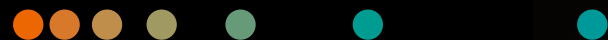


Właściwości analityczne i kliniczne testu FTD SARS-CoV-2

ECCVID 2020 ePoster - Sesja posterowa online



Analytical and Clinical Performance Characteristics of the FTD SARS-CoV-2 Assay*

Ménard L, Leidinger-Kaufmann P, Eduardo Correia B, Goretti E, Gilles A, Soliman R, Pina P, Cruz P, Schleichert M.
Siemens Healthineers, Esch-Sur-Alzette (Luksemburg)

Wstęp

- Firma Fast Track Diagnostics (FTD) zareagowała na pandemię COVID-19, opracowując test FTD SARS-CoV-2. Jest to test diagnostyczny in vitro, który ułatwia rozpoznawanie zakażeń wirusem SARS-CoV-2 u chorych z objawami jak i nieobjawowych nosicieli.
- Opracowano test w technologii dual target ukierunkowany na gen ORF1ab i gen N SARS-CoV-2.
- W procedurze wykrywania genów wirusa SARS-CoV-2 stosowany jest ten sam barwnik i kanał detekcji. Technika dual target pozwala na:
 - Zwiększenie czułości testu
 - Zoptymalizowane wykrywanie możliwych mutantów



Znakomita czułość analityczna

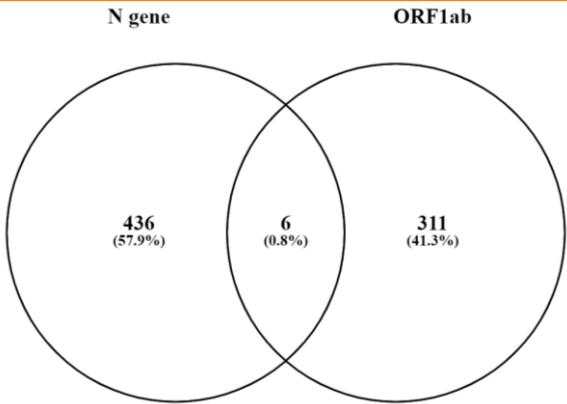
- Do symulowanej macierzy oddechowej dodano kwantyfikowaną, inaktywowaną termicznie hodowlę SARS-CoV-2 (US-WA1/2020).
- Przeprowadzono analizę Probit w celu obliczenia LoD: 0,0023 TCID50/ml (CI: 0,0015–0,003).
- LoD potwierdzono badając 23 pojedyncze próbki (SRM z domieszką hodowli).

Patogen	Seria PPmix	LoD (TCID50/ml)	Przebadano ogółem	Wykryto ogółem	Wskaźnik wykrywalności (%)	Średnia wartość Ct	SD
SARS-CoV-2	1	0,0023	23	22	95,7	37,4	0,8
	2		23	22	95,7	38,0	0,9
	3		23	23	100,0	37,4	0,9

Badanie inkluzywności in silico pokazuje 100% wskaźnik wykrywalności na ponad 64 000 sekwencjach z międzynarodowej bazy danych

Test	Bazy danych	Przebadane kompletne genomy/ Wykryte kompletne genomy	Wskaźnik wykrywalności (%)
Gen N	GeneBank + GISAID	64253/64253	100
ORF1ab	GeneBank + GISAID	65051/65051	100

- 442 sekwencje wykazały jedno niedopasowanie z testem genu N.
- 317 sekwencji wykazało jedno niedopasowanie z testem ORF1ab.
- 0,8% pokrycia między sekwencjami wykazującymi niedopasowanie z testem genu N i ORF1ab.
- Dzięki strategii dual target, co najmniej jeden z tych dwóch testów wiąże się bez żadnego niedopasowania z pozostałymi 747 sekwencjami.



*Wyrób oznakowany znakiem CE-IVD przeznaczony do użytku diagnostycznego in vitro w UE. Test został dopuszczony przez FDA do stosowania przez autoryzowane laboratoria w sytuacjach nagłej potrzeby (EUA). Test został dopuszczony wyłącznie do oznaczania pochodzącego z wirusa SARS-CoV-2 kwasu nukleinowego, nie zaś do wykrywania jakichkolwiek innych wirusów lub patogenów. Test został dopuszczony do stosowania wyłącznie przez okres czasu, w którym istnieją okoliczności uzasadniające zezwolenie na stosowanie w sytuacjach nagłej potrzeby dla diagnostyki in vitro do wykrywania i/lub diagnozowania choroby COVID-19 zgodnie z sekcją 564 (b) (1) ustawy, 21 U.S.C. § 360bbb-3(b)(1), o ile zezwolenie to wcześniej nie wygaśnie lub nie zostanie wycofane.

Nie zaobserwowano reaktywności krzyżowej in vitro

Lista patogenów przebadanych pod kątem potencjalnej reaktywności krzyżowej

SARS Koronawirus	Wirus grypy typu A
Koronawirus MERS	Wirus grypy typu B
Ludzki koronawirus 229E	Syncytialny wirus oddechowy typu A
Ludzki koronawirus HKU1	Syncytialny wirus oddechowy typu B
Ludzki koronawirus OC43	Adenowirus 71
Ludzki koronawirus NL63	Enterowirus
Wirus paragrypy 1	Chlamydomphila pneumoniae
Wirus paragrypy 2	Haemophilus influenzae
Wirus paragrypy 3	Legionella pneumophila
Wirus paragrypy 4	Bordetella pertussis
Ludzki metapneumowirus typu A	Mycoplasma pneumoniae
Ludzki metapneumowirus typu B	Streptococcus pneumonia
Rinowirus	Prątek gruźlicy
Streptococcus salivarius	Legionella spiritensis
Staphylococcus epidermidis	Streptococcus pyogenes
Legionella sainthelensi	Pneumocystis carinii (Pneumocystis jirovecii)
Pula popłuczyn z nosa	

Nie zaobserwowano reaktywności krzyżowej in silico

- Analizie in silico poddano 32 szczepy bakterii/wirusów/grzybów z użyciem narzędzia NCBI BLAST.
- Podobieństwo sekwencji $\geq 80\%$ przypadające na starter lub sondę zastosowano jako kryterium potencjalnej reaktywności krzyżowej (rozpatrywanych sześć patogenów).

	Zakres (%)					
	Test N			Test ORF1ab		
	Fw	Pb	Rw	Fw	Pb	Rw
Legionella non-pneumophila*	78	67	83	73	74	77
Staphylococcus epidermis	83	63	83	68	57	77
Staphylococcus salivarius	72	60	70	68	70	91
Koronawirus SARS	67	90	78	68	57	95
Rinowirus	83	50	65	59	57	64

*Spośród szczepów Legionella non-pneumophila, Legionella sainthelensi i Legionella spiritensis wykazały homologię $> 80\%$ dla danych starterów.

Brak wpływu potencjalnych organizmów interferujących

- Badanie interferencji ze strony mikroorganizmów przeprowadzona poniższych sześciu organizmach.
- Kultury patogenów ekstrahowane przy wysokim stężeniu i w obecności SARS-CoV-2 3x LoD

Próbka	ΔCt ((SARS-CoV2 + IO) Ct – SARS-CoV-2 Ct)
Organizm interferujący (IO)	
Streptococcus salivarius	0,57
Staphylococcus epidermidis	0,17
Legionella sainthelensi	0,23
Legionella spiritensis	0,27
Rinowirus	0,43
Koronawirus SARS (szczep frankfurcki)	-0,3

Brak wpływu potencjalnych substancji interferujących

10 substancji interferujących (IS) przebadanych w obecności SARS-CoV-2 (3x LoD).

SARS-CoV-2 wykryto w obecności wszystkich IS z maksymalnym przesunięciem Ct o 1,0

v/v = objętość do objętości, µg/ml = mikrogramy na mililitr, µmol/l = mikromole na litr, mmol/l = milimole na litr, mg/ml = miligramy na mililitr, xylo: ksylometazolina.

Substancja	Badane stężenie	$\Delta Ct ((IS+SARS-CoV-2) Ct - SARS-CoV-2 Ct)$
Pełna krew	10% (v/v)	0,8
Mucyna (bydlęca)	60 µg/ml	0,0
Salbutamol	1,7 µmol/l	0,0
Spray do nosa (xylo)	10% (v/v)	-0,3
Spray do nosa (sole)	10% (v/v)	0,8
Gwajafenezyna	15,2 mmol/l	0,0
Acetylocysteina	920 µmol/l	-0,2
Nikotyna	6,2 µmol/l	0,8
Benzokaina	0,63 mg/ml	0,3
Oseltamiwir	1,5 mg/ml	1,0

Badanie precyzji wykazuje znakomitą powtarzalność i odtwarzalność

Schemat badania: trzy serie i dwa używane aparaty, przeprowadzone przez dwóch operatorów w ciągu 3 dni.

Wartość docelowa	Stężenie	n	Powtarzalność (SD)	Odtwarzalność (SD)	Powtarzalność (% CV)	Odtwarzalność (% CV)
SARS-CoV-2	ULoD	105	0,78 (0,68–0,9)	0,95 (0,73–1,37)	2,05 (1,8–2,38)	2,51 (1,92–3,61)
	5x LoD	108	0,48 (0,42–0,55)	0,72 (0,5–1,26)	1,33 (1,17–1,54)	2,01 (1,4–3,51)

Współczynnik zmienności
<5%

Badania kliniczne wykazują znakomitą czułość i swoistość diagnostyczną

Pierwsze badanie:

- Komparator 1: CE IVD Zestaw NAAT
- Świeże próbki (15 NPS [z nosogardzieli], 86 OPS [z jamy ustnej i gardła])
- Badana populacja: dzieci, młodzież i dorośli płci męskiej i żeńskiej

CE IVD, Test RT-PCR			
		Dodatni	Ujemny
FTD SARS-CoV-2		43	0
		Ujemny	0
Dodatnia zgodność procentowa		100% (43/43) (95% CI: 91,8, 100)	
Ujemna zgodność procentowa		100% (58/58) (95% CI: 93,8, 100)	

Drugie badanie:

- Komparator 2: Zestaw NAAT dopuszczony przez FDA w ramach EUA [stosowanie w sytuacjach nagłej potrzeby]
- Próbki mrożone (NPS - z nosogardzieli)
- Badana populacja: dorośli płci męskiej i żeńskiej

Test RT-PCR FDA EUA			
		Dodatni	Ujemny
FTD SARS-CoV-2		44	0
		Ujemny	0
Dodatnia zgodność procentowa		100% (44/44) (95% CI: 91,97, 100)	
Ujemna zgodność procentowa		100% (30/30) (95% CI: 88,65, 100)	

Wniosek

Test FTD SARS-CoV-2 wykazuje doskonałe działanie analityczne i kliniczne. Jest odpowiedni do swoistego wykrywania SARS-CoV-2.

- Kompleksowe badanie inkluzywności in silico wykazuje 100% wskaźnik wykrywalności w ponad 64 000 sekwencji z międzynarodowych baz danych.
- Znakomita czułość analityczna, powtarzalność i odtwarzalność.
- Nie zaobserwowano reaktywności krzyżowej in vitro i in silico.
- Brak wpływu potencjalnych substancji lub mikroorganizmów interferujących.
- 100% dodatnia i ujemna zgodność z dwiema metodami porównawczymi na próbkach klinicznych.