

| | | |
|--|---|--|
| LOMINA SUPERBIO, a.s. Bucharova 2657/12 Praha 5, 158 00 Česká republika | TECHNICKÁ DOKUMENTACE IVD SARS-CoV-2 N-Protein Antigen Rychlotest TD10: HODNOCENÍ FUNKČNÍ ZPŮSOBILOSTI | Strana 1 z 8 Dokument ID: TD10 Verze: 24092020 |
|--|---|--|

Část III. Závěrečná zpráva z hodnocení funkční způsobilosti

| | |
|---|---|
| Název hodnoceného diagnostického zdravotnického prostředku in vitro, jeho bližší specifikace a vymezení určeného účelu | <p>Název výrobku: SARS-CoV-2 N-Protein Antigen Rychlotest Další obchodní názvy výrobku: SARS-CoV-2 N-Protein Antigen Rapid Test</p> <p>Určený účel: Testovací souprava je určena pro kvalitativní detekci nového Nukleokapsidového (N) antigenu koronaviru SARS-CoV-2 ve vzorcích lidského orofaryngeálního výtěru in vitro. Používá se jako doplňkový časný detekční indikátor pro podezřelé případy detekcí nukleové kyseliny, nebo se používá ve spojení s detekcí nukleové kyseliny při diagnostice podezřelých případů onemocnění COVID19. Nelze jej použít jako hlavní test pro diagnostiku a vyloučení pneumonitidy způsobené novým koronavirem.</p> <p>Určeno pro použití pouze zdravotními profesionály.</p> <p>Princip testu: Myší anti-SARS-CoV-2 N proteinová protilátka je nanášena na nitrocelulóзовé membráně jako testovací proužek (T) a kozí-anti-králičí sekundární protilátka je nanášena na nitrocelulóзовé membráně, aby se vytvořil kontrolní proužek kvality (C). Další myší monoklonální protilátka proti SARS-CoV-2 N označená latexovými fluorescenčními mikrosférami a králičí IgG značená latexovými fluorescenčními mikrosférami je smíchána a nanášena na skelnou celulóзовou membránu za účelem přípravy značkovací podložky (polštářku). Jeden konec nitrocelulóзовé membrány v blízkosti linie pro kontrolu kvality je vybaven polštářkem pro absorpci tekutiny a druhý konec poblíž testovací linie je vybaven již zmíněnou značkovací podložkou. Testovací vzorek je nakapán na značkovací podložku a antigen bude reagovat s nanášeným markerem a provede chromatografickou reakci vlivem kapilárního efektu v nitrocelulóзовé membráně a chemickou reakcí v místě testovacího proužku (T) a kontrolního proužku kvality (C). Když je výsledek testu platný, proužek kontrolní kvality vykazuje určitou intenzitu světla po nasvícení UV zářičem. Proužek (T) stejným způsobem indikuje přítomnost N Protein Antigenu v případě že je testovaný vzorek pozitivní.</p> <p>Nový koronavirus patří do virového genového rodu β. COVID-19 je akutní infekční onemocnění dýchacích cest na které jsou lidé jsou obecně citliví. V současné době jsou pacienti infikovaní novým koronavirem hlavním zdrojem infekce; infekčním zdrojem mohou být také asymptomatictí infikovaní lidé. Na základě současného epidemiologického výzkumu je nejčastější inkubační doba 1 až 7 dnů, (většinou 3 až 7 dní). Mezi hlavní projevy patří horečka, únava a suchý kašel. V některých případech se rovněž vyskytuje: nosní kongesce, rýma, bolest v krku, myalgie a průjem, případně i kožní projevy.</p> |
| Seznam nejčastějších onemocnění, která lze prostřednictvím diagnostického | Test prokazuje přítomnost Nucleocapsid proteinu viru SARS-CoV-2 způsobujícího onemocnění COVID-19. |

| | |
|--|---|
| zdravotnického prostředku in vitro prokázat nebo vyloučit | |
| Identifikační údaje výrobce hodnoceného diagnostického zdravotnického prostředku in vitro a hodnotitele | <p>Výrobce: LOMINA SUPERBIO, a.s., Bucharova 2657/12, Praha 5, 158 00, Česká republika</p> <p>[Redacted text]</p> |
| Seznam použitých referenčních materiálů | <p>1. test: [Redacted] 2. test: [Redacted] 3. test: [Redacted]</p> |
| Seznam a popis použitých metod měření | <p>Metodika výpočtu senzitivity a specificity: Jedná se o statistické hodnocení správnosti diagnostických testů, kdy jsou diagnostické schopnosti testu validovány proti skutečně verifikovanému stavu testovaných osob. Jsou srovnávány výsledky testu (pozitivní/negativní) proti skutečně prokazatelné přítomnosti/nepřítomnosti nemoci. Pro tuto situaci byla navržena sada ukazatelů správnosti, které představují číselné ohodnocení testu ve vztahu k jeho chybovosti. Definice těchto ukazatelů je prováděna na základě značení, v němž jsou proti</p> |

| | <p>sobě sumarizovány výsledky diagnostického testu, pozitivní výsledek (označen jako A^+) a negativní výsledek (označen jako A^-), a skutečnou přítomnost nemoci, nemoc přítomna (označeno jako H^+) a nemoc nepřítomna (označeno jako H^-).</p> <p>Senzitivita testu je definována jako jeho schopnost rozpoznat skutečně nemocné osoby, tedy pravděpodobnost, že test bude pozitivní, když je osoba skutečně nemocná; specifická testu je definována jako jeho schopnost rozpoznat osoby bez nemoci, tedy pravděpodobnost, že test bude negativní, když osoba není nemocná. Pomocí výše zavedeného značení definujeme senzitivitu a specifitu jako:</p> <table border="1" data-bbox="453 703 1313 891"> <thead> <tr> <th>Výsledek</th> <th>Nemoc přítomna (H^+)</th> <th>Nemoc nepřítomna (H^-)</th> <th>Celkem</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Pozitivní (A^+)</td> <td>a</td> <td>b</td> <td>a+b</td> </tr> <tr> <td>Negativní (A^-)</td> <td>c</td> <td>d</td> <td>c+d</td> </tr> <tr> <td>Celkem</td> <td>a+c</td> <td>b+d</td> <td>a+b+c+d</td> </tr> </tbody> </table> <table border="1" data-bbox="453 922 1313 1016"> <tr> <td>Senzitivita:</td> <td>Specifita:</td> </tr> <tr> <td>$P(A^+ H^+) = \frac{a}{(a + c)}$</td> <td>$(A^- H^-) = \frac{d}{(b + d)}$</td> </tr> </table> | Výsledek | Nemoc přítomna (H^+) | Nemoc nepřítomna (H^-) | Celkem | Pozitivní (A^+) | a | b | a+b | Negativní (A^-) | c | d | c+d | Celkem | a+c | b+d | a+b+c+d | Senzitivita: | Specifita: | $P(A^+ H^+) = \frac{a}{(a + c)}$ | $(A^- H^-) = \frac{d}{(b + d)}$ |
|---|--|----------------------------|--------------------------|----------------------------|--------------|---------------------|---|---|-----|---------------------|---|---|-----|--------|-----|-----|---------|--------------|------------|----------------------------------|---------------------------------|
| Výsledek | Nemoc přítomna (H^+) | Nemoc nepřítomna (H^-) | Celkem | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Pozitivní (A^+) | a | b | a+b | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Negativní (A^-) | c | d | c+d | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Celkem | a+c | b+d | a+b+c+d | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Senzitivita: | Specifita: | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| $P(A^+ H^+) = \frac{a}{(a + c)}$ | $(A^- H^-) = \frac{d}{(b + d)}$ | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| <p>Počet zkoušených vzorků</p> | <p>Hodnocení specifity a senzitivity: celkem 620 vzorků Hodnocení křížové reaktivity: celkem 24 vzorků</p> <p>Použité šarže: Test 1: 20200209 Test 2: 20200209 Test 3: 20032306</p> | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| <p>Seznam klinických laboratoří, pokud bylo hodnocení funkční způsobilosti prováděno mimo prostory výrobce</p> | <table border="1" data-bbox="453 1267 1394 1352"> <thead> <tr> <th></th> <th>Laboratoř</th> <th>Adresa</th> <th>Počet vzorků</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> </tbody> </table> | | Laboratoř | Adresa | Počet vzorků | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | Laboratoř | Adresa | Počet vzorků | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| <p>Současný stav problematiky</p> | <p>Onemocnění COVID-19 je akutní infekce dýchacích cest, která se objevila koncem roku 2019. Počáteční ohniska v Číně zahrnovala 13,8% případů s těžkým, a 6,1% s kritickým průběhem. Způsobením brzkého nástupu závažných příznaků je považován za stejný tropismus receptoru patogenity jako u těžkého akutního respiračního syndromu (SARS) v roce 2003. Vylučování viru hltanu bylo během prvního týdne příznaků velmi vysoké (vrchol byl diagnostikován při výtěrech z krku 4. den). Infekční virus byl snadno izolován ze vzorků získaných z krku a plic, ale nikoli ze vzorků stolice, či moči navzdory tomu, že se jedná o vysokou koncentraci virové RNA. Populace virů odlišných od sekvence byly důsledně detekovány v krku a plicích stejného pacienta, což dokazuje nezávislou replikaci. COVID-19 se může projevit jako mírné onemocnění horních cest dýchacích. [1]</p> | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |

Dlouhé a váhavé diskuze o tom, zda je imunochromatografie vhodná či nikoliv pro detekci CoV19 je vedena v poněkud chybném kontextu. Tato metoda není náhradou přesnější metody polymerázové řetězové reakce (PCR) ani jejím konkurentem. Ačkoliv i PCR vykazuje v počátečních fázích prozatím nevysvětlitelnou falešnou negativitu [2]. Dle WHO je jediným řešením pandemie plošná karanténa kombinovaná s maximálním protestováním populace [3].

Aktuální studie prokazují délku inkubační doby 5,1 dne (medián) s 11,5 dne ve 97,5% případů [4]. Z hlediska celkové populace se ovšem uvažuje až o 10 % asymptomatických případů. Další skupinou jsou případy s lehkým průběhem a mírnými příznaky. Tato část populace stejně tak jako případy asymptomatické s vysokou pravděpodobností nevyhledají lékařskou pomoc a neprojdou regulérním přetestováním. Názory na poměr zdokumentovaných případů versus skutečných se pohybuje mezi 1–2 až 1–12. (pozn. Zde neexistuje přesná studie, nebo nám není známa.) Tito pacienti nicméně mohou být potenciálními přenašeči, nemluvě o pravděpodobnosti reinfekce, která byla v souvislosti se SARS-CoV-2 prokázána. Zjednodušeně řečeno, pacienti, kteří nevědomky přestáli onemocnění jsou potenciální hrozbou vypuknutí druhé vlny epidemie. Studie na zvířatech sice reinfekci popírají, ale jiné studie poukazují na to, že i vir sám mutuje a povědomí o tom, zda pacient přestál CoV, je proto jistě na místě. [5–9]

Rychlá diagnóza pacientů s COVID-19 je nezbytná ke zpomalení šíření nemoci. Studie Maka, et al. provedla porovnání testů rychlé detekce antigenu (RAD). Cílem studie bylo vyhodnotit výkon komerčně dostupného testu BIOCREREDIT COVID-19 Ag a porovnat jej s výsledky prokázání infekce metodou RT-PCR pro detekci viru SARS-CoV-2.

Analytická citlivost pro detekci viru SARS-CoV-2 byla stanovena pro test RAD pomocí virové kultury a RT-PCR jako referenční metody. Test RAD byl dále hodnocen pomocí vzorků odebraných z dýchacích cest pozitivních pacientů s COVID-19. Výsledky byly porovnány s RT-PCR testem.

Výsledky: Meze detekce mezi testem RAD, virovou kulturou a RT-PCR se značně lišily. RAD byl 103krát méně senzitivní než virová kultura, zatímco RAD byl 105krát méně citlivý než RT-PCR. Tato studie prokázala, že RAD test lze použít jako doplněk k RT-PCR testu z důvodu potenciálu pro falešně negativní výsledky. [10]

Studie Mertense et al. se zabývá porovnáním rychlotestů pro detekci antigenu SARS-CoV-2 pomocí imunochromatografického testu. COVID-19 Ag Respi-Strip, imunochromatografický (ICT) test pro rychlou detekci antigenu SARS-CoV-2 na nasofaryngeálním vzorku byl vyvinut pro identifikaci pozitivních pacientů s COVID-19. Tento test umožňuje rychlé klinické a karanténní rozhodnutí.

Vývoj prostředku COVID-19 Ag Respi-Strip vyústil v ICT test založeného na membránové technologii s použitím nanočástic koloidního zlata monoklonální protilátky namířené proti SARS-CoV a SARS-CoV-2 vysoce konzervovaného nukleoproteinového antigenu. Bylo testováno 400 vzorků a 30 testů bylo analyzováno v rámci studie posouzení křížové reaktivity.

Jednalo se o retrospektivní multicentrickou studii, která byla provedena v retrospektivním multicentrickém hodnocení na 328 nasofaryngeálních vzorků. Výsledky testování pomocí prostředku COVID-19 Ag Respi-Strip byly porovnány s qRT-PCR coby zlatého standardu pro diagnostiku COVID-19.

Z výsledků vyplývá, že prostředek COVID-19 Ag Respi-Strip představuje slibné a rychlé stanovení výskytu antigenu SARS-CoV-2 v první linii diagnostiky COVID-19 a to za 15 minut. [11]

Imunochromatografie dokáže díky svému potenciálu plošného využití a přesnosti až 95 % z významné části diagnostikovat vysoké procento mírně symptomatických i asymptomatických případů. Dále, díky detekci IgG, dokáže poskytnout informaci o stálé infekci a upozornit na nutnost zvýšené pozornosti v případě pozdějšího výskytu příznaků virového onemocnění, a maximálně tak napomoci k včasné reakci v rámci prevence před možnou reinfekcí.

Seznam získaných parametrů specifity, citlivosti, přesnosti a reprodukovatelnosti

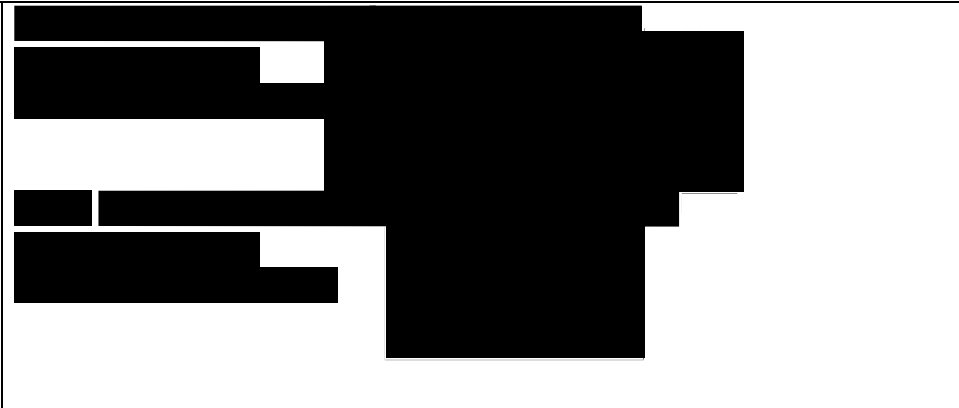

[Křížová reakce]

Prostředek SARS-CoV-2 N-Protein Antigen Rychlotest byl analyzován za účelem detekce protilátek v pozitivních vzorcích níže uvedených onemocnění, včetně jiných typů koronaviru, chřipky a ostatních. Výsledky neprokázaly žádné známky křížové reaktivity.

| NO. | Substance | Source | Type | Concentration | Test Kit Result |
|-----|-------------------------------------|--------|-----------------------------|---------------|-----------------|
| 1 | Human coronavirus HCoV-HKU1/NL63 | | oropharyngeal swab | Ct: 23.368 | Negative |
| 2 | Human coronavirus HCoV-OC43 | | oropharyngeal swab | Ct: 35.582 | Negative |
| 3 | Human coronavirus HCoV-NL63 | | oropharyngeal swab | Ct: 28.736 | Negative |
| 4 | Human coronavirus HCoV-229E | | oropharyngeal swab | Ct: 27.908 | Negative |
| 5 | Mycoplasma pneumoniae | | oropharyngeal swab | Ct: 30.783 | Negative |
| 6 | Novel influenza A H1N1 virus (2009) | | isolate | Titer: 1.64 | Negative |
| 7 | H3N2 | | isolate | Titer: 1.64 | Negative |
| 8 | H5N1 | | inactivated virus | | Negative |
| 9 | H7N9 | | inactivated virus | | Negative |
| 10 | Influenza B Yamagata | | isolate | Titer: 1.64 | Negative |
| 11 | Influenza B Victoria | | isolate | Ct: 28.24 | Negative |
| 12 | Respiratory syncytial virus | | oropharyngeal swab | Ct: 20.32 | Negative |
| 13 | Rhinovirus A/B | | oropharyngeal swab | Ct: 25.096 | Negative |
| 14 | Adenovirus type7 | | isolate | Ct: 15.75 | Negative |
| 15 | Adenovirus type55 | | isolate | Sequencing | Negative |
| 16 | Enterovirus A | | isolate | Ct: 23.28 | Negative |
| 17 | Enterovirus B | | isolate | Ct: 23.23 | Negative |
| 18 | Epstein-Barr virus | | oropharyngeal swab | Ct: 32.6 | Negative |
| 19 | Measles virus | | isolate | Ct: 34 | Negative |
| 20 | Human cytomegalovirus | | serum | Ct: 33.46 | Negative |
| 21 | Rotavirus | | Stool suspension | Ct: 12 | Negative |
| 22 | Norovirus | | Stool suspension | Ct: 21 | Negative |
| 23 | Mumps virus | | isolate | Ct: 20.32 | Negative |
| 24 | Varicella-zoster virus | | oropharyngeal swab | Ct: 18 | Negative |
| 25 | Seasonal H1N1 | | Lyophilizer | 500uL/piece | Negative |
| 26 | Staphylococcus aureus | | Lyophilizer | 500uL/piece | Negative |
| 27 | Pseudomonas aeruginosa | | Lyophilizer | 500uL/piece | Negative |
| 28 | HKU8 type N protein | | Viral recombinant N protein | 1ug/mL | Negative |
| 29 | HKU10 type N protein | | Viral recombinant N protein | 1ug/mL | Negative |
| 30 | MERS-CoV N protein | | Viral recombinant N protein | 1ug/mL | Negative |
| 31 | SARS-CoV N protein | | Viral recombinant N protein | 1ug/mL | Positive |

[Specifita / Sensitivita]

| | <p>Celková specificita a senzitivita: 96,63% (CI 95%: 94,50%-98,10%)/90,29% (CI 95%: 84,9%-94,24%)</p> | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
|---|---|-----------|--------|--|--|-----------|-----------|--------|----------------------|-----|----|-----|--------------------|----|-----|-----|--|--|--|-----|-------------|-------------------------------|--|--|-------------|--------------------------------|--|--|
| <p>Shrnutí a závěr, který obsahuje jednoznačné stanovisko hodnotitele, zda byla u hodnoceného diagnostického zdravotnického prostředku in vitro prokázána jeho funkční způsobilost</p> | <p>Senzitivita a přesnost prostředku SARS-CoV-2 N-Protein Antigen Rychlotest jsou velmi vysoké. Prostředek SARS-CoV-2 N-Protein Antigen Rychlotest je použitelný pro detekci Nukleokapsidového (N) antigenu koronaviru SARS-CoV-2 z orolaryngeálních výtěrů.</p> <p>Zhodnocení senzitivity a specificity</p> <p>Celková senzitivita a specificita byla stanovena z výsledků ze všech výše uvedených testů. Výsledné hodnoty byly stanoveny součtem jednotlivých pozitivních a negativních vzorků, a to z důvodů stejné referenční metody.</p> <table border="1"><thead><tr><th rowspan="2">Souhrn</th><th colspan="3">PCR</th></tr><tr><th>Pozitivní</th><th>Negativní</th><th>Celkem</th></tr></thead><tbody><tr><td>SARS-CoV-2 N-protein</td><td>158</td><td>15</td><td>173</td></tr><tr><td>antigen rychlotest</td><td>17</td><td>430</td><td>447</td></tr><tr><td></td><td></td><td></td><td>620</td></tr><tr><td>Senzitivita</td><td colspan="3">90,29% (CI 95%: 84,9%-94,24%)</td></tr><tr><td>Specificita</td><td colspan="3">96,63% (CI 95%: 94,50%-98,10%)</td></tr></tbody></table> <p>V rámci hodnocení funkční způsobilosti diagnostického zdravotnického prostředku in vitro SARS-CoV-2 N-Protein Antigen Rychlotest byla prokázána funkční způsobilost hodnoceného diagnostického zdravotnického prostředku in vitro.</p> <p>Tím byla ve smyslu Směrnice Evropského Parlamentu a Rady 98/79/ES prokázána funkční způsobilost hodnoceného diagnostického zdravotnického prostředku in vitro při použití za stanovených podmínek a pro určený účel použití.</p> | Souhrn | PCR | | | Pozitivní | Negativní | Celkem | SARS-CoV-2 N-protein | 158 | 15 | 173 | antigen rychlotest | 17 | 430 | 447 | | | | 620 | Senzitivita | 90,29% (CI 95%: 84,9%-94,24%) | | | Specificita | 96,63% (CI 95%: 94,50%-98,10%) | | |
| Souhrn | PCR | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | Pozitivní | Negativní | Celkem | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| SARS-CoV-2 N-protein | 158 | 15 | 173 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| antigen rychlotest | 17 | 430 | 447 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | | | 620 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Senzitivita | 90,29% (CI 95%: 84,9%-94,24%) | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Specificita | 96,63% (CI 95%: 94,50%-98,10%) | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| <p>Datum a místo vyhotovení závěrečné zprávy</p> | <p>Datum: 24.9.2020 Místo: Praha</p> | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |

| | |
|--|---|
| <p>z hodnocení funkční způsobilosti, podpis hodnotitele a podpis výrobce</p> |  |
| <p>Použitá literatura</p> |  |

| | |
|--|---------------------------|
| | <p>[Redacted content]</p> |
|--|---------------------------|