



# COVID-19 molekyylibiologinen diagnostiikka

## Eristys-/PCR-laitevertailu

Mikko Määttä

19.11.2021

Terveyden ja hyvinvoinnin laitos

# Sisältö

- Työn tavoitteet
- COVID-19 molekyylibiologinen diagnostiikka
- Vertailtavat menetelmät
  - QIAGEN QIAcube Connect
  - PerkinElmer chemagic™360
  - QIAGEN QIASymphonySP/AS
  - NeuMoDx™ 96 Molecular System
  - QIAGEN QIAstat-Dx®
- Tulokset
- Yhteenvedo ja pohdinta

# Työn tavoitteet

- Varmistaa uusien eristys- ja diagnostiikkalaitteiden soveltuvuus COVID-19 testaukseen
- Selvittää eristyslaitteiden kyky eristää viruksen RNA käyttämällä laboratorion referenssimenetelmän reagensseja
- Arvioida työhön kuluva aika ja kustannuksia uusia laitteita käytettäessä

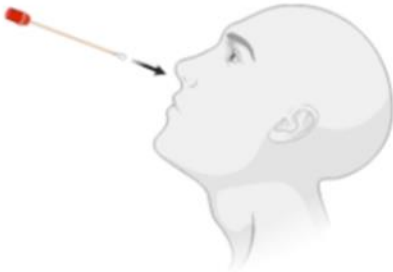
# COVID-19

- COVID-19 on uuden aikaisemmin tuntemattoman koronaviruksen, SARS-CoV-2:n aiheuttama hengitystieinfektio
- Virus on aiheuttanut maailmanlaajuisen epidemian 2019 ->
- Tartunta todetaan osoittamalla viruksen nukleiinihappoja hengitystie-eritenäytteestä

# COVID-19 testaus reaaliaikaisella RT-PCR:llä

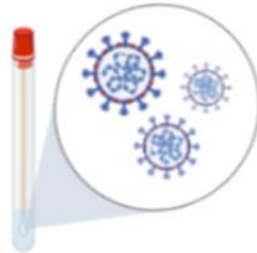
## 1 Nenänielutikkunäyte

Näyte otetaan potilaan nenänielusta



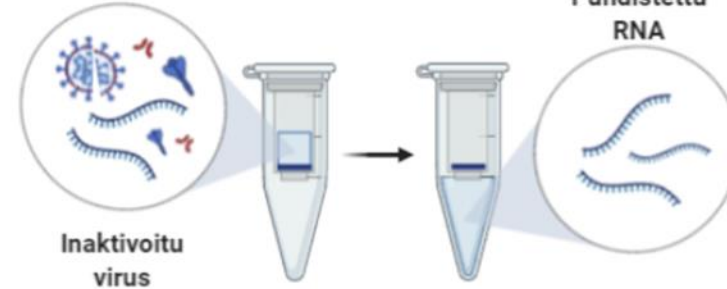
## 2 Näytteen säilytys

Näyte säilyy 2-8°C:ssa noin 72 tuntia kuljetusmediassa



## 3 RNA eristys

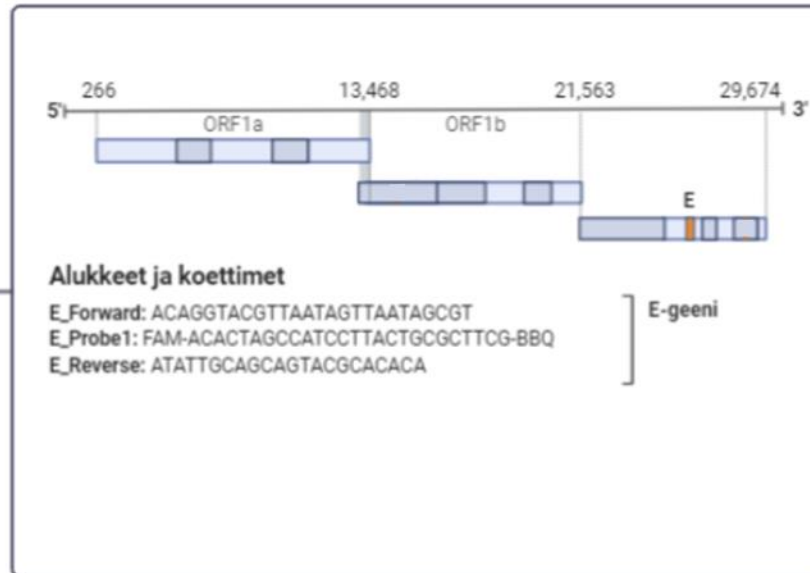
Puhdistettu RNA eristetään inaktivoitua viruksesta



## 4 RT-qPCR

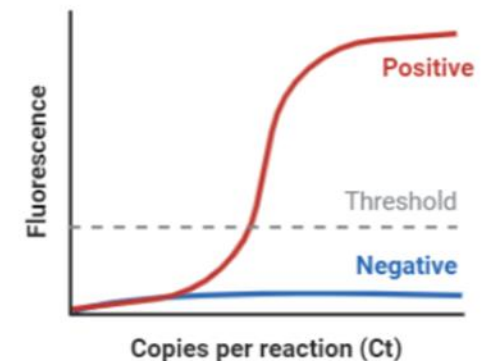
Puhdistettu RNA käänteistranskriptoidaan cDNA:ksi ja monistetaan qPCR:llä.

Käänteistranskriptio



## 5 Testitulos

Positiiviset SARS-CoV2 näytteet ylittävät kynnsarvon ennen 40.00 sykliä (< 40.00 Ct).





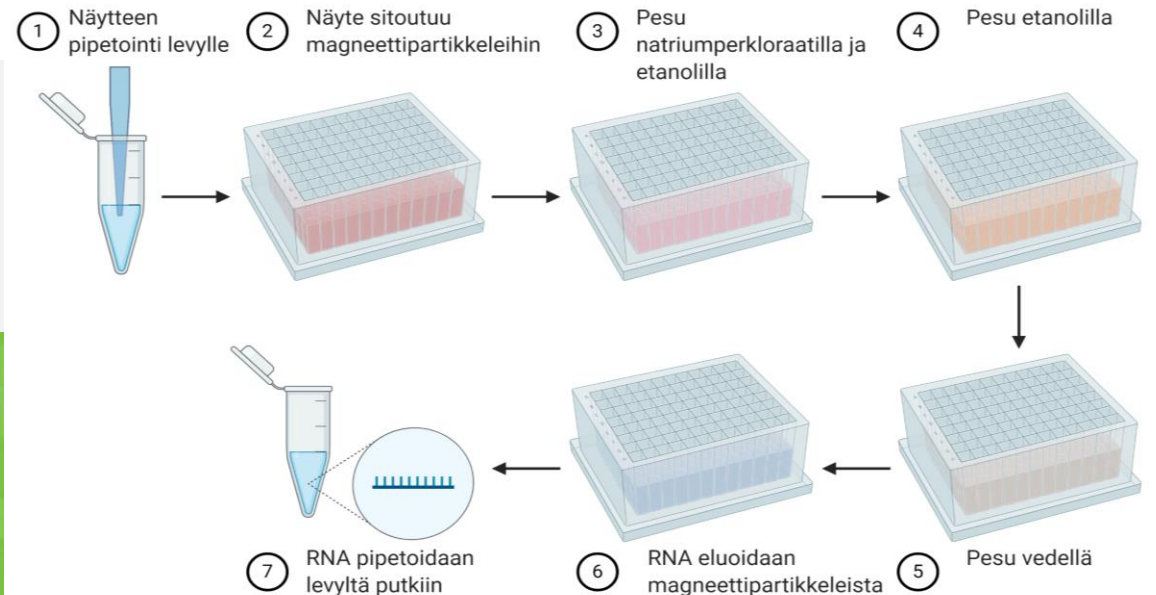
- Nukleiinihappojen eristysautomaatti
- RNeasy® Mini Kit
- Nukleiinihappo adsorptoituu spin kolonnissa olevaan ohueen silikonikalvoon
- Ajon kesto noin 30 minuuttia
- 12 näytettä kerrallaan

## QIAGEN QIAcube Connect



- Puoliautomaattinen eristysautomaatti
- chemagic Viral DNA/RNA Kit special H96
- Perustuu magneettipartikkeleihin
- Magneettisauvat – laite ei pipetoi
- Laite eristää 96 näytettä kerrallaan
- Eristys kestää 65 minuuttia
- Paljon manuaalista työtä

## PerkinElmer chemagic™360

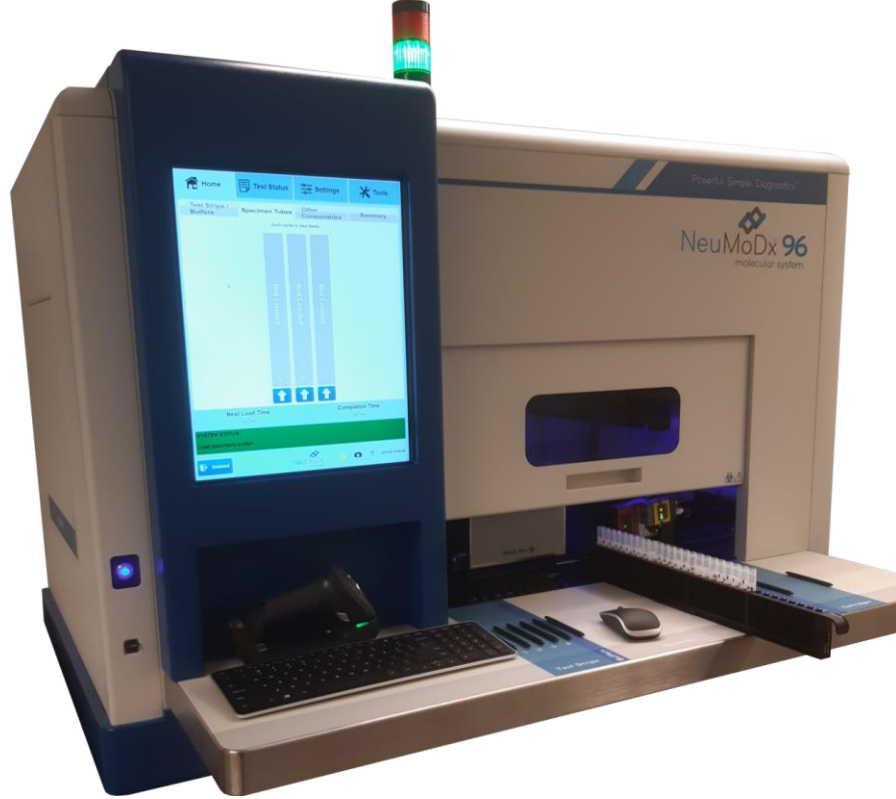




## QIAGEN QIAAsymphonySP/AS

- Nukleiinihappojen eristysautomaatti ja PCR-pipetointi
- QIAAsymphony® DSP Virus/Pathogen Midi Kit
- Nukleiinihappo sitoutuu magneettipartikkelien pinnalla olevaan silikonikalvoon
- eristys 24 näytteen erissä, laitteeseen mahtuu 96 näytettä kerrallaan
- 24 näytteen eristys kestää noin 2 tuntia
- AS-moduuli pipetoi PCR-reaktioseoksen ja RNA templaatin PCR-putkeen





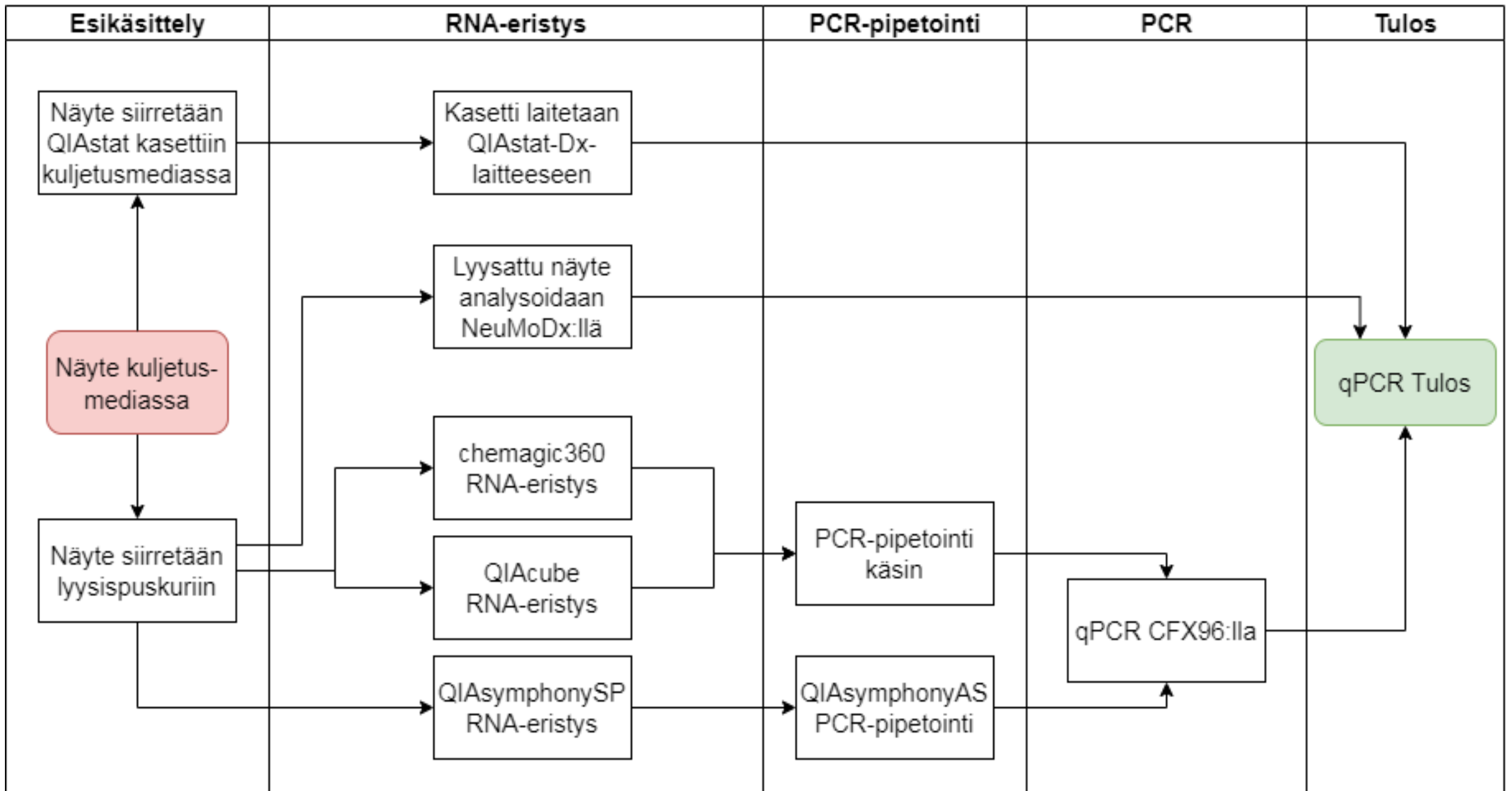
- Eristys ja qPCR
- Eristys perustuu magneettipartikkeleihin
- Käyttäjän omat alukkeet ja koettimet
- Valmistajan lyofilisoitu MasterMix
- Analyysin kesto noin 80 minuuttia
- Analysoi 18 näytettä tunnissa
- Laitteeseen voidaan syöttää 96 näytettä
- Ei säästä RNA-eristystuotetta

## NeuMoDx™ 96 Molecular System



- Eristys ja qPCR
- Käyttömoduuli ja 1-4 analyysimoduulia
- Tunnistaa 23 hengitystieinfektiota aiheuttavaa patogeeniä
- Analyysin kesto noin 70 minuuttia
- Erittäin helppo ja nopea käyttää
- Pieni kapasiteetti

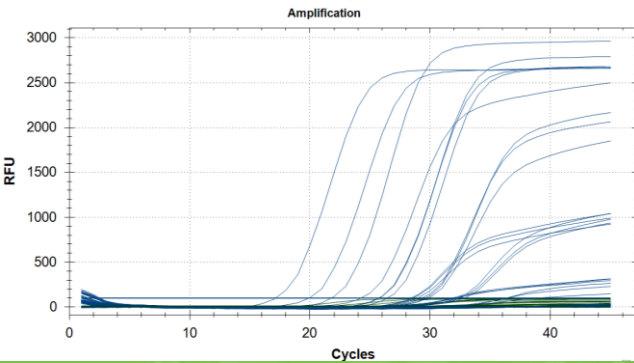
## QIAGEN QIAstat-Dx<sup>®</sup> Respiratory SARS-CoV-2 Panel



# Laimennossarja

- Alkuperäisen näytteen E-geenin Ct-arvo oli 15,66
- Näytteestä valmistettiin laimennossarja  $10^{-1}$  -  $10^{-9}$
- Näyte laimennettiin PBS:ään
- Referenssimenetelmä (RNeasy):
  - 350  $\mu$ l RLT-puskuria
  - 100  $\mu$ l näytettä

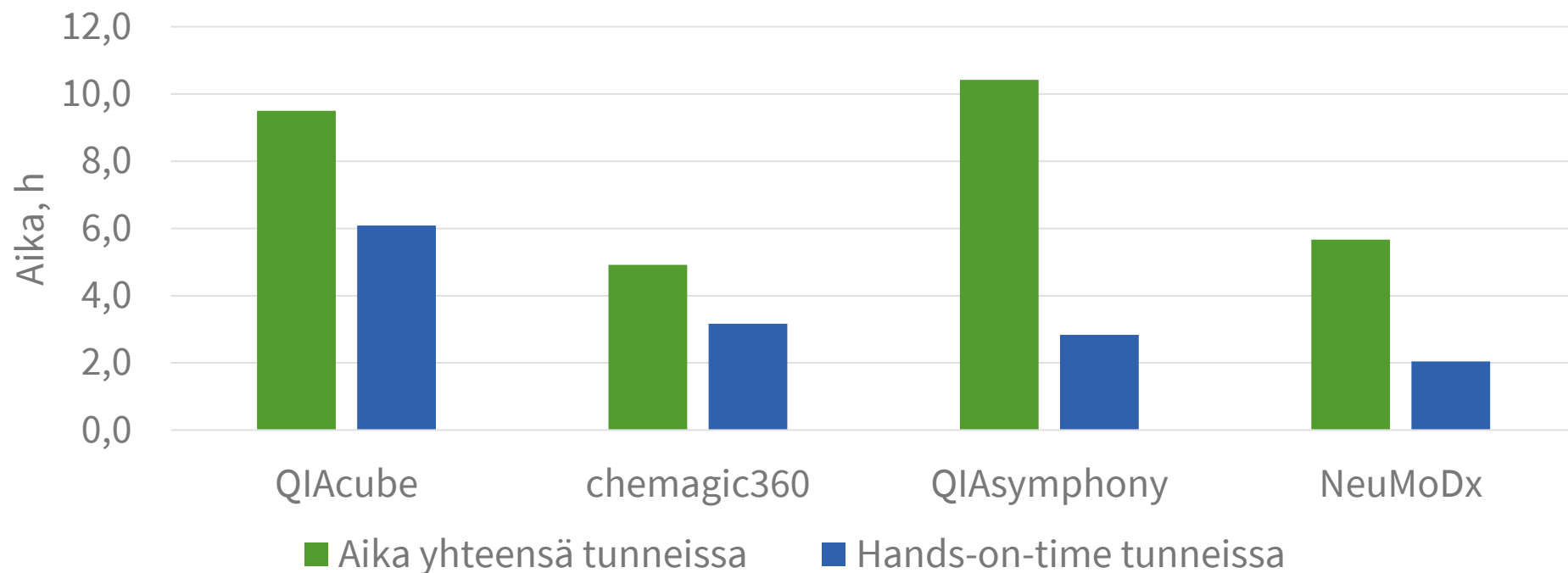
Laimennos	QIAcube	chemagic360	QIASymphony	NeuMoDx	QIAstat
$10^{-3}$	3/3	3/3	3/3	3/3	3/3
$10^{-4}$	3/3	3/3	3/3	3/3	3/3
$10^{-5}$	3/3	3/3	0/3	3/3	3/3
$10^{-6}$	2/3	3/3	0/3	0/3	2/3
$10^{-7}$	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3



## Laitteiden herkkyysvertailu

Testin kesto  
käsittelystä  
näytteestä  
tulokseen asti

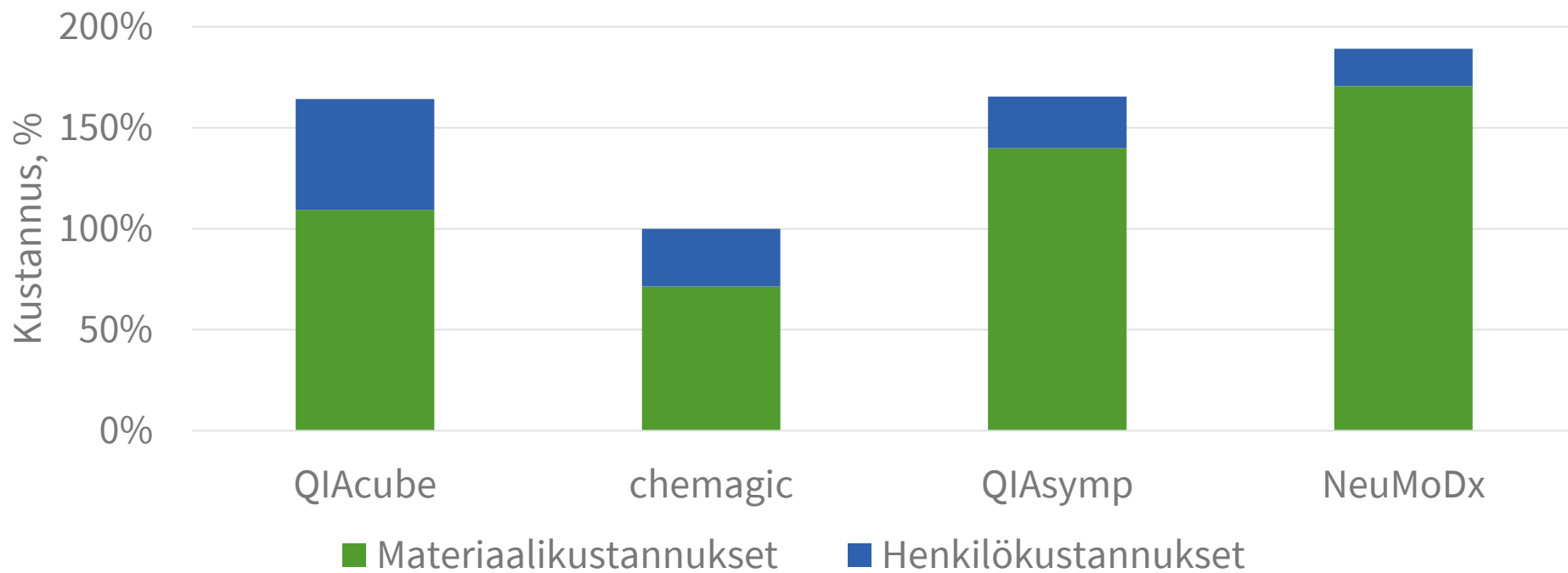
Ajat suuntaa  
antavia



## Työaikavertailu, 96 näytettä

96 näytteen  
kustannukset  
käsitellystä näytteestä  
tulokseen asti

Kustannukset ovat  
laskennallisia



## Kustannusvertailu, 96 näytettä

# Yhteenveto

- Chemagic360 on herkin, nopein ja halvin
- NeuMoDx on hyvä ja suhteellisen herkkä menetelmä kiireellisille näytteille
- QIAstat-Dx on hyvä kiireellisille esim. tehohoitoipotilaille
- QIAcube on hyvä, jos näytemäärä on pieni
- QIASymphonyn menetelmä vaatii optimointia, mutta laitteen hands-on-aika on suhteellisen pieni



# Pohdinta

- Vertailun perusteella laboratorio on päättänyt lisäämään kapasiteettia sijoittamalla uusiin chemagic360 laitteisiin
- Eri laitteiden olemassaolo lisää reagenssien saatavuutta
- Pipetointirobotti sujuvoittaisi diagnostiikkaa ja vähentäisi inhimillisen virheen mahdollisuutta
- Symphonyn AS-moduulin käyttö PCR-pipetointiin



**Kiitos!**