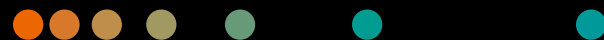


Test FTD SARS-CoV-2

Właściwości analityczne i kliniczne

Test molekularny wykrywający SARS-CoV-2

Luty 2021



Test FTD SARS-CoV-2*

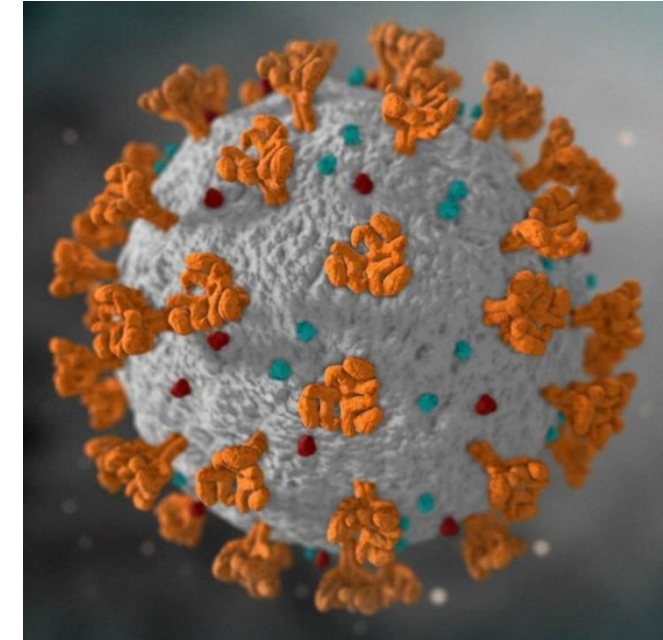
instrukcja użytkowania

- *Instrukcja użytkowania* zawiera informacje ogólne oraz informacje techniczne dla użytkownika dotyczące przeznaczenia i prawidłowego użytkowania, w tym przeciwwskazania, ostrzeżenia i środki ostrożności, które należy podjąć.
- Niniejsza prezentacja ma na celu szczegółowe omówienie analitycznych i klinicznych właściwości testu FTD SARS-CoV-2.
- Zachęcamy użytkowników do zapoznania się z *instrukcją użytkowania* testu FTD SARS-CoV-2 w celu uzyskania pełnych szczegółowych danych i informacji.
- *Instrukcja użytkowania* jest dostępna w kilku językach i można ją pobrać bezpośrednio ze [strony internetowej FTD](#).

Test FTD SARS-CoV-2*

Przeznaczenie

- Test FTD SARS-CoV-2 to jakościowy test amplifikacji kwasów nukleinowych *in vitro* do wykrywania kwasów nukleinowych koronawirusa 2 (SARS-CoV-2 wywołującego zespół ciężkiej niewydolności oddechowej) w wymazach z nosogardzieli oraz jamy ustnej i gardła u pacjentów z przedmiotowymi i podmiotowymi objawami zakażenia wirusem SARS-CoV-2 w powiązaniu z klinicznymi i epidemiologicznymi czynnikami ryzyka, u których podejrzewa się COVID-19.
- Test jest przeznaczony do stosowania pomocniczo w diagnostyce zakażeń wywołanych przez wirusa SARS-CoV-2.



Test FTD SARS-CoV-2

Czułość analityczna (granica wykrywalności, LoD)

- Wyizolowane i skwantyfikowane RNA rozcieńczono w buforze TE* i zbadano w teście PCR FTD SARS-CoV-2 w czasie rzeczywistym (24 powtórzenia / poziom stężenia).
- Granica wykrywalności (LoD) określono na podstawie analizy Probit (95% wykrywalności).
- Nie przeprowadzono izolacji (żaden wzorzec do izolacji nie był dostępny dla laboratoriów BSL2).

RNA wirusa SARS-CoV-2 w ludzkich komórkach BetaCoV/Niemcy/BavPat1/2020 p.1		
	Granica wykrywalności (LoD) (kopie/mL)	95% CI (kopie/mL)
SARS-CoV-2	1155	854-1508



LoD = granica wykrywalności, kopie/mL = kopie na mililitr, CI = przedział ufności

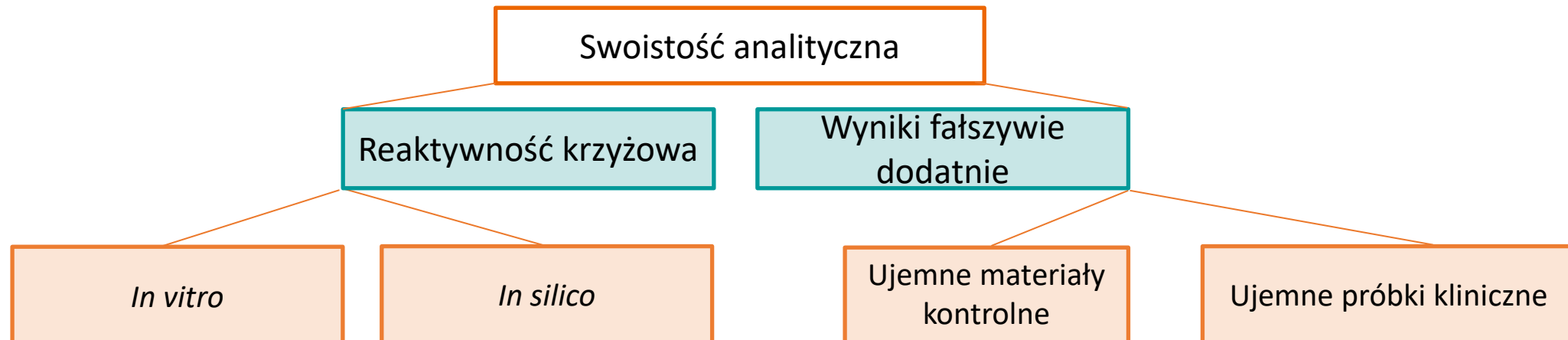
* Roztwór Tris-EDTA, pH 8

Test FTD SARS-CoV-2

Swoistość analityczna *in vitro* oraz ogólne informacje o analizach *in silico*

Specyficzność analityczna testu multipleksowego PCR to zdolność pomiaru do mierzenia wyłącznie docelowego wirusa SARS-CoV-2.

- **Reaktywność krzyżowa:** Zdolność testu do specyficznego wykrywania docelowych patogenów, **ale nie żadnych innych** organizmów w próbkach biologicznych.
- **Wyniki fałszywie dodatnie:** Pewność, że wyniki testu nie będą fałszywie dodatnie w przypadku oznaczania próbek ujemnych/materiału ujemnego (przygotowanych z wykorzystaniem ludzkiego DNA/RNA).



Test FTD SARS-CoV-2

Badanie *in vitro* dotyczące reaktywności krzyżowej

- Test FTD SARS-CoV-2 został poddany badaniom *in vitro* pod kątem potencjalnej reakcji krzyżowych z 26 typowymi organizmami występujących we florze fizjologicznej człowieka oraz organizmami patogennymi powodującymi zakażenia dróg oddechowych.
- Testy reaktywności krzyżowej przeprowadzono w trzech powtórzeniach przy użyciu kilku puli specjalnie przygotowanych próbek, do których dodawano komercyjne źródła patogenów lub wyizolowane DNA/RNA patogenów.
- Pule **ekstrahowano** przy użyciu systemu ekstrakcji bioMérieux easyMAG i badano w termocyklerze ABI7500.

Lista patogenów przebadanych pod kątem reaktywności krzyżowej*

Koronawirus SARS-CoV-1	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	<i>Chlamydomphila pneumoniae</i>
Wirus paragrypy 2	<i>Haemophilus influenzae</i>
Wirus paragrypy 3	<i>Legionella pneumophila</i>
Wirus paragrypy 4	<i>Bordetella pertussis</i>
Ludzki metapneumowirus typu A	<i>Mycoplasma pneumoniae</i>
Ludzki metapneumowirus typu B	<i>Streptococcus pneumonia</i>
Rinowirus	<i>Mycobacterium tuberculosis</i>

* Wyróżnione kolorem pomarańczowym: Wszystkie patogeny, w tym 4 spokrewnione ze sobą koronawirusy, które wchodzą w skład 21 patogenów układu oddechowego FTD
Wyróżnione kolorem turkusowym: Inne spokrewnione ze sobą koronawirusy

**Nie zaobserwowano
reaktywności krzyżowej**

Test FTD SARS-CoV-2

Reaktywność krzyżowa w analizie *in silico*

- Analizy *in silico* z zastosowaniem BLAST (podstawowego narzędzia do wyszukiwania lokalnych dopasowań).
- Wyszukano regiony podobieństwa dla wszystkich starterów i sond w **bazie sekwencji nukleotydowych NCBI**.
- Wykluczono sekwencje należące do wirusa SARS-CoV-2.
- Podobieństwo sekwencji $\geq 90\%$ przypadające na primera lub sondę zastosowano jako kryterium potencjalnej reaktywności krzyżowej.
- Dopuszczalne są maksymalnie 4 niedopasowania między starterem/sondą a sekwencją docelową.

Nie zaobserwowano żadnej reaktywności krzyżowej ze strony organizmów występujących w prawidłowej florze ludzkiej oraz jakichkolwiek innych patogenów powodujących zakażenia dróg oddechowych u ludzi.

Patogen	Potencjalna reaktywność krzyżowa	Homologia sekwencji z wirusem SARS-CoV-2 (NC_045512)
SARS-CoV-2	Koronawirus wyizolowany z nietoperza RaTG13 (MN996532.1)	96,1%
	Koronawirus wyizolowany z łuskowca MP789 (MT084071.1)	78,7%

Test FTD SARS-CoV-2

Swoistość w przypadku próbek ujemnych

Test FTD SARS-CoV-2 był badany przy użyciu wyekstrahowanych ujemnych materiałów kontrolnych i ujemnych próbek klinicznych, a także przy użyciu materiałów kontrolnych innych niż wzorcowe.

Patogen	Badany ujemny materiał kontrolny	Reakcje ogółem	Wyniki dodatnie	Swoistość analityczna %	Przedział ufności %
SARS-CoV-2	Ujemna próbka kliniczna	50	0	100	92,89-100,00
	Ujemny materiał kontrolny	35	0	100	90,00-100,00
	Materiał kontrolny inny niż wzorcowy	34	0	100	89,72-100,00
Razem		119	0	100	96,95-100,00

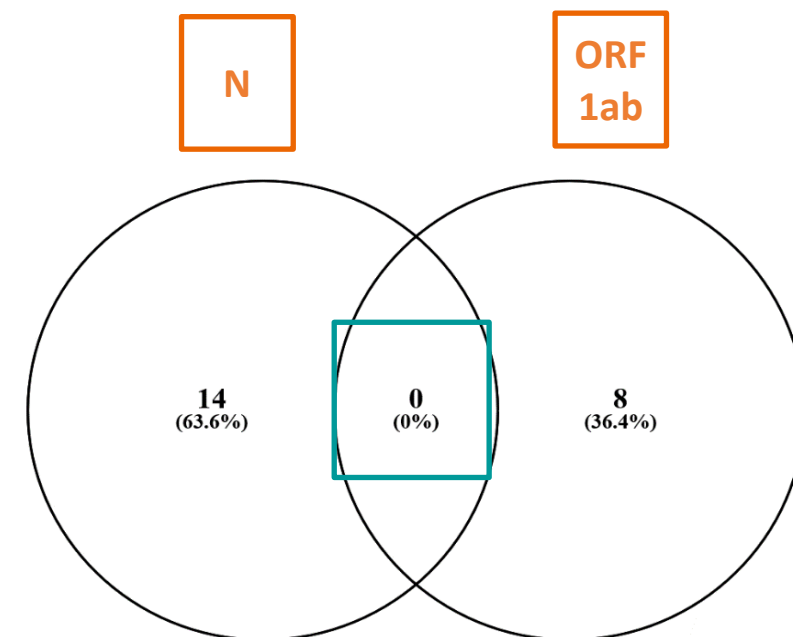
Swoistość analityczna 100%

Test FTD SARS-CoV-2

Inkluzywność (reaktywność analityczna) - Analiza *in silico*

- Analiza *in silico* na 1048 sekwencjach SARS-CoV-2 o pełnej długości pobranych z baz sekwencji nukleotydowych NCBI i GISAID (zakończona na **901 prawidłowych sekwencjach**).
- Primery i sondy mapowano na sekwencje w celu sprawdzenia potencjalnych dopasowań wytwarzających amplikony (tolerancja 4 niedopasowania).
- 100% wskaźnik wykrywalności w teście antygenowym do wykrywania wirusa SARS-CoV-2 N :**
887 sekwencji bez niedopasowania, 14 sekwencji z 1 niedopasowaniem.
- 100% wskaźnik wykrywalności w teście SARS-CoV-2 ORF1ab :**
893 sekwencji bez niedopasowania, 8 sekwencji z 1 niedopasowaniem.
- Sekwencje nie pokrywają się i wykazują niedopasowanie w obrębie genu N i w teście ORF1ab.**

Testy	Baza danych	Przebadane kompletne genomy	Wykryte kompletne genomy	Wskaźnik wykrywalności %
SARS-CoV-2 (gen N)	Bank Genów	96	96	100
	GISAID	805	805	100
SARS-CoV-2 (ORF1ab)	Bank Genów	96	96	100
	GISAID	805	805	100



→ Ze względu na podejście dualtarget, co najmniej jeden z tych dwóch testów wiąże się bez żadnego niedopasowania z wyżej wymienionymi 22 sekwencjami.

Precyzja testu FTD SARS-CoV-2 została oceniona na podstawie badań dotyczących **powtarzalności** i **odtwarzalności** materiału testowego przy stężeniu równym 5 x LoD oraz zbliżonym do LoD.

- Powtarzalność ocenia pomiary wykonane w tych samych warunkach (zmiennosc w ramach tego samego oznaczenia).
- Odtwarzalność pozwala ocenić wyniki pomiarów w zmienionych warunkach (zmiennosc między oznaczeniami *).

Stężenie	n	Powtarzalność (SD)	Odtwarzalność (SD)	Powtarzalność (% CV)	Odtwarzalność (% CV)
5x LoD	24	0,43 (0,33-0,61)	0,49 (0,34-0,85)	1,2 (0,93-1,7)	1,35 (0,94-2,35)
zbliżone do LoD	23	0,8 (0,61-1,15)	0,95 (0,64-1,79)	2,1 (1,61-3,03)	2,49 (1,69-4,71)

CV < 5%

*Np. Zmienność czasu, operatora i cyklera
CV = Współczynnik zmienności

Test FTD SARS-CoV-2

Badanie interferencji

Przeprowadzono badanie interferencji w celu oceny ryzyka, że wyniki testu FTD SARS-CoV-2 będą błędne w przypadku obecności potencjalnych substancji interferujących w próbce klinicznej.

- Sztuczna matryca z domieszką substancji interferującej.
- Ekstrakcja w trzech powtórzeniach (easyMAG).
- Eluat z domieszką RNA wirusa SARS-CoV-2 przy stężeniu równym 3x LoD.
- Reakcja łańcuchowej polimerazy z odwrotną transkrypcją (RT-PCR) w teście FTD SARS-CoV-2 z jednej serii.

Odczynnik	Badane stężenie
Pełna krew	10% (v/v)
Mucyna (bydłęca)	60 µg/mL
Salbutamol	1,7 µmol/L
Spray do nosa (Xylo.)	10% (v/v)
Spray do nosa (sole)	10% (v/v)
Gwajafenezyna	15,2 mmol/L
Acetylocysteina	920 µmol/L
Nikotyna	6,2 µmol/L
Benzokaina	0,63 mg/mL
Oseltamiwir	1,5 mg/mL

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

**Nie
zaobserwowano
interferencji**

Test FTD SARS-CoV-2

Właściwości kliniczne: Test FTD SARS-CoV-2 w porównaniu z testem Seegene Allplex 2019-nCoV

Porównanie z 43 dodatnimi i 58 ujemnymi próbkami klinicznymi oznaczanymi przy użyciu testu Seegene.*

15 wymazów z nosogardzieli i 86 wymazów z jamy ustnej i gardła.*

Patogen	Rodzaj próbki	Czułość diagnostyczna			Swoistość diagnostyczna		
		95% przedział ufności		95% przedział ufności	95% przedział ufności		95% przedział ufności
		Odsetek	Łączna liczba		Odsetek	Łączna liczba	
SARS-CoV-2	NPS	100%	12/12	73,5-100	100%	3/3	29,2-100
	OPS	100%	31/31	88,8-100	100%	55/55	93,5-100
	Ogółem	100%	43/43	91,8-100	100%	58/58	93,8-100

* Próbki kliniczne były ekstrahowane przy użyciu systemu ekstrakcji bioMérieux easyMAG dla obydwu testów.

Podsumowanie charakterystyki działania

Charakterystyka	Wyniki
Granica wykrywalności	11,55 kopii/reakcja (bez ekstrakcji)
Reaktywność krzyżowa	Brak reaktywności krzyżowej <i>in vitro</i> z 26 typowymi organizmami występujących we florze fizjologicznej człowieka oraz organizmami patogennymi powodującymi zakażenia dróg oddechowych, w tym 6 koronawirusami. Brak reaktywności krzyżowej <i>in silico</i> według bazy sekwencji nukleotydowych NCBI.
Swoistość analityczna	100% przy użyciu 50 ujemnych próbek klinicznych, 35 ujemnych materiałów kontrolnych oraz 34 materiałów kontrolnych innych niż wzorcowe
Inkluzywność	Analiza <i>in silico</i> wykazała 100% wskaźnik wykrywalności na podstawie 901 sekwencji pełnej długości z baz sekwencji nukleotydowych NCBI i GISAID
Precyzja	Powtarzalność i odtwarzalność CV <5%
Interferencje	Brak interferencji ze strony 10 potencjalnych substancji interferujących w próbkach klinicznych
Właściwości kliniczne	100% czułość diagnostyczna i 100% swoistość diagnostyczna w porównaniu z testem Seegene Allplex 2019-nCoV

Siemens Healthcare Sp. z o.o.

Diagnostyka Laboratoryjna

Diagnostyka Molekularna

ul. Żupnicza 11

03-821 Warszawa

Tel. 22 870 92 71

siemens-healthineers.com/pl/

dr inż. Karol Tuśnio

Tel. +48 728 430 396

e-mail: karol.tusnio@siemens-healthineers.com
