 Bioinova	Hodnocení funkční způsobilosti IVD	Strana 1 z 12
Bi-CoV™ set		Datum vydání: 4.12.2020

Hodnocení funkční způsobilosti IVD

1. Identifikace výrobku

Název IVD: **Bi-CoV™ set**

Šarže číslo: 01-2020

Výrobce: Bioinova, s.r.o., Vídeňská 1083, 142 00 Praha 4, Česká republika

Odběrový Bi-CoV™ set slouží k neinvazivnímu odběru biologického materiálu z ústní dutiny nebo nosohltanu vsáknutím tekutiny do vloženého tamponu, vložením do ampule s odběrovým (resp. transportním) roztokem a k následnému transportu vzorku do laboratoře za účelem PCR diagnostiky.

Roztok v soupravě zabezpečuje postupnou dekompozici virových partikulí (pokles virulence po 1 h o 68,4%; po 24 h o 96,6%), uvolnění nukleových kyselin (RNA) do roztoku a jejich ochranu před degradací. V diagnostické laboratoři není nutné provádět RNA izolaci, vzorek je již připravený pro analýzu pomocí PCR.

2. Hodnocení funkční způsobilosti provedl

Bioinova, s.r.o., Vídeňská 1083, 142 00 Praha 4, Česká republika

Identifikace hodnotitele:

MUDr. Peter Bauer, Ph.D.

Bioinova, s.r.o., Vídeňská 1083, 142 00 Praha 4, Česká republika

e-mail: peter.bauer@bioinova.cz

3. Plán hodnocení

Pro hodnocení funkční způsobilosti budou odebráni pacienti, kteří se dostaví na odběrové místo Nemocnice Agel v Novém Jičíně za účelem standardního testování pro průkaz SARS-CoV-2 PCR testem. Pacienti budou předem informováni o účelu navýšeného odběru a svůj souhlas vyjádří podpisem informovaného souhlasu (viz příloha). S plánem hodnocení vyjádřila souhlas místní etická komise. U každého pacienta bude proveden:

A. Výtěr z nosohltanu za použití standardního odběrového setu pro PCR

B. Výtěr z nosohltanu za použití Bi-CoV™ set (viz Návod k použití)


C. Odběr slin z dutiny ústní za použití Bi-CoV™ set (viz Návod k použití)

Bude provedena analýza odebraných vzorků metodou PCR. Vzorky B a C budou analyzovány metodou PCR bez předchozí izolace RNA.

Ověření funkční způsobilosti se provede znovu v případě, že dojde ke změně složení odběrového roztoku.

4. Materiál

Pro odběr

 Bioinova	Hodnocení funkční způsobilosti IVD	Strana 2 z 12
Bi-CoV™ set		Datum vydání: 4.12.2020

A. standardní odběrový set pro PCR

Viral transport tube od firmy Jiangsu Rongye Technology Co., Ltd., šarže č. 20200918



B. Bi-CoV™ set

C. Bi-CoV™ set

5. Metodika

5.1. Odběr

A. Standardní postup odběrového místa Nemocnice Agel Nový Jičín a.s.

B. Návod k použití Bi-CoV™ set Bioinova

C. Návod k použití Bi-CoV™ set Bioinova

5.2. Izolace


dle BI-ZP-SOP-01 s použitím kitů EliGene Viral RNA/DNA FAST Isolation Kit (Elisabeth Pharmacon, kat. č. 409100)

5.3. PCR detekce

dle BI-ZP-SOP-02 s použitím kitů GeneProof SARS-CoV-2 PCR Kit (GeneProof, kat. č. COV2/GP/100)

6. Postup analýzy

Byla provedena analýza odebraných vzorků metodou PCR. Za směrodatný byl považován výsledek vzorku A, který byl proveden do standardního odběrového setu a analyzován po předchozí izolaci RNA. Vzorky B a C byly analyzovány metodou PCR bez předchozí izolace RNA. Všechny výsledky by se pro každý vzorek měly shodovat. Vzhledem k tomu, že u každého pacienta musely být provedeny tři

 Bioinova	Hodnocení funkční způsobilosti IVD	Strana 3 z 12
Bi-CoV™ set		Datum vydání: 4.12.2020

odběry, nemuselo se podařit provést tyto odběry zcela rovnocenně. Proto byla v případě neshody výsledku vzorků B, resp. C, opakována analýza PCR, ale s předchozí izolací RNA. Pokud by byl vzorek A pozitivní, ale ve vzorku B, resp. C, nebyla prokázána přítomnost RNA ani po izolaci, byla neshoda výsledků způsobena nesprávným odběrem nikoliv nefunkčností odběrového roztoku v Bi-CoV™ setu.

7. Vyhodnocení

Vzorky byly odebrány ve dnech 25. a 26. listopadu 2020. Od každého pacienta byly provedeny tři odběry:

- A. Výtěr z nosohltanu za použití standardního odběrového setu pro PCR
- B. Výtěr z nosohltanu za použití Bi-CoV™ set (viz Návod k použití)
- C. Odběr slin z dutiny ústní za použití Bi-CoV™ set (viz Návod k použití)

K analýze vzorků byla použita souprava GeneProof, která se v laboratoři Bioinova standardně používá pro detekci SARS-CoV-2 metodou RT-qPCR (reverzně transkripční kvantitativní polymerázová řetězová reakce). Souprava GeneProof detekuje specifické sekvence virových genů RdRp, E a N v jediné reakci, což poskytuje vysokou senzitivitu detekce viru. Detekční kit využívá „hot start“ polymerázu minimalizující nespecifické reakce a zajišťující maximální citlivost. Při porovnání odběrů A, B a C byla jako směrodatná hodnocena specifická sekvence virových genů RdRp/E, která je určující při zjišťování přítomnosti SARS-CoV-2 a je detekována v kanálu FAM (zelený kanál). Signál genu N (červený kanál) nemusí být detekovatelný u pacientů s nižší virovou náloží SARS-CoV-2 (vyšší hodnota C_T v kanálu FAM).


7.1. Senzitivita

Hodnocení bylo provedeno na celkem 113 odebraných vzorků.

Tabulka 1: Přehled počtu pozitivních a negativních odběrů pro standardní odběrový set (A) a Bi-CoV™ set (B, C)

	A	B	C
POZITIVNÍ ODBĚR	27	38	37
NEGATIVNÍ ODBĚR	86	75	76
CELKEM ODBĚRŮ		113	

Analýzou byla potvrzena 100% shoda u pozitivních odběrů provedených pomocí standardních odběrových setů (A) oproti odběrům do odběrových Bi-CoV™ setů (B, C). Kromě potvrzení výsledků u

 Bioinova	Hodnocení funkční způsobilosti IVD	Strana 4 z 12
Bi-CoV™ set		Datum vydání: 4.12.2020

standardních odběrových setů jsme pomocí Bi-CoV™ setu odhalili přítomnost viru SARS-CoV-2 u dalších 11 pacientů, z toho u 7 pacientů to bylo jak výtěrem z nosohltanu (B), tak odběrem z dutiny ústní (C), u 3 pouze výtěrem z nosohltanu (B) a v 1 případě pouze u odběrů z dutiny ústní (C). U odběrů skupiny B a C byla potvrzena přítomnost viru následnou izolací, takže nešlo o falešnou pozitivitu. U odběrů skupiny B a C, u kterých se výsledek lišil, nebyla v případě negativního výsledku prokázána přítomnost viru ani po předchozí izolaci. To znamená, že neshoda výsledků byla zapříčiněna způsobem odběru vzorku nikoliv vadou Bi-CoV™ setu.

	SHODA	POZNÁMKY
STANDARD VS BI-COV™ SET/NOSOHLTAN	100 %	Bi-CoV™ set (nosohltan) odhalil 11 pozitivit navíc
STANDARD VS BI-COV™ SET/ÚSTNÍ DUTINA	100 %	Bi-CoV™ set (ústní dutina) odhalil 8 pozitivit navíc
BI-COV™ SET/NOSOHLTAN VS ÚSTNÍ DUTINA	92 %	3x jen nos; 1x jen ústní dutina; vždy se jednalo o negativní odběr při odběru do standardního setu

Tabulka 2: Senzitivita

Výsledek testu byl určen na základě tvaru křivky a hodnoty C_T , kdy byl vzorek brán jako pozitivní, pokud je $C_T < 35$ (viz. příloha 1). Průměrné hodnoty C_T pozitivních vzorků jsou v příloze 2.

7.2. Specifita a reprodukovatelnost

Dále bylo provedeno porovnání výsledků na 2 dalších detekčních kitech se shodou ve 100 % viz. příloha 3.

Použité srovnávací kity:


- 1) gb SARS-CoV-2 Multiplex (GENERI BIOTECH, kat. č. 3231-200)
- 2) ViroQ SARS-CoV-2 (BAG Diagnostics, kat. č. 728250)

7.3. Stabilita vzorku v odběrovém Bi-CoV™ setu

Stabilita vzorku v odběrovém Bi-CoV™ setu byla ověřena u vybraných pozitivních vzorků po 48 hodinách (viz. příloha 4) a po 72 hodinách (viz. příloha 5). Analýza byla provedena po skladování v lednici. Výsledky měření se shodovaly po 48 i 72 hodinách ve 100 %.

7.4. Datum zahájení a ukončení hodnocení

2. 11. 2020 – 4.12.2020

 Bioinova	Hodnocení funkční způsobilosti IVD	Strana 5 z 12
Bi-CoV™ set		Datum vydání: 4.12.2020

7.5. Přílohy:

Přílohou tohoto dokumentu jsou výsledkové tabulky dokládající prezentované výsledky a popis použitých postupů.

8. Závazné stanovisko hodnotitele

Vzhledem k tomu, že není nutné provádět izolaci RNA, je odběr vzorků do odběrového setu Bi-Cov™ set výhodný především pro laboratoře, které nemají automatické izolátory. Tato metoda laboratořím čas a náklady a navýší kapacitu testování na přítomnost SARS-CoV-2. Zpracování vzorku je díky inaktivační schopnosti roztoku bezpečnější pro personál. Odběrová souprava je vhodná pro odběr materiálu jak z nosohltanu, tak z dutiny ústní (včetně slin).

Testovaný odběrový Bi-Cov™ set má minimálně srovnatelnou účinnost jako běžně používané odběrové soupravy.

V Praze dne: 4. 12. 2020

Hodnotitel:

MUDr. Peter Bauer, Ph. D.
Bioinova s.r.o.

Bi-CoV™ setDatum vydání:
4.12.2020

Příloha 1: Celkové výsledky validační studie

kód zpracování	A) standardní odběr s izolací	B) nosohltan v Bi-CoV™ setu	C) sliny v Bi-CoV™ setu
1	negativní	negativní	negativní
2	negativní	negativní	negativní
3	negativní	negativní	negativní
4	negativní	negativní	negativní
5	negativní	negativní	negativní
6	negativní	negativní	negativní
7	pozitivní	pozitivní	pozitivní
8	negativní	pozitivní	negativní
9	pozitivní	pozitivní	pozitivní
10	negativní	negativní	negativní
11	negativní	pozitivní	pozitivní
12	negativní	negativní	negativní
13	negativní	pozitivní	pozitivní
14	pozitivní	pozitivní	pozitivní
15	negativní	pozitivní	pozitivní
16	negativní	pozitivní	pozitivní
17	negativní	negativní	negativní
18	negativní	negativní	negativní
19	pozitivní	pozitivní	pozitivní
20	negativní	negativní	negativní
21	negativní	negativní	negativní
22	negativní	negativní	negativní
23	negativní	negativní	negativní
24	negativní	negativní	negativní
25	negativní	negativní	negativní
26	negativní	negativní	negativní
27	negativní	negativní	negativní
28	negativní	negativní	negativní
29	negativní	negativní	negativní
30	negativní	negativní	negativní
31	negativní	negativní	negativní
32	negativní	negativní	negativní
33	negativní	negativní	negativní
34	pozitivní	pozitivní	pozitivní
35	negativní	negativní	negativní
36	negativní	negativní	negativní
37	negativní	negativní	negativní
38	negativní	negativní	negativní
39	pozitivní	pozitivní	pozitivní

Bi-CoV™ setDatum vydání:
4.12.2020

kód zpracování	A) standardní odběr s izolací	B) nosohltan v Bi-CoV™ setu	C) sliny v Bi-CoV™ setu
40	pozitivní	pozitivní	pozitivní
41	negativní	negativní	negativní
42	negativní	negativní	negativní
43	negativní	pozitivní	pozitivní
44	pozitivní	pozitivní	pozitivní
45	negativní	negativní	negativní
46	negativní	negativní	negativní
47	negativní	negativní	negativní
48	negativní	negativní	negativní
49	pozitivní	pozitivní	pozitivní
50	negativní	negativní	negativní
51	negativní	negativní	negativní
52	pozitivní	pozitivní	pozitivní
53	negativní	pozitivní	pozitivní
54	negativní	negativní	negativní
55	negativní	negativní	negativní
56	pozitivní	pozitivní	pozitivní
57	negativní	negativní	negativní
58	negativní	negativní	negativní
59	pozitivní	pozitivní	pozitivní
60	negativní	negativní	negativní
61	negativní	negativní	negativní
62	negativní	negativní	negativní
63	pozitivní	pozitivní	pozitivní
64	pozitivní	pozitivní	pozitivní
65	negativní	negativní	negativní
66	negativní	negativní	negativní
67	pozitivní	pozitivní	pozitivní
68	negativní	negativní	negativní
69	pozitivní	pozitivní	pozitivní
70	pozitivní	pozitivní	pozitivní
71	pozitivní	pozitivní	pozitivní
72	negativní	negativní	negativní
73	pozitivní	pozitivní	pozitivní
74	pozitivní	pozitivní	pozitivní
75	negativní	negativní	negativní
76	pozitivní	pozitivní	pozitivní
77	negativní	negativní	negativní
78	negativní	negativní	negativní
79	negativní	negativní	negativní

Bi-CoV™ set

Datum vydání:
4.12.2020

kód zpracování	A) standardní odběr s izolací	B) nosohltan v Bi-CoV™ setu	C) sliny v Bi-CoV™ setu
80	negativní	negativní	negativní
81	pozitivní	pozitivní	pozitivní
82	negativní	pozitivní	pozitivní
83	negativní	negativní	negativní
84	negativní	negativní	negativní
85	pozitivní	pozitivní	pozitivní
86	negativní	negativní	negativní
87	negativní	negativní	negativní
88	negativní	negativní	negativní
89	negativní	negativní	negativní
90	negativní	negativní	negativní
91	negativní	negativní	negativní
92	negativní	pozitivní	negativní
93	pozitivní	pozitivní	pozitivní
94	negativní	negativní	pozitivní
95	negativní	negativní	negativní
96	negativní	negativní	negativní
97	negativní	negativní	negativní
98	negativní	pozitivní	pozitivní
99	negativní	negativní	negativní
100	negativní	negativní	negativní
101	negativní	negativní	negativní
102	negativní	negativní	negativní
103	negativní	negativní	negativní
104	negativní	negativní	negativní
105	negativní	negativní	negativní
106	pozitivní	pozitivní	pozitivní
107	pozitivní	pozitivní	pozitivní
108	negativní	negativní	negativní
109	negativní	pozitivní	negativní
110	negativní	negativní	negativní
111	negativní	negativní	negativní
112	pozitivní	pozitivní	pozitivní
113	negativní	negativní	negativní


Bi-CoVTM setDatum vydání:
4.12.2020Příloha 2: Průměrné hodnoty C_T pozitivních vzorků

kód zpracování	A) standardní odběr s izolací	B) nosohltan v Bi-CoV TM setu	C) sliny v Bi-CoV TM setu
7	26,89	18,31	18,39
8	N	23,55	N
9	33,89	26,52	28,5
11	N	26,69	32,07
13	N	24,61	25,33
14	31,59	22,19	28,69
15	N	26,33	29,84
16	N	24,17	29,32
19	28,79	25,89	31,89
34	31,99	27,73	29,28
39	30,86	21,24	32,64
40	32,66	26,71	31,92
43	N	21,98	30,44
44	30,77	27,93	32,63
49	33,97	29,26	31,91
52	28,41	20,09	29,84
53	N	28,26	27,10
56	30,62	20,90	30,54
59	26,74	19,56	27,98
63	31,17	22,28	22,85
64	34,08	24,38	32,21
67	31,06	27,14	32,47
69	27,24	23,13	32,99
70	23,00	18,29	33,00
71	30,58	26,04	28,97
73	23,10	23,28	31,55
74	25,24	19,69	26,88
76	24,19	20,55	28,39
81	26,34	20,69	32,36
82	N	29,56	29,02
85	32,03	30,02	28,625
92	N	27,01	N
93	26,72	19,63	26,92
94	N	N	26,54
98	N	28,96	30,59
105	N	N	N
106	25,61	18,03	25,86
107	26,58	18,18	20,51
109	N	24,91	N
112	20,59	16,54	24,59

Bi-CoV™ setDatum vydání:
4.12.2020


Příloha 3. Porovnání různých detekčních kitů u vybraných pozitivních vzorků na základě hodnoty Ct.

kód zpracování	Gene Proof		Generi Biotech		ViroQ	
	nos	sliny	nos	sliny	nos	sliny
7	14,78	15,13	25,55	24,97	17,71	17,81
13	22,04	20,78	28,74	30,34	25,86	28,62
14	18,95	27,34	27,92	28,79	23,57	31,02
15	24,13	28,27	29,42	28,56	26,97	32,68
19	24,64	35,05	29,05	28,36	27,14	35,47
34	26,35	28,12	29,18	29,49	28,93	31,06
43	18,01	29,72	27,81	29,45	23,5	33,97
44	26,24	34,1	29,46	29,14	29,99	34,44
52	16,56	29,59	26,89	29,62	20,44	31,14
56	17,09	29,26	27,74	29,95	21,4	31,96
59	15,67	26,72	25,79	28,38	21,62	29,43
63	19,2	20,51	28,59	27,47	22,27	22,8
71	22,82	27,12	29,36	30,67	29	30,53
74	16,08	25,24	25,51	28,9	20,64	27,41
76	17,26	27,37	27,06	29,13	20,89	29,47
81	17,03	31,78	27,57	28,05	21,43	34,9
82	34,79	26,81	28,87	31,14	29,15	31,43
93	16,9	25,09	25,65	29	19,42	27,5
105	13,7	24,85	24,65	25,84	20,14	27,31
106	15,9	18,06	23,83	24,18	18,2	21,21
112	13,63	23,76	22,98	24,49	15,41	26,28

 Bioinova	Hodnocení funkční způsobilosti IVD	Strana 11 z 12
Bi-CoV™ set		Datum vydání: 4.12.2020

Příloha 4. Stabilita vybraných pozitivních vzorků v odběrovém Bi-CoV™ setu po 48 h na základě hodnot C_T

kód zpracování	Gene Proof		Generi Biotech		ViroQ	
	nos	sliny	nos	sliny	nos	sliny
7	14,78	15,13	25,55	24,97	17,71	17,81
13	22,04	20,78	28,74	30,34	25,86	28,62
14	18,95	27,34	27,92	28,79	23,57	31,02
15	24,13	28,27	29,42	28,56	26,97	32,68
19	24,64	35,05	29,05	28,36	27,14	35,47
34	26,35	28,12	29,18	29,49	28,93	31,06
43	18,01	29,72	27,81	29,45	23,5	33,97
44	26,24	34,1	29,46	29,14	29,99	34,44
52	16,56	29,59	26,89	29,62	20,44	31,14
56	17,09	29,26	27,74	29,95	21,4	31,96
59	15,67	26,72	25,79	28,38	21,62	29,43
63	19,2	20,51	28,59	27,47	22,27	22,8

 Bioinova	Hodnocení funkční způsobilosti IVD	Strana 12 z 12
Bi-CoV™ set		Datum vydání: 4.12.2020

Příloha 5. Stabilita vybraných pozitivních vzorků v odběrovém Bi-CoV™ setu po 72 h na základě hodnot Ct

kód zpracování	Gene Proof		Generi Biotech		ViroQ	
	nos	sliny	nos	sliny	nos	sliny
71	22,82	27,12	29,36	30,67	29	30,53
74	16,08	25,24	25,51	28,9	20,64	27,41
76	17,26	27,37	27,06	29,13	20,89	29,47
81	17,03	31,78	27,57	28,05	21,43	34,9
82	34,79	26,81	28,87	31,14	29,15	31,43
93	16,9	25,09	25,65	29	19,42	27,5
105	13,7	24,85	24,65	25,84	20,14	27,31
106	15,9	18,06	23,83	24,18	18,2	21,21
112	13,63	23,76	22,98	24,49	15,41	26,28