

In vitro analýza antigenních lateral flow testů na virus SARS-CoV-2 (aktualizace 24. srpna 2021)

Účelem Analýzy antigenních testů na SARS-CoV-2 je vědecký příspěvek k diskusi o metodách pro určení parametrů testů z hlediska racionálního určení pořadí, v jakém by mohly jít testy do klinických srovnávacích validačních studií, nikoli jakékoliv praktické doporučení či závěry směřované vůči jejich uživatelům.

Výsledky naměřených hodnot je nutné interpretovat výhradně ve vztahu k použité metodice a cílům pozorování antigenních testů.

Porovnání testů bylo provedeno v necertifikované laboratoři a pro nekomerční výzkumné účely.

Uvedený přístup umožňuje jednoduché přímé srovnání limitu detekce testů se standardem virového antigenu, nenahrazuje však klinickou studii a nemusí vypovídat o citlivosti testu v klinické praxi.

Metoda

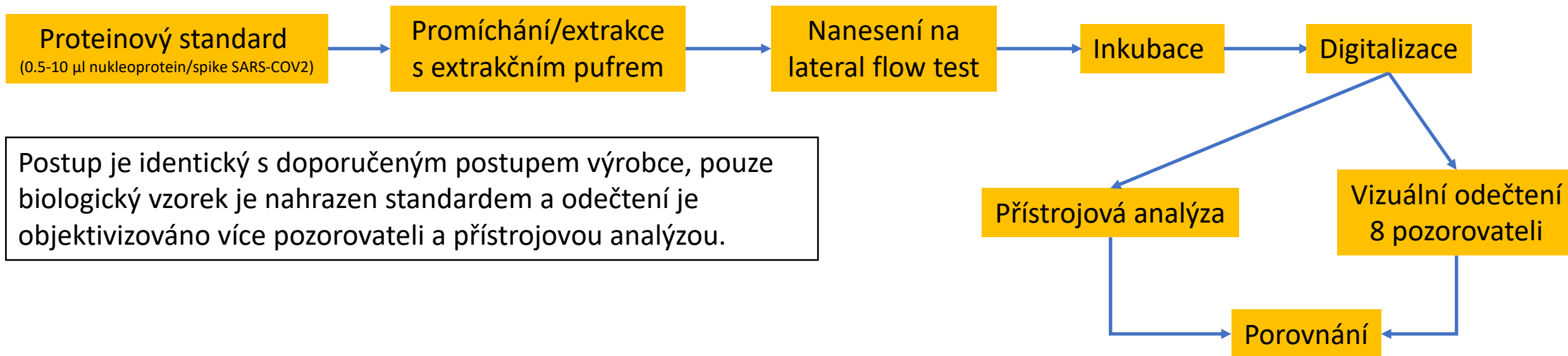
Cíl: Stanovení detekčních limitů – odpovídá přibližně **senzitivě testu**

(Citlivější, senzitivnější test je schopen detekovat menší množství proteinového standardu a tím i menší virovou nálož.)

Standardní pracovní postup použití testu:



Použitý pracovní analytický postup:



Postup je identický s doporučeným postupem výrobce, pouze biologický vzorek je nahrazen standardem a odečtení je objektivizováno více pozorovateli a přístrojovou analýzou.

Poznámky

- Dominantním detekovaným antigenem je dle dokumentace a výsledků nukleoprotein SARS-CoV-2 (vyjma testu Humasis a Realy).
- Nukleoprotein SARS-CoV-2 není dlouhodobě stabilní v roztoku – vzorek je nutné zpracovat co nejrychleji. Za 1 hodinu dojde ke zhoršení detekčního limitu cca 4krát.
- Pro zajištění robustnosti analýzy a vyloučení ovlivnění výsledku variabilitou a event. i selháním jednotlivých testů, jsou testy v oblasti limitu detekce zkoušeny opakovaně – nejméně v triplikátu (shodné výsledky) event. kvadruplikátu (pro nesouhlasné výsledky)
- „Přístrojový limit detekce“ je takové minimální množství antigenu nukleoproteinu, kdy dochází k pozitivě testu min. v 75 % procentech případů (např. 3 nebo 4 testy ze 4)
- „Vizuální limit detekce“ je takové minimální množství antigenu nukleoproteinu nad přístrojovým limitem detekce, které je současně označeno za pozitivní daným procentuálním množstvím pozorovatelů

Porovnání testů dle citlivosti k nukleoproteinu SARS-CoV-2: Výtěrové testy I

Test	Přístrojový limit detekce	Vizuální limit detekce [pg] při shodě pozorovatelů			Poznámky
	[pg]	100 %	80 %	60 %	
Flowflex	<25	50	31,25	31,25	Menší hodnota = lepší výsledek. # Test selhal v cca 50 % případů. § Vysoká variabilita výsledků testu. * Citlivost testu může být podhodnocena vzhledem k současné detekci RBD domény.
Beier	31,25	250	125	125	
NADAL	125	250	250	250	
Wantai	125	250	250	250	
Ecotest	125	500	125	125	
Ojabio	125	500	250	125	
Novacheck#	125	500	250	250	
Lituo	125	500	250	250	
Bioneovan	250	500	250	250	
Sansure	125	500	500	250	
Wondfo výtěr	250	500	500	250	
Diaquick§	500	500	500	500	
Humasis*	500	500	500	500	
Biosynex	500	1 000	500	500	
Singclean výtěr	1 000	1 000	1 000	1 000	

Porovnání testů dle citlivosti k nukleoproteinu SARS-CoV-2: Výtěrové testy II

Test	Přístrojový limit detekce	Vizuální limit detekce [pg] při shodě pozorovatelů			Poznámky
	[pg]	100 %	80 %	60 %	
Lepu	250	2 000	500	250	Menší hodnota = lepší výsledek. # Test selhal v cca 50 % případech. § Vysoká variabilita výsledků testu. * Citlivost testu může být podhodnocena vzhledem k současné detekci RBD domény.
SD Biosensor	500	2 000	1 000	500	
Abbott	500	2 000	1 000	1 000	
Jiangsu	125	5 000	1 000	1 000	
Sejoy	1 000	5 000	5 000	2 000	
VivaDiag [§]	2 000	5 000	2 000	2 000	
TestSeaLabs	1 000	20 000	10 000	10 000	
Safecare	5 000	50 000	20 000	20 000	
Biouhan	50	neaplikovatelné			
iChroma	250	neaplikovatelné			

Porovnání testů dle citlivosti k nukleoproteinu SARS-CoV-2:

Testy ze slin

Test	Přístrojový limit detekce	Vizuální limit detekce [pg] při shodě pozorovatelů			Poznámky
	[pg]	100 %	80 %	60 %	
BIOZEK	62,5	250	62,5	62,5	Menší hodnota = lepší výsledek. * Citlivost testu může být podhodnocena vzhledem k současné detekci RBD domény. § Vysoká variabilita výsledků testu.
RapidFor	<25	500	500	125	
PCL	<50	500	250	250	
Saligen	<50	500	500	500	
Singclean sliny	250	500	500	250	
Realy*	500	1 000	250	250	
Ecotest sliny	<125	2 000	1 000	500	
V-chek [§]	1 000	2 000	1 000	1 000	
Zandcell	500	5 000	1 000	1 000	
Orawell	1 000	5 000	2 000	2 000	
Wondfo sliny	500	5 000	5 000	2 000	
Norman sliny	1 000	5 000	5 000	2 000	
EONbt	2 000	10 000	10 000	5 000	

Závěry

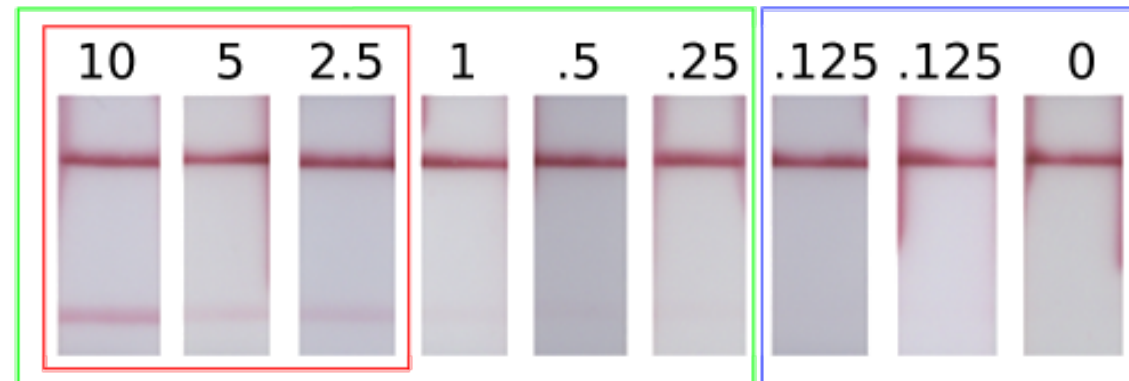
- Citlivost testů má řádové rozdíly (0,05–50 ng).
- Rozdíl v citlivosti mezi přístrojovou a vizuální detekcí může dosahovat jednoho řádu.
- Výrazné rozdíly v citlivosti mezi různými pozorovateli.
- Test s použitím proteinového standardu (nukleoprotein SARS-CoV-2) může poukázat na senzitivitu testu, specifitu takto hodnotit nelze.

→ Je vhodné volit testy s nižším limitem detekce.

→ Uživatele je nutné proškolení, jak správně vyhodnotit výsledek.

- I méně výrazné proužky znamenají pozitivitu!
- Jednoduché zaškolení (např. formou obrázkového testu) může vést ke čtyřnásobnému zvýšení citlivosti testu.

Pozorovatel	Falešně neg. [%]	Falešně poz. [%]
1	16	1
2	11	1
3	41	0
4	23	0
5	7	4
6	33	0
7	36	0
8	20	0



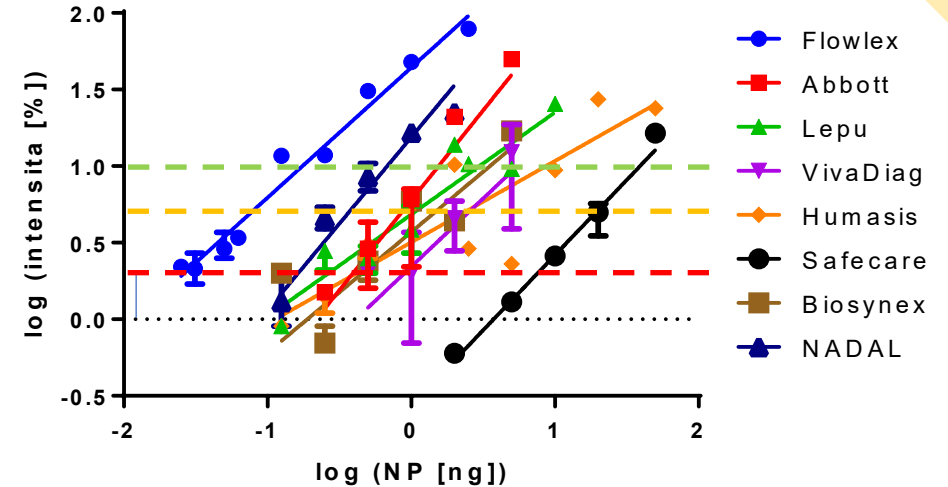
Vizuálně pozitivní Přístrojově pozitivní Negativní

Kalibrační řada přístrojově pozitivních testů – oproti vizuální detekci, kde je citlivost při 100% shodě 2,5 ng.

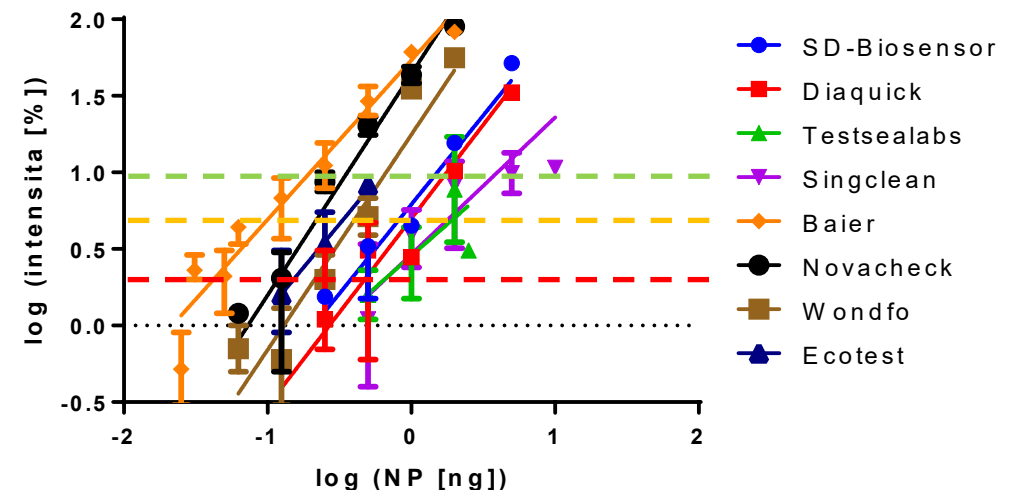
Závěry

- Řádové rozdíly mezi intenzitou signálu a limitem detekce (řada i dobře citlivých testů má za výstup tenké proužky)
 - ⇒ diskrepance mezi manuálním a přístrojovým odečtením
- U většiny testů výrazná lineární závislost po log-log transformaci
 - ⇒ vynesení do grafu

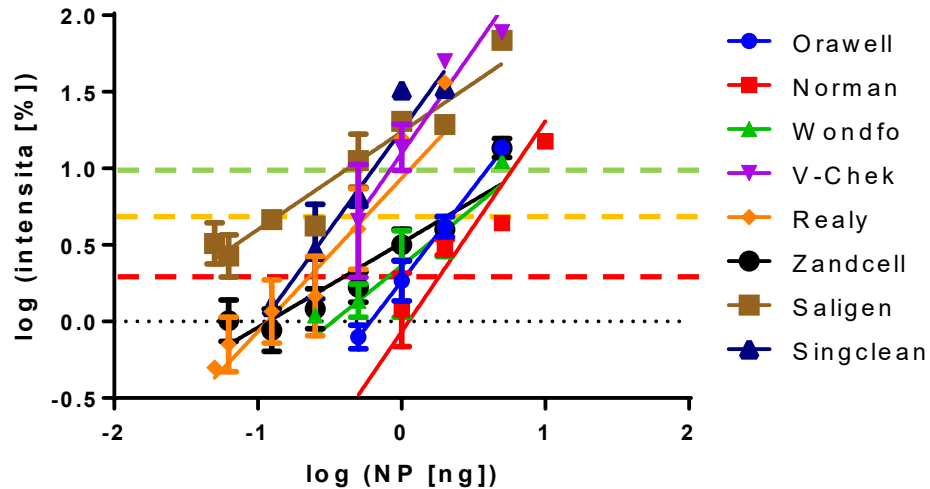
Výtěrové testy - 1. část



Výtěrové testy - 2. část



Slinné testy



Limitní [%] k subjektivnímu odečtení

10 % – skoro všichni odečtou dobře

5 % – většina odečte dobře

2 % – jen velmi „zkušený“ odečtou dobře

Seznam analyzovaných testů

Název	Výrobce	Přesný název testu
Flowflex	ACON Biotech (Hangzhou) Co., Ltd.	Flowflex SARS-CoV-2 Antigen rapid test
Beier	Beier	COVID-19 Antigen Rapid Test Kit
NADAL	nal von minden GmbH	NADAL® COVID-19 Ag Rapid Test
Ecotest	Assure Tech (Hangzhou) Co., Ltd.	COVID-19 Antigen Rapid Test Device
iChroma	Boditech Med Inc.	iChroma COVID-19 Ag
Lepu	LEPU MEDICAL	2019-nCoV Antigen Rapid Test Kit (Colloidal Gold Immunography)
Diaquick	DIALAB Ges.m.b.H, Wr.Neudorf/AT	Insert DIAQUICK COVID-19 Ag Cassette
Humasis	Humasis Co., Ltd.	COVID-19 Ag Test
Biosynex	Biosynex Swiss SA	BIOSYNEX COVID-19 AG BSS
Abbott	Abbott Rapid Diagnostics Jena GmbH	Panbio™ COVID-19 RAPID TEST DEVICE (NASOPHARYNGEAL)
SD Biosensor	SD Biosensor, Inc.	STANDARD Q COVID-19 Ag
Singclean výtěr	Singclean	Singclean GOOD TEST Testovací sada Covid-19 SARS-CoV-2 ze vzorků z nosu, nosohltanu a krku
Testsealabs	HANGZHOU TESTSEA BIOTECHNOLOGY CO., LTD.	TESTSEALABS Rapid Test kit
Novacheck	Novatech Tibbi Cihaz Urunleri San. ve Tic.	novacheck-Ag SARS CoV-2 Covid-19 Antigen Rapid Test
Wonfo výtěr	Wondfo	2019-nCoV Antigen Test (Lateral Flow Method)
Safecare	SAFECARE BIO-TECH	COVID-19 Ag Rapid Test výtěrová sada
VivaDiag	VivaChek Biotech (Hangzhou) Co., Ltd.	SARS CoV-2 Ag Rychlý test
Lituo	Zhuhai Lituo Biotechnology Co., Ltd.	COVID-19 Antigen Detection Kit (Colloidal Gold)
Wantai	Beijing WANTAI Biological Pharmacy Enterprise Co., Ltd.	WANTAI SARS-CoV-2 Ag Rapid Test (Colloidal Gold)
Bioneovan	Bioneovan Co., Ltd.	COVID-19 Antigen Test Kit (Colloidal Gold)

Seznam analyzovaných testů

Název	Výrobce	Přesný název testu
Saligen	Bakter Medical s.r.o.	Saligen
Singclean sliny	Singclean	IVD COVID-19 ANTIGEN TEST KIT (Colloidal Gold) SARS-CoV-2 ze vzorků slin
Zandcell	Zandcell	COVID-19 (SARS-CoV-2) Antigen Test Kit (Hypersensitive Colloidal Gold)
V-chek	Guangzhou Decheng Biotechnology Co., LTD	V-CHEK™ 2019-nCoV Ag Saliva rapid Test Card (Immunochromatography)
Wondfo sliny	Wondfo	2019-nCoV Antigen Test (Lateral Flow Method)
Realy	REALY TECH	REALY Novel Coronavirus (SARS-Cov-2) Antigen Rapid Test Device(saliva)
Norman sliny	NORMAN Biological Technology	Norman Novel Coronavirus 2019 nCoV Antigen Testing Kit
Orawell	Orawell	COVID-19 Ag Rapid Saliva Test Device
RapidFor	Vitrosens Biyoteknoloji Ltd., Sti.	SARS CoV-2 Saliva Antigen Test
PCL	PCL Inc.	PCL COVID19 Ag Gold
EONbt	Eon Biotechnology Limited, UK	COVID-19 Antigen Saliva Rapid test device for Quantitative detection of COVID-19 in human saliva sample
Ecotest sliny	Assure Tech (Hangzhou) Co., Ltd	COVID-19 Antigen Rapid Test Device
Ojabio	Wenzhou OJA Biotechnology Co., Ltd.	SARS-CoV-2 Antigen Detection Kit (Colloidal Gold Method)
Sansure	Sansure Biotech Inc.	SARS-CoV-2 Rapid Antigen Test (Colloidal Gold Method)
Jiangsu	Jiangsu Medomics Medical Technology Co., Ltd.	SARS-CoV-2 Antigen Test Kit (LFIA)
Sejoy	Hangzhou Sejoy Electronics and Instruments Co., Ltd.	SARS-CoV-2 Antigen Rapid Test Cassette
Biouhan	ScheBo Biotech AG / Biohit Healthcare (Hefei) Co., Ltd.	SARS-CoV-2 ANTIGEN RAPID TEST KIT
BIOZEK	BIOZEK medical	COVID-19 Antigen Rapid (Oral fluid)