

Respirační panely BioFire® FilmArray® (RP2.1, RP2.1*plus* a RP2.1-EZ) SARS-CoV-2 reaktivita

Úvod

BioFire® RP2.1, RP2.1*plus* a RP2.1-EZ jsou multiplexní testy nukleových kyselin určené k použití se systémy BioFire® FilmArray® k simultánní kvalitativní detekci a identifikaci nukleových kyselin vícero respiračních virů a bakterií v nasofaryngeálních střezech (NPS) získaných od osob se suspekci na infekce dýchacích cest. Panely zahrnují i detekci SARS-CoV-2, který je identifikován ve dvou nezávislých testech. SARSCoV2-1 cílený na S (hrotový, „Spike“) gen a SARSCoV2-2 cílený na M (membránový) gen. Pozitivita kteréhokoliv z testovaných cílů dává výsledek SARS-CoV-2 detekován.

Poznámka: Testy BioFire® neposkytují hodnoty threshold cyklu (Ct) a analýzy BioFire® RP2.1 SARS-CoV-2 nejsou určeny k monitorování nových mutací.

Globální analýza variant SARS-CoV-2 *in silico*

Tabulka 36 v návodu k použití BioFire® RP2.1 a RP2.1*plus* a tabulka 28 v návodu k použití RP2.1-EZ shrnují hodnocení analytické reaktivity testu BioFire® RP2.1 SARS-CoV-2 (SARSCoV2-1 a SARSCoV2-2) na základě sekvenční analýzy *in silico* dostupných sekvencí v databázích NCBI a GISAID v době podání EUA (květen, resp. září 2020). Společnost BioFire® provádí pravidelné aktualizace analýzy *in silico* a nejnovější byla provedena 21. 1. 2021, výsledky jsou uvedeny v tabulce 1 níže.

Tabulka 1. *In silico* predikce detekce SARS-CoV-2 pomocí analýzy BioFire® SARSCoV2-1 a SARSCoV2-2 (prosinec 2019 až 21. 1. 2021)

+/+ označuje detekci oběma analýzami bez narušení, +/- označuje detekci jednou analýzou bez narušení a potenciální narušení detekce druhé analýzy, -/- označuje potenciál narušení detekce oběma analýzami

Predikovaný výsledek analýzy		SARSCoV2-1 (S-gen)		Počet (%) sekvencí, u kterých je predikována detekce bez omezení (jedna nebo obě analýzy pozitivní)
		+	-	
Počet sekvencí				
SARSCoV2-2 (M-gen)	+	301525	2689	304,764/304,768 (99,99%)*
	-	550	4*	

*Čtyři sekvence vykazují neshodu v 3' polovině primeru (primerů) pro analýzu SARSCoV2-1 i SARSCoV2-2. Neshody pro primery jsou identické u těchto 4 sekvencí. Neshody jsou předpokládány u nízkých koncentrací analytů.

Tato analýza ukazuje, že testy skupiny BioFire® RP2.1 jsou schopny amplifikovat a detekovat 100 % sekvencí získaných k 21. 1. 2021. Analýza zahrnuje sekvence z linií uvedených níže

- varianta 501Y.V2, linie B.1.351 (Jižní Afrika)
- linie B.1.1.28 (Brazílie)

- varianta P.1, linie B.1.1.28 (Brazílie)
- linie B.1.1, B.1.1.7 a B.1.258 s Δ 69-70 a N501Y (Spojené království)
- linie B.1.429 (USA)
- varianta CAL.20C, linie B.1.429 (USA)

Čtyři velmi vzácné sekvence, reprezentují pouze 2 unikátní sekvence (2 sady duplicitních sekvencí, které představují ~0,001 % všech zaznamenaných sekvencí), indikují potenciál narušení detekce u obou analýz (viz tabulka 1). Tyto dvě unikátní sekvence nejsou však členy linií uvedených výše (tj. UK linie, jihoafrická linie atd.). Neshody pro primery jsou identické mezi 4 sekvencemi uvedenými v tabulce 1.

Byl proveden experiment s použitím syntetické matrice nukleových kyselin, s cílem odhadnout vliv neshod u 4 sekvencí uvedených v tabulce 1, na amplifikaci a detekci u obou analýz. Testování ověřilo, že identifikovaná neshoda pro primery analýzy SARSCoV2-1 měla významný (10 000násobný) dopad na amplifikaci a detekci v porovnání s kontrolní sekvencí, zatímco neshoda pro primery analýzy SARSCoV2-2 měla pouze menší (2- až 4násobný) dopad na amplifikaci a detekci v porovnání s kontrolní sekvencí. Pozitivita kteréhokoliv z testovaných cílů BioFire® RP2.1, RP2.1*plus* a RP2.1-EZ pro analýzu SARS-CoV-2, dává výsledek „SARS-CoV-2 detekován“. U těchto 4 velmi vzácných variant se proto očekává správná detekce testů skupiny BioFire® RP2.1, může však dojít k mírnému poklesu analytické senzitivity v blízkosti meze detekce.

Tato analýza podporuje závěr, že všech 304 768 sekvencí hodnocených k 21. 1. 2021 lze amplifikovat a detekovat testy ze skupiny BioFire® RP2.1, i když pro 0,0013 % sekvencí (4 / 304 768) se předpokládá limitace nebo narušení detekce při nízkých koncentracích ($\leq 10 \times$ limit detekce).

Nové UK varianty SARS-CoV-2

Nedávno byly ve Spojeném království pozorovány dvě varianty SARS-CoV-2 spojené s určitými obavami v souvislosti s detekcí testy skupiny BioFire® RP2.1. Tyto varianty nebyly zahrnuty do globální analýzy *in silico* (tabulka 1). Společnost BioFire® provedla tedy nezávislou analýzu *in silico* s predikcí analytické reaktivity pro varianty sekvence SARS-CoV-2 linie VUI-202102/01 (Linie A + E484K) a linie VOC-202102/02 (VOC1 +E484K). Celkem bylo zachyceno a analyzováno 74 sekvencí kmenů UK linie (44 sekvencí VUI-202102/01 a 30 sekvencí VOC-202102/02; všechny dostupné GISAID sekvence a všechny kompletní sekvence s vysokým pokrytím dostupné do 9. 2. 2021).

Celkově u 100 % ze 74 UK sekvencí SARS-CoV-2, hodnocených z VUI-202102/01 (linie A + E484K) a VOC-202102/02 (VOC1 +E484K), je predikována detekce jedním nebo oběma analýzami bez omezení (tabulka 2 a tabulka 3).

Tabulka 2. *In silico* predikce detekce SARS-CoV-2 pomocí analýzy BioFire® SARSCoV2-1 a SARSCoV2-2 pro linii VUI-202102/01 (linie A + E484K)

+/+ označuje detekci oběma analýzami bez narušení, +/- označuje detekci jednou analýzou bez narušení a potenciální narušení detekce druhé analýzy, -/- označuje potenciál narušení detekce oběma analýzami

Predikovaný výsledek analýzy		SARSCoV2-1 (S-gen)		Počet (%) sekvencí, u kterých je predikována detekce bez omezení (jedna nebo obě analýzy pozitivní)
		+	-	
Počet sekvencí				
SARSCoV2-2 (M-gen)	+	44	0	44/44 (100,0%)

	-	0	0
--	---	---	---

Tabulka 3. *In silico* predikce detekce SARS-CoV-2 pomocí analýzy BioFire® SARSCoV2-1 a SARSCoV2-2 pro linii VOC-202102/02 (VOC1 +E484K)

+/+ označuje detekci oběma analýzami bez narušení, +/- označuje detekci jednou analýzou bez narušení a potenciální narušení detekce druhé analýzy, -/- označuje potenciál narušení detekce oběma analýzami

Predikovaný výsledek analýzy	SARSCoV2-1 (S-gen)		Počet (%) sekvencí, u kterých je predikována detekce bez limitací (jedna nebo obě analýzy pozitivní)
	+	-	
Počet sekvencí			
SARSCoV2-2 (M-gen)	+	29	1*
	-	0	0
			30/30 (100,0%)

* Jedna sekvence obsahuje neshodu 3' ve vnitřním reverzním primeru Spike proteinu. Umístění této neshodné pozice může ovlivnit senzitivitu analýzy, ale nepředpokládá se vliv na celkovou interpretaci testu, protože primery analýzy membránového genu perfektně odpovídají sekvenci.

Závěry

1. Celková detekce SARS-CoV-2 pomocí respiračních panelů BioFire® 2.1 RP2.1, RP2.1*plus* a RP2.1-EZ není ovlivněna žádnými cirkulujícími liniemi SARS-CoV-2 identifikovanými k 21. 1. 2021.
2. Celková detekce SARS-CoV-2 pomocí respiračních panelů BioFire® 2.1 RP2.1, RP2.1*plus* a RP2.1-EZ není ovlivněna sekvencemi nových UK variant SARS-CoV2 linií VUI-202102/01 (linie A + E484K) a VOC-202102/02 (VOC1 +E484K).
3. Globální analýza *in silico* (k 21. 1. 2021) predikuje, že respirační panely BioFire® (RP2.1, RP2.1*plus* a RP2.1-EZ) detekují SARS-CoV-2 u všech hodnocených sekvencí.
4. Testy BioFire® neposkytují hodnoty threshold cyklu (Ct) a analýzy BioFire® RP2.1 SARS-CoV-2 nejsou určeny k monitorování nových mutací.

Bioinformatika viru SARS-CoV-2 prochází rychlou expanzí od objevení viru působícího infekci u lidí koncem roku 2019. Tisíce virových celogenomových sekvencí jsou každý měsíc hodnoceny a zadávány do veřejných a soukromých databází. S přetrvávající pandemií a vývojem virových genomů, je sledování analytické reaktivity vůči novým sekvencím důležité pro porozumění a ověření výkonnostního stavu analýz SARS-CoV-2 ve skupině produktů BioFire® RP2.1 (RP2.1, RP2.1*plus* a RP2.1-EZ).

Společnost BioFire® nadále sleduje tyto nové sekvence a provádí pravidelné *in silico* analýzy pro testy skupiny BioFire® RP2.1 SARS-CoV-2.

Kontaktní informace na technickou podporu

Společnost BioFire® poskytuje svým zákazníkům tu nejlepší možnou podporu. V případě jakýchkoli dotazů nebo obav ohledně tohoto procesu se obraťte na tým technické podpory.

E-mail na technickou podporu

BioFire®:

support@BioFire@dx.com

Telefon: +1-801-736-6354, zvolte možnost 5

Podpora pro české a slovenské zákazníky:

ivana.barinova@biomerieux.com

Telefon: + 420 736 631 691