

VÁŠ DOPIS ZN.:

ZE DNE: 1. 10. 2020

NAŠE ZN.: SZU/11034/2020

SZU/11035/2020

VYŘIZUJE:

TEL./FAX.:

E-MAIL:

DATUM:

Poskytnutí informace dle zák. č. 106/1999 Sb., o svobodném přístupu k informacím, ve znění pozdějších předpisů

Vážení,

Státní zdravotní ústav obdržel dne 1. října 2020 Vaši žádost podle zákona č. 106/1999 Sb., o svobodném přístupu k informacím, ve znění pozdějších předpisů (dále jen „InfZ“), ve znění:

„1) Jsou všechny testy, které používáte pro zjištění přítomnosti RNA sekvencí viru SARS-CoV-2, oficiálně akreditované? Jaký orgán je schválil k použití jako diagnostické testy? Jsou určené k diagnostice, nebo pouze pro výzkumné účely? Doložte tyto akreditační dokumenty.

Všechny testy nesou certifikaci CE IVD, za certifikaci zodpovídá výrobce, rovněž tak za validaci. Je třeba obeslat s konkrétním dotazem na doložení dokumentů jednotlivé výrobce.

NRL používá i WHO metody, validované ve WHO spolupracujících laboratořích. VALIDACE je součástí publikace v recenzovaném odborném periodiku.

2) Jsou všechny tyto testy validované za použití zlatého standartu (čistého kompletního monolitu viru SARS-CoV-2) pro kontrolu? Kdo provádí validační proces pro tyto testy? Výrobce nebo nezávislý kontrolní orgán? Doložte validační dokumenty.

Neexistuje zlatý monolit viru, respektive existuje více než 100 000 známých sekvencí. NRL si vyžádala standardy z EVA(g) Evropského virologického archivu v Berlíně. Ve sbírce EVA(g) je nyní více kmenů. Korektní laboratoř, která využívá jiné testy než CE IVD sety musí provádět in silico analýzu primerů a prob, a to nikoli se zlatým monolitem viru, ale se všemi variantami uveřejněnými ve veřejné databázi sekvencí GISAID.

3) Jsou všechny používané testy na detekci RNA sekvencí viru SARS-CoV-2 binární? Kde je přesně hranice mezi pozitivní - negativní hodnotou těchto testů? Podle jakých kritérií je ta hranice určena? Používá se tato hranice u všech používaných testů stejná?

Metoda není binární, jedná se o komplexní chemickou enzymatickou reakci.

4) *Jaká je úroveň amplifikace používaných (RT) PCR testů na detekci RNA sekvencí viru SARS-CoV-2? Kdo stanovil a na základě čeho zvolenou úroveň amplifikace? Uveďte u každého výrobce zvlášť. Jak ovlivňuje různá úroveň amplifikace výsledek testu?*

Každá ze souprav má jiný LOD, limit of detection. Je vyjádřen hodnotou Ct, překročení threshold. Z teorie PCR vyplývá, že při 100% účinnosti je maximální Ct 38. Vychází z principu, že nejmenší možná detekovatelná entita je 1 kopie úseku RNA pro virus specifického. V případě, že v reakční směsi jsou méně než 5 kopií této RNA podléhá detekce statistickému Poissonovu rozdělení či distribuci. Ct 38 u různých výrobců může znamenat jiné detekované množství virové RNA, které závisí na LOD, kterou deklaruje výrobce. Minimální LOD je tedy méně než 5 molekul virové RNA, respektive amplifikovaného úseku, na vyšetřovaný objem, který činí obvykle 20 až 100 mikrolitrů. U výrobců se může lišit, výrobce musí uvést LOD.

5) *Jaká je specifická a chybovost těchto testů? (Měřená oproti zlatému standartu - čistý kompletní monolit viru SARS-CoV-2). Uveďte pro každého výrobce zvlášť.*

6) *Co přesně znamená, pokud vyjde test pozitivní?*

Pozitivní výsledek v PCR znamená záchyt specifického úseku viru, negativní znamená, v daném okamžiku nebyla uvedenou metodou zjištěna přítomnost RNA pro virus specifické. Vstupní materiál není homogenní.

7) *Jaká je specifická testovaných protilátek v souvislosti s onemocněním Covid-19? Jsou jednoznačně potvrzeny monoklonální protilátky k viru SARS-CoV-2?*

Specifitu protilátek nelze ovlivnit, každý jedinec, který se setká s virem, si vytvoří individuálně specifickou polyklonální směs protilátek. Monoklonální protilátky se vytvářejí experimentálně v laboratoři a v diagnostice nehrají momentálně roli.

V rámci serologického vyšetření se zjišťuje, zda některý klon z polyklonální směsi protilátek je schopný vazby na specifický virový antigen, obvykle se využívá úseku S1 RBD nebo nukleokapsidového proteinu.

8) *Jsou používané testy na protilátky akreditované? Jsou tyto testy validované oproti zlatému standartu, tedy purifikovanému monolitu viru SARS-CoV-2?*

Sérologické testy jsou rovněž CE IVD akreditované.

Specifická a sensitivita je součástí validace a akreditačního protokolu, NRL těmito údaji nedisponuje.

Nutno vyžádat si u akreditaci poskytovajícího orgánu.

9) *Jaká je legislativa pro schválení farmaka v nouzovém režimu bez dostatečných testů bezpečnosti? Je v souladu s legislativou takové farmakum v nouzovém režimu schválit, pakliže existuje jiné bezpečné a klinicky ověřené profylaktikum nebo léčebný protokol?*

10) *Jaké je u používaných testů na COVID-19 procento false positive? "*

K otázkám dále sdělujeme:

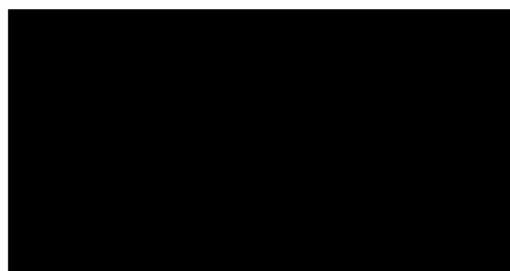
Validní testy na přítomnost SARS-CoV-2 musí být založeny na principu detekce genetické informace tohoto viru (RNA) a to prostřednictvím amplifikace dvou pro virus specifických úseků RNA. Tato amplifikace je většinou založena na reverzní polymerázové řetězcové reakci v reálném čase, případně na izotermální amplifikaci (při neměnné teplotě), tzv. LAMP metodě. Komerční soupravy se mohou jmenovat různě, většinou nesou v názvu COVID19, NCoV, SARS-CoV-2 a mohou detekovat jeden virus, tedy SARS-CoV-2, nebo více respiračních virů. V každém případě musí splňovat certifikaci pro in vitro diagnostiku (CE-IVD). Každý takový test je validován (tedy funkčnost je ověřena) pro v příbalovém letáku uvedené spektrum klinických materiálů (stěr z nosohltanu, bronchoalveolární laváž, apod.) a pro materiály, které nejsou v tomto výčtu nelze

považovat certifikaci CE-IVD za platnou. Pro většinu těchto testů platí, že samotné amplifikaci (namnožení) předchází izolace RNA. Izolačních metod a komerčních souprav je na trhu více, většina z nich je založena na vazbě RNA na pevnou matici (magnetické kuličky nebo silikátové síto), další materiál je lyzován (degradován) a odstraněn a čistá RNA slouží pro další testování. I v tomto případě platí, že CE IVD certifikace je platná pouze pro izolační metody ověřené výrobcem. Pokud je pro komerční test použit jiný klinický materiál nebo jiná metoda izolace nukleové kyseliny, laboratoř musí sadou pokusů ověřit funkčnost a validitu výsledků. Součástí každého stanovení je i systém kontrol, pozitivní, negativní, kontrola izolace NA a kontrola samotné amplifikace. Amplifikace využívá činnosti enzymů, které mohou být inhibovány, proto jsou všechny tyto kontroly klíčové a jejich funkčnost je prověřena v rámci získání certifikace CE IVD. Některé laboratoře využívají pro STATIMová vyšetření plně automatizované přístroje, kde jsou všechny kroky prováděné přístrojem, ale většina z těchto přístrojů má malou kapacitu a vyšetření je velmi drahé (cena vyšetření převyšuje ministerstvem stanovenou hranici).

Dle ustanovení § 2 odst. 1 InfZ jsou povinné subjekty povinny poskytovat informace vztahující se k jejich působnosti. Vaše otázky č. 5), 9) a 10) nenáleží do působnosti Státního zdravotního ústavu.

Nad rámec výše uvedeného si Vás dovoluujeme dále odkázat na Ústav zdravotnických informací a statistiky, Ministerstvo zdravotnictví ČR a Státní ústav pro kontrolu léčiv.

S pozdravem



STÁTNÍ ZDRAVOTNÍ ÚSTAV
Šrobárova 48
100 42 Praha 10
IČ 75010330, tel.: +420267082295

