

Závěrečná zpráva

Ověření parametrů spolehlivosti antigenních testů
Wantai SARS-CoV-2 Rapid Antigen Test (FIA) na průkaz
viru SARS-CoV-2

Obsah

1.	Úvod	2
2.	Popis ověřovaného produktu	2
3.	Garance studie a zapojené instituce	2
3.1.	Vedení studie	2
3.2.	Zadavatel studie	2
3.3.	Řešitel studie	2
4.	Cíle studie a účel	3
4.1.	Primární cíl studie	3
4.2.	Sekundární cíle studie	3
5.	Uspořádání studie	3
5.1.	Studijní veličiny	3
5.1.1.	Primární veličina	3
5.1.2.	Sekundární veličiny	3
5.2.	Design studie a trvání	3
5.3.	Postupy ve studii	3
5.4.	Výběr a vyřazení subjektů	4
5.4.1.	Studijní populace	4
5.4.2.	Zařazovací kritéria	4
5.4.3.	Vyřazovací kritérium	4
5.4.4.	Kritéria pro dodatečné vyřazení subjektu ze studie	4
5.5.	Odběr vzorku	5
5.6.	Statistické předpoklady	5
5.6.1.	Stanovení velikosti vzorku	5
5.7.	Plán statistických analýz	5
5.7.1.	Obecné analytické metody	5
5.7.2.	Analyzované soubory	6
5.7.3.	Primární analýza	6
5.7.4.	Sekundární analýza	6
5.7.5.	Analýza kritických veličin	6
5.8.	Dokumentace	7
5.8.1.	Dokumentace v místě	7
5.8.2.	Následná dokumentace	7
5.9.	Zajištění kvality	7
5.10.	Etické, právní a administrativní aspekty	8
5.11.	Odpovědnost a pojištění	8
5.12.	Zveřejnění výsledků studie	8
6.	Výsledky	8
6.1.	Analyzovaný soubor dat	8
6.2.	Demografické a další základní charakteristiky subjektů	9
6.2.1.	Demografické veličiny	9
6.2.2.	Zdravotní veličiny	9
6.2.3.	Behaviorální veličiny	10
6.2.4.	Veličiny stanovení	11
6.3.	Výsledky účinnosti	12
6.3.1.	Analýza účinnosti: primární veličiny ve studijní populaci	12
6.3.2.	Analýza účinnosti – testování podskupin: demografické veličiny	13
6.3.3.	Analýza účinnosti – testování podskupin: zdravotní veličiny	15
6.3.4.	Analýza účinnosti – testování podskupin: behaviorální veličiny	20
6.3.5.	Analýza účinnosti – testování podskupin: veličiny stanovení	22
6.4.	Adjustace pozitivivity kritickými proměnnými	24
6.5.	Statistické metody a analýzy	26
7.	Závěr	27
8.	Literatura	28
9.	Přílohy	28

1. Úvod

Antigenní (Ag) testy na SARS-CoV-2 jsou novinkou, která má potenciál změnit strategii boje proti onemocnění Covid-19.

Velkou předností Ag testů je jejich přenosnost a rychlost, kdy výsledek je dostupný v řádu minut. Další jejich velkou výhodou je cena. Jednu testovací sadu lze v současné době pořídit za cenu 120 – 220 Kč.

Poměrně zásadní nevýhodou Ag testů je jejich malá citlivost v porovnání s metodou RT-PCR, která se pohybuje dle údajů výrobců mezi 80 – 93 %, ale některé předběžné srovnávací studie udávají ještě nižší naměřenou senzitivitu¹. Jejich senzitivita je pravděpodobně nižší u bezpříznakových jedinců a významně je závislá též na délce trvání onemocnění, kdy nejlepší záchyt u těchto testů je mezi 3. – 10. dnem od okamžiku expozice viru.

Specificita testů se blíží 100 % a falešně pozitivní výsledky tedy pravděpodobně nejsou v případě jejich plošného použití problém.

I přes nižší senzitivu je možné Ag testy využít v boji proti epidemii Covid-19

2. Popis ověřovaného produktu

Jako mírně citlivější se jeví testy, jejichž odečítání neprobíhá pouhým okem, ale pomocí fluorescenční spektrofotometrie (fluorescence immuno-assay, FIA).

Jedním z potenciálních kandidátů pro použití v ČR je výrobek společnosti Wantai Biological Pharmacy Enterprise Co., Ltd. Tato společnost dodávala na trh i rychlotesty na protilátky proti stejnému viru a ve srovnání s jinými dosahovala skvělých výsledků a následně byly jejich testy použity i pro studii prevalence Covid-19 (Preval).

3. Garance studie a zapojené instituce

3.1. Vedení studie

MUDr. František Vlček, Ph.D., MHA, za Akeso Holding a za Kabinet veřejného zdravotnictví 3. LF UK – vedoucí studie

RNDr. Marek Petráš, Ph.D., za Ústav epidemiologie a biostatistiky 3. LF UK

MUDr. Michal Průša, MBA, za Nemocnici Hořovice, a.s.

Tomáš Petsinis, MBA, LL.M, za Nemocnici Hořovice, a.s.

MVDr. Zuzana Dindová, SPADIA LAB, a.s.

Mgr. Petra Vlčková, MBA, pověřenkyně pro ochranu osobních údajů Akeso Holding, a.s.

3.2. Zadavatel studie

Zadavatelem studie je Akeso Holding, a.s. a jeho dceřinná společnost NH Hospital, a.s., Nemocnice Hořovice

3.3. Řešitel studie

Řešitelem studie je Akeso Holding, a.s. a Kabinet veřejného zdravotnictví a Ústav epidemiologie a biostatistiky 3. LF UK a

Řešitelem Ag testování a odběrů na kontrolní PCR je NH Hospital, a.s.

Řešitelem testování RT-PCR je SPADIA LAB, a.s.

¹ Hirotsu Y, Maejima M, Shibusawa M, 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. Int J Infect Dis. 2020;99:397-402. doi:10.1016/j.ijid.2020.08.029

4. Cíle studie a účel

4.1. Primární cíl studie

Primárním cílem této studie je na primární veličině prokázat spolehlivost antigenního rychlo-testu Wantai SARS-CoV-2 Rapid Antigen Test (FIA), a to v parametrech a podmínkách udávaných výrobcem.

K tomu ověření bude jako referenční použita konzervativní metoda RT-PCR u subjektů skrínovaných pro možnou nákazu SARS-CoV-2.

4.2. Sekundární cíle studie

Dalšími cíli této studie je zjistit, zda je primární veličina podmíněna některým z předem vybraných faktorů (kritických veličin).

Cílem studie je ověření parametrů spolehlivosti antigenního testu Wantai SARS-CoV-2 Rapid Antigen Test (FIA), a to ve všech parametrech diagnostického testu, oproti standardu RT-PCR.

5. Uspořádání studie

5.1. Studijní veličiny

5.1.1. Primární veličina

Primární veličinou v této studii je definována senzitivitou antigenního rychlo-testu Wantai.

5.1.2. Sekundární veličiny

Sekundárními veličinami jsou specifická, a prediktivní hodnoty pozitivního a negativního výsledku.

5.2. Design studie a trvání

Průřezová, multicentrická studie, do které byly zařazeny subjekty skrínované z důvodu možné nákazy SARS-CoV-2.

Studie probíhala na pracovištích odběrových míst Nemocnice Hořovice

- K Nemocnici 1106/14, 268 31 Hořovice
- Prof. Veselého 493, 266 56 Beroun

Studie probíhala od 9. 11. do 30. 11. 2020.

- 9. 11. – 13. 11. 2020: sběr a analýza dat
- 10. 11. – 30. 11. 2020: vytvoření elektronické databáze, statistické zpracování a tvorba závěrečné zprávy

5.3. Postupy ve studii

Zkoumaný subjekt byl osloven při čekání na odběr vzorku k vyšetření RT-PCR na odběrovém místě. Oslovení provedl k tomu určený pracovník, který poskytl základní informace ústně a nabídl informovaný souhlas s účastí ve studii.

Pokud subjekt odmítl účast, nadále byl odbaven obvyklým způsobem – odběr vzorku pro PCR

Pokud subjekt přijal účast a podepsal informovaný souhlas, byl mu nabídnut osobní dotazník k vyplnění a byl zařazen do odběru na provedení Ag testu. Následně bude čekat přibližně 20 minut na výsledek testu.

Takto vyšetřený subjekt obdržel kopii informovaného souhlasu s informacemi o studii, všemi kontakty pro hlášení případných komplikací a vysvětlením, co znamená pozitivní či negativní výsledek Ag testu.

Výsledek byl subjektu sdělen písemně na kopii informovaného souhlasu, případně telefonicky na uvedený kontakt, pokud subjekt nechtěl čekat na výsledek na místě.

5.4. Výběr a vyřazení subjektů

5.4.1. Studijní populace

Skupina osob objednaných a přicházejících s indikací (žádankou) k odběru na přítomnost SARS-CoV-2 na odběrové místo Nemocnice Hořovice.

Jednalo se o dospělé osoby, které mají buď příznaky onemocnění Covid-19 nebo byly vytrasovány jako rizikové kontakty potvrzených případů.

Osoby přicházející do odběrového místa se rekrutovaly z regionů v okolí (Hořovicko, okres Beroun, okres Rokycany), nikoli však výlučně, neboť odběrové místo si dle platné legislativy každý vybírá svobodně dle kapacitních možností a objednávkových lhůt.

5.4.2. Zařazovací kritéria

- Podepsaný informovaný souhlas
- Osoba starší 18 let, nezávisle na pohlaví a akutních zdravotních obtížích

5.4.3. Vyřazovací kritérium

- Odmítnutí podepsat informovaný souhlas
- Nemožnost odebrání vzorku – např. anatomické anomálie nosohltanu a jiné příčiny

5.4.4. Kritéria pro dodatečné vyřazení subjektu ze studie

K dodatečnému vyřazení subjektu došlo, pokud subjekt odvolal svůj souhlas s účastí ve studii, a to bez ohledu na jakékoli okolnosti a dokončení jeho účasti ve studii. Ve všech případech musel být důvod a datum vyřazení zaznamenáno. K tomuto nedošlo k datu vzniku této zprávy ani jednou. Pokud byla příčinou nežádoucí příhoda, byl vytvořen mechanismus pro její řádné hlášení a zaznamenání do záznamového listu subjektu. K tomuto rovněž nedošlo k datu vzniku této zprávy ani jednou.

Subjekt byl vyřazen ze studie v případě:

- Odvolání souhlasu – k tomuto nedošlo
- Nemožnosti odebrání vzorku z jakéhokoliv důvodu – k tomuto nedošlo
- Neprůkaznosti výsledku (nezobrazení kontroly) testu a nemožnosti test opakovat z materiálu z původního odběru – k tomuto došlo v několika případech, viz kapitola Výsledky
- Výskytu nežádoucí příhody nebo zhoršení onemocnění vyžadujícího neodkladnou lékařskou pomoc – k tomuto nedošlo.

5.5. Odběr vzorku

- Subjektu byly provedeny dva odběry
 - jeden odběr představuje výtěr stejnou odběrovou štětičkou ze dvou lokalit, nejdříve z orofaryngu, následně z nazofaryngu;
- První odběr byl na místě vyšetřen Ag metodou – vzorek byl ihned po provedení testu zlikvidován jako infekční odpad dle vnitřních předpisů Nemocnice Hořovice;
- Druhý odběr byl společně se žádankou odeslán na standardní vyšetření RT-PCR;
- Výsledek vyšetření Ag metodou byl zaznamenán do záznamového listu subjektu a sdělen s příslušným vysvětlením testované osobě (informovaný souhlas, případně telefon);
- Výsledek RT-PCR sdělila výzkumnému týmu společnost SPADIA LAB na základě zaheslovaného seznamu odebraných subjektů a dodaných kopií informovaných souhlasů odebraných subjektů.

Odběr vzorku provedl k tomu proškolený personál.

5.6. Statistické předpoklady

5.6.1. Stanovení velikosti vzorku

Velikost vzorku je stanovena na základě prevalence SARS-CoV-2 a odhadované senzitivity dle výsledku výrobce antigenního rychlo-testu Wantai². Ověření velikosti vzorku bude testováno metodou srovnání senzitivity dvou diagnostických testů, tj. antigenního rychlo-testu Wantai a standardní metody RT-PCR³. V obou případech byla hladina významnosti $\alpha = 0,05$ při oboustranném intervalu spolehlivosti a síla testu 80 %, tj. $\beta = 0,2$.

První výpočet je proveden webovým kalkulátorem⁴ [APA]. Pro vstupní hodnoty byla očekávaná senzitivita 90 %, prevalence onemocnění 30 % a přesnost výsledku s chybou 5 %. Potřebný počet je 461 zařazených subjektů do studie, pokud má platit nulová hypotéza, že testovaná (Wantai) senzitivita bude shodná s očekávanou senzitivitou (tj. 90 %). Nulová hypotéza byla definována $H_0: Se_{Wantai} = Se_{očekávaná} (= 90 \%)$. Pokud bude nulová hypotéza zamítnuta, pak bude platit alternativní H_1 , tj. $Se_{Wantai} \neq Se_{očekávaná}$.

Druhý model stanovení vzorku vycházel z předpokladu, že senzitivita kontrolní metody (RT-PCR) je minimálně 95 % a senzitivita antigenního rychlo-testu je 90%. Pro prokázání nulové hypotézy $H_0: Se_{Wantai} = Se_{RT-PCR}$, bylo třeba do studie zařadit 434 subjektů. Bude-li nulová hypotéza zamítnuta, pak bude platit alternativní $H_1: Se_{Wantai} \neq Se_{RT-PCR}$.

Oba modely potvrdily předpokládaný počet 500 zařazených subjektů do studie za oprávněný k prokázání nulové hypotézy.

5.7. Plán statistických analýz

5.7.1. Obecné analytické metody

² Buderer NM. Statistical methodology: I. Incorporating the prevalence of disease into the sample size calculation for sensitivity and specificity. Acad Emerg Med. 1996 Sep;3(9):895-900. doi: 10.1111/j.1553-2712.1996.tb03538.x. PMID: 8870764.

³ Hajian-Tilaki K. Sample size estimation in diagnostic test studies of biomedical informatics. J Biomed Inform. 2014 Apr;48:193-204. doi: 10.1016/j.jbi.2014.02.013. Epub 2014 Feb 26. PMID: 24582925.

⁴ APA: Arifin, W. N. (2020). Sample size calculator (web). Retrieved from <http://wnarifin.github.io>

Údaje shromážděné v této studii budou shrnuty ve frekvenčních tabulkách. Kontinuální proměnné budou sumarizovány pomocí standardních popisných statistik, jako je průměr zahrnující 95% interval spolehlivosti, směrodatnou odchylku (SD), medián, 25. a 75. percentil, minimální a maximální hodnotu. Kategoriální proměnné budou reprezentovány absolutními a relativními četnostmi (počet a procentuální počet), včetně 95% intervalu spolehlivosti. Pokud není uvedeno jinak, považují se hodnoty oboustranného $p < 0,05$ za nominálně významné. Všechny statistické tabulky, výpisy a analýzy budou provedeny pomocí statistického softwaru STATA verze 16 (StatCorp, Texas USA) nebo Prism 9 (verze 9, GraphPad Software, Inc).

5.7.2. Analyzované soubory

Soubor ITT (intention-to-treat) bude zahrnovat všechny subjekty, kterým byl proveden alespoň jeden odběrový vzorek nezávisle na kompletně vyplněném dotazníku.

Soubor PPS (per-protocol-set) bude zahrnovat všechny subjekty ze souboru ITT, které:

- a) měly oba dva odběry pro obě stanovení, a to jak nazofaryngeální tak orofaryngeální stěr,
- b) měly kompletně vyplněný dotazník,
- c) měly výsledky z obou stanovení.

5.7.3. Primární analýza

Primární analýza je zaměřena na výpočet senzitivity antigenního rychlo-testu pomocí 2x2 tabulky, včetně 95% intervalu spolehlivosti. P-hodnota bude vypočtena pomocí exaktního Fisherova testu.

Cíl studie bude splněn, pokud bude prokázán na souboru PPS. Robustnost výsledku bude prokazována na souboru ITT.

5.7.4. Sekundární analýza

Sekundární analýza bude vedena k určení specifity a prediktivních hodnot pozitivity a negativity pomocí 2x2 tabulky, včetně 95% intervalu spolehlivosti. P-hodnota bude vypočtena pomocí exaktního Fisherova testu.

Sekundární analýzy budou vedeny na obou souborech, tj. PPS a ITT.

5.7.5. Analýza kritických veličin

Kritické veličiny předpokládáné v této studii:

- a. Demografické: věk, pohlaví, BMI
- b. Behaviorální: kouření
- c. Zdravotní: hypertenze, hypercholesterolémie, onemocnění štítné žlázy
- d. Procesní: čas odběru, odebírající osoba, osoba provádějící Ag test
- e. Infekční: důvod testování subjektu, délka doby od expozice, příznaky/symptomy

Uvedené kritické veličiny (faktory) budou stratifikovány podle obvyklých pravidel. Pokud budou kategoriální, pak se vyhodnotí senzitivita (primární veličina) podle každé kategorie, nebo případně podle nově přetříděných kategorií, dle sesbíraných dat tak, aby analýza byla možná.

Budou-li kritické veličiny kontinuální, pak se převedou na kategoriální dle obvyklých pravidel, tj. věkové skupiny, BMI kategorie nadváhy a obezity, délka doby od expozice ve dnech. Jiným způsobem bude transformace těchto kontinuálních veličin na dichotomické dle mediánu.

Volba způsobu vyhodnocení bude závislá na charakteru sesbíraných dat tak, aby bylo možné analyzovat senzitivitu testu v závislosti na uvedených faktorech.

Výsledky senzitivity budou dále hodnoceny podle dosaženého nesouladu mezi oběma metodami stanovení, tj. antigenní test oproti RT-PCR a to v závislosti na uvedených faktorech. K tomu bude aplikován model logistické regrese za předpokladu, že sesbíraná data tuto analýzu umožní.

Tyto analýzy budou interpretovány obezřetně a jakýkoli závěr dopadu kritické proměnné na stanovenou senzitivitu založenou výhradně na exploratorní analýze nebude přijatelný. Z výsledku bude moci navrhnout nové hypotézy k případnému dalšímu ověření novou studií nebo poolováním studijních dat obdobných studií.

5.8. Dokumentace

5.8.1. Dokumentace v místě

Na místě testování byly veškeré informace zaznamenány na společný dokument „informovaný souhlas a osobní dotazník“. Na první straně listu byl informovaný souhlas a na druhé dotazník, kde byly zaznamenány kritické veličiny subjektu, a to buď tak, že vyplní subjekt sám, případně s dopomocí místního personálu.

Do stejného dokumentu byly následně zaznamenány testujícím personálem:

- Výsledek Ag testu
- Pořadí odběru – před vs. po odběru na RT-PCR

5.8.2. Následná dokumentace

Ručně provedené záznamy byly přeneseny do databáze, kde jeden subjekt představoval jeden záznamu v databázi a u něj byly zaznamenány dané kritické veličiny.

Pro potřeby komunikace s laboratoří vznikla elektronická tabulka, která obsahovala pouze jméno, příjmení, rodné číslo subjektu a datum odběru, do kterého následně laboratoř doplnila výsledek PCR testu.

Po doplnění výsledků PCR proběhla anonymizace dat pro další statistické zpracování. Každému subjektu bylo přiděleno pořadové číslo. Klíč pro deanonymizaci je v držení pouze vedoucího studie a statistika a nebude sdílen s žádnou jinou osobou.

5.9. Zajištění kvality

Zásadní bylo zajištění kvality a konzistence při odebírání vzorku a provedení testu samotného. Personál provádějící tuto činnost:

- Byl vybírán na základě zkušeností s odběrem pro PCR (personál odběrového místa)
- Byl vyškolen v provedení testu včetně demonstrace, přičemž následně sám demonstroval provedení testu;
- Byl pravidelně minimálně jednou denně auditován na místě – audit nebyl zaznamenán, případné korekce proběhly na místě;
- V jednodenních intervalech byla při přenosu ručních záznamů do elektronické podoby kontrolována kvalita a konzistentnost provedených záznamů – zpětná vazba byla ústní k personálu na místě;

5.10. Etické, právní a administrativní aspekty

Protokol byl předložen ke schválení Etickou komisí NH Hospital, a.s. Nemocnice Hořovice. Rozhodnutí etické komise je přiložen do dokumentace studie a uchován společně s dalšími záznamy.

Každý subjekt podepsal informovaný souhlas (viz příloha), ve kterém budou popsány rizika a přínos pro subjekt, dále způsob nakládání s osobními údaji.

Každému subjektu byla předána kopie informovaného souhlasu, kde jsou popsány všechny aspekty studie včetně kontaktů pro další informace či možnost odvolání souhlasu a vyřazení ze studie.

Osobní údaje subjektů jsou přístupné pouze osobám podílejícím se na studii. Pokud byly osobní údaje sdílené elektronicky (např. s PCR laboratoří), byly chráněné heslem, které byly příslušné cílové osobě sděleny jiným informačním kanálem (SMS).

Pro samotné statistické zpracování byla provedena anonymizace dat – viz výše.

Originály ručních záznamů jsou zapečetěny a budou uloženy u vedoucího studie po dobu 12 měsíců a následně zlikvidovány s ohledem na důvěrnost dat, tedy skartovány. Stejným způsobem jsou uloženy údaje o zaškolení personálu dle studijního protokolu.

5.11. Odpovědnost a pojištění

Za případné škody na zdraví, majetku či občanskoprávní důsledky odpovídá NH Hospital, a.s. Nemocnice Hořovice, která má k tomuto účelu sjednané obecné pojištění odpovědnosti.

5.12. Zveřejnění výsledků studie

Veškeré výsledky studie budou zveřejňovány výhradně v agregované nebo anonymizované formě.

Tvorba vědeckých publikací a jejich vydání bude probíhat na základě platných standardů vědecké práce.

6. Výsledky

6.1. Analyzovaný soubor dat

Do účinnostní analýzy byly zařazeny všechny subjekty, které splnily podmínky pro zařazení a podstoupili odběry vzorku jak pro vyšetření antigenním rychlotestem Wantai tak RT-PCR metodou. Kromě toho byl tento studijní soubor rozšířen o subjekty, které nebyly zařazeny do studie, ale podstoupili také tyto dva uvedené odběry. Rozšířený soubor byl použit pro analýzu senzitivity.

Oproti původnímu plánovanému souboru subjektů „intention-to-treat“ (ITT) a „per-protocol“ (PPS), byl vyhodnocen jen soubor subjektů splňující protokol, protože u dvou subjektů scházelo stanovení metodou RT-PCR a u dalších dvou stanovení antigenním rychlotestem. Celkem z původně plánovaných 500 subjektů byly analyzovány výsledky obou stanovení od 496 subjektů. Pro analýzu senzitivity byl studijní soubor rozšířen o další výsledky stanovení od 23 zájemců, kteří nepodepsali informovaný souhlas a nemohli být od studie zařazení.

6.2. Demografické a další základní charakteristiky subjektů

Byly vybrány tyto kritické veličiny (nebo faktory), na kterých byl testován jejich případný vliv na výsledek účinnosti testu:

- a) Demografické veličiny
 - Pohlaví
 - Věk
- b) Zdravotní veličiny
 - Příznaky a symptomy COVID-19
 - Délka doby přetrvávání příznaků a symptomů COVID-19
 - Souběžná onemocnění
- c) Behaviorální veličiny
 - Kouření
 - Index tělesné hmotnosti
- d) Veličiny stanovení
 - Prahový cyklus PCR
 - Místo odběru
 - Čas odběru

6.2.1. Demografické veličiny

Studijní populace byla vybrána z řady zájemců, kteří se přišli testovat do dvou odběrových míst. Do studie bylo zařazeno celkem 496 subjektů, z nichž 228 bylo mužů (tj. 46 %; 95% CI: 41,5-50,5 %). Protože počet žen byl významně vyšší než mužů, tj. $p=0,013$, byla v rámci analýzy senzitivity hodnocena účinnost testování, zda tento rozdíl mohl ovlivnit výsledky primární analýzy.

Průměrný věk zařazených subjektů dosahoval 45,8 let (95% CI: 44,4-47,2 let) a ve studii se účastnili zájemci ve věku od 18,2 let do 86,5 let. Pro další analýzy byly vytvořeny tři věkové skupiny: 18-30 let, 30-50 let a >50 let. Přehled počtu a průměrného věku v těchto věkových kategoriích je uveden v tabulce 6.2.1. Počet subjektů v nejmladší věkové kategorii byl významně nižší než v obou dalších kategoriích.

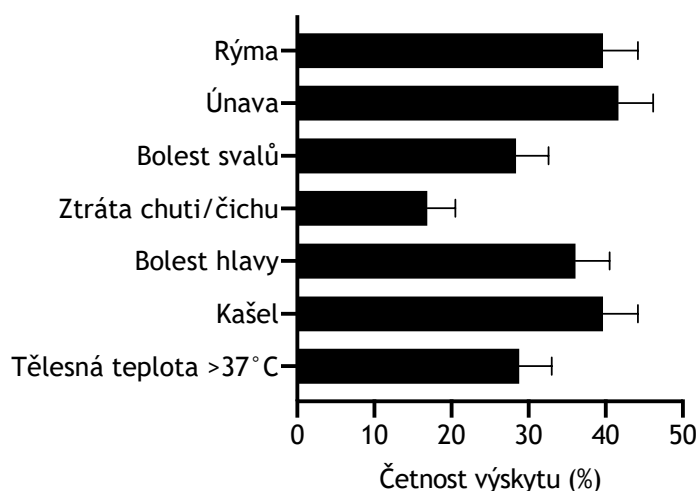
Tabulka 6.2.1. Přehled počtu a průměrného věku ve věkových kategoriích

	Celkem	18-30 let	30-50 let	>50 let
Počet subjektů	496	98	209	189
Proporce subjektů % (95% CI)		19,8 (16,3-23,5)	42,1 (37,7-46,6)	38,1 (33,8-42,5)
Průměrný věk (95% CI), roky	45,8 (44,4-47,2)	24,1 (23,4-24,8)	41,0 (40,3-41,8)	62,3 (61,0-63,6)

6.2.2. Zdravotní veličiny

Bylo vybráno několik základních příznaků a symptomů charakteristických pro COVID-19, tj. tělesná teplota vyšší než 37 °C, kašel, bolest hlavy, ztráta chuti či čichu, bolest hlavy, únava a rýma, které subjekty zaznamenávaly do svého dotazníku. Výskyt příznaků byl mezi subjekty statisticky významně odlišný ($p<0,0001$) a dominovala únava u 42 % subjektů, kterou následoval kašel a rýma u 39,7 % subjektů. Naopak nejméně se vyskytující příznak byla subjekty uváděna ztráta chuti či čichu, tj. jen u necelých 17 % z nich.

Graf 6.2.1. Přehled četnosti výskytu sledovaných příznaků a symptomů ve studijní populaci

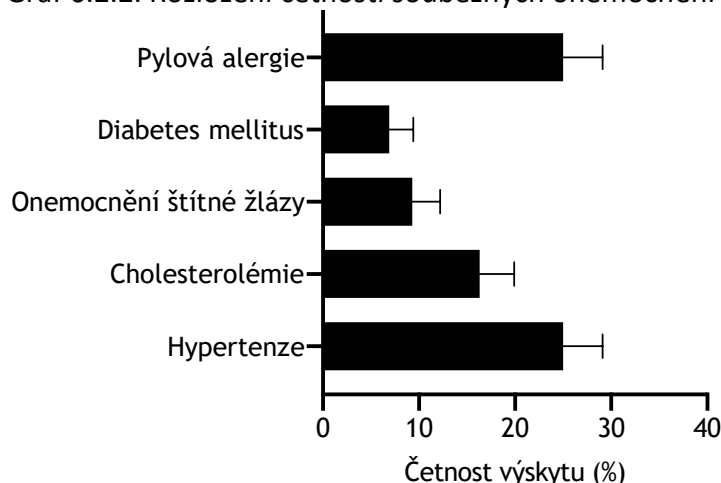


Příznaky či symptomy byly nakonec hodnoceny podle toho, zda subjekt uváděl alespoň jeden z předepsaných či žádný, tj. buď byl či nebyl. Většina zájemců o test měla alespoň jeden příznak či symptom, tj. 67,7 % (95% CI: 63,4–71,8 %). To bylo očekávatelné, protože výběr do studie probíhal především z těch, co měli podezření na COVID-19. Tento počet byl statisticky významně vyšší než těch, kteří neměli žádné příznaky a domnívali se jen, že mohli být exponováni někým z blízkého okolí jako z domácího či pracovního prostředí.

Z celkového počtu těch, co uváděli alespoň jeden příznak či symptom (336 subjektů), bylo 314 subjektů, kteří zaznamenali čas jeho objevení (tj. počet dní před odběrem vzorku). Zbývající byli zařazeni mezi ostatní bezpříznakové subjekty. Celkem 52,6 % subjektů uvádělo alespoň jeden příznak před méně než 7 dny, včetně a 10,7 % déle než 7 dní před odběrem vzorku. Statisticky významnější počet tak zaznamenal příznaky před méně než 7 dny.

Kromě toho zájemci o testování měli vyplnit, zda mají některé z těchto souběžných onemocnění, tj. hypertenzi, cholesterolemii, onemocnění štítné žlázy, diabetes mellitus nebo pylovou alergii. Rozložení četnosti souběžných onemocnění nebylo ve studijní populaci rovnoměrné. Zatímco nejčastěji byla dokumentována hypertenze (25 %) a pylová alergie (25 %), nejméně se objevoval diabetes mellitus (6,9 %). Rozložení četností souběžných onemocnění ve studijní populaci je uveden v grafu 6.2.2.

Graf 6.2.2. Rozložení četnosti souběžných onemocnění ve studijní populaci



6.2.3. Behaviorální veličiny

Do studijního souboru bylo zařazeno celkem 155 subjektů, kteří uváděli, že kouří, tj. 31,3 % (95% CI: 27,2–35,5 %). I když byla proporce kuřáků vyšší, než je dokumentována v celé české populaci, byl ve studijní populaci její podíl významně nižší než proporce nekuřáků.

Průměrný index tělesné hmotnosti (BMI) zařazených subjektů dosahoval 27,2 kg/m² (95% CI: 26,7-27,7 kg/m²), který byl v rozmezí od 16,1 do 45,7 kg/m². U jednoho subjektu nebyly zadány tělesná hmotnost a výška. Pro další analýzy byly subjekty rozřazeny do kategorie s normální tělesnou hmotností (≤ 25 kg/m²), s nadváhou (25-30 kg/m²) a obezitou (≥ 30 kg/m²). Přehled počtu a průměrného BMI v těchto kategoriích je uveden v tabulce 6.2.2. Počet subjektů s obezitou byl významně nižší než těch s normální tělesnou hmotností či nadváhou.

Tabulka 6.2.2. Přehled počtu a průměrného věku ve věkových kategoriích

	Celkem	≤ 25 kg/m ²	25-30 kg/m ²	≥ 30 kg/m ²
Počet subjektů	495	185	170	140
Proporce subjektů % (95% CI)	x	37,5 (33,2-41,9)	34,3 (30,1-38,6)	28,2 (24,3-32,4)
Průměrný BMI (95% CI), kg/m²	27,2 (26,7-27,7)	21,9 (21,5-22,3)	27,4 (27,2-27,6)	34,0 (33,4-34,6)

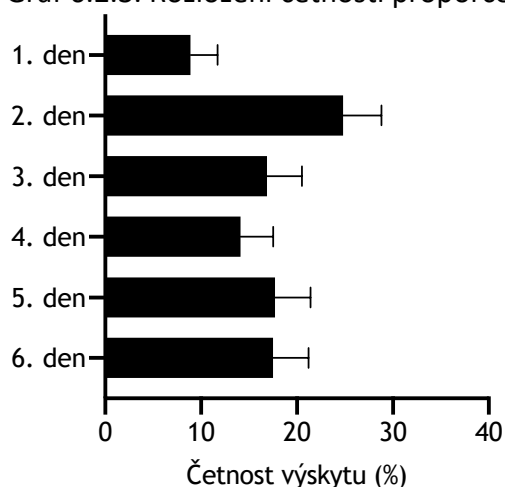
6.2.4. Veličiny stanovení

Metoda RT-PCR kromě výsledku stanovení pozitivní a negativní určuje tzv. prahový cyklus (Ct), který je kvantitativním stanovením virové nálože či aktivity. Jako mezní hodnota tohoto cyklu je literárně vedena hodnota Ct 33⁵, tj. do této hodnoty se považuje virová nálož či aktivita za rizikovou pro okolí pozitivního jedince. Naopak nad touto hodnotou se stává jedinec nerizikový, prakticky neinfekční. Proto byly pozitivní nálezy dále hodnoceny v kategoriích vysoké nálože Ct \leq 25, průměrné Ct 25-30, slabé Ct 30-35 a nízké až žádné Ct \geq 35. Protože laboratoř stanovující RT-PCR výsledek v této studii hodnotila pozitivitu do Ct=38, byla účinnost klasifikována podle definice této laboratoře a podle definice výrobce antigenního rychlotestu Wantai (Ct \leq 35).

Odběr byl prováděn na dvou místech, tj. v nemocnici Hořovice a v odběrovém místě v Berouně. Zatímco v nemocnici Hořovice bylo zařazeno 247 subjektů v Berouně byly vzorky získány od 249 subjektů. Počet v obou odběrových místech se statisticky významně nelišil.

Celá studie probíhala pod dobu 6 dní. Protože ne každý den se podařilo zařadit stále stejný počet subjektů, bylo třeba dále testovat, zda účinnost antigenního rychlotestu nebyla podmíněna v čase.

Graf 6.2.3. Rozložení četnosti proporce zařazených subjektů do studie v čase



⁵ Centers for disease control and prevention, 2020. Duration of isolation and precautions for adults with COVID-19.

6.3. Výsledky účinnosti

6.3.1. Analýza účinnosti: primární veličiny ve studijní populaci

Základní primární veličinou byla protokolem definována senzitivita. Zbývající veličiny jako specifická, prediktivní pozitivní a negativní hodnoty byly hodnoceny jako další (sekundární) veličiny charakterizující přesnost antigenního rychlotestu Wantai (Ag).

Na celém hodnocení souboru byla zjištěna velmi dobrá senzitivita antigenního rychlotestu, která dosahovala více než 91% senzitivity dle PCR testu a 96% senzitivity dle Ag testu. Tomu pak odpovídala vysoká prediktivní hodnota negativity téměř 97 % podle PCR pozitivity a 99 % podle pozitivity Ag testu. Vzhledem k tomu, že i spodní limit 95% intervalu spolehlivosti negativní prediktivní hodnoty byl vyšší než 94 %, lze očekávat, že v praxi bude tento antigenní rychlotest velmi dobře určovat skutečnou negativitu. Pokud bude přijata v souladu s negativitou určenou rychlotestem, pak její predikce nebude horší než 97 % při 5% chybě odhadu.

Specifická tohoto antigenního testu byla rovněž vysoká a dosahovala zhruba 94 % nezávisle na volbě hodnocení pozitivity. Nicméně se oproti výsledkům výrobce tohoto testu snížila, což přispělo k nižší pozitivní prediktivní hodnotě, která klesala až na 77 %. Důvodem odchylky od výsledků výrobce bude s vysokou pravděpodobností dvojitý odběr vzorku, tj. odběr nejen z orofaryngu, ale také nosohltanu se stále stejným odběrovým materiálem. Díky tomu se pravděpodobně častěji podaří zachytit dostatečné množství detekovaného viru SARS-CoV-2, což vede k jeho lepšímu stanovení antigenním testem. Navíc první odběr byl prováděn pro stanovení rychlotestem, zatímco druhý pro stanovení RT-PCR metodou. To mohlo vést rovněž ke zkreslení pozitivních výsledků stanovených RT-PCR metodou.

Tento výsledek zůstal bez statisticky významné změny také po započtení výsledků subjektů nezařazených do této studie, tabulka 6.3.2.

Tabulka 6.3.1. Tabulka 2x2, včetně senzitivity, specificity, pozitivní a negativní prediktivní hodnoty na celém souboru podle pozitivity PCR a Ag testu (PH ... prediktivní hodnota)

	Pozitivita definovaná RT-PCR		Pozitivita definovaná Ct≤35	
	PCR+	PCR-	PCR+	PCR-
Ag+	124	20	108	20
Ag-	12	340	5	340
Senzitivita % (95% CI)	91,2 (85,2-94,9)		95,6 (90,0-98,1)	
Specifická % (95% CI)	94,4 (91,5-96,4)		94,4 (91,5-96,4)	
Pozitivní PH % (95% CI)	86,1 (79,5-90,8)		84,4 (77,1-89,7)	
Negativní PH % (95% CI)	96,6 (94,1-98,0)		98,6 (96,6-99,4)	

Tabulka 6.3.2. Tabulka 2x2, včetně senzitivity, specificity, pozitivní a negativní prediktivní hodnoty na celém rozšířeném souboru podle pozitivity PCR a Ag testu (test senzitivity; PH ... prediktivní hodnota)

	Pozitivita definovaná RT-PCR		Pozitivita definovaná Ct≤35	
	PCR+	PCR-	PCR+	PCR-
Ag+	124	21	108	21
Ag-	14	360	5	360
Senzitivita % (95% CI)	89,9 (83,6-93,9)		95,6 (90,0-98,1)	
Specificita % (95% CI)	94,5 (91,7-96,4)		94,5 (91,7-96,4)	
Pozitivní PH % (95% CI)	85,5 (78,8-90,3)		83,7 (76,3-89,1)	
Negativní PH % (95% CI)	96,3 (93,8-97,8)		98,6 (96,8-99,4)	

6.3.2. Analýza účinnosti – testování podskupin: demografické veličiny

Rozložení mužů a žen ve studijní populaci nebylo rovnoměrné. Proto bylo dále testováno, zda výsledek nemůže být ovlivněn pohlavím.

Zatímco vyšší senzitivita měřená podle pozitivity PCR metody byla pozorována u žen než u mužů (tabulka 6.3.3.), pokud byla pozitivita určena Ct≤35, senzitivita u mužů stoupla a byla vyšší než u žen (tabulka 6.3.4.). Přesto nebyl zjištěn statisticky významný rozdíl senzitivity u obou pohlaví hodnocený na základě dosažené shodné pozitivity obou stanovení. Navíc specifická se nikterak neměnila jak v závislosti na pohlaví, tak v závislosti na použité mezní hodnotě Ct hodnotící pozitivitu a byla vyšší než 92 %. Také negativní prediktivní hodnota dosahovala vysokých hodnot (>95 %) u mužů i žen.

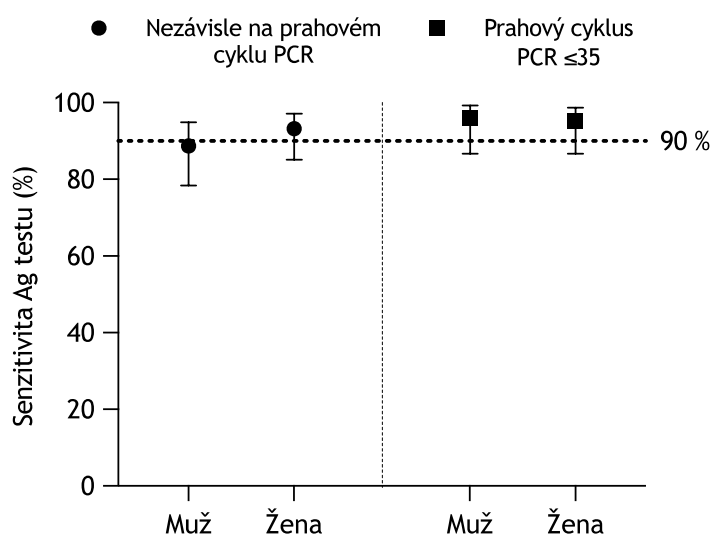
Tabulka 6.3.3. Tabulka 2x2, včetně senzitivity, specificity, pozitivní a negativní prediktivní hodnoty u mužů a žen podle pozitivity PCR (PH ... prediktivní hodnota)

Pohlaví	Muži		Ženy	
	PCR+	PCR-	PCR+	PCR-
Ag+	55	12	69	8
Ag-	7	154	5	186
Senzitivita % (95% CI)	88,7 (78,4-94,4)		93,2 (85,1-97,1)	
Specificita % (95% CI)	92,8 (87,7-95,8)		95,9 (92,0-97,9)	
Pozitivní PH % (95% CI)	82,1 (71,2-89,5)		89,6 (80,8-94,6)	
Negativní PH % (95% CI)	95,7 (91,3-97,9)		97,4 (94,0-98,9)	

Tabulka 6.3.4. Tabulka 2x2, včetně senzitivity, specificity, pozitivní a negativní prediktivní hodnoty u mužů a žen podle positivity definované Ct≤35 (PH ... prediktivní hodnota)

Pohlaví	Muži		Ženy	
	PCR+	PCR-	PCR+	PCR-
Ag+	49	12	59	8
Ag-	2	154	3	186
Senzitivita % (95% CI)	96,1 (86,7-99,3)		95,2 (86,7-98,7)	
Specificita % (95% CI)	92,8 (87,7-95,8)		95,9 (92,0-97,9)	
Pozitivní PH % (95% CI)	80,3 (68,6-88,4)		88,1 (78,1-93,8)	
Negativní PH % (95% CI)	98,7 (95,4-99,8)		98,4 (95,4-99,6)	

Graf 6.3.1. Senzitivita u mužů a žen podle Ct positivity



Nejmladší skupina ve věku 18-30 let byla ve studii zastoupena nejméně. Přesto u ní výsledky senzitivity neodhalily žádný statisticky významný rozdíl v zachytu positivity oproti oběma starším skupinám, protože senzitivity se mezi věkovými skupinami nelišily (tabulka 6.3.5. a 6.3.6.). I když senzitivita byla nejnižší ve věkové skupině 30-50 let, přesto se statisticky významně nelišila od obou ostatních věkových skupin. Tomu také odpovídala negativní prediktivní hodnota, které byla zhruba 95 % či větší.

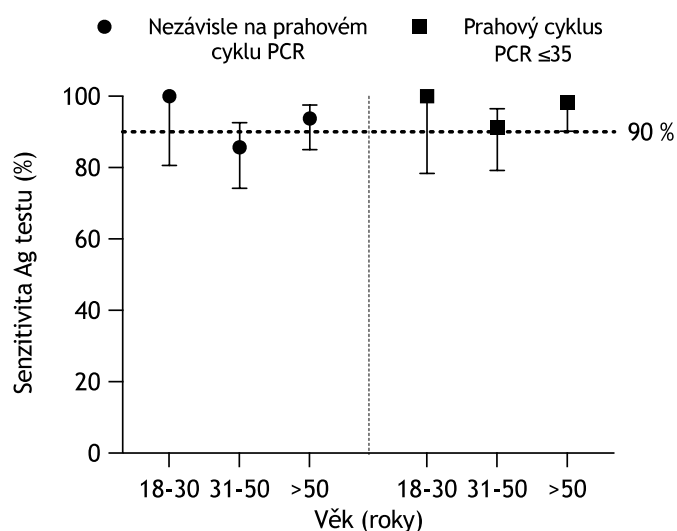
Tabulka 6.3.5. Tabulka 2x2, včetně senzitivity, specificity, pozitivní a negativní prediktivní hodnoty u subjektů tří věkových kategorií podle positivity PCR (PH ... prediktivní hodnota)

Věk	18-30 let		30-50 let		>50 let	
	PCR+	PCR-	PCR+	PCR-	PCR+	PCR-
Ag+	16	3	48	9	60	8
Ag-	0	79	8	144	4	117
Senzitivita % (95% CI)	100,0 (80,6-100,0)		85,7 (74,2-92,6)		93,8 (85,0-97,5)	
Specificita % (95% CI)	96,3 (89,7-99,0)		94,1 (89,2-96,9)		93,6 (87,8-96,7)	
Pozitivní PH % (95% CI)	84,2 (62,4-94,5)		84,2 (72,6-91,5)		88,2 (78,4-93,9)	
Negativní PH % (95% CI)	100,0 (95,3-100,0)		94,7 (89,9-97,3)		96,7 (91,8-98,7)	

Tabulka 6.3.6. Tabulka 2x2, včetně senzitivity, specificity, pozitivní a negativní prediktivní hodnoty u subjektů tří věkových kategorií podle positivity PCR (PH ... prediktivní hodnota)

Věk	18-30 let		30-50 let		>50 let	
	PCR+	PCR-	PCR+	PCR-	PCR+	PCR-
Ag+	16	3	48	9	60	8
Ag-	0	79	8	144	4	117
Senzitivita % (95% CI)	100,0 (80,6-100,0)		85,7 (74,2-92,6)		93,8 (85,0-97,5)	
Specificita % (95% CI)	96,3 (89,7-99,0)		94,1 (89,2-96,9)		93,6 (87,8-96,7)	
Pozitivní PH % (95% CI)	84,2 (62,4-94,5)		84,2 (72,6-91,5)		88,2 (78,4-93,9)	
Negativní PH % (95% CI)	100,0 (95,3-100,0)		94,7 (89,9-97,3)		96,7 (91,8-98,7)	

Graf 6.3.2. Senzitivita u subjektů tří věkových kategorií podle Ct pozitivity



Pohlaví ani věk neovlivňovaly výsledek senzitivity antigenního rychlotestu stejně jako negativní prediktivní hodnotu.

6.3.3. Analýza účinnosti – testování podskupin: zdravotní veličiny

Častěji byli do studie zařazeni zájemci, kteří uváděli některý z vybraných příznaků či symptomů COVID-19, než bezpříznakoví jedinci. Tomu také odpovídala častější pozitivita u příznakových než u bezpříznakových a celkově tak byla u bezpříznakových jedinců snižená hodnota senzitivity (v rozsahu 70-80 %). Důvodem nebylo statisticky významné snížení ale nízká síla testu v této skupině bezpříznakových jedinců.

Pozorovaná nižší hodnota senzitivity však nevedla ke snížení negativní prediktivní hodnoty, které byla minimálně 95% a případně vyšší s ohledem na absenci příznaků.

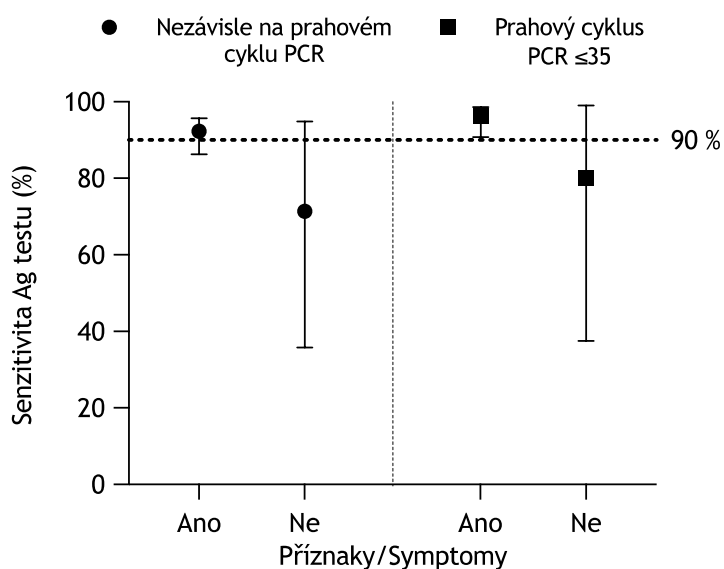
Tabulka 6.3.7. Tabulka 2x2, včetně senzitivity, specificity, pozitivní a negativní prediktivní hodnoty u příznakových a bezpříznakových subjektů s pozitivitou stanovenou PCR (PH ... prediktivní hodnota)

Subjekt	Příznakový		Bezpříznakový	
	PCR+	PCR-	PCR+	PCR-
Pozitivita/negativita				
Ag+	119	13	5	7
Ag-	10	194	2	146
Senzitivita % (95% CI)	92,3 (86,3-95,7)		71,4 (35,8-94,9)	
Specificita % (95% CI)	93,7 (89,5-96,3)		95,4 (90,8-97,8)	
Pozitivní PH % (95% CI)	90,2 (83,8-94,2)		41,7 (19,3-68,1)	
Negativní PH % (95% CI)	95,1 (91,2-97,3)		98,7 (95,2-99,8)	

Tabulka 6.3.8. Tabulka 2x2, včetně senzitivity, specificity, pozitivní a negativní prediktivní hodnoty u příznakových a bezpříznakových subjektů s pozitivitou definovanou Ct≤35 (PH ... prediktivní hodnota)

Subjekt	Příznakový		Bezpříznakový	
	PCR+	PCR-	PCR+	PCR-
Pozitivita/negativita				
Ag+	104	13	4	7
Ag-	4	194	1	146
Senzitivita % (95% CI)	96,3 (90,8-98,6)		80,0 (37,5-99,0)	
Specificita % (95% CI)	93,7 (89,5-96,3)		95,4 (90,8-97,8)	
Pozitivní PH % (95% CI)	88,9 (81,9-93,4)		36,4 (15,1-64,6)	
Negativní PH % (95% CI)	98,0 (94,9-99,2)		99,3 (96,2-100,0)	

Graf 6.3.3. Senzitivita u příznakových a bezpříznakových subjektů podle Ct pozitivity



Pokud jedinec uváděl přetrvávání alespoň jednoho příznaku či symptomu po dobu 7 dní, včetně, pak senzitivita byla významně vyšší než v případě delší perzistence příznaku ($p=0,003$). Zda byla senzitivita snižená nebylo možné z této analýzy jednoznačně potvrdit, protože skupina těchto jedinců byla malá a nesplňovala podmínku síly testu.

Naopak se senzitivita významně neměnila, pokud si jedinci nepamatovali, kdy se objevil první příznak či žádný příznak neuváděli. Nicméně tato skupina označená jako s neznámou perzistencí příznaku/ů byla malá, a proto u ní mohlo dojít k nevýznamnému poklesu dosažené senzitivity (tj. malá síla testu).

V případě, že byla přijata PCR-pozitivita při $Ct \leq 35$, pak senzitivita ve skupině uvádějící delší přetrvávání příznaků dosáhla 100 % a statisticky se od skupiny s krátkodobým přetrváváním příznaku/ů nelišila. Podobně jako v předešlém případě (tj. PCR-pozitivita nezávisle na Ct) byla tato skupina malá a výsledek nelze zobecnit.

Negativní prediktivní hodnota byla ve všech skupinách při obou definicích positivity testu vždy vyšší než 91 %.

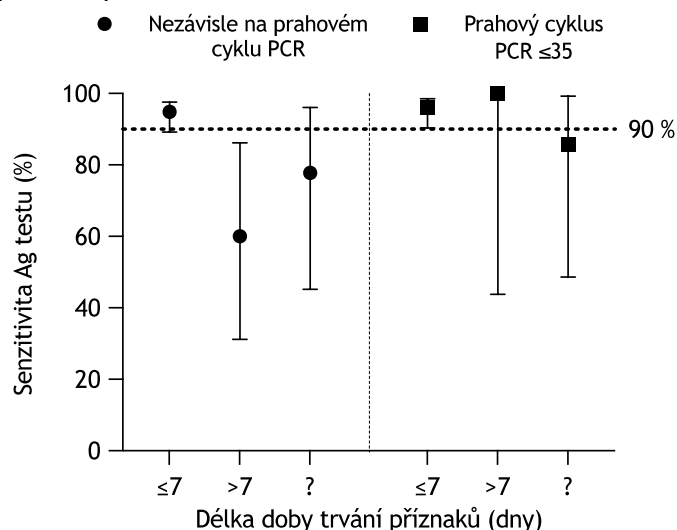
Tabulka 6.3.9. Tabulka 2x2, včetně senzitivity, specifity, pozitivní a negativní prediktivní hodnoty u subjektů s příznaky ≤ 7 dní a > 7 dní, včetně jejich absence s pozitivitou stanovenou PCR (PH ... prediktivní hodnota)

Délka doby trvání příznaků	≤ 7 dní		> 7 dní		neznámý	
	PCR+	PCR-	PCR+	PCR-	PCR+	PCR-
Ag+	111	9	6	2	7	9
Ag-	6	135	4	41	2	164
Senzitivita % (95% CI)	94,9 (89,2-97,6)		60,0 (31,2-83,2)		77,8 (45,2-96,1)	
Specifita % (95% CI)	93,8 (88,5-96,7)		95,4 (84,5-99,2)		94,8 (90,4-97,2)	
Pozitivní PH % (95% CI)	92,5 (86,3-96,0)		75,0 (40,9-95,6)		43,8 (23,1-66,8)	
Negativní PH % (95% CI)	95,7 (91,0-98,0)		91,1 (79,2-96,5)		98,8 (95,7-99,8)	

Tabulka 6.3.10. Tabulka 2x2, včetně senzitivity, specifity, pozitivní a negativní prediktivní hodnoty u subjektů s příznaky ≤ 7 dní a > 7 dní, včetně jejich absence s pozitivitou definovanou $Ct \leq 35$ (PH ... prediktivní hodnota)

Délka doby trvání příznaků	≤ 7 dní		> 7 dní		neznámý	
	PCR+	PCR-	PCR+	PCR-	PCR+	PCR-
Ag+	99	9	3	2	6	9
Ag-	4	135	0	41	1	164
Senzitivita % (95% CI)	96,1 (90,4-98,5)		100,0 (43,8-100,0)		85,7 (48,6-99,3)	
Specifita % (95% CI)	93,8 (88,5-96,7)		95,4 (84,5-99,2)		94,8 (90,4-97,2)	
Pozitivní PH % (95% CI)	91,7 (84,9-95,6)		60,0 (23,0-92,9)		40,0 (19,8-64,3)	
Negativní PH % (95% CI)	97,1 (92,8-98,9)		100,0 (91,4-100,0)		99,4 (96,6-100,0)	

Graf 6.3.4. Senzitivita u subjektů s příznaky ≤7 dní a >7 dní, včetně jejich absence podle Ct pozitivity



Ukázalo se, že jedinci se souběžným onemocněním dosahovali statisticky významně vyšší senzitivity než bez takového onemocnění, a to jak při definici PCR-pozitivity ($p=0,028$) tak při pozitivě definované $Ct \leq 35$ ($p=0,009$). Naopak negativní prediktivní hodnota byla v obou skupinách vyšší než 95 % a na přítomnosti souběžného onemocnění byla tedy nezávislá.

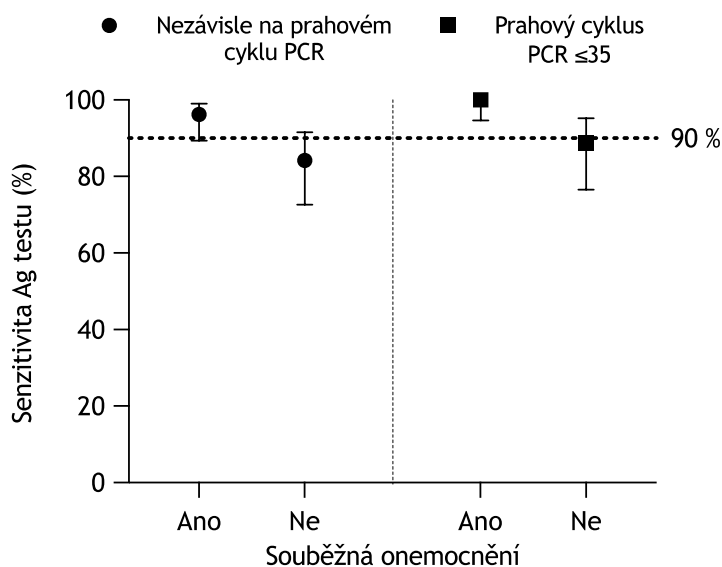
Tabulka 6.3.11. Tabulka 2x2, včetně senzitivity, specifity, pozitivní a negativní prediktivní hodnoty u subjektů s a bez souběžného onemocnění s pozitivitou stanovenou PCR (PH ... prediktivní hodnota)

Subjekt	Se souběžným onemocněním		Bez souběžného onemocnění	
	PCR+	PCR-	PCR+	PCR-
Pozitivita/negativita				
Ag+	76	9	48	11
Ag-	3	150	9	190
Senzitivita % (95% CI)	96,2 (89,4-99,0)		84,2 (72,6-91,5)	
Specifita % (95% CI)	94,3 (89,5-97,0)		94,5 (90,4-96,9)	
Pozitivní PH % (95% CI)	89,4 (81,0-94,3)		81,4 (69,6-89,3)	
Negativní PH % (95% CI)	98,0 (94,3-99,5)		95,5 (91,6-97,6)	

Tabulka 6.3.12. Tabulka 2x2, včetně senzitivity, specifity, pozitivní a negativní prediktivní hodnoty u subjektů s a bez souběžného onemocnění s pozitivitou definovanou $Ct \leq 35$ (PH ... prediktivní hodnota)

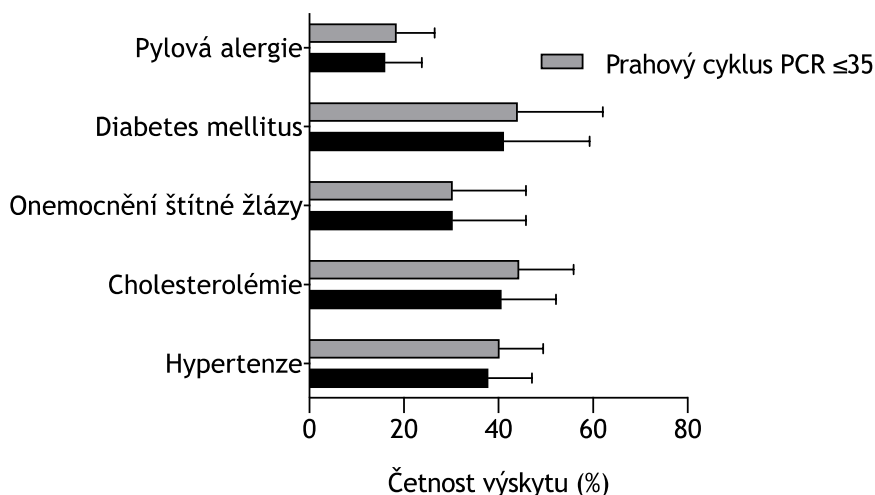
Subjekt	Se souběžným onemocněním		Bez souběžného onemocnění	
	PCR+	PCR-	PCR+	PCR-
Pozitivita/negativita				
Ag+	68	9	40	11
Ag-	0	150	5	190
Senzitivita % (95% CI)	100,0 (94,6-100,0)		88,9 (76,5-95,2)	
Specifita % (95% CI)	94,3 (89,5-97,0)		94,5 (90,4-96,9)	
Pozitivní PH % (95% CI)	88,3 (79,2-93,7)		78,4 (65,3-87,5)	
Negativní PH % (95% CI)	100,0 (97,5-100,0)		97,4 (94,1-98,9)	

Graf 6.3.5. Senzitivita u subjektů s a bez souběžného onemocnění podle Ct pozitivity



Pozitivita stanovená RT-PCR nebo Ag testem se ukázala nerovnoměrná a zdánlivě závislá na konkrétním onemocnění. Dodatečnou analýzou se však ukázalo, že pouze jedinci s pylovou alergií dosahovali relativně nízké proporce positivity (16-18 %) oproti těm co zaznamenali hypertenzi, cholesterolémií, onemocnění štítnou žlázou nebo diabetes mellitus. Zjištěná odlišnost senzitivity antigenního rychlotestu v závislosti na přítomném souběžném onemocnění by mohla být dále zesílena, pokud by pylová alergie nebyla v rámci souběžných onemocnění hodnocena. Navíc hypertenze, cholesterolémie a diabetes mellitus patří mezi základní rizikové faktory pro onemocnění COVID-19. Rozložení proporce positivity u jedinců se sledovanými souběžnými onemocněními je znázorněna na grafu 6.3.6.

Graf 6.3.6. Proporce positivity u jedinců se sledovanými souběžnými onemocněními



U bezpříznakových jedinců byla senzitivita nestatisticky významně nižší než u příznakových. Zda délka doby přetrvávání charakteristických příznaků či symptomů může senzitivitu antigenního testu ovlivnit, nebylo možné z dat této studie jednoznačně prokázat. Lze se však domnívat, že tento faktor by ji mohl ovlivnit, proto by bylo vhodné ho případně zkoumat v dalších studiích a možná se na něho případně zaměřit. Souběžná onemocnění jako hypertenze, cholesterolémie, diabetes mellitus nebo onemocnění štítné žlázy pravděpodobně přispívali k vyšší pozitivitě, což se odrazilo na vyšší senzitivitě antigenního rychlotestu. Negativní prediktivní hodnota nebyla zdravotními faktory ovlivněna a dosahovala minimálně 91 %.

6.3.4. Analýza účinnosti – testování podskupin: behaviorální veličiny

Do studie bylo zařazeno očekávatelně méně kuřáků než nekuřáků. I když senzitivita antigenního rychlotestu byla u kuřáků nižší, nebyla oproti senzitivě u nekuřáků statisticky významně odlišná. Důvodem nižší hodnoty senzitivity byla malá skupina nekuřáků, na které nebylo možné dosáhnout minimální síly testu. Přesto negativní prediktivní hodnota byla jak u kuřáků, tak nekuřáků vyšší než 96 %.

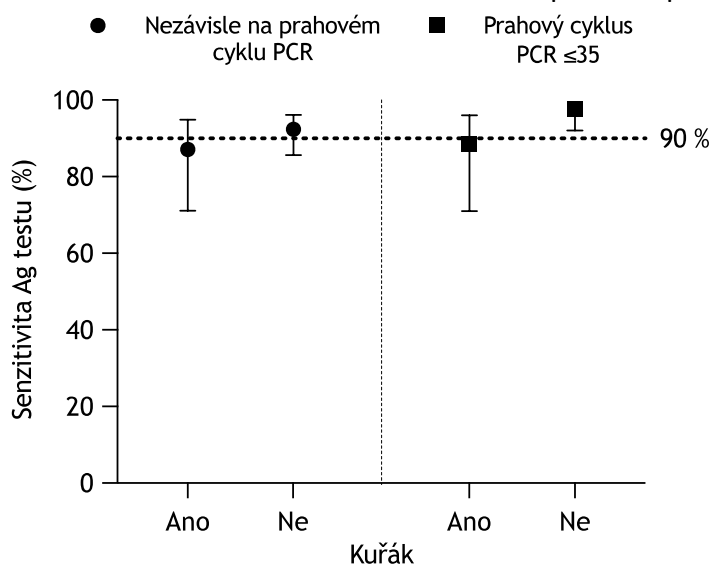
Tabulka 6.3.13. Tabulka 2x2, včetně senzitivity, specificity, pozitivní a negativní prediktivní hodnoty u kuřáků a nekuřáků s pozitivitou stanovenou PCR (PH ... prediktivní hodnota)

Subjekt	Kuřák		Nekuřák	
	PCR+	PCR-	PCR+	PCR-
Ag+	27	3	97	17
Ag-	4	121	8	219
Senzitivita % (95% CI)	87,1 (71,1-94,9)		92,4 (85,6-96,1)	
Specificita % (95% CI)	97,6 (93,1-99,3)		92,8 (88,7-95,5)	
Pozitivní PH % (95% CI)	90,0 (74,3-96,5)		85,1 (77,4-90,5)	
Negativní PH % (95% CI)	96,8 (92,0-98,8)		96,5 (93,2-98,2)	

Tabulka 6.3.14. Tabulka 2x2, včetně senzitivity, specificity, pozitivní a negativní prediktivní hodnoty u kuřáků a nekuřáků s pozitivitou definovanou Ct \leq 35 (PH ... prediktivní hodnota)

Subjekt	Kuřák		Nekuřák	
	PCR+	PCR-	PCR+	PCR-
Ag+	23	3	85	17
Ag-	3	121	2	219
Senzitivita % (95% CI)	88,5 (71,0-96,0)		97,7 (92,0-99,6)	
Specificita % (95% CI)	97,6 (93,1-99,3)		92,8 (88,7-95,5)	
Pozitivní PH % (95% CI)	88,5 (71,0-96,0)		83,3 (74,9-89,3)	
Negativní PH % (95% CI)	97,6 (93,1-99,3)		99,1 (96,7-99,8)	

Graf 6.3.7. Senzitivita u kuřáků a nekuřáků podle Ct pozitivity



Ve studii byli jedinci rozděleni podle BMI do tří kategorií, tj. s normální tělesnou hmotností ($BMI \leq 25 \text{ kg/m}^2$), s nadváhou ($BMI 25-30 \text{ kg/m}^2$) a obezitou ($BMI \geq 30 \text{ kg/m}^2$). Nebyl zjištěn rozdíl v počtu subjektů jednotlivých kategorií a stejně tak se neobjevil žádný statisticky významný rozdíl v dosažené senzitivě antigenního rychlotestu. Vyšší hodnoty senzitivity byly dosaženy při prahové cyklu $PCR \leq 35$. Přesto byl výsledek konzistentní s primárním a nadváha či obezita neměl vliv na senzitivitu stejně jako specificitu. Také negativní prediktivní hodnota byla ve všech třech skupinách vyšší než 94 % (PCR-pozitivita) nebo 97 % (pozitivita $Ct \leq 35$).

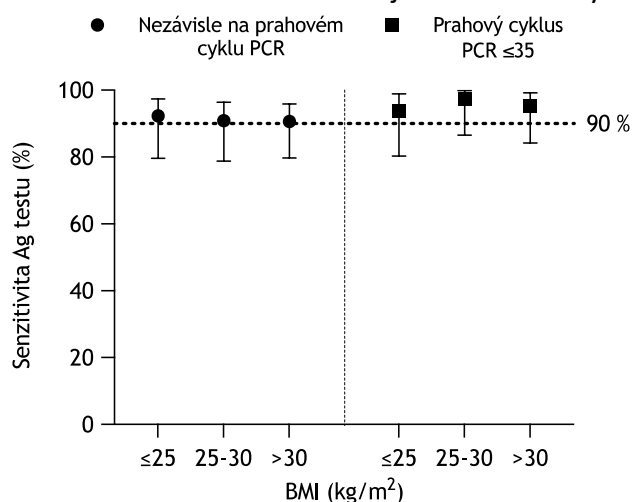
Tabulka 6.3.15. Tabulka 2x2, včetně senzitivity, specificity, pozitivní a negativní prediktivní hodnoty u subjektů rozdělených do tří kategorií podle BMI s pozitivitou stanovenou PCR (PH ... prediktivní hodnota)

Subjekt	BMI $\leq 25 \text{ kg/m}^2$		BMI 25-30 kg/m^2		BMI $>30 \text{ kg/m}^2$	
	PCR+	PCR-	PCR+	PCR-	PCR+	PCR-
Ag+	36	6	40	12	48	2
Ag-	3	141	4	114	5	85
Senzitivita % (95% CI)	92,3 (79,6-97,4)		90,9 (78,8-96,4)		90,6 (79,7-95,9)	
Specificita % (95% CI)	95,9 (91,3-98,1)		90,5 (84,0-94,5)		97,7 (92,0-99,6)	
Pozitivní PH % (95% CI)	85,7 (72,1-93,3)		76,9 (63,8-86,3)		96,0 (86,5-99,3)	
Negativní PH % (95% CI)	97,9 (94,0-99,4)		96,6 (91,6-98,7)		94,4 (87,6-97,6)	

Tabulka 6.3.16. Tabulka 2x2, včetně senzitivity, specificity, pozitivní a negativní prediktivní hodnoty u subjektů rozdělených do tří kategorií podle BMI s pozitivitou definovanou $Ct \leq 35$ (PH ... prediktivní hodnota)

Subjekt	BMI $\leq 25 \text{ kg/m}^2$		BMI 25-30 kg/m^2		BMI $>30 \text{ kg/m}^2$	
	PCR+	PCR-	PCR+	PCR-	PCR+	PCR-
Ag+	31	6	37	12	40	2
Ag-	2	141	1	114	2	85
Senzitivita % (95% CI)	93,9 (80,3-98,9)		97,4 (86,5-99,9)		95,2 (84,2-99,2)	
Specificita % (95% CI)	95,9 (91,3-98,1)		90,5 (84,0-94,5)		97,7 (92,0-99,6)	
Pozitivní PH % (95% CI)	83,8 (68,8-92,4)		75,5 (61,9-85,4)		95,2 (84,2-99,2)	
Negativní PH % (95% CI)	98,6 (95,0-99,8)		99,1 (95,2-100,0)		97,7 (92,0-99,6)	

Graf 6.3.8. Senzitivita u subjektů rozdělených do tří BMI kategorií podle Ct pozitivity



Behaviorální faktory jako je kouření nebo nadváha/obezita neovlivňovaly výsledky senzitivity a negativní prediktivní hodnota byla s ohledem na uvedené prediktory neměnná (tj. minimálně 94%).

6.3.5. Analýza účinnosti – testování podskupin: veličiny stanovení

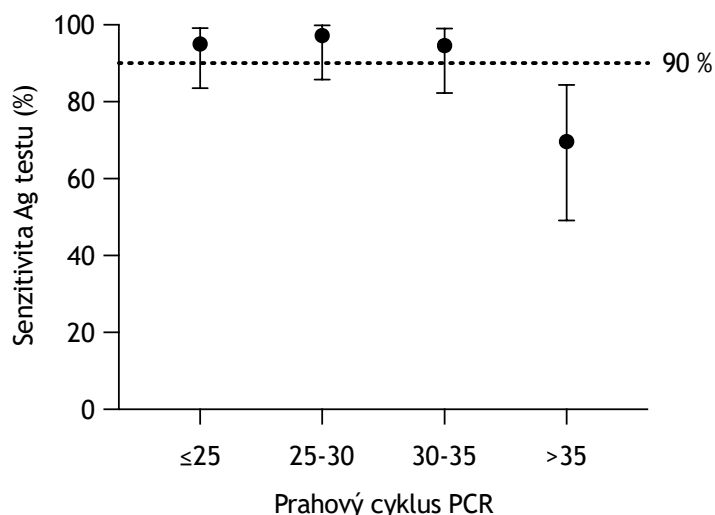
Prahový cyklus PCR byl použit pro vytvoření čtyř skupin dle virové nálože či aktivity, tj. vysoké Ct≤25, průměrné Ct 25-30, slabé Ct 30-35 a nízké až žádné Ct>35.

Zatímco ve skupinách vysoké, průměrné nebo slabé virové nálože/aktivity nebyl zjištěn žádný statisticky významný rozdíl v dosažených senzitivitách antigenního rychlotestu, v případě Ct>35 senzitivita významně klesla ($p=0,009$). I když byla tato skupina nejmenší a síla testu byla v ní nebyla dosažena, výsledná snížená senzitivita ovlivňuje kvalitu antigenního testu jen zanedbatelně. Nad touto hodnotou totiž existuje jen velmi omezené až žádné riziko přenosu či šíření nákazy. Negativní prediktivní hodnota ve všech čtyřech skupinách podle virové nálože/aktivity byla minimálně 98%.

Tabulka 6.3.17. Tabulka 2x2, včetně senzitivity, specifity, pozitivní a negativní prediktivní hodnoty u subjektů podle kategorie prahového cyklu PCR (PH ... prediktivní hodnota)

Prahový cyklus	≤25		25-30		30-35		>35	
	PCR+	PCR-	PCR+	PCR-	PCR+	PCR-	PCR+	PCR-
Ag+	38	20	35	20	35	20	16	20
Ag-	2	340	1	340	2	340	7	340
Senzitivita % (95% CI)	95,0 (83,5-99,1)		97,2 (85,8-99,9)		94,6 (82,3-99,0)		69,6 (49,1-84,4)	
Specifita % (95% CI)	94,4 (91,5-96,4)		94,4 (91,5-96,4)		94,4 (91,5-96,4)		94,4 (91,5-96,4)	
Pozitivní PH % (95% CI)	65,5 (52,6-76,4)		63,6 (50,4-75,1)		63,6 (50,4-75,1)		44,4 (29,5-60,4)	
Negativní PH % (95% CI)	99,4 (97,8-99,9)		99,7 (98,3-100,0)		99,4 (97,8-99,9)		98,0 (95,9-99,0)	

Graf 6.3.9. Senzitivita u subjektů podle kategorie prahového cyklu PCR



Ačkoli nebyl zjištěn statisticky odlišný počet zařazených subjektů v jednom a druhém odběrovém místě, bylo třeba testovat, zda výsledek senzitivity nebyl místem (nebo pracovníky provádějící odběr a rychlotest) podmíněn. Senzitivita antigenního rychlotestu se neměnila a byla tak nezávislá nejen na místě ale na způsobu prováděného odběru vzorků, včetně pracovníků, který ho realizovali. Negativní prediktivní hodnota antigenního rychlotestu byla na obou odběrových místech nezávislá a dosahovala minimálně 95 %.

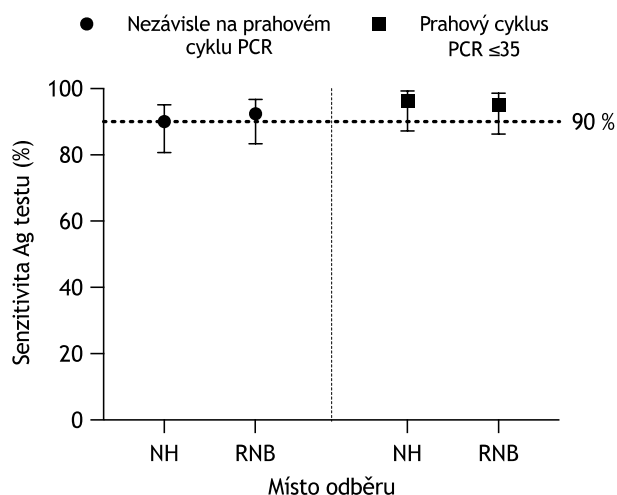
Tabulka 6.3.18. Tabulka 2x2, včetně senzitivity, specifity, pozitivní a negativní prediktivní hodnoty u subjektů podle odběrového místa s pozitivitou stanovenou PCR (PH ... prediktivní hodnota)

Odběrové místo	Hořovice		Beroun	
	PCR+	PCR-	PCR+	PCR-
Pozitivita/negativita				
Ag+	63	13	61	7
Ag-	7	164	5	176
Senzitivita % (95% CI)	90,0 (80,7-95,1)		92,4 (83,4-96,7)	
Specifita % (95% CI)	92,7 (87,8-95,7)		96,2 (92,3-98,1)	
Pozitivní PH % (95% CI)	82,9 (72,9-89,7)		89,7 (80,2-94,9)	
Negativní PH % (95% CI)	95,9 (91,7-98,0)		97,2 (93,7-98,8)	

Tabulka 6.3.19. Tabulka 2x2, včetně senzitivity, specifity, pozitivní a negativní prediktivní hodnoty u subjektů podle odběrového místa s pozitivitou definovanou Ct≤35 (PH ... prediktivní hodnota)

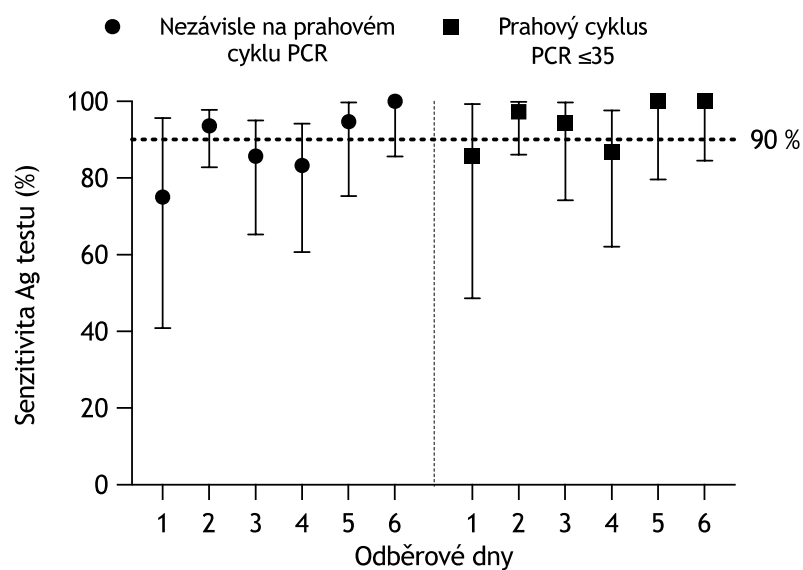
Odběrové místo	Hořovice		Beroun	
	PCR+	PCR-	PCR+	PCR-
Pozitivita/negativita				
Ag+	51	13	57	7
Ag-	2	164	3	176
Senzitivita % (95% CI)	96,2 (87,2-99,3)		95,0 (86,3-98,6)	
Specifita % (95% CI)	92,7 (87,8-95,7)		96,2 (92,3-98,1)	
Pozitivní PH % (95% CI)	79,7 (68,2-87,7)		89,1 (79,1-94,6)	
Negativní PH % (95% CI)	98,8 (95,7-99,8)		98,3 (95,1-99,5)	

Graf 6.3.10. Senzitivita u subjektů podle odběrového místa a Ct pozitivity



Výsledky senzitivity dosažené ve skupinách podle dne odběru se od sebe významně nelišily. Případné nevýznamné odchylky byly v důsledku nestejného počtu zařazených subjektů v daný den provádění této studie. Denní negativní prediktivní hodnota nebyla nižší než 94 %.

Graf 6.3.11. Senzitivita u subjektů podle odběrového místa a Ct pozitivity



Faktory pramenící z provádění tohoto antigenního rychlotestu potvrdily setrvalou senzitivitu nezávislou na místě odběru, či na pracovnících provádějící odběr a stanovení, stejně jako na dni provádění. I když se senzitivita snižuje s prahovým cyklem nad 35, nepředstavuje to žádné zvláštní riziko kvality stanovení tímto antigenním rychlotestem, neboť nad touto mezí je riziko přenosu či šíření nákazy buď žádné nebo zanedbatelné.

6.4. Adjustace pozitivity kritickými proměnnými

Nad rámec hodnocení kvality antigenního rychlotestu dané protokolem byla doplněna analýza závislosti zjištěné PCR nebo Ag pozitivity na vybraných kritických proměnných. Celkem bylo PCR-pozitivních případů 136 u 496 zařazených subjektů, tj. 27,4 % (95% CI: 23,5-31,6 %) a 144 Ag-pozitivních, tj. 29 % (95% CI: 25,1-33,2 %).

Výsledky logistické regrese ukázaly, že stanovená pozitivita byla oproti nejmladším (18-30 let) významně vyšší u starších 30 let a s rostoucím věkem dále stoupala, tj. 27 % ve věku 30-50 let a 34-36 % ve věku nad 50 let.

Naopak významně nižší PCR nebo Ag pozitivita byla zjištěna u kuřáků (20 %), než u nekuřáků. Jednoznačně vysoká pozitivita byla potvrzována u jedinců (45 % nebo 46 %), kteří uváděli alespoň jeden příznak či symptom přetrvávající maximálně 7 dní před stanovením.

Ačkoli PCR-pozitivita nebyla ovlivněna tím, zda jedinec uvedl alespoň jeden příznak či symptom, Ag pozitivita byla na tomto faktoru závislá. Přesto je třeba připustit, že tento faktor byl vyjádřen v modelu logistické regrese dvakrát, a to jako příznaky a jako přetrvávání příznaků. Protože byla potvrzena závislost positivity na přetrvávání příznaků, byla tím také nepřímo prokázána závislost na přítomnosti některého z charakteristických příznaků či symptomů.

Tabulka 6.4.1. Proporce PCR-pozitivity a poměry šancí (hrubý cOR a adjustovaný aOR), včetně 95% CI a p-hodnoty

Faktor		N	n	Proporce (%)	cOR (95% CI)	aOR (95% CI)	p
Pohlaví	Muži	228	62	27,2 (21,5-33,5)	1	1	
	Ženy	268	74	27,6 (22,3-33,4)	1,02 (0,69-1,52)	0,98 (0,62-1,54)	0,922
Věkové kohorty (roky)	18-30	98	16	16,3 (9,6-25,2)	1	1	
	30-50	209	56	26,8 (20,9-33,3)	1,88 (1,01-3,48)	2,56 (1,34-4,88)	0,004
	≥50	189	64	33,9 (27,2-41,1)	2,62 (1,42-4,85)	3,22 (1,60-6,48)	0,001
BMI (kg/m ²)	<25	186	39	21,0 (15,4-27,5)	1	1	
	25 - 30	170	44	25,9 (19,5-33,1)	1,32 (0,80-2,15)	0,96 (0,54-1,69)	0,876
	≥30	140	53	37,9 (29,8-46,4)	2,30 (1,41-3,75)	1,63 (0,89-3,00)	0,113
Kuřák	Ano	155	31	20,0 (14,0-27,2)	1	1	
	Ne	341	105	30,8 (25,9-36,0)	1,78 (1,13-2,81)	1,95 (1,17-3,23)	0,010
Souběžné onemocnění	Ano	238	79	33,2 (27,2-39,6)	1	1	
	Ne	258	57	22,1 (17,2-27,7)	0,57 (0,38-0,85)	1,17 (0,72-1,92)	0,523
Příznak/y	Ano	336	129	38,4 (33,2-43,8)	1		
	Ne	160	7	4,4 (1,8-8,8)	0,07 (0,03-0,16)	0,52 (0,15-1,85)	0,316
Přetrvávání ≤7 dní	Ano	261	117	44,8 (38,7-51,1)	1	1	
	Ne	53	10	18,9 (9,4-32,0)	0,29 (0,14-0,59)	0,23 (0,11-0,49)	<0,0001
	Neznámý	182	9	4,9 (2,3-9,2)	0,06 (0,03-0,13)	0,12 (0,04-0,39)	<0,0001

Tabulka 6.4.2. Proporce Ag-pozitivity a poměry šancí (hrubý cOR a adjustovaný aOR), včetně 95% CI a p-hodnoty

Faktor		N	n	Proporce (%)	cOR (95% CI)	aOR (95% CI)	p
Pohlaví	Muži	228	67	29,4 (23,6-35,8)	1	1	
	Ženy	268	77	28,7 (23,4-34,6)	0,97 (0,66-1,43)	0,87 (0,55-1,35)	0,528
Věkové kohorty (roky)	18-30	98	19	19,4 (12,1-28,6)	1	1	
	30-50	209	57	27,3 (21,4-33,8)	1,56 (0,87-2,80)	2,23 (1,20-4,16)	0,011
	≥50	189	68	36,0 (29,1-43,3)	2,34 (1,31-4,18)	2,82 (1,44-5,51)	0,002
BMI (kg/m ²)	<25	186	42	22,6 (16,8-29,3)	1	1	
	25 - 30	170	52	30,6 (23,8-38,1)	1,51 (0,94-2,43)	1,02 (0,59-1,77)	0,934
	≥30	140	50	35,7 (27,8-44,2)	1,90 (1,17-3,10)	1,19 (0,66-2,16)	0,562
Kuřák	Ano	155	30	19,4 (13,5-26,5)	1	1	
	Ne	341	114	33,4 (28,4-38,7)	2,09 (1,32-3,31)	2,37 (1,44-3,92)	0,001
Souběžné onemocnění	Ano	238	85	35,7 (29,6-42,2)	1	1	
	Ne	258	59	22,9 (17,9-28,5)	0,53 (0,36-0,79)	0,82 (0,507-1,31)	0,402
Příznak/y	Ano	336	132	39,3 (34,0-44,7)	1	1	
	Ne	160	12	7,5 (3,9-12,7)	0,13 (0,07-0,23)	0,35 (0,12-0,98)	0,045
Přetrvávání ≤7 dní	Ano	261	120	46,0 (39,8-52,2)	1	1	
	Ne	53	8	15,1 (6,7-27,6)	0,21 (0,09-0,46)	0,19 (0,09-0,42)	<0,0001
	Neznámý	182	16	8,8 (5,1-13,9)	0,11 (0,06-0,20)	0,28 (0,11-,70)	0,007

6.5. Statistické metody a analýzy

Kontinuální veličiny jako věk a BMI byly hodnoceny pomocí standardních popisných statistik, tj. byly vyjádřeny průměrem a 95 % intervalem spolehlivosti. Kategořální veličiny byly vyjádřeny proporcí a 95% intervalem spolehlivosti vypočteným jako exaktní interval.

Porovnávání dvou kategořálních veličin bylo statisticky hodnoceno pomocí Fisherova exaktního testu a pro více než dvě takové veličiny se použil chi-2 test. Míra asociace byla vyjádřena hrubým poměrem šancí, případně adjustovaným poměrem šancí vycházejícího z modelu logistické regrese.

K porovnávání dvou a více než dvou kontinuálních veličin byl použit t-student test nebo jednofaktorová analýza rozptylu ANOVA, neboť test normality byl splněn minimálně u jedné z porovnávaných veličin.

Pro výpočet senzitivity, specificity, negativní a pozitivní prediktivní hodnoty byla použita 2x2 tabulka a 95% intervaly spolehlivosti byly vypočteny Wilson-Brownovou metodou.

Původně plánované hodnocení dvou souborů (tj. ITT a PPS dle splnění podmínek studie) bylo nahrazeno pouze jedním, protože všechny subjekty uvedly všechny vyžadující údaje s výjimkou jednoho, který neuvedl svou tělesnou hmotnost a výšku.

Statistické testy byly prováděny při hladině významnosti 0,05 na oboustranném intervalu spolehlivosti. Všechny statistické testy a analýzy byly získány pomocí statistického softwaru STATA verze 16 (StatCorp, Texas USA) nebo Prism 9 (verze 9, GraphPad Software, Inc).

7. Závěr

Na celém souboru studijní populace byla prokázána dostatečně vysoká senzitivita vyšší než 91 %, což napomohlo téměř 97% negativní prediktivní hodnotě. Pokud byla pozitivita hodnocena jen do mezní hodnoty 35 prahového cyklu PCR, senzitivita se dále zvýšila a dosáhla více než 96 % a negativní prediktivní hodnota přesáhla 99% přesnost.

Tyto výsledky jsou příslibem minimalizace falešné negativity, což napomůže v terénu s vysokou přesností určit skutečně negativní jedince a odlišit je tak od pozitivních. Na druhé straně byla tato senzitivita mírně kompenzována specificitou, která se pohybovala kolem 94 % nezávisle na volbě mezní hodnoty prahového cyklu.

Bylo ověřeno, že senzitivita zůstává vysoká ve třech definovaných pásmech prahového cyklu PCR, které vystihují míru infekčnosti pozitivního jedince. Hodnoty senzitivity se pohybovaly mezi 95 až 97 % a negativní prediktivní hodnoty zůstaly nad 99 %.

Výsledná senzitivita nebyla ovlivněna pohlavím, věkem, místem a časem odběru či prováděním rychlotestu, a to včetně pracovníků, kteří stanovení a odběr prováděli. Neprokázal se žádný vliv nadváhy/obezity či kouření na stanovenou senzitivitu tohoto antigenního rychlotestu.

Přítomnost či absence příznaků nebo symptomů charakteristických pro COVID-19 neměl vliv na výslednou senzitivitu. Přesto se může senzitivita pravděpodobně snížit, pokud se stanovení testu provádí u osob s příznaky přetrvávajícími déle než 7 dní. Naopak přítomnost souběžného onemocnění jako je hypertenze, cholesterolémie nebo diabetu mellitus, může hodnotu senzitivity tohoto rychlotestu zvýšit. Vliv obou dvou poslední faktorů nezle jednoznačně z dat této studie potvrdit, protože tato studie nebyla primárně zaměřena na takto podmíněnou senzitivitu antigenního rychlotestu.

Kromě hodnocení účinnosti antigenního rychlotestu prostřednictvím jeho senzitivity, byla zhodnocena také závislost pozitivita stanovené buď PCR nebo antigenním testem. Pozitivita byla vyšší u starších 30 let a s věkem dále rostla, u nekuřáků a jedinců, kteří uváděli alespoň jeden s charakteristických příznaků či symptomů do jednoho týdne před stanovením.

Antigenní rychlotest společnosti Wantai vykazuje velmi dobrou senzitivitu a dostatečnou specificitu. Hlavní předností tohoto testu je vysoce přesné určení negativity jedince, a to až z přesností vyšší než 99 %.

8. Literatura

1. Hirotsu Y, Maejima M, Shibusawa M, 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. *Int J Infect Dis.* 2020;99:397-402. doi:10.1016/j.ijid.2020.08.029
2. Buderer NM. Statistical methodology: I. Incorporating the prevalence of disease into the sample size calculation for sensitivity and specificity. *Acad Emerg Med.* 1996 Sep;3(9):895-900. doi: 10.1111/j.1553-2712.1996.tb03538.x. PMID: 8870764.
3. Hajian-Tilaki K. Sample size estimation in diagnostic test studies of biomedical informatics. *J Biomed Inform.* 2014 Apr;48:193-204. doi: 10.1016/j.jbi.2014.02.013. Epub 2014 Feb 26. PMID: 24582925.
4. APA: Arifin, W. N. (2020). Sample size calculator (web). Retrieved from <http://wnarifin.github.io>
5. Centers for disease control and prevention, 2020. Duration of isolation and precautions for adults with COVID-19.

9. (Přílohy)

1. Informovaný souhlas a záznamový list studie
2. Uživatelský manuál pro odběr a provedení testu včetně registru zaškolených osob
3. Příbalový leták testu v češtině
4. Diagram provedení v češtině