-test correct negatief neemt daardoor af.

De samenhang tussen **vooraf-kans** en **achteraf-kans** om geïnfecteerd te zijn bij een positieve of negatieve PCR-test staat in figuur 1 (8, 9).

De buiging van de curves in figuur 1 voor positieve en negatieve test worden beïnvloed door de **klinische sensitiviteit** en **klinische specificiteit**. Bij een **klinische sensitiviteit** en **klinische specificiteit** van 50% is de **vooraf-kans** en **achteraf-kans** om geïnfecteerd zijn voor positief of negatief testen gelijk. Een hogere **klinische sensitiviteit** maakt dat vooral de curve voor negatieve test scherper naar rechtsonder doorbuigt. Een hogere **klinische specificiteit** maakt dat vooral de curve voor positieve test scherper naar linksboven uitbuigt.



Figuur 1. Samenhang tussen **vooraf-kans** en **achteraf-kans** om geïnfecteerd te zijn bij een positieve (pos test) of negatieve (neg-test) PCR-test voor SARS-CoV-2. Noot: De kromme curves zijn voor de eerdere genoemde grenzen van de schattingen voor **klinische sensitiviteit** en een **klinische specificiteit** van PCR-test. Het gebied onder de rode stippellijn geeft het gebied aan waarin het bijvoorbeeld veilig is om contact te hebben met anderen bij een negatief test resultaat omdat de kans dat je ondanks negatief PCR-test resultaat toch geïnfecteerd bent lager is dan 5%. De grens van dit gebied is afhankelijk van het geaccepteerde risico bij een **fout-negatief** resultaat.

Met voorselectie voor hogere **vooraf-kans** om geïnfecteerd zijn neemt de **achteraf-kans** om inderdaad geïnfecteerd te zijn voor een positieve test sterker toe dan voor een negatieve test. Een hogere **vooraf-kans** resulteert dus in het adequater vinden van werkelijk geïnfecteerden.

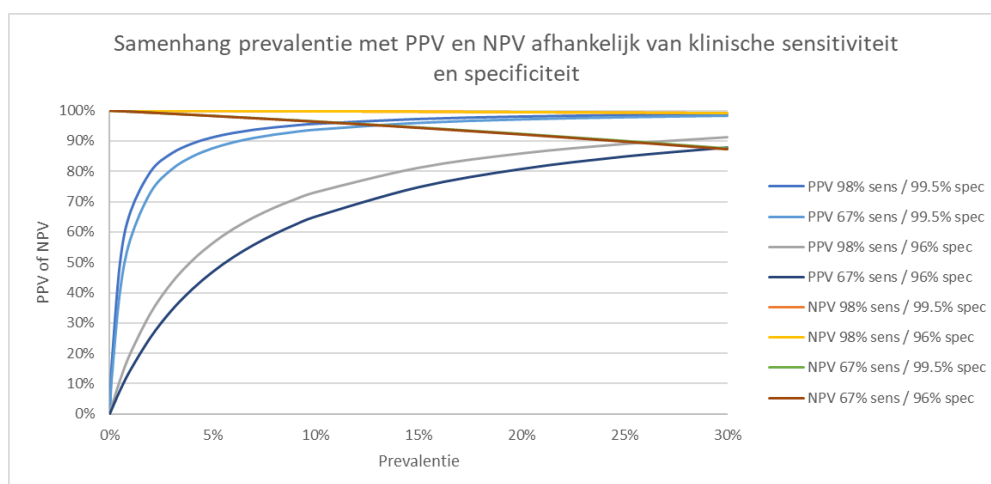
De samenhang tussen **vooraf-kans** en **achteraf-kans** om geïnfecteerd te zijn is voor positief testen dus vooral afhankelijk van de **klinische specificiteit**. Figuur 1 laat zien dat bij een **vooraf-kans** van 10% om geïnfecteerd te zijn en 99.5% specificiteit van de PCR-test de **achteraf-kans** om geïnfecteerd te zijn al circa 95% is, en de kans op **fout-positief** testen dus 5%. Hoe hoger de **vooraf-kans** om geïnfecteerd te zijn hoe lager de kans op **fout-positief** testen.

De samenhang tussen **vooraf-kans** en **achteraf-kans** om geïnfecteerd te zijn is voor negatief testen dus vooral afhankelijk van de **klinische sensitiviteit**. Bij hogere **klinische sensitiviteit** van de PCR-test wordt pas bij een hogere **vooraf-kans** op infectie een persoon niet geïnfecteerd beoordeeld (pijl B), dan bij een lagere **klinische sensitiviteit** van de PCR-test (pijl A). Bij een negatief resultaat van een PCR-test met lagere **klinische sensitiviteit** (curves voor 67% sens in figuur 1) wordt de drempel voor niet-geïnfecteerd beschouwd zijn overschreden als de vooraf-kans

om geïnficeerd te zijn groter is dan circa 15%, en daardoor dus vrij gemakkelijk tot een **fout-negatief** resultaat kan leiden en toegenomen risico voor verspreiding bij contact met anderen. Bij een negatief resultaat van een PCR-test met hogere **klinische sensitiviteit** kan er een **vooraf-kans** zijn tot circa 72% om geïnficeerd te zijn en het toch, uitgaande van de drempel van 5%, veilig is om contact te hebben met anderen. Omdat de kans op toch geïnficeerd te zijn lager is dan 5% bij een negatieve testuitslag. Daarom is een PCR-test met hoge **klinische sensitiviteit** belangrijk om **fout-negatieve** uitslagen te voorkomen.

Figuur 1 laat ook zien waarom pogingen om de **vooraf-kans** om positief te testen te verkleinen ertoe doen, bijvoorbeeld door sociale afstand te nemen en mogelijk door maskers te dragen. Als de **vooraf-kans** om geïnficeerd te zijn te hoog wordt (bijvoorbeeld boven de 50%; dus o.a. bij hoge **prevalentie**), verliest het testen zijn waarde omdat negatieve resultaten de kans op infectie niet voldoende kunnen verlagen om de drempel voor niet-geïnficeerd beschouwd zijn te bereiken. Tenzij een PCR-test gebruikt wordt die hoog klinisch sensitief is; bij een 98% **klinische sensitiviteit** zoals eerder aangegeven schuift de **vooraf-kans** om de 5% **achteraf-kans** bij een negatief test resultaat te passeren op naar circa 72% **vooraf-kans**. Het is niet realistisch om uit te gaan van 98% **klinische sensitiviteit** van de PCR-test omdat de **klinische sensitiviteit** van te veel factoren afhankelijk is en daarom geschat wordt op tussen de 67 en 98%.

De samenhang van de **positief voorspellende waarde (PPV)** en **negatief voorspellende waarde (NPV)** van de PCR-test met **prevalentie** en **klinische sensitiviteit** en **klinische specificiteit** staat in figuur 2 weergegeven, ook hier weer gebaseerd op de grenzen van de eerder genoemde waarden uit de literatuur.



Figuur 2. De samenhang van de **positief voorspellende waarde (PPV)** en **negatief voorspellende waarde (NPV)** van de PCR-test met **prevalentie** en **klinische sensitiviteit** en **klinische specificiteit**.

Het is duidelijk uit figuur 2 dat vooral de **positief voorspellende waarde** van de PCR-test beïnvloed wordt door **prevalentie** tussen 0 en 30%. Dit is het sterkst merkbaar bij een lagere **klinische specificiteit** en niet zozeer bij een lagere **klinische sensitiviteit** van de PCR-test.

De invloed op de **negatief voorspellende waarde** van de PCR-test laat zich vooral gelden bij een lagere **klinische sensitiviteit** en niet zozeer bij een lagere **klinische specificiteit** van de PCR-test.

Prevalentie is dus ook een factor in de **vooraf-kans** om geïnfecteerd te zijn en dus of een persoon positief gaat testen voor COVID-19. Bij lage **prevalentie** is de **positief voorspellende waarde** van een PCR-test dus laag als de **vooraf-kans** of een persoon positief gaat testen voor COVID-19 niet beïnvloed wordt. De **positief voorspellende waarde** kan dus verhoogt worden door de **vooraf-kans** te verhogen, wat vooral nuttig is als de **prevalentie** laag is zoals uit de grafiek blijkt. Daarmee wordt automatisch ook de kans op **fout-positief** drastisch verlaagd. En daarmee het onterecht plaatsen van positief geteste personen in quarantaine. Van dit fenomeen is en wordt gebruik gemaakt door het toepassen van een **casus-definitie** waarin het hebben van specifieke symptomen (o.a. in screening) en blootstelling aan iemand met COVID-19 (o.a. in bron- en contactonderzoek) een rol spelen. Het toevoegen van testen van personen zonder symptomen en zonder direct contact met een COVID-19 patiënt verlaagd de **vooraf-kans** om geïnfecteerd te zijn drastisch en zal de prevalentie dus een grotere bijdrage geven aan de **positief voorspellende waarde** van de PCR-test; bij lage **prevalentie** zal dit dus resulteren in relatief meer **fout-positieven**.

Het moge duidelijk zijn dat afhankelijk van het beoogde doel de kansen op **correct-positieve** en **correct-negatieve** PCR-test resultaten positief beïnvloed kunnen worden door de test-strategie. Helaas is het zo dat de één optimaal maken vaak resulteert in minder optimaal zijn van de ander. Het doel van de test-strategie bepaalt dan de balans.

Bronnen

Literatuur

1. Afzal A. Molecular diagnostic technologies for COVID-19: Limitations and challenges. J Adv Res. 2020 Nov;26:149-159. doi: 10.1016/j.jare.2020.08.002. Epub 2020 Aug 6. PMID: 32837738; PMCID: PMC7406419.
2. Bonten MJM. Covid-19: een fout-positieve PCR-testuitslag. Ned Tijdschr Geneeskd. 2020;164:C4670
3. Corman VM, Landt O, Kaiser M, Molenkamp R, Meijer A, Chu DK, Bleicker T, Brünink S, Schneider J, Schmidt ML, Mulders DG, Haagmans BL, van der Veer B, van den Brink S, Wijsman L, Goderski G, Romette JL, Ellis J, Zambon M, Peiris M, Goossens H, Reusken C, Koopmans MP, Drosten C. Detection of 2019 novel coronavirus (2019-nCoV) by real-time RT-PCR. Euro Surveill.

- 2020 Jan;25(3):2000045. doi: 10.2807/1560-7917.ES.2020.25.3.2000045. PMID: 31992387; PMCID: PMC6988269.
4. He J, Guo Y, Mao R, Zhang J. Proportion of asymptomatic coronavirus disease 2019: A systematic review and meta-analysis. *J Med Virol*. 2020 Jul 21;10.1002/jmv.26326. doi: 10.1002/jmv.26326. Epub ahead of print. PMID: 32691881; PMCID: PMC7404334.
 5. Heneghan C, Brassey J, Jefferson T. COVID-19: What proportion are asymptomatic? The Centre for Evidence-Based Medicine. Evidence Service to support the COVID-19 response. April 6, 2020; <https://www.cebm.net/covid-19/covid-19-what-proportion-are-asymptomatic/>
 6. Stites EC, Wilen CB. The Interpretation of SARS-CoV-2 Diagnostic Tests. *Med (N Y)*. 2020 Aug 21. doi: 10.1016/j.medj.2020.08.001. Epub ahead of print. PMID: 32864639; PMCID: PMC7441939.
 7. Surkova E, Nikolayevskyy V, Drobniowski F. False-positive COVID-19 results: hidden problems and costs. *Lancet Respir Med*. 2020 Sep 29:S2213-2600(20)30453-7. doi: 10.1016/S2213-2600(20)30453-7. Epub ahead of print. PMID: 33007240; PMCID: PMC7524437.
 8. Watson J, Whiting PF, Brush JE. Interpreting a covid-19 test result. *BMJ*. 2020 May 12;369:m1808. doi: 10.1136/bmj.m1808. PMID: 32398230.
 9. Woloshin S, Patel N, Kesselheim AS. False Negative Tests for SARS-CoV-2 Infection - Challenges and Implications. *N Engl J Med*. 2020 Aug 6;383(6):e38. doi: 10.1056/NEJMp2015897. Epub 2020 Jun 5. PMID: 32502334.

RIVM en LCI webpagina's

10. RIVM. Testen op COVID-19. <https://www.rivm.nl/coronavirus-covid-19/testen>
11. RIVM. Toelichting PCR RIVM. https://www.rivm.nl/sites/default/files/2020-11/Toelichting%20PCR_RIVM.pdf
12. RIVM. Toelichting Ct-waarde. https://www.rivm.nl/sites/default/files/2020-11/Toelichting%20Ct-waarde_0.pdf
13. LCI-RIVM. COVID-19 richtlijn. <https://lci.rivm.nl/richtlijnen/covid-19>
14. LCI-RIVM. Aanvullende informatie diagnostiek COVID-19 Bijlage bij de LCI-richtlijn COVID-19 | Versie 12 november 2020; <https://lci.rivm.nl/covid-19/bijlage/aanvullend>

Berekeningen

Diagnostic test evaluation calculator. MedCalc® easy-to-use statistical software. https://www.medcalc.org/calc/diagnostic_test.php

Tenny S, Hoffman MR. Prevalence. [Updated 2020 Jul 10]. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2020 Jan-. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK430867/>