

Antigēnu eksprestesti un to nozīme savlaicīgā un precīzā Covid–19 diagnostikā. Klīnikas VIA UNA pieredze

Tatjana Panarina-Kovanska, laboratorijas ārste, VIA UNA klīnikas valdes priekšsēdētāja

Koronavīrusa SARS-CoV-2 izraisītā Covid–19 pandēmija mūsu dzīvē ienesusi tādas pārmaiņas, par kuru iespējamību mēs vēl dažus gadus atpakaļ pat nenojautām. Noliekot malā sociālos un ekonomiskos aspektus, bet pievēršoties tikai diagnostikas, ārstēšanas un profilakses tematikai, rodas pamats ilgai sarunai. Tieši medicīnu kā tautsaimniecības nozari pandēmija skāra vistiešāk un visnopietnāk.

Tā kā diagnostika, tostarp laboratoriskā diagnostika, ir tā medicīnas nozare, kurā notiek visstraujākā attīstība un visstraujāk tiek izmantotas tehnoloģiju sniegtās iespējas, nebija nekāds pārsteigums, ka jau pašā pandēmijas sākumā bija pieejami testi SARS-CoV-2 noteikšanai: vispirms jau molekulārie PQR testi. Polimerāzes ķēdes reakcija pēc būtības ir vīrusa ribonukleīnskābes nelielu fragmentu kopēšana un vairošana līdz nepieciešama daudzumam, lai SARS-2 RNS var noteikt. Testa specifiskums ir tuvu 100%. Pasaules Veselības Organizācija uzskata PQR par Covid–19 laboratoriskās diagnostikas „zelta standartu”. Neskatoties uz PQR testa izcilo nozīmi, praksē šai metode ir arī vājas vietas:

- testa pašizmaksa ir liela!;
- testu kvalitatīvi veikt var tikai lielās, labi aprīkotās laboratorijās ar augstu laboratorijas speciālistu kvalifikāciju. Latvijā 2020. gada pavasarī šādam prasībam atbilda tikai 3 laboratorijas;
- grūti ātri un savlaicīgi organizēt masveida paraugu ņemšanu, bet tieši paraugu ņemšana ir ļoti svarīgs posms;
- gaidīšanas laiks uz atbildi ir visai garš. 2020. gadamartā – aprīlī līdz rezultātu saņemšanai bija jāgaida pat 24 stundas. Šis laiks stingri ierobežo cilvēku ekonomisko aktivitāti, un neapmierināja ne ārstus, ne pacientus;
- tas viss kopā neļauj izmantot PQR testus par skrīninga metodi.

Tātad – sarežģītā molekulārā bioloģija – PQR testi – nevarēja kļūt par skrīninga metodi par spīti gan Veselības ministrijas politiskās vadības un ierēdniecības, gan Latvijas lielo laboratoriju centieniem, šīs lielās laboratorijas centās īsā laikā apmierināt pieprasījumu pēc savlaicīgas diagnostikas diennakts režīmā. Tomēr neapmierinoša situācija, īpaši PQR testu noteikšanas laika un dārdzības dēļ veidojās visā pasaulē.

Tādēļ pašā pandēmijas virsotnē, 2020. gada 11. septembrī Pasaules Veselības organizācija publicēja vadlīnijas – *Antigen-detection in the diagnosis of SARS-CoV-2 infection using rapid immunoassays*, kurās ieteica sākt izmantot antigēnu testus (Ag-tests) Covid–19 diagnostikai. Dokuments saturēja informāciju –, kādiem jābūt ražotāja uzstādītajiem kritērijiem, lai

antigēnutests nodrošinātu diagnostisko kvalitāti. Sākotnēji tikai četrām kompānijām – Ag-testuražotājiem izdevās saņemt atzinumus saviem eksprestestiem no Amerikas pārtikas un zāļu aģentūras (*FDA– FoodandDrugAdministration*), bet tikai divām – no analogas Japānas aģentūras (*Japan’sPharmaceuticalandMedicalDevicesAgency*). Vienkāršības labad Ag-testus sāka saukt par eksprestestiem.

Eksprestesta šķietamais vienkāršums patiesībā sevī slēpj ļoti stingras prasības un mūsdienu augsto tehnoloģiju sasniegumus. To izmantošanasizmantošanas sākumposmā, kad vēl trūka pieredzes un skaidru diagnostikas algoritmu, ļoti aktuāls bija rezultātu uzticamības jautājums. Eksprestestu rašanās un strauja ienākšana globālajā tirgū bija pašsaprotama vairāku iemeslu dēļ:

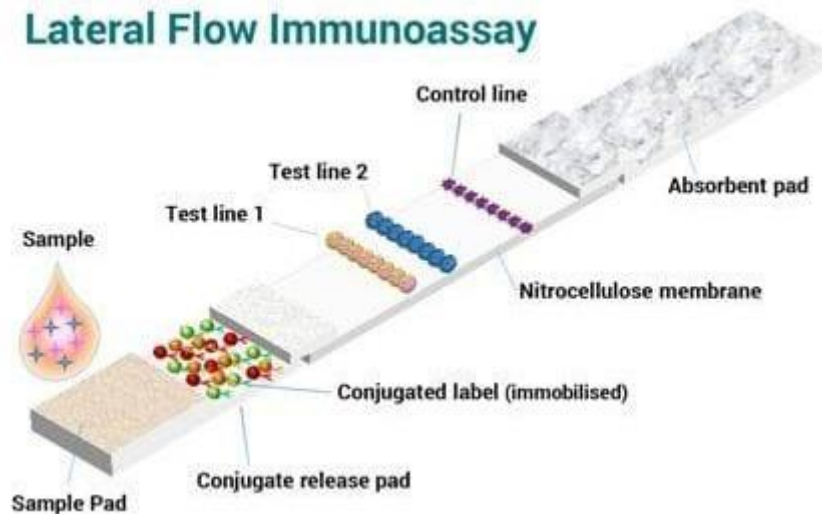
- zemākā cena;
- ātrāks rezultāts;
- iespēja izmantot plašā teritorijā un ārpus lielo laboratoriju sienām.

Pat viskategoriskākā lokdauna (*Lokdown*) laikā jebkurā pasaules valstī ir tādas nozares, kurās attālināta darbošanās nav iespējama – medicīna, būvniecība, komunālie pakalpojumi, tehniskās apkalpes dienesti, pārtikas tirdzniecība un loģistika u.tml. Eksprestests vīrusa antigēna noteikšanai ir ideāls problēmas risinājums, kas ļauj izvairīties no infekcijas izplatīšanās kolektīvā, kā arī – lai testēšana neizraisītu pārtraukumus darba procesos.

Kā darbojas eksprestests?

Eksprestesta pamatā ir imunoloģiskā reakcija, ko mēs esam pieraduši saukt par „sendviča” princips. Parasti tā ir plastmasas kasete, kura satur nitrocelulozes matricu– membrānu. Uz šīs membrānas tiek uzklāts SARS-CoV-2 antivielu molekulārais slānis, un pēc parauga īpašas apstrādes, kas ļauj izdalīt vīrusa antigēnu, tā mikroapjoms tiek pārnest uz membrānu. Vīrusa klātbūtnes gadījumā notiek antigēna – antivielas reakcija un ar speciālu konjugātu palīdzību parādās krāsaina līnija. Pēc šī principa darbojas visi ātrie testi, ko izmanto lietošanai konkrētā vietā ārpus laboratorijas (*pointofcare*). SARS-CoV-2 eksprestesta gadījumā analizējams substrāts ir vīrusa nukleokapsīdais proteīns. Par paraugu PVO rekomendēja ņemt tikai nazofaringeālāsuztriepes, bet jau tajā laikā daži ražotāji mēģināja izmantot citus bioloģiskus paraugus – piemēram, siekalas un citas bioloģiskus šķīdumus.

Lateral Flow Immunoassay



PVO izdotajā dokumentā ir rekomendācija Covid–19 diagnostikai izmantot antigēnu (Ag)ekspresdiagnostiku papildus PĶR testiem, kas tajā brīdī bija (un joprojam ir) šīs infekcijas diagnostikas zelta standarts. 2020. gada decembrī arī Latvijā SPKC antigēnu testu iekļāva Covid–19 diagnostikas algoritmā. (SPKC17.12.2020.vēstule)

Tātad – šobrīd Covid–19 Ageksprestesti ir atzīta diagnostiskas metode.

SARS-CoV-2 Ageksprestestu izmantošanu darbinieku skrīningā šobrīd regulāri un aktīvi izmanto sociāli atbildīgi Latvijas uzņēmumi. Piemēram, nedēļas sākumā vai pirms maiņas 15–20 minūšu laikā eksprestesti ļauj noskaidrot, kuri darbinieki var uzsākt darbu un kuriem jānodas pašizolācijā, līdz šiem darbiniekiem būs sagaidīti apstiprinošā PĶR testa rezultāti. Līdz ar to infekcija darba kolektīvā neizplatās, jo tiek atklāti gan asimptomātiskie infekcijas pārnēsātāji, gan tie, kuri kaut kādu iemeslu dēļ nav ziņojuši par simptomiem.

Sergejs Ņikišins, RAKUS Laboratorijas galvenais speciālists un Nacionālās mikrobioloģijas references laboratorijas (NMRL) vadītāja pienākumu izpildītājs, skaidro, ka uzņēmumu vadītājiem ir jābūt drošiem, ka SARS-CoV-2 ātrie antigēna testi jeb eksprestestiatbilst augstajām specifiskuma un jutīguma prasībām:

“Testam ir jābūt EK vai ES atbilstības deklarācijai, piegādātājam ir jāiesniedz testa veicējiem eksprestesta validācijas protokols (apliecinājums par Ag testu validāciju pret PQR, kurš ir attiecīgi publicēts vienā no ES un EEZ valstīm), ir jābūt CE marķējumam.”

S. Ņikišins arī uzsver, ka saskaņā ar ES Padomes un NMRL ieteikumiem Covid-19 paraugu noņemšanu un Ageksprestesta veikšanu drīkst nodrošināt tikai apmācīts veselības aprūpes vai laboratorijas darbinieks.

VIA UNA pieredze Ageksprestestu veikšanā korporatīviem klientiem

VIA UNA poliklīnika jau kopš 2020. gada marta strādā ar vācu ražotāja *nal von Minden* NADAL Covid-19 Ageksprestestiem lai nodrošināt ātru un kvalitatīvu diagnostiku saviem klientiem un īpaši – saviem pacientiem. VIA UNAlaboratorijas speciālisti ir atbildīgi par iegūto rezultātu, sākot no parauga ņemšanas brīža līdz testēšanas pārskata izrakstīšanas pēdējām punktam.

VIA UNA izveidots speciāls paraugu ņemšanas kabinets, uz kuru pacienti nāk pēc pieraksta, bet īpaši apmācīts personāls strādā, ievērojot visas biodrošības prasības, un, kas ir ļoti svarīgi – primāri pozitīva rezultāta gadījumā (ar Ageksprrestestu) šajā pašā kabinetā ir iespējams paņemt paraugu apstiprinošai testēšanai ar PQR metodi. Testa rezultātu interpretācija un lēmuma pieņemšana ir laboratorijas speciālista atbildība, ko, ņemot vērā klīniskos un epidemioloģiskos datus, speciālists apliecina ar savu parakstu un zīmogu. Rezultātā patients saņem latviešu un angļu valodas sertifikātu, kas ir derīgs arī ceļošanai uz dažādām valstīm. Sertifikātu noformēšana un saturs atbilst ES reglamentam – *ANNEX II: Common standardised data set to be included in COVID-19 test resultcertificates* [https://ec.europa.eu/health/sites/default/files/preparedness_response/docs/covid-19_rat_common-list_en.pdf]

VIA UNA darbības princips šajā jomā ir – klīnikas cienījamie korporatīvie klienti uztic mums savu kolektīvu veselību, un tā, protams, ir liela atbildība! Viens no mūsu nozīmīgiem korporatīviem klientiem ir viena no nozīmīgākām Latvijas būvkompanijām *AS LNK Industries*. Kā atzīst *AS LNK Industries* valdes loceklis Kaspars Ratkevičs, ļoti svarīgai darbinieku drošība un veselība gan birojā, gan būvobjektos: “Īpaši svarīgi ir rūpēties par darbinieku veselību būvobjektos, kur darbs pandēmijas apstākļos neapstājas. Tāpēc eksprestestēšanu esam veikuši gandrīz visos *AS LNK Industries* objektos – kopumā vairākus simtuseksprestestu. Atsevišķos gadījumos tieši darbinieku testēšana ir paglābusi mūs no Covid-19 izplatības uzņēmumā. Augstu vērtējam klīnikas VIA UNA izbraukuma eksprestestēšanas iespēju, ko izmantojam jau no 2020. gada novembra. Tas sniedz papildus drošību gan uzņēmumam kopumā, gan katram darbiniekam”

Kad, kur un kādos gadījumos ieteicams izmantot Ageksprestestus?

ES vadlīnijas <https://data.consilium.europa.eu/doc/document/ST-5451-2021-INIT/en/pdf> satur rekomendācijas – kurun kādos gadījumos ieteicams izmantot tieši Ageksprestestus:

- pēc kontakta ar inficētu vai potenciāli inficētucilveku – pēc iespējas ātrāk, 7 dienu laikā;
- augsta riska zonās: medicīnas iestādēs, sociālās aprūpes iestādēs, skolās, cietumos un citās vietās, kur nevar izvairīties no pulcēšanas. 2021. gada 13. janvārī LR Ministru prezidents Krišjānis Kariņš publiski paziņojis, ka tiks atbalstīts Labklājības Ministrijas priekšlikums sociālās aprūpes iestādēs testēšanai izmantot Ageksprestestus. Diemžēl šis priekšlikums netika ieviests dzīvē, neskatoties uz to, ka tas būtu devis iespēju savlaicīgi izolēt inficēto cilvēku un glābt dzīvības;
- epidemioloģiski nelabvēlīgās zonās, piemēram, vietās, kur dzīvo bezpajumtnieki, *bomži*, migranti un cilvēki, kurus nav iespējams izolēt no apkārtējiem;
- masveida skrīningam situācijās, kad infekcijas izplatība populācijā ir augsta, proti, kad pozitīvo PQR testu daudzums pārsniedz 10%.

Latvijas Veselības ministrijas atbildīgā institūcija – SPKC rekomendē:

„...SARS-Cov-2 antigēna noteikšanu organizē ārstniecības iestādes laboratorijās. Testu veic simptomātiskiem pacientiem agrīnajā fazē pirmajās 5 slimības dienās, riska grupas izmeklēšanas gadījumos

...un kad nav iespējas veikt PQR testu”

Kādus eksprestestus izvēlēties – globālā un VIA UNA pieredze

Pēdējā laikā Latvijā brīvi nopērkami dažādu ražotāju piedāvātie Covid–19 Ageksprestesti. Tas var maldināt uzņēmumu vadītājus, ka skrīninga testēšanu ar jebkuriem eksprestestiem var noorganizēt uz vietas pašiem ar saviem spēkiem. Biežāk šāda rīcība var beigties ar atziņu, ka velti iztērēta nauda un laiks, jo vīrusa klātbūtne netiek konstatēta, bet infekcija izplatās. Viltus negatīvs rezultāts nepadz uzņēmuma vadībai viltus drošības izjūtu un neaptur infekcijas izplatību, bet tā nedēļas laikā var likt pat apstādināt ražošanu. Tāpēc nepieciešams uzticēties medikiem un ražotājiem, kuri var pierādīt sava testa kvalitāti. Augstāk pieminēta ES direktīva *5451 Concil Recommendation...* nosaka Ageksprestestu lietošanas noteikumus. Te vietā piebilst, ka nespeciālistam viegli sajaukt lietošanas noteikumus ar lietošanas instrukciju, kas parasti ir vienkārša informatīva ieliktnīte.

Sekojošajās rekomendācijās un lietošanas noteikumos, VIA UNA izvēlējusies Vācijas ražotāja *nal von Minden* SARS-CoV-2 Ageksprestestus, un lietošanas noteikumi mums liek:

- obligāti jābūt apmācītam personālam;
- stingri ievērotbiodrošību;
- nodrošināt iespēju apstiprināt rezultātu ar PQR metodi;
- nodrošināt laboratorijas speciālistu, kas atbild par diagnostisku stratēģiju, t.sk. testu izvēli.

Vācijas ražotājs *nal von Minden* nodrošina savu produkciju ar visiem nepieciešamiem dokumentiem. No tiem ir ļoti nozīmīgi ir pētījumi, kas veikti Berlīnes Šarītē klīnikā (*Institute of Virology, Charite-Universitatmedizin Berlin, German Centre for Infection Research, Institute for Infection Medicine*), kur atrodams arī dažādu Ageksprestestu salīdzinājuma detalizētais apraksts. Pētījuma mērķis ir bijis salīdzināt dažādu ražotāju eksprestestus lai noteiktu – kādi kritēriji (specifiskums un jutība) ir piemēroti lietošanai Eiropas Savienības teritorijā un kāda klīniskā nozīme eksprestestiem ir. Īsumā dažas atziņas:

- izmeklējamais materiāls – Ageksprestesti no 7 ražotājiem, t.sk. tādi ļoti pazīstami zīmoli kā *Abbot Panbio, R-Biofarm RIDA®QUICK, Roche /SD Biosensor, nal von Minden NADAL COVID-19 Ag test* un citi;
- SARS-2-CoV vīrusa kopiju daudzums – no 2.08×10^6 līdz 2.88×10^7 uz vienu uztriepi lai noteikt specifiskumu, kura ir 98.53–100% intervalā, bet 2 eksprestestiar zemāko specifiskumu (94.85% un 88.24%) bija noteikti kā „autsaideri”;
- par pozitīvo materiālu bija izmantoti šūnu kultūras supernatants, kas satur vīrusa nukleoproteīnu, sintētiskais rekombinants, kā arī klīniskie paraugi – uztriepes no inficētiem pacientiem;
- par negatīvo materiālu bija izmantotas uztriepes no veseliem volontieriem;
- ir standartizēti atbilstošie noteikumi – analītiskāi jutībai jābūt $\geq 90\%$, bet specifiskumam jābūt $\geq 97\%$.

Pētījumā iegūtie rezultāti atrodami Eiropas savienības veselības drošības komitejas (*ES Health Security Committee*) vadlīniju [*EU health preparedness: 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] pamatā, kas pēc būtības ir tādu Ageksprestestu saraksts, kuru lietošanai ieteicam lietošanai Eiropas teritorijā. Dokuments viegli pieejams internetā:

https://ec.europa.eu/health/sites/default/files/preparedness_response/docs/covid-19_rat_common-list_en.pdf

VIA UNA klīnikas izvēle – Vācijas ražotāja *nal von Minden* SARS-CoV-2 Ageksprestesti, kam ir ļoti augstadiagnostiska jutība – 97.56% un specifiskums – 99,9 %, ko apstiprina validācijas protokols no Ķīles Kristiāna Albrehta universitātes Infekcijas medicīnas institūta, Vācijas Infekciju izpētes centra (DZIF) un Berlīnes Universitātes Šarītēslimnīcas Virusoloģijas institūta. Apstiprināts, ka ar *nal von Minden* SARS-CoV-2 Ageksprestestupozitīvs rezultāts būs arī, ja infekciju izraisa tā dēvētās Lielbritānijas un Dienvidāfrikas Covid-19 vīrusa mutācijas.

Sākotnējā neuzticība eksprestestiem bija saprotama, ņemot vērā sabiedrībā valdošo paniku, pretrunas un brīžam maldinošo informāciju sabiedriskajos medijos un sociālajos tīklos. 2021. gada sākumā internetā cirkulēja video, kurā Ageksprestesta pozitīvs rezultāts bija iegūts arī CocaCola dzērienā, un videoklips bija pastiprināts ar skatītāju aplausiem. Nākamajā dienā *nal von Minden* paskaidroja un atklāja šātrika noslēpumu. Izmantojot šķīdumus ar dažādu *pH* reakciju (2.2–7.9 intervālā) ir pierādīts ka pie *pH* 2.8–3.0 konjugāti, kas pārklāj membrānu sāk sabrukšanas procesu, bet rezultāts ir krasainasstrīpiņas.

Pieaugot pieprasījumam pēc testēšanas ar eksprestestiem, klīnikas VIA UNA speciālisti veica aptauju, lai noskaidrotu – vai cilvēki izprot, kuros gadījumos ir svarīgi lai rezultāts būtu zināms 15 minūšu laikā. Atbildēs uz šo jautājumu biežāk tika norādīts, ka tas ir svarīgi:

- sajūtot pirmos saaukstēšanās simptomus;
- lai saprastu – vai cilvēks neapdraud citus;
- pirms darba dienas sākšanas klātienē (ja ir kādi viegli simptomi vai to nav, bet ir bijuši kontakti ar neapzinīgiem cilvēkiem, kuri neievēro epidemioloģiskās prasības);
- pirms medicīnas iestādes apmeklējuma;
- pirms izceļošanas no valsts;
- dodoties uz mājām, kurās ir vecāki cilvēki, lai justos droši, ka nav iegūta infekcija un to nevar nodot vecākiem cilvēkiem.

Aptauja parādīja, ka ļoti daudzās situācijās cilvēkiem, kas domā par savu un apkārtējo drošību, ir svarīgi saņemt testa rezultātu 15 minūšu laikā. Tagad no *nal von Minden* un klīnikas VIA UNAtiek piedavats vēl viens „bonuss” – ražotājs uzlabojis un atvieglojis parauga paņemšanas procedūru, kas bija mazliet sāpīga un nepatīkama. Tagad testa veikšanai ir vajadzīga tikai uztriepe no deguna ejas priekšējās daļas.

Šobrīd liela nozīme ir centieniem izvēlēties labāku un ērtāku diagnostisko produktu, jo Covid-19, atšķirībā no parastajām un ierastajām slimībām ir ļoti nozīmīga ekonomiska un pat juridiska ietekme uz valsti, uzņēmumu un ikvienu darba kolektīvu.