

V Praze dne 4.9.2021

## STÍŽNOST NA POSTUP PŘI VYŘIZOVÁNÍ ŽÁDOSTI O INFORMACE

Dne 13.8.2021 bylo přípisem ze dne 11.8.2021 žadatelce Kamale Taris doručeno oznámení o výši úhrady 1750,- CZK za poskytnutí informací na její žádost pod značkou SZU/09157/2021:

*„5 hodin x 350 Kč. Celková výše úhrady: 1.750 Kč*

*Úhradu nákladů spojených s mimořádně rozsáhlým vyhledáváním a zpracováním Vámi požadovaných informací ve výši 1.750 Kč je možné provést bezhotovostně převodem na bankovní účet Státního zdravotního ústavu, č. ú.: 1730101/0710 nebo je možné Státního zdravotního ústavu v budově č. 15. V případě bezhotovostního převodu Vám bude vystaven daňový doklad a zaslán společně s odpověďmi na Vámi výše uvedené otázky.“*

Po převodu této částky na účet povinného subjektu byla žadatelce dne 20.8.2021 doručena odpověď, datovaná taktéž 11.8.2021, ve které povinný subjekt uvádí řadu odkazů, o kterých se zřejmě domnívá, že odpovídají na dotazy žadatelky a že jí poskytuje relevantní věcné informace, jak mu stanovuje zákon 106/1999 Sb. V poskytnutých odkazech však požadované informace nejsou, jak žadatelka dokládá níže v odůvodnění ke každému jednotlivému odkazu zvlášť.

Vzhledem k tomu, že se v případě povinného subjektu jedná o státní vědeckou instituci, která je dokonce znaleckým ústavem v oboru, je s podivem, že dochází k tak zásadním pochybením i v případech, kdy si tato instituce za vypracování materiálu nechá zaplatit. Žadatelka přitom zcela oprávněně očekává, že při vyřízení její žádosti bude povinným subjektem odveden profesionální výkon splňující vědecké metodologické standardy. Žadatelka se oprávněně domáhá toho, aby kontrolní orgán uložil povinnému subjektu povinnost poskytnout relevantní, kompletní a věcně správnou odpověď na všechny dotazy, jejichž zpracování si nechal zpoplatnit.

Důvody pro podání stížnosti na postup SZÚ při vyřizování žádosti jsou nesplnění následujících povinností SZÚ jakožto povinného subjektu daných zákonem č. 106/1999 Sb., o svobodném přístupu k informacím:

### ODŮVODNĚNÍ:

#### 1) DOTAZ ŽADATELKY:

**Kdy a kým byl při detekci "de novo" virus SARS-CoV-2 řádně izolován, tzn. že virové částice byly purifikovány a izolovány pomocí centrifugace s hustotním gradientem. Důkaz, že k takové izolaci došlo, byl doložen fotografií koncentrovaných izolovaných virových částic. Z takto izolovaných částic byla vyextrahována molekula RNA, gelovou elektroforézou změřena její velikost a sekvenováním standardně dlouhých sekvencí sestaven její řetězec. Proteiny izolovaných virových částic byly biochemicky analyzovány.**

#### Odpověď SZÚ:

*„Národní referenční laboratoř (dále jen „NRL“) běžně izoluje a izolovala živé SARS-CoV-2,...*

*V NRL disponujeme na základě povolení Státního úřadu pro jadernou bezpečnost nejen původním virem linie B.1.36.36 (hCoV-19/Czech Republic/951/2020), ale i dalšími variantami: B.1.258, B.1.1.7, B.1.351, B.1.619.1, B.1.617.2, P.1. Sekvenci čistého viru | B.1.1.7 | (hCoV-19/Czech Republic/NRL9099/2021) z druhé pasáže na Vero E6 TMPRSS.*

*Virus byl kromě naší laboratoře opakovaně izolován v čisté podobě...“*

Vzhledem k tomu, že není doložena vědecká publikace, která by osvětlila metodiku a výsledek toho, co v odpovědi SZÚ označuje za „izolaci v čisté podobě“, lze se domnívat, že jde o běžnou záměnu, ke které dochází v medicínské virologii, kdy pojem izolace a purifikace je ztotožňován s procesem

kultivace (aniž by následoval kroku izolace a purifikace virových částic), jak nám jej na základě zákona o přístupu k informacím popsal ZÚ Ostrava:

*„Pro kultivaci viru SARS-CoV-2 se používají buněčné kultury CV-1 (buňky ledvin kočkodana zeleného) v monolayeru (jednovrstevný buněčný povlak) v kultivačních zkumavkách typu Leighton. Po odsátí udržovacího média se do zkumavky napipetuje 300 µl vyšetřovaného vzorku, kterým je výtěr z nosohltanu ve virologickém odběrovém médiu, který byl použit na vyšetření metodou RT-PCR SARS-CoV-2. Vzorky jsou očkované nejpozději do 24 hodin po odběru nebo jsou až do naočkování uloženy při -80°C a rozmrazeny až bezprostředně před naočkováním. Zkumavky uložíme do stojánek v šikmé poloze do termostatu při 37°C na dobu 30 minut.*

*Paralelně se vzorky kultivujeme buňky i v kontrolních zkumavkách, do nichž je místo vzorku aplikováno 300 µl udržovacího média (E-MEM, Sigma-Aldrich). Poté do všech zkumavek, včetně kontrolních, napipetujeme 1,7 ml udržovacího média. Inkubujeme v termostatu při 37 °C. Prohlížíme zkumavkové kultury v inverzním mikroskopu při 100 až 200 násobném zvětšení, přičemž hodnotíme morfologické změny buněk – rozvoj cytopatického efektu (CPE) vznikající v důsledku infekce buněk virem přítomným ve vzorku. Zároveň kontrolujeme i kontrolní zkumavky. Jakmile je cytopatického efektu dosaženo přibližně v 75 % buněk ve zkumavce, provedeme druhou pasáž. Po 7 dnech provedeme 2. pasáž i u těch vzorků, ve kterých není patrný cytopatický efekt, a pokračujeme v kultivaci dalších 7 dní. Pokud ani po dalších 7 dnech nedojde k cytopatickému efektu, ukončíme izolační pokus jako negativní. Ve zkumavkách s pozitivním cytopatickým efektem ověřujeme přítomnost SARS-CoV-2 metodou RT-PCR.“*

Sekvence poté probíhá z heterogenního biologického materiálu, který je směsí odebraného vzorku pacienta, buněčných kultur a chemikálií, které se používají při procesu kultivace a nesčetného množství genetických sekvencí, aleatoricky vzniklých během následného procesu množení za použití PCR. Je evidentní, že při postupu „de novo“, tedy při prvotní detekci neznámého patogenu není možné, aby vědecký tým uměl rozlišit výlučné sekvence, které patří novému patogenu a ty, které jsou jiného původu.

**Ve virologii se používá termín "izolace na buněčných/tkáňových kulturách", což je ale ve skutečnosti opak skutečné fyzické izolace a purifikace, na kterou se žadatelka dotazovala. Z dotazu je evidentní, že se žadatelka na "izolaci na buněčných/tkáňových kulturách" vůbec neptala.**

V každém případě, z odpovědi, které SZÚ uvádí v odpovědích na další dotazy je evidentní, že nedošlo ani k extrakci a změření celého genomu z toho, co SZÚ nazývá virus „v čisté podobě“, nedoložil ani EM fotografii izolovaných virových částic a neproběhla analýza bílkovin.

#### Odkaz na studii:

*„Herrera NG, Morano NC, Celikgil A, Georgiev GI, Malonis RJ, Lee JH, Tong K, Vergnolle O, Massimi AB, Yen LY, Noble AJ, Kopylov M, Bonanno JB, Garrett-Thomson SC, Hayes DB, Bortz RH 3rd, Wirchnianski AS, Florez C, Laudermilch E, Haslwanter D, Fels JM, Dieterle ME, Jangra RK, Barnhill J, Mengotto A, Kimmel D, Daily JP, Pirofski LA, Chandran K, Brenowitz M, Garforth SJ, Eng ET, Lai JR, Almo SC. Characterization of the SARS-CoV-2 S Protein: Biophysical, Biochemical, Structural, and Antigenic Analysis. bioRxiv [Preprint]. 2020 Jun 17:2020.06.14.150607. doi: 10.1101/2020.06.14.150607. Update in: ACS Omega. 2020 Dec 21;6(1):85-102. PMID: 32587972; PMCID: PMC7310628.“*

Zde SZÚ odkazuje na studii, ve které vědecký tým popisuje, jak na základě genomu, který byl sestaven metodou celogenomového sekvenování z heterogenního biologického materiálu, byli schopni sestavit bílkoviny („OptSpike 1“ a „OptSpike 2“), které by měly představovat tzv. S-protein viru SARS-CoV-2. Dále se ve studii zabývají vlastnostmi těchto umělých synteticky vyrobených bílkovin. Nedokládá to ovšem nic o skutečné existenci a izolaci viru SARS-CoV-2. Jde pouze o doklad schopností současného genového inženýrství, aniž by to mělo hodnotu jakéhokoli důkazu.

#### Odkaz na studii:

*„Callaway E. Delta coronavirus variant: scientists brace for impact. Nature. 2021 Jul;595(7865):17-18. doi: 10.1038/d41586-021-01696-3. PMID: 34158664.“*

SZÚ odkazuje na tento článek, aniž by měl jakýkoli vztah k dotazované problematice. Nejedná se ani o vědeckou studii.

### Odkaz na článek:

„Okamaoto K, Shirato K, Nao N, Saito S, Kageyama T, Hasegawa H, Suzuki T, Matsuyama S, Takeda M. Assessment of Real-Time RT-PCR Kits for SARS-CoV-2 Detection. *JpnJInfectDis.2020Sep 24;73(5):366-368. doi: 10.7883/yoken.JJID.2020.108. Epub 2020 Apr 30. PMID: 32350226.*”

Tento článek, na který SZÚ v souvislosti s prvním dotazem odkazuje, nemá opět žádnou souvislost s dotazovanou problematikou. Okamaoto a kol. referují o tom, jak sestavili RT-PCR test zaměřený na dva úseky v genomu údajného viru SARS-CoV-2 aniž by provedli jeho izolaci a validace testu proběhla srovnáním s jinými, komerčně dostupnými RT-PCR testy.

SZÚ VE SVÉ ODPOVĚDI K TOMUTO BODU ZCELA IGNORUJE, ŽE DOTAZ JE SMĚROVÁN NA PATOGEN “**DE NOVO**” - TEDY DOPOSUD NEZNÁMÝ PATOGEN, KTERÝ JE POPRVÉ OBJEVEN.

### 2) DOTAZ ŽADATELKY:

**Kdy a kým byla u takto doloženého viru SARS-CoV-2 dle vědecké metodologie a za provedení kontrolních experimentů prokázána příčinná souvislost k onemocnění COVID-19, a je tedy oprávněné považovat jej za původce tohoto onemocnění.**

### Odkaz na studii:

„Zhang J, Cruz-Cosme R, Zhuang MW, Liu D, Liu Y, Teng S, Wang PH, Tang O. A systemic and molecular study of subcellular localization of SARS-CoV-2 proteins. *Signal Transduct Target Ther. 2020 Nov 17;5(1):269. doi: 10.1038/s41392-020-00372-8. Erratum in: Signal Transduct Target Ther. 2021 May 13;6(1):192. PMID: 33203855; PMCID: PMC7670843.*”

Studie zkoumá subcelulární lokalizaci proteinů SARS-CoV-2 pomocí imunofluorescenčního testu (IFA). Studie se prokázáním příčinné souvislosti SARS-CoV-2 k onemocnění COVID-19 vůbec nezabývala.

### Odkaz na studii:

„Cascarina SM, Ross ED. A proposed role for the SARS-CoV-2 nucleocapsid protein in the formation and regulation of biomolecular condensates. *FASEB J. 2020 Aug;34(8):9832-9842. doi: 10.1096/fj.202001351. Epub 2020 Jun 20. PMID: 32562316; PMCID: PMC7323129.*”

Práce zkoumá roli N-proteinu SARS-CoV-2. Práce se prokázáním příčinné souvislosti SARS-CoV-2 k onemocnění COVID-19 vůbec nezabývala.

### Odkaz na studii:

„Allegra A, Di Gioacchino M, Tonacci A, Musolino C, Gangemi S. Immunopathology of SARS-CoV-2 Infection: Immune Cells and Mediators, Prognostic Factors, and Immune-Therapeutic Implications. *Int J Mol Sci. 2020 Jul 6;21(13):4782. doi: 10.3390/ijms21134782. PMID: 32640747; PMCID: PMC7370171.*”

Přehledová práce prezentuje různé poznatky o imunopatologii a léčbě COVID-19. Práce se prokázáním příčinné souvislosti SARS-CoV-2 k onemocnění COVID-19 vůbec nezabývala.

### Odkaz na studii:

„DC, Barreto-Vietra DF, Bozza FA, Souza TML, Bozza PT. Lipid droplets fuel SARS-CoV-2 replication and production of inflammatory mediators. *PLoS Pathog. 2020 Dec 16;16(12):e1009127. doi: 10.1371/journal.ppat.1009127. PMID: 33326472; PMCID: PMC7773323.*”

Studie zkoumá vliv SARS-CoV-2 na lipidový metabolismus hostitelských buněk. Studie se prokázáním příčinné souvislosti SARS-CoV-2 k onemocnění COVID-19 vůbec nezabývala.

### Odkaz na studii:

„Sule WF, Oluwayelu DO. Real-time RT-PCR for COVID-19 diagnosis: challenges and prospects. *Pan Afr Med J. 2020 Jul 21;35(Suppl 2):121. doi: 10.11604/pamj.suppl.2020.35.24258. PMID: 33282076; PMCID: PMC7687508.*”

Přehledová práce řeší problematiku testování COVID-19 pomocí RT-PCR. Práce se prokázáním příčinné souvislosti SARS-CoV-2 k onemocnění COVID-19 vůbec nezabývala.

### Odkaz na studii:

„N Engl J Med. 2021 Jul 21;NEJMoa2108891. doi: 10.1056/NEJMoa2108891. Online ahead of print. Effectiveness of Covid-19 Vaccines against the B.1.617.2 (Delta) Variant. Lopez Bernal J(1), Andrews N(1), Gower C(1), Gallagher E(1), Simmons R(1), Thelwall S(1), Stowe J(1), Tessier E(1), Groves N(1), Dabrera G(1), Myers R(1), Campbell CNJ(1), Amirthalingam G(1), Edmunds M(1), Zambon M(1), Brown KE(1), Hopkins S(1), Chand M(1), Ramsay M(1).“

Studie zkoumá účinnost vakcín BNT162b2 a ChAdOx1 nCoV-19 na variantu B.1.617.2 (delta). Studie se prokázáním příčinné souvislosti SARS-CoV-2 k onemocnění COVID-19 vůbec nezabývala.

### 3) DOTAZ ŽADATELKY:

**Kdy a kým byly bílkoviny, které jsou považované za antigeny viru SARS-CoV-2, extrahovány přímo z biologického vzorku testované osoby a biochemicky specifikovány.**

### Odkaz na studii:

„Corman VM, Landt O, Kaiser M, Molenkamp R, Meijer A, Chu DK, Bleicker T, Briinink S, Schneider J, Schmidt ML, Mulders DG, Haagmans BL, van der Veer B, van den Brink S, Wijsman L, Goderski G, Romette JL, Ellis J, Zambon M, Peitis M, Goossens H, Reusken C, Koopmans MP, Drosten C. Detection of 2019 novel coronavirus (2019-nCoV) by real-time RT-PCR. Euro Surveill. 2020 Jan;25(3):2000045. doi: 10.2807/1560-7917.ES.2020.25.3.2000045. Erratum in: Euro Surveill. 2020 Apr;25(14): Erratum in: Euro Surveill. 2020 Jul;25(30): Erratum in: Euro Surveill. 2021 Feb;26(5): PMID: 31992387; PMCID: PMC6988269.“

Cílem studie bylo vytvořit test RT-PCR, aniž by autoři měli k dispozici virové izoláty nebo vzorky od infikovaných pacientů. Studie se extrakcí bílkovin vůbec nezabývala.

### Odkaz na studii:

„Nature. 2021 Jul 8. doi: 10.1038/s41586-021-03777-9. Online ahead of print. Reduced sensitivity of SARS-CoV-2 variant Delta to antibody neutralization.“

Studie zkoumala citlivost varianty delta na protilátky u různých druhů vzorků. Extrakcí a biochemickou specifikací bílkovin SARS-CoV-2 se studie vůbec nezabývala.

### 4) DOTAZ ŽADATELKY:

**Disponuje SZÚ vědeckou prací, která potvrzuje, že přítomnost antigenu, detekovaného antigenními testy, lze interpretovat jako důkaz přítomnosti celého infekce schopného SARS-CoV-2? Pokud ano, prosím o odkaz.**

### Odkaz na studii:

„LeBlanc JJ, Gubbay JB, Li Y, Needle R, Arneson SR, Marcino D, Charest H, Desnoyers G, Dust K, Fattouh R, Garceau R, German G, Hatchette TF, Kozak RA, Krajden M, Kuschak T, Lang ALS, Levett P, Mazzulli T, McDonald R, Mubareka S, Prystajecky N, Rutherford C, Smieja M, Yu Y, Zahatiadis G, Zelyas N, Bastien N; COVID-19 Pandemic Diagnostics Investigation Team of the Canadian Public Health Laboratory Network (CPHLN) Respiratory Virus Working Group. Real-time PCR-based SARS-CoV-2 detection in Canadian laboratories. J Clin Virol. 2020 Jul;128:104433. doi: 10.1016/j.jcv.2020.104433. Epub 2020 May 13. PMID: 32405254; PMCID: PMC7219382.“

Práce porovnává různé testy RT-PCR. Antigenními testy se práce vůbec nezabývala.

### Odkaz na studii:

„BMJ. 2021 Jun 15;373:n1513. doi: 10.1136/bmj.n1513. Delta variant: What is happening with transmission, hospital admissions, and restrictions? Mahase E(1). Authot information: ()The BMJ. DOI: 10.1136/bmj.n1513 PMID: 34130949“

Článek řeší problematiku očkování, varianty delta, hospitalizací, restrikcí atd. Antigenními testy se článek vůbec nezabýval.

### Odkaz na studii:

„Obecně je častěji izolován nukleokapsidový protein. - toto je současně **odpověď na otázku 3, částečně na otázku 4 (není řešerše k Ag v NSP) nikdo nebude přímo izolovat SARS-CoV-2 proteiny za účelem výzkumu, důkazu, purifikace. Pokud jsou k dispozici lepší a chytřejší technologie, nemá smysl používat metody z doby, kdy jsme nebyli schopní získat čistou virovou kulturu.**

Běžně je prokazován N antigen v krvi osob, trpících Covid 19, jeho koncentrace, respektive dynamika je využívána jako prognostický faktor a současně jako indikátor vhodnosti léčby. např:

Chen H, Cui Y, Han X, Hu W, Sun M, Zhang Y, Wang PH, Song G, Chen W, Lou J. Liquidliquid phase separation by SARS-CoV-2 nucleocapsid protein and RNA. *Cell Res.* 2020 Dec;30(12):1143-1145. doi: 10.1038/s41422-020-00408-2. Epub 2020 Sep 8. PMID: 32901111; PMCID: PMC7477871."

Článek řeší možnou úlohu N-proteinu. Článek se problematikou antigenu a antigenních testů nezabývá.

#### Odkaz na studii:

„Iserman C, Roden CA, Boerneke MA, Sealfon RSG, McLaughlin GA, Jungteis I, Fritch EJ, Hou YJ, Ekena J, Weidmann CA, Theesfeld CL, Kellis M, Troyanskaya OG, Baric RS, Sheahan TP, Weeks KM, Gladfelter AS. Genomic RNA Elements Drive Phase Separation of the SARS-CoV-2 Nucleocapsid. *Mol Cell.* 2020 Dec 17;80(6):1078-1091.e6. doi: 10.1016/j.molcel.2020.11.041. Epub 2020 Nov 27. PMID: 33290746; PMCID: PMC7691212."

Studie zkoumá úlohu a vlastnosti N-proteinu. Studie se problematikou antigenu a antigenních testů nezabývá.

#### Odkaz na studii:

„Carlson CR, Asfaha JB, Ghent CM, Howard CJ, Hartooni N, Safari M, Frankel AD, Morgan DO. Phosphoregulation of Phase Separation by the SARS-CoV-2 N Protein Suggests a Biophysical Basis for its Dual Functions. *Mol Cell.* 2020 Dec 17;80(6):1092-1103.e4. doi: 10.1016/j.molcel.2020.11.025. Epub 2020 Nov 20. PMID: 33248025; PMCID: PMC7677695."

Studie zkoumá úlohu a vlastnosti N-proteinu. Studie se problematikou antigenu a antigenních testů nezabývá.

#### Odkaz na studii:

„Shan D, Johnson JM, Fernandes SC, Suib H, Hwang S, Wuelfing D, Mendes M, Holdridge M, Burke EM, Beauregard K, Zhang Y, Cleary M, Xu S, Yao X, Patel PP, Plavina T, Wilson DH, Chang L, Kaiser KM, Nattermann J, Schmidt SV, Latz E, Hrusovsky K, Mattoon D, Ball AJ. N-protein presents early in blood, dried blood and saliva during asymptomatic and symptomatic SARS-CoV-2 infection. *Nat Commun.* 2021 Mar 26;12(1):1931. doi: 10.1038/s41467-021-22072-9. PMID: 33771993; PMCID: PMC7997897."

Studie se zabývala detekcí N-proteinu v krvi a slinách. Použitý test byl porovnáván s výsledky testu RT-PCR. Studie neprokázala, že přítomnost antigenu lze interpretovat jako důkaz přítomnosti celého infekce schopného SARS-CoV-2.

#### Odkaz na studii:

„Perna F, Bruzzaniti S, Piemonte E, Maddaloni V, Atripaldi L, Sale S, Sanduzzi A, Nicastrò C, Pepe N, Bifulco M, Matarese G, Galgani M, Atripaldi L. Serum levels of SARS-CoV-2 nucleocapsid antigen associate with inflammatory status and disease severity in COVID-19 patients. *Clin Immunol.* 2021 May;226:108720. doi: 10.1016/j.clim.2021.108720. Epub 2021 Apr 2. PMID: 33819577; PMCID: PMC8017913."

Studie porovnávala hladiny N-proteinu v séru s hodnotami CRP. Studie neprokázala, že přítomnost antigenu lze interpretovat jako důkaz přítomnosti celého infekce schopného SARS-CoV-2.

#### Odkaz na studii:

„Hingrat OL, Visseaux B, Laouenan C, Tubiana S, Bouadma L, Yazdanpanah Y, Duval X, Burdet C, Ichou H, Damond F, Bertine M, Benmalek N, Choguet C, Timsit JF, Ghosn J, Chatpentier C, Descamps D, Houhou-Fidouh N; French COVID cohort management committee, CoV-CONTACT study group; members of the French-COVID cohort study group (by alphabetical order); member of the CoV-CONTACT study group. Principal investigator; Steering Committee; CoV-CONTACT Clinical Centers; Coordination and statistical analyses; Virological Lab; Biological Center; Partners; Sponsor; Genetic. Detection of SARS-CoV-2 N-antigen in blood during acute COVID-19 provides a sensitive new marker and new testing alternatives. *Clin Microbiol Infect.* 2020 Dec 8;27(5):789.e1–5. doi: 10.1016/j.cmi.2020.11.025. Epub ahead of print. PMID: 33307227; PMCID: PMC7724284."

Studie zkoumá možnosti detekce N-proteinu v krvi. Výsledky použitého testu byly porovnávány s výsledky testu RT-PCR. Studie neprokázala, že přítomnost antigenu lze interpretovat jako důkaz přítomnosti celého infekce schopného SARS-CoV-2.

V souvislosti s dotazy 3 a 4 povinný subjekt uvádí:

„Důkazy:

1. Detekovaný pozitivní případ v ČR, včetně obrázku izolovaného viru a sekvenace
2. Sekvence izolovaného viru B.1.1.7 (alfa) po druhé pasáži na VERO E6 buňkách."

K těmto „důkazům“ jsou připojeny tabulky, zřejmě z databáze, kde je jako zdroj k sekvenování k odkazu 1 uvedeno: „Oropharyngeal swab“, k odkazu 2: „Tissue Culture“.

Není logicky zjevné, proč povinný subjekt tyto odkazy uvádí k dotazům 3 a 4. Mohl by mít relevanci k dotazu 1, ale vzhledem k tomu, že je explicitně uvedeno, že sekvenování neproběhlo z izolovaných virových částic, ale ze vzorků, jejichž složení nebylo známo, není tak ani zřejmý původ sekvenovaného materiálu. Fotografie izolovaných částic, která by doložila skutečnou izolaci virových částic od ostatního biologického materiálu také není doložena, není citována verifikovatelná publikace, ve které by bylo možné posoudit správnost postupu a provedení kontrolních experimentů, tzn. že jakkoli tyto dvě tabulky povinný subjekt nadepsal jako „důkaz“, vzhledem k uvedenému to za důkaz není možné pokládat ani při nejlepší vůli žadatelky.

5) DOTAZ ŽADATELKY:

**Disponuje SZÚ vědeckou prací, která potvrzuje, že přítomnost 2-3 krátkých sekvencí RNA, detekovaných RT-PCR testy, lze interpretovat jako důkaz přítomnosti celého infekce schopného SARS-CoV-2? Pokud ano, prosím o odkaz.**

Odkaz na studii:

„Chan JF-W, Yip CC-Y, To KK-W, Tang TH-C, Wong SC-Y, Leung K-H, Fung AY-F, Ng AC-K, Zou Z, Tsoi H-W, Choi GK-Y, Tam AR, Cheng VC-C, Chan K-H, Tsang OT-Y, Yuen K-Y. 2020. Improved molecular diagnosis of COVID19 by the novel, highly sensitive and specific COVID-19-RdRp/Hel real-time reverse transcription-PCR assay validated in vitro and with clinical specimens. *J Clin Microbiol* 58:e00310-20. <https://doi.org/10.1128/JCM.00310-20>.”

Tato studie se sice věnuje stanovení senzitivity a specificity 3 nových RT-PCR testů a jejich vzájemnému porovnání, ale vzhledem k metodice, kterou autoři zvolili, není schopna odpovědět na položený dotaz. Autoři studie neprovádějí žádný způsob ověření, jak se v praxi shodují pozitivní výsledky vyhodnocovaných testů se skutečnou přítomností celého genomu viru SARS-CoV-2 včetně jeho bílkovin u testovaného pacienta.

Odkaz na studii:

„Etievant, S.; Bal, A.; Escuret, V.; Brengel-Pesce, K.; Bouscambert, M.; Cheynet, V.; Generenaz, L.; Oriol, G.; Destras, G.; Billaud, G.; Josset, L.; Frobert, E.; Morfin, F.; Gaymard, A. Performance Assessment of SARS-CoV-2 PCR Assays Developed by WHO Referral Laboratories. *J. Clin. Med.* **2020**, *9*, 1871. <https://doi.org/10.3390/jcm9061871>”

Autoři této studie prověřovali 5 RT-PCR testů různých výrobců. Na tuto studii odkazuje SZÚ přestože ze závěru vyplývá, že **dva z pěti prověřovaných testů byly schopny jako pozitivní označit i vzorky vody**, tzn. že jsou schopny všechny zdravé lidi označit za pozitivní. U zbylých tří nebylo opět ověřeno, zda u pozitivního výsledku dochází k detekci fragmentu RNA nebo celého spojitého řetězce ~30 tisíce bází.

Odkaz na studii:

„Alireza Tahamtan & Abdollah Ardebili (2020) Real-time RT-PCR in COVID-19 detection: issues affecting the results, *Expert Review of Molecular Diagnostics*, 20:5, 453-454, DOI: [10.1080/14737159.2020.1757437](https://doi.org/10.1080/14737159.2020.1757437)”

V této publikaci autoři uvádějí možné příčiny falešně negativních a falešně pozitivních výsledků u testů založených na metodě RT-PCR. Není ji tedy možné považovat za odpověď na položený dotaz.

6) DOTAZ ŽADATELKY:

**Disponuje SZÚ informací, že existuje RT-PCR test na SARS-CoV-2, který byl validován porovnáním k celému reálnému viru SARS-CoV-2? Který? Jakou metodou validace proběhla?**

### Odpověď SZÚ:

Kromě dvou studií uvedených výše v bodu 5) (Chan JF-W et al, Etievant, S. et al), v nichž neproběhla validace porovnáním výsledků testů s výsledky detekce kompletního viru, dále uvádí tuto studii:

„Yip, C.C.-Y.; Ho, C.-C.; Chan, J.F.-W.; To, K.K.-W.; Chan, H.S.-Y.; Wong, S.C.-Y.; Leung, K.-H.; Fung, A.Y.-F.; Ng, A.C.-K.; Zou, Z.; Tam, A.R.; Chung, T.W.-H.; Chan, K.-H.; Hung, I.F.-N.; Cheng, V.C.-C.; Tsang, O.T.-Y.; Tsui, S.K.W.; Yuen, K.-Y. Development of a Novel, Genome Subtraction-Derived, SARS-CoV-2-Specific COVID-19-nsp2 Real-Time RT-PCR Assay and Its Evaluation Using Clinical Specimens. *Int. J. Mol. Sci.* **2020**, *21*, 2574. <https://doi.org/10.3390/ijms21072574>”

I v této studii je explicitně uvedeno, že autory sestavený nový test byl validován srovnáním s výsledky předchozího testu (Chan JF-W et al), který byl opět validován srovnáním s výsledky jiného testu (To KK, Tsang OT, Yip CC, Chan KH, Wu TC, Chan JM, Leung WS, Chik TS, Choi CY, Kandamby DH, Lung DC, Tam AR, Poon RW, Fung AY, Hung IF, Cheng VC, Chan JF, Yuen KY. Consistent Detection of 2019 Novel Coronavirus in Saliva. *Clin Infect Dis.* 2020 Jul 28;71(15):841-843. doi: 10.1093/cid/ciaa149. PMID: 32047895; PMCID: PMC7108139.)

Je to doklad obecné praxe, že RT-PCR testy jsou srovnávány pouze vzájemně mezi sebou, ale neexistuje jediný, který by byl validován pomocí referenční metody, která by detekovala kompletní infekce schopný virus v testovaném vzorku. Způsobem, jakým jsou RT-PCR testy validovány, není možné určit, v jakém procentu pozitivních výsledků test detekuje kompletní makromolekulu genomu viru, v jakém procentu detekuje pouze neškodné fragmenty RNA a v jakém procentu dochází ke zkříženým reakcím..

### 7) DOTAZ ŽADATELKY:

**Disponuje SZÚ informací, že se v ČR používá RT-PCR test na SARS-CoV-2, který byl validován porovnáním k celému reálnému viru SARS-CoV-2? Který? Jakou metodou validace proběhla?**

### Odpověď SZÚ:

„izolovaný virus B.1.36.36 (hCoV19/CzechRepublic/951/2020) byl použit jako standartní materiál pro kvantifikaci, a současně v sérovém ředění pro EHK v laboratořích.“

Tato odpověď je zavádějící. Validace testovací sady musí proběhnout tak, že různé biologické vzorky, které test označí jako pozitivní budou ověřeny referenční metodou, zda skutečně obsahují celý infekce schopný virus a negativní výsledky tohoto testu budou referenční metodou ověřeny, že tento virus skutečně neobsahují. Metodikou, kterou uvádí SZÚ, není možno stanovit senzitivitu a specifitu testu v testovací praxi. Na to koneckonců upozorňuje i jedna ze studií, které v odkazu doporučuje SZÚ.

### Jako referenci k tomuto dotazu SZÚ odkazuje na studie:

„Etievant, S.; Bal, A.; Escuret, V.; Brengel-Pesce, K.; Bouscambert, M.; Cheynet, V.; Generenaz, L.; Oriol, G.; Destras, G.; Billaud, G.; Josset, L.; Frobert, E.; Morfin, F.; Gaymard, A. Performance Assessment of SARS-CoV-2 PCR Assays Developed by WHO Referral Laboratories. *J. Clin. Med.* **2020**, *9*, 1871. <https://doi.org/10.3390/jcm9061871>”

Viz výše bod 5), tato studie porovnává 5 různých PCR testů in silicio, neprovádí validaci výsledků testů v praxi a neporovnává je s přímou detekční metodou, která by detekovala celý infekce schopný virus (= izolace virových částic).

„Corman VM, Landt O, Kaiser M, Molenkamp R, Meijer A, Chu DK, Bleicker T, Briinink S, Schneider J, Schmidt ML, Mulders DG, Haagmans BL, van der Veer B, van den Brink S, Wijsman L, Goderski G, Romette JL, Ellis J, Zambon M, Peitis M, Goossens H, Reusken C, Koopmans MP, Drosten C. Detection of 2019 novel coronavirus (2019-nCoV) by real-time RT-PCR. *Euro Surveill.* 2020 Jan;25(3):2000045. doi: 10.2807/1560-7917.ES.2020.25.3.2000045. Erratum in: *Euro Surveill.* 2020 Apr;25(14): Erratum in: *Euro Surveill.* 2020 Jul;25(30): Erratum in: *Euro Surveill.* 2021 Feb;26(5): PMID: 31992387; PMCID: PMC6988269.”

Odkaz na tuto studii je v souvislosti s položeným dotazem nutno vnímat jako žert. Studie vyšla ještě dříve než vůbec vyšla první publikace o tom, že by snad mohl nějaký nový virus existovat a než to byla schopna vědecká obec objev tohoto nového viru kriticky zhodnotit. Autoři explicitně uvádějí, že tento svůj test vyvinuli bez toho, že by k dispozici virus mohli mít. Nemohli tím pádem provést ani validaci, která by srovnala výsledky s přímou detekcí kompletního infekce schopného viru. Jak se později ukázalo, jejich test byl schopen učinit pozitivní výsledek u jakéhokoli testovaného vzorku - i u vody.



„Li, Dandan et al. "Primer design for quantitative real-time PCR for the emerging Coronavirus SARS-CoV-2." *Theranostics* vol. 10,16 7150-7162. 1 Jun. 2020, doi:10.7150/thno.47649"

Tato studie se vůbec nezabývá validací testovacích sad na bázi RT-PCR, ale problematikou primerů pro tyto testy. Přesto v závěru autoři poznamenávají důležitou informaci, která SZÚ zjevně unikla:

„*In silico* analysis of primer and probe sequences is needed to analyse the specificity. However, the experimental conformation is more important. Only by evaluating the diagnostic ability of the designed primers and probes on a number of samples, we can identify primers/probes with good sensitivity and specificity." (In silicio analýza primerů a sond je potřebná k analýze specifity. Přesto, experimentální potvrzení je důležitější. Pouze vyhodnocením diagnostické schopnosti navržených primerů a sond na větším počtu vzorků můžeme stanovit správnou sensitivitu a specifitu primerů/sond.)"

To je vědecký poznatek, který SZÚ stále uniká. Způsobem, jakým jsou RT-PCR testy validovány, není možné určit, v jakém procentu pozitivních výsledků test detekuje kompletní makromolekulu genomu viru, v jakém procentu detekuje pouze neškodné fragmenty RNA a v jakém procentu dochází ke zkříženým reakcím.

#### 8) DOTAZ ŽADATELKY:

**Disponuje SZÚ informací, že existuje antigenní test na SARS-CoV-2, který byl validován jinak, než porovnáním výsledků s výsledky RT-PCR metodě? Jakou metodou validace proběhla?**

#### Odkaz na studii:

„Pefiarrubia L, Ruiz M, Porco R, Rao SN, Juanola-Falgarona M, Manissero D, Lopez-Fontanals M, Pareja J. Multiple assays in a real-time RT-PCR SARS-CoV-2 panel can mitigate the risk of loss of sensitivity by new genomic variants during the COVID-19 outbreak. *IntJ Infect Dis.* 2020 Aug;97:225- 229. doi: 10.1016/j.ijid.2020.06.027. Epub 2020 Jun 12. PMID: 32535302; PMCID: PMC7289722."

Studie zkoumá vliv genetické variability SARS-CoV-2 na senzitivitu různých testů RT-PCR. Studie se antigenními testy vůbec nezabývala.

#### 9) DOTAZ ŽADATELKY:

**Disponuje SZÚ informací, že se v ČR používá antigenní test na SARS-CoV-2, který byl validován jinak, než porovnáním výsledků s výsledky RT-PCR metodě? Který? Jakou metodou validace proběhla?**

#### Odkaz na studii:

„Park M, Won J, Choi BY, Lee CJ. Optimization of primer sets and detection protocols for SARS-CoV-2 of coronavirus disease 2019 (COVID-19) using PCR and real-time PCR. *Exp Mol Med.* 2020 Jun;52(6):963-977. doi:10.1038/s12276-020-0452-7. Epub 2020 Jun 16. PMID: 32546849; PMCID: PMC7295692."

Cílem studie bylo poskytnutí návrhu na optimalizaci a design primerů pro RT-PCR. Studie se antigenními testy a jejich validací v ČR vůbec nezabývala.

#### 10) DOTAZ ŽADATELKY:

**Jakou metodu validace antigenních testů uznává SZÚ jako vědecky ověřitelnou a platnou dle principu lege artis?**

#### Odkaz na studii:

„SZÚ uznává validaci Ag testů a seznam Ag testů doporučených ECDC, UOCHAB a dále viz odkazy na publikace, přičemž si je vědom nižší citlivosti ve srovnání s PCR metodou:

*A common list of COVID-19 rapid antigen tests and a common standardised set of data to be included in COVID-19 test result certificates Agreed by the Health Security Committee This document was agreed by the HSC on 17 February 2021"*

Jedná se o seznam rychlých antigenních testů schválený Výborem pro zdravotní bezpečnost EU. Dokument uvádí, že dohodnutým (prozatímním) kritériem klinického výkonu pro nezávislé validační studie má být ve všech případech porovnání vzorků metodou RT-PCR jakožto zlatým standardem.



Vzhledem k tomu, že doposud neexistuje jediný PCR test, který by byl validován oproti skutečně „zlatému standardu“ (izolaci virových částic), tzn. že výsledky ani jednoho z oficiálně užívaných PCR testů nebyly nikdy porovnány s přímým důkazem přítomnosti/absence celého infekce schopného viru v testovaném vzorku, nemůže ani žádný test, založený na metodě PCR plnit roli „zlatého standardu“.

**Analogicky by se to dalo přirovnat k tomu, že by se tlakoměry kalibrovaly vůči sobě navzájem a přitom ani jeden z nich by nebyl nikdy nakalibrován vůči referenční jednotce tlaku.**

Validace antigenních testů pomocí porovnání s testy PCR tak vede pouze k řetězení neověřitelných a neinterpretovatelných výsledků.

#### Odkaz na studii:

*„Albert E, Torres I, Bueno F, Huntley D, Molla E, Fernandez-FuentesMA, Martinez M, Poujois S, Forqué L, Valdivia A, Solano de la Asuncion C, Ferrer J, Colomina J, Navarro D. Field evaluation of a rapid antigen test (Panbio™ COVID-19 Ag Rapid Test Device) for COVID-19 diagnosis in primary healthcare centres. Clin Microbiol Infect. 2021 Mar;27(3):472.e7-472.e10. doi: 10.1016/j.cmi.2020.11.004. Epub 2020 Nov 13. PMID: 33189872; PMCID: PMC7662075.“*

Studie porovnávala výsledky antigenního testu Panbio™ COVID-19 Ag Rapid Test Device s výsledky testu RT-PCR u vzorků odebraných od symptomatických pacientů v centru primární zdravotní péče.

#### Odkaz na studii:

*„<https://www.uochb.cz/cs/novinky/284/aktualizovane-vysledky-analyzy-antigennich-testu-a-hra-mistr-antigenu>“*

Studie hodnotila citlivost různých antigenních testů k N-proteinu SARS-CoV-2 a problematiku vizuálního a strojového odečítání výsledků. Studie porovnávala jednotlivé testy mezi sebou a validací testů se nezabývala.