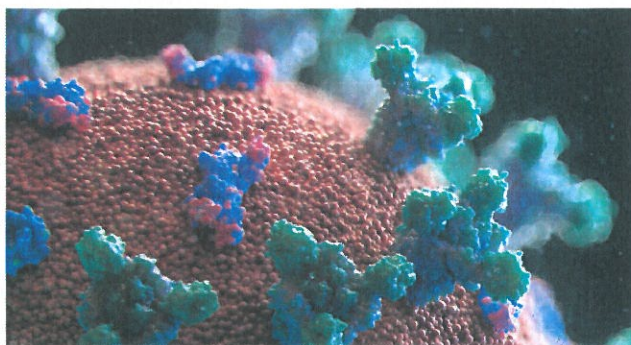


**SROVNÁVACÍ PRŮŘEZOVÁ STUDIE
SÉROPREVALENCE PROTILÁTEK
PROTI SARS-COV-2
V OKRESECH PÍSEK A STRAKONICE**

15.6.2020



Srovnávací průřezová studie séroprevalence protilátek proti SARS-CoV-2 v okresech Písek a Strakonice v květnu 2020

Zadavatel studie

- Jihočeský kraj
- OIG POWER spol. s r. o.

Spolupracující instituce

- Laboratoře Nemocnice Strakonice, a.s
- Mikrobiologická laboratoř Nemocnice Písek, a.s
- Krajská hygienická stanice Jihočeského kraje
- Armáda České republiky
- HZS Jihočeského kraje - okresů Strakonice a Písek
- Záchraná služba Jihočeského kraje
- Policie ČR - Jihočeský kraj

Garanti studie

- PharmDr. Eva Šimečková - primářka Centrálních laboratoří Nemocnice Strakonice, a.s
- MUDr. Věra Kůrková - primářka Mikrobiologické laboratoře Nemocnice Písek, a.s
- RNDr. Jana Fleischmannová, PhD. - bioanalytička Centrálních laboratoří Nemocnice Strakonice
- MUDr. Pavel Malina, Ph.D. - lékař Nemocnice Písek, a.s
- MUDr. Michal Pelíšek MBA - lékař Nemocnice Strakonice, a.s
- Doc. MUDr. Květoslava Kotrbová Ph.D. - Krajská hygienická stanice Jihočeského kraje
- RNDr. Zuzana Krátká, Ph.D. – imunolog, Imunologická laboratoř GENNET s.r.o. Praha, Centrum pro bayesovskou inferenci 4BIN
- RNDr. Tomáš Fürst, Ph.D. – matematik, Katedra matematické analýzy a aplikací matematiky, Přírodovědecká fakulta, Univerzita Palackého v Olomouci, Centrum pro bayesovskou inferenci 4BIN
- MUDr. Martin Kuba - OIG Power

Cíl studie

Cílem studie bylo určit prevalenci jedinců s proběhlou infekcí koronavirem SARS-CoV-2 ve vybraných skupinách v okrese Písek a Strakonice na základě stanovení přítomnosti protilátek.

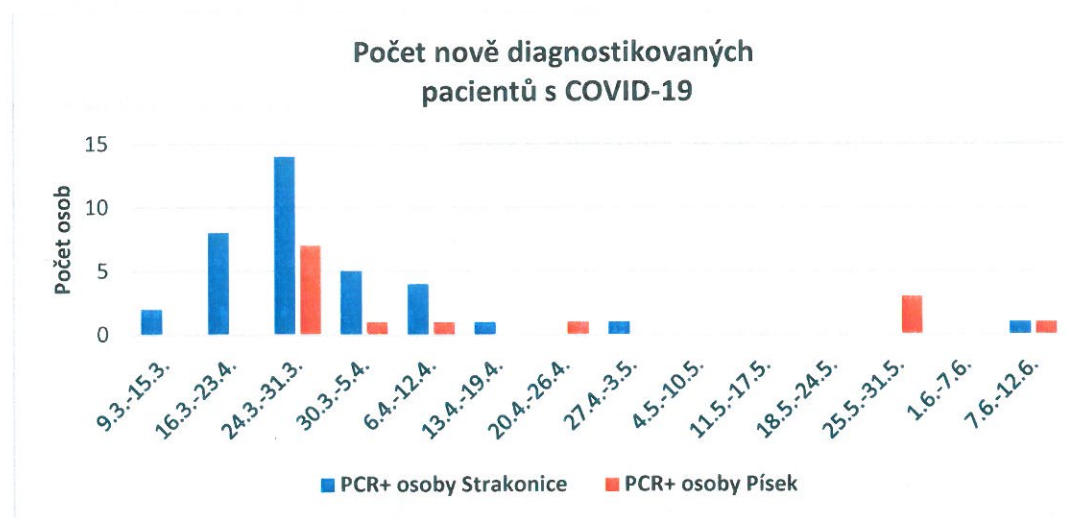
ČÁST 1 - Epidemiologická situace v okresech Strakonice a Písek

Studie proběhla v okresech Strakonice a Písek. Oba okresy mají přibližně stejný počet obyvatel – okres Písek 71 587 a okres Strakonice 70 772 (1). Vybrány byly na základě epidemiologické situace ze dne 12. dubna 2020, kdy v Písku byl nejnižší kumulativní počet osob s prokázaným SARS-CoV-2 virem pomocí reverzní PCR (12 PCR pozitivních osob / 100 tisíc obyvatel) a ve Strakonici byl nejvyšší počet pozitivních PCR pozitivních osob v Jihočeském kraji (46,6 PCR pozitivních osob / 100 tisíc obyvatel). Zásadní rozdíl mezi těmito okresy byl na samém počátku koronavirové epidemie. Ve Strakonici byli prvními pacienty s COVID-19 čtyři zdravotníci na poliklinice (diagnostikováni byli ve dnech 14.-16. 3. 2020) a kvůli jejich četným kontaktům došlo k nastartování epidemie v tomto okrese (Graf č. 1). O 11

dnů později (25.3.) byli laboratorně potvrzeni první pacienti v Písku. V obou okresech byl největší nárůst počtu PCR pozitivních osob do konce března. V dubnu a květnu byl již výskyt nových případů v obou okresech minimální. Kumulativní počet PCR pozitivních osob v jednotlivých týdnech je uveden v Grafu č.2.

Okresy se mezi sebou lišily také v závažnosti průběhu onemocnění. U strakonických pacientů byly zaznamenány vážnější klinické průběhy (vyšší počet hospitalizací, horečka a dokonce i úmrtí pacienta) než v Písku (Tabulka č. 1).

Graf č. 1 - Počet nově zachycených PCR pozitivních osob v okresech Strakonice a Písek



Graf č. 2 - Kumulativní počet PCR pozitivních osob ve Strakonících a Písku



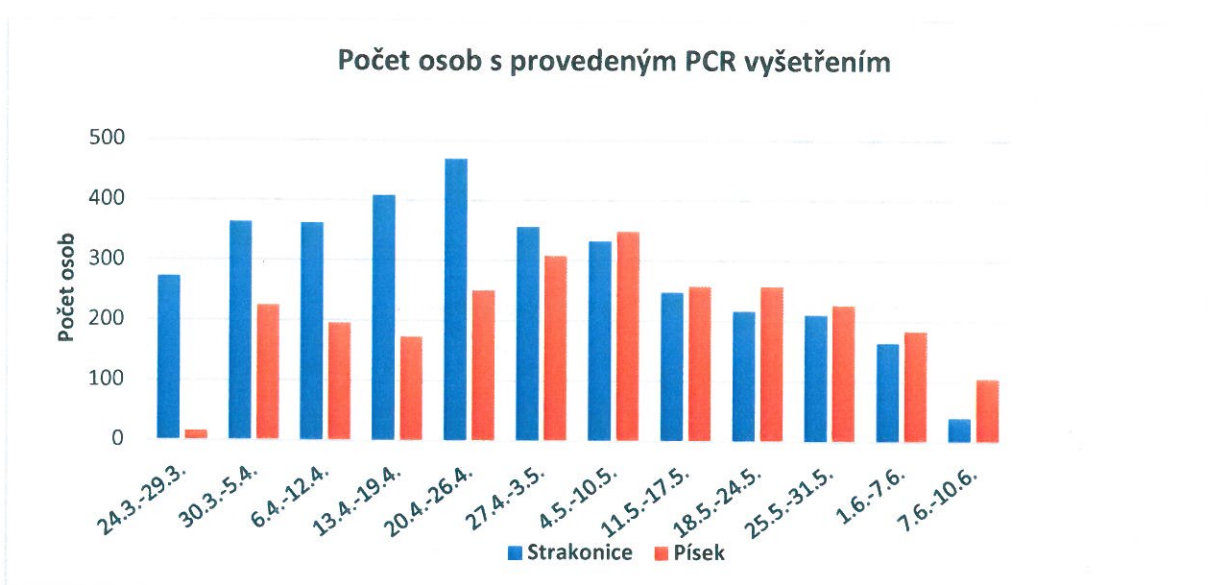
zdroj: <https://onemocneni-aktualne.mzcr.cz/covid-19>

Tabulka č. 1 – Klinické příznaky u pacientů s COVID-19 v Písku a Strakonících

Klinika	Písek	Strakonice
Úmrtí	0	1
Hospitalizace	1	8
Horečka	2	5
Lehký průběh	9	18
Bez příznaků	0	2

Vyšší riziko infekce vedlo také k tomu, že bylo na Strakonicku provedeno do konce dubna víc PCR testů než na Písecku (Graf č. 3).

Graf č. 3 - Počet osob s provedeným PCR vyšetřením přepočteno na 100 tis. obyvatel strakonického a píseckého okresu v laboratořích nemocnic Strakonice a Písek



Část 2 – Navržení studie a metodika studie

Výběr osob v dobrovolnické a profesní skupině

Studie byla zahájena v prvním týdnu v květnu, tedy šest týdnů od počátku epidemie ve Strakonících, resp. pět týdnů od počátku epidemie v Písku. Ve studii bylo vyšetřeno 1011 osob v okrese Strakonice a 1000 osob v okrese Písek. Ve Strakonících se jednalo o 1,43 % všech obyvatel okresu. V Písku se jednalo o 1,40 % všech obyvatel okresu. Vyšetřovali jsme dvě skupiny osob – profesní skupinu (P) a dobrovolnickou skupinu (D). Do profesní skupiny byli zařazeni hasiči, policisté, řidiči v dopravních službách, úředníci, zdravotníci, zaměstnanci obchodů, pracovníci v sociálních službách, pracovníci městských služeb, úředníci a pracovníci ve školství. Výběr se mírně lišil mezi Strakonícemi a Pískem. Zařazení lidé v době koronavirové epidemie chodili do práce, tedy byli exponováni virové nákaze a byl u nich předpoklad, že se s virem mohli setkat, infekci prodělat a tudíž mohou mít protilátky. Skupina dobrovolnická (D) byla vybírána s ohledem na věkovou skladbu obyvatelstva okresů Strakonice a Písek. Výběr probíhal tak, že se dobrovolníci sami hlásili na webovou stránku nemocnic a z přihlášených osob byly následně vybrány osoby tak, aby se naplnil předem daný počet osob – mužů a žen – v jednotlivých věkových skupinách. Doporučené počty osob v daných věkových skupinách jsou uvedené v Tabulce č.

2. Ve Strakonících bylo vyšetřeno 493 osob v profesní skupině (P) a 518 osob mezi dobrovolníky (D). V Písku bylo vyšetřeno 500 osob z profesní skupiny a 500 dobrovolníků.

Podmínky zařazení probandů do studie

Podmínkou zařazení osob do studie bylo:

- věk 5-89 let
- bez akutních zdravotních potíží
- bez potvrzené diagnózy COVID-19 metodou PCR
- trvalý pobyt, případně výkon povolání v daném okrese
- podepsaný informovaný souhlas se studií
- vyplnění dotazníku

Tabulka č. 2 – Počty vyšetřených dobrovolníků v jednotlivých věkových skupinách v okresech Strakonice a Písek

	Strakonice Dobrovolníci	Písek dobrovolníci
5 – 9 let	17	15
10 – 19 let	40	35
20 – 29 let	62	49
30 – 39 let	77	59
40 – 49 let	89	98
50 – 59 let	76	91
60 – 69 let	80	74
70 – 79 let	53	59
80+ let	24	20
Celkem	518	500

Všechny osoby, které byly testovány, vyplnily před odběrem dotazník. Ten zahrnoval otázky mimo jiné na to, zda v posledních čtyřech měsících dotyčný vycestoval do zahraničí a do které země, zda měl nějaké zdravotní potíže, jaké klinické příznaky měl a kdy (ve kterém měsíci) je měl. Data z dotazníků byla zpracována do databází v anonymizované formě.

Diagnostické metody akutní nebo proběhlé infekce koronavirem SARS-CoV-2.

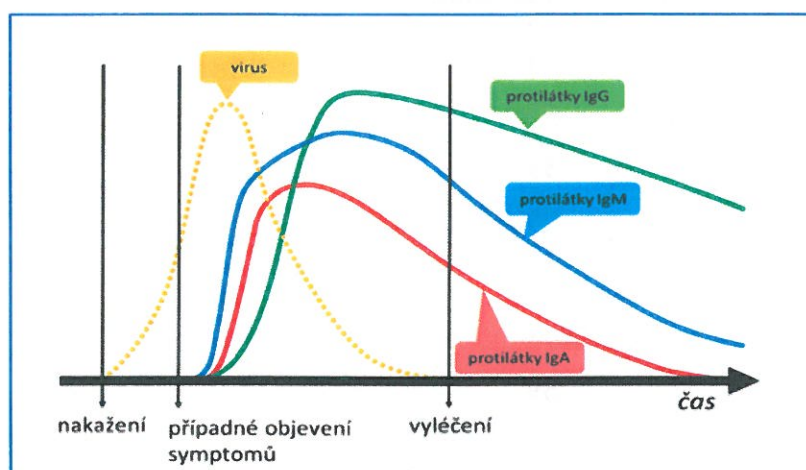
PCR test

Provedením výtěru nosohltanu a následnou **reversní PCR detekcí viru SARS-CoV-2** zjistíme, které osoby jsou PCR pozitivní, tedy u kterých s vysokou pravděpodobností probíhá infekce koronavirem. Mezi zbylými, PCR negativními osobami, však nedokážeme rozlišit ty, které se s infekcí ještě nesetkaly, už zdravé osoby nebo osoby s falešně negativním testem. Uvádí se, že reversní PCR je pozitivní u 59 – 78,2 % pacientů s COVID-19, ale i tento údaj závisí na mnoha okolnostech (2).

Stanovení protilátek

Při **stanovení specifických protilátek metodou ELISA** (enzyme-linked immunosorbent assay) nebo pomocí imunochromatografických testů (tzv. rychlotestů) závisí interpretace výsledku na tom, kdy (z pohledu rozvoje onemocnění) byl odběr krve proveden. Imunitní systém reaguje na virovou infekci tvorbou specifických protilátek. Při virové infekci rozlišujeme tři základní typy protilátek IgM, IgA a IgG. Každý z nich se má trochu jinou roli v potlačení virové infekce. Jejich vývoj (tzv. sérokonverze) trvá 8-21 dní (počítáno od prvních symptomů onemocnění) a není proto možné spolehlivě detekovat protilátky u osob v začátku onemocnění (3,4). U většiny pacientů jsou protilátky detekovatelné po 14 dnech. Při styku s virovou infekcí se nejprve tvoří IgM, které bývají detekovatelné už od 3. až 7. dne (2,3). Hned vzápětí se tvoří IgA protilátky, které se uplatňují hlavně na sliznicích. S určitým zpožděním přibývají IgG protilátky. Zatímco IgM a IgA po proběhlé infekci postupně klesají (viz Obrázek č. 1), IgG protilátky přetrvávají po řadu měsíců. Tvorba protilátek se může jedinec od jedince lišit, ale většina z nás by po proběhlé infekci měla mít detekovatelné protilátky IgM, IgA a IgG, pokud se imunitní systém s virovou nákazou nějaký čas potýkal. Imunitní systém reaguje také aktivací tzv. buněčné imunity. Při ní se aktivují cytotoxické Tc lymfocyty a NK buňky (6,7). Bohužel zatím nemáme k dispozici testy, které by nám umožnily tuto druhou bojovou strategii imunitního systému proti SARS-CoV-2 detekovat.

Obrázek č. 1 – Schéma počtu virových částic a kinetiky tvorby protilátek při virové infekci



Při stanovování protilátek anti-SARS-CoV-2 můžeme použít levnější rychlotesty s menší přesností nebo spolehlivější, ale dražší ELISA testy (5). Zatímco pozitivní nálezy protilátek v ideálním případě znamenají kontakt imunitního systému s virem, negativní nálezy by měly znamenat, že se osoba s virovou infekcí dosud nesetkala nebo že u ní dosud neproběhl vývoj protilátek. Při nízké prevalenci infekce v populaci je však nutné si uvědomit, že i některé z pozitivních výsledků je projevem falešné positivity, i když jsou použité špičkové diagnostické testy.

Stanovení protilátek IgG a IgA metodou ELISA EUROIMMUN

Testovaným osobám byla odebrána žilní krev. V sérech byly stanoveny protilátky proti SARS-CoV-2 izotypu IgG a IgA. Byla použita metoda ELISA, kity firmy EUROIMMUN. Specificita a senzitivita těchto testů jsou uvedeny v Tabulce č. 3, uvedené jsou hodnoty z návodu výrobce (verze 4 ze dne 7. 5. 2020). Výsledkem testu je číselná hodnota (OD ratio), která udává poměr množství protilátek ve vzorku a v kalibrátoru. Pokud je OD ratio < 0,8, pak je test negativní. Hodnoty 0,8-1,1 znamenají hraniční výsledek. Hodnoty nad 1,1 jsou pozitivní.

Tabulka č. 3 – Senzitivita (podle doby od nakažení) a specifická ELISA testů EUROIMMUN

	Senzitivita (10-20. den)	Senzitivita >20 dní	Specifická
Vyšetření IgA	91,7 %	100 %	92,4 %
Vyšetření IgG	75,0 %	93,8 %	99,6 %

Test IgG protilátek se vyznačuje velmi vysokou specifitou (99,6 %), proto je doporučován pro screeningová vyšetření populací. Pozitivní výsledek IgG protilátek je považován za důkaz prodělané infekce SARS-CoV-2. Hraniční výsledek IgG je třeba posuzovat opatrně v kontextu dalších informací. Naopak test IgA má nižší specifitu (92,4 %) a pro screeningová vyšetření populací se nehodí z důvodu vysokého rizika falešně pozitivních výsledků. Výhodou stanovení IgA je vysoká senzitivita, tedy možnost zachycení všech potenciálně nemocných osob. Pozitivní výsledky IgA protilátek je však třeba hodnotit společně s výsledky IgG. Osoby, které mají pouze pozitivní IgA a nemají IgG protilátky považujeme v naší studii v této chvíli za negativní, ale budeme je dále sledovat. U těchto osob jsme doplnili PCR vyšetření a tím ověřili, zda nejsou infekční. O tom, zda tyto osoby infekci koronavirem SARS-CoV-2 prodělaly, rozhodne až opakované vyšetření protilátek v časovém odstupu, protože jednotlivé typy protilátek v průběhu virové infekce postupně narůstají, některé z nich přetrvávají a jiné postupně klesají. Tvorba IgA předchází tvorbě IgG, takže můžeme předpokládat, že pokud IgA souviselo s infekcí koronavirem, budou o několik dnů / týdnů později stoupat i hladiny specifických IgG protilátek (viz Obrázek č.1).

ČÁST 3 – Výskyt protilátek v okresech Písek a Strakonice

Výskyt protilátek v okrese Písek

V Písku bylo celkem vyšetřeno 1 000 osob. V Tabulce č. 4 je uveden přehled počtu osob podle naměřených hodnot IgA a IgG.

Tabulka č. 4 – Počty osob s pozitivním, hraničním a negativním výsledkem IgG a IgA protilátek v okrese Písek

	IgA neg	IgA hran	IgA poz
IgG neg	897	37	43
IgG hran	7	0	4
IgG pos	7	0	5

- **NEGATIVNÍ OSOBY (bez protilátek):** 897 osob (89,7 %) nemělo ani IgA ani IgG protilátky, tedy se s infekcí pravděpodobně nesetkaly.
- **PROKAZATELNĚ POZITIVNÍ OSOBY (s IgG protilátkami):** 12 osob (1,2 %) s pozitivními IgG protilátkami (modře) - z nich mělo 5 osob pozitivní IgA protilátky a 7 lidí mělo negativní IgA. U všech těchto osob byl proveden test PCR, vždy s negativním výsledkem. Tedy neměli akutní infekci.
- **HRANIČNÍ VÝSLEDEK IgG:** 11 osob (1,1 %) s hraniční hladinou IgG - z nich 4 osoby měly IgA pozitivní, tedy u nich je vyšší riziko, že prodělaly infekci, 7 osob nemělo IgA protilátky. Jejich výsledek považujeme za neprůkazný, zatím předpokládáme, že infekci neprodělali. U těchto osob bude s časovým odstupem proveden kontrolní odběr s cílem zjistit, zda došlo ke změnám hladin protilátek (sérokonzervi).

- **POUZE POZITIVNÍ IgA:** 43 osob (4,3 %) s pozitivním IgA a negativním IgG a 37 osob (3,7 %) s hraničním IgA a negativním IgG. Tyto osoby pravděpodobně mají falešně pozitivní výsledek vyšetření a jejich IgA protilátky jsou jen svou strukturou velmi podobné protilátkám proti koronaviru. Ale několik osob bude mít specifické IgA protilátky. U obou skupin bude proto proveden kontrolní odběr v časovém odstupu k ověření sérokonverze.

Výskyt protilátek v okrese Strakonice

Ve Strakonících bylo celkem vyšetřeno 1011 osob. V Tabulce č. 5 je uveden přehled počtu osob podle naměřených hodnot IgA a IgG.

Tabulka č. 5 – Počty osob s pozitivním, hraničním a negativním výsledkem IgG a IgA protilátek v okrese Strakonice

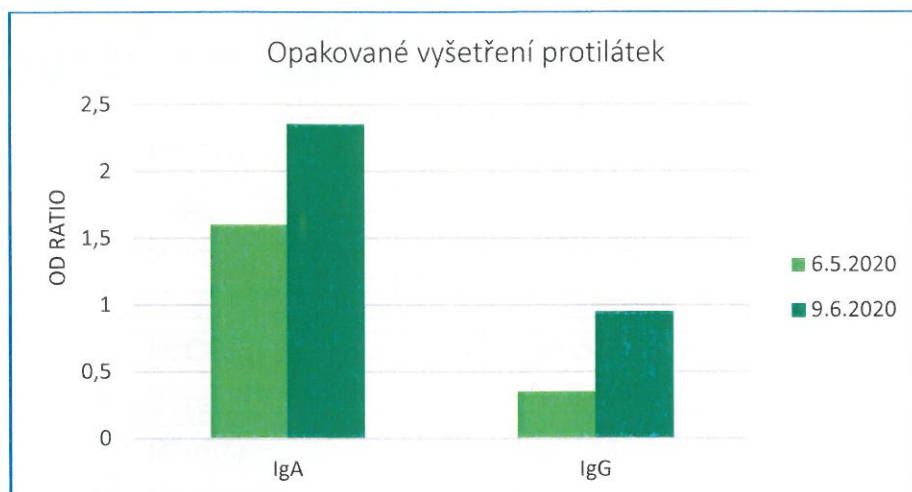
	IgA neg	IgA hran	IgA poz
IgG neg	855	77	46
IgG hran	7	1	1
IgG pos	10	3	11

- **NEGATIVNÍ OSOBY** (bez protilátek): 855 osob (84,6 %) nemělo ani IgA ani IgG protilátky, tedy se s infekcí pravděpodobně nesetkaly.
- **PROKAZATELNĚ POZITIVNÍ OSOBY (s IgG protilátkami):** 24 osob (2,37 %) s pozitivními IgG protilátkami, z nich mělo 11 osob pozitivní IgA protilátky, 3 osoby měly hraničně pozitivní IgA a 10 lidí mělo negativní IgA. U všech těchto osob byl proveden test PCR, vždy s negativním výsledkem.
- **HRANIČNÍ VÝSLEDEK IgG:** 9 osob (0,89 %) s hraniční hladinou IgG - z nich 1 osoba měla IgA pozitivní, tedy je možné uvažovat o prodělané infekci. U 7 osob s negativním IgA a 1 osoby s hraničním IgA se kloníme spíše k tomu, že infekci koronavirem SARS-Cov-2 neprodělaly.
- **POUZE POZITIVNÍ IgA:** 46 osob (4,55 %) s pozitivním IgA a negativním IgG a 77 osob (7,61 %) s hraničním IgA a negativním IgG. U osob s pozitivním IgA bylo provedeno PCR vyšetření. U žádné osoby nebyla detekován SARS-CoV-2. U obou skupin bude proto proveden kontrolní odběr v časovém odstupu k ověření sérokonverze.

Opakované odběry

Opakované odběry plánujeme provést 1-2 měsíce po prvním vyšetření. U jedné osoby jsme již opakovaný odběr provedli. V prvním odběru bylo zjištěno pozitivní IgA, ale IgG bylo negativní. Ve druhém odběru (po měsíci) jsme zjistili nárůst IgA a IgG, které je již hraniční (Graf č. 4). Tento konkrétní příklad potvrzuje, že osoby s pozitivními IgA a s negativními nebo hraničními IgG je třeba přetestovat. Není možné je v této chvíli považovat za pozitivní, ale nelze je označit ani za osoby, které COVID-19 neprodělaly. Většinu z nich bude možné zařadit do správné či falešně pozitivních skupin až po druhém odběru.

Graf č. 4 – Opakované vyšetření protilátek u osoby s pozitivním IgA a negativním IgG



Závěry výsledků vyšetření protilátek v okresech Strakonice a Písek

Celkový přehled výsledků vyšetření protilátek je uveden v Tabulce č. 6.

- 1. Na Strakonicku bylo zjištěno víc osob s protilátkami IgG proti SARS-CoV-2 než v Písku (2,37 % vs. 1,2 %).**
Jedná se s vysokou pravděpodobností o osoby, které prodělaly infekci SARS-CoV-2. Žádná z nich již neměla v době studie virus přítomný.
2. Hraniční výsledek IgG protilátek a pozitivní výsledek IgA byl zjištěn u jedné osoby na Strakonicku (0,1 %) a čtyř osob na Písecku (0,4 %). U těchto osob nyní nelze jednoznačně určit, zda prodělaly nebo neprodělaly infekci SARS-CoV-2. Proto u nich bude proveden opakovaný odběr a stanovení protilátek.
3. Pozitivní IgA protilátky a negativní IgG protilátky byly zjištěny u 46 osob na Strakonicku (4,6 %) a 43 osob na Písecku (4,3 %). U těchto osob nyní nelze jednoznačně určit, zda prodělaly nebo neprodělaly infekci SARS-CoV-2. Proto u nich bude proveden opakovaný odběr a stanovení protilátek.
4. Ostatní hraniční výsledky považujeme za spíše nespecifické. Zcela bez protilátek bylo 855 osob na Strakonicku (84,57 %) a 897 osob na Písecku (89,7 %).
5. Je pravděpodobné, že pozitivních osob tedy ještě přibude. O jaký počet se bude celkově jednat, není nyní možné odhadnout. Finální výsledky budeme znát po druhých odběrech cca v půlce července.

Tabulka č. 6 – Přehled vyšetření protilátek ve Strakonících a v Písku

	Strakonice	Písek
POZITIVNÍ IgG	24 (2,37 %)	12 (1,20 %)
HRANIČNÍ IgG + POZ. IgA	1 (0,10 %)	4 (0,40 %)
NEGATIVNÍ IgG + POZ. IgA	46 (4,55 %)	43 (4,30 %)
HRANIČNÍ IgG + NEG / HR. IgA	8 (0,79 %)	7 (0,70 %)
NEGATIVNÍ IgG + HRAN. IgA	77 (7,61 %)	37 (3,70 %)
ZCELA NEGATIVNÍ	855 (84,57 %)	897 (89,70 %)
CELKEM	1 011	1 000

ČÁST 4 – Zhodnocení výskytu protilátek v závislosti na informacích o klinickém stavu, profesním zařazení, cestování, či věku

Výskyt protilátek byl hodnocen u sledovaných skupin osob i s ohledem na věk a pracovní zařazení. V rámci dotazníků jsme zjišťovali, zda vyšetřované osoby měly klinické příznaky respiračního onemocnění a také zda vycestovaly do zahraničí. Mohli jsme proto porovnat výskyt protilátek u osob, které cestovaly a naopak nevycestovaly; a u osob, které byly nemocné a u osob bez příznaků onemocnění.

Porovnání výskytu protilátek proti koronaviru u osob s klinickými příznaky respiračního onemocnění a bez příznaků

Pomocí dotazníků jsme zjišťovali, zda měly osoby nějaké z příznaků respiračního onemocnění v době od ledna do začátku května. Mezi klinické příznaky byly zařazeny teplota nad 37,5°C, rýma, kašel, dušnost, ztráta čichu / chuti, velká únava. Výsledky porovnání jsou uvedeny v Tabulce č. 7.

- Klinické příznaky nemělo ve Strakonících 553 (54,7 %) osob, v Písku 598 osob (59,8 %)
- Aspoň jeden příznak mělo ve Strakonících 458 osob (45,3 %), v Písku 402 osob (40,2 %).
- Více jak tři příznaky mělo ve Strakonících 165 osob (16,3 %), v Písku 121 osob (12,1 %).

Tabulka č. 7 – Výskyt klinických příznaků o vyšetřovaných osob ve Strakoniciích a v Písku

	Strakonice	Písek
Žádné klinické příznaky	553 (54,7 %)	598 (59,8 %)
Aspoň jeden příznak	458 (45,3 %)	402 (40,2 %)
Tři a více příznaků	165 (16,3 %)	121 (12,1 %)
Celkem osob	1 011	1 000

K testování častěji chodí lidé, kteří již nějaké respirační onemocnění prodělali a očekávali, že se potvrdí, že měli koronavirovou infekci. Pro posouzení korelace výskytu protilátek a výskytu příznaků jsme společně hodnotili výsledky ze Strakonice a Písku (Tabulka č. 8).

Tabulka č. 8 – Výskyt protilátek u osob s příznaky respiračního onemocnění a bez příznaků

	S příznaky		Bez příznaků	
	Strakonice a Písek	Celkem (%)	Strakonice a Písek	Celkem (%)
IgG poz	14	1,62 %	22	1,92 %
IgG hraniční	8	0,93 %	12	1,04 %
Pouze IgA protilátky	36	4,17 %	50	4,36 %
Bez protilátek	805	93,28 %	1 064	92,68 %
Celkem	863		1 148	

Očekávání, že ti kteří měli příznaky respiračních onemocnění, budou mít častěji protilátky proti koronaviru, se nepotvrdilo:

- Pozitivní IgG protilátky mělo 14 lidí s příznaky a 22 lidí bez příznaků.
- Hraniční IgG mělo 8 lidí s příznaky, 12 lidí bez příznaků.
- Pouze pozitivní IgA protilátky mělo 36 lidí s příznaky a 50 bez příznaků.
- Bez prokázaných protilátek bylo 805 osob s příznaky a 1064 osob bez příznaků.

Výskyt protilátek proti SARS-CoV-2 byl mírně vyšší u osob bez příznaků než s příznaky. Domníváme se, že tento výsledek je ovlivněn:

- častým bezpříznakovým průběhem onemocnění COVID-19.
- tím, že příznaky jsou nespecifické a vyskytují se i u jiných forem respiračních onemocnění.
- tím, že každý z nás posuzuje vlastní zdravotní stav velmi subjektivně.

Závěry:

Klinické příznaky je vhodné v případě těchto studií sledovat, ale výsledek zkoumání je výrazně ovlivněn jejich subjektivním vnímáním respondenty. Co je pro jednoho „normální stav“, pro druhého je už „příznak onemocnění“. Nelze vyloučit, že koronavirová infekce velmi často proběhne bezpříznakově.

Porovnání výskytu protilátek proti koronaviru u různých profesních skupin

Jedním z úkolů této studie bylo zjistit, zda jsou některé profesní skupiny více ohrožené výskytem infekce koronavirem než jiné. Je pravdou, že tento pohled je mírně zkreslený tím, že spíše náhodou se může stát, že jedna osoba zanesou infekci do svého pracovního týmu, a tím pádem i daná skupina osob bude více nakažená než jiná skupina či profese. Tedy pokud jedna skupina hasičů bude ohrožena infekcí, protože se v ní vyskytla osoba s COVID-19, není možné tento závěr zobecnit na tvrzení „všichni hasiči jsou ohroženi koronavirem“.

Počet osob s protilátkami v různých profesních skupinách ve Strakoniciích resp Písku jsou vyneseny v Tabulce č. 9 a resp 10. Nejistili jsme výrazné rozdíly ve výskytu protilátek mezi jednotlivými skupinami.

Tabulka č. 9 – Výskyt protilátek IgG a IgA u různých profesních skupin ve Strakoniciích

Strakonice	Celkem	IgG poz	IgG hran	IgG neg	IgA poz
Zdravotníci	40	0	0	40	1
Řidiči	72	3	1	68	3
Policisti	96	4	2	90	9
Pokladní	97	2	1	94	0
Hasiči	86	2	3	81	9
Úředníci	67	0	0	67	3
Ostatní	35	1	0	34	0
Celkem	493	12	7	474	25

Tabulka č. 10 – Výskyt protilátek IgG a IgA u různých profesních skupin v Písku

Písek	Celkem	IgG poz	IgG hran	IgG neg	IgA poz
Zdravotníci	163	1	2	160	7
Řidiči	61	0	1	60	3
Policisti	94	1	1	92	4
Pokladní	67	0	0	67	3
Hasiči	69	2	0	67	3
Městské služby	23	0	0	23	0
Ostatní	23	0	0	23	1
Celkem	500	4	4	492	21

Závěry:

V žádné ze sledovaných profesních skupin nebyl zjištěn vyšší výskyt protilátek proti koronavirům v porovnání s ostatními skupinami. V okrese Strakonice byl poměr výskytu protilátek mezi profesní a dobrovolnickou skupinou 12:12, v Písku byl 4:8, tedy vyšší ve prospěch dobrovolnické skupiny.

Porovnání výskytu protilátek proti koronaviru u lidí, kteří byli v zahraničí a kteří nevycestovali

V rámci dotazníků jsme zjišťovali:

- zda byly osoby v zahraničí v době od ledna do května 2020.
- kam vycestovaly
- zda jezdí za prací do zahraničí.

V Tabulce č. 11 je uvedena přítomnost protilátek u osob, které vycestovaly do zahraničí a u osob, které nevycestovaly. V Tabulce č. 12 je uveden počet pozitivních osob z těch, které do zahraničí vycestovaly a země, které navštívily. V souboru bylo celkem 12 pendlerů, nikdo z nich neměl IgG protilátky, pouze jeden měl pozitivní IgA protilátky.

Okres Strakonice:

- 853 osob ze Strakonice (84,4 %) do zahraničí ve sledovaném období nevycestovalo, 158 osob (15,6 %) bylo v zahraničí.
- Z osob, které nevycestovaly, 20 osob mělo IgG protilátky a 9 osob mělo hraniční IgG.
- Z osob, které vycestovaly, 5 osob mělo IgG protilátky

Okres Písek:

- 836 osob z Písku (83,6 %) do zahraničí ve sledovaném období nevycestovalo, 164 osob (16,4 %) bylo v zahraničí.
- Z osob, které nevycestovaly, 11 osob mělo IgG protilátky a 10 osob mělo hraniční IgG.
- Z osob, které vycestovaly, pouze jedna osoba měla pozitivní IgG, a 1 osoba měla hraniční IgG

Tabulka č. 11 – Výskyt protilátek u osob, které byly v zahraničí a které nebyly v zahraničí

	Strakonice		Písek	
	Nevycestovalo	Bylo v zahraničí	Nevycestovalo	Bylo v zahraničí
	853	158	836	164
Pozitivní IgG	20	5	11	1
Hraniční IgG	9	0	10	1
Negativní	824	153	815	162

Tabulka č. 12 – Výskyt protilátek u osob, které vycestovaly a přehled navštívených zemí

	Počet osob, které vycestovaly	Pozitivní IgG	Hraniční IgG
Německo	119	4	1
Slovensko	5	1	0
Rakousko	124	1	0
Itálie	42	0	0
Jiné	90	0	0

Závěry:

V zahraničí bylo 322 osob z obou okresů a z nich pouze 6 osob mělo protilátky IgG (1,86 %). Tito lidé byli v Německu, na Slovensku nebo v Rakousku. Naše studie neprokázala, že by pozitivních osob bylo více mezi lidmi, kteří byli v zahraničí.

Porovnání výskytu protilátek proti koronaviru v různých věkových skupinách dobrovolníků

V rámci studie nás zajímalo, zda některá z věkových skupin nemá vyšší výskyt protilátek proti koronaviru. Počet lidí v jednotlivých věkových skupinách u dobrovolníků ve Strakonících a v Písku byl stanoven na základě věkového rozložení obyvatel v daných okresech (Tabulka č. 13).

Závěry: V dobrovolnické skupině jsme nezjistili významně vyšší výskyt pozitivních osob v některé z věkových skupin ani v Písku ani ve Strakonících.

Tabulka č. 13 – Počet vyšetřených dobrovolníků a výskyt protilátek v různých věkových skupinách ve Strakonících a v Písku

	Strakonice celkem	Strakonice pozitivní	Písek celkem	Písek pozitivní
5 – 9 let	17	1	15	0
10 – 19 let	40	1	35	0
20 – 29 let	62	2	49	0
30 – 39 let	77	2	59	3
40 – 49 let	89	1	98	1
50 – 59 let	76	0	91	1
60 – 69 let	80	1	74	2
70 – 79 let	53	3	59	1
80+ let	24	1	20	0
Celkem	518	12	500	8

ČÁST 5 - Porovnání jihočeské a celorepublikové studie PREVAL

„Srovnávací průřezová studie séroprevalence protilátek proti SARS-CoV-2 v okresech Písek a Strakonice“ byla plánována v půlce dubna 2020, tedy dříve než byla ukončena celorepubliková studie PREVAL. Chtěli jsme zmapovat situaci ve dvou okresech Jihočeského kraje a přidat další, pokud možno co nejpřesnější, data do diskuze o problematice koronavirové epidemie. Ačkoli nebylo naším cílem jakkoli celorepublikovou studii zpochybnit nebo s ní “soutěžit”, od začátku jsme s jejími závěry porovnávání. Z tohoto důvodu je nezbytné uvést, proč je srovnání obou studií nesnadné a proč je složité zobecňovat data z obou studií na celou populaci.

Z výše uvedených výsledků je zřejmé, že námi vykazovaný procentuální počet osob s protilátkami proti koronaviru je vyšší než ten, který je uvedený v celorepublikové studii Preval.

Předně je důležité zmínit, že všechny studie, jako je ta naše i ta celorepubliková, se musí vypořádat se třemi problémy, pokud mají být jejich závěry aplikovatelné na obecnou populaci:

- 1) **Získání náhodného vzorku populace** - náhodný výběr znamená, že lidé jsou náhodně vybráni a osloveni např. na základě volebních seznamů. V tomto smyslu byly obě studie naše zatížené tím, že zkoumaly dobrovolníky - tedy lidi, kteří byli motivováni přijít třeba proto, že prodělali vážnější respirační onemocnění. I když se ani v naší ani v celorepublikové studii neprokázala korelace mezi klinickým příznakem a pozitivitou protilátek, přesto neumíme určit, jaké je "dobrovolnické zkreslení" oproti náhodnému výběru.
- 2) **Korelovanost zdravotního stavu u profesních skupin** - pokud testujeme týmy lidí (např. hasiče z jedné jednotky), mají tyto osoby obdobné riziko expozice infekci (jeden je nemocný, postupně onemocní další kolegové na pracovišti). I když ani toto se ve studii neprokázalo, je nutné s tím počítat.
- 3) **Výsledky každé studie závisí na kvalitě testů**, resp. jejich senzitivitě a specificitě, které k testování použijeme. Tyto parametry určují i počet falešně negativních a falešně pozitivních výsledků.

Obrázek č. 2 - Studie PREVAL – Epidemiologický gradient v geografických jednotkách prevalenční studie

„Epidemiologický gradient“ v geografických jednotkách prevalenční studie k 16.4.2020					
Analýza provedena pro populaci 18-89 let					
Jihomoravský kraj	Brno	Praha	Olomouc	Litoměřice	Litovel, Uničov, Červenka
Referenční populace: Jihomoravský kraj	Referenční populace: Brno město, Brno venkov	Referenční populace: Praha hl. m., Praha východ, Praha západ	Referenční populace: okres Olomouc bez Litovel, Uničov, Červenka	Referenční populace: okres Litoměřice	Referenční populace: obce Litovel, Uničov, Červenka
Počet obyvatel: 960 352	Počet obyvatel: 484 967	Počet obyvatel: 1 311 948	Počet obyvatel: 170 377	Počet obyvatel: 96 331	Počet obyvatel: 18 580
Počet pozitivních COVID-19: 362	Počet pozitivních COVID-19: 176	Počet pozitivních COVID-19: 1 638	Počet pozitivních COVID-19: 279	Počet pozitivních COVID-19: 180	Počet pozitivních COVID-19: 146
Počet pozitivních COVID-19 na 100tis obyv.: 38	Počet pozitivních COVID-19 na 100tis obyv.: 36	Počet pozitivních COVID-19 na 100tis obyv.: 125	Počet pozitivních COVID-19 na 100tis obyv.: 164	Počet pozitivních COVID-19 na 100tis obyv.: 187	Počet pozitivních COVID-19 na 100tis obyv.: 786

Situace v testovaných oblastech

- Jihočeská studie probíhala v okresech, které měly minimální výskyt PCR pozitivních nálezů. V Písku bylo 12 záchytů na 100 tisíc obyvatel, ve Strakonících bylo 46,6 záchytů na 100 tisíc obyvatel. Data jsou vztažena k 16.4.
- Celorepubliková studie PREVAL probíhala převážně v okresech s vyšším výskytem PCR pozitivních nálezů – v Brně a Jihomoravském kraji bylo 36 resp. 38 záchytů na 100 tisíc obyvatel (Obrázek č. 2). Data jsou vztažena k 16.4

Porovnání výsledků jihočeské studie s celorepublikovou studií PREVAL

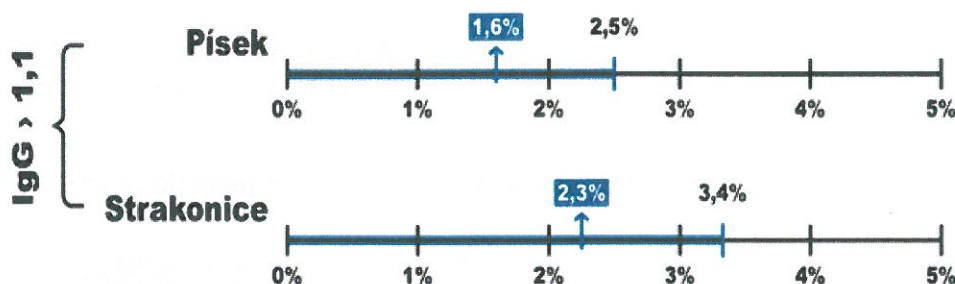
Teorie statistiky umožňuje vypočítat interval, ve kterém by se výsledek pro celou populaci okresu s velkou pravděpodobností nacházel (obvykle se uvažuje 95 %), ale vzhledem k tomu, že ani jedna studie nemá náhodný výběr, je opravdu těžké odhadovat "míru dobrovolnického zkreslení".

Je však možné neurčovat interval, ale jen horní hranici, kterou celopopulační proporce (resp. proporce okresu) s velkou jistotou (opět 95 %) nepřekročí.

Pokud tento výpočet uděláme pro okres Písek, pak můžeme říci, že kdybychom přeměřili všechny lidi v okrese Písek, mělo by pozitivní IgG protilátky asi 1,6 % z nich a dost jistě by to nebylo více než 2,5 % (Obrázek č. 3). Ve Strakonících by mělo IgG protilátky 2,3 % z nich a dost jistě by to nebylo více než 3,4 % (Obrázek č. 3).

Tyto odhady vycházely jen ze vzorku dobrovolníků, čímž předcházíme problému korelovanosti zdravotního stavu u profesních skupin. Ten totiž znemožňuje správné stanovení podobných intervalů.

Obrázek č. 3 – Odhady výskytu positivity protilátek v Písku a Strakonících včetně horní hranice výskytu



Na obrázku č.2 "Epidemiologický gradient" je vidět, že promořenost populace v okrese Písek je minimální (12 PCR pozitivních osob na 100 tisíc obyvatel) oproti okresům, ve kterých probíhala celorepubliková studie. Nabízí se tedy spíše srovnání výsledků z okresu Strakonice (46,6 PCR pozitivních osob na 100 tisíc obyvatel) s Brnem (36 PCR pozitivních osob na 100 tisíc obyvatel) nebo Jihomoravským krajem (38 PCR pozitivních osob na 100 tisíc obyvatel). Interval promořenosti uváděný ve studii Preval byl 0 – 0,29 % (Obrázek č. 4).

Závěry:

Jihočeská data ukazují, že skutečný výskyt protilátek v populaci je sice nízký, ale pohybuje se v řádu procent. Jihočeské výsledky jsou řádově vyšší než výsledky celorepublikové studie Preval.

Obrázek č. 4 – Předběžné odhady výskytu positivity protilátek ve studii Preval

Předběžné odhady výskytu positivity protilátek

Kohorta / populace	Rozmezí hodnot prevalence SARS-CoV-2 pozitivních se zohledněním parametrů testů	Kohorta / populace	Rozmezí hodnot prevalence SARS-CoV-2 pozitivních se zohledněním SENZ a SPEC
ČSÚ – populační výběry		Brno / Jihomoravský kraj	0 – 0,219 %
Hlavní město Praha	0 – 1,478 %	Hlavní město Praha	0 – 0,400 %
Brno / Jihomoravský kraj	0 – 1,873 %	Město Litoměřice	0 – 0,598 %
Olomouc / Olomoucký kraj	0 – 4,056 %	Olomouc / Olomoucký kraj	0 – 1,293 %
AV ČR / IKEM		Města Lítovel a Uničov	0 – 3,335 %
ČR – populační výběr	0 – 1,291 %		
IKEM			
Chroničtí pacienti	0 – 0,632 %		

Ve všech kohortách bylo celkově zachyceno 107 osob s pozitivním testem na protilátky. Stupeň imunizace české populace je velmi nízký a ani v nejméně zatížených lokalitách nedosahuje hodnoty cca 4% - 5%.

Porovnání použitých metodik v jihočeské a celorepublikové studii Preval

Každá ze studií byla provedena jiným typem testu. V naší studii bylo proveden odběr venózní krve a protilátky IgA a IgG byly stanoveny metodou ELISA, firmy EUROIMMUN. V celorepublikové studii byl použit odběr kapilární krve (kromě Olomouce, kde byla odebírána krev venózní). Ke stanovení protilátek byl použit rychlotest WANTAI. Stanovoval se celkový imunoglobulin. Podle designu republikové studie PREVAL je ještě plánováno v Olomouci provést stanovení protilátek ze žilní krve také pomocí ELISA metody, což podle autorů studie umožní *“laboratorní validaci výsledků rapid-testů a přesnější odhad jeho senzitivity a specificity důležitý pro odhad skutečné prevalence”*. Bohužel ale dosud nejsou výsledky tohoto testování k dispozici. Nebylo sděleno ani, jakým kitem budou protilátky stanoveny.

My jsme také provedli verifikaci (porovnání) metod, ale v opačném pořadí. Pozitivní vzorky z testu ELISA jsme otestovali pomocí rychlotestů několika výrobců. Výsledky této verifikace byly velmi špatné.

Verifikace rychlotestů provedená v Písku (Tabulka č. 14):

- 20 vzorků (13 s pozitivním IgG a 7 s hraničním IgG) bylo otestováno pomocí rychlotestu Innovita. Ani jeden test neměl validní kontrolní zónu, tedy test nebyl hodnotitelný. Šlo o nekvalitní soupravu.
- Pět vzorků s pozitivním IgG bylo otestováno třemi rychlotesty jiných výrobců – All Test, Nadal Rapid a Deep Blue Pouze v jednom testu bylo zjištěno pozitivní IgG (1/5 vzorků na All Test). Všechny ostatní vzorky vyšly negativní na testech Nadal a Deep Blue.

Tabulka č. 14 - Písek – Porovnání ELISA a rychlotestů - použity vzorky s pozitivním IgG v ELISA testu

	EUROIMMUN	NADAL	ALL TEST	DEEP BLUE	INNOVITA
383	1,3	neg	neg	neg	nelze hodnotit
838	1,4	neg	poz	neg	nelze hodnotit
318	1,4	neg	neg	neg	nelze hodnotit
494	1,6	neg	neg	neg	nelze hodnotit
229	1,8	neg	neg	neg	nelze hodnotit

Verifikace rychlotestů provedená ve Strakonících (Tabulka č. 15):

- Bylo otestováno 24 sér s pozitivním IgG z ELISA testu
- U 2/24 vzorků vyšly pozitivní IgG v testu Nadal
- U 1/24 vzorků vyšlo pozitivní IgG v testech Acro Rapid a Safecare

Tabulka č. 15 - Strakonice - Porovnání ELISA a rychlotestů - použity vzorky s pozitivním IgG v ELISA testu

	EUROIMMUN	NADAL	ACRO RAPID	SAFECARE
S0116367	1,3	neg	neg	neg
S0116443	2,9	neg	neg	neg
S0116505	1,1	neg	neg	neg
S0116528	4,5	neg	neg	neg
S0116564	1,5	neg	neg	neg
S0116639	1,2	neg	neg	neg
S0116672	1,7	neg	neg	neg
S0116759	1,1	neg	neg	neg

S0116832	2,4	neg	neg	neg
S0116843	1,9	neg	neg	neg
S0116994	1,1	neg	neg	neg
S0116995	2,3	neg	neg	neg
S0117001	1,8	neg	neg	neg
S0117008	2,0	neg	neg	neg
S0117073	4,4	poz	neg	neg
S0117098	2,3	neg	neg	neg
S0117193	1,2	neg	neg	neg
S0117253	10,9	poz	poz	poz
S0117255	2,6	neg	neg	neg
S0117349	2,1	neg	neg	neg
S0117354	1,6	neg	neg	neg
S0117423	1,4	neg	neg	neg
S0117482	1,7	neg	neg	neg
S0117514	2,2	neg	neg	neg

Pozitivita IgG protilátek byla prokázána pouze tehdy, pokud byla použita séra pacientů s COVID-19 (PCR pozitivních osob) viz Tabulka č. 16. Toto jsme provedli před zahájením studie u pacientů s prokázaným onemocněním COVID 19, kteří měli vždy vážnější průběh s příznaky. U těchto osob již výsledky rapid testů vyšly většinou pozitivní, ale je to dáno vysokou koncentrací protilátek (viz vyšší OD ratio v testu ELISA). Viz tabulka č. 16

Tabulka č. 16 - Strakonice - Porovnání ELISA a rychlotestů - použity vzorky s COVID-19 pacientů

	Euroimmun	Nadal Rapid	Acro rapid	Safecare
S0116269	1,6	neg	neg	neg
S0116180	2,9	poz	poz	poz
S0116179	3,9	slabě poz	slabě poz	poz
S0116178	4,2	poz	slabě poz	poz
S0116191	8,9	poz	poz	poz
S0117751	10,9	poz	poz	poz

Za zmínku stojí i verifikace z partnerských laboratoří, ve kterých byly porovnány pozitivní vzorky z ELISA EUROIMMUN s rychlotesty Innovita – pouze tři ze sedmi vzorků byly pozitivní. Porovnání bylo provedeno s laboratorními metodami systémem Abbott a Elecsys COBAS Roche, které stanovují množství protilátek. Shodný výsledek s ELISA metodou byl dosažen u 6 ze 7 vzorků v případě Abbotu a 5 ze 6 vzorků v systému Roche (Tabulka č. 17).

Závěry:

Z našich verifikačních studií vyplývá, že na trhu je k dispozici celá řada rychlotestů, které nejsou vhodné pro testování osob, neboť jejich citlivost je velmi nízká. Naopak laboratorní metody jako je třeba ELISA EUROIMMUN umožňují stanovovat protilátky v sérech osob. Rozdíl mezi našimi studii a

studí celorepublikovou je způsoben zřejmě použitým testem, ale to bude možné zjistit až po zveřejnění výsledků verifikací prováděných v laboratoři v Olomouci.

Tabulka č. 17 – Porovnání ELISA Euroimmun s rychlotestem INNOVITA a systémy Abbott a Elecsys COBAS ROCHE

	IgG EUROIMMUN (>1,1)	IgG INNOVITA (rychlotest)	IgG Alinity Abbott (IP≥1,4)	Total Ig Elecsys COBAS ROCHE (COI>1,0)
4981	1,61	poz	3,58	74,80
3182	2,02	neg	1,22	0,08
4980	2,12	neg	2,05	11,70
4839	2,56	neg	1,59	16,95
5054	3,22	neg	2,46	11,41
4924	4,89	poz	4,40	38,14
3981	5,24	poz	7,50	Nepro.

Závěry „Srovnávací průřezové studie séroprevalence protilátek proti SARS-CoV-2 v okresech Písek a Strakonice“

- **Protilátky proti SARS-CoV-2 byly vyšetřeny u 2011 osob z okresů Písek a Strakonice**
- **Skutečný výskyt protilátek v populaci se pohybuje v řádu procent (1,6 % v Písku a 2,3 % ve Strakonících) a je řádově vyšší než bylo zjištěno v celorepublikové studii Preval.**
- **Doporučujeme dokončit druhou část republikové studie tedy stanovit protilátky v sérech olomouckých dobrovolníků metodou ELISA, která by měla validovat výsledky rychlotestů**
- **Doporučujeme provést novou celorepublikovou studii stanovení protilátek metodou ELISA s nižším počtem probandů, ale s čistě náhodným výběrem.**

Seznam citací

1. <https://www.czso.cz/csu/czso/pocet-obyvatel-v-obcich-k-112019>
2. Xu G, Yang Y, Du Y et al. Clinical pathway for early diagnosis of COVID-19: Updates from experience to evidence-based practice. Clin Rev Allergy Immunol, 2020 Apr 24; 1–12, doi: 10.1007/s12016-020-08792-8.
3. Bloch EM, Shoham S, Casadevall A et al. Deployment of convalescent plasma for the prevention and treatment of COVID-19. J Clin Invest 2020 Apr 7; 138745, doi: 10.1172/JCI138745.
4. Theel ES, Slev P, Wheeler S et al. The role of antibody testing for SARS-CoV-2: Is there one? J Clin Microbiol 2020 Apr 29; JCM.00797-20, doi: 10.1128/JCM.00797-20.
5. Krátká Z., Luxová Š, Malíčková K et al Testování COVID-19 – co bychom měli mít na paměti, Časopis lékařů českých 2020 2; 72-77.
6. Grifoni A, Weiskopf D, Ramirez SI et al Targets of T cell responses to SARS-CoV-2 coronavirus in humans with COVID-19 disease and unexposed individuals, Cell 2020 June 25; 1-13.
7. Střížová Z, Milota T, Bartůňková J Aktuální problematika COVID-18 z pohledu imunologa Časopis lékařů českých 2020 2; 67-71.