

Informace o spolehlivosti detekce SARS-CoV-2. A kde je získat?

B. Friedecký, J. Kratochvíla

Úvod

Jde o stručnou informaci pracovníkům klinických laboratoří, a to zejména těm, kteří se problémem přímo nezaobírají. Cílem je vyjasnění sdělovacími prostředky dost zatemňovaných skutečností. Rychlé antigenní testy (POCT) lze provádět mimo laboratoř v blízkosti pacienta, a hlavně podstatně rychleji než stanovením PCR (polymerázová řetězová reakce), za 10 až 30 minut. Vhodné testy SARS-CoV-2 POCT antigenní testy proto mohou hrát roli v situacích, kdy je důležitý rychlý výsledek a kdy je potřeba nakažlivost jednotlivců **posoudit okamžitě a na místě**.

Protože citlivost současných Ag-testů je řádově nižší než při stanovení PCR/NAT, zdají se být užitečné jen u jedinců s vysokou virovou zátěží (kvantitativní hodnota Ct 20 až 30). *Přítom „Ct“ (cycle of threshold) udává cyklus, při kterém je zaznamenán signál silnější než nastavená hodnota cut off pro daný test.* To je případ presymptomatické (1 až 3 dny před nástupem příznaků) a časné symptomatické fáze onemocnění během prvních 5 - 7 dnů, před začátkem tvorby protilátek (POCT tak může přispět k přerušení přenosu cílenou izolací nakažených a jejich blízkých kontaktů). Lidé více než sedm dní po nástupu příznaků mají vyšší pravděpodobnost nižší virové zátěže souvisejících pak s vysokým počtem falešně negativních výsledků Ag-testů.

Požadavky na antigenní testy (Ag testy) a jejich ověřování v Německu (1)

Paul Ehrlich Institut Německo (PEI) (2) je organizace, která ve své zemi určuje spolu s Institutem Roberta Kocha (RKI) (3) požadavky na spolehlivost používaných antigenních testů. Provádí i vlastní testování Ag testů (samozřejmě mimo řady jiných úkolů).

Výsledky testování akceptuje institut BFARM (Bundesinstitut für Arzneimittel und Medizinprodukte) (4), který na základě jejich výsledků pořizuje seznam schválených testů.

Základní kritéria PEI a RKI pro Ag testy

- Sensitivita >80 %
- Specifičnost >97 %

V Německu jsou momentálně rozeznávány dva typy Ag testů k detekci SARS-CoV-2. První skupinu tvoří laboratorní rychlé testy (často i při použití jednoduchých přístrojových platform), druhou pak testy pro samotestování, dostupné v lékárnách, obchodních řetězcích, drogeriích. Požadavky na senzitivitu a specifičnost jsou pro obě skupiny shodné.

Tabulky schválených Ag testů a samotestů v rámci BFARM

Tyto testy jsou na webu organizace a obsahují název testu, senzitivitu, specifičnost, charakter vzorku a výsledek testování v Institutu Paula Ehrlicha (pozitivní výsledek označen jako „JA“, negativní, nevyhovující požadavkům jako „NEIN“).

Tabulky jsou dvě, zvlášť pro testy laboratorní (pro zdravotnické profesionály), zvlášť pro samotesty. Webové stránky BFARM mají odkaz i na stránky Evropské komise, shrnující požadavky na v Evropě používané Ag testy. Pokud test, opatřený značkou konformity „CE“, nesplní požadavek PEI, je ze seznamu BFARM odstraněn po uplynutí platnosti jeho aplikace. Výsledky testování sensitivity a specifičnosti a obsahy tabulek testů jsou pravidelně aktualizovány, doplňovány a uváděny na webových stránkách PEI a BFARM.

Stručný postup stanovení sensitivity a specifičnosti Ag testů v Institutu Paula Ehrlicha

Paralelní vyšetření minimálně 100 vzorků/osob výtěru z nosohltanu metodou PCR a Ag-testem se symptomy Covid-19 do sedmi dnů od nástupu těchto symptomů pro stanovení sensitivity.

Minimálně 100 vzorků výtěru z nosohltanu osob bez symptomů COVID-19 pro stanovení specifičnosti. U stejných vzorků vždy paralelní detekce SARS-CoV-2 metodou PCR za přesně stanovených podmínek.

Výsledky srovnávací studie velkého počtu Ag testů

Byly na stránkách Paul Ehrlich Institutu zatím naposledy publikovány ke 12. lednu 2022. Zabývají se hodnotami senzitivit asi **300** různých testů (4). Hodnoty senzitivit jsou stanovené s ohledem na hodnoty Ct vzorků u srovnávací metody PCR. Jsou uspořádány do dvou tabulek. Tabulka 1 obsahuje

výsledky Ag testů s vyhovující hodnotou senzitivity $\geq 80\%$ a jde o 245 testů. Tabulka 2 uvádí výsledky 40 testů s nevyhovující hodnotou senzitivity pod 80 %. **Data tabulek velmi přesvědčivě ukazují extrémní závislost velké většiny Ag testů na hodnotě Ct srovnávací PCR metody čili nepřímo na velikosti virové nálože ve vzorku.** Zatímco při hodnotách Ct < 25 jsou senzitivity vyhovujících testů v rozumně velkém a vhodně vysokém rozmezí 80 až 100 %, při Ct 25 až 30 už v extrémně širokém a významně nižším rozmezí 5 až 100 % a v případech Ct nad 30 dokonce jen v rozmezí 0 až 80 %! Jsou tedy Ag testy dobře srovnatelné jak s PCR výsledky měření, tak i mezi sebou navzájem jen pro vzorky, kde je hodnota Ct u PCR reakce dostatečně nízká (dostatečné množství viru ve vzorku). Se stoupající hodnotou Ct nejenže senzitivita prudce klesá, ale navíc rozdíl mezi metodami extrémně narůstá. Velký problém je, že výrobci ve své dokumentaci udávají klíčovou hodnotu senzitivity zásadně jen pro Ct < 25 . A dokonce požadavky na kvalitu Ag testů jsou formulovány také jen pro tuto nejvyšší hodnotu. Počítá se se skutečností, že tyto zásadní vady na kráse Ag testů vykompenzuje častější testování. To je sice předpoklad odůvodněný, přesto extrémní rozdíly mezi senzitivitami pro hodnotu Ct > 25 mohou (a zřejmě i jsou) zdrojem kontroverzí výsledků. Skutečnost silné a problematické závislosti senzitivity Ag testů je obecně známá a neměla by být překvapující.

Neustále se měnící opatření nejsou v souladu s potřebou aplikace více testů v čase pro kompenzaci nejistoty senzitivity, pokud se nejedná o speciální případy. Třeba o vrcholové sportovce. Závažným problémem může být fakt, že při samotestování nelze spolehlivě zaručit kvalitu preanalytické fáze. Ani postanalytická fáze zápisu výsledků a jejich evidence se nezdá být dostatečně harmonizovaná a před chybami chráněná. Skutečnost silné a problematické závislosti senzitivity Ag testů na hodnotě Ct (na hodnotách virémie) a taky na typu matrice vzorku (různý materiál z nosu, nosohltanu, slin, krku nevede u stejné metody k shodným senzitivitám) je už dlouho obecně známá a neměla by překvapovat osoby, předávající informace veřejnosti. Příklad výsledků externího hodnocení kvality Ag testů v program RfB Bonn u dvou kontrolních cyklů 2021 (CoVAg 3/231 a CoVAg 4/21), kterého se pravidelně účastní 60 až 90 účastníků, používajících namísto "rychlých" testů vysoce sofistikované automatizované imunochemické metody, tento problém potvrzuje v plném rozsahu, a to velmi názorně (Tabulka 1).

Tabulka 1. Vztah mezi úspěšností Ag-testů a hodnotou Ct PCR kontrolních vzorků u kontrolních cyklů RfB Bonn CoV-2 Ag 3/21 a CoV-2 Ag 4/21.

Ct reakce PCR	% správné pozitivity	
	CoAg 3/21	CoAg 4/21
<20	100	100
26	64	77
>30	12	10

Antigenní testy na stránkách MZČR, SUKL, SZÚ
Data jsou soustředěna na cenu, dostupnost, proplácení a stránky mají charakter e-shopů a PR (public relation). Data jsou striktně převzata od výrobců a logicky jde o hodnoty nejvyšší, dosažené jen pro nízké hodnoty Ct a za nestandardních, pro výrobce vždy příznivých podmínek. Spektrum nabídek je podobné spektru, testovanému v Německu, což je při astronomickém počtu výrobců očekávané. Nicméně poznatky o analytické kvalitě a klinických parametrech (senzitivita a specifčnost) je nutno hledat jinde – viz řádky výše.

Shrnutí

Diagnostické testy pro COVID-19 jsou silně a neblaze ovlivněny kritickým nedostatkem harmonizace a časné i dostatečné intenzivní kontrole kvality jejich výsledků. A jako vždy a při každé příležitosti nedostatek dat o kvalitě vede k dohadům o kvalitě samotné. U antigenních testů, jejichž používání si vynutila pandemie navzdory naprostému nedostatku času, potřebného k validaci, verifikaci a harmonizaci jejich výsledků (5), příležitost zjevně stimulovala extrémní počet nabízených metod měření (kolem 300). V této situaci je důsledná harmonizace výsledků patrně nad lidské síly. Hodnocení kontroverzní situace povrchními novinářskými úvahami a dryáčnickými televizními seancemi je přinejlepším zcela neužitečná. Lepší cestou je využití těch seriózních a podložených informací, které jsou již k dispozici. V tomto smyslu se zdá, jakoby se poskytování seriózních, odborných a na faktech založených informací nevěnovala náležitá pozornost.

Literatura

1. Kolektiv autorů odborných společností: Mindestkriterien für SARS-CoV-2 Antigentests im Sinne von § 1 Abs. 1 Satz 1 TestVO: Antigenschnelltests. Dostupné na: <https://www.dgkl.de/>.
2. Paul Ehrlich Institut: Dostupné na: <https://www.pei.de/DE/home/home-node.html;jse-ssionid=22BC706112C67DDC53B82B7EE-56D25A6.intranet222>.

3. Robert Koch Institut: Dostupné na: https://www.rki.de/DE/Home/homepage_node.html
4. Bundesinstitut für Arzneimittel und Medizinprodukte 2022. Dostupné na: https://www.bfarm.de/DE/Medizinprodukte/Aufgaben/Spezialthemen/Antigentests/_node.html.
5. Plzák Z, Kratochvíla J, Friedecký B, Šprongl L.: Doporučení pro validace a verifikace postupů laboratorních vyšetření ve zdravotnických laboratořích. *Klin Biochem Metab* 2021, 29/2:78-83.