



ČESKÉ VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V PRAZE

FAKULTA BIOMEDICÍNSKÉHO INŽENÝRSTVÍ
Katedra zdravotnických oborů a ochrany obyvatelstva

Analýza spolehlivosti prokázání onemocnění SARS-CoV-2 antigenními testy

Analysis of Reliability in Proving SARS-CoV- 2 Disease Using Antigen Tests

Diplomová práce

Studijní program: Civilní nouzové plánování

Autor diplomové práce: Bc. Aneta Břízová

Vedoucí diplomové práce: prof. Ing. Vladimír Pitschmann, CSc.

Kladno 2022

I. OSOBNÍ A STUDIJNÍ ÚDAJE

Příjmení: **Břízová** Jméno: **Aneta** Osobní číslo: **476983**
Fakulta: **Fakulta biomedicínského inženýrství**
Garantující katedra: **Katedra zdravotnických oborů a ochrany obyvatelstva**
Studijní program: **Civilní nouzové plánování**

II. ÚDAJE K DIPLOMOVÉ PRÁCI

Název diplomové práce:

Analýza spolehlivosti prokázání onemocnění SARS-CoV-2 antigenními testy

Název diplomové práce anglicky:

Analysis of Reliability in Proving SARS-CoV-2 Disease Using Antigen Tests

Pokyny pro vypracování:

Předmětem diplomové práce bude zkoumání spolehlivosti antigenních testů prováděných výtěrem z nosohltanu s ohledem na vnější faktory ovlivňující výsledek prováděného testu. Teoretická část bude obsahovat základní a prozatím známé informace týkající se viru SARS-CoV-2 a onemocnění COVID-19 spolu s možnými způsoby a postupy určování výskytu daného onemocnění v lidském organismu. V praktické části budou informace získané v části teoretické vyhodnoceny a porovnány, a to včetně informací získaných v průběhu mého působení v odběrovém centru ve zdravotnickém zařízení. Cílem práce bude vyhodnocení spolehlivosti prováděných antigenních testů a určení jejich chybovosti na základě odlišného výsledku PCR testu u každého vybraného objektu. Daného cíle bude dosaženo především pomocí multikriteriální analýzy a metody KARS, na jehož základě budou navržena případná doporučení pro zkvalitnění provádění testů dokazujících přítomnost viru SARS-CoV-2 v lidském organismu.

Seznam doporučené literatury:

- [1] PEÑA, Mónica, AMPUERO, Manuel, GARCÉS, Carlos et al., Performance of SARS-CoV-2 rapid antigen test compared with real-time RT-PCR in asymptomatic individuals, International Journal of Infectious Diseases, ročník 107, 2021, Červen, 201-204 s., ISSN 1201-9712
- [2] ALBERT, Eliseo, TORRES, Ignacio, BUENO, Felipe et al., Field evaluation of a rapid antigen test (Panbio™ COVID-19 Ag Rapid Test Device) for COVID-19 diagnosis in primary healthcare centres, Clinical Microbiology and Infection, ročník 27, číslo 3, 2021, Květen, 472.e7-472.e10 s., ISSN 1198-743X
- [3] HIROTSU, Yosuke, MAEJIMA, Makoto, SHIBUSAWA, Masahiro et al., Comparison of automated SARS-CoV-2 antigen test for COVID-19 infection with quantitative RT-PCR using 313 nasopharyngeal swabs, including from seven serially followed patients, International Journal of Infectious Diseases, ročník 99, 2020, Říjen, 397-402 s., ISSN 1201-9712

Jméno a příjmení vedoucí(ho) diplomové práce:

prof. Ing. Vladimír Pitschmann, CSc.

Jméno a příjmení konzultanta(ky) diplomové práce:

MUDr. Zuzana Humlová, Ph.D.

Datum zadání diplomové práce: **04.10.2021**

Platnost zadání diplomové práce: **22.09.2023**

doc. Mgr. Zdeněk Hon, Ph.D.
vedoucí katedry

prof. MUDr. Jozef Rosina, Ph.D., MBA
děkan

PROHLÁŠENÍ

Prohlašuji, že jsem diplomovou práci s názvem Analýza spolehlivosti prokázání onemocnění SARS-CoV-2 antigenními testy vypracovala samostatně pouze s použitím pramenů, které uvádím v seznamu bibliografických odkazů.

Nemám závažný důvod proti užití tohoto školního díla ve smyslu § 60 zákona č. 121/2000 Sb., o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon), ve znění pozdějších předpisů.

V Kladně dne 12.05.2022

.....
Bc. Aneta Břízová

PODĚKOVÁNÍ

Stejně, jako tomu bylo během psaní mé bakalářské práce, bych ráda poděkovala svému vedoucímu práce prof. Ing. Vladimíru Pitschmannovi, CSc. za jeho čas, vstřícnost, trpělivost a ochotu vézt i moji další důležitou studijní práci. Díky jeho cenným radám mi bylo vždy umožněno vyřešení dané problematiky.

Rovněž děkuji MUDr. Zuzaně Humlové, Ph.D. za objasnění problematiky v oblastech imunologii a mikrobiologie, které byly nedílným základem k vypracování mé diplomové práce, a také PaedDr. Marii Kocálové a Mgr. Žofii Ucar za konstruktivní připomínky k mé stylistické stránce práce.

ABSTRAKT

Tato diplomová práce se zabývá problematikou rychlého antigenního testování v porovnání s metodou RT-PCR.

Teoretická část práce je věnována základním informacím, které se týkají onemocnění COVID-19, včetně původce tohoto onemocnění viru SARS-CoV-2. Nachází se zde informace o tom, jak se toto nové virové onemocnění přenáší, jaké jsou jeho příznaky či jaké jsou možnosti prevence. Součástí jsou i dosud objevené metody léčby, které vůči tomuto onemocnění zabírají. Velice podstatnou část kapitoly tvoří možné způsoby detekce viru SARS-CoV-2 v lidském organismu.

Za pomoci sběru dat a jejich komparace, multikriteriální analýzy a metody KARS (kvalitativní analýza rizik s použitím jejich souvztažností) jsou v praktické části interpretovány výsledky mé práce. Cílem diplomové práce je určit relativní sensitivitu a specifitu Flowflex SARS-CoV-2 rychlých antigenních testů, přičemž prioritní je následné porovnání klinických charakteristik s údaji uváděnými výrobcem rychlého antigenního testu.

Z výsledků je patrné, že uváděný potenciál Flowflex rychlých antigenních testů nebyl během mého výzkumu naplněn, nicméně i přesto můžeme o antigenním testování mluvit jako o konkurenci schopné metodě detekce viru SARS-CoV-2 vůči RT-PCR testování. Na základě výsledků diplomové práce jsou stanovena navrhovaná opatření, jež by mohla být nápomocna v možném budoucím řešení dané problematiky.

Práce se tak zabývá obecným popisem onemocnění COVID-19, jeho původcem, projevy i léčbou, přičemž tyto informace jsou nezbytné pro stanovení kvality jednotlivých metod detekce onemocnění a jejich následné vzájemné porovnání.

Klíčová slova

COVID-19; SARS-CoV-2; detekce; rychlý antigenní test; RT-PCR; komparace; Flowflex

ABSTRACT

This thesis deals with the issue of rapid antigen testing in comparison with the RT-PCR method.

The theoretical part presents at first basic information about the disease COVID-19 and the associated causative agent of this disease virus SARS-CoV-2. This part provides elemental information about transmission ways of this new viral disease, its symptoms and prevention options. It also includes the treatment methods discovered so far, which help against this disease. Possible methods for detecting SARS-CoV-2 virus in the human body constitute a very important part of this chapter.

The results of my work are interpreted in the practical part, based on data collection and comparison, multicriteria analysis and KARS method (qualitative risk analysis using their correlations). The aim of my thesis is to determine the relative sensitivity and specificity of Flowflex SARS-CoV-2 rapid antigen tests. The significant priority is given to the subsequent comparison of clinical characteristics with the data provided by the manufacturer of the rapid antigen test.

The results show that the reported potential of Flowflex rapid antigen tests was not fulfilled during my research. The antigen testing can be nevertheless considered a competitive method for detecting SARS-CoV-2 virus against RT-PCR testing. The results of the diploma thesis determinate specification of the proposed measures. This contribution could be helpful in a possible future solution of the issue.

The thesis deals with a general description of the disease COVID-19, its causative agent, manifestations and treatment. Information about these topics is necessary for determination of the quality of individual methods in disease detection and their subsequent comparison.

Keywords

COVID-19; SARS-CoV-2; detection; rapid antigen test; RT-PCR; comparison; Flowflex

OBSAH

1	ÚVOD.....	9
2	CÍLE PRÁCE A HYPOTÉZY	10
3	PŘEHLED SOUČASNÉHO STAVU	11
3.1	LIDSKÉ KORONAVIRY	11
3.1.1	Základní charakteristika a postupný výskyt.....	11
3.1.1.1	SARS-CoV.....	11
3.1.1.2	MERS-CoV.....	11
3.1.1.3	SARS-CoV-2.....	12
3.1.2	Zdroj a způsob přenosu koronavirů na člověka	14
3.2	VIRUS SARS-CoV-2	16
3.2.1	Interpersonální přenos onemocnění COVID-19.....	16
3.2.1.1	Přenos kapénkami	17
3.2.1.2	Přenos vzduchem	17
3.2.1.3	Přenos kontaminovanými povrchy	18
3.2.1.4	Jiné cesty přenosu	18
3.2.2	Klinické příznaky onemocnění COVID-19.....	19
3.2.3	Možnosti detekce viru SARS-CoV-2 v lidském organismu	20
3.2.3.1	Metoda RT-PCR.....	20
3.2.3.2	Rychlý antigenní test	23
3.2.3.3	Další možné způsoby detekce.....	24
3.2.4	Prevence a léčba onemocnění COVID-19.....	25
3.2.5	Očkování proti onemocnění COVID-19	26
4	METODIKA	29
4.1	KOMPARACE	29
4.2	KVANTITATIVNÍ A KVALITATIVNÍ SBĚR DAT	29
4.3	MULTIKRITERIÁLNÍ ANALÝZA	31
4.4	ANALÝZA RIZIK METODOU KARS	32
5	VÝSLEDKY	33
5.1	DETEKCE VIRU SARS-CoV-2 ANTIGENNÍMI TESTY	33
5.1.1	Odběrová souprava	33

5.1.2	Provedení odběru odběrovým pracovníkem	34
5.1.3	Vyšetření odebraného vzorku na přítomnost viru SARS-CoV-2	35
5.2	SBĚR DAT A JEHO VYHODNOCENÍ	38
5.2.1	Způsob získávání zásadních údajů	39
5.2.1.1	Specifikace cílové skupiny a plán výběru vzorku	39
5.2.2	Definování problémů a vytyčení cílů	40
5.2.3	Analýza údajů a interpretace výsledků výzkumu	41
5.2.3.1	Relativní citlivost a specifita antigenních testů	42
5.2.3.2	Přesnost antigenních testů	44
5.3	MULTIKRITERIÁLNÍ ANALÝZA	48
5.3.1	Rychlé antigenní testy vs. RT-PCR testy	48
5.4	APLIKACE METODY KARS	53
5.5	NAVRHOVANÁ OPATŘENÍ	58
6	DISKUZE	61
6.1	KLINICKÉ CHARAKTERISTIKY	61
6.2	ROLE VĚKU A POHLAVÍ V ANTIGENNÍM TESTOVÁNÍ	64
6.3	CHYBOVOST A NEVÝHODY ANTIGENNÍHO TESTOVÁNÍ	66
6.4	ANTIGENNÍ TESTOVÁNÍ NEBO METODA RT-PCR?	69
7	ZÁVĚR	73
8	SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK	74
9	SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY	75
10	SEZNAM POUŽITÝCH OBRÁZKŮ	87
11	SEZNAM POUŽITÝCH TABULEK	88

1 ÚVOD

Začátek roku 2020 toho s sebou přinesl mnohé, avšak podstatná většina obyvatel nejen České republiky si tento rok spojí se začátkem pandemie a vznikem koronavirové krize. Pojmy jako rouška, respirátor, výtěr z nosohltanu nebo onemocnění COVID-19 se staly na kratší či delší dobu nedílnou součástí našich životů a do značné míry je ovlivňují dodnes. Došlo nejen k přehodnocení systému zdravotnictví a pohledu na zdravotnické pracovníky, ale i ke zpomalení či až zastavení ekonomického růstu většiny států světa, a přispělo k rozvoji ekonomické krize.

Celosvětové rozšíření onemocnění COVID-19, a v mnoha směrech i jeho ojedinělost v moderních dějinách, přispělo ke změně smýšlení populace, přehodnocení priorit a v neposlední řadě k omezení „normálního“ života tak, jak jsme ho znali. To mělo mimo jiné za následek vzrůst počtu psychických a duševních problémů ve společnosti. Nicméně právě „radikální“ opatření, která byla aplikována, nedlouho na to sehrála důležitou roli v řízení vzniklé situace a způsobila pomalejší šíření viru SARS-CoV-2.

Předmětem mojí diplomové práce je v následujících kapitolách blíže představit nové onemocnění nazývané COVID-19, jehož původcem je vir známý jako SARS-CoV-2. V teoretické části tak jsou podrobně uvedeny základní informace o tomto onemocnění – jaké jsou jeho hlavní příznaky, jakým způsobem dochází k přenosu onemocnění či jak probíhá jeho léčba. Nedílnou součástí teoretické části diplomové práce je stanovení možných způsobů detekce viru SARS-CoV-2.

V praktické části je za pomoci dat získaných během mého působení ve zdravotnickém zařízení vyhodnocen můj vlastní výzkum s cílem potvrdit či vyvrátit deklarovanou sensitivitu a specificitu FlowFlex SARS-CoV-2 rychlých antigenních testů, jejichž výrobcem je ACON Biotech, a to za pomoci několika metod, včetně vyhodnocování a porovnávání informací nacházejících se v teoretické části práce.

Mezi hlavní důvody, proč jsem si zvolila toto téma, patří jak aktuálnost této problematiky, tak i mé zaměstnání ve zdravotnickém odvětví, konkrétně v testovacím centru na COVID-19. Věřím, že i jako poučený laik mohu být v této oblasti užitečná a že mé poznatky mohou někomu posloužit k dalšímu bádání, či alespoň k zamyšlení.

2 CÍLE PRÁCE A HYPOTÉZY

Hlavním úkolem mé diplomové práce je vytvoření analytického souboru vhodných a spolehlivých poznatků k relevantnímu procentuálnímu vyhodnocení sensibility a specificity prováděných rychlých antigenních testů pomocí komparace výsledků jednotlivých odběrů s další metodou detekce viru SARS-CoV-2 v lidském organismu, tj. polymerázovou řetězovou reakcí v reálném čase (dále pouze „RT-PCR“). Na základě výstupů těchto dvou metod bude možné určení chybovosti antigenního testu u každého zkoumaného objektu, kdy testování pomocí RT-PCR testu je bráno jako přesnější, resp. citlivější, a tím pádem výsledek RT-PCR testu lze brát v porovnání s výsledkem rychlého antigenního testu jako směrodatný. K dalšímu zkoumání budou brány v potaz dva významné faktory, které mi pomohou k přijetí či zamítnutí mnou stanovených hypotéz, a to věk a pohlaví testovaných osob.

Daného cíle bude dosaženo pomocí kombinace několika metod potřebných k vyhodnocení dat, která byla získána během mého šetření v období od 1. 1. 2021 do 30. 6. 2021 v Masarykově nemocnici v Rakovníku, a díky kterým byly rovněž ověřeny i hypotézy mé diplomové práce. Získané poznatky z mého zkoumání budou v závěru porovnány s údaji o citlivosti a specifitě rychlých antigenních testů uváděnými výrobcem.

Dílním cílem práce je možné navržení případných doporučení pro zkvalitnění provádění testů dokazujících přítomnost viru SARS-CoV-2 v lidském organismu, a to zejména pomocí multikriteriální analýzy a kvalitativní analýzy rizik a jejich souvztažností (dále pouze „KARS“). Tato doporučení mají za cíl především pomoci v přesnějším a časnějším detekování i menšího množství viru SARS-CoV-2 v lidském organismu.

V rámci diplomové práce jsou stanoveny dvě následující hypotézy, která budou v závěrečné fázi práce potvrzeny či vyvráceny:

1. Mezi přesností výsledků Flowflex SARS-CoV-2 rychlých antigenních testů u žen a mužů je významný rozdíl.
2. Mezi přesností výsledků Flowflex SARS-CoV-2 rychlých antigenních testů u mladších a starších osob je významný rozdíl.

3 PŘEHLED SOUČASNÉHO STAVU

3.1 Lidské koronaviry

3.1.1 Základní charakteristika a postupný výskyt

Koronaviry, běžně označovány jako HCoV (z anglického „human coronavirus“), je čeleď obalených RNA virů, jejichž velikost se pohybuje okolo 100 nanometrů. Většina virů této čeledi způsobuje pouze lehká sezónní onemocnění, jako je například infekční rýma, spojená s daným ročním obdobím. Inkubační doba virů s lehkým průběhem infekce se pohybuje okolo tří dnů, viry rovněž napadají převážně dospělé jedince. Od přelomu století se však stále více potvrzuje skutečnost, že koronaviry způsobují i závažnější infekce dolních cest dýchacích, kdy mluvíme například o bronchitidě, pneumonii nebo i syndromu akutní respirační tísně (ARDS). Tyto závažnější infekce mohou vést až k úmrtí [1,2,3,4].

3.1.1.1 SARS-CoV

Roku 2003 došlo k objevení nového typu koronaviru, který dnes nese označení SARS-CoV, povětšinou známý pouze jako onemocnění „SARS“. Jednalo se o první koronavirus, který způsoboval těžké postižení respiračního traktu s rozvojem atypické pneumonie, která obvykle končila respiračním selháním. Snadný interhumánní přenos viru a jeho vysoká infekčnost oproti dalšímu významnému koronaviru MERS-CoV způsobily v letech 2002–2003 pandemii, jejíž vznik se předpokládá v jihovýchodní Asii, odkud také vir s vysokou pravděpodobností pochází [5,6].

3.1.1.2 MERS-CoV

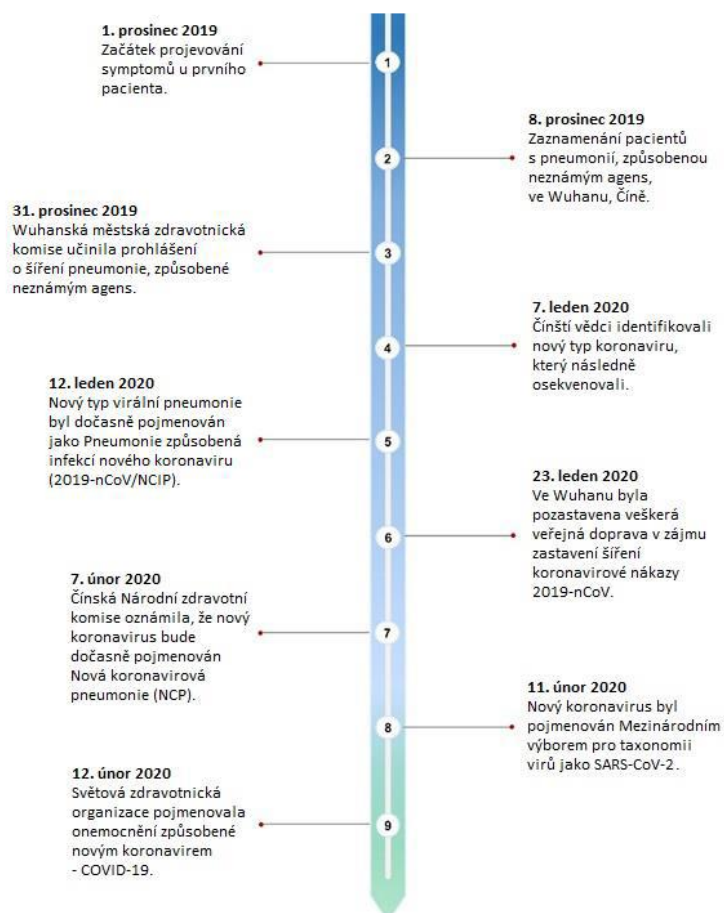
Druhým již zmiňovaným závažným onemocněním, který způsobuje jednu z forem koronaviru, je respirační syndrom MERS, jehož původcem je koronavirus označovaný jako MERS-CoV. Tento vir původem z Blízkého východu nedisponuje tak vysokou účinností jako původce onemocnění SARS, nicméně úmrtnost v důsledku nakažení tímto typem koronaviru je podstatně vyšší. Od objevení viru MERS-CoV v dubnu 2012 až do září 2019 zemřelo na nákazu tímto virem 851 osob, přičemž

laboratorně potvrzených případů bylo „pouze“ 2468. To znamená, že zhruba v 35 % případech tento virus způsobuje smrt [6,7].

3.1.1.3 SARS-CoV-2

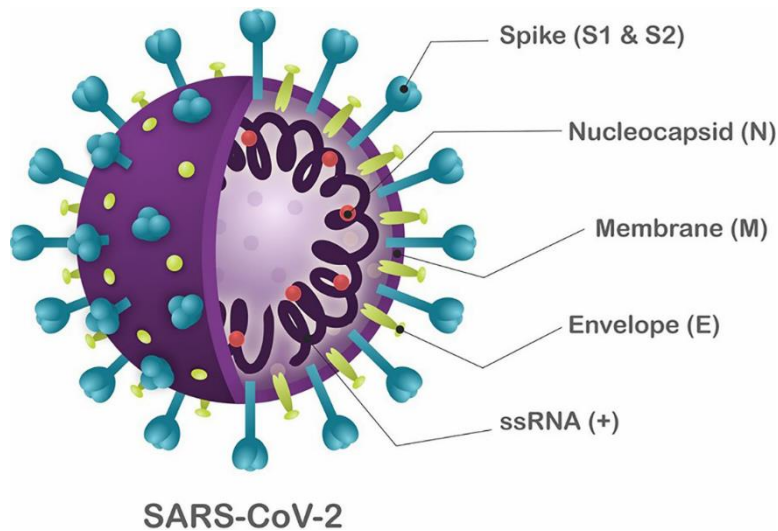
Posledním doposud objeveným lidským koronavirem způsobující závažné onemocnění dolních cest dýchacích cest je vir SARS-CoV-2, známější pod označením onemocnění, které způsobuje, tj. COVID-19. Jedná se o původce pandemie, jehož ohnisko se datuje v prosinci 2019 v čínské městě Wu-chan. Protože tehdejší pokusy o jeho potlačení selhaly, došlo k jeho rozšíření po celém světě.

Na konci ledna 2020 vyhlásila Světová zdravotnická organizace (dále pouze „WHO“) globální stav nouze a označila epidemii COVID-19, způsobenou koronavirem SARS-CoV-2, jako ohrožení veřejného zdraví mezinárodního významu. Chvilí poté bylo toto nové onemocnění vyvolané virem SARS-CoV-2 oficiálně pojmenováno touto organizací jako COVID-19. Více informací týkající se časové posloupnosti zrodu nového typu viru lze vidět na obrázku 1 [8,9,10].



Obrázek 1 – Časová osa zachycující počátky vývoje pandemie viru SARS-CoV-2 [11]

Struktura viru, jak lze vidět na obrázku 2, je primárně tvořena čtyřmi strukturálními proteiny, jako je hrot (S), membrána (M), obal (E) a nukleokapsidové (N) proteiny. Proteiny S, M a E jsou všechny zabudovány do virového obalu, lipidové dvojvrstvy jsou „odvozené“ z membrány hostitelské buňky. N protein interaguje s virovou RNA v jádru virionu [12].



Obrázek 2 – Struktura viru SARS-CoV-2 [12]

Hlavního činitele virulence u SARS-CoV-2 představuje především tzv. „povrchový S protein“. Ten hraje významnou roli rovněž při tvorbě neutralizačních protilátek, které většinou směřují právě proti tomuto proteinu. Charakteristické povrchové S proteiny se nalézají na povrchu viru, ze kterého vyčnívají v podobě „bodlin“, a jsou od sebe rozmístěny zhruba 9–12 nanometrů [7,13].

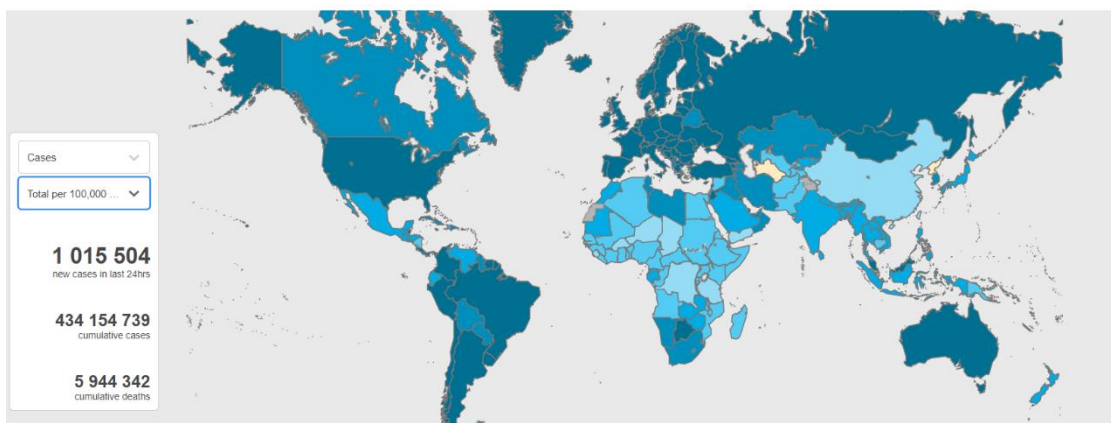
Potvrdilo se, že stejně jako ostatní koronaviry, je i vir SARS-CoV-2 citlivý na UV záření, ionizující záření nebo vyšší teplotu. Co se týče jejich neutralizace, osvědčené jsou dezinfekčními prostředky na bázi chlóru, chloroformu nebo kyseliny peroxyoctové. Dále lze k tomuto účelu použít i lipidová rozpouštědla obsahující ethanol a ether [14].

Většina lidí infikovaných tímto virem prodělá mírné až středně těžké respirační onemocnění a zotaví se, aniž by vyžadovali zvláštní léčbu. Někteří však vážně onemocní a vyžadují hospitalizaci a intenzivní lékařskou péči. Starší lidé a lidé se základními zdravotními problémy, jako jsou kardiovaskulární onemocnění, cukrovka, chronické respirační onemocnění nebo rakovina, mají větší pravděpodobnost, že se u nich vyvine

vážnější průběh onemocnění. Jak se ukázalo, mít těžký průběh onemocnění COVID-19 není záležitost pouze osob starší generace, ale i mladších, sportovně založených lidí [15].

Onemocnění COVID-19 již bylo od začátku pandemie prokázáno v 434 154 739 případech, počet zemřelých se k dnešnímu dni blíží k šesti milionům (datováno k 1. 3. 2022). Tato čísla rozhodně nejsou konečná a nelze ani počítat s tím, že se jedná o reálný počet všech nakažených osob, které prodělaly onemocnění COVID-19. Ne každá osoba se v případě příznaků nasvědčujících tomuto onemocnění nechala testovat a nemoc si potvrdit. Rovněž nelze počítat s tím, že počet onemocnění se rovná počtu osob. Jak se v průběhu času potvrdilo, existuje hned několik případů reinfekcí tímto onemocněním u jedné a té samé osoby [16,17].

V České republice se onemocnění COVID-19 potvrdilo v 3 574 328 případech, přičemž pro 38 592 osob bylo toto onemocnění smrtelné (datováno k 1. 3. 2022). Vzhledem k počtu obyvatel a potvrzeným případům se tak řadíme mezi nejvíce zasažené země tímto onemocněním, jak lze vidět na obrázku 3. Tmavší barva označuje vyšší procento počtu nakažených v závislosti na celkovém počtu obyvatel dané země. V našem případě se jedná o 33 424 případů na 100 000 obyvatel, což nás řadí před takové státy, jako je Velká Británie (27 701 případů na 100 000 obyvatel), Spojené státy americké (23 621 případů na 100 000 obyvatel) nebo Španělsko (23 192 případů na 100 000 obyvatel) [16].



Obrázek 3 – Celkový počet nakažených osob na 100 000 obyvatel [16]

3.1.2 Zdroj a způsob přenosu koronavirů na člověka

Lidské koronaviry jsou viry zootického původu, což znamená, že jsou přirozeně přenosné mezi zvířaty a mohou být tak přímým kontaktem přeneseny na člověka. Stejně

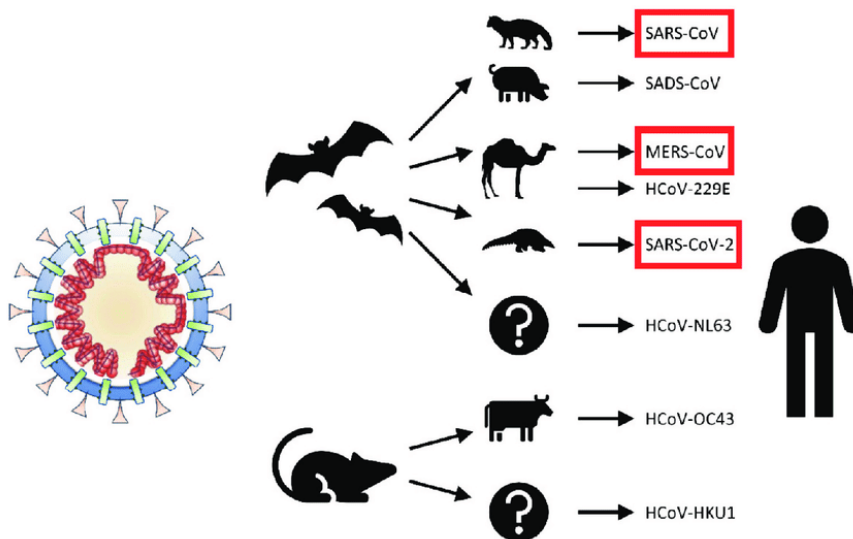
jako i jiné druhy RNA virů se i koronaviry vyznačují vysokou rychlostí rekombinace, která umožňuje jejich snadné šíření jak mezi lidmi, tak i mezi zvířaty [6,18].

Předpokládá se, že koronaviry SARS-CoV, MERS-CoV a SARS-CoV-2 mají původ ze zvířat, konkrétně z netopýrů. Ti jsou přirozeným hostitelem i rezervoárem hned několika druhů virů, ostatně jako i jiná volně žijící zvířata. Nicméně ve většině případů dochází k přenosu viru na člověka přes zvířecího meziphostitele. Od roku 2005 se podařilo v těle netopýrů objevit několik dalších nových koronavirů, a dokonce se hned několikrát potvrdily i domněnky, že sami netopýři mohou být i zdrojem nákazy pro člověka [18,19].

Jak bylo nastíněno v předešlém odstavci, původním hostitelem nejen pro vir SARS-CoV je netopýr. K přenosu viru na člověka došlo s nejvyšší pravděpodobností z meziphostitele, kterým mohly být cibetky nebo psíci mývalovití. Ti jsou často prodáváni na čínských tzv. „mokrých“ trzích, kde se nejčastěji prodává zejména čerstvé maso, ryby, jejich produkty a velké množství jiného zboží, které podléhá rychlé zkáze [10,20,21].

Virus MERS-CoV byl přenesen na člověka z infikovaného dromedára. Jedná se o vir, který je přenosný přímým nebo nepřímým kontaktem s infikovanými zvířaty. Poprvé byl MERS-CoV identifikován u dromedárů v několika zemích na Středním východě, v Africe a jižní Asii, a ačkoliv původ viru není zcela objasněn, dle analýzy různých virových genomů se předpokládá, že mohl pocházet z netopýrů a později se někdy v dávné minulosti přenesl na velbloudy [6,22].

Koronavirus SARS-CoV-2 je nový koronavirus, který do roku 2019 nebyl u lidí identifikován. Jedná se o třetí koronavirus, který v posledních dvou desetiletích způsobil ve světě pandemii. Stejně jako u jeho předchůdce SARS-CoV je původcem viru netopýr, nicméně možný meziphostitel není dosud jasně znám. Nejčastěji se v této souvislosti mluví o malajském zvířeti luskounu ostrovní, je však třeba vyčkat na více přímých důkazů o této spojitosti. Obrázek 4, který zobrazuje původ a meziphostitele všech doposud známých lidských koronavirů, označuje jako meziphostitele u viru SARS-CoV-2 právě tohoto savce. Nejvýznamnější druhy koronavirů, které rovněž ve své práci zmiňuji, jsou na tomto obrázku zvýrazněny červeným obdélníkem. Nový koronavirus SARS-CoV-2 díky svému snadnému přenosu a vysoké infekčnosti překonal počet nakažených lidí i rozsah rozšíření epidemie SARS nebo MERS [7,23,24].



Obrázek 4 – Původ lidských koronavirů s jejich mezipřehostiteli [25]

3.2 Virus SARS-CoV-2

Nejlepší způsob, jak zabránit a zpomalit přenos, je být dobře informován o nemoci a o tom, jak se virus distribuuje. Proto je důležité chránit sebe a ostatní před infekcí tím, že zůstaneme ve vzdálenosti alespoň 1,5 metru od ostatních, budeme nosit správně nasazenou masku, potažmo respirátor, a budeme si často a správně mýt ruce nebo používat vtírání dezinfekce na bázi alkoholu (např. na bázi 95% ethanolu). Rovněž je důležité cvičit dechovou „etiketu“, například kašláním do ohnutého lokte, a zůstat doma a izolovat se, dokud se necítíme zdraví, respektive dokud nám není opět dobře [15,26].

3.2.1 Interpersonální přenos onemocnění COVID-19

Virus SARS-CoV-2 je respirační virus, který do organismu vstupuje nejčastěji prostřednictvím nosní sliznice, dále sliznice úst a oční spojivkou. Dochází k tomu v důsledku blízkého kontaktu s infikovanou osobou prostřednictvím respiračních kapek, či aerosolů. Kromě tohoto způsobu přenosu nákazy je nutné brát v potaz i nákazu prostřednictvím kontaminovaných povrchů, která s první variantou přenosu úzce souvisí. Často se však jedná o kombinaci výše uvedených přenosů (například v restauraci, v kině, na kulturních akcích, ve fitness centru apod.). Kromě toho je SARS-CoV-2 vir snadněji přenositelný než jiní původci respiračních onemocnění (MERS, SARS), což je dáno především jeho 3x – 10x vyšší afinitou zejména k angiotensin-konvertujícímu enzymu 2 (dále pouze „ACE2 receptor“), který virus SARS-CoV-2 po průniku do hostitelských buněk využívá k rychlému přenosu infekce [27,28,29].

Mezi další cesty, jak se může člověk infikovat, patří například fekálně-orální přenos, trans placentární přenos, pohlavní přenos, přenos krví a jiné méně či více významné způsoby přenosu, které však nejsou v současné době dostatečně analyzovány [30].

3.2.1.1 Přenos kapénkami

Současné důkazy naznačují, že se virus šíří především mezi lidmi, kteří jsou spolu v přímém, nepřímém, a především úzkém kontaktu, a to nejčastěji na konverzační vzdálenost (v okruhu jednoho metru). Virus se může šířit z úst nebo z nosu infikované osoby prostřednictvím infekčních sekretů v podobě malých kapalných částic, a to například když infikovaný jedinec kašle, kýchá, mluví, zpívá nebo dýchá. Jiná osoba se pak může nakazit virem, když se infekční částice, které procházejí vzduchem, dostanou do přímého kontaktu s očima, nosem, nebo ústy, nebo když jsou infekční částice, které procházejí vzduchem vdechovány na krátkou vzdálenost (často se tomu říká aerosol na krátké vzdálenosti nebo přenos vzduchem na krátké vzdálenosti). Respirační kapénky jsou v průměru větší než 5–10 mikronů (milióntin metru), zatímco kapénky menší jsou označovány jako aerosol (jádra kapének). Dávka, která je „nutná“ k nakažení infikovanou osobou se odhaduje na více než 100–1000 partikulí viru SARS-CoV-2 [4,27,30,31,32,33,34].

3.2.1.2 Přenos vzduchem

Dlouhou dobu se předpokládalo, že přenos viru SARS-CoV-2 vzduchem je prakticky nepravděpodobný. Následné výzkumy však dokázaly, že infekční kapénky viru jsou natolik malé, aby mohly ve vzduchu setrvat dostatečně dlouhou dobu k potenciálnímu nakažení vnímaného jedince. Samotné šíření viru tzv. diseminací (rozsevem) se uskutečňuje především v přeplněných vnitřních prostorech, kde mají lidé tendenci trávit delší dobu. Je to proto, že aerosoly mohou zůstat „viset“ ve vzduchu nebo cestovat na větší vzdálenost, než je konverzační vzdálenost (často se tomu říká dálkový aerosol nebo dálkový přenos vzduchem). Otázkou zůstává, zda dochází k šíření viru aerosolem i ve vnitřních zařízeních, kde nedochází k vysoké koncentraci osob, avšak je zde problém se špatnou ventilací [27,31,33].

Čím vyšší je intenzita vydechaného vzduchu ústy či nosem infikovaného jedince, tím se zvyšuje počet kapének i virových partikulí přenášející vir SARS-CoV-2 v daném prostoru, čímž se zvyšuje i pravděpodobnost nakažení daného zdravého jedince. Pro lepší orientaci – při výdechu se uvolňuje zhruba 50–5 000 kapének s velmi malou rychlostí a minimem virových partikulí. Intenzivnějším dýcháním, respektive mluvením, se tento počet zvyšuje a může dosahovat až několikanásobně vyšších hodnot – například při kašlání se uvolňuje okolo 3 000 kapének, při kýchnutí je to až 10x více [32].

3.2.1.3 Přenos kontaminovanými povrchy

Kapénky, které se vylučují prostřednictvím dýchacích cest nakažených jedinců, významně přispívají ke kontaminaci povrchů z důvodu ulpívání těchto kapének právě na různých typech povrchu. Dle typu povrchu lze vir SARS-CoV-2, který je stále infekční a má tedy potenciál někoho nakazit, na daných předmětech nebo površích najít po dobu několika málo hodin až dnů. To vše závisí rovněž na podmínkách okolního prostředí (teplota, vlhkost), kde se daný virus nachází. Mezi povrchy, na kterých virus SARS-CoV-2 přežije nejdéle, patří plasty nebo nerezová ocel. Lidé se také mohou nakazit, když se dotknou prostřednictvím neočištěných rukou očí, nosu nebo úst poté, co se dotkli povrchů nebo předmětů, které byly kontaminovány respiračními sekrety nebo kapénkami, které vylučují infikovaní jedince. Riziko infekce z povrchů je tak vyšší v případě masivní kontaminace, například v domácnosti nemocného. K přenosu v případě kontaminovaných povrchů dochází tedy nepřímo [27,30,31,35].

3.2.1.4 Jiné cesty přenosu

Virus SARS-CoV-2 byl detekován i v jiných biologických materiálech od krve přes stolici až po moč nemocných, nicméně nelze tyto informace, a především cesty přenosu brát jako epidemiologicky relevantní a v danou chvíli dostačující. Některé výzkumy se blíže zajímaly o možný krevní přenos viru SARS-CoV-2, přesto tato otázka stále zůstává nezodpovězena. Nicméně je jisté, že virus se v krevní plazmě nebo séru může množit v krvinkách [27,35].

V současné době existuje pouze minimum případů, kde by se potvrdil přenos viru SARS-CoV-2 z infikované těhotné ženy na její plod. Tím můžeme považovat transplacentární přenos viru z pozitivní matky na plod jako vzácný. Perinatální přenos (přenos

krátce po narození dítěte) byl potvrzen, nicméně v současnosti nevidujeme bližší studie na toto téma [27,36].

Co se týče pravděpodobnosti přenosu infekce z jiného zvířete na člověka, neexistují prozatím relevantní informace na toto téma a neexistují důkazy, že savci představují významné riziko přenosu viru na člověka. Domácí zvířata mají mnohem větší pravděpodobnost, že virus získají od lidí, než je tomu naopak [27].

3.2.2 Klinické příznaky onemocnění COVID-19

Příznaky onemocnění COVID-19 se mohou objevit 2 až 14 dní po expozici s nakaženým jedincem. Tato doba po expozici a před vznikem příznaků se nazývá inkubační doba. Virus SARS-CoV-2 tak můžeme šířit dále, aniž by se objevily jakékoliv příznaky – v této souvislosti tak mluvíme o presymptomatickém přenosu. V průměru totiž trvá zhruba 5–6 dní od okamžiku, kdy je někdo infikován virem, než se příznaky projeví. Tato doba je však poměrně individuální a musíme počítat s tím, že první příznaky onemocnění se mohou objevit až za 14 dnů [37,38].

COVID-19 ovlivňuje různé lidi různými způsoby. U většiny infikovaných lidí se vyvine mírné až středně těžké onemocnění a zotaví se bez hospitalizace. Někteří však mají vážné příznaky, a proto je nutné ihned vyhledat lékařskou pomoc. Lidé s mírnými příznaky, kteří jsou jinak zdraví, by měli své příznaky zvládnout doma. Příklad takových příznaků lze vidět v tabulce 1 [15].

Tabulka 1 – Klinické příznaky onemocnění COVID-19 [15]

Nejčastější příznaky	Méně obvyklé příznaky	Závažné příznaky
horečka	bolest v krku	dýchací obtíže nebo dušnost
kašel	bolest hlavy	ztráta řeči nebo schopnosti pohybu či zmatenost
únava	bolesti	bolest na hrudi
ztráta chuti nebo čichu	průjem	
	vyrážka na těle nebo barevné změny na prstech rukou nebo nohou	
	zarudlé nebo podrážděné oči	

Tento seznam však samozřejmě není úplný. Děti mají podobné příznaky jako dospělí a obecně mají mírný průběh onemocnění. Někteří jedinci mohou pociťovat příznaky COVID-19 déle než čtyři týdny poté, co jim byla nemoc diagnostikována. Tyto zdravotní problémy se obecně označují „stavy po onemocnění COVID-19“. Některým lidem se během inkubační doby nemusí projevit žádné příznaky, ale přesto mohou virus šířit dále, což je nesmírně problematické pro zabránění šíření infekce COVID-19. V praxi to znamená, že tito jedinci pro nás představují velké riziko nekontrolovatelného šíření tohoto onemocnění [37].

Starší lidé mají vyšší riziko vážného průběhu onemocnění COVID-19 a to zejména v kombinaci s dalšími negativními faktory, jako jsou zejména již existující zdravotní potíže. Zdravotní stavy, které mohou zvýšit riziko vážného onemocnění COVID-19, zahrnují například závažná srdeční onemocnění, rakovinu, diabetes 1. nebo 2. typu, nadváhu a obezitu či vysoký krevní tlak [37].

3.2.3 Možnosti detekce viru SARS-CoV-2 v lidském organismu

V současné době existuje hned několik metod, jak včasné a pokud možno s co největší přesností určit diagnózu onemocněním COVID-19, aby se co nejefektivněji zabránilo dalšímu šíření této infekce. Mluvíme zejména o laboratorních testech, mezi něž se řadí přímý průkaz viru SARS-CoV-2 metodou RT-PCR, přímý průkaz pomocí antigenního testu, nebo nepřímý průkaz stanovení protilátek imunoglobulinu (dále pouze „Ig“) M, IgA či IgG [3,39,40].

Důležité je zmínit, že bez správného a kvalitního odběru klinického materiálu a bez vhodně vybavené laboratoře nelze s vysokou přesností určit nákazu onemocněním COVID-19. Samotný odběr materiálu i laboratorní testy musí provádět zdravotní pracovník [28,40].

3.2.3.1 Metoda RT-PCR

Metoda RT-PCR v reálném čase je jednou z nejpoužívanějších laboratorních metod pro detekci viru SARS-CoV-2. Zatímco mnoho zemí používá RT-PCR v reálném čase k diagnostice jiných nemocí, jako je ebola nebo zika, řada jiných států potřebovala

podporu při přizpůsobení této metody pro virus SARS-CoV-2 a také při zvyšování svých národních testovacích kapacit [41].

RT-PCR je variantou PCR neboli polymerázové řetězové reakce. Tyto dvě techniky používají stejný proces kromě toho, že RT-PCR má přidaný krok reverzní transkripce RNA na DNA nebo RT, aby se umožnila amplifikace. To znamená, že PCR se používá pro patogeny, jako jsou viry a bakterie, které již obsahují DNA pro amplifikaci, zatímco RT-PCR se používá pro ty, které obsahují RNA, kterou je třeba přepsat na DNA pro amplifikaci. Obě techniky lze provádět v „reálném čase“, což znamená, že výsledky jsou viditelné téměř okamžitě, zatímco při „konvenčním“ použití jsou výsledky viditelné až na konci reakce [41,42].

Vzhledem k tomu, že onemocnění COVID-19 obsahuje pouze RNA, používá se k jeho detekci RT-PCR. To znamená, že se „viry“ při množení a přežití spoléhají na infiltraci zdravých buněk. Jakmile se virus dostane do buňky, použije svůj vlastní genetický kód – RNA v případě viru SARS-CoV-2 – k převzetí kontroly nad buňkami a jejich „přeprogramování“, následně je přeměněn v „továrny“ na výrobu virů [41].

RT-PCR v reálném čase je metoda odvozená z jádra pro detekci přítomnosti specifického genetického materiálu v jakémkoli patogenu, včetně viru. Původně metoda využívala k detekci cílených genetických materiálů radioaktivní izotopové markery, ale následná rafinace vedla k nahrazení izotopového značení speciálními markery, nejčastěji fluorescenčními barvivy. Tato technika umožňuje vědcům vidět výsledky téměř okamžitě, zatímco proces stále probíhá [41].

Vědci statisíckrát amplifikují konkrétní část přepsané virové DNA. Amplifikace je důležitá pro vědce, aby měli dostatečně velké množství cílových úseků virové DNA a přesně potvrdili, že je virus přítomen. Bez amplifikace by se vědci snažili odhalit nepatrné množství viru mezi miliony řetězců genetické informace [41].

Vzorek pro vyšetření je standardně odebírán z té části těla, kde se virus SARS-CoV-2 shromažďuje, jako je nos nebo hrdlo člověka. Odběr vzorku musí být proveden kvalitně, jinak hrozí vznik falešné negativy. Výtěr z nosohltanu se provádí speciálním dakronovým, respektive polyesterovým stěrovým tampónem. V praxi se jedná o tyčinku

vyrobenou z plastu, na jejímž hrotu je jemný kartáček ze syntetického materiálu. Tampón se po odběru „láme“ do zkumavky s virologickým médiem a následně je odvezen do laboratoře dle přesně definovaných postupů [41,43].

Vzorek je ošetřen několika chemickými roztoky, které odstraňují látky, jako jsou proteiny a tuky, a které extrahují pouze RNA přítomnou ve vzorku. Tato extrahovaná RNA je směsí vlastního genetického materiálu dané osoby, a pokud je přítomna, také RNA viru [41].

RNA je i dle obrázku 5 následně reverzně transkribována na DNA pomocí specifického enzymu reverzní transkriptázy. Pak se přidají další krátké fragmenty DNA, které jsou komplementární ke konkrétním částem přepsané virové DNA. Pokud je virus přítomen ve vzorku, tyto fragmenty se samy připojí k cílovým úsekům virové DNA. Některé z přidávaných genetických fragmentů se používají pro stavbu řetězců DNA během amplifikace, zatímco jiné se používají pro stavbu DNA a přidávání markerových značek k řetězcům, které se pak používají k detekci viru [41].



Obrázek 5 – Průběh reverzní transkripce [41]

Směs se poté umístí do zařízení pro RT-PCR. Stroj cyklicky prochází teplotami, které ohřívají a ochlazují směs, aby spustil specifické chemické reakce, které vytvářejí nové, identické kopie cílových úseků virové DNA. Cyklus se opakuje cyklicky, aby se pokračovalo v kopírování cílových úseků virové DNA. Každý cyklus zdvojnásobí předchozí počet: ze dvou kopií se stanou čtyři, ze čtyř kopií osm a tak dále. Standardní nastavení RT-PCR v reálném čase obvykle prochází 35 cykly, což znamená, že na konci procesu se z každého vlákna viru přítomného ve vzorku vytvoří přibližně 35 miliard nových kopií úseků virové DNA [3,41]

S vytvářením nových kopií řezů virové DNA se markerové štítky připojují k řetězcům DNA a poté uvolňují fluorescenční barvivo, které je měřeno počítačem RT-PCR stroje a prezentováno v reálném čase na obrazovce. Počítač sleduje intenzitu fluorescence ve vzorku po každém cyklu. Když je překročena určitá úroveň fluorescence, potvrzuje to přítomnost viru. Také se sleduje, kolik cyklů je zapotřebí k dosažení této úrovně, aby bylo možné odhadnout závažnost infekce – čím méně cyklů, tím závažnější je virová infekce [41].

Technika RT-PCR v reálném čase je vysoce citlivá a specifická a může poskytnout spolehlivou diagnózu již za tři hodiny, ačkoli v praxi toto vyhodnocení trvá o několik hodin déle. Ve srovnání s jinými dostupnými metodami izolace viru je RT-PCR v reálném čase výrazně rychlejší a má nižší potenciál kontaminace nebo chyb, protože celý proces lze provádět v uzavřené zkumavce. Nadále jde tak o nejpřesnější dostupnou metodu pro detekci viru SARS-CoV-2 [41].

RT-PCR v reálném čase však nelze použít k detekci minulých infekcí, což je důležité pro pochopení vývoje a šíření viru, a to z toho důvodu, že viry jsou v těle přítomny pouze po určitou dobu. K detekci, sledování a studiu minulých infekcí, zejména těch, které se mohly rozvinout a rozšířit bez příznaků, jsou nutné další metody [41].

3.2.3.2 Rychlý antigenní test

Rychlý antigenní test k potvrzení onemocnění COVID-19 je druhotný průběžný chromatografický imunologický test obecně sloužící pro detekci viru SARS-CoV-2 v lidském organismu. V současné době existuje hned několik způsobů odběru vzorku, a to výtěrem z kraje nosu, z nosohltanu nebo hltanu, případně odběrem slin či kloktáním [44].

Oproti RT-PCR testu má antigenní test nespornou výhodu v tom, že vyhodnocení testu je prováděno přímo na místě odběru, kdy výsledek se testovaná osoba dozví velmi rychle – od odběru po odečet výsledku by nemělo uběhnout více než 30 minut, ideálně však 15-20 minut. I z tohoto důvodu se antigenní testy nejčastěji používají ve zdravotnických zařízeních, dříve i ve firmách k testování zaměstnanců nebo ve školství k hromadnému testování žáků (k 10. 3. 2022). Příznivá je i cena antigenního testu, která je až 4x nižší než cena RT-PCR testu, nicméně oproti RT-PCR testu je třeba počítat

se sníženou citlivostí, kdy i při správném odběru nemusí docházet k potvrzení onemocnění v jeho rané fázi [45]

Vzhledem k tomu, že má diplomová práce pojednává především o antigenním testování, bližší informace a postup provádění tohoto typu testu se nachází v praktické části práce; všechna důležitá data se přitom vztahují zejména na konkrétní typ antigenního testu od firmy Flowflex (Acon Biotech), který byl využíván ke sběru dat a jejich vyhodnocení.

3.2.3.3 Další možné způsoby detekce

Test na protilátky, známý také jako sérologický test, dokáže detekovat protilátky proti viru SARS-CoV-2 v naší krvi. Samotné protilátky jsou proteiny, které vytváří náš imunitní systém, aby pomohly bojovat s infekcí a chránily nás před budoucím onemocněním. Testy na protilátky by se neměly používat k diagnostice současné infekce, ale mohou naznačovat, zda již byla infekce v minulosti prodělána. Testy pomáhají zjistit, jak se lidský imunitní systém brání proti viru, a také získat informace o ochraně na úrovni populace. Pokud podstoupíme test na protilátky po podání vakcíny, můžeme mít pozitivní výsledek testu na některé (ale ne však všechny) protilátky. To, že nám bude zjištěná určitá hladina protilátek, však ještě nemusí znamenat, že jsme chráněni před reinfekcí COVID-19. Tyto protilátky nám ovšem mohou pomoci předcházet vážnému průběhu onemocnění. Úroveň imunity a doba trvání imunity zatím nejsou známy a nadále se studují [46,47].

Protilátky proti onemocnění COVID-19 se objevují až ve 2. - 3. týdnu nemoci. IgM, IgA a IgG protilátky se mohou tvořit zároveň. Přítomnost IgM nám v těle „ohlašuje“ probíhající infekci a to znamená, že postupem času z těla úplně vymizí. Naproti tomu přítomnost IgG v krvi oznamuje, že infekce již byla v minulosti prodělána. Tyto Ig se v těle drží až několik měsíců. Poslední IgA se vytvářejí pouze na sliznici dýchacích cest a v tělních sekretech. Pokud test vyjde pozitivní pouze na tento typ protilátek, znamená to, že se infekce nerozšířila dále do těla a s největší pravděpodobností proděláváme asymptomatický nebo mírný symptomatický průběh nemoci [48,49,50].

Stanovení protilátek probíhá v laboratoři, a to buď ze séra nebo rychlotestem z kapilární krve. Druhý zmiňovaný způsob je však poměrně nespolehlivý a neměl by se proto používat. Nejvhodnější test ke stanovení protilátek přítomných v séru

odebíraného jedince je „virus neutralizační test“, který nám dovoluje s vysokou specifikou a senzitivitou určit množství titru protilátek v séru. Stanovení neutralizačních protilátek je nutné k výběru potenciálních dárců rekonvalescentní plazmy. Tato plazma byla použita k léčbě pacientů s těžkým onemocněním k posílení schopnosti bojovat s infekcí. Odebírá se osobám, které se uzdravily z COVID-19 a byli způsobilí darovat plazmu. Vyšetření protilátek proti SARS-CoV-2 může být hrazeno zdravotními pojišťovnami, ale pouze v případě indikace infektologem, imunologem nebo hematologem [46,48,51].

3.2.4 Prevence a léčba onemocnění COVID-19

Očkování proti COVID-19 je klíčovou součástí prevence, o které pojednává další podkapitola. Kromě toho bychom ale měli dodržovat několik následujících kroků „nespecifické prevence“:

- Na veřejnosti by si lidé měli zakrývat nos a ústa. Pokud je u osob prokázáno onemocnění COVID-19, může docházet k jeho šíření i v asymptomatické fázi. Masku nosíme, abychom chránili především ostatní. Stále by měl být dodržován odstup zhruba dva metry od lidí kolem nás a v případě, že se necítíme dobře, bychom měli zůstat doma, případně podstoupit test na průkaz onemocněním COVID-19.
- Je třeba si často a správně mýt ruce mýdlem a vodou nebo je čistit dezinfekčním prostředkem na bázi alkoholu. To eliminuje viry vyskytující se na našich rukou.
- Dalším bodem je zbytečně se nedotýkat povrchů, které mohou být kontaminované. Koronaviry mohou žít na povrchu, kterého se dotkneme, až několik hodin. Pokud se nám viry z těchto povrchů dostanou na ruce a dotkneme se očí, nosu nebo úst, mohou se rovněž dostat do našeho těla.
- Dezinfikujme povrchy, kterých se často dotýkáme, jako jsou stoly, kliky, vypínače, toaleta nebo umyvadlo. Při čištění je důležité nosit rukavice pro ochranu kůže a po dokončení čištění je nutné rukavice vyhodit.
- Nakonec je třeba dbát o svoje zdraví průběžně, a to zejména posilováním imunity zdravým životním stylem a přísunem vitamínů [52,53].

V případě, že onemocníme virem SARS-CoV-2 je třeba přísně dodržovat izolaci, která podle vážnosti průběhu onemocnění probíhá v domácím nebo zdravotnickém

prostředí. Tato izolace je důležitá pro zvládnutí situace a omezení dalšího šíření nemoci. V případě domácí izolace je třeba bedlivě sledovat svůj zdravotní stav, případně ho konzultovat se svým ošetřujícím lékařem. Léčba tak probíhá nejčastěji podle vlastního posouzení, symptomaticky, případně je nutné využít léků na předpis, jako jsou různá antivirotika [53].

Vědci z celého světa pracují na nalezení a vývoji léčby COVID-19. V případě hospitalizace je možné využít různé monoklonální protilátky, které brání vazbě viru na receptor ACE2. Optimální podpůrná péče zahrnuje rovněž podání kyslíku včetně HFNO (vysokoprútokové podání). Důležitá je i pokročilejší podpora dýchání, jako je umělá ventilace pro pacienty, kteří jsou kriticky nemocní nebo napojení na ECMO (extrakorporální membránová oxygenace). Uplatňují se i systémové kortikoidy, jako je dexamethason, který může pomoci zkrátit dobu na ventilátoru a zachránit životy pacientů s těžkým a kritickým onemocněním [53].

Výsledky studie Solidarity WHO kromě toho prokázaly, že často diskutované léky remdesivir, hydroxychlorochin, lopinavir/ritonavir a interferon mají podle všeho nízký nebo nulový vliv na mortalitu nebo nemocniční průběh COVID-19 u hospitalizovaných pacientů. Například studie ohledně zmíněného léku remdesivir, který jako první získal schválení Úřadu pro kontrolu potravin a léčiv, ukazují, že hospitalizovaní pacienti s COVID-19 se zotavili přibližně za 11 dnů ve srovnání s 15 dny u pacientů léčených placebem. Aby však bylo možné objektivně a adekvátně posoudit účinnost remdesiviru a jiných léků používaných při léčbě COVID-19, je zapotřebí dalších studií. Ty v případě léku remdesivir probíhají v současnou chvíli v zemích jako je USA, Norsko, Kanada, Francie a Čína [52,54,55]

3.2.5 Očkování proti onemocnění COVID-19

Jak je historicky běžné, vývoj a výzkum vakcín je obvykle záležitostí na několik let. Je tomu tak především z důvodu maximálního eliminování vedlejších účinků vakcíny a tím pádem zajištění bezpečnosti očkování jedince, ale i z důvodu zajištění co nejlepší funkčnosti vakcíny. Vakcína tak musí splňovat několik základních podmínek – musí být účinná, bezpečná, stabilní, a aby bylo možné očkovat co nejvíce osob, musí být také cenově dostupná [3,34,56].

Z důvodu, že pandemie onemocnění COVID-19 způsobila naléhavou situaci, vývoj vakcín proti onemocnění se stal celosvětově prioritou číslo jedna. Veškeré možné finanční prostředky a výzkum směřoval k co nejrychlejšímu vývoji funkčních vakcín proti nově objevenému nebezpečnému onemocnění. Úsilí o co nejrychlejší vytvoření očkovací látky proti onemocnění COVID-19 eskalovalo vznikem několika druhů vakcín, které ke konci roku 2020 obdržely povolení pro nouzové použití [57].

První program hromadného očkování byl tak zahájen začátkem prosince 2020. Bezpečné a účinné vakcíny jsou nástrojem, které mění situaci, nicméně dle mého názoru je i nadále nutné dodržovat základní body prevence. Být očkován totiž neznamená, že přestaneme být opatrní a budeme vystavovat sebe i ostatní riziku nemoci. Stále probíhá výzkum, do jaké míry vakcíny chrání před infekcí a přenosem [58].

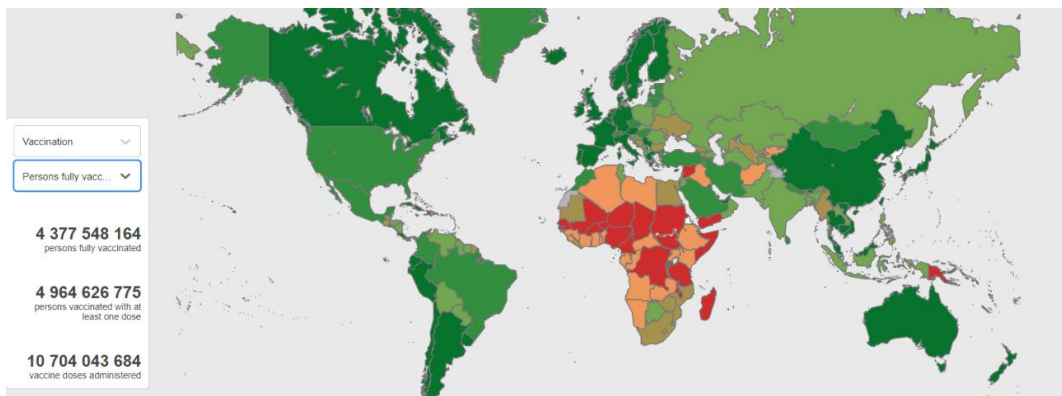
V současné době, tj. na začátku března 2022, jsou vakcíny dostupné pro děti již od 5 let. Tyto vakcíny jsou třetinovou dávkou vakcíny Pfizer-BioNTech Comirnaty, která je povolena pro osoby starší 12 let. Stejně jako ve verzi pro dospělé i dětská verze vyžaduje dvě dávky s odstupem 3 týdnů. Dvoudávková vakcína Moderna Spikevax je také schválena pro dospělé, stejně jako jednodávková vakcína Johnson & Johnson Janssen. Posilovací dávky vakcín Pfizer Comirnaty a Moderna Spikevax se doporučují všem starším 18 let alespoň 5-6 měsíců po podání prvních dvou dávek. Johnson & Johnson Janssen posilovací dávka se doporučuje osobám ve věku od 18 let a to alespoň 2 měsíce po podání původní dávky vakcíny [52].

Lidé starší 18 let mohou dostat posilovací dávku kterékoli z vakcín proti onemocnění COVID-19, což znamená, že nemusí zůstat u stejné vakcíny, kterou dostali původně. Pokud například počáteční dávky pocházejí od společnosti Moderna, můžou získat posilovací dávku od společnosti Pfizer. Nicméně výjimka je u mladistvých osob ve věku 16-17 let, které dostaly vakcínu Pfizer Comirnaty. Ti mohou být přeočkováni pouze výrobcem, od kterého mají původní dávky, tj. Pfizerem [52].

Očkovací látky používané v České republice k březnu 2022 je možné rozdělit do tří rovin – genetické RNA vakcíny, virové vektorové vakcíny a vakcíny na bázi bílkovin. Poslední zmíněný typ vakcíny vstoupil na evropský „trh“ teprve ke konci loňského roku, a to kvůli svému zdlouhavému a náročnějšímu vývoji oproti prvním

dvěma zmíněným typům vakcíny. Nicméně má oproti RNA typu vakcíny minimálně jednu velkou výhodu, a to je dlouhodobé skladování při teplotě 4 °C. Vakcíny RNA se totiž musejí skladovat při nízkých teplotách, u společnosti BioNTech/Pfizer je to dokonce -70 °C [59].

Co se týče České republiky, od začátku očkování již u nás bylo k 8. 3. 2022 podáno 17 288 966 dávek vakcín. 6 830 050 osob je plně očkováno (tj. dvěma dávkami), 6 935 621 osob je očkováno minimálně jednou dávkou. Celosvětově jsou tato čísla podstatně vyšší – pro představu celkový počet podaných dávek na celém světě je roven 10 704 043 684. Více informací lze vidět na obrázku 6, který znázorňuje počet plně očkovaných osob na sto obyvatel. Čím „zelenější“ barva, tím více osob je v daném státě plně očkovaných. Odstíny oranžové a červené značí silný podprůměr tohoto zkoumaného jevu [16].



Obrázek 6 – Počet plně očkovaných osob na sto obyvatel [16]

4 METODIKA

Metodika diplomové práce je postavena především na vyhodnocování a porovnávání dat týkajících se spolehlivosti Flowflex rychlých antigenních testů na vzorku testovaných jedinců během mé praxe v zdravotnickém zařízení, konkrétně v odběrovém COVID centru v Masarykově nemocnici Rakovník. Na tento výzkum posléze navazuje multikriteriální analýza a analýza rizik metodou KARS, které moje výsledky doplňují a na jejichž základě budou navržena případná doporučení pro zkvalitnění provádění testů dokazujících přítomnost viru SARS-CoV-2 v lidském organismu. Kromě toho je můj výzkum doplněn názory, myšlenkami, ale i jinými výzkumy především předních odborníků daného oboru. Pomocí zmíněných metod a postupů se snažím dosáhnout hlavního cíle práce, kterým je vyhodnocení spolehlivosti prováděných antigenních testů a určení jejich chybovosti na základě odlišného výsledku RT-PCR testu u každého vybraného jedince.

4.1 Komparace

Velmi zjednodušeně, avšak poměrně přesně lze o metodě komparace říct, že se jedná o výsledek zpracovávání informací, ze kterých bylo během psaní dané práce čerpáno a kdy se poměrná většina dat nutná k provedení komparace v samotné práci nachází. Na základě těchto údajů lze s jistotou říct, že k provedení komparace a dosažení váženého výsledku je nutné vycházet z alespoň ze dvou nebo více jevů, jejichž porovnání nám pomůže dospět k novým poznatkům.

Komparace se v mé diplomové práci vyskytuje ve spojení s antigenním a RT-PCR testováním, respektive s jejich výsledky u jednotlivých objektů mého výzkumu, kdy jsou brána v potaz mnou stanovená kritéria i rozhodující faktory, mezi které řadím věk a pohlaví testovaného vzorku.

4.2 Kvantitativní a kvalitativní sběr dat

Kvantitativní výzkum je takový výzkum, který sbírá data na základě dedukce z nabytých znalostí a teoretických poznatků. Díky tomu lze stanovit a testovat hypotézy, tedy je lze potvrdit či vyvrátit. K tomu se využívají především kvantifikační či statistické metody. To v praxi znamená, že díky již získaným znalostem a teoretickým vědomostem

postupujeme od obecného k jednotlivému, respektive docházíme od předpokladů k závěru. Samotný sběr dat probíhá zpravidla pomocí dotazníků, testů, nebo jako v mém případě šetřením a pozorováním [60,61].

Postup kvantitativního sběru dat můžeme zahrnout do několika jednoduchých dílčích kroků:

1. Stanovení obecného tvrzení pomocí nabytých znalostí (studium související literatury apod.).
2. Vytvoření hypotéz pomocí dedukce z již získaných teoretických poznatků.
3. Určení dat potřebných k ověření hypotéz.
4. Výběr testovaného vzorku, časové rozmezí aj.
5. Sběr dat, v mém případě především pozorováním (může být využito i měření, dotazníkové šetření apod.).
6. Ověření definovaných hypotéz.
7. Ověření výsledků, jejich vztažení k teoretickému základu práce [61].

Díky svému pojmenování bývá kvantitativní výzkum často zaměňován s výzkumem kvalitativním, nicméně tyto dva typy sběru dat spolu při výzkumech často úzce souvisí a v průběhu výzkumu se prolínají. V typickém případě vše začíná tím, že si badatel vybírá na začátku výzkumu téma na základě nastudované literatury a stanoví si základní výzkumné otázky. Ty se v průběhu výzkumu mohou měnit či doplňovat, a to zejména na základě sběru dat a jejich analýzy. Z tohoto důvodu je kvalitativní výzkum někdy označován za tzv. „pružný“ typ výzkumu. Rozdíl je především v tom, že kvalitativní výzkum se provádí pomocí delšího a intenzivního kontaktu s objektem a daná problematika je zkoumána více do hloubky. Toho bylo v mé diplomové práci využito ke zjištění bližších informací týkajících se zkoumaných subjektů, kdy nalezená data byla nezbytná k potvrzení nebo zamítnutí mnou stanovených hypotéz [60,61,62].

V mém případě jsem pracovala se zmíněnými metodami sběru dat k vyhodnocení údajů, které mi byly poskytnuty ve zdravotnickém zařízení, konkrétně v Masarykově nemocnici Rakovník. Jednalo se o data vztahující se k pozitivitě či případné negativitě antigenních a RT-PCR testů u jednotlivých osob v časovém období 1. 1. 2021 – 30. 6. 2021.

4.3 Multikriteriální analýza

Jedná se o metodu, která třídí a uceluje informace, kterými se daná práce zabývá. Její primární využití je tedy k rozhodování se mezi několika vhodnými alternativami (=variantami), které jsou hodnoceny na základě námi určených vhodných kritérií. Samotné stanovování kritérií a následné hodnocení alternativ obvykle probíhá na základě našeho subjektivního dojmu, který je z velké části tvořen teoretickými znalostmi. Je žádoucí, aby multikriteriální analýza zahrnovala několik kvantifikovatelných kritérií, které nám pomohou se správně rozhodovat během námi prováděné analýzy, porovnávání a vyhodnocování. Nelze připustit, aby výstupem této analýzy bylo několik výsledných variant současně. Z toho plyne, že výsledkem je vždy pouze jedna možnost [63].

Nejprve je důležité si specifikovat význam jednotlivých pojmů. Jako alternativu označujeme každé řešení z výběru. Hodnotíme ji dle vlastností neboli kritérií, která si rovněž sami stanovíme. Kritéria jsou tak vlastnosti, které u daných alternativ posuzujeme. Jednotlivým kritériím je vždy přiřazena námi určená hodnota (váha), která stanovuje jejich důležitost. Metoda se skládá celkem z pěti postupně navazujících následujících kroků:

- identifikace alternativ a kritérií;
- ohodnocení kritérií;
- přidělení vah;
- výpočet ohodnocení;
- zhodnocení výsledků [63].

Prvním krokem analýzy je správné určení alternativ (možností) a kritérií (požadavků). Ty následně zaneseme do tabulky pro větší přehlednost práce. Alternativy zaneseme do řádků, kritéria do sloupců. Rovněž nesmíme opomenout na řádek pro udání hodnot kritérií a sloupec pro součet hodnot u každého kritéria [63].

Dalším krokem je určení relativní váhy (hodnoty) jednotlivých kritérií. Jak bylo avizováno, je důležité brát v potaz všechna známá fakta, která se následně vyhodnotí, a vznikne zde náležitý váhový poměr mezi jednotlivými požadavky. Nejvhodnější variantou k určení vah jednotlivých kritérií se jeví bodová stupnice, v níž hodnota dvě

znamená „prioritní“ a hodnota jedna „zanedbatelné“ – to proto, že v mé diplomové práci jsou zvoleny pouze dvě vhodné alternativy [63].

Jakmile jsou jednotlivá kritéria ohodnocena, je nutné jim přidělit váhy takovým způsobem, aby následný součin bodově ohodnocených kritérií a vah odpovídal jejich skutečnosti a významu. Výsledek získáme pomocí jednoduchého součtu součinů ohodnocených alternativ - tj. že každou alternativu v řádku sečteme a do posledního sloupce zapíšeme výsledek tohoto součtu. V posledním řadě můžeme zhodnotit konečný výsledek (tj. zvolit vítěznou alternativu) [63].

4.4 Analýza rizik metodou KARS

Metoda KARS neboli kvalitativní analýza rizik s použitím jejich souvztažností stanovuje závislost mezi výslednou analýzou rizik a strukturou jedné ze čtyř oblastí hodnocení. Cílem metody je tedy rozdělit rizika dle jejich nebezpečnosti. Díky této metodě si tak lze značně usnadnit proces rozhodování o tom, která rizika jsou primárně nebezpečná a je třeba se jim věnovat přednostně. Na základě výsledků analýzy můžeme rychleji a efektivněji stanovit vhodná opatření vůči konkrétním rizikům dle jejich nebezpečnosti. Analýza rizik metodou KARS poukazuje na vztah mezi stanovenými riziky, tj. do jaké míry lze může jedno riziko vyvolat riziko další. Mnohdy jsou tedy spolu jednotlivá rizika úzce spojena a díky tomu může snadněji docházet k tzv. domino efekt (jedno riziko formuje jiné). Celkem se metoda skládá ze tří na sebe navazujících kroků:

1. Prvním krokem analýzy je vytvoření soupisu všech možných rizik, která mohou daný prvek/objekt ohrožovat.
2. Dalším krokem je vytvoření tabulky souvztažnosti rizik, při kterém se postupuje podobně, jako při vytváření schématu matice. Počet řádků a sloupců tabulky se rovná počtu všech relativních rizik. Jestliže jedno riziko může vyvolat riziko druhé (zmíněný domino efekt), do tabulky zapíšeme číslo „1“ (pozitivní). V případě, že jednotlivá rizika na sebe nemají žádný vliv, do tabulky zaneseme číslo „0“ (negativní).
3. Výsledkem analýzy je graf, který stanoví prioritu rizik díky jejich rozdělení do jednotlivých kvadrantů. Následně lze navrhopat různá opatření na základě charakteru a umístění daných rizik [63].

5 VÝSLEDKY

5.1 Detekce viru SARS-CoV-2 antigenními testy

Jak už bylo zmíněno v teoretické části práce, rychlé antigenní testy obecně slouží již podle svého názvu k rychlé detekci viru SARS-CoV-2 v lidském organismu, kdy se testovaná osoba dozví výsledek v řádu několika málo desítek minut. Oproti RT-PCR se jedná o levnější a rychlejší variantu detekce, nicméně vzhledem k okolnostem musíme počítat s nižší reliabilitou a senzitivitou. Ke sběru dat vyhodnocovaných v diplomové práci byl po celou dobu výzkumu použit pouze jeden konkrétní typ antigenního testu, tj. rychlý antigenní test Flowflex Acon Biotech, kdy se výtěr provádí pouze z okrajové části nosu. Více informací o samotném testování a jeho průběhu uvádějí následující podkapitoly.

5.1.1 Odběrová souprava

SARS-CoV-2 rychlý antigenní test od společnosti Flowflex je dodáván společně s materiály, které jsou pro kvalitní a správný odběr biologického materiálu nutné. Každá sada, respektive krabička, obsahuje 25 kusů testovacích kazet, stejný počet extrakčních zkumavek a jednorázových tyčinek s umělými mikrovlákny na výtěr, dále pufr (tekutina), pozitivní a negativní kontrolní výtěr k ověření, že testovací kazeta je v pořádku a odběr je prováděn správně, příbalový leták, stojánek na zkumavky a návod k provedení správného odběru. Kromě všeho je však nutné počítat s tím, že pro odběr (nejen) ve zdravotnickém zařízení je třeba se vybavit osobními ochrannými pomůckami a jakýmkoli časovačem, díky němuž provedeme odečet výsledku ve stanoveném limitu. Nejdůležitější součástí sady lze vidět na obrázku 7 [44].



Obrázek 7 – Nejdůležitější části obsahu odběrové sady [vlastní zdroj]

Sady musí být před vybalením a použitím skladovány při teplotě 2-30 °C, ideálně při pokojové teplotě. Rovněž je třeba dbát na datum expirace – po něm již sadu nelze použít, respektive na daný výsledek testu nemusí být brán zřetel. Co se týče ochranných prostředků ve zdravotnickém zařízení, při každém odběru je nutností disponovat ochrannými prostředky, jako jsou laboratorní pláště či přímo ochranné oděvy, jednorázové rukavice, respirátor a prostředek ochrany očí v podobě masky nebo štítu [44].

5.1.2 Provedení odběru odběrovým pracovníkem

Rychlý antigenní test od formy Flowflex je možné vykonat s použitím vzorků výtěru z nosu. Tento výtěr se však v tomto případě neprovádí hlubokým výtěrem z dutiny nosní, nýbrž pouze z okrajové části nosní dírky do vzdálenosti 1-2 centimetrů. I přesto je však nutné jednat s rozvahou a v případě odběru ve zdravotnickém zařízení nechat odběrového pracovníka opatrně odebrat biologický materiál.

V úvodu je nutné podotknout, že pro pohodlnější odběr jak pro testovanou osobu, tak pro odběrového pracovníka, je důležité testovanou osobu usadit a požádat jí o záklon hlavy, jak je vidět na obrázku 8. Odběr poté probíhá snadněji, rychleji a v mnoha případech i bezbolestněji, nachází-li se dutina nosní v ideální poloze pro odběr [44].



Obrázek 8 – Odebírání biologického vzorku z okraje dutiny nosní [41]

Samotný odběr probíhá tak, že nejprve dochází k opatrnému vsunutí jednorázové tyčinky s mikrovláknem, která je dodávána spolu s testovací sadou, na okraj jedné nosní dírky. Pomocí jemné rotace zatlačíme tyčinku 1-2 centimetry hluboko do nosní dírky. Zde provedeme celkem pětkrát rotaci tyčinky k zajištění dostatečného množství biologického materiálu, který ulpí na mikrovlákněch tyčinky. Stejný odběr z druhé nosní dírky v případě této sady není nutný, nicméně jiní výrobce jej mohou vyžadovat či doporučovat. Po odebrání biologického materiálu lze tyčinku z okraje nosní dutiny vyjmout. Vzorek je v tuto chvíli připravený pro další část procesu k potvrzení či vyvrácení přítomnosti viru SARS-CoV-2 v odebraném materiálu [44].

5.1.3 Vyšetření odebraného vzorku na přítomnost viru SARS-CoV-2

Pokud testovací kazeta spolu s tekutinou není skladována při pokojové teplotě, ale při teplotách nižších, než je 15 °C, je třeba je nechat před testováním ustálit na teplotu mezi 15-30 °C. V případě, že materiály tyto podmínky splňují, je možné začít s testováním odebraného biologického materiálu [44].

Každému odebranému vzorku náleží právě jedna extrakční zkumavka. V případě antigenních testů od firmy Flowflex je tato zkumavka rovněž „předvyplněna“ adekvátním množstvím tekutiny vhodným k testování vzorku. Jiní výrobci mohou zkumavku a pufr – tekutinu – dodávat zvlášť.

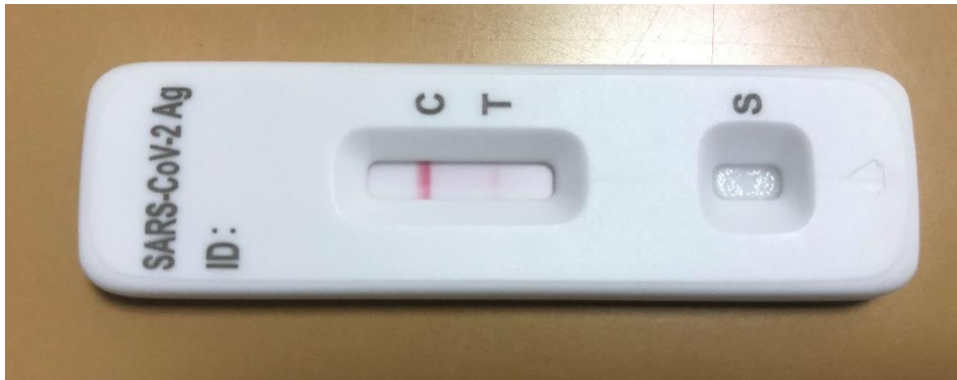
Prvním krokem vyšetřování odebraného vzorku na přítomnost viru SARS-CoV-2 je vyjmutí kapátkového víčka z extrakční zkumavky. Tyčinka s odebraným vzorkem se následně vloží do zkumavky s tekutinou a po dobu zhruba 30 vteřin je s ní otáčeno, aby došlo k co největšímu přenosu vzorku z mikrovláken tyčinky do oné zkumavky. Rovněž je možné zkumavku, která je z přízpusobivého materiálu, v místě výskytu mikrovláken z tyčinky stlačovat, aby docházelo k ulpívání biologického materiálu rovněž i na vnitřní straně zkumavky. Po dokončení tohoto procesu lze tyčinku za stálého stlačování zkumavky pro vypuzení tekutiny vyjmout [44].

Po vyjmutí tyčinky je nutné nasadit zpět kapátkové víčko na extrakční zkumavku s biologickým vzorkem. Obsah zkumavky je poté nutné důkladně promíchat zejména kroužením spodku zkumavky, kde se tekutina nachází. Hned poté můžeme přistoupit k vyjmutí testovací kazety z uzavřeného obalu. Tu položíme na rovný a čistý povrch, a v co nejkratším čase ji spolu s tekutinou v extrakční zkumavce použijeme. Je nutné, aby byla analýza vykonaná co nejdříve od odebrání vzorku a vyjmutí kazety z obalu, nejpozději však do 60 minut [44].

V případě, že máme testovací kazetu nachystanou, je třeba odkroutit malé víčko ze špičky kapátka. Díky tomu lze bez obav a s plnou přesností nakapat 4 kapky připravené tekutiny s biologickým materiálem do vzorkové jamky testovací kazety označené písmenem S (z anglického spojení „sample well“) za jemného stisknutí extrakční zkumavky. Poté již můžeme pozorovat probíhající chromatografické změny na testovací kazetě, které zobrazí jednu nebo dvě barevné čáry. Jak již bylo v teoretické části práce zmíněno, výsledky je potřebné odečíst do 30 minut od nakapání vzorku na testovací kazetu. Výsledky odečítané po této lhůtě nemusejí být platné [44].

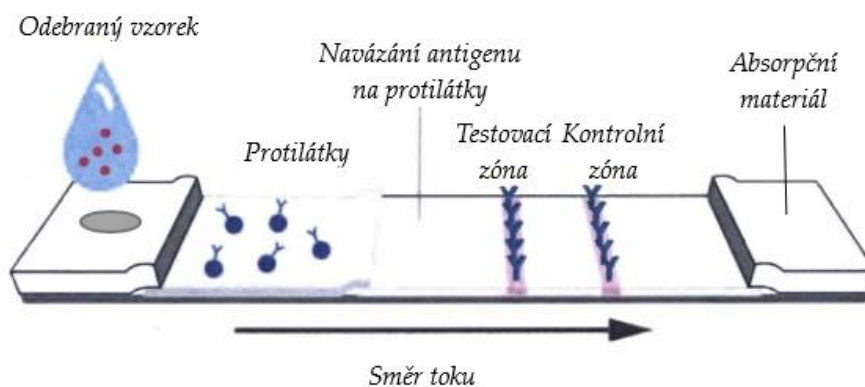
Výsledek považujeme za negativní v případě, že se na testovací kazetě objeví pouze jedna barevná čárka v kontrolní oblasti C (z anglického spojení „control line“). Znamená to, že antigen SARS-CoV-2 nebyl v testovaném biologickém vzorku detekován. Naopak pozitivní výsledek značí, že se na testovací kazetě objeví dvě barevné čárky – první v kontrolní oblasti C, druhá v oblasti testovací čáry T (z anglického spojení „test line“). To znamená přítomnost antigenu SARS-CoV-2 v testovaném vzorku. Intenzita zabarvení druhé testovací čárky se mimo to může měnit podle množství antigenu SARS-

CoV-2 v testovaném vzorku. Z tohoto důvodu je nutné považovat za pozitivní výsledek jakoukoli intenzitu testovací čárky, i tzv. „ducha“ na obrázku 9 [44].



Obrázek 9 – Testovací kazeta s pozitivním výsledkem [vlastní zdroj]

Detekce antigenu SARS-CoV-2 je založena na několika mechanismech. Nejpoužívanější z nich je zejména technologie laterálního průtoku s vizuálním odečtem, která je znázorněna na obrázku 10. Její princip je vcelku jednoduchý – v případě pozitivního testu zde dochází k detekování specifických antigenů pro vir SARS-CoV-2, které jsou zachycovány pomocí monoklonální protilátky. Hned na to dochází i k detekci pomocí volných imunoglobulinů, které jsou rovněž specifické pro virus SARS-CoV-2. V případě pozitivního výsledku dochází v závěrečné fázi k tvorbě konjugátu imunoglobulin-antigen. Pro kontrolu celé provedené činnosti se v kontrolní oblasti vždy objeví barevná čárka, která potvrzuje, že byl přidán správný objem vzorku (4 kapky) a že došlo k navlhnutí membrány [44,64].



Obrázek 10 - Průběh antigenního testu na principu laterálního průtoku s pozitivním výsledkem, upraveno [65]

5.2 Sběr dat a jeho vyhodnocení

Data potřebná k provedení a vyhodnocení cíle diplomové práce byla poskytnuta v místě mého zaměstnání, tj. v Masarykově nemocnici Rakovník. Ta poskytuje služby pacientům všech zdravotních pojišťoven, občanům města Rakovník a přirozené spádové oblasti, která zahrnuje přibližně 60 000 obyvatel. V současnosti má nemocnice celkem 306 lůžek, z toho o 20 lůžkách můžeme mluvit jako o dialyzačních. Najdeme zde celkem 8 lůžkových oddělení a 21 ambulancí, které poskytují služby všem osobám, které do nemocnice přijdou a potřebují je. Během července 2015 – června 2016 zde bylo ambulantně ošetřeno přes 88 tisíc osob. V roce 2015 bylo provedeno dohromady přes 1 600 operací a celkový počet hospitalizovaných pacientů se rovnal téměř 9 tisícům. V nemocnici pracuje přes 350 osob lékařského i nelékařského zdravotnického vzdělání [66,67].

Samotné pracoviště, tj. odběrové místo COVID-19, se nachází vedle hlavního parkoviště nemocnice přímo naproti autobusové zastávce. Při vstupu do modrého COVID-19 stanu je třeba administrativní pracovníci předat kartičku zdravotní pojišťovny, či ji nadiktovat rodné číslo osoby, u které bude proveden odběr. Odběrové místo slouží primárně pro řádně objednané pacienty. Administrativní pracovníce na základě rodného čísla vytiskne štítky a v případě RT-PCR testů i žádanku k odběru, pokud je již vystavena krajskou hygienickou stanicí nebo praktickým doktorem. Jestliže se žádanka v systému pro zadávání a ověřování žádanek nenachází, může ji pracovníce odběrového centra na požádání vystavit na jméno nemocnice. Na základě rozhodnutí poslanecké sněmovny o ukončení stavu pandemické pohotovosti není možné od 5.5.2022 provádět preventivní RT-PCR testy hrazeného z veřejného zdravotního pojištění. To znamená, že bez žádanky od lékaře, příp. krajské hygienické stanice, není možné provést RT-PCR test zdarma.

Antigenní testování v nemocnici Rakovník probíhá od podzimu 2020. Žádanka k provedení testu však není potřeba. V případě, že daná osoba neměla české zdravotní pojištění či podstoupila antigenní testování dvakrát a více do týdne, bylo za provedení testu nemocnicí inkasováno 201 Kč. V současné je tato částka hrazena při každém antigenním testu bez ohledu na zdravotní pojištění nebo počet provedených testů.

Odběrové místo v nemocnici Rakovník disponuje všemi potřebnými prostředky pro provedení RT-PCR i antigenního testování. Má nesčetnou zásobu ochranných obleků různých velikostí, rukavic, respirátorů a masek, případně štítů. Kromě všeho je zde k dispozici dezinfekce na ruce i povrchy, stojánky na zkumavky i místo skladování nebezpečného, respektive infekčního odpadu.

5.2.1 Způsob získávání zásadních údajů

Výzkumná data pro diplomovou práci byla získávána systematicky jak pozorováním a zaznamenáváním (respektive „šetřením“) potřebných údajů během mé praxe v Masarykově nemocnici Rakovník, tak prostřednictvím Informačního systému infekčních nemocí (dále pouze „ISIN“), do kterého mi byl nemocnicí umožněn přístup.

5.2.1.1 Specifikace cílové skupiny a plán výběru vzorku

V systému jsem prostřednictvím stanovených kritérií pátrala po jednotlivých pacientech, kteří v rozmezí 48 hodin podstoupili v odběrovém místě COVID-19 jak antigenní test, tak RT-PCR test, který měl v mém výzkumu sloužit jako ověření spolehlivosti antigenního testování. To vše probíhalo v období 1. 1. 2021 – 30. 6. 2021. Do výzkumu byly zahrnuty všechny testované osoby nezávisle na věku, pohlaví nebo profesi. Nutno podotknout, že do výzkumu byly zahrnuty i bezpříznakové osoby, které ve velké míře mohly ovlivnit konečné výsledky významným snížením zkoumané citlivosti a specifity antigenních testů.

V Masarykově nemocnici Rakovník bylo za období 1. 1. 2021 - 30. 6. 2021 provedeno dohromady 29 112 testů (100 %), z toho 17 572 antigenních testů (60,4 %) a 11 540 RT-PCR testů (39,6 %). Z celkového počtu bylo pozitivních pouze 551 testů, což znamená, že přes 28 tisíc testů bylo negativních. Z mého zkoumání vyplynulo, že z 551 pozitivních testů (100 %) šlo v 486 případech o pozitivní výsledek RT-PCR testu (88,2 %) a v 65 případech o pozitivní výsledek antigenního testu (11,8 %) [68].

Podstatnou roli v mém výzkumu hrálo maximální časové rozmezí mezi jednotlivými testy u jedné a té samé osoby, které jsem zvolila na dobu 48 hodin. Vycházela jsem z výzkumů a předpokladu, že u osoby po infikování virem SARS-CoV-2 se mohou první příznaky po expozici s nakaženou osobou objevit v rámci 2 až 14 dnů,

takže spodní hranice je právě 48 hodin. Rovněž, jak jsem již uvedla v teoretické části práce, antigenní test disponuje menší sensitivitou a tím pádem i spolehlivostí – to v praxi znamená, že v rané fázi infekce (potažmo prvních 48 hodin) nemusí být malé množství viru v lidském organismu antigenním testem zachyceno, avšak metodou RT-PCR testu ano, což v takovém případě můžeme brát jako směrodatné.

Z toho vyplývá, že jsem vyčlenila pouze takové pacienty, kteří podstoupili nejdříve antigenní test a maximálně do 48 hodin i RT-PCR test. V praxi se tak ve velké míře jednalo také o asymptomatické pacienty, kteří se setkali s COVID-19 pozitivním člověkem, a chtěli si svůj zdravotní stav co nejdříve ověřit pomocí antigenního testování. V případě pozitivního výsledku docházelo k opětovnému odebrání biologického vzorku pro potvrzení výsledku pomocí RT-PCR testu. V případě negativního výsledku záležel další postup na testovaném pacientovi. Jestliže se jednalo o symptomatického pacienta, byla velmi často zvolena metoda ověřením RT-PCR testem. V opačném případě, tj. v případě negativních asymptomatických pacientů, nedocházelo k dalšímu testování. Nicméně se stávalo, že v mnou stanoveném rozmezí byly dané asymptomatické osoby s negativním antigenním testem zaslány hygienickou stanicí či praktickým lékařem na RT-PCR test z důvodu výskytu příznaků, nebo v rámci probíhajícího trasování, a tím pádem jsou rovněž zahrnuty do mého výzkumu.

Dle zadaných kritérií, které jsem si určila před zahájením sběru dat, se mi podařilo získat celkem 98 vhodných vzorků k dalšímu výzkumu. Je nutné zdůraznit, že se jedná o 97 osob různého věku a pohlaví, které v 1. pololetí roku 2021 podstoupily v odběrovém místě v rozmezí 48 hodin antigenní i RT-PCR testování buď se stejnými, nebo různými výsledky. Jedna osoba z celkové skupiny podstoupila toto testování za dané časové období 2x, proto je výsledný počet zkoumaných vzorků roven 98.

5.2.2 Definování problémů a vytyčení cílů

Antigenní testování, které v Masarykově nemocnici Rakovník ve sledovaném časovém období probíhalo, bylo prováděno výhradně s jediným typem antigenních testů, a to od firmy ACON Biotech, jejichž antigenní testy nesou název FlowFlex SARS-CoV-2. Na základě úvahy jsem si pro diplomovou práci stanovila dvě hypotézy, které jsem se pak v praktické části snažila pomocí výzkumu buď to přijmout, nebo zamítnout.

Cílem mého bádání bylo definovat senzitivitu a specificitu výše zmíněných antigenních testů od firmy ACON Biotech, a to zejména kvůli častému zpochybňování spolehlivosti antigenních testů veřejností zejména v porovnání s metodou RT-PCR testů.

5.2.3 Analýza údajů a interpretace výsledků výzkumu

Jak už jsem uvedla v předešlé kapitole, dohromady bylo analyzováno 98 vzorků od 97 osob, které během 48 hodin postoupily antigenní i RT-PCR testování v Masarykově nemocnici Rakovník. Výsledky jednotlivých typů testů uvádí tabulka 2.

Tabulka 2 – Výsledky antigenního a RT-PCR testování [vlastní zdroj]

X	Pozitivní	Negativní	Celkem
<i>Antigenní test</i>	65	33	98
<i>RT-PCR test</i>	92	6	

Dle dat zanesených do tabulky lze docela snadno posoudit, že procentuální podíl vzešlých pozitivních antigenních testů bude oproti sensitivnější metodě RT-PCR testování o poznání nižší. Výpočet procentuálního podílu se zde provádí pomocí vzorce tzv. přímé úměrnosti, tedy „trojčlenkou“ (procentuální příklad pro pozitivní antigenní testování):

98 vzorků (celek) 100 %
 65 pozitivních výsledků (antigenní test) x %

$$x = \frac{65}{98} \cdot 100$$

$$x = 66,33 \%$$

Stejným způsobem byl proveden výpočet pro negativní výsledek antigenního testování, a i pro RT-PCR testování, jelikož celkový počet vzorků zůstává neměnný. Lze tak určit procentuální podíl u všech testů (tabulka 3).

Tabulka 3 – Procentuální podíl antigenního a RT-PCR testování [vlastní zdroj]

X	Pozitivní	Negativní	Celkem
<i>Antigenní test</i>	66 %	34 %	100 %
<i>RT-PCR test</i>	94 %	6 %	

Z tabulky 3 je zřejmé, že určité procento testovaných osob, u nichž nebyla prokázána nákaza virem SARS-CoV-2 za pomoci antigenního testu, však posléze bylo označeno za pozitivní kvůli následnému pozitivnímu výsledku RT-PCR testu, který je s ohledem na okolnosti uvedené v teoretické části práce brán jako směrodatný. Hlavní příčinou takového jevu může být již zmíněné provádění antigenního testování v rané fázi infekce, kdy antigenní testy nejsou tak citlivé při detekci malého množství viru nacházejícího se v našem organismu. Protože RT-PCR testování funguje na jiném, spolehlivějším a senzitivnějším principu, může toto minimální množství viru na rozdíl od antigenního testu detekovat.

5.2.3.1 Relativní citlivost a specifita antigenních testů

Samotná citlivost neboli senzitivita, je dána tím, kolik nakažených jedinců obdrží pozitivní výsledek testování. To, zda je daná osoba infikována virem SARS-CoV-2, je možno posoudit podle jejích symptomů. Těžší je však odhalit nákazu onemocněním COVID-19 v případě asymptomatických osob. Z tohoto důvodu jsem ve své práci využila i RT-PCR testování, které potvrzuje nebo vyvrací negativní či pozitivní výsledek antigenního testování jak u symptomatických, tak u asymptomatických jedinců [69].

Na rozdíl od citlivosti antigenního testu, která může být v praxi nižší, platí, že specifita těchto „rychltestů“ je relativně vysoká. To v praxi znamená, že naprostá většina zdravých jedinců má po testování kvalitním antigenním testem negativní výsledek. Naopak v případě nekvalitních testů je zde možné riziko, že i s pozitivním testem může být daná osoba pravděpodobně zdravá [69].

Tabulka 4, která obsahuje hodnoty získané během mého sběru dat v rakovnické nemocnici, obsahuje i jednu nezvyklost, respektive zajímavost. Jedna z testovaných osob, která obdržela pozitivní antigenní test, měla následný kontrolní RT-PCR test negativní. Antigenní test byl tak pravděpodobně prováděn za špatných klimatických podmínek, či je zde možnost méně pravděpodobné varianty, že byl výtěr z okraje nosu proveden omylem za použití „pozitivní tyčinky“.

Tabulka 4 – Hodnoty vlastního výzkumu za použití antigenního testu SARS-CoV-2 Antigen Rapid Test [vlastní zdroj]

Metoda		RT-PCR		Celkové výsledky
Rychlý antigenní test SARS-CoV-2 Antigen Rapid Test	Výsledky	Negativní	Pozitivní	
	Negativní	5	28	33
	Pozitivní	1	64	65
Celkové výsledky		6	92	98

Jak již bylo zmíněno, senzitivita neboli citlivost testů, je hodnota, která je dána počtem skutečně pozitivních jedinců. Protože RT-PCR testování je citlivější a tím pádem spolehlivější metoda testování, tak pro výpočet citlivosti, ale i specifity, jsou stěžejní právě hodnoty získané pomocí RT-PCR testování. Pro výpočet relativní citlivosti a posléze i relativní specifity byla opět použita „trojčlenka“. Samotný výpočet pro potvrzení skutečně pozitivních subjektů vypadá následovně:

92 pozitivních RT – PCR testů 100 %
 64 shodně pozitivních výsledků (antigenní + RT-PCR test) x %

$$x = \frac{64}{92} \cdot 100$$

$$x = 69,57 \%$$

O specifitě můžeme mluvit jako o opaku citlivosti – relativní specifita nám určuje, kolik zdravých osob obdrží negativní výsledek testování. Tato část výzkumu neobsahuje velké množství testovaných vzorků, což se dá poměrně jednoduše vysvětlit. Dá se předpokládat, že zdravé osoby nepodstupují testování na přítomnost viru SARS-CoV-2 v lidském organismu, pokud je k tomu nevedou okolnosti, mezi které patří například potřeba získání potvrzení o provedení antigenního testu pro svého zaměstnavatele, který již však v případě negativního výsledku dále nevyžaduje provedení RT-PCR testu, což bylo pro můj výzkum podmínkou.

Další takovou okolností, která mohla zapříčinit nízký počet zdravých negativně testovaných subjektů v mém výzkumu, může být i kontakt s pozitivní osobou. Tento fakt by mohl rovněž vysvětlovat i vysoké číslo v případě negativního antigenního a následného pozitivního RT-PCR testování. Osoby, které se setkaly s nakaženou osobou,

podstoupily během relativně krátké doby od setkání antigenní test. Z důvodu nízkého či minimálního množství viru v lidském organismu nebylo vznikající onemocnění v lidském těle antigenním testem zachyceno, nicméně následně uskutečněným RT-PCR testem (v rámci 48 hodin od provedení antigenního testu) ano.

Výpočet relativní specifity funguje na stejném principu, jakým byla počítána relativní citlivost, avšak s použitím jiných hodnot – jak již bylo zmíněno, jde o potvrzení skutečně negativních subjektů. Výpočet je tedy následující:

6 negativních RT – PCR testů 100 %
 5 shodně negativních výsledků (antigenní + RT-PCR test) x %

$$x = \frac{5}{6} \cdot 100$$

$$x = 83,33 \%$$

Významnou roli při určení relativní specifity během mého výzkumu hraje již zmíněný případ pozitivního antigenního testu, který byl následně vyvrácen pomocí spolehlivější metody RT-PCR testování. Z praxe v nemocničním zařízení vím, že se jedná o méně obvyklý jev, jehož chybovost může být zapříčiněna stejnými důvody, jakými mohl být ovlivněn i výsledek relativní citlivosti. Nicméně i přesto je relativní specifita mého výzkumu o téměř 14 % hodnotnější než relativní citlivost.

5.2.3.2 Přesnost antigenních testů

Kromě relativní citlivosti a specifity je kvalita antigenních testů udávána i podle parametru „přesnosti“, který se zmíněnou citlivostí a specificitou úzce souvisí. Jedná se o součet skutečně pozitivních a skutečně negativních subjektů, kdy výsledné číslo je vyděleno celkovým počtem testovaných jedinců včetně falešně negativních a falešně pozitivních případů. Pro procentuální vyjádření je výsledek vynásoben číslem 100. V diplomové práci tento výpočet vypadá následovně:

98 - všechny testované subjekty 100 %
 69 - skutečně pozitivní (64) + skutečně negativní (5) x %

$$x = \frac{64+5}{98} \cdot 100$$

$$x = 70,41 \%$$

Pro podrobnější výzkum jsem se rozhodla tento parametr brát nejen obecně, ale vztáhnout ho i ke konkrétním kritériím, jako je věkové kritérium a kritérium rozlišující pohlaví. Lze díky tomu vyloučit, či případně potvrdit, zda má věk či pohlaví vliv na výsledky antigenního testování.

Z 98 odebraných vzorků se v 47 případech jednalo o ženy a v 51 případech o muže. Čísla jsou teda bez předchozího plánování téměř shodná, což mi umožňuje vhodné porovnání výsledků a případné vyvození akceptovatelných závěrů. Hodnoty pro ženské pohlaví jsou uvedeny v tabulce 5.

Tabulka 5 – Hodnoty vlastního výzkumu za použití antigenního testu SARS-CoV-2 Antigen Rapid Test v případě ženského pohlaví [vlastní zdroj]

ŽENY					
Metoda		RT-PCR		Celkové výsledky	
Rychlý antigenní test SARS-CoV-2 Antigen Rapid Test	Výsledky	Negativní	Pozitivní		
		Negativní	2	12	14
		Pozitivní	0	33	33
Celkové výsledky		2	45	47	

Postup pro výpočet přesnosti pro jednotlivá pohlaví se ničím neodlišuje od postupů předešlých. Opět tedy budou brány v potaz skutečně pozitivní případy (pozitivní antigenní test + pozitivní PCR test) a skutečně negativní případy (negativní antigenní test + negativní PCR test). Hodnoty potřebné k výpočtu, a i samotný průběh výpočtu pro ženské pohlaví lze vidět níže:

47 - všechny testované subjekty ženského pohlaví 100 %

35 - skutečně pozitivní (33) + skutečně negativní (2) ženy..... x %

$$x = \frac{33+2}{47} \cdot 100$$

$$x = 74,47 \%$$

Výsledná přesnost antigenního testování, bereme-li v potaz pouze ženské pohlaví, se dle výpočtu rovná bezmála 74,5 %. Z toho vyplývá, že procentuální hodnota přesnosti ženského zastoupení je tedy o téměř 4 % vyšší než obecná přesnost antigenních testů. Pro mužské pohlaví jsou odpovídající hodnoty obsažené v tabulce 6.

Tabulka 6 – Hodnoty vlastního výzkumu za použití antigenního testu SARS-CoV-2 Antigen Rapid Test v případě mužského pohlaví [vlastní zdroj]

MUŽI				
Metoda		RT-PCR		Celkové výsledky
Rychlý antigenní test SARS-CoV-2 Antigen Rapid Test	Výsledky	Negativní	Pozitivní	
	Negativní	3	16	19
	Pozitivní	1	31	32
Celkové výsledky		4	47	51

I zde budou pro výpočet brány v potaz pouze již zmiňované hodnoty zaměřené na mužskou část vzorku:

51 - všechny testované subjekty mužského pohlaví 100 %

34 - skutečně pozitivní (31) + skutečně negativní (3) muži..... x %

$$x = \frac{31+3}{51} \cdot 100$$

$$x = 66,67 \%$$

Druhým kritériem, které může do jisté míry ovlivňovat přesnost výsledků antigenních testů a které již bylo v diplomové práci zmíněno, je věk testovaných subjektů. Je možné, že procentuální úspěšnost stanovení správného výsledku antigenního testu závisí na tom, zda je testovaná osoba mladšího nebo staršího věkového rozmezí.

Hranice, která jasně určuje, do kdy se daný člověk řadí mezi „mladší osoby“ a od kdy mezi „starší osoby“, není pevně stanovena. Pro někoho tato hranice může přicházet s nárokem na starobní důchod, zejména však pro děti a mladé lidi je tato hranice daleko nižší. Jedná se tak zcela o subjektivní pocit dané osoby.

Danou hranici jsem se rozhodla stanovit s pomocí tzv. střední délky života. Ta se v současné době pro Českou republiku pohybuje okolo 79 let. Jednoduše se jedná o předpokládaný průměrný dožitý věk v naší zemi. Polovina této statistické hodnoty je

po zaokrouhlení rovna 40 rokům. Díky tomuto údaji jsem si tak stanovila hranici mladších a starších osob. Níže lze vidět zhotovenou tabulku 7 pro mladší část výzkumného vzorku [70].

Tabulka 7 – Hodnoty vlastního výzkumu za použití antigenního testu SARS-CoV-2 Antigen Rapid Test zahrnující mladší osoby [vlastní zdroj]

MLADŠÍ OSOBY				
Metoda		RT-PCR		Celkové výsledky
Rychlý antigenní test SARS-CoV-2 Antigen Rapid Test	Výsledky	Negativní	Pozitivní	
	Negativní	0	2	2
	Pozitivní	0	5	5
Celkové výsledky		0	7	7

Z celkového počtu 98 zkoumaných subjektů, jež jsou zahrnuty do výzkumné části mé diplomové práce, je pouze 7 z nich mladších 40 let (včetně). Průměrný věk testovaných osob se pohybuje těsně pod hranicí 69. roku. Tak vysoký průměrný věk testovaných subjektů může být zapříčiněn několika faktory, například větší zodpovědností starších občanů či jejich závažnějším průběhem onemocnění. Je totiž pravděpodobné, že příslušníci „mladší generace“ neabsolvovali testování z důvodů mírných příznaků připomínajících jiné onemocnění (např. chřipka), či je skutečnost, že s vysokou pravděpodobností prodělávají onemocnění COVID-19 nezajímala natolik, aby absolvovali antigenní a RT-PCR testování. Je však možné, že mladší generace z velké části absolvovala pouze jednu z metod testování – a v takovém případě tento výčet subjektů nebyl zahrnut do výzkumu.

Postup výpočtu zůstává opět neměnný, a tak jej spolu s výsledkem lze vidět níže:

7 - všechny testované subjekty mladší generace 100 %

5 - skutečně pozitivní (5) + skutečně negativní (0) mladší subjekty x %

$$x = \frac{5+0}{7} \cdot 100$$

$$x = 71,43 \%$$

Oproti mladší generaci je celkový počet testovaných subjektů starších 40 let více než uspokojivý – zahrnuje přes 90 vhodných vzorků ke zkoumání. Jak již bylo zmíněno, mnohonásobně větší zájem o testování staršími osobami splňujícími podmínky mého

výzkumu může být zapříčiněn jednak jejich zodpovědností k sobě samým a svému okolí (nikoho nenakazit), ale i možným těžším průběhem onemocnění – dané testované osoby si chtějí potvrdit (či vyvrátit) nákazu virem SARS-CoV-2 a dle toho dále jednat. V tabulce 8 jsou uvedeny údaje potřebné pro další výzkum týkající se přesnosti antigenního testování u starších osob.

Tabulka 8 – Hodnoty vlastního výzkumu za použití antigenního testu SARS-CoV-2 Antigen Rapid Test zahrnující starší osoby [vlastní zdroj]

STARŠÍ OSOBY				
Metoda		RT-PCR		Celkové výsledky
Rychlý antigenní test SARS-CoV-2 Antigen Rapid Test	Výsledky	Negativní	Pozitivní	
	Negativní	5	26	31
	Pozitivní	1	59	60
Celkové výsledky		6	85	91

Výpočet, který i pro tuto část výzkumu nemění podobu, je následovný:

91 - všechny testované subjekty starší generace 100 %

64 - skutečně pozitivní (59) + skutečně negativní (5) starší subjekty x %

$$x = \frac{59+5}{91} \cdot 100$$

$$x = 70,33 \%$$

5.3 Multikriteriální analýza

5.3.1 Rychlé antigenní testy vs. RT-PCR testy

V současné době existují dva základní druhy testů, a to testy na přímý průkaz viru SARS-CoV-2 (antigenní testy a RT-PCR testy) a testy na protilátky. Druhý zmíněný způsob testů je oproti první „přímé“ metodě méně spolehlivý. Jak již bylo v diplomové práci zmiňováno, nelze podle této metody s přesností určit kdy bylo onemocnění proděláno – výsledek nám pouze sděluje, zda jsme onemocnění COVID-19 prodělali, či nikoliv. Multikriteriální analýzou se tak orientují pouze na metodu přímého průkazu viru, tj. na antigenní a RT-PCR testy. Hlavním cílem této analýzy je stanovení kvalit a nedostatků jednotlivých testů. Výsledek analýzy by nám měl pomoci se rozhodnout,

který test je vzhledem k okolnostem pro nás lepší volbou (tj. kdyby bylo možné ponechat pouze jednu metodu přímé průkaznosti, která by to byla) [46].

V prvním kroku analýzy jsou stanoveny vhodné alternativy:

1. antigenní testy – finančně nenáročné, rychlé, dostupné, snadné na obsluhu;
2. RT-PCR testy – vysoká specifita i senzitivita, časově náročné, nákladná metoda.

Kromě určení alternativ je nutné i jejich ohodnocení. To je prováděno pomocí arabských čísel od 1 (nejnižší hodnocení) do 2 (nejvyšší hodnocení) – to proto, že bereme v potaz pouze 2 vhodné alternativy.

Druhým krokem je stanovení hlavních kritérií a jejich ohodnocení neboli stanovení souvislostí, které ovlivňují provedení a poptávku po daném typu testu. Hodnocení kritérií je prováděno opět pomocí arabských číslic v možném rozmezí od 1 (nejnižší hodnocení) do 10 (nejvyšší hodnocení). Mezi hlavní kritéria patří:

1. časová náročnost – doba od odběru biologického vzorku po stanovení výsledku;
2. finanční náklady – celkový výdaj za provedení a vyhodnocení testu pro testovanou osobu;
3. dostupnost testů – zdravotnická zařízení x volně prodejné testy;
4. přesnost výsledků – procentuální úspěšnost odhalení onemocnění, citlivost a specifita testů;
5. provedení odběru – odběr biologického materiálu vyškoleným odběrovým pracovníkem vs. samotesty.

Tabulka 9 – Hodnocení kritérií stanovených pro multikritériální analýzu u metod přímého průkazu viru SARS-CoV-2 včetně jejich procentuálního podílu [vlastní zdroj]

Kritérium	Hodnocení	Procentuální podíl
1. Čas	5	14 %
2. Cena	8	23 %
3. Dostupnost	5	14 %
4. Spolehlivost	10	29 %
5. Odběr	7	20 %

Kritéria jsou v tabulce 9 ohodnocena dle mého subjektivního úsudku – nejvyšší hodnocení dostalo kritérium, které považuji v případě podezření na přítomnost onemocnění COVID-19 za nejdůležitější a dle kterého se budu rozhodovat, jaký z testů případně podstoupím. Nejnižší hodnocení dostalo kritérium, které podle mého názoru nehraje rozhodující roli ve výběru typu testu.

Výpočet procentuálního podílu se provádí tak, že se sečtou jednotlivá hodnocení kritérií (5+8+5+10+7=35). Samotný výpočet je následně proveden, podle již známého vzorce přímé úměrnosti. Níže je uveden příklad výpočtu pro kritérium „čas“:

35 bodů (celek)	100 %
5 bodů (čas)	x %

$$x = \frac{5}{35} \cdot 100$$

$$x = 14 \%$$

Totožným způsobem se provede i výpočet pro ostatní stanovená kritéria (cena, dostupnost, spolehlivost a odběr).

Pro někoho rozhodující faktor, pro někoho nikoliv – časová náročnost vyhodnocení jednotlivých typů testů se významnou mírou liší. Mluvíme-li o antigenních testech, výsledek je nám k dispozici v rozmezí zhruba 15-30 minut od provedení odběru. Oproti tomu u RT-PCR testů se nejedná o minuty, ale o hodiny. Bez speciálního příplatku za zrychlené vyhotovení testu se výsledek dozvíme během nadcházejících 48 hodin po provedení odběru. V praxi je však tato doba mnohdy kratší – v případě odběrů v Masarykově nemocnici v Rakovníku se průměrná doba zaslání výsledku RT-PCR testu bez jakéhokoliv příplatku pohybuje v rozmezí 7–11 hodin. V případě potřeby okamžitého výsledku, pokud to samozřejmě podmínky dovolují (cestování, práce), je tak rozhodnutí zřejmé. Jestliže je však prioritou jasné určení přítomnosti onemocnění COVID-19 v lidském organismu, čas by v tomto případě neměl hrát až tak významnou roli.

Cenový rozdíl mezi provedením RT-PCR testu a antigenního testu může být pro někoho markantní. V současné době (datováno k 7.5.2022) stojí provedení RT-PCR testu v Masarykově nemocnici Rakovník 814 Kč. Platba je vyžadována v případě, že daná

osoba nemá vystavenou žádanku od svého obvodního lékaře nebo krajské hygieny. Naproti tomu stojí provedení antigenního testu (nejen) ve zmíněné nemocnici o ¾ méně, tj. 201 Kč. Důležitou roli zde hraje zakupování antigenních testů v lékárnách či jiných zařízeních s tímto sortimentem – například mnou zkoumaný antigenní test od firmy ACON Biotech je volně k dostání v cenové relaci 39–89 Kč (datováno k 20.4.2022). To je v průměru o téměř 75 % méně, než daná osoba zaplatí za stejný test ve zdravotnickém zařízení. Nevýhodou samotestů však zůstává, že k nim nelze získat žádné potvrzení o jejich provedení, výsledky nejsou nikde oficiálně vedeny a ani nemohou být v mnoha případech brány jako veřejně akceptovatelné [71].

Jak již bylo nastíněno v předešlém odstavci, dostupnost jednotlivých typů testů je různá. Zatímco RT-PCR testy lze z pravidla podstoupit pouze ve zdravotnických zařízeních (případně u vybraných praktických lékařů), antigenní testy lze snadno zakoupit i v obchodech s potravinami – rozhodování tedy závisí především na tom, proč daný typ testu potřebuje absolvovat. Protože prioritou testů i nadále zůstává ono jasné potvrzení či vyvracení nákazy COVID-19, správná volba je tak provedení RT-PCR testu (případně antigenního testu) ve zdravotnickém zařízení. Ačkoliv jsou volně prodejné antigenní testy lákavé nejen svojí cenou a dostupností, kombinace nižší přesnosti testu spolu s nekvalitním odběrem biologického materiálu „laikem“ může zcela znehodnotit výsledek testu. Nicméně, v případě nejasností a přítomnosti určitých příznaků nasvědčujících možné nákaze onemocněním COVID-19 lze brát provedení samotestu jako správný krok před návštěvou zdravotnického zařízení a provedení RT-PCR testu. Rovněž mají svoje využití formou „kontroly“ po skončení izolace z důvodu potvrzení nákazy virem SARS-CoV-2.

Spolehlivost, respektive vysoká citlivost a specificita, kterými je toto kritérium dáno, pro mě hraje prioritní roli. Bez vysoké přesnosti jednotlivých testů nelze zcela jasně určit, zda je daná osoba pozitivní na přítomnost viru v lidském organismu. V případě antigenního testování se procentuální úspěšnost jednotlivých antigenních testů různých výrobců může lišit až o desítky procent. Jak lze vidět v mém vlastním výzkumu, po zaokrouhlení je přesnost antigenního testu od firmy ACON Biotech rovna 70 %. To znamená, že správný výsledek testu dostane pouze 7 osob z 10. Oproti tomu je všeobecně známé, že metoda RT-PCR testování má díky své vysoké senzitivitě a specificitě téměř nulovou chybovost. Významnou roli však hraje rovněž i způsob odběru

biologického vzorku, kdy výtěr z nosohltanu a případně i z okraje nosní dírky se jednoznačně řadí mezi nejpřesnější metody odběru. Naopak identifikace viru SARS-CoV-2 ze slin, jak jsem zjistila během své praxe v odběrovém COVID-19 centru, je nejméně přesnou metodou odběru.

Správně stanovený výsledek testů by nemohl existovat bez kvalitně provedeného odběru biologického materiálu. Ten v nejlepším případě provádí vyškolený zdravotnický personál – zamezí se tak možnému vzniku jiných, nejen zdravotních, komplikací (poškození sliznice v nosohltanu aj.) a s největší pravděpodobností bude odběr proveden zcela tak, jak má být. V případě rychlého antigenního „samotestu“, kdy odběr biologického materiálu provádí testovaná nebo jiná pravděpodobně blízká neproškolená osoba hrozí, že odběr nebude proveden tak, jak by měl být, a tím se znehodnocuje celý průběh testování včetně konečného výsledku. Nekvalitním odběrem se zvyšuje riziko vzniku tzv. „falešné negativity“, kdy testovaná osoba je pozitivní, nicméně vlivem špatně provedeného odběru s minimálním, či žádným obsahem viru SARS-CoV-2 se test vyhodnotí jako negativní. To může mít za následek další (ač mnohdy nechtěné) nekontrolovatelné šíření onemocnění COVID-19 napříč lidskou populací.

Dle mého vlastního úsudku z tohoto hodnocení vychází nejlépe RT-PCR testy. Svoji hlavní podstatu, tj. přesné určení přítomnosti viru v lidském organismu, splňují na rozdíl od antigenního testování téměř dokonale, ač v některých jiných kritériích mohou na úkor spolehlivosti za „rychlou testy“ zaostávat. Více v tabulce 10, kde je s využitím základních kritérií zhodnocen význam jednotlivých typů testů (alternativ) založených na přímé průkaznosti viru SARS-CoV-2.

Tabulka 10 – Aplikace multikriteriální analýzy na jednotlivé typy testů přímého průkazu viru SARS-CoV-2 [vlastní zdroj]

Alternativa	Čas	Cena	Dostupnost	Spolehlivost	Odběr	Součet
Váha	5	8	5	10	7	X
Antigenní test	2·5=10	2·8=16	2·5=10	1·10=10	1·7=7	53
RT-PCR test	1·5=5	1·8=8	1·5=5	2·10=20	2·7=14	52

Jak je na základě údajů v tabulce 10 patrné, rozdíl v konečném hodnocení je pouze 1 bod, a to ve prospěch antigenních testů. Jejich snížená spolehlivost je v tom případě vyvážena především nižšími náklady na pořízení (provedení) a časovou náročností

na vyhodnocení testu. Z toho důvodu je antigenní test v případě potřeby jasnou volbou pro plošné testování, jak je tomu stále v některých firmách či dříve ve školách a školkách. Výsledky jsou spíše orientační, nicméně v případě nutnosti rychlého a průběžného testování dostačující. Metoda RT-PCR testování, jak již bylo řečeno, je časově i finančně náročnější variantou, nicméně co do relativní citlivosti a specifity ji antigenní testy nemohou konkurovat. V případě, že je potřeba jasně stanovit přítomnost viru SARS-CoV-2 v lidském organismu, RT-PCR test by měl být bez ohledu na časovou náročnost vyhodnocení či případnou cenu prioritní volbou.

5.4 Aplikace metody KARS

Tato podkapitola je věnována použití metody KARS za účelem zkoumání chyb, ke kterým mohlo obecně během antigenního testování docházet, a které rovněž mohly zapříčinit snížení relativní citlivosti a specifity antigenních testů zkoumaných v praktické části diplomové práce.

V prvním kroku analýzy jsou zvolena potenciální rizika, která mohla zapříčinit chybovost (sníženou relativní specifitu a citlivost) v průběhu antigenního testování. Mezi taková rizika se řadí nekvalitně provedený odběr biologického materiálu, nízká či naopak vysoká teplota v testovací místnosti, expirace platnosti antigenního testu, špatně provedený postup při vyhodnocování testu či maximální rozsah mezi provedením antigenního a RT-PCR testu (48 hodin), který mohl ve výsledné přesnosti antigenních testů, jež byly předmětem mého výzkumu, hrát podstatnou roli. V případě, že bych však brala v potaz pouze osoby, které podstoupily antigenní test a RT-PCR test v jeden den (24 hodin), rozsah zkoumaného vzorku by klesl na třetinu (zhruba 30 osob), což by z mého pohledu bylo pro výzkum nedostatečné množství.

Kromě toho jsou do metody KARS zahrnuty i možné sekundární následky, mezi něž náleží další (nevědomé) šíření nákazy viru SARS-CoV-2 či chybná diagnóza. Ta může mít za následek nesprávnou domácí léčbu, kdy může dojít až k akutnímu zhoršení zdravotního stavu nakažené osoby z důvodu vyloučení onemocnění COVID-19.

Celkem bylo definováno 8 důležitých rizik, která jsou zanesena do tabulky 11.

Tabulka 11 – Možná rizika způsobující nízkou přesnost antigenních testů a jejich důsledky [vlastní zdroj]

	Rizika	1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	8.
1.	Nekvalitní odběr biologického materiálu	0							
2.	Příliš nízká teplota v testovací místnosti		0						
3.	Příliš vysoká teplota v testovací místnosti			0					
4.	Expirace sady antigenního testování				0				
5.	Špatný postup při vyhodnocování testu					0			
6.	Doba mezi provedením antigenního a RT-PCR testu						0		
7.	Šíření nakažlivé nemoci							0	
8.	Chybná diagnóza								0

Jak již bylo v metodice diplomové práce avizováno, analýza rizik metodou KARS je založená na vzájemném působení rizik, jinak řečeno na jejich souvztažnosti. Jednoduše řečeno se tak jedná o určení vztahu mezi jednotlivými riziky, tj. zda dokáže jedno riziko vyvolat nebo způsobit riziko druhé. Z toho plyne, že dané riziko nemůže vyvolat samo sebe – proto se hlavní diagonála tabulky 11 rovná hodnotě „0“. Ostatní políčka v tabulce byla vyplňována systematicky po řádcích zleva doprava. Tabulka ve výsledku obsahuje dvě hodnoty, a to hodnotu „0“ a „1“. Hodnotou „1“ jsou v tabulce označena políčka, kde hrozí reálné nebezpečí toho, že dané riziko Ri (označení pro rizika v levém sloupci) vyvolá riziko jiné. Hodnota „0“ se používá v opačném případě, tj. když je zde minimální pravděpodobnost, že dané riziko Ri vyvolá riziko jiné. Výsledkem analýzy je tabulka souvztažnosti rizik označena číslem 12 [63].

Tabulka 12 – Tabulka souvztažnosti rizik [vlastní zdroj]

	Rizika	1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	8.
1.	Nekvalitní odběr biologického materiálu	0	0	0	0	1	0	1	1
2.	Příliš nízká teplota v testovací (skladovací) místnosti	1	0	0	0	1	0	1	1
3.	Příliš vysoká teplota v testovací (skladovací) místnosti	1	0	0	0	1	0	1	1
4.	Expirace antigenního testování	0	0	0	0	1	0	1	1
5.	Špatný postup antigenního testování	1	0	0	0	0	0	1	1
6.	Prodleva mezi antigenním a RT-PCR testem	0	0	0	0	0	0	1	1
7.	Další šíření nakažlivé nemoci	0	0	0	0	0	0	0	0
8.	Chybná diagnóza	0	0	0	0	0	0	1	0

Z tabulky 12 jsou patrné souvztažnosti rizik, která mohou vyvolat sníženou přesnost antigenních testů a s tím spojené sekundární následky oněch rizik. Dále je tabulka v dalším kroku doplněna o jeden řádek a sloupec – ty obsahují součty jednotlivých řádků a sloupců po vyplnění tabulky. Jedná se tak již o konečnou podobu tabulky souvztažnosti rizik, ze které lze dále čerpat údaje pro výpočet koeficientů aktivity a pasivity. Ty jsou nezbytnou součástí pro pozdější navržení vhodných opatřeních identifikovaných rizik. Kompletní souvztažnosti rizik uvádí tabulka 13 [63].

Tabulka 13 – Tabulka souvztažnosti rizik spolu s výslednými součty [vlastní zdroj]

	Rizika	1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	8.	Součet
1.	Nekvalitní odběr biologického materiálu	0	0	0	0	1	0	1	1	3
2.	Příliš nízká teplota v testovací místnosti	1	0	0	0	1	0	1	1	4
3.	Příliš vysoká teplota v testovací místnosti	1	0	0	0	1	0	1	1	4
4.	Expirace sady antigenního testu	1	0	0	0	1	0	1	1	4
5.	Špatný postup při vyhodnocování testu	1	0	0	0	0	0	1	1	3
6.	Doba mezi provedením antigenního a RT-PCR testu	0	0	0	0	0	0	1	1	2
7.	Šíření nakažlivé nemoci	0	0	0	0	0	0	0	0	0
8.	Chybná diagnóza	0	0	0	0	0	0	1	0	1
	Součet	4	0	0	0	4	0	7	6	X

Po provedení součtu jednotlivých řádků a sloupců zbývá do tabulky zanést koeficienty aktivity (dále pouze „KARi“) a pasivity (dále pouze „KPRi“). Jejich vymezení je následující:

- KARi – procentuální vyjádření navázaných rizik pro riziko Ri, která mohou nastat v případě, že nastane riziko Rj (označení pro rizika v horním řádku tabulky);
- KPRi – procentuální vyjádření rizik pro riziko Ri, která mohou dále vyvolat riziko Rj [63].

Následný procentuální výpočet koeficientů KARi a KPRi je poměrně jednoduchý. Maximální součet daného rizika je roven číslu sedm – to proto, že od celkového počtu rizik v tabulce musíme odečíst riziko, které zrovna počítáme ($8-1=7$). Vezmeme-li výsledný součet daného rizika, který vydělíme zmíněným maximálním součtem sedm, máme první část výpočtu za sebou. Výsledné číslo, které nám tímto podílem vzejde, vynásobíme hodnotou 100 pro výsledek v procentech. V podstatě se opět jedná o jednoduchý procentuální výpočet, jehož výsledky jsou uvedeny v tabulce 14.

Tabulka 14 - Výsledná tabulka souvztažnosti spolu s koeficienty KARi a KPRi [vlastní zdroj]

	Rizika	1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	8.	Součet	KARi
1.	Nekvalitní odběr biologického materiálu	0	0	0	0	1	0	1	1	3	43 %
2.	Příliš nízká teplota v testovací místnosti	1	0	0	0	1	0	1	1	4	57 %
3.	Příliš vysoká teplota v testovací místnosti	1	0	0	0	1	0	1	1	4	57 %
4.	Expirace sady antigenního testu	1	0	0	0	1	0	1	1	4	57 %
5.	Špatný postup při vyhodnocování testu	1	0	0	0	0	0	1	1	3	43 %
6.	Doba mezi provedením antigenního a RT-PCR testu	0	0	0	0	0	0	1	1	2	29 %
7.	Šíření nakažlivé nemoci	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0 %
8.	Chybná diagnóza	0	0	0	0	0	0	1	0	1	14 %
Součet		4	0	0	0	4	0	7	6	X	
KPRi		57 %	0 %	0 %	0 %	57 %	0 %	100 %	86 %		

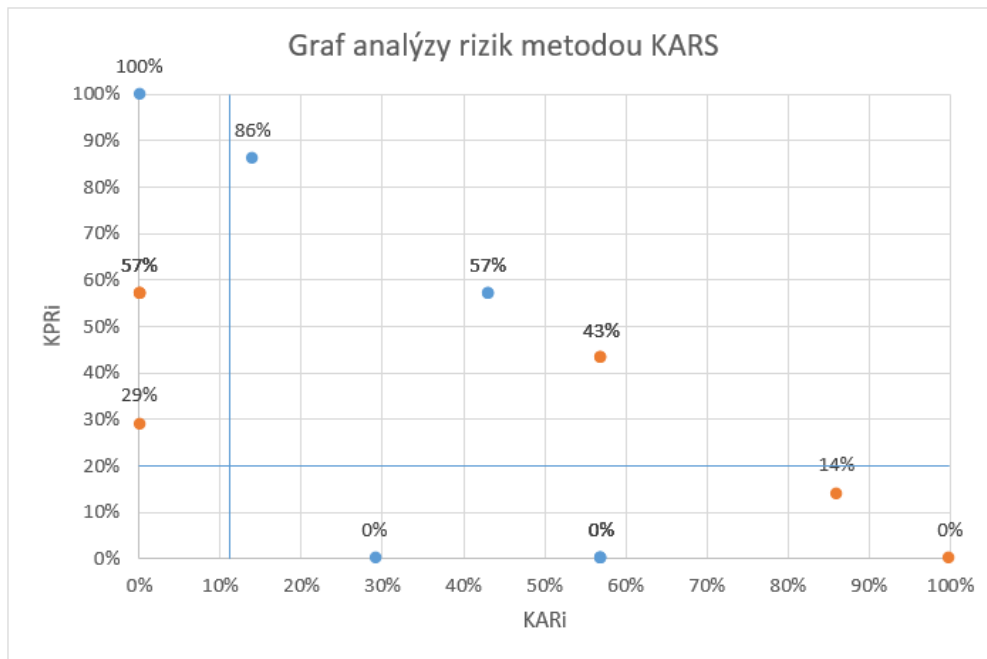
Závěrem analýzy souvztažnosti rizik a procentuálního výpočtu koeficientů může být pro přehlednost výsledků graf, na kterém jsou zaneseny souvztažnosti koeficientů KARi a KPRi pro námi zvolená rizika. Osa x v tuto chvíli představuje hodnoty koeficientů aktivity (KARi) a osa y hodnoty koeficientů pasivity (KPRi). Graf je následně pomocí os, které označíme jako O1 a O2, rozdělen na čtyři kvadranty. Tím jsou jasně stanoveny čtyři oblasti nebezpečnosti (a také pravděpodobnosti vzniku) jednotlivých rizik podle jejich souvztažnosti s ostatními riziky analýzy. Definování jednotlivých kvadrantů je následující:

- I. oblast primárně i sekundárně nebezpečných rizik;
- II. oblast sekundárně nebezpečných rizik;
- III. oblast primárně nebezpečných rizik;
- IV. oblast relativně bezpečná [72].

Rozdělení grafu osami provedeme tak, že si spočítáme hodnotu každé osy, a tím zjistíme i její umístění. Chceme-li z důvodu charakteru analýzy a zvolení daných rizik docílit toho, aby oblast I. kvadrantu (primární i sekundární rizika) ve výsledném grafu analýzy KARS pokrývala 80 % celkové oblasti (z důvodů zachycení co nejvíce nežádoucích rizik), měly by výsledné vzorce vypadat následovně [63]:

- $O1 = KARi \text{ max} - (KARi \text{ max} - KARi \text{ min}) \cdot 0,8$
- $O2 = KPRi \text{ max} - (KPRi \text{ max} - KPRi \text{ min}) \cdot 0,8$

Po dosazení hodnot jednotlivých rizik v jejich procentuálním vyjádření do vzorců a po provedení výpočtu získáme hodnoty $O1 = 11,4 \%$ (osa x) a $O2 = 20 \%$ (osa y). V tuto chvíli máme všechny hodnoty potřebné ke grafickému znázornění analýzy KARS, které lze vidět na obrázku 11.



Obrázek 11 – Výsledný graf metody KARS [vlastní zdroj]

Oblast primárně i sekundárně nebezpečných rizik neboli kvadrant I., je finálním výstupem dílčího výzkumu prováděného pomocí metody KARS. V této oblasti se nachází nejvíce nebezpečná primární i sekundární rizika, jež mohou mít za následek sníženou přesnost antigenních testů a tím pádem i zhoršování epidemiologické situace ve světě. Dohromady se tak na základě předchozích výpočtů jedná o tři rizika – nekvalitní odběr biologického materiálu, špatný postup při vyhodnocování testu a chybná diagnóza. Všechna zmíněná rizika spolu souvisejí, navzájem se prolínají a navazují na sebe. Jako nejzávažnější z nich bych vyhodnotila první dvě zmíněná rizika, a to nekvalitní odběr biologického materiálu a špatný postup při vyhodnocování testu. Za předpokladu, že testovací sada i okolní podmínky potřebné k testování jsou splněny (datum expirace materiálu, teplota prostředí), o čemž v případě antigenního testování ve zdravotnických zařízeních z důvodu velké spotřeby materiálu a vytápění téměř nepochybuji, jsou daná dvě rizika největší hrozbou.

V případě, že odběr biologického materiálu je proveden nekvalitně, znehodnocuje se tak veškerý následný postup testování i samotný výsledek antigenního testu. To samé platí i v případě špatného postupu při vyšetřování biologického materiálu na přítomnost viru SARS-CoV-2. Zde může docházet ke špatnému zředění vzorku tekutinou (pufrem), přenesení minimálního množství biologického materiálu z tyčinky do extrakční zkumavky, nakapání špatného množství tekutiny z extrakční zkumavky na kazetu antigenního testování či k pozdnímu použití oné kazety (nutnost použít testovací kazetu do 60 minut od vyjmutí z obalu). Obě tato rizika mohou vést k chybnému výsledku antigenního testu, což představuje sekundární riziko mylné diagnózy testovaného subjektu. Jednu z nejzávažnějších možností představuje označení pacienta za falešně negativního – zvyšuje se zde riziko dalšího, ač nechtěného, šíření onemocnění nebo zlehčování svého zdravotního stavu pod domněnkou jiného onemocnění (nachlazení, chřipka), což může přispět ke (akutnímu) zhoršení zdravotního stavu.

5.5 Navrhovaná opatření

V mnoha oblastech je nezbytná kontrola, v případě antigenního testování toto pravidlo platí dvojnásob. Při špatně stanoveném výsledku, respektive chybně určené diagnóze, nejde již jen o nás jakožto o osoby, které chybu způsobily, ale můžeme tím především ovlivňovat životy druhých.

Základem všeho je znalost nejen teorie, ale i její uplatnění v praxi. Pro správné provádění a vyhodnocování antigenních testů, které by snižovaly procento chybovosti a případně i zvyšovaly relativní citlivost a specificitu testů, by měla být pořádána povinná školení pro zdravotnický personál, který odběrovou a vyšetřovatelskou činnost bude vykonávat. Předmětech takových to školeních by měla být nejen ukázka správného odběru biologického materiálu a jeho vyšetření, ale i zdánlivě méně podstatné informace, na které může být v praxi opomíjeno.

Jedná se především o provádění testů zásadně při pokojové teplotě, která se v ideálním případě pohybuje v rozmezí 15-25 °C. S tím rovněž souvisí i teplota pro správné skladování testů, která má již benevolentnější teplotní rozmezí mezi 2-30 °C. Jestliže se teplota skladování testů pohybuje spíše u spodní hranice, je příhodné je před použitím nechat „aklimatizovat“ v běžné pokojové teplotě.

Neméně důležitý je i správný odečet času testování od nakapání tekutiny na antigenní kazetu. Ten je roven 15-30 minutám, po této době by již na odečítání výsledku z antigenního testu neměl být brán zřetel.

Posledním zásadním bodem by měla být pravidelná kontrola doby expirace antigenního testu, respektive celé testovací sady. Ta se obvykle pohybuje okolo 24 měsíců. Ve zdravotnických zařízeních se vzhledem k vysoké spotřebě testovacích kazet jednalo dlouhou dobu spíše o jev, který nemůže nastat, nicméně poptávka po testování obecně v posledních týdnech významně klesá (duben 2022), rovněž už není povinné pravidelné antigenní testování neočkovaných zaměstnanců zdravotnických zařízení.

Po skončení testování je vždy nutné řádně vydezinfikovat pracovní prostor, ve kterém byly odběry a antigenní testy prováděny. Děje se tak ideálně mezi každým provedeným testem, aby se tak zabránilo případnému rozšíření onemocnění COVID-19, či minimálně možnému ovlivňování dalších výsledků antigenních testů prováděných v té samé testovací místnosti.

Dílním nápadem je rovněž „zpříjemnění“ odběru biologického vzorku testovaným subjektům, což může vést u především u dětí a citlivějších osob ke klidnějšímu a tím pádem i důkladnějšímu odběru materiálu k šetření. Dít by se tak mohlo zejména prostřednictvím výroby nových tyčinek se senzitivnějším mikrovláknem, které snadněji a ve větším množství zachytí biologický materiál i při výtěru z jedné nosní dírky (respektive z jejího okraje).

S výše uvedeným bodem by mohlo korespondovat i zdokonalení testovacích kazet, které by dokázaly zachytit ještě menší množství viru SARS-CoV-2 v biologickém vzorku, než je tomu doposud. Zvýšila by se tím nejen jejich relativní citlivost testů, ale i uváděná přesnost, která se od relativní senzibility odvíjí.

V rámci kvality testování hraje určitou roli i správná organizace odběrového místa. Jestliže je antigenní testování zejména co do kapacity odběrového místa správně organizováno, můžeme se tak vyvarovat chyb lidského faktoru, jako je již zmíněný nesprávný (rychlý) odběr vzorku a jeho kvapné vyhodnocování, ale i špatné zadávání

výsledků do zdravotnického systému vlivem okolního tlaku. I tímto způsobem tak může docházet ke špatné interpretaci výsledků, jakými je falešná negativita a falešná pozitivita.

Závěrečným návrhem, který by mohl přispívat ke zkvalitnění antigenního testování, je podrobnější, respektive srozumitelnější komunikace s testovaným člověkem. Jestliže dané osobě vysvětlíme, jak odběr biologického materiálu probíhá a co po testované osobě pro kvalitní provedení výtěru budeme vyžadovat, zvyšuje se tím pravděpodobnost správně vykonaného odběru.

6 DISKUZE

6.1 Klinické charakteristiky

Citlivost rychlých antigenních testů je na základě jedné z klinických studií u jednotlivých symptomatických pacientů podezřelých z infekce COVID-19 rovna 97,1 %, specificita dokonce 99,5 %. Dle této studie, jež hodnotila klinické parametry u stejného typu antigenního testu, který jsem pro svůj výzkum využívala i já, a která byla prováděna výrobcem mnou zkoumaných testů SARS-CoV-2 Antigen Rapid Test od firmy ACON Biotech, byl udělán výtěr z okraje nosu dohromady 605 symptomatickým subjektům, u kterých byl předpoklad nákazy virem SARS-CoV-2. Výsledky studie, na jejímž základě je určena relativní sensitivita, specificita i přesnost, jsou uvedeny v tabulce 15 [73].

Tabulka 15 – Klinická charakteristika první studie antigenního testu SARS-CoV-2 Antigen Rapid Test [73]

Metoda		RT-PCR		Celkové výsledky
Rychlý antigenní test SARS-CoV-2	Výsledky	Negativní	Pozitivní	
	Negativní	433	5	438
	Pozitivní	2	165	167
Celkové výsledky		435	170	605

Z tabulky lze již dopředu snadno vyčíst, že dle uvedených čísel bude procentuální vyjádření relativní citlivosti i relativní specificity dosahovat vysokých hodnot. Vzhledem k celkovému počtu testovaných osob a podmínkám, za kterých byla prováděna (jedná se o klinickou studii samotného výrobce antigenních testů, a tak předpokládáme ideální podmínky výzkumu a bezchybný postup) lze brát tuto studii jako významnou a mohou být od ní odvozené relativně platné a pravděpodobně i téměř přesné závěry. Je však nutné brát v potaz, že klinická studie probíhala pouze u symptomatických osob, jejichž množství viru SARS-CoV-2 v lidském organismu může být podstatně vyšší, než je tomu u nakažených asymptomatických osob, které zahrnoval i můj vlastní výzkum. To může mít poměrně zásadní vliv na výsledky antigenního testování, zejména může být touto skutečností zapříčiněno nízké procento jednotlivých charakteristik antigenního testování během mého výzkumu (citlivost, specificita, přesnost).

Oproti klinické studii výrobce antigenních testů, kde relativní citlivost nabývá hodnot 97,1 %, je procentuální relativní citlivost mého výzkumu o několik desítek procent nižší, konkrétně 69,57 %. Důvodů pro tento jev může být hned několik, např. špatné skladování antigenních testů a jejich následné znehodnocení, příliš nízká, či naopak příliš vysoká pokojová teplota nevhodná k provedení antigenního testování, nekvalitně provedený odběr biologického materiálu nebo v neposlední řadě zmíněný rizikový faktor asymptomatických jedinců zahrnutých v mém výzkumu – konkrétněji však bude tato problematika rozebrána v další podkapitole. Nicméně všechny tyto jevy je nutné v průběhu antigenního testování brát do jisté míry v potaz a počítat s nimi při konečném zhodnocování kvality antigenních testů. Z tohoto důvodu, a i z důvodu ceny antigenního testování ve zdravotnických zařízeních, nevidím výsledek relativní citlivosti mého výzkumu jako neakceptovatelný [73].

Stejně jako relativní citlivost je i relativní specificita mého výzkumu o několik procent nižší než v klinické studii výrobce antigenního testu, kde se její hodnota pohybovala okolo 99,5 %. V mém výzkumu tento parametr nabývá hodnoty 83,33 %. Nicméně při porovnání těchto dvou klíčových parametrů testování je procentuální úspěšnost relativní senzitivity v rámci mého výzkumu významně vyšší než zjištěná relativní citlivost [73].

Oproti přesnosti rychlých antigenních testů SARS-CoV-2 vyplývající z klinické studie výrobce, kde nabývá hodnoty 98,8 %, je klinická přesnost mého výzkumu opět nižší, konkrétně 70,41 %. Výsledek přesnosti je odvozen od skutečně pozitivních (relativní citlivost) a skutečně negativních (relativní senzitivita) subjektů, čímž se dalo předpokládat, že procentuální úspěšnost přesnosti se u mého výzkumu bude pohybovat v podobné relaci jako již dvě zmíněné charakteristiky [73].

Výsledky druhé dílčí studie, která byla opět zaštiťována výrobcem antigenních testů, firmou ACON Biotech, se nijak zvlášť neliší od prvotního výzkumu. Činnost SARS-CoV-2 rychlého antigenního testu byla zhodnocena pomocí menšího výzkumného vzorku v podobě 304 výtěrů z nosu, který byly odebrány od jednotlivých symptomatických pacientů, kteří projevovali různé typy příznaků během posledních 7 dnů před testováním, a tím pádem u nich bylo podezření na onemocnění COVID-19.

Hodnoty jednotlivých charakteristik antigenních testů firmy ACON Biotech jsou zaneseny do tabulky 16 [74].

Tabulka 16 – Klinická charakteristika druhé studie antigenního testu SARS-CoV-2 Antigen Rapid Test [74]

Metoda		RT-PCR		Celkové výsledky
Rychlý antigenní test SARS-CoV-2	Výsledky	Negativní	Pozitivní	
	Negativní	269	1	270
	Pozitivní	1	33	34
Celkové výsledky		270	34	304

Výsledky výzkumu vypočítané na základě hodnot uvedených v tabulce 16 vypadají následovně:

- relativní citlivost testu SARS-CoV-2 Antigen Rapid Test je rovna 97,1 %;
- relativní specifická testu SARS-CoV-2 Antigen Rapid Test je rovna 99,6 %;
- přesnost testu SARS-CoV-2 Antigen Rapid Test je rovna 99,3 % [74].

I z druhého výzkumu vyplývá, že dle klinických hodnot výzkumu provedeného výrobcem, patří daný typ antigenního testu mezi vysoce citlivé a téměř 100 % spolehlivé. Nicméně i zde probíhala studie pouze se symptomatickými pacienty, kdy množství viru u symptomatického jedince je s nejvyšší pravděpodobností mnohonásobně vyšší, než je hodnota limitu detekce (dále pouze „LoD“).

Zmíněná hodnota LoD je u rychlého antigenního testu Flowflex na základě výzkumu výrobce ACON Biotech rovna pouze $1,6 \cdot 10^2$ TCID₅₀/ml, což je mimo jiné jednotka tzv. kvantifikace viru zahrnující počet virů v určitém objemu sloužící k určení koncentrace viru. Dle studie z března roku 2021, která byla prováděná v laboratoři společnosti Bionova se rovněž jedná o jeden z nejcitlivějších testů na trhu. „Při dalším snížení virové nálože o polovinu, na 500 virů na mililitr, reagovaly pozitivně už jen tři testy od výrobců Humasis, ACON Biotech a ABBOTT. Prokázaly až 20x vyšší citlivost, a tedy i účinnost než testy, které registrovaly přítomnost viru pouze při vysoké virové náloži,“ [75] oznámil vedoucí prováděné studie MUDr. Petr Bauer PhD. Nicméně i zde musíme počítat s ideálními „laboratorními“ podmínkami výzkumu, kterých se zřídka kdy v běžné praxi ve zdravotnických zařízeních, dostává [74].

6.2 Role věku a pohlaví v antigenním testování

Na základě výsledků mého výzkumu a výpočtu procentuálních hodnot klinických charakteristik je zde reálná možnost se do určité míry domnívat, že by pohlaví testovaných subjektů mohlo mít vliv na průběh onemocnění COVID-19 v lidském organismu a tím pádem i na výsledky antigenního testování. V porovnání s hodnotou klinické přesnosti vypočítané pro celkový vzorek testovaných osob, která je v diplomové práci rovna 70,41 %, je přesnost antigenních testů mužské části vzorku jednoznačně nejnižší – dosahuje hodnoty pouhých 66,67 %. Hodnota přesnosti tak po vztažení na konkrétní vzorek výzkumu klesla bezmála o 4 %. V porovnání s výzkumným vzorkem majícím pouze ženské zastoupení klesla hodnota přesnosti u mužů téměř o 8 % - zde totiž dosahuje přesnost antigenního testování bezmála 74,5 %.

Proč a jestli hraje pohlaví testovaných osob v antigenním testování roli může být předmětem dalšího zkoumání předních odborníků. Pro mě jako pro laika v dané oblasti je tento vyvozený závěr zajímavý, nicméně nedokážu určit, proč by k této odchylce z hlediska fungování lidského organismu mělo docházet. Prozatím jsem se nesetkala s výzkumem, který by tuto možnost reálně studoval či alespoň důkladněji vysvětloval – vždy se bere v potaz testovaný vzorek jako celek, rozdělení subjektů dle jejich pohlaví zatím nepřišlo v úvahu.

Co se týče výsledků, které jsou vyvozeny na základě dat mladší části vzorku, vypočítaná hodnota přesnosti se od obecné klinické přesnosti v tomto případě téměř neodlišuje – je o pouhé 1 % vyšší, konkrétněji je rovna 71,43 %. Nicméně je nutné si uvědomit, že daná procentuální přesnost antigenního testování u mladších osob je počítána pouze ze 7 vhodných testovaných subjektů. Tento nízký počet akceptovatelných vzorků může v konečném důsledku hrát velkou roli a výslednou přesnost antigenního testování u mladších osob zkreslovat.

Stejně jako tomu bylo u procentuální úspěšnosti antigenního testování u mladší generace, ani u starší části testovaného vzorku se vypočtená přesnost významně neodlišuje od klinické přesnosti antigenního testu značky Flowflex, jejíž hodnota je v rámci mého výzkumu rovna 70,41 %. V případě procentuálního určení přesnosti rychlých antigenních testů u starší generace vzorku mluvíme o 70,33 %. Rozdíl mezi

těmito dvěma hodnotami je tak s minimální odchylkou roven 0,08 %. To ukazuje na fakt, že věk v rámci antigenního testování osob na přítomnost viru SARS-CoV-2 v lidském těle hraje minimální roli. Proč tomu tak je zůstává stejně jako v případě rozdělení testovaného vzorku dle pohlaví otázkou – neexistují žádné důkladnější studie, které by braly v potaz toto možné kritérium, ani žádné výzkumy týkající se lidského organismu a vlivu věku na průběh a vyhodnocení antigenního testování, tudíž neexistuje žádný jiný relativní důkaz, který by potvrzoval nebo vyvracel mojí teorii na základě provedeného výzkumu. Pouze jeden z mnoha nalezených vědeckých článků vznáší výrok zvýšené citlivosti antigenních testů při testování dětí:

„Ve srovnání s RT-PCR poskytl test Panbio™ COVID-19 Ag Rapid Test vynikající specifitu a celkem dobrou celkovou citlivost, přičemž v dalším opakování studie došlo k mírnému zlepšení, když byl čas do testování méně než 5 dnů od nástupu příznaků. Nicméně oba procentuální výsledky jsou méně působivé, než tvrdí výrobce (uváděná citlivost je rovna 93 %). Na základě našeho zjištění, soubor vzorků hodnocených výrobcem mohl obsahovat velkou část vzorků vysoké virové zátěže. Relativní citlivost testů SARS-CoV-2 našeho výzkumu se tak obecně pohybuje mezi 45 % a 97 %, přesto přímé srovnání mezi studii je ztíženo výraznými odlišnostmi v klinických charakteristikách jako je mimo jiné věk pacienta, testovací místnost, typ zpracovávaného vzorku a čas na testování. Zajímavé je, že citlivost antigenního testu byla vyšší u dospělých osob než u dětských pacientů. Předchozí studie nezjistily žádné rozdíly související s věkem a zátěží viru SARS-CoV-2 v horních cestách dýchacích. Přestože je to spekulativní, datování nástupu symptomů mohlo být více nepřesné u dětí než u dospělých.“ [76].

Tento názor pochází z výzkumné studie E. Albert a kolektivu prováděné za pomoci rychlého antigenního testu značky The Panbio™. Rovněž jako já se domnívá, že studie prováděné přímo výrobcem testu se od výsledků používání antigenních testů v praxi liší hned v několika bodech, které dle mého názoru mají za následek snížení hodnot uváděných klinických charakteristik – jinak řečeno je téměř nemožné v běžné praxi dosáhnout takových hodnot relativní citlivosti, specifity nebo přesnosti, jaké na základě laboratorní studie prováděné za ideálních podmínek uvádí výrobce daného antigenního testu.

6.3 Chybovost a nevýhody antigenního testování

Vzorek osob, u kterého během mého výzkumu nebylo prokázáno onemocnění COVID-19 pomocí antigenního testu, avšak následně velká část vzorku byla označena pomocí přesnější a citlivější metody RT-PCR za infikovanou, nazýváme falešně negativní. V opačném případě, kdy osoba v mém výzkumu byla označena pomocí rychlého antigenního testu na pozitivní, avšak RT-PCR test toto tvrzení vyvrátil, mluvíme o falešné pozitivitě. Oba jevy jsou zásadními chybami v antigenním testování, čímž se v praxi mnohdy výrazně snižuje jejich relativní citlivost, relativní specificita i přesnost, jako tomu bylo i během mého vlastního výzkumu.

Na otázku, co vedlo ke snížení citlivost, specificity i přesnosti Flowflex rychlých antigenních testů používaných v mém výzkumu, existuje hned několik možných odpovědí. Může se stát, že po aplikaci tekutiny do vzorkové jamky testovací kazety nedojde k zobrazení ani jedné čárky, což v praxi znamená, že výsledek interpretujeme jako neplatný. Nejpravděpodobnějšími příčinami neobjevení se kontrolní čárky může být nedostatečný objem testované vzorku, často zmiňované nepříznivé teplotní podmínky nebo špatný postup šetření. V takovém případě je třeba si znovu detailně projít postup testu a zopakovat ho v ideálních podmínkách s novou testovací kazetou, tyčinkou a zkumavkou. Kromě toho zde existuje možnost interní kontroly v podobě pozitivní a negativní kontrolní tyčinky, které se dodávají společně s testovací sadou. Lze je použít pro ujištění, že testovací kazeta funguje a postup testu se vykonává správně. Pokud však tento problém přetrvává, je třeba kontaktovat příslušného distributora antigenních testů, případně místo, kde byla antigenní sada pořizována [44,64,77].

Nutno podotknout, že SARS-CoV-2 rychlý antigenní test od značky Flowflex je určen pouze pro detekci antigenů SARS-CoV-2 ve vzorcích výtěru z nosu. To znamená, že v případě výtěru z krku nemusí dojít ke správné diagnostice. Další chybovost může být způsobena také nízkou až nedetekovatelnou hladinou antigenu v odebraném vzorku, která může vést k falešné negativitě. Kromě toho pozitivní výsledek nevylučuje ko-infekce jinými patogeny, a je nutno rovněž brát v potaz, že pozitivní výsledek testu nerozlišuje mezi virem SARS-CoV a SARS-CoV-2 [44].

Existuje několik pravidel, která se mají dodržovat před provedením antigenního, ale i RT-PCR testu. Mezi taková nejznámější pravidla patří, že testovaný člověk nesmí jíst, pít, žvýkat žvýkačku, používat spreje/kapky do nosu nebo si čistit zuby ideálně 30-60 minut před samotným testováním. Kromě toho je doporučováno stejnou dobu před testováním nekouřit a nevyplachovat si ústa. Na sliznici v ústní dutině, ale i na sliznici horních cest dýchacích je v případě nákazy virem SARS-CoV-2 koncentrováno určité procento tohoto viru, která se však může výše uvedenými činnostmi snížit, což vede k možnému zkreslení výsledku testu či dokonce k falešné negativitě [78].

Další chyby při testování uváděné samotným výrobcem rychlého antigenního testu Flowflex jsou defacto výčtem nedostatků a nedopatřeních ke kterým v průběhu vyhodnocování antigenního testu může docházet, nepostupujeme-li v souladu s doporučeným postupem výrobce, který jsem detailně popsala ve své teoretické části práce. Většina z nich je po přečtení návodu snadno vydedukovatelná, některé z nich jsem ve své diplomové práci naznačovala či přímo zmiňovala a souhlasím s nimi.

- 1. „Rychlý antigenní test Flowflex COVID-19 je pouze pro diagnostické použití in vitro. Test by měl být použit pro detekce antigenů SARS-CoV-2 pouze ve vzorcích předních nosních výtěrů. Intenzita linie testu nemusí nutně korelovat s titrem viru SARS-CoV-2 ve vzorku.*
- 2. Vzorky by měly být testovány co nejrychleji po odběru vzorků.*
- 3. Pokud byl vzorek odebrán nebo s ním bylo nesprávně zacházeno, může dojít k falešně negativnímu výsledku.*
- 4. K falešně negativnímu výsledku může dojít, pokud tamponem nebude kroužit alespoň 30 sekund nebo se pětkrát neotočí.*
- 5. Pokud jsou do jamky pro vzorek přidány méně než 4 kapky tekutiny, může dojít k falešně negativnímu nebo neplatnému výsledku.*
- 6. Falešně negativní nebo falešně pozitivní výsledek se může objevit, pokud se výsledek testu odečte před 15 minutami nebo po 30 minutách*
- 7. Negativní výsledky jsou předpokládáné, nevylučují onemocnění COVID-19 a může být nutné podstoupit další testování pomocí molekulárního testu, pokud je to pro léčbu pacienta nezbytné.*
- 8. Negativní výsledek testu není určen k vyloučení jiných virových nebo bakteriálních infekcí.“ [44].*

Je nutno brát v potaz, že možné chyby a nedostatky nejen Flowflex SARS-CoV-2 rychlého antigenního testu jsou stanoveny na základě vyhodnocení omezeného počtu klinických vzorků odebraných mezi březnem a květnem 2021. Klinická výkonnost nebyla stanovena u všech kolujících variant viru, ale očekává se, že výsledek bude odrážet převládající varianty v oběhu v době a místě klinického vyšetření hodnocení. Výkon v době testování se může lišit v závislosti na nových variantách viru a jejich prevalenci, která se v čase mění [44].

Jiný pohled na detekovatelnou koncentraci viru v lidském organismu nabízí výzkum J. Polechové a kolektivu. Ta uvádí, že nižší citlivost antigenních testů oproti metodě RT-PCR nemusí vždy znamenat znevýhodnění. Antigenní testy označí za pozitivní zpravidla ty osoby, které jsou v danou dobu zároveň i infekční. To znamená, že antigenní test nám sice neurčí, zda po prodělání infekce máme v těle zbytkovou koncentraci viru SARS-CoV-2, nicméně dokáže ve většině případů správně určit nakaženou infekční osobu, a tak i zabránit případnému sekundárnímu přenosu onemocnění, což je z mého pohledu nejdůležitějším krokem k poražení či alespoň eliminování pandemie COVID-19. Více již v úryvku studie [79]:

„Obzvláště důležitým faktorem je to, že i při použití pod dohledem rychlé antigenní testy jsou méně citlivé než PCR testy. Na rozdíl od testů na protilátky, které detekují protilátky z předchozí infekce, se testy antigenů používají k detekci lidí, kteří jsou aktuálně infikováni – a infekční. Kontrola epidemie se opírá o testování prováděné za přijatelných podmínek ve velkém měřítku, takže významná část populace se může testovat několikrát týdně. Během prvních dvou až tří dnů po infekci SARS-CoV-2 nemohou ani PCR ani rychlé antigenní testy detekovat virus, protože jeho koncentrace je příliš nízká. Během následného prudkého nárůstu koncentrace viru PCR test detekuje infekci o něco dříve než rychlý antigenní test. Krátké období vysoké infekčnosti vysvětluje, proč je časté testování zásadní pro potlačení šíření COVID-19: testování méně často, než jednou týdně, má na nové infekce malý vliv, protože většina případů bude odhalena příliš pozdě. Bez jakéhokoli živého viru už člověk není infekční a test na antigen bude pravděpodobně negativní. Naproti tomu PCR testy mohou v tomto případě stále poskytovat pozitivní výsledky, protože virová RNA zůstává v dýchacím traktu na detekovatelné úrovni. Pro potlačení epidemie je rozhodující schopnost odhalit a izolovat infekčního člověka dříve, než nakazí ostatní – načasování je prvořadé. Identifikace případu v postinfekční

fázi je důležitá pro diagnostiku, ale ne z hlediska veřejného zdraví, tedy pro prevenci sekundárních infekcí. Vyšší diagnostická citlivost testů PCR se tedy přímo nepromítá do zlepšené kontroly pandemie: demonstrujte, že frekvence testování je důležitější než způsob testování.“ [79].

6.4 Antigenní testování nebo metoda RT-PCR?

Největší již známá a řešená nevýhoda antigenních testů oproti metodě RT-PCR je snížená citlivost na přítomnost viru SARS-CoV-2. Tuto skutečnost je nutno brát v potaz zejména s možným rizikem již zmíněné falešné negativity v rané fázi onemocnění, kdy množství viru v lidském organismu je nižší než LoD. Nicméně, jak ukázal i můj výzkum pomocí multikriteriální analýzy, i přesto dokáže rychlý antigenní test metodě RT-PCR v mnoha směrech konkurovat, což mimo jiné dokazuje i studie M. Peña, M. Ampuero, C. Garcés a kolektivu:

„Preventivní doporučení na základě výsledků studie, kdy se citlivost nejmenovaného antigenního testu rovnala 69,86 % naznačuje, že RAT (pozn. rapid antigen test) by neměl nahradit metodu RT-PCR diagnostice a sledování infekce viru SARS-CoV-2. Nicméně, PPV (pozn. positive prognostic value) testování antigenu dosahovalo hodnoty 94,44 %, což ukazuje, že asymptomatické osoby s pozitivními výsledky antigenu jsou infikovány SARS-CoV-2 a nebyly by tak vyžadovány potvrzující RT-PCR testy. Stejně tak NPV (pozn. negative prognostic value) vychází z testování s hodnotou 97,21 %, což ukazuje, že asymptomatické jedinci s negativními výsledky antigenu pravděpodobně nebudou infikováni. Tyto výsledky znamenají rychlejší vyšetřování infikovaných jedinců, což jen dokazuje teorii, že by RAT mohl hrát významnou roli při testování a kontrole pandemie COVID-19 v oblastech, ve kterých chybí vhodné laboratoře pro provádění RT-PCR testů, v oblastech, kde vyhodnocování výsledků trvá běžně déle než 24–48 hodin, a i v oblastech s vysokou kumulací osob, jako jsou letiště, mezinárodní autobusová a vlaková nádraží nebo jakékoliv jiné místo velkého hromadění osob, kde je vyžadováno rychlé vyhodnocení testů.“ [80].

Jak jsem již ve své práci konstatovala, snížená spolehlivost antigenních testů je v tom případě vyvážena zejména nižšími náklady na provádění testování a časovou náročností na vyhodnocení testu. Stejně jako ve studii M. Pena a kolektivu se domnívám,

že z tohoto důvodu mají antigenní testy své místo především v místech potřeby plošného testování, kde není možnost provádění RT-PCR testování či z časového a finančního hlediska nepřichází v úvahu (bez žádanky, respektive v případě svévolné potřeby, je RT-PCR test od 5.5.2022 zpoplatněn částkou 853 Kč). Mluvíme tak o využívání antigenního testování zejména ve firmách, školách a školkách, kde je z důvodu nutnosti rychlého a průběžného testování tato varianta dostačující. Metoda RT-PCR testování, jak již bylo během mého výzkumu několikrát řečeno, je časově i finančně náročnější variantou testování, nicméně co do hodnot relativní citlivosti, specifity a přesnosti ji antigenní testy nemohou konkurovat. Využívají se tak v případech, kdy je potřeba jasně stanovit přítomnost viru SARS-CoV-2 v lidském organismu, ať už u symptomatického nebo asymptomatického jedince. Bez ohledu na časovou náročnost vyhodnocení testu či případnou cenu by RT-PCR test měl být v případě jasného určení onemocnění prioritní volbou.

Výsledek mé multikriteriální analýzy spolu s názorem M. Pena a kolektivu ukazují, že každý z testů má své pro a proti, kterými se jejich celková hodnota vyvažuje. Dle mého názoru je jasné, že oba typy testů si na trhu našly své místo a jsou tak i nadále ve velké míře společně nabízeny jako způsoby průkaznosti onemocněním COVID-19.

Otázku citlivosti RT-PCR a antigenních testů řešil i další výzkum probíhající na Tchaj-wanu v květnu 2021, který prováděl M.-J. Jian, C.-L. Perng, H.-Y. Chung a kolektiv. Stejně jako předchozí výzkum tak i tento podporuje moji myšlenku, že za běžných podmínek nelze dosáhnout relativní citlivosti a specifity uváděných v příbalových informacích daného antigenního testu. Rovněž se věnuje zkoumání neznámého antigenního testu fungujícím na principu laterálního průtoku, na kterém funguje i mnou zkoumaný antigenní test of firmy ACON Biotech. Kromě všeho výsledky studie souhlasí s primárním využitím antigenních testů v místech hustého zalidnění, což již ve světě v daném období probíhalo, jak se ostatně v samotné studii píše [81]:

„Tato studie komplexně a systematicky hodnotila klinický výkon soupravy rychlého testu antigenu COVID-19 v komunitní prostředí zahrnující symptomatické a asymptomatické subjekty. V tomto reálném hodnocení byli pomocí RT-PCR testů identifikováni jedinci infikovaní SARS-CoV-2 s nízkými hodnotami Ct (tzv. prahový cyklus

PCR). Jak se očekávalo, 100% specifická a 100% senzitivita uvedené v příbalových informacích nebyly při klinickém hodnocení v komunitním prostředí pozorovány. Tato studie odhalila skutečnou výkonnost testu, zejména u symptomatických nebo asymptomatických subjektů. Testy laterálního průtoku trpí subjektivní interpretací, která může vést k potížím při analýze slabě pozitivních proužků, například 23 slabě pozitivních výsledků byly hlášeny rychlým antigenním testem v této studii jako pozitivní, ačkoli pouze 56 % těchto výsledků bylo skutečně pozitivních po použití referenční RT-PCR metody. Subjektivní interpretace nejistých výsledků je hlavním omezením stanovení laterálního průtoku. Jiná studie ukázala, že většina detekovaných případů představujících spíše falešnou pozitivitu než skutečnou infekci. V současné době pandemie COVID-19 pomáhají rychlé testovací soupravy SARS-CoV-2 při rychlém hodnocení nakažlivosti v hustě obydlených oblastech postižených epidemií a v mnoha zemích se široce používají k potlačení pandemie. Obecně platí, že testy laterálního průtoku jsou účinné, když jsou subjekty symptomatické nebo mají v anamnéze kontakt s potvrzeným případem COVID-19. Infekce virem SARS-CoV-2 však může být asymptomatická a virová nálož v horních cestách dýchacích je v těchto případech nízká ve srovnání se symptomatickými případy. Stručně řečeno, rychlý antigenní test COVID-19 hodnocený v této studii dokázal odhalit infekci virem SARS-CoV-2 s vysokou virovou zátěží u asymptomatických i symptomatických jedinců. Tento test tedy může sloužit jako rychlý nástroj pro zablokování komunitního šíření SARS-CoV-2. Omezení této studie zahrnují skutečnost, že nebyl činěn žádný rozdíl mezi symptomatickými a asymptomatickými účastníky, což může ovlivnit stanovení citlivosti tohoto rychlého antigenního testu.“ [81].

Jiná studie, vznikající již v začátcích pandemie COVID-19, přichází se srovnáváním RT-PCR metody spolu s tehdy novým typem antigenního testu založeným na principu chemiluminiscenční enzymové imunoanalýzy. Odběry biologického materiálu v této studii neprobíhaly výtěrem z nosohltanu, nýbrž odběrem ze slin. Rychlé antigenní testování, které je založeno na tomto principu, je však možné provádět i s výtěry z nosohltanu, jak je uvedeno i v samotném výzkumu:

„Podle pokynů japonské vlády lze k testování pomocí soupravy LUMIPULSE SARS-CoV-2 použít výtěry ze slin i nosohltanu. Je pozoruhodné, že dle výsledků jiné studie může samosběr slin snížit riziko infekce u zdravotnických pracovníků. Japonská vláda rovněž doporučuje, aby byl test antigenu a test amplifikace nukleové kyseliny

ze slin aplikován u symptomatických pacientů maximálně do 9 dnů od propuknutí symptomů, kdy je virová zátěž v organismu vysoká. Ve srovnání s testem RT-PCR dokáže tento antigenní test zpracovat 60–120 vzorků za 30 minut na jeden běh na automatizovaném stroji, což značně zkracuje dobu vyhodnocování. Tento test by proto mohl být použit jako rutinní vysoce výkonný test v nemocničním prostředí, zejména během vysoké pandemické zátěže. Antigenní test však s sebou nese i určitá omezení. Mluvíme o nízké citlivosti ve srovnání s metodou RT-PCR, která dokáže detekovat i snížené množství viru SARS-CoV-2 pomocí procesu PCR amplifikace. V úvodu výzkumu jsme si nejdříve stanovili hraniční hodnotu pro detekci antigenu pomocí analýzy klinických charakteristik a porovnání účinnosti antigenního testu s účinností metody RT-PCR. Také jsme porovnávali virové zátěže a hladiny antigenů v sériových vzorcích od sedmi infikovaných pacientů. Při použití RT-PCR vykazoval antigenní test 55,2 % citlivost a 99,6 % specifičnost s 91,4 % celkovou mírou shody (286 vzorků z 313). U exemplářů s vyšší virovou náloží, než je hodnota 100 virových kopií (virové kopie RNA na mililitr transportního média) prokázal antigenní test 100 % a 85 % shodu s RT-PCR metodou v daném pořadí. Tato shoda klesala s nižší virovou zátěží. Stručně řečeno, antigen LUMIPULSE dokáže rychle identifikovat jedince infikované SARS-CoV-2 se střední až vysokou virovou zátěží a může být užitečný při monitorování virové hladiny u hospitalizovaných pacientů.“ [82].

Studie prováděná Y. Hirotsu a kolektivem vyvozuje obdobné názory a výsledky, kterých dosahovaly i studie předešlé s tím rozdílem, že zde probíhalo vyhodnocování antigenního testování na automatizovaném stroji, což značně zkracuje čas zhodnocení testů, a ještě více urychluje proces antigenního testování. S velkou pravděpodobností lze předpokládat, že díky tomuto vylepšení by se v průběhu velkého zájmu o antigenní testování zvládalo otestovat minimálně dvakrát více jedinců, než je tomu v případě zpracovávání testů odběrovým pracovníkem. Využití v praxi by tak znamenalo další plusové body pro antigenní testování, které již tak v mém výzkumu dopadlo o bod lépe než RT-PCR metoda, ale samozřejmě i velice zjednodušený průběh plošného antigenního testování ve firmách, školách, a jiných zařízeních a institucích. Zůstává zde však důvod k zamyšlení, zda se tato varianta vyhodnocování testů vzhledem k pořizovacím nákladům automatizovaného stroje a nárazovému zájmu (potřebě) antigenního testování vyplatí.

7 ZÁVĚR

Vzhledem k současné situaci se může jevit testování na přítomnost onemocnění COVID-19 v lidském organismu jako druhořadé. Svět se potýká s jinými, novými problémy globálního rozměru zaujímající stanovisko priority číslo jedna. Velkou mírou k tomuto stavu přispělo zejména rozsáhlé očkování obyvatelstva, které v České republice začalo na začátku loňského roku. Počet zejména hospitalizovaných pacientů s těžkým průběhem klesl a prodělání onemocnění se tak stalo celkově méně nebezpečným. Zejména tento fakt, dle mého názoru, vyvolal v lidech větší klid a jistotu vůči tomuto novému koronaviru.

Počet osob, které se nechávaly jakoukoliv metodou testovat k potvrzení či vyvrácení onemocnění COVID-19, však rostl. Příčin rychlejšího šíření onemocnění naskrz populací bylo několik, probíhající pandemii se však v relativní míře podařilo udržet pod kontrolou. Velký podíl na tom mělo spuštění plošného testování za pomoci rychlých antigenních testů, které jsou oproti metodě RT-PCR méně citlivou variantou s nižší specificitou a přesností. To ostatně potvrdil i můj výzkum, jehož předmětem byly antigenní testy od firmy ACON Biotech. Při hlubším bádání týkající se klinických charakteristik Flowflex rychlých antigenních testů jsem rovněž došla k závěru, že věk testovaných osob nijak zásadně neovlivňuje přesnost výsledků testů, nicméně je zde možnost, že pohlaví testovaných subjektů by do určité míry mohlo hrát ve stanovování pozitivivity či negativity určitou roli. Z tohoto důvodu první stanovenou hypotézu diplomové práce přijímám, druhou následně zamítám.

Zůstává otázkou, zda je vůbec v praxi možné vytvořit takové podmínky k testování, aby přesnost jednotlivých klinických charakteristik byla taková, jakou jí uvádějí výrobci testů. Nicméně pokud se o zlepšení alespoň nepokusíme, není možné očekávat uspokojivější výsledky.

Na závěr očekávám, že mnou získané a vyhodnocené informace by mohly být užitečné jak pro potencionální zákazníky firmy ACON Biotech, jejichž antigenní testy FlowFlex SARS-CoV-2 jsou předmětem zkoumání diplomové práce, tak právě i pro samotného výrobce rychlých antigenních testů, kdy by na základě mé výzkumné práce mohlo dojít k možná i zásadním inovacím v rámci antigenního testování.

8 SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK

RT-PCR – „Real-time“ polymerázová řetězová reakce

KARS – Kvalitativní analýza rizik a jejich souvztažností

WHO – Světová zdravotnická organizace

ACE2 receptor – Angiotensin-konvertující enzym 2

Ig – Imunoglobulin

ISIN – Informační systém infekční nemoci

KARi – Koeficient aktivity

KPRi – Koeficient pasivity

LoD – Limit detekce

RAT – Rapid antigen test

PPV – Pozitive prognostic value

NPV – Negative prognostic value

9 SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

- [1] SCHOEMAN, Dewald, Bianca GORDON a Burtram C. FIELDING. Coronaviruses. Encyclopedia of Infection and Immunity [online]. Elsevier, 2022, 2022, 241-258 [cit. 2022-05-03]. ISBN 9780323903035. Dostupné z: doi:10.1016/B978-0-12-818731-9.00052-5
- [2] VOTAVA, Miroslav. Lékařská mikrobiologie speciální. 1. vyd. Brno: NEPTUN, Březová 18, 637 00 Brno, 2003. 495 s. ISBN 80-902896-6-5.
- [3] SCHINDLER, Jiří. 2014. Mikrobiologie: pro studenty zdravotnických oborů. 2., dopl. a přeprac. vyd. Praha: Grada. Sestra. ISBN 978-80-247-4771-2.
- [4] HAMPLOVÁ, Lidmila. Mikrobiologie, imunologie, epidemiologie, hygiena: pro bakalářské studium a všechny typy zdravotnických škol. Praha: Stanislav Juhaňák – TRITON, 2015. ISBN 978-80-7387-934-1.
- [5] PRYMULA, Roman a Miroslav ŠPLIŇO. SARS: syndrom akutního respiračního selhání. Praha: Grada Publishing, 2006. ISBN 80-247-1550-3.
- [6] Middle East respiratory syndrome coronavirus (MERS-CoV). World Health Organization [online]. Geneve, Switzerland: WHO Press, 2022 [cit. 2022-05-03]. Dostupné z: https://www.who.int/health-topics/middle-east-respiratory-syndrome-coronavirus-mers#tab=tab_1
- [7] WIERSINGA, W. Joost, Andrew RHODES, Allen C. CHENG, Sharon J. PEACOCK a Hallie C. PRESCOTT. Pathophysiology, Transmission, Diagnosis, and Treatment of Coronavirus Disease 2019 (COVID-19). JAMA [online]. 2020, 324(8) [cit. 2022-05-03]. ISSN 0098-7484. Dostupné z: doi:10.1001/jama.2020.12839
- [8] YANG, Yicheng, Zhiqiang XIAO, Kaiyan YE, et al. SARS-CoV-2: characteristics and current advances in research. Virology Journal [online]. 2020, 17(1) [cit. 2022-05-03]. ISSN 1743-422X. Dostupné z: doi:10.1186/s12985-020-01369-z

- [9] RASTOGI, Meghana, Neha PANDEY, Astha SHUKLA, et al. SARS coronavirus 2: from genome to infectome. *Respiratory Research* [online]. 2020, 21(1) [cit. 2022-05-03]. ISSN 1465-993X. Dostupné z: doi:10.1186/s12931-020-01581-z
- [10] WANG, Mei-Yue, Rong ZHAO, Li-Juan GAO, et al. SARS-CoV-2: Structure, Biology, and Structure-Based Therapeutics Development. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology* [online]. 2020, 10(1) [cit. 2022-05-03]. ISSN 2235-2988. Dostupné z: doi:10.3389/fcimb.2020.587269
- [11] Porovnání detekce SARS-CoV-2 v nasopharyngeálních stěrech a kloktacích samoodběrových vzorcích. Olomouc, 2021. Diplomová práce. Univerzita Palackého v Olomouci. Vedoucí práce Mgr. Vladimíra Koudeláková, Ph. D.
- [12] SANTOS, Igor de Andrade, Victória Riquena GROSCHE, Fernando Rodrigues Goulart BERGAMINI, et al. Antivirals Against Coronaviruses: Candidate Drugs for SARS-CoV-2 Treatment?. *Frontiers in Microbiology* [online]. 2020, 11(1) [cit. 2022-05-03]. ISSN 1664-302X. Dostupné z: doi:10.3389/fmicb.2020.01818
- [13] MITTAL, Anshumali, Kavyashree MANJUNATH, Rajesh Kumar RANJAN, Sandeep KAUSHIK, Sujeet KUMAR, Vikash VERMA a Tom C. HOBMAN. COVID-19 pandemic: Insights into structure, function, and hACE2 receptor recognition by SARS-CoV-2. *PLOS Pathogens* [online]. 2020, 16(8) [cit. 2022-05-03]. ISSN 1553-7374. Dostupné z: doi:10.1371/journal.ppat.1008762
- [14] MLEJNKOVÁ, Hana, Věra OČENÁŠKOVÁ, Kateřina SOVOVÁ, Petra VAŠÍČKOVÁ, Eva JURANOVÁ, Vikash VERMA a Tom C. HOBMAN. Koronavirus SARS-CoV-2 v povrchových a odpadních vodách: Insights into structure, function, and hACE2 receptor recognition by SARS-CoV-2. *Vodohospodářské technicko-ekonomické informace* [online]. 2020, 62(3) [cit. 2022-05-03]. ISSN 03228916. Dostupné z: doi:10.46555/VTEI.2020.04.005
- [15] Coronavirus disease (COVID-19). World Health Organization [online]. Geneva, Switzerland: WHO Press, 2022 [cit. 2022-05-03]. Dostupné z: https://www.who.int/health-topics/coronavirus#tab=tab_1

- [16] WHO Coronavirus (COVID-19) Dashboard. World Health Organization [online]. Geneva, Switzerland: WHO Press, 2022 [cit. 2022-05-03]. Dostupné z: <https://covid19.who.int>
- [17] Virem SARS-CoV-2 se opakovaně nakazilo už přes 8 000 Čechů. Státní zdravotní ústav [online]. Praha: Kolektiv pracovníků SZÚ, 2021 [cit. 2022-05-03]. Dostupné z: <http://www.szu.cz/tema/prevence/virem-sars-cov-2-se-opakovane-nakazilo-uz-pres-8-000-cechu>
- [18] TU, Yung-Fang, Chian-Shiu CHIEN, Aliaksandr A. YARMISHYN, et al. A Review of SARS-CoV-2 and the Ongoing Clinical Trials. International Journal of Molecular Sciences [online]. 2020, 21(7) [cit. 2022-05-03]. ISSN 1422-0067. Dostupné z: [doi:10.3390/ijms21072657](https://doi.org/10.3390/ijms21072657)
- [19] BURRELL, Christopher J., Colin R. HOWARD, Frederick A. MURPHY, et al. Coronaviruses. Fenner and White's Medical Virology [online]. Elsevier, 2017, 2017, 21(7), 437-446 [cit. 2022-05-03]. ISBN 9780123751560. ISSN 1422-0067. Dostupné z: [doi:10.1016/B978-0-12-375156-0.00031-X](https://doi.org/10.1016/B978-0-12-375156-0.00031-X)
- [20] YANG, Yicheng, Zhiqiang XIAO, Kaiyan YE, et al. SARS-CoV-2: characteristics and current advances in research. Virology Journal [online]. Elsevier, 2020, 2017, 17(1), 437-446 [cit. 2022-05-03]. ISBN 9780123751560. ISSN 1743-422X. Dostupné z: [doi:10.1186/s12985-020-01369-z](https://doi.org/10.1186/s12985-020-01369-z)
- [21] GUAN, Y., B. J. ZHENG, Y. Q. HE, et al. SARS-CoV-2: characteristics and current advances in research. Science [online]. Elsevier, 2003, 2017, 302(5643), 437-446 [cit. 2022-05-03]. ISBN 9780123751560. ISSN 0036-8075. Dostupné z: [doi:10.1126/science.1087139](https://doi.org/10.1126/science.1087139)
- [22] MULABBI, Elijah N., Robert TWEYONGYERE, Denis K. BYARUGABA, et al. The history of the emergence and transmission of human coronaviruses: characteristics and current advances in research. Onderstepoort Journal of Veterinary Research [online]. Elsevier, 2021, 2017, 88(1), 276-278 [cit. 2022-05-

03]. ISBN 9780123751560. ISSN 2219-0635. Dostupné z:
doi:10.4102/ojvr.v88i1.1872

- [23] HU, Ben, Hua GUO, Peng ZHOU, et al. Characteristics of SARS-CoV-2 and COVID-19: characteristics and current advances in research. *Nature Reviews Microbiology* [online]. Elsevier, 2021, 2017, 19(3), 141-154 [cit. 2022-05-03]. ISBN 9780123751560. ISSN 1740-1526. Dostupné z: doi:10.1038/s41579-020-00459-7
- [24] COVID-19. European Centre for Disease Prevention and Control [online]. Solna, Sweden: ECDC, 2022 [cit. 2022-05-03]. Dostupné z: <https://www.ecdc.europa.eu/en/covid-19>
- [25] ACAR, Türkan, Esra ACIMAN DEMIREL, Nazire AFŞAR, et al. *Turkish Journal Of Neurology* [online]. 2020, 26(2) [cit. 2022-05-03]. ISSN 1301062X. Dostupné z: doi:10.4274/tnd.2020.73669
- [26] REICHARDT, Christiane, Karin BUNTE-SCHÖNBERGER a Patricia VAN DER LINDEN. *Hygiena a dezinfekce rukou: 100 otázek a odpovědí: překlad 2., aktualizovaného vydání. Přeložil Renata HALMO, přeložil Jana MOHROVÁ.* Praha: Grada Publishing, 2017. Sestra (Grada). ISBN 978-80-271-0217-4.
- [27] COVID-19: cesty přenosu. Národní zdravotnický informační portál [online]. Praha: Ministerstvo zdravotnictví ČR a Ústav zdravotnických informací a statistiky ČR, 2022 [cit. 2022-05-03]. ISSN ISSN 2695-0340. Dostupné z: <https://www.nzip.cz/clanek/1062-covid-19-cesty-prenosu>
- [28] DLOUHÝ P, PAZDERKOVÁ J, BARTOŠ H, CIMRMAN Š, BENEŠ J, ŠKOLA J, VACULÍKOVÁ D. COVID-19: diagnóza, terapie a prevence. *Acta medicae* 2020;8:36-46
- [29] SHEREEN, Muhammad Adnan, Suliman KHAN, Abeer KAZMI, Nadia BASHIR a Rabeea SIDDIQUE. COVID-19 infection: Emergence, transmission, and characteristics of human coronaviruses. *Journal of Advanced Research* [online].

2020, 24, 91-98 [cit. 2022-05-03]. ISSN 20901232. Dostupné z: doi:10.1016/j.jare.2020.03.005

- [30] MEYEROWITZ, Eric A., Aaron RICHTERMAN, Rajesh T. GANDHI, Paul E. SAX a Rabeea SIDDIQUE. Transmission of SARS-CoV-2: A Review of Viral, Host, and Environmental Factors. *Annals of Internal Medicine* [online]. 2021, 174(1), 69-79 [cit. 2022-05-03]. ISSN 0003-4819. Dostupné z: doi:10.7326/M20-5008
- [31] Coronavirus disease (COVID-19): How is it transmitted?. World Health Organization [online]. Geneva, Switzerland: WHO Press, 2022 [cit. 2022-05-03]. Dostupné z: <https://www.who.int/emergencies/diseases/novel-coronavirus-2019/question-and-answers-hub/q-a-detail/coronavirus-disease-covid-19-how-is-it-transmitted>
- [32] STEJSKAL, František. COVID-19- nine months of experiences. Are we using rational measures to control it? [online]. *Current Media s.r.o*, 2020 [cit. 2022-05-03]. ISSN 2533-6878.
- [33] CEVIK, Muge, Krutika KUPPALLI, Jason KINDRACHUK a Malik PEIRIS. Virology, transmission, and pathogenesis of SARS-CoV-2. *BMJ* [online]. [cit. 2022-05-03]. ISSN 1756-1833. Dostupné z: doi:10.1136/bmj.m3862
- [34] TUČEK, Milan. *Hygiena a epidemiologie. 2., doplněné vydání*. Praha: Univerzita Karlova, nakladatelství Karolinum, 2018. ISBN 978-80-246-3933-8.
- [35] COVID-19: Epidemiology, virology, and prevention. UpToDate [online]. Waltham, Massachusetts, USA: UpToDate, Inc. and/or its affiliates, 2022 [cit. 2022-05-03]. Dostupné z: <https://www.uptodate.com/contents/covid-19-epidemiology-virology-and-prevention>
- [36] Transplacentární přenos SARS-CoV-2 a konsekvence pro darování perinatálních tkání. Národní centrum pupečnickové krve [online]. Ostrava, 2021 [cit. 2022-05-03]. Dostupné z: <https://www.cekammiminko.cz/transplacentarni-prenos-sars-cov-2-a-konsekvence-pro-darovani-perinatalnich-tkani/>

- [37] Coronavirus disease 2019 (COVID-19). Mayo Clinic [online]. Rochester, MN, USA: Mayo Foundation for Medical Education and Research (MFMER), 2022 [cit. 2022-05-03]. Dostupné z: <https://www.mayoclinic.org/diseases-conditions/coronavirus/symptoms-causes/syc-20479963>
- [38] DRNKOVÁ, Barbora. Mikrobiologie, imunologie, epidemiologie a hygiena: pro zdravotnické obory. Praha: GRADA Publishing, 2019. Sestra. ISBN 978-80-271-0693-6.
- [39] MATHURIA, Jitendra Prasad, Ramakant YADAV a RAJKUMAR. Laboratory diagnosis of SARS-CoV-2 - A review of current methods. *Journal of Infection and Public Health* [online]. 2020, 13(7), 901-905 [cit. 2022-05-03]. ISSN 18760341. Dostupné z: [doi:10.1016/j.jiph.2020.06.005](https://doi.org/10.1016/j.jiph.2020.06.005)
- [40] ZALZALA, H.H., Ramakant YADAV a RAJKUMAR. Diagnosis of COVID-19: facts and challenges. *New Microbes and New Infections* [online]. 2020, 38(7), 901-905 [cit. 2022-05-03]. ISSN 20522975. Dostupné z: [doi:10.1016/j.nmni.2020.100761](https://doi.org/10.1016/j.nmni.2020.100761)
- [41] Infectious Diseases [online]. 2020. Vienna, Austria: IAEA BULLETIN, 2020 [cit. 2022-05-03]. ISSN 0020-6067. Dostupné z: <https://www.iaea.org/sites/default/files/infectiousdiseases.pdf>
- [42] VYMĚTALOVÁ, Veronika. Malý výkladový slovník biologických pojmů. V Praze: České vysoké učení technické, 2010. ISBN 978-80-01-04515-2.
- [43] GOUDOURIS, Ekaterini S. Laboratory diagnosis of COVID-19. *Jornal de Pediatria* [online]. 2021, 97(1), 7-12 [cit. 2022-05-03]. ISSN 00217557. Dostupné z: [doi:10.1016/j.jpmed.2020.08.001](https://doi.org/10.1016/j.jpmed.2020.08.001)
- [44] COVID-19 Antigen Home Test Package Insert for Healthcare Providers. U.S. Food and Drug Administration [online]. Silver Spring, Maryland, USA: FDA, 2022 [cit. 2022-05-03]. Dostupné z: <https://www.fda.gov/media/152698/download>

- [45] Obecné informace o antigenních testech a popis provedení testu. Covid portál [online]. Praha: Ministerstvo zdravotnictví, 2022 [cit. 2022-05-03]. Dostupné z: <https://covid.gov.cz/situace/testovani/obecne-informace-o-antigennich-testech-popis-provedeni-testu>
- [46] How do COVID-19 antibody tests differ from diagnostic tests?. Mayo Clinic [online]. Rochester, MN, USA: Mayo Foundation for Medical Education and Research (MFMER), 2022 [cit. 2022-05-03]. Dostupné z: <https://www.mayoclinic.org/diseases-conditions/coronavirus/expert-answers/covid-antibody-tests/faq-20484429>
- [47] COVID-19 Testing: What You Need to Know. Centers for Disease Control and Prevention [online]. Atlanta, Georgie, USA: U.S. Department of Health and Human Services, 2022 [cit. 2022-05-03]. Dostupné z: <https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/symptoms-testing/testing.html>
- [48] Covid-19: diagnostika a léčba mimo nemocnice. Ministerstvo zdravotnictví České republiky [online]. Praha: Ministerstvo zdravotnictví ČR, 2022 [cit. 2022-05-03]. Dostupné z: https://koronavirus.mzcr.cz/wp-content/uploads/2021/05/COVID-19_diagnostika_a_lecba_mimo_nemocnice_2021_04_08.pdf
- [49] IgA, IgM, IgG – Jak se v protilátkách proti koronaviru vyznat? Zdraví národa [online]. Praha: synlab czech, 2022, 2020 [cit. 2022-05-03]. Dostupné z: <https://zdravinaroda.cz/iga-igm-igg-jak-se-v-protilatkach-proti-koronaviru-vyznat/>
- [50] HOŘEJŠÍ, Václav, Jiřina BARTŮŇKOVÁ, Tomáš BRDIČKA a Radek ŠPÍŠEK. Základy imunologie. 6., aktualizované vydání. V Praze: Stanislav Juhaňák – Triton, 2017. ISBN 978-80-7553-250-3.
- [51] Trojánek M, Grebenyuk V, Herrmannová K, Nečas T, Gregorová J, Kucbel M, Šín R, Roháčová H, Stejskal F. Nový koronavirus (SARS-CoV-2) a onemocnění COVID-19. Čas Lék čes 2020;159(2):55–66

- [52] Coronavirus and COVID-19: What You Should Know. WebMD [online]. New York, New York, USA: WebMD, 2022 [cit. 2022-05-03]. Dostupné z: <https://www.webmd.com/lung/coronavirus#091e9c5e80d2648b-8-22>
- [53] Onemocnění novým koronavirem – COVID-19 (coronavirus disease 2019). Státní zdravotní ústav [online]. Praha: Kolektiv pracovníků SZÚ, 2020 [cit. 2022-05-03]. Dostupné z: http://www.szu.cz/uploads/Epidemiologie/Coronavirus/Zakladni_info/COVID_19_zakladni_informace_4.5.2020.pdf
- [54] Coronavirus disease (COVID-19). World Health Organization [online]. Geneva, Switzerland: WHO Press, 2021 [cit. 2022-05-03]. Dostupné z: <https://www.who.int/news-room/questions-and-answers/item/coronavirus-disease-covid-19>
- [55] FREDIANSYAH, Andri, Firzan NAINU, Kuldeep DHAMA, Mudatsir MUDATSIR a Harapan HARAPAN. Remdesivir and its antiviral activity against COVID-19: A systematic review. *Clinical Epidemiology and Global Health* [online]. 2021, 9, 123-127 [cit. 2022-05-03]. ISSN 22133984. Dostupné z: [doi:10.1016/j.cegh.2020.07.011](https://doi.org/10.1016/j.cegh.2020.07.011)
- [56] HAN, Seunghoon, Firzan NAINU, Kuldeep DHAMA, Mudatsir MUDATSIR a Harapan HARAPAN. Clinical vaccine development: A systematic review. *Clinical and Experimental Vaccine Research* [online]. 2015, 4(1), 123-127 [cit. 2022-05-03]. ISSN 2287-3651. Dostupné z: [doi:10.7774/cevr.2015.4.1.46](https://doi.org/10.7774/cevr.2015.4.1.46)
- [57] VOYSEY, Meryn, Sue Ann COSTA CLEMENS, Shabir A MADHI, et al. Clinical vaccine development: A systematic review. *The Lancet* [online]. 2021, 397(10277), 123-127 [cit. 2022-05-03]. ISSN 01406736. Dostupné z: [doi:10.1016/S0140-6736\(21\)00432-3](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(21)00432-3)
- [58] COVID-19 vaccines. World Health Organization [online]. Geneva, Switzerland: WHO Press, 2021 [cit. 2022-05-03]. Dostupné z:

<https://www.who.int/emergencies/diseases/novel-coronavirus-2019/covid-19-vaccines>

- [59] Přehledně: typy vakcín proti covidu-19, jejich fungování a účinnost. Akademie věd České republiky [online]. Praha: Středisko společných činností AV ČR, 2022 [cit. 2022-05-03]. Dostupné z: <https://www.avcr.cz/cs/veda-a-vyzkum/chemicke-vedy/Prehledne-Ctyri-typy-vakcin-proti-nemoci-covid-19/>
- [60] Naučte se vést kvantitativní výzkum. SeminárkyZal [online]. Ostrava: ABRIO SERVICE, 2019 [cit. 2022-05-03]. Dostupné z: <https://www.seminarkyzal.cz/blog-item/naucte-se-vest-quantitativni-vyzkum/>
- [61] Kvantitativní výzkum. Wikisofia [online]. Praha: Univerzita Karlova v Praze, Filozofická fakulta, 2017 [cit. 2022-05-03]. ISSN 2336-5897. Dostupné z: https://wikisofia.cz/wiki/Kvantitativni_vyzkum
- [62] HENDL, Jan a Jiří REMR. Metody výzkumu a evaluace. Praha: Portál, 2017. ISBN 978-80-262-1192-1.
- [63] Proměny názorů na používání chemických zbraní v moderních dějinách. Kladno, 2020. Bakalářská práce. České vysoké učení technické v Praze. Vedoucí práce prof. Ing. Vladimír Pitschmann, CSc.
- [64] LA MARCA, Antonio, Martina CAPUZZO, Tiziana PAGLIA, Laura ROLI, Tommaso TRENTI a Scott M. NELSON. Testing for SARS-CoV-2 (COVID-19): a systematic review and clinical guide to molecular and serological in-vitro diagnostic assays. Reproductive BioMedicine Online [online]. 2020, 41(3), 483-499 [cit. 2022-05-03]. ISSN 14726483. Dostupné z: [doi:10.1016/j.rbmo.2020.06.001](https://doi.org/10.1016/j.rbmo.2020.06.001)
- [65] S. PAVIA, Charles, Maria M. PLUMMER, Tiziana PAGLIA, Laura ROLI, Tommaso TRENTI a Scott M. NELSON. The evolution of rapid antigen detection systems and their application for COVID-19 and other serious respiratory infectious diseases: a systematic review and clinical guide to molecular and serological in-vitro diagnostic assays. Journal of Microbiology, Immunology and

- Infection [online]. 2021, 54(5), 776-786 [cit. 2022-05-03]. ISSN 16841182. Dostupné z: doi:10.1016/j.jmii.2021.06.003
- [66] O nás. Masarykova nemocnice Rakovník [online]. Rakovník, 2017 [cit. 2022-03-01]. Dostupné z: <https://www.nemorako.cz/nemocnice/o-nas/>
- [67] Masarykova nemocnice Rakovník. Rakovnicko [online]. Rakovník, 2021 [cit. 2022-03-17]. Dostupné z: <https://www.rakovnicko.cz/iseznam-rakovnicka/spolecnost/zdravotnicka-zarizeni/nemocnice-rakovnik/>
- [68] Přihlášení do registrů rezortu zdravotnictví. Ústav zdravotnických informací a statistiky ČR [online]. Praha: ÚZIS ČR, 2022 [cit. 2022-05-03]. Dostupné z: https://eregotp.ksrzis.cz/?orig_url=https%3A%2F%2Fereg%2Eksrzis%2Ecz%2FSecurecerttrunkPortalHomePage%2F&node=2
- [69] Antigenní testování na covid-19. Iniciativa Sníh [online]. Iniciativa Sníh, 2021 [cit. 2022-05-03]. Dostupné z: <https://www.iniciativa-snih.cz/antigenni-testy/>
- [70] Střední délka života. In: Wikipedia: the free encyclopedia [online]. San Francisco (CA): Wikimedia Foundation, 2001- [cit. 2022-05-03]. Dostupné z: https://cs.wikipedia.org/wiki/Střední_délka_života
- [71] ACON Biotech Flowflex Sars-CoV-2 Antigen Rapid Test. Zboží.cz [online]. Praha: Seznam.cz, 2022 [cit. 2022-05-03]. Dostupné z: <https://www.zbozi.cz/vyrobek/acon-biotech-flowflex-sars-cov-2-antigen-rapid-test/>
- [72] JELŠOVSKÁ, Katarína a Andrea PETERKOVÁ. Řešení krizových situací – metody a jejich aplikace [online]. Opava, 2013 [cit. 2022-02-05]. Dostupné z: <https://theses.cz/id/pq57td/15392510>. Studijní opora. Slezská univerzita v Opavě
- [73] SARS-CoV-2 Antigen Rapid Test – Příbalový leták. APR [online]. Praha: "APR" spol. s r.o., 2022 [cit. 2022-05-03]. Dostupné z: https://www.apr.cz/data/uploads/covid-19/1151255504-flowflex-bio-ce-1031-11815-s-2-ag-navod_cz_25-testu.pdf

- [74] SARS-CoV-2 rychlý antigenní test – Příbalový leták. Česko-izraelská smíšená obchodní komora [online]. Praha: ČISOK, 2022 [cit. 2022-05-03]. Dostupné z: <https://www.cisok.cz/tpDcaq41x/uploads/2021/03/Flow-flex-pribalovy-letak.pdf>
- [75] Citlivost antigenních testů se skokově liší. SCIENCEmag.cz [online]. Praha: Nitemedia, 2022 [cit. 2022-05-03]. Dostupné z: <https://sciencemag.cz/citlivost-antigennich-testu/>
- [76] ALBERT, Eliseo, Ignacio TORRES, Felipe BUENO, et al. Clinical Microbiology and Infection [online]. 2021, 27(3) [cit. 2022-05-03]. ISSN 1198743X. Dostupné z: [doi:10.1016/j.cmi.2020.11.004](https://doi.org/10.1016/j.cmi.2020.11.004)
- [77] PEELING, Rosanna W, Piero L OLLIARO, Debrah I BOERAS, et al. Scaling up COVID-19 rapid antigen tests: promises and challenges. The Lancet Infectious Diseases [online]. 2021, 21(9), e290-e295 [cit. 2022-05-03]. ISSN 14733099. Dostupné z: [doi:10.1016/S1473-3099\(21\)00048-7](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(21)00048-7)
- [78] Going for a COVID-19 test. BC Centre for Disease Control [online]. Vancouver, Canada: Provincial Health Services Authority, 2022 [cit. 2022-05-03]. Dostupné z: <http://www.bccdc.ca/health-info/diseases-conditions/covid-19/testing/going-for-a-covid-19-test>
- [79] POLECHOVÁ, Jitka, Kory D. JOHNSON, Pavel PAYNE, Alex CROZIER, Mathias BEIGLBÖCK, Pavel PLEVKA a Eva SCHERNHAMMER. SARS-CoV-2 rapid antigen tests provide benefits for epidemic control – observations from Austrian schools. Journal of Clinical Epidemiology [online]. 2022, 145, 14-19 [cit. 2022-05-03]. ISSN 08954356. Dostupné z: [doi:10.1016/j.jclinepi.2022.01.002](https://doi.org/10.1016/j.jclinepi.2022.01.002)
- [80] PEÑA, Mónica, Manuel AMPUERO, Carlos GARCÉS, et al. Performance of SARS-CoV-2 rapid antigen test compared with real-time RT-PCR in asymptomatic individuals. International Journal of Infectious Diseases [online]. 2021, 107, 201-204 [cit. 2022-05-03]. ISSN 12019712. Dostupné z: [doi:10.1016/j.ijid.2021.04.087](https://doi.org/10.1016/j.ijid.2021.04.087)

- [81] JIAN, Ming-Jr, Cherng-Lih PERNG, Hsing-Yi CHUNG, et al. Clinical assessment of SARS-CoV-2 antigen rapid detection compared with RT-PCR assay for emerging variants at a high-throughput community testing site in Taiwan. *International Journal of Infectious Diseases* [online]. 2022, 115, 30-34 [cit. 2022-05-03]. ISSN 12019712. Dostupné z: doi:10.1016/j.ijid.2021.11.034
- [82] HIROTSU, Yosuke, Makoto MAEJIMA, Masahiro SHIBUSAWA, et al. Clinical assessment of SARS-CoV-2 antigen rapid detection compared with RT-PCR assay for emerging variants at a high-throughput community testing site in Taiwan. *International Journal of Infectious Diseases* [online]. 2020, 99, 30-34 [cit. 2022-05-03]. ISSN 12019712. Dostupné z: doi:10.1016/j.ijid.2020.08.029

10 SEZNAM POUŽITÝCH OBRÁZKŮ

Obrázek 1 – Časová osa zachycující počátky vývoje pandemie viru SARS-CoV-2.....	12
Obrázek 2 – Struktura viru SARS-CoV-2.....	13
Obrázek 3 – Celkový počet nakažených osob na 100 000 obyvatel.....	14
Obrázek 4 – Původ lidských koronavirů s jejich mezihostiteli	16
Obrázek 5 – Průběh reverzní transkripce.....	22
Obrázek 6 – Počet plně očkovaných osob na sto obyvatel	28
Obrázek 7 – Nejdůležitější části obsahu odběrové sady	34
Obrázek 8 – Odebírání biologického vzorku z okraje dutiny nosní	35
Obrázek 9 – Testovací kazeta s pozitivním výsledkem	37
Obrázek 10 – Průběh antigenního testu na principu laterálního průtoku s pozitivním výsledkem, upraveno	37
Obrázek 11 – Výsledný graf metody KARS	57

11 SEZNAM POUŽITÝCH TABULEK

Tabulka 1 – Klinické příznaky onemocnění COVID-19.....	19
Tabulka 2 – Výsledky antigenního a RT-PCR testování	41
Tabulka 3 – Procentuální podíl antigenního a RT-PCR testování	41
Tabulka 4 – Hodnoty vlastního výzkumu za použití antigenního testu SARS-CoV-2 Antigen Rapid Test	43
Tabulka 5 – Hodnoty vlastního výzkumu za použití antigenního testu SARS-CoV-2 Antigen Rapid Test v případě ženského pohlaví	45
Tabulka 6 – Hodnoty vlastního výzkumu za použití antigenního testu SARS-CoV-2 Antigen Rapid Test v případě mužského pohlaví	46
Tabulka 7 – Hodnoty vlastního výzkumu za použití antigenního testu SARS-CoV-2 Antigen Rapid Test zahrnující mladší osoby	47
Tabulka 8 – Hodnoty vlastního výzkumu za použití antigenního testu SARS-CoV-2 Antigen Rapid Test zahrnující starší osoby	48
Tabulka 9 – Hodnocení kritérií stanovených pro multikriteriální analýzu u metod přímého průkazu viru SARS-CoV-2 včetně jejich procentuálního podílu	49
Tabulka 10 – Aplikace multikriteriální analýzy na jednotlivé typy testů přímého průkazu viru SARS-CoV-2	52
Tabulka 11 – Možná rizika způsobující nízkou přesnost antigenních testů a jejich důsledky	54
Tabulka 12 – Tabulka souvztažnosti rizik	54
Tabulka 13 – Tabulka souvztažnosti rizik spolu s výslednými součty	55
Tabulka 14 – Výsledná tabulka souvztažnosti spolu s koeficienty KAR_i a KPR_i	56
Tabulka 15 – Klinická charakteristika první studie antigenního testu SARS-CoV-2 Antigen Rapid Test	61
Tabulka 16 – Klinická charakteristika druhé studie antigenního testu SARS-CoV-2 Antigen Rapid Test	63