

PRZEGLĄD ZGODNOŚCI GENECOUNT[®]

Odnosi się do:

Zalecenie Komisji Europejskiej z dnia 17 marca 2021 r

Wspólne podejście do ustanowienia systematycznego nadzoru nad SARS-CoV-2 i jego odmianami w ściekach w UE
C (2021) 1925 wersja ostateczna

Kluczowe punkty:

Strona 4

(4) Stanowczo zachęca się państwa członkowskie do wdrażania testów WW (do badania ścieków) - dlatego pochodzą one z wysokiego szczebla UE i mają wpływ na wszystkie państwa członkowskie.

(5) Pobieranie próbek powinno pochodzić ze wszystkich miast liczących > 150000 mieszkańców, z częstotliwością 2 próbek / tydzień - oznacza to, że wiele laboratoriów musi być w stanie wykonać test, a przy tak dużej liczbie testów koszt testów staje się ważny.

- Dzięki GeneCount nawet mniejsze laboratoria będą mogły wykonać test, ponieważ potrzebny jest tylko podstawowy sprzęt.
- Koszt to mniej niż 200 PLN za test. To jest całkowity koszt, obejmujący zarówno ekstrakcję, oczyszczanie, jak i test qPCR (z wyjątkiem konieczności dodania etanolu).

(9) Wyniki należy zapisać jak najszybciej, najlepiej nie później niż 48 godzin po pobraniu próbki - będzie to bardzo trudne, jeśli próbki będą musiały zostać przesłane do ośrodka centralnego. Dzięki GeneCount można wyposażyć nawet małe laboratoria lub mobilne laboratoria testowe. Dane mogą być raportowane tego samego dnia.

Strona 5

(12) Próbki powinny składać się z 24-godzinnych kompozytów - aby to zrobić, projekt będzie musiał pozyskać autosamplery. Te urządzenia należy pozyskać we własnym zakresie.

b Należy użyć RT-PCR - GeneCount to RT-qPCR

Załącznik - Szczegółowe normy jakości

Najważniejsze cechy i zalety testu ścieków GeneCount SARS-CoV-2

- Nie jest potrzebny żaden specjalny sprzęt, z wyjątkiem samego qPCR, bloku grzejnego i magnesu - mogą go obsługiwać nawet małe laboratoria
- Brak długich etapów wirowania lub filtracji membranowej - metoda oszczędza godziny w porównaniu z ekstrakcją PEG lub ekstrakcją membranową. Wyniki można szybko zgłaszać i podejmować odpowiednie działania.
- Bardzo wysoki współczynnik odzysku RNA w porównaniu z wirowaniem lub ekstrakcją membranową - potrzebna jest tylko niewielka objętość próbki, łatwa w obsłudze.
- Niski koszt.
- Zarówno zestaw testowy, jak i sprzęt są kompletnymi rozwiązaniami zawierającymi wszystko, czego będzie potrzebował użytkownik (z wyjątkiem etanolu) - nie ma potrzeby kupowania i łączenia komponentów od różnych dostawców laboratoryjnych.
- Zestaw Q16 jest przenośny - qPCR i wszystkie akcesoria mogą być używane w mobilnym laboratorium i łatwo transportowane
- Zestaw testowy może być używany na innych maszynach qPCR (użytkownik musi tylko wygenerować własną krzywą kalibracji)
- Dane mogą być przesyłane na platformę cyfrową MyLuminUltra (opcjonalnie) i dostępne zdalnie - łatwe udostępnianie wyników, wyniki szybko dostępne dla decydentów.

Załącznik: Szczegółowe normy jakości

Sekcja 1; Standardy dla PCR / Digital-PCR (reakcja łańcuchowa polimerazy)

| | Specyficzne wymagania dla standardu | GeneCount | Zgodność |
|-----|--|---|-------------|
| (a) | Wartość cyklu progowego dla łańcuchowej reakcji polimerazy w czasie rzeczywistym (RT-qPCR) powinna wynosić poniżej 40, aby próbka była pozytywna zarówno do analizy qPCR (ilościowej reakcji łańcuchowej polimerazy), jak i do sekwencjonowania. | Wartość graniczna Ct w oprogramowaniu GeneCount wynosi 40 | Y |
| (b) | Można zastosować alternatywne metody kwantyfikacji RT-qPCR (jak cyfrowa reakcja łańcuchowa polimerazy - dPCR), pod warunkiem, że osiągają one wyniki równoważne RT-qPCR i stosują wymagania jakościowe równoważne z RT-qPCR. | Wszystkie instrumenty z serii GeneCount Q to RT-qPCR | Nie dotyczy |
| (c) | Wszystkie próbki należy analizować co najmniej w dwóch powtórzeniach, aby uniknąć wyników fałszywie dodatnich lub fałszywie ujemnych | Oprogramowanie GeneCount jest elastyczne i użytkownik może łatwo wprowadzać repliki dowolnej próbki i / lub kontroli | Y |
| (d) | Procedura analityczna stosowanej reakcji łańcuchowej polimerazy w czasie rzeczywistym powinna obejmować odpowiednie kontrole, aby ocenić przynajmniej efektywność etapów zateżania / ekstrakcji i brak znaczącego hamowania reakcji. | <ul style="list-style-type: none"> ▪ Każda reakcja obejmuje kontrolę wewnętrzną, która wskazuje na brak zahamowania reakcji. ▪ Użytkownik może łatwo dodać pozytywną kontrolę ekstrakcji (na przykład Human Coronavirus 229E). | Y |
| (e) | Każda seria powinna zawierać odpowiednie standardy (co najmniej 3-punktowe seryjne rozcieńczenia w trzech powtórzeniach z użyciem syntetycznego RNA SARS-CoV-2) oraz kontrole pozytywne i negatywne w celu ustalenia, czy seria PCR / qPCR dała wiarygodne wyniki. | <ul style="list-style-type: none"> ▪ W zestawie znajduje się kontrola negatywna (woda wolna od nukleaz). ▪ Dodatnia kontrola SARS-CoV-2 jest dostarczana jako opcja dodatkowa (zawiera gen N2 i gen E, każdy w ilości 2000 kopii / rxn). ▪ Krzywa standardowa SARS-CoV-2 jest wbudowana w oprogramowanie GeneCount | Y |
| (f) | Wartość odcięcia cyklu kwantyfikacji (Cq) dla próbek dodatnich należy ustawić [na] 5 cykli przed zakończeniem protokołu amplifikacji, aby uniknąć błędnego przypisania późnych sygnałów fluorescencji. | Wartość odcięcia cyklu kwantyfikacji (Cq) dla próbek dodatnich jest ustalona na 13 cykli. | Y |
| (g) | Należy użyć negatywnej kontroli ekstrakcji, aby uwzględnić wszelkie zanieczyszczenia podczas ekstrakcji RNA. | Kontrola wewnętrzna uwzględnia wszelkie zanieczyszczenia podczas ekstrakcji i udowadnia, że wynik negatywny jest prawdziwie negatywny | Y |