

# Diagnostika infekce SARS-CoV-2 založená na detekci antigenu pomocí rychlých imunoanalytických testů

Prozatímní pokyny

Z 11. září 2020



## Úvod

Od začátku pandemie COVID-19 se pro detekci SARS-CoV-2, viru, který způsobuje onemocnění, v laboratořích využívaly testy amplifikace nukleové kyseliny (testy ANK), jako je polymerázová řetězová reakce s reverzní transkripcí v reálném čase (rRT-PCR). Pro mnohé země bylo použití tohoto způsobu testování náročné. Vyvíjejí se proto spolehlivé, ale levnější testy pro rychlejší diagnostiku, které detekují antigeny specifické pro infekci SARS-CoV-2. Diagnostické testy založené na detekci antigenu jsou navrženy pro přímou detekci SARS-CoV-2 proteinů produkovaných replikujícím se virem v sekretech dýchacích cest, byly vyvinuty jak pro laboratorní testování, tak pro použití v blízkosti pacienta a nazývají se rychlé diagnostické testy, nebo-li RD testy. Prostředí pro diagnostický vývoj je dynamické. Na rozvoji nebo výrobě rychlých testů pro detekci antigenu SARS-CoV-2 (1) se podílí téměř stovka společností.

Tento dokument nabízí doporučení týkající se potenciální úlohy RD testů detekujících antigen (Ag-RD testů) v diagnostice COVID-19 a nutnosti pečlivého výběru testu. Informacemi ohledně Ag-RD testů obsaženými v tomto dokumentu jsou aktualizovány pokyny, které byly zahrnuty ve vědeckém shrnutí pod názvem [WHO Doporučení ohledně používání ambulantních imunodiagnostických testů na COVID-19](#) publikováno 8. dubna 2020. Pokyny k používání Ag-RD testů budou pravidelně aktualizovány, jakmile budou dostupné nové důkazy.

Většina Ag-RD testů na COVID-19 využívá sendvičovou metodu imunodetekce na základě jednoduchého formátu testu v laterálním toku, který se běžně používá pro testování HIV, malárie a chřipky. Ag-RD testy se obvykle skládají z plastové kazety s jamkami pro vzorek a pufr, nitrocelulóзовého proužku s matrix, testovací linky s navázanou specifickou protilátkou pro konjugované cílové komplexy antigen-protilátka a kontrolní linky s navázanou specifickou protilátkou pro konjugovanou protilátku. V případě SARS-CoV-2 RD testů je cílovým analytem často nukleokapsidový protein viru, který je preferován pro svou relativní četnost. Veškerý materiál, který je potřebný k provedení testu je zpravidla poskytnut v komerčně dodávané sadě, včetně pomůcek pro odběr vzorku, s výjimkou stopek.

Po odběru respiračního vzorku a jeho nanesení na testovací proužek je možné přečíst výsledek během 10 až 30 minut, a to za použití čtecího zařízení nebo bez něj. Použitím čtecího zařízení je standardizována interpretace výsledků testů a snižuje se rozptýl v interpretaci výsledků různými pracovníky, je ale vyžadováno další vybavení. Většina současných testů vyžaduje vzorky výtěru z nosu nebo nosohltanu. V různých společnostech se ale provádějí studie, které hodnotí účinnost svých testů za použití jiných typů vzorků, jako jsou sliny nebo tekutina z dutiny ústní, a systémů odběru vzorku, aby se rozšířily možnosti pro jejich použití a bylo umožněno bezpečné a účinné testování. Jednoduchost použití a rychlost vyhodnocení Ag-RD testů obecně nabízí možnost rozšiřování přístupu k testování a snížení prodlev v diagnostice přesunutím k decentralizovanému testování pacientů s časnými příznaky. Kompromisem k jednoduchosti provedení Ag-RD testů je pokles citlivosti ve srovnání s testy ANK. Přísnému hodnocení regulačními orgány bylo podrobeno pouze malý počet SARS-CoV-2 Ag-RD testů. Povolení pro nouzové použití (EUA) Úřadu pro kontrolu potravin a léčiv (FDA) získaly pouze čtyři testy a další dva testy byly schváleny japonskou Agenturou pro léčivé přípravky a zdravotnické prostředky. Pouze tři společnosti předložily dokumenty pro postup nouzového použití (EUL) WHO (2, 3).

Údaje ohledně citlivosti a specifické současně dostupných Ag-RD testů na SARS-CoV-2 byly získány ze studií, které se liší ve svém plánu a ve značkách hodnocených testů. Bylo prokázáno, že citlivost je ve srovnání s testem ANK u vzorků z horních cest dýchacích (výtěr z nosu nebo nosohltanu) velmi různorodá, a to v rozmezí od 0 do 94 % (4 - 13), ale specifická je trvale vysoká (> 97 %). Ačkoli jsou ohledně skutečné výkonnosti a funkčních aspektů nutné další důkazy, Ag-RD testy budou s největší pravděpodobností fungovat dobře u pacientů s vysokou virovou náloží (hodnoty  $\leq 25$  nebo  $>10^6$  kopií genomu viru/ml), která se vyskytuje obvykle v presymptomatickém (1-3 dny před nástupem příznaků) a časném symptomatickém stádiu onemocnění (během prvních 5-7 dní onemocnění) (14, 15, 21). Nabízí se tak možnost pro časnou diagnostiku a ukončení přenosu skrze cílenou izolaci

a kohorty nejvíce infekčních případů a jejich blízkých kontaktů (16). Pacienti po více než 5-7 dnech od nástupu příznaků mají větší pravděpodobnost nižších virových náloží a zvyšuje se možnost falešných negativních výsledků Ag-RD testů.

Navzdory těmto očekávaným omezením mohou Ag-RD testy hrát při správném provedení a interpretaci významnou úlohu ve vedení péče o pacienty, při rozhodování ohledně veřejného zdraví a sledování COVID-19. Ag-RD testy budou muset přinejmenším správně identifikovat významně více případů, než kolik jich nezaznamenají (citlivost  $\geq 80\%$ ), a mít velmi vysokou specifitu ( $\geq 97-100\%$ ). Na základě těchto výkonnostních parametrů nabízejí tyto prozatímní pokyny několik možných úloh pro Ag-RD testy a obecná doporučení pro výběr testů a klíčových kritérií pro jejich implementaci.

### Obecná doporučení pro použití SARS-CoV-2 Ag-RD testy

1. Pro diagnostiku infekce SARS-CoV-2 mohou být použity SARS-CoV-2 Ag-RD testy, které splňují minimální požadavky  $\geq 80\%$  citlivosti a  $\geq 97\%$  specifity ve srovnání s ANK referenční analýzou<sup>1</sup> v různém prostředí, kde testy ANK nejsou dostupné nebo v případech, kdy doba potřebná pro vyhodnocení testu brání klinickému prospěchu.

Pro optimalizaci účinnosti by testování pomocí Ag-RD testů mělo být prováděno vyškolenými pracovníky za přísného dodržování pokynů výrobce během prvních 5-7 dní od nástupu příznaků.

2. Mezi vhodné scénáře použití COVID-19 Ag-RD testů patří:

i) Reakce na podezření nových ohnisek COVID-19 v odlehklých oblastech, institucích a polouzavřených komunitách, kde okamžitá analýza ANK není dostupná. Pozitivní výsledky Ag-RD testů z více míst podezření jsou vysoce podnětným ohniskem COVID-19 a umožnily by časnou implementaci kontrolních opatření infekce. Všechny vzorky s pozitivními výsledky Ag-RD testu (nebo alespoň jejich část) by měly být předány do laboratoří s možností provedení analýzy ANK pro potvrzení těchto výsledků, pokud je to možné.

ii) Podpora vyšetřování ohniska (např. v uzavřených nebo polouzavřených skupinách, jako jsou školy, domy s pečovatelskou službou, výletní lodě, vězení, pracovní místa, vysokoškolské koleje atd.) U ohnisek COVID-19 pomocí analýzy ANK lze Ag-RD testy využít pro screening rizikových jedinců, rychlou izolaci pozitivních případů (a zahájit další

úsilí pro trasování kontaktů) a upřednostnit sběr vzorků jedinců s negativním RD testem pro analýzu ANK.

iii) Sledování trendů výskytu onemocnění v komunitách, zejména u klíčových pracovníků a zdravotnických pracovníků v průběhu výskytu ohniska nebo v oblastech s rozšířeným komunitním přenosem, kde je pozitivní nebo negativní prediktivní hodnota výsledku Ag-RD testu, je dostačující pro umožnění účinné kontroly infekce.<sup>22</sup>

iv) V oblastech s rozšířeným komunitním přenosem mohou být RD testy použity pro časnou detekci a izolaci pozitivních případů ve zdravotnických zařízeních, testovacích centrech na COVID-19, pečovatelských domech, vězeních, školách, u pracovníků v první linii a zdravotnických pracovníků a pro trasování kontaktů. Je nutno poznamenat, že bezpečné řízení pacientů se vzorky s negativním RD testem bude závislé na výkonnosti RD testů a komunitní prevalenci COVID-19 (viz příloha 1). Negativní výsledek Ag-RD testu nemůže zcela vyloučit aktivní infekci COVID-19, a z toho důvodu by mělo být provedeno opakované testování (testy ANK), pokud je to možné (obrázek 1), zejména pak u symptomatických pacientů.

v) Testování asymptomatických kontaktů může být zváženo i v případech, kdy Ag-RD test není pro toto použití specificky oprávněn, vzhledem k tomu, že asymptomatické případy vykazují podobnou virovou nálož jako symptomatické případy (17). Negativní Ag-RD test by ale neměl daný kontakt vyloučit z karanténních doporučení.

3. Pro počáteční zavedení Ag-RD testů pro běžné klinické použití by země měly zvážit výběr určitého prostředí, kde je současně dostupné potvrzení výsledku pomocí testu ANK, takže pracovníci mohou k testům získat důvěru, potvrdit výkonnost zvoleného RD testu a řešit jakékoli vyskytující se problémy s implementací. Pokud bude pro potvrzení screenovaných pacientů pomocí Ag-RD testů používána analýza ANK, vzorky pro oba tyto testy by měly být odebrány přibližně ve stejnou dobu, nebo maximálně v období kratším než 2 dny.

4. V situacích, kdy není možné kontrolní testování pomocí testů ANK, by jakékoli náznaky o nesprávnosti výsledků měly vzbudit podezření na validitu testu. Mezi takové příklady patří pacienti s pozitivním testem, jejichž klinické příznaky neodpovídají COVID-19, nebo pacienti s pozitivním testem detekovaným za nízké prevalence (kdy je prediktivní hodnota pozitivního testu nízká a riziko falešné positivity vysoké).

<sup>1</sup> Na základě dobře navržených a provedených hodnocení reprezentativních populací

<sup>22</sup> Riziko falešně pozitivních výsledků je vysoké u nízké prevalence; pozitivní prediktivní hodnota je 78 %, pokud je prevalence 10 % a jsou splněny minimální kritéria výkonnosti; u prevalence 20 % se zvyšuje na 93 %

Mezi další varovné signály mohou patřit pacienti s negativním testem, kteří mají typické příznaky, jsou v blízkém kontaktu s případem nebo jsou testováni s vysokou prevalencí. V takových případech by mělo být zváženo opakování testu, obzvláště tehdy, pokud existuje jakákoli nejistota ohledně vizuálního výsledku (slabé proužky) nebo adekvátnosti vzorku.

5. Použití Ag-RD testů se nedoporučuje v prostředí nebo v populacích s nízkou očekávanou prevalencí onemocnění (např. screening na vstupních místech, darování krve, plánované operace), obzvláště tehdy, pokud není snadno dostupné kontrolní ANK testování. Takové použití nebude možné, dokud nebudou dostupná další data z vysoce kvalitních studií, která potvrdí vysokou specifitu (> 99 %) jedné nebo více komerčních sad Ag-RD testů.

### Výběr testů pro pořízení a implementaci:

Ačkoli v současné době je komerčně dostupných SARS-CoV-2 Ag-RD testů omezené množství, očekává se, že na trh brzy vstoupí mnohé výrobky o různé kvalitě i výkonnosti. Jak je už poznamenáno v úvodu, většina komerčních SARS-CoV-2 Ag-RD testů využívá konvenční formát v laterálním toku s koloidním zlatem nebo jinými viditelnými barvivy jako indikátory. Několik systémů, včetně některých schválených americkou FDA pod EUA, používá jiné indikátory, které mohou vést ke zvýšené senzitivitě, ale vyžadují specifické zařízení pro čtení a interpretaci výsledků testu.

Existuje řada faktorů, které je nutno zvážit při výběru Ag-RD testů pro použití v situacích uvedených výše v části doporučení. Patří mezi ně:

1. **Kvalita dostupných dat, které byly použity pro validaci testu** Měla by být zvážena zdrojová data (nezávislé financování oproti vnitřnímu/korporátnímu financování), stejně jako návrh studie (např. použitý referenční standard, druh vzorku, doba mezi odebráním vzorku a provedením testu a počet dní od nástupu příznaků), počet zařazených subjektů a prostředí zařazení. Zásadně důležitý je výběr pacientů a míst, kde se studie provádí, vzhledem k tomu, že největším prediktorem pro citlivost testu je koncentrace viru ve vzorku. Prospektivní klinické studie jsou obecně nadřazeny studiím retrospektivním. Zejména cenná jsou data ze studií, které nejsou závislé na korporátním financování, pokud jsou správně provedeny.
2. **Udávaná výkonnost** Dříve, než je iniciováno pořízení RD testu, by měla být pečlivě vyhodnocena data prokazující jeho výkonnost. U relativně nízké prevalence aktivní SARS-CoV-2 infekce, dokonce i v podmínkách s komunitním přenosem, je nutná vysoká specifita (minimálně  $\geq 97\%$  a nejlépe  $\geq 99\%$ ),

aby bylo možné vyhnout se falešně pozitivním výsledkům. Citlivost bude záviset na stavu pacientů (stupeň onemocnění, počet dní od nástupu příznaků atd.), stejně jako na kvalitě výrobku. Měla by ale dosáhnout minimálně  $\geq 80\%$ . Užitečné je hodnocení citlivosti testu u pacientů pomocí stanovení prahového cyklu (cycle threshold, Ct) v rRT-PCR pod specifickou hodnotou (např. 28 nebo 30), protože se očekává, že virus se v respiračních vzorcích vyskytuje hojně, když je test v tomto rozmezí a citlivost testu je přiměřeně vysoká (v některých publikovaných i nepublikovaných studiích přes 90 %) (4, 11). Je však důležité poznamenat, že Ct hodnoty se při daných vstupních koncentracích cílové RNA v rámci rRT-PCR testů liší a nejsou striktně kvantitativní.

3. **Kvalita výroby a právní stav** Testy musí být vyráběny výrobcí, kteří fungují v rámci systému řízení kvality (např. ISO 13485) a jsou právně schváleni alespoň na místní úrovni, nebo mají právo volného prodeje uděleno danou zemí. RD testy by měly být podrobeny přísnému a transparentnímu regulačnímu přezkoumání, stejně jako všechny diagnostické metody *in vitro* pro klinické použití. Schválení nebo autorizace regulačním orgánem a/nebo seznamem nouzového použití (EUL) WHO by mělo být dostupné po celou dobu zprostředkování.
4. **Výrobní kapacita a další zajištění kvality** RD testy na SARS-CoV-2 vstupují na trh mnohé nové společnosti, které s výrobou, prodejem a podporou *in vitro* diagnostiky nemají úspěšnou historii. Výrobci by měli zvážit škálu dalších produktů nabízených společnostmi (zejména laterálních průtokových testů), schválení regulačními orgány, kterými pro diagnostické výrobky pro použití mimo nouzový stav disponují a svou kapacitu sledovat je během výroby a po uvedení na trh. Mnohé společnosti jsou schopny vyrobit vysoce kvalitní prototypy nebo kompletní testy v malém objemu, ale mohou mít potíže s naplněním globálních potřeb.
5. **Distribuce a technická podpora** V úvahu by se měla vzít distribuční kapacita dodavatele a kapacita podpory výrobku, obzvláště v zemích s nízkými a středními příjmy. Týká se to hlavně testů, které vyžadují další vybavení, jako jsou čtecí zařízení.
6. **Přeprava a podmínky skladování** Pro snadné používání Ag-RD testů je zásadní jejich kapacita odolat teplotnímu stresu a mít prodlouženou dobu použitelnosti. U nových výrobků musí být doba použitelnosti odhadnuta na základě zrychlených studií stability (obvykle při vyšších teplotách), ale cílem je použitelnost nejméně 12-18 měsíců při 30 °C,



ideálně při 40 °C. Požadavek na chlazení při dopravě a/nebo skladování by výrazně zvýšil náklady a komplikovanost dodání a distribuce.

- 7. Požadavky na odběr vzorku SARS- CoV-2 Ag-RD** testy se liší ve svých požadavcích na druh vzorku, počet kroků při provedení, potřebné přesné načasování, přístroje a interpretaci výsledků, což bude ovlivňovat délku požadovaného zaškolení a dohledu. Z těchto důvodů je spolu s výkonností testu důležité brát v potaz také jednoduchost vyšetření.
- 8. Obsah testovací sady** Obsah standardní sady nutně nezahrnuje veškeré potřeby pro provedení a kvalitní kontrolu testu. Toto je nutno ověřit před jejím zakoupením. Některé komerčně dostupné Ag-RD testy na SARS-CoV-2 využívají čtecí zařízení.
- 9. Náklady na test** Náklady na testy se budou lišit podle jednotlivých testů a množství objednaných kusů. Obecně by tyto testy měly být levnější než PCR testy. Je nutno brát v úvahu také náklady na přepravu, dovozní cla, skladování, školení uživatele (a dohledu) a vyžadované činnosti pro kontrolu kvality testování po zakoupení, aby byla podpořena kvalitní implementace RD testů.
- 10. Dostupnost, úplnost a srozumitelnost návodu k použití** Návod by měl být srozumitelný, měl by obsahovat obrázky a být snadno použitelný pro odborníka, který nepracuje v laboratoři.

#### Aspekty implementace:

- Ačkoli lze Ag-RD testy ve srovnání s analýzami ANK považovat za jednodušší pro jejich provedení, je u nich také vyžadováno, aby byly přísně dodržovány postupy doporučené dodavatelem s patřičnou pozorností na dokumentaci, provedení kroků závislých na čase nebo objemu, podmínky skladování, dobu použitelnosti, vybavení a řízení zásob. Všichni, kdo test provádějí, musí být zaškolení v odebírání vzorků, v odpovídající biologické bezpečnosti, provedení testu, interpretaci a vykazování výsledků a také nakládání s odpady. Je nutné zavést také opatření pro kontrolu kvality.
- Důležitým požadavkem na výrobce je sledování výrobku po jeho uvedení na trh a regulační dohled, aby byly objeveny chyby ve výkonnosti výrobku. Zdravotnický systém by měl zajistit, že diagnostické testování na COVID-19 je monitorováno a hodnoceno, a existují jasné mechanismy pro hlášení problémů (18).

- Používání přístrojových detekčních systémů vyžaduje další zaškolení (používání přístroje, požadavky na kalibraci, servisní požadavky, podmínky používání) a dostačující infrastrukturu, jako je spolehlivý zdroj elektřiny.
- Jeden z nejdůležitějších faktorů, které ovlivňují výkonnosti Ag-RD testů, je odběr vzorku. Pokyny pro použití by měly být pečlivě dodržovány a zaměstnanci odebírající vzorek by měli být zaškoleni v metodologii.
- Každý z těchto testů má specificky uvedenou metodu pro zpracování vzorku po odběru. Pokyny by měly být přesně dodržovány bez použití jiných reagentů (např. vody nebo jiných kapalin místo ředícího/směsného pufru).
- Musí být zavedeny požadavky na biologickou bezpečnost pracovníků - osobní ochranné prostředky, pytel na biologicky nebezpečný odpad a dobře větratelné prostředí (19).

#### Metody

Tento dokument s prozatímní pokyny obsahuje přehled případových scénářů pro možné použití SARS-CoV-2 RD testů detekujících antigen na základě minimálních výkonnostních kritérií. Požadavky na minimální výkonnosti pro Ag-RD testy byly stanoveny formálním postupem pro vývoj profilu cílového výrobku pro prioritní SARS-CoV-2 diagnostiku (20). Informace byly dodány na základě vyvíjejícího se porozumění dočasné dynamiky uvolňování viru a přenositelnosti a předpokládaných přínosů časnějšího a rozšířenějšího testování. V databázích PubMed a medRxiv byly hledány zprávy o hodnocení přesnosti rychlých testů detekujících antigen SARS-CoV-2 v blízkosti pacienta, a to jak práce před publikací, před tiskem, tak práce publikované. Ohledně přesnosti diagnostických testů byl nalezen jeden přehledový článek (21). Ohledně výkonnosti dvou SARS-CoV-2 Ag-RD testů byly s WHO dále důvěrně sdíleny nepublikované nezávislé zprávy. Prozatímní pokyny byly zkoumány členy referenční sítě laboratoří na COVID-19 WHO, členy skupiny pro hodnocení profilů cílových diagnostických produktů pro COVID-19 WHO a dalšími odborníky.

Uvědomujeme si nedostatky dostupných důkazů. Patří mezi ně malý objem vzorku, zkreslený odběr z důvodu předpokládané přítomnosti nebo nepřítomnosti infekce SARS-CoV-2 a nedostatek podrobných informací ve studiích, které jsou zacíleny na validaci testů s ohledem na stav příznaků nebo na dobu od nástupu příznaků. Zobecnění těchto doporučení navíc omezuje také nedostatek údajů o bezpříznakových případech, použití testů mimo rámec pokynů výrobce pro provedení testů v laboratořích, vzhledem k rozdílnosti prostředí v blízkosti pacienta. Přesto byl učiněn závěr, že některé Ag-RD testy pravděpodobně alespoň splní nebo překročí požadavky na minimální výkonnost v časně fázi

onemocnění (během prvních 5-7 dní, kdy je virová nálož a riziko přenosu nejvyšší). Rozšířené testování s možností přerušení přenosu za použití antigenních RD testů je považováno za přínosnější, než netestování nebo provádění testů, které neinformují o opatřeních pro kontrolu infekce z důvodu velmi dlouhé doby pro vyhodnocení nebo rizika falešně negativních testů u pacientů s nízkou virovou náloží.

### Výkonnost testu

Výkonnost Ag-RD testu je určena citlivostí a specificitou testu pro detekci SARS-CoV-2 infekce ve srovnání s referenčním standardem, testem ANK (obecně rRT-PCR).

**Citlivost** je procento pozitivních případů podle ANK referenčního standardu, které je pomocí Ag-RD testu detekováno jako pozitivní.

**Specificita** je procento negativních případů podle ANK referenčního standardu, které je pomocí Ag-RD testu detekováno jako negativní. Prevalence onemocnění v testované komunitě silně ovlivňuje prediktivní hodnotu pozitivního nebo negativního výsledku (viz příloha 1). Klinická hodnota pozitivního nebo negativního výsledku testu bude tedy záviset na tom, jaká opatření jsou přijímána na základě výsledku testu, který je interpretován v kontextu místní prevalence.

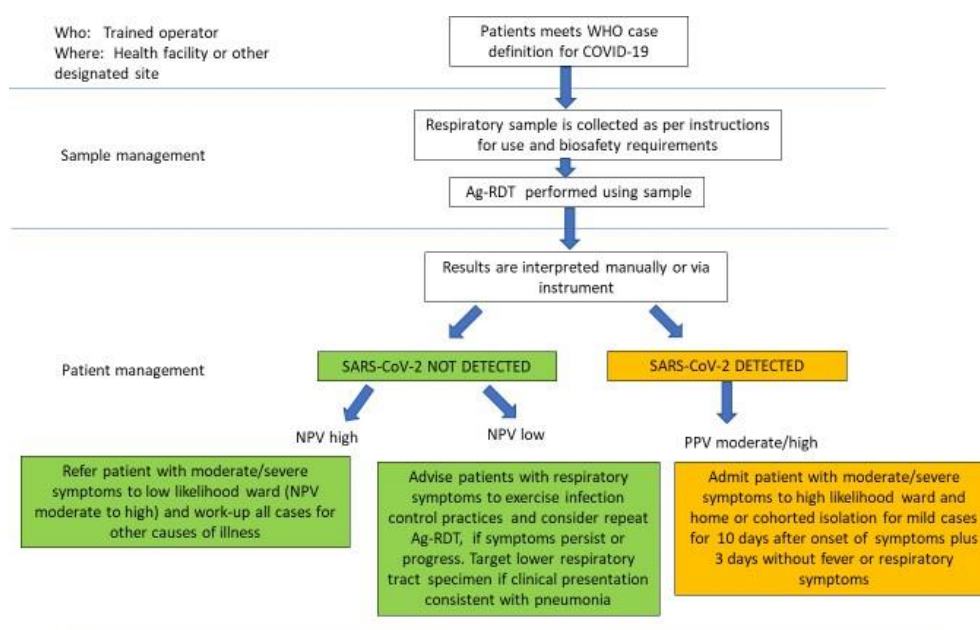
Obecně lze říct, že čím je vyšší prevalence infekce SARS-CoV-2 u testované populace, tím je pravděpodobnější, že osoba s pozitivním testem má COVID-19. Čím je v komunitě prevalence nižší, tím je pravděpodobnější,

že pacient s negativním testem onemocnění nemá, viz příloha 1. Například s 1% prevalencí aktivní infekce SARS-CoV-2 v komunitě by dokonce i test s 99% specificitou měl nízkou prediktivní hodnotu, jelikož polovina všech pozitivních výsledků by byla falešně pozitivní.

### Role RD testů detekujících antigen v řízení případů a sledování COVID-19

Použití Ag-RD testů může být zvažováno v zemích nebo oblastech s rozšířeným komunitním přenosem, kde zdravotní systém může být přetížen a všechny nebo jakékoli suspektní případy není možné testovat pomocí testu ANK. Stejně jako u všech diagnostických testů, a obzvlášť u těch, které mají sub-optimální citlivost a/nebo specificitu, **musí být prevalence onemocnění (podle referenčního standardu) stanovena na základě sledování**, jelikož to určuje pozitivní a negativní prediktivní hodnoty (PPV a NPV) RD testů (příloha 1). Navrhovaný postup využití Ag-RD testu pro řízení případů s COVID-19 tam, kde je rozšířený komunitní přenos, je obsažen v obrázku 1. V takovém prostředí je pravděpodobnost onemocnění COVID-19 před testem (pravděpodobnost, že pacient má COVID-19 ještě před tím, než jsou známy výsledky, na základě epidemiologických a klinických faktorů) relativně vysoká a pozitivní výsledky testu mají vysokou prediktivní hodnotu. Podobně může být prediktivní hodnota negativního výsledku RD testu v prostředí s komunitním přenosem nízká, i když existují silné epidemiologické nebo klinické ukazatele expozice nebo onemocnění COVID-19.

**Obrázek 1. Schéma znázorňující potenciální využití RD testů založených na detekci antigenu (které splňují minimální výkonostní kritéria) v prostředí s rozšířeným komunitním přenosem bez kapacity ANK analýzy.**



NPV- negativní prediktivní hodnota; PPV – pozitivní prediktivní hodnota

**Tabulka 1. Situace, ve kterých by SARS-CoV-2 Ag-RD testy neměly být používány na základě současných dostupných informací**

Nepoužívejte SARS-CoV-2 Ag-RD testy:	Vysvětlení
U jedinců bez příznaků, pokud daná osoba není kontaktem potvrzeného případu	Pravděpodobnost před testováním (možnost onemocnění pacienta na základě epidemiologie, kontaktů, klinického nálezu) je nízká.
V oblastech s nulovým nebo sporadickým výskytem	Ag-RD testy se nedoporučují pro rutinní účely sledování nebo řízení případů v tomto prostředí. Pozitivní výsledky testu budou pravděpodobně falešně pozitivní. Je preferováno molekulární testování.
Pokud je odpovídající biologická bezpečnost, prevence a kontrola infekce (IPC) nedostatečná	Pro ochranu zdravotnických pracovníků vyžaduje odběr respiračního vzorku pro jakýkoli test od pacienta s podezřením na COVID-19, že pracovníci nosí rukavice, plášť, obličejovou roušku a ochranný štít nebo brýle (19, 22, 23).
Péče o pacienta se na základě výsledku testu nemění	Pokud je péče o pacienty s pozitivním nebo negativním testem stejná z důvodu neznámé nebo nízké PPV a/nebo NPV, pak testování nemá žádný přínos.
Na letišti nebo pro screening na místech vstupu	Prevalence COVID-19 u cestujících bude velmi rozdílná, proto PPV a NPV výsledků testů není možné určit. Pozitivní a negativní testy by vyžadovaly kontrolní analýzu, která by zvýšila PPV a NPV pro možné rozhodování.
Pro screening před darováním krve	Pozitivní výsledek RD testu by nutně nemusel odpovídat přítomnosti virémie. Bezpříznakoví dárči krve nesplňují definici suspektního případu (24).

### Faktory ovlivňující výkonnost testu

Výkonnost RD testů detekujících antigen může ovlivnit mnoho faktorů, jak je uvedeno výše. Následně se mohou lišit výsledky v klinickém prostředí. Je potřeba, aby byly zohledněny následující skutečnosti:

- faktory pacienta, jako je doba od nástupu nemoci a stav imunity
- druh vzorku (horní nebo dolní cesty dýchací), kvalita a zpracování, včetně podmínek pro skladování a ředění ve virovém transportním médiu
- faktory viru, jako je koncentrace, doba uvolňování virového antigenu a strukturální změna cílového antigenu, zkřížená reaktivita s dalšími viry
- specifický cílový protein, jelikož některé antigeny jsou produkovány ve vyšších koncentracích než jiné, např. nukleokapsidové proteiny oproti spike proteinům
- problémy s designem produktu nebo kvalitou včetně:
  - nedostačujícím množstvím protilátek nebo jejich afinitou pro cílový antigen (cílové antigeny)
  - nevyhovujícím obal a vystavení teple a vlhkosti během nesprávné přepravy a/nebo skladování, které může degradovat protilátky v testu

- nejasné nebo nesprávné pokyny, které mohou ovlivnit výkonnost testu

- nedostatečné školení nebo kompetence osoby provádějící testování, které může vést k chybám v přípravě RD testů detekujících antigen, v provedení testu nebo interpretaci výsledku s chybnými závěry.

### Budoucí aktualizace a konkrétní doporučení o výrobcích

WHO úzce spolupracuje se skupinami, které hodnotí výkonnostní a funkční vlastnosti komerčních RD testů detekujících antigen na SARS-CoV-2, aby systematicky kompilovala objevující se důkazy a koordinovala aktualizace. V současné době neexistují dostačující důkazy o výkonnosti a funkčním použití konkrétních komerčních výrobků, které by bylo možné doporučit.

## Reference

1. Foundation for Innovative New Diagnostics. SARS-CoV-2 Diagnostic Pipeline 2020 [Available from: <https://www.finddx.org/covid-19/pipeline/>].
2. U.S. Food & Drug Administration. In Vitro Diagnostics EUAs 2020 [Available from: <https://www.fda.gov/medical-devices/coronavirus-disease-2019-covid-19-emergency-use-authorizations-medical-devices/vitro-diagnostics-euas>].
3. Agency PaMD. PMDA's Efforts to Combat COVID-19 2020 [Available from: <https://www.pmda.go.jp/english/about-pmda/0002.html>].
4. Porte L, Legarraga P, Vollrath V, Aguilera X, Munita JM, Araos R, et al. Evaluation of novel antigen-based rapid detection test for the diagnosis of SARS-CoV-2 in respiratory samples. *Int J Infect Dis*. 2020:S1201-9712(20)30405-7.
5. Diao B, Wen K, Chen J, Liu Y, Yuan Z, Han C, et al. Diagnosis of Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 Infection by Detection of Nucleocapsid Protein. *medRxiv*. 2020:2020.03.07.20032524.
6. Lambert-Niclot S, Cuffel A, Le Pape S, Vauloup-Fellous C, Morand-Joubert L, Roque-Afonso AM, et al. Evaluation of a Rapid Diagnostic Assay for Detection of SARS-CoV-2 Antigen in Nasopharyngeal Swabs. *J Clin Microbiol*. 2020;58(8).
7. Mertens P, De Vos N, Martiny D, Jassoy C, Mirazimi A, Cuypers L, et al. Development and Potential Usefulness of the COVID-19 Ag Respi-Strip Diagnostic Assay in a Pandemic Context. *Front Med (Lausanne)*. 2020;7:225-.
8. Blairon L, Mokrane S, Wilmet A, Dessilly G, Kabamba-Mukadi B, Beukinga I, et al. Large-scale, molecular and serological SARS-CoV-2 screening of healthcare workers in a 4-site public hospital in Belgium after COVID-19 outbreak. *J Infect*. 2020:S0163-4453(20)30514-4.
9. Mak GC, Cheng PK, Lau SS, Wong KK, Lau CS, Lam ET, et al. Evaluation of rapid antigen test for detection of SARS-CoV-2 virus. *Journal of clinical virology : the official publication of the Pan American Society for Clinical Virology*. 2020;129:104500-.
10. Nagura-Ikeda M, Imai K, Tabata S, Miyoshi K, Murahara N, Mizuno T, et al. Clinical evaluation of self-collected saliva by RT-qPCR, direct RT-qPCR, RT-LAMP, and a rapid antigen test to diagnose COVID-19. *J Clin Microbiol*. 2020:JCM.01438-20.
11. Omi K, Takeda Y, Mori M. SARS-CoV-2 qRT-PCR Ct value distribution in Japan and possible utility of rapid antigen testing kit. *medRxiv*. 2020:2020.06.16.20131243.
12. Scohy A, Anantharajah A, Bodéus M, Kabamba-Mukadi B, Verroken A, Rodriguez-Villalobos H. Low performance of rapid antigen detection test as frontline testing for COVID-19 diagnosis. *J Clin Virol*. 2020;129:104455.
13. Weitzel T, Legarraga P, Iruretagoyena M, Pizarro G, Vollrath V, Araos R, et al. Head-to-head comparison of four antigen-based rapid detection tests for the diagnosis of SARS-CoV-2 in respiratory samples. *bioRxiv*. 2020:2020.05.27.119255.
14. Weiss A, Jellingsø M, Sommer MOA. Spatial and temporal dynamics of SARS-CoV-2 in COVID-19 patients: A systematic review and meta-analysis. *EBioMedicine*. 2020;58.
15. Arons MM, Hatfield KM, Reddy SC, Kimball A, James A, Jacobs JR, et al. Presymptomatic SARS-CoV-2 Infections and Transmission in a Skilled Nursing Facility. *New England Journal of Medicine*. 2020;382(22):2081-90.
16. Bullard J, Dust K, Funk D, Strong JE, Alexander D, Garnett L, et al. Predicting infectious SARS-CoV-2 from diagnostic samples. *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America*. 2020:ciaa638.
17. Lee S, Kim T, Lee E, Lee C, Kim H, Rhee H, et al. Clinical Course and Molecular Viral Shedding Among Asymptomatic and Symptomatic Patients With SARS-CoV-2 Infection in a Community Treatment Center in the Republic of Korea. *JAMA Internal Medicine*. 2020.
18. World Health Organization. Post-market surveillance of in-vitro diagnostics. 2015.
19. World Health Organization. Laboratory biosafety guidance related to coronavirus disease 2019 (COVID-19) 2020 [updated 13 May 2020. Available from: [https://www.who.int/publications/i/item/laboratory-biosafety-guidance-related-to-coronavirus-disease-2019-\(covid-19\)](https://www.who.int/publications/i/item/laboratory-biosafety-guidance-related-to-coronavirus-disease-2019-(covid-19))].
20. World Health Organization. COVID-19 Target product profiles for priority diagnostics to support response to the COVID-19 pandemic v.0.1 2020 [updated 31 July 2020. Available from: <https://www.who.int/publications/m/item/covid-19-target-product-profiles-for-priority-diagnostics-to-support-response-to-the-covid-19-pandemic-v.0.1>].
21. Dinnes J, Deeks JJ, Adriano A, Berhane S, Davenport C, Dittrich S, et al. Rapid, point-of-care antigen and molecular-based tests for diagnosis of SARS-CoV-2 infection. *Cochrane Database of Systematic Reviews*. 2020(8).
22. World Health Organization. Infection prevention and control during health care when COVID-19 is suspected 2020 [updated 19 March 2020. Available from: [https://www.who.int/publications/i/item/laboratory-biosafety-guidance-related-to-coronavirus-disease-2019-\(covid-19\)](https://www.who.int/publications/i/item/laboratory-biosafety-guidance-related-to-coronavirus-disease-2019-(covid-19))].
23. World Health Organization. Rational use of personal protective equipment (PPE) for coronavirus disease (COVID-19) 2020 [updated 4 April 2020. Available from: [https://www.who.int/publications/i/item/rational-use-of-personal-protective-equipment-for-coronavirus-disease-\(covid-19\)-and-considerations-during-severe-shortages](https://www.who.int/publications/i/item/rational-use-of-personal-protective-equipment-for-coronavirus-disease-(covid-19)-and-considerations-during-severe-shortages)].
24. World Health Organization. WHO COVID-19 Case definition 2020 [updated 7 August 2020. Available from: [https://www.who.int/publications/i/item/WHO-2019-nCoV-Surveillance\\_Case\\_Definition-2020.1](https://www.who.int/publications/i/item/WHO-2019-nCoV-Surveillance_Case_Definition-2020.1)].



## Poděkování

Tento dokument byl vypracován po konzultaci s:

External: Sergio Carmona, FIND, Switzerland; Arlene Chua, Médecins Sans Frontières, Switzerland; Antonino Di Caro, Istituto Nazionale per le Malattie Infettive Lazzaro Spallanzani, Italy; Sally Hojvat, Partners in Diagnostics, USA; Erik Karlsson, Institut Pasteur du Cambodge, Cambodia; Rosanna Peeling, London School of Hygiene & Tropical Medicine, UK; Leo Poon, Hong Kong University, China, Hong Kong SAR; Chantal Reusken, RIVM, Netherlands; Bill Rodriguez, Draper Richards, Kaplan Foundation, USA; Jilian Sacks, FIND, Switzerland; Anne von Gottberg, National Institute for Communicable Diseases, South Africa

WHO: Jane Cunningham and Mark Perkins (Leads), Amal Barakat, Golubinka Boshevksa, Lisa Carter, Lora Chernyshova, Sebastien Cognat, Radu Cojocaru, Janet Victoria Diaz, Soudeh Ehsani, Belinda Louise Herring, Francis Inbanathan, Alexandr Jaguparov, Iaroslava Maksymovych, Marco Marklewitz, Jairo Mendez-Rico, Karen Nahapetyan, Dmitriy Pereyaslov, Anne Perrocheau, Irena Prat, Artem Skrypnyk, Maja Stanojevic, Ute Ströher, Maria Van Kerkhove, Karin von Eije.

## Prohlášení o střetu zájmů

Prohlášení o střetu zájmu byla shromážděna od všech externích přispěvatelů a posouzena z hlediska střetu zájmů. Nebyly zjištěny žádné významné střety zájmů.

WHO bude situaci i nadále pečlivě sledovat a zaznamenávat jakékoliv změny, které by mohly mít vliv na tyto prozatímní pokyny. Pokud dojde ke změně jakýchkoli faktorů, WHO vydá další aktualizaci. V opačném případě skončí platnost tohoto dokumentu s prozatímními pokyny po uplynutí 2 let od data jeho vydání.

© Světová zdravotnická organizace 2020. Některá práva vyhrazena. Tento dokument je k dispozici na základě licence [CC BY-NC-SA 3.0 IGO](https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/3.0/).

Referenční číslo WHO: [WHO/2019-nCoV/Antigen\\_Detection/2020.1](https://www.who.int/publications/m/item/WHO/2019-nCoV/Antigen_Detection/2020.1)



Příloha 1.

Příloha: Pozitivní prediktivní hodnota (PPH), negativní prediktivní hodnota (NPH), počet správně pozitivních (SP), falešně pozitivních (FP), správně negativních (SN) a falešně negativních (FN) testů v populaci 100 000 s odhadovanou prevalencí COVID-19 na 5, 10, 20, 30 % a na základě doporučených výkonnostních kritérií: citlivost 70, 80, 90 % a specifická 97,5 % a 99,5 %.

Příklad prevalence cílových populací	Prevalence (%)	Citlivost	Specifická	NPH	PPH	SP	FP	SN	FN	Počet s onemocněním	Počet pozitivních testů	Celkem
Symptomatická obecná populace; kontakty indexového případu	5	70	97,5	98,4	59,6	3500	2375	92625	1500	5000	5875	100000
		70	99,5	98,4	88,1	3500	475	94525	1500	5000	3975	100000
		80	97,5	98,9	62,8	4000	2375	92625	1000	5000	6375	100000
		80	99,5	99,0	89,4	4000	475	94525	1000	5000	4475	100000
		90	97,5	99,5	65,5	4500	2375	92625	500	5000	6875	100000
		90	99,5	99,5	90,5	4500	475	94525	500	5000	4975	100000
Komunitní přenos: pacienti s příznaky ve zdravotnických zařízeních; kontakty indexových případů; instituce a uzavřené komunity s potvrzenými ohnisky	10	70	97,5	96,7	75,7	7000	2250	87750	3000	10000	9250	100000
		70	99,5	96,8	94,0	7000	450	89550	3000	10000	7450	100000
		80	97,5	97,8	78,0	8000	2250	87750	2000	10000	10250	100000
		80	99,5	97,8	94,7	8000	450	89550	2000	10000	8450	100000
		90	97,5	98,9	80,0	9000	2250	87750	1000	10000	11250	100000
		90	99,5	98,9	95,2	9000	450	89550	1000	10000	9450	100000
Pacienti s příznaky v referenčním centru; zdravotničtí pracovníci s příznaky nebo jejich screening; pečovatelské domy	20	70	97,5	92,9	87,5	14000	2000	78000	6000	20000	16000	100000
		70	99,5	93,0	97,2	14000	400	79600	6000	20000	14400	100000
		80	97,5	95,1	88,9	16000	2000	78000	4000	20000	18000	100000
		80	99,5	95,2	97,6	16000	400	79600	4000	20000	16400	100000
		90	97,5	97,5	90,0	18000	2000	78000	2000	20000	20000	100000
		90	99,5	97,6	97,8	18000	400	79600	2000	20000	18400	100000
Zdravotničtí pracovníci/uklízečky s příznaky; obyvatelé pečovatelských domů	30	70	97,5	88,4	92,3	21000	1750	68250	9000	30000	22750	100000
		70	99,5	88,6	98,4	21000	350	69650	9000	30000	21350	100000
		80	97,5	91,9	93,2	24000	1750	68250	6000	30000	25750	100000
		80	99,5	92,1	98,6	24000	350	69650	6000	30000	24350	100000
		90	97,5	95,8	93,9	27000	1750	68250	3000	30000	28750	100000
		90	99,5	95,9	98,7	27000	350	69650	3000	30000	27350	100000