

**Souprava k detekci spike glykoproteinu nového koronaviru  
(kompetitivní chromatografie ligand-receptor)**

## **Zpráva z klinického hodnocení**

**Název diagnostických reagensů in vitro používaných v testu:** Souprava k detekci spike glykoproteinu nového koronaviru (kompetitivní chromatografie ligand-receptor)

**Specifikace:** 25 testů v krabici

Data zahájení a ukončení testu: 11. – 19. 8. 2020

Žadatel: New Gene (Hangzhou) Bioengineering Co., Ltd.

Adresa: Room 1606, Floor 16, Building 5, 688 Bin'an Road, Changhe Street, Binjiang  
District, Hangzhou City, Zhejiang Province, ČLR

Zpráva vydána dne: 29. 8. 2020

## Souhrn

Soupravou k detekci spike glykoproteinů nového koronaviru (kompetitivní chromatografie ligand-receptor), kterou vyvinula společnost New Gene (Hangzhou) Bioengineering Co., Ltd., lze rychle kvalitativně detekovat S-glykoprotein a nukleokapsidový protein nového koronaviru (SARS-COV-2) ve vzorcích lidského sputa nebo stolice. Soupravu je možno používat jako doplňkový test při diagnostice onemocnění COVID-19.

Podle plánu klinického hodnocení se souprava k detekci spike glykoproteinů nového koronaviru (kompetitivní chromatografie ligand-receptor) (nadále též „hodnocená reagensie“) použije k testování vzorků sputa nebo stolice zdravých subjektů a potvrzených pacientů s onemocněním COVID-19. Výsledky testů se porovnávají s výsledky získanými jinou komerční soupravou – soupravou na detekci nukleové kyseliny SARS-COV-2, která má schválení čínského Úřadu pro potraviny a léčiva (CFDA) a označuje se jako „zlatý standard“. Vhodnost hodnocené reagensie k používání v klinické praxi se posuzuje na základě její citlivosti, specifity a celkové míry shody.

Metoda: Soubor klinických vzorků se zkoumá souběžně hodnocenou reagensií a zlatým standardem a vypočítává se klinická citlivost, klinická specifita a celková míra shody hodnocené reagensie.

Standardní kritéria pro kvalifikaci hodnocené reagensie: klinická citlivost minimálně 90 %, klinická specifita minimálně 90 % a celková míra shody minimálně 90 %.

Výsledky: V porovnání se zlatým standardem činila klinická citlivost 92,0 %, klinická specifita dosáhla hodnoty 97,1 % a celková míra shody byla 95,8 %.

Závěr: Funkčnost hodnocené reagensie dosahuje vysoké míry shody se zlatým standardem, čímž je prokázáno, že lze soupravu používat při diagnostice případů s podezřením na COVID-19.

## Význam pojmů

Hodnocená reagensie: Souprava k detekci spike glykoproteinů nového koronaviru (kompetitivní chromatografie ligand-receptor) vyvinutá společností New Gene (Hangzhou) Bioengineering Co., Ltd.  
SARS-COV-2: nový koronavirus 2019

## Hlavní obsah

### Úvod

Nový koronavirus SARS-COV-2 je kauzálním patogenem celosvětové pandemie onemocnění COVID-19. Je infekční v lidské populaci, ať již symptomaticky nebo asymptomaticky. Podle současných epidemiologických znalostí může asymptomatická infekce trvat mezi 1 a 14 dny, obvykle od 3 do 7 dnů. Mezi symptomy onemocnění COVID-19 patří horečka, únava a kašel. Někteří pacienti si také stěžují na ucpaný nos, rýmu, bolest v krku, bolesti svalů a průjem.

V reakci na aktuální potřeby trhu vyvinula společnost New Gene (Hangzhou) Bioengineering Co., Ltd. soupravu k detekci spike glykoproteinů nového koronaviru (kompetitivní chromatografie ligand-receptor). V soupravě se využívá *in vitro* exprimovaný lidský angiotenzin-konvertující enzym 2 (ACE2) k zachycení a zviditelnění virových částic ve zkušebních vzorcích. Jelikož ACE2 je buněčný receptor SARS-COV-2 S-glykoproteinů, hraje zásadní úlohu v infekci a progresi onemocnění. Během pandemie se objevila řada virových podtypů, nicméně produkt dokáže spolehlivě detekovat všechny

infekční podtypy viru SARS-COV-2, které se váží na ACE2 jako na invazní cíl. V testovací lince je obsažen i další systém, který detekuje nukleokapsidový protein (N protein). Podle různých studií je nukleokapsid nejvíce exprimovaný virový protein *in vivo*, zabudování N-proteinového systému nepochybně zvýší citlivost produktu v klinických aplikacích.

Soupravu k detekci spike glykoproteinu nového koronaviru (kompetitivní chromatografie ligand-receptor) vyrábějí kvalifikovaní pracovníci v čistých prostorách třídy 100 000. Výrobní řetězec zahrnuje řadu kroků kontroly kvality, kterými se sleduje jakost surovin, polotovarů i hotových výrobků. Konstrukce čistých prostor, školení osazenstva i výrobní postupy plně odpovídají požadavkům platných zákonů a předpisů.

Současnou klinickou studii ke zhodnocení soupravy provádí společně žadatel a příslušné pracoviště klinického hodnocení. Žadatel dodává hodnocenou reagensii a zajišťuje příslušné školení pracovníků v oblasti provozních postupů a technických principů, tak aby se provozní chyby snížily na nejnižší možnou míru. Klinické pracoviště má na starosti sběr a uchovávání vzorků, vlastní provádění klinických testů, kompilaci záznamů z klinického hodnocení a sepisování zpráv o průběhu a výsledcích klinického hodnocení.

### **Cíl klinického hodnocení**

Cílem tohoto klinického hodnocení je vyhodnotit funkčnost hodnocené reagensie v klinických aplikacích. Výsledky získané s hodnocenou reagensií se porovnávají s výsledky získanými s komerční reagensií na detekci nukleové kyseliny koronaviru SARS-COV-2, která byla schválena čínským Úřadem pro potraviny a léčiva (CFDA) a jež je zde označována jako „zlatý standard“, a to k posouzení citlivosti, specifity a celkové míry shody hodnocené reagensie.

### **Design studie**

Klinické pracoviště shromažďuje pro hodnocení klinické vzorky. Každý vzorek se vyhodnotí jak pomocí hodnocené reagensie, tak pomocí reagensie zlatého standardu. Z výsledků se vyhodnotí klinická citlivost, klinická specifita a celková míra shody hodnocené reagensie.

### **Výsledky a analýza**

Stanovení velikosti vzorku

S ohledem na příslušné předpisy a na nejistotu při získávání vzorků nesmí být počet vzorků pro toto klinické hodnocení nižší než 60 a počet pozitivních vzorků nesmí být nižší než 30.

### Odběr, uchování a přeprava vzorků.

Klinické vzorky se odebírají od osob, u nichž je podezření na COVID-19, a uchovávají se v roztoku pro konzervaci virů. Roztok se až do doby, kdy se použije, uchovává zmražený při teplotě od -15 až -25 °C.

Reagencie „zlatého standardu“

Test na nukleovou kyselinu je v současnosti v diagnostice onemocnění COVID-19 „zlatý standard“. Jako reagencie „zlatého standardu“ byla zvolena reagencie na nukleovou kyselinu schválená CFDA, konkrétně „Souprava na multiplexní RT-PCR v reálném čase pro detekci nového koronaviru (SARS-COV-2)“, kterou vyrábí společnost Shanghai ZJ Bio-Tech Co., Ltd. Ta se zaměřuje na ORF1ab gen, N gen a E gen koronaviru SARS-COV-2; používá se k pomocné diagnostice a slouží jako rezervní reagencie pro COVID-19 v naléhavých případech.

Informace o hodnocené reagentii a reagentii „zlatého standardu“.

|                     |  |                   |                   |
|---------------------|--|-------------------|-------------------|
| Hodnocená reagencie | Souprava k detekci spike glykoproteinu nového koronaviru (kompetitivní chromatografie ligand-receptor) |                   |                   |
| Specifikace         | 25 testů v krabici   | Číslo šarže       | 20200715-01       |
| Doba použitelnosti  | 1 rok  | Podmínky uchování | Teplota 2 – 30 °C |
| Výrobce             | New Gene (Hangzhou) Bioengineering Co., Ltd.   |                   |                   |

|                               |   |                    |                                       |
|-------------------------------|---|--------------------|---------------------------------------|
| Reagencie „zlatého standardu“ | Souprava pro multiplexní RT-PCR v reálném čase k detekci nového koronaviru (SARS-COV-2) |                    |                                       |
| Číslo schválení               | CFDA NO:20203400057   |                    |                                       |
| Specifikace                   | 50 testů v krabici  |                    |                                       |
| Doba použitelnosti            | 6 měsíců  | Podmínky uchování: | Při teplotě -20±5°C mimo dosah světla |
| Výrobce                       | Shanghai ZJ Bio-Tech Co., Ltd.  |                    |                                       |

## Metody kontroly kvality

Klinické hodnocení probíhá přesně podle příslušné instrukční příručky.

Metoda statistické analýzy dat z klinického hodnocení

|                     |             | Reagencie zlatého standardu |             | Celkem        |
|---------------------|-------------|-----------------------------|-------------|---------------|
|                     |             | pozitivních                 | negativních |               |
| Hodnocená reagencie | pozitivní h | a                           | b           | a + b         |
|                     | negativní h | c                           | d           | c + d         |
| Celkem              |             | a + c                       | b + d       | a + b + c + d |

$$\text{Klinická citlivost (\%)} = [a / (a + c)] \times 100$$

$$\text{Klinická specifičnost (\%)} = [d / (b + d)] \times 100$$

$$\text{Celková míra shody (\%)} = [(a + d) / (a + b + c + d)] \times 100$$

## Výsledky a analýza klinického hodnocení

### Charakteristika vzorků

Zkušebními reagenciemi byl testován soubor 190 vzorků, z toho 130 vzorků sputa a 60 vzorků stolice. Tyto vzorky byly získány od 179 pacientů s podezřením na COVID-19, z nichž 82 (45,8 %) byly ženy a 97 (54,2 %) byli muži. Věk ležel v rozmezí od 17 do 88 let, s průměrem 49 let. Nejběžnějšími symptomy, které pacienti uváděli, byly kašel (78,8 %) a horečka (70,4 %). První vzorky byly odebrány mezi 1. a 4. dnem od nástupu onemocnění, většinou 2. den (36,3 %). Jedenácti pacientům s podezřením byl 5. nebo 6. den odebrán druhý vzorek.

### Analýza výsledků

Hodnocená reagencie poskytla pozitivní výsledek v 50 případech, z nichž 46 poskytla pozitivní výsledek i pomocí reagencie zlatého standardu. Čtyři vzorky poskytly pozitivní výsledek pouze s hodnocenou reagencí, zatímco jiné čtyři vzorky poskytly pozitivní výsledek pouze s reagencí zlatého standardu. Ostatních 136 vzorků poskytlo negativní výsledek u obou reagencí. Výsledky testů jsou uvedeny níže v tabulce.

|                     |             | Reagencie zlatého standardu |             | Celkem |
|---------------------|-------------|-----------------------------|-------------|--------|
|                     |             | pozitivních                 | negativních |        |
| Hodnocená reagencie | pozitivních | 46                          | 4           | 50     |
|                     | negativních | 4                           | 136         | 140    |
| Celkem              |             | 50                          | 140         | 190    |

$$\text{Klinická citlivost} = [46 / (46 + 4)] \times 100 \% = 92,0 \%$$

$$\text{Klinická specifičnost} = [136 / (4 + 136)] \times 100 \% = 97,1 \%$$

$$\text{Celková míra shody} = [(46 + 136) / (46 + 4 + 4 + 136)] \times 100\% = 95,8 \%$$

## **Diskuze a závěr**

V tomto klinickém hodnocení byla funkčnost hodnocené reagensie „Souprava k detekci spike glykoproteinu nového koronaviru (kompetitivní chromatografie ligand-receptor)“ vyhodnocena za použití souboru 190 klinických vzorků. V porovnání s komerční soupravou pro RT-PCR vykazuje hodnocená reagensie citlivost 92,0 %, specifčnost 97,1 % a míru shody 95,8 %, což jsou hodnoty, které ukazují, že je pro použití v klinických aplikacích perspektivní.

Je pravda, že antigenový test detekuje virové proteiny bez amplifikace signálu, takže je méně citlivý než běžný test na nukleovou kyselinu, na druhé straně se antigenové testy vyznačují dvěma jedinečnými inherentními výhodami pro hromadné použití. První výhodou je krátký čas do získání výsledku. Antigenové testy poskytují obvykle výsledek do 15 – 30 minut, což je vhodné testování přímo v místě péče o pacienta (POCT). Oproti tomu testy na nukleovou kyselinu vyžadují 2 – 3 hodiny na vyšetření vzorku. V některých zemích lze dokonce získat výsledek testu na nukleovou kyselinu až za jeden nebo více dní. Takové zpoždění představuje při kontrole a prevenci šíření nemoci zásadní překážku. Druhou výhodou antigenových testů je jejich snadnost. Antigenové testy nevyžadují žádné významné investice do výstavby laboratoří, ani nejsou spojeny se složitými postupy, jako je extrakce RNA nebo příprava reagensie. Postačuje jednodinové zaškolení, aby pracovníci mohli test provádět samostatně. Antigenové testy jsou tedy nejvhodnější pro masové použití v oblastech s omezenými zdroji.

Lze shrnout, že se provedeným klinickým hodnocením prokázala spolehlivost soupravy k detekci spike glykoproteinu nového koronaviru (kompetitivní chromatografie ligand-receptor). Produkt je perspektivní jako pomůcka při diagnostice onemocnění COVID-19 v širokém měřítku.