

Stanovisko laboratorní skupiny MZČR k poolování vzorků pro vyšetření přítomnosti SARS-CoV-2.

Samotná efektivita poolování závisí na incidenci onemocnění v populaci, individuální kvantitě viru ve vzorku jednotlivého pacienta a velikosti poolovaného celku tzn. počtu jednotlivých odběrů v poolu. Z dostupných informací je zřejmé, že poolováním klesá citlivost metody RT-PCR, přičemž **zachování citlivosti metody RT-PCR je zásadní**. Při poolování vzorků pro vyšetření přítomnosti SARS-CoV-2 bylo ověřeno u cca 6 max 10 vzorků. V případě poolování většího množství vzorků **není možné garantovat** předpokládanou **citlivost RT-PCR** a celý proces testování tak nemusí plnit zamýšlený účel, tj. zajištění epidemiologicky bezpečného prostředí škol a dalších zařízení. Pro účelné použití poolování, musí být procento pozitivit (incidence) nízké. V případě vysoké incidence, tedy vysokého podílu RT-PCR pozitivních testů, poolování nepřináší žádnou úsporu a to zejména díky následné nutnosti přetestovat většina poolů.

Je nutné si uvědomit, že poolování může mít negativní vliv na citlivost RT-PCR (nebudou detekovány vzorky s nízkou virovou náloží a není možné odhalit případnou inhibici PCR reakce). **Poolování má sloužit k zefektivnění testování v populaci v případě velmi nízké virové nálože, nikoliv primárně k úspoře finančních prostředků.**

Pro možnost použití poolování jsou **rozhodující** zejména tyto parametry:

- analytická citlivost** použitého testu, dynamika nástupu a růstu virové nálože v odebraném materiálu,
- schopnost připravit homogenní individuální vzorek a **homogenizace poolu** (možné problémy s vazkým materiálem) – **nutnost poolování v laboratoři**,
- eliminace rizika výskytu inhibitorů PCR ve vzorcích,
- precizní schopnost **reverzního rozklíčování a určení individuálního pozitivního vzorku**

Vzhledem k výše uvedeným skutečnostem **Laboratorní skupina MZ proto v aktuální situaci nedoporučuje vyšetřování poolovaných vzorků ani v rámci preventivního testování bez důkladné validace kompletního řešení** zahrnující metodu označování vzorků, jejich poolování, homogenizace, vyšetření vč. zpětného roztestování pozitivních poolů, způsob vyřizování výsledků včetně **hlášení individuálních pozitivních nálezů prostřednictvím ISIN. To znamená, že po detekci pozitivního poolu musí následovat individuální otestování všech poolovaných vzorků metodou RT-PCR (v žádném případě ne antigenním testem)**. Při použití CE-IVD soupravy je nutné dodržet postup výrobce včetně materiálu, pro který je metoda validována. **Poolování v žádném případě nelze používat pro diagnostický proces** (indikované vzorky).

Pokud laboratoř řeší **vyšetřování vzorků v rámci preventivního testování metodou poolování je nutné následující:**

- zajistit dostatečnou citlivost použitého postupu** vyšetření - **CE IVD diagnostika nebo validovaná metoda** (studie, ověřená metodika). Před zahájením poolování **prokázat LOD**, limit of detection **nebo alespoň poslat 5 vzorků do NRL** s uvedenými hodnotami Ct, a to v rozpětí 20 – 35.
- Do studie navrhujeme zahrnout alespoň 100 individuálních vzorků s plným rozsahem positivity charakterizované minimálně Ct hodnotou (25 vzorků s Ct <= 25, 50 vzorků Ct >25 a <=34, 25 vzorků Ct >35).
- proces poolování je třeba provádět **standardizovaně a kontrolovaně**, s vědomím, že je nutné uschovat všechny originální vzorky před poolováním, aby bylo v případě, že je pool pozitivní, ihned možné je zpětně přešetřit. Poolování vzorků musí proto **probíhat v laboratoři**. Výhodou je, aby poolování prováděly laboratoře, které mají přístrojové vybavení pro poolování a jsou schopny i automaticky vyhodnocovat poolované vzorky.
- pozitivní vzorky - potvrzené zpětným vyšetřením jednotlivých vzorků poolu – je nutné hlásit do ISIN jako jednotlivý pozitivní výsledek PCR a informovat klienta SMS (tedy dle standardního postupu u positivity).

Vzhledem k tomu, že Vaše laboratoře disponují zavedeným systémem managementu kvality v souladu s mezinárodní normou ČSN EN ISO 15189:2013, jak ostatně požaduje po laboratořích vyšetřujících SARS-CoV-2 metodou PCR i Evropská komise, je i v zájmu laboratoře poskytnout klientům vyšetření **dostatečně citlivou metodou testování**, tedy i v případě poolování vzorků. Zásadní pro správnost výsledků je validace a verifikace metody ve vaší laboratoři, doporučujeme v nejbližším možném **termínu absolvovat pro tuto metodu EHK a metodu akreditovat**.

Věříme, že v rámci plnění mimořádných opatření Ministerstva zdravotnictví plníte také požadavek na skríningové vyšetření pozitivních vzorků na přítomnost mutací a tyto výsledky hlásíte do ISIN.
<https://koronavirus.mzcr.cz/wp-content/uploads/2021/03/Mimoradne-opatreni-pravidla-pro-vysetreni-vzorku-mutaci-viru-SARS-CoV-2-s-ucinnosti-od-9-3-2021.pdf>

LS COVID MZ ČR, 11.5.2021, úprava 13.5.2021