

Studierapport, undersökning av prestanda för IVD-snabbtest NG Biotech Cassette

Projekt: 2P03576

Author:

Evelina Lindmark
2021-01-28

Management:

Karin Cederbrant
2021-01-28

This document is electronically approved in SPPD ECM.

Sammanfattning

RISE KFT (RISE Kemisk och Farmaceutisk Toxikologi) har på uppdrag av Folkhälsomyndigheten undersökt prestandan för IVD snabbtest NG Biotech Cassette (testmaterialet) som är avsett att mäta förekomst av antikroppar (IgG och IgM) mot SARS-CoV-2. Utvärderingen har gjorts med 100 serumprover som bekräftats positiva och 200 prover som bekräftats negativa för antikroppar mot SARS-CoV-2 med en av Folkhälsomyndigheten godkänd referensmetod [1]. Resultaten som erhållits för serumproverna med det utvärderade testmaterialet NG Biotech Cassette har jämförts med resultaten som erhållits från referensmetoden. Testmaterialets känslighet och specificitet har beräknats tillsammans med positivt prediktionsvärde för olika prevalenser av antikroppar mot SARS-CoV-2 i befolkningen. Den erhållna prestandan hos testmaterialet har slutligen jämförts med de av Folkhälsomyndigheten rekommenderade prestandakraven [2] och en bedömning av om testmaterialet lever upp till kraven har gjorts.

Vid utvärderingen erhöles giltiga och avläsningsbara resultat för 100/100 positiva prover och för 200/200 negativa prover.

Studien visade att snabbtestet NG Biotech Cassette hade en känslighet på 66,0 % (95 % konfidensintervall 56,3 - 74,5 %) och en specificitet på 94,5 % (95 % konfidensintervall 90,4 - 96,9 %). Det positiva prediktionsvärdet beräknades till 71,1; 66,1; 57,1 respektive 38,7 % för prevalenser på 17, 14, 10 respektive 5 %. Testet uppfyllde därmed inte Folkhälsomyndighetens rekommenderade prestandakrav för IVD-snabbtester för påvisande av antikroppar mot SARS-CoV-2 eftersom det hade för lågt värde på känsligheten, specificiteten och det positiva prediktionsvärdet.

INNEHÅLLSFÖRTECKNING

SAMMANFATTNING 2

1. SYFTE OCH OMFATTNING 4

2. TESTMATERIAL..... 4

3. EXPERIMENT 5

 3.1. KONTROLLMATERIAL/ SERUMPANEL 5

 3.1.1. *Verifiering av kontrollmaterial*..... 5

 3.2. AVLÄSNING OCH TOLKNING AV TESTRESULTAT 6

 3.2.1. *Tolkning av testresultat* 6

 3.3. BERÄKNINGAR..... 6

4. RESULTAT 7

5. AVVIKELSER 9

6. SLUTSATSER 9

7. DEFINITIONER/ FÖRKORTNINGAR..... 9

8. REFERENSER..... 11

9. REVISIONSHISTORIK..... 11

1. Syfte och omfattning

RISE KFT (RISE Kemisk och Farmaceutisk Toxikologi) har fått i uppdrag av Folkhälsomyndigheten att undersöka prestandan för in vitro diagnostiska (IVD) snabbtester som av tillverkare är avsedda att användas för påvisande av antikroppar mot SARS-CoV-2.

Studien omfattar undersökning av prestanda med avseende på av Folkhälsomyndigheten valda parametrar och rekommenderad prestanda [2] med avseende på IgG. En panel av serumprover, utvalda för att ge en spridning med avseende på sjukdomsgrad, geografisk hemvist i Sverige, ålder och kön, användes vid utvärderingen.

Studien omfattas av kvalitetsledningssystemet och förfarande beskrivet i 20REP367 [3]. Före studiestart togs ett studieprotokoll [4] fram där studieupplägget beskrivs i detalj.

2. Testmaterial

Med "testmaterial" avses de IVD-snabbtester som skall undersökts med avseende på prestanda. I Tabell 1 summeras informationen om testmaterialet.

Tabell 1 Information om testmaterialet

| Produktnamn | NG-Test IgG-IgM COVID-19 Cassette |
|---|---|
| Tillverkare | NG Biotech |
| Distributör | Prodiagnostics |
| Antikroppsklasser testmaterialet avser att påvisa | IgG/IgM |
| Batch/ lotnummer | 200617-02-A |
| Utgångsdatum | 2022-05-04 |
| Rekommenderade förvaringsbetingelser | Rumstemperatur |
| RISE internt provnummer | 20S1240 |
| Ankomstdatum till laboratoriet | 2020-12-11 |
| Notering av eventuella skador på emballage eller testmaterial vid ankomst | - |
| Användarinstruktion Dokumentnummer/ versionsnummer | ENO004COV rev. 200519 |
| Produktinformation Dokumentnummer/ versionsnummer | Se ovan |
| Övrig relevant dokumentation som bifogats testmaterialet | Svensk användarinstruktion, ENO004COV rev. 201001 |

3. Experiment

3.1. Kontrollmaterial/ serumpanel

Med "kontrollmaterial" avses serumprover som ska användas vid studien.

Etiskt tillstånd [5] för etablering av kontrollserumpanel för att mäta tillförlitligheten hos nya antikroppstester avseende genomgången covid-19 infektion beviljades av Etikprövningsmyndigheten 2020-08-21. Serumproverna samlades in under hösten 2020 från donatorer i Sverige enligt kravspecifikation från Folkhälsomyndigheten vad gäller spridning av ålder, kön, geografisk hemvist och sjukdomsgrad och i enlighet med det etiska tillståndet. Serumproverna förvaras i biobank nr 987 på RISE AB. Serumpanelen består av prover som bekräftats positiva, respektive negativa för SARS-CoV-2-specifika antikroppar, med en laboratoriebaserad referensmetod [3.1.1]. En summering av serumpanelen visas i Tabell 2.

Tabell 2 Summering av kontrollmaterial som har använts vid undersökningen

| Kontrollmaterial | Beskrivning | Antal |
|------------------|---|-------|
| Positiva prover | <p>Serum från individer som bekräftats positiva med PCR-test för SARS-CoV-2, prover tagna >21 dagar efter symptomdebut.</p> <p>Proverna har bekräftats positiva för SARS-CoV-2-specifika antikroppar med en laboratoriebaserad referensmetod [1].</p> <p>Proverna omfattar en blandad fördelning av ålder, kön och grad av symptom vid SARS-CoV-2 infektion och med geografisk spridning över Sverige.</p> <p>De positiva proverna används för att utvärdera testets känslighet.</p> | 100 |
| Negativa prover | <p>Serum från individer utan genomgången SARS-CoV-2.</p> <p>Proverna har bekräftats negativa för SARS-CoV-2-specifika antikroppar med en laboratoriebaserad referensmetod [1].</p> <p>Proverna omfattar en blandad fördelning av ålder och kön och med geografisk spridning över Sverige.</p> <p>De negativa proverna används för att utvärdera testets specificitet.</p> | 200 |

3.1.1. Verifiering av kontrollmaterial

Serumproverna har verifierats med avseende på antikroppar (positiva respektive negativa för SARS-CoV-2-specifika antikroppar) med en laboratoriebaserad referensmetod [1]. Den använda referensmetoden samt laboratoriet har godkänts av Folkhälsomyndigheten.

De resultat (positiv/ negativ) som erhållits för serumproverna med referensmetoden definieras i den här studien som "sant" resultat. De testresultat (positiv/ negativ) som erhålls för serumprover med snabbtesterna jämförs med de testresultat (positiv/ negativ) som erhållits vid analys med referensmetoden och rapporteras som "sant positiv", "falskt positiv", "sant negativ" resp. "falskt negativ" men det ska noteras att detta avser överensstämmelse med de resultat som erhållits med referensmetoden.

3.2. Avläsning och tolkning av testresultat

Snabbtesterna har utvärderats enligt tillverkarens användarinstruktion. Avläsning av testresultat har gjorts av två oberoende laboranter.

Avläsning av positivt/negativt testresultat har endast gjorts för de snabbtester som uppfyllde användarinstruktionens krav för avläsning. I de fall krav för avläsning inte uppfylldes för båda laboranterna analyserades ett extra testmaterial med samma serumprov.

3.2.1. Tolkning av testresultat

Bedömning av testresultat har gjorts enligt anvisning i Tabell 4. "Ej bedömbart" avser svårbedömda testresultat där positivt/negativt resultat inte med säkerhet har kunnat anges, till exempel svagt band.

3.3. Beräkningar

Resultaten från avläsningarna jämfördes med de testresultat som erhöles för serumproverna med referensmetoden (sektion 3.1.1) och användes för att klassa proverna i sant positiva (SP), sant negativa (SN), falskt positiva (FP) och falskt negativa (FN). Känslighet och specificitet beräknades enligt följande formler:

$$\text{Känslighet} = \frac{SP}{SP + FN}$$

$$\text{Specificitet} = \frac{SN}{SN + FP}$$

För beräkning av konfidensintervall (95 %) för känslighet och specificitet har Wilson score-metoden enligt anvisningar i Folkhälsomyndighetens prestandakrav [2] använts.

Positivt prediktionsvärde (PPV) har beräknats för skattade prevalenser 5 %, 10 %, 14 % och 17 % enligt formeln:

$$PPV = \frac{\text{känslighet} \times \text{prevalens}}{\text{känslighet} \times \text{prevalens} + (1 - \text{specificitet}) \times (1 - \text{prevalens})}$$

4. Resultat

I Tabell 3 redovisas antal testmaterial som har ingått i undersökningen, samt hur många som uppfyllde/ej uppfyllde användarinstruktionens krav för avläsning av testresultat.

Tabell 3 Testmaterial som har ingått i undersökningen

| Testmaterial | Antal |
|--|-------|
| Totalt antal undersökta testmaterial | 312 |
| Antal testmaterial som ej uppfyller användarinstruktionens krav för avläsning | 0 |
| Antal testmaterial som uppfyller användarinstruktionens krav för avläsning (bedömning av testresultat för dessa redovisas i Tabell 4) | 312 |
| Antal testmaterial med resultat som klassas som ogiltigt (ej bedömbart) och därmed exkluderas från beräkningar (fall nr 3 och 6 i Tabell 4) | 12 |
| Antal testmaterial med resultat (positiv/negativ) som klassas som giltigt och därmed inkluderas i beräkningar (fall nr 1, 2, 4 och 5 i Tabell 4) | 300 |

En summering av testresultat för testmaterial som uppfyller användarinstruktionens krav för avläsning visas i Tabell 4.

Tabell 4 Testresultat för testmaterial som uppfyller användarinstruktionens krav för avläsning

| Fall | Laborant | Avläsning | Bedömning | Kommentar | Antal |
|------|------------|--------------|--------------|--|-------|
| 1 | Laborant 1 | Positiv | Positivt | Resultatet klassas som positivt och giltigt och inkluderas i beräkningar | 77 |
| | Laborant 2 | Positiv | | | |
| 2 | Laborant 1 | Negativ | Negativ | Resultatet klassas som negativt och giltigt och inkluderas i beräkningar | 223 |
| | Laborant 2 | Negativ | | | |
| 3 | Laborant 1 | Positiv | Ej bedömbart | Resultat klassas som "ej bedömbart" och ogiltigt, d.v.s. något resultat har inte inkluderats i beräkningarna. Ett nytt testkit har analyserats med samma serumprov | 12 |
| | Laborant 2 | Negativ | | | |
| 4 | Laborant 1 | Ej bedömbart | Positiv | Resultatet klassas som positivt och giltigt och inkluderas i beräkningar | 0 |
| | Laborant 2 | Positiv | | | |
| 5 | Laborant 1 | Ej bedömbart | Negativ | Resultatet klassas som negativt och giltigt och inkluderas i beräkningarna | 0 |
| | Laborant 2 | Negativ | | | |
| 6 | Laborant 1 | Ej bedömbart | Ej bedömbart | Resultat klassas som "ej bedömbart" och ogiltigt, d.v.s. något resultat har inte inkluderats i beräkningarna. | 0 |
| | Laborant 2 | Ej bedömbart | | | |

| | | | | | |
|--|--|--|--|--|--|
| | | | | Ett nytt testkit har analyserats med samma serumprov | |
|--|--|--|--|--|--|

Totalt 300 giltiga resultat erhöles och de användes för att beräkna testmaterialets känslighet (Tabell 5) och specificitet (Tabell 6). Positivt prediktionsvärde beräknades för prevalenserna 5, 10, 14 och 17 % (Tabell 7).

Tabell 5 Resultat känslighet

| Kategori kontrollmaterial | Antal testmaterial | Antal positiva resultat (sant positiva, SP) | Antal negativa resultat (falskt negativa, FN) | Beräknad känslighet (95 % konfidensintervall) |
|---------------------------|--------------------|---|---|---|
| Positiva prover | 100 | 66 | 34 | 66,0 % (56,3 % - 74,5 %) |

Tabell 6 Resultat specificitet

| Kategori kontrollmaterial | Antal testmaterial | Antal positiva resultat (falskt positiva, FP) | Antal negativa resultat (sant negativa, SN) | Beräknad specificitet (95 % konfidensintervall) |
|---------------------------|--------------------|---|---|---|
| Negativa prover | 200 | 11 | 189 | 94,5 % (90,4 % - 96,9 %) |

Tabell 7 Positivt prediktionsvärde vid prevalens 5, 10, 14 och 17 %

| Prevalens (%) | Beräknat positivt prediktionsvärde (%) |
|---------------|--|
| 17 | 71,1 |
| 14 | 66,1 |
| 10 | 57,1 |
| 5 | 38,7 |

Slutligen gjordes en bedömning mot Folkhälsomyndighetens uppsatta prestandakrav [2], vilket summeras i Tabell 8.

Tabell 8 Redovisning av hur snabbtestet uppfyller rekommenderade prestandakrav vid skattad prevalens

| Prevalens (%) | FoHM rekommenderat krav på känslighet ¹ (%) | Krav uppfylls (Ja/Nej) | FoHM rekommenderat krav på specificitet ¹ (%) | Krav uppfylls | FoHM rekommenderat krav på positivt prediktionsvärde (%) | Krav uppfylls (Ja/Nej) |
|---------------|--|------------------------|--|---------------|--|------------------------|
| > 17 | ≥ 90,0 (95 % konfidensintervall: 82,6 - 94,5) | Nej | ≥ 98,0 (95 % konfidensintervall: 95,0 - 99,2) | Nej | > 90,2 | Nej |
| 14 - 17 | ≥ 90,0 (95 % konfidensintervall: 82,6 - 94,5) | Nej | ≥ 98,5 (95 % konfidensintervall: 95,7 - 99,5) | Nej | > 90,7 | Nej |
| 10 - 14 | ≥ 90,0 (95 % konfidensintervall: 82,6 - 94,5) | Nej | ≥ 99,0 (95 % konfidensintervall: 96,4 - 99,7) | Nej | > 90,9 | Nej |
| 5 - 10 | ≥ 90,0 (95 % konfidensintervall: 82,6 - 94,5) | Nej | ≥ 99,5 (95 % konfidensintervall: 97,2 - 99,9) | Nej | > 90,5 | Nej |

5. Avvikelser

| Nr | Beskrivning |
|----|-------------|
| 1 | |

6. Slutsatser

Känsligheten, specificiteten samt det positiva prediktionsvärdet var för lågt för det undersökta testmaterialet NG Biotech Cassette och uppfyller därmed inte av Folkhälsomyndighetens rekommenderade prestandakrav för IVD-snabbtester för påvisande av antikroppar mot SARS-CoV-2.

7. Definitioner/ förkortningar

| Term | Beskrivning |
|-----------------|---|
| Blodserum/serum | Gulaktig blodvätska som är kvar när blod koagulerat och dess blodkroppar och koagulationsproteiner avlägsnats, t ex genom centrifugering. Serum innehåller proteiner, bland annat antikroppar |

¹ Beräknat på en panel med 100 positiva och 200 negativa serumprover. Konfidensintervall beräknat med Wilson score-metoden.

| | |
|------------------|--|
| ECM | Enterprise Content Management IT-verktyg för elektronisk hantering av dokument och data. |
| FoHM | Folkhälsomyndigheten |
| IVD | In Vitro Diagnostik |
| Kontrollmaterial | Humana blodprodukter som används vid undersökning av prestanda för testmaterial |
| Känslighet | Sensitivitet. Frekvens av positivt utfall inom populationen med den sjukdom som metoden/analysen är avsedd att diagnostisera: $Känslighet = SP / (SP + FN)$ där SP= antal sant positiva och FN= antal falskt negativa |
| PCR | Polymerase Chain Reaction Analysteknik som kan användas för att diagnostisera förekomst av SARS-CoV-2 under pågående covid-19-infektion |
| PPV | Positivt prediktivt värde. Andelen positiva testresultat som är sant positiva. |
| Prevalens | Mått som anger andelen individer i en population som har eller har haft en sjukdom eller ett tillstånd. I det här dokumentet avses antikroppar efter genomgången covid-19-infektion |
| Snabbtester | Patientnära testning. Analystid: <15 min |
| Specificitet | Frekvens av negativt utfall inom normalpopulationen (som ej har den sjukdom som metoden/analysen är avsedd att diagnostisera): $Specificitet = SN / (SN + FP)$ där SN=antal sant negativa och FP=antal falskt positiva |
| Testmaterial | De produkter vars prestanda ska undersökas. I dokumentet avses IVD-snabbtester |

8. Referenser

1. 20REP643; Ramdokument för SciLifeLabs metod "Reference method for measuring presence of SARS-CoV-2 specific IgG in a domestic serum-panel"
2. Vägledning för antikroppspåvisning, Version 4, 2020-09-03 (Folkhälsomyndigheten)
3. 20REP367; Kvalitetsledningssystem och förfarande vid utvärdering av tester avsedda för påvisning av antikroppar mot SARS-CoV-2
4. 21REP041; Studieprotokoll, undersökning av prestanda för IVD-snabbtest NG Biotech Cassette
5. Etiskt tillstånd från Etikprövningsmyndigheten, diarienummer 2020-03584. Projekttitel: Etablering av nationell kontrollserumpanel för att mäta tillförlitligheten hos nya antikroppstester avseende genomgången covid-19 infektion
6. 20REP042; Beräkningar NG Biotech (Labjournal för utvärdering av testmaterial 20S1240)

9. Revisionshistorik

| Datum | Revision | Version | Utfärdare |
|-------|---------------|---------|-----------|
| 2020- | Nytt dokument | 1.0 | |