Verifikation eines respiratorischen PCR-Panels für den QIAstat-Dx-Analyzer und Vergleich zum bestehenden Respiratory 2.1 plus Panel für BIOFIRE® FILMARRAY® Multiplex PCR-System

Alexandra Jana, Aerschmann, BMA 21-24

Bildungsgang Biomedizinische Analytik HF

Institut für Infektionskrankheiten (IFIK), Molekulare Analytik

1. Zusammenfassung

Für die Fragestellung nach infektiösen respiratorischen Erregern wird im Institut für Infektionskrankheiten (IFIK) ein Symptomorientiertes Multiplex-PCR Panel auf dem BIOFIRE® FILMARRAY® TORCH von BioMérieux (BioFire) angesetzt. Der BioFire ist durch seine 4 zur Verfügung stehenden Modulen und der stetigen Nachfrage nach den symptomorientierten Panels an seinem Kapazitätslimit. Es wird ein respiratorisches Panel, das Respiratory SARS-CoV-2 Panel für den QIAstat-Dx-Analyzer von der Firma QIAgen (QIAstat) als Entlastungsgerät in Erwägung gezogen. Für die Verifikation des Respiratory SARS-CoV-2 Panels werden 76 auf dem BioFire positiv getestete Proben auf dem QIAstat gemessen und verglichen, ob der QIAstat dasselbe misst wie der BioFire.

Durch die längere Analysedauer des QIAstat und der niedrigeren Sensitivitäten, besonders bei SARS-CoV-2, Adenoviren und *Chlamydophila pneumoniae*, wurde entschieden, dass der QIAstat den BioFire nicht ersetzt. Dafür entschied man sich für die zweite Möglichkeit zur Kapazitätssteigerung, nämlich der Ergänzung von zwei Modulen für den BioFire, der nun insgesamt 6 Module besitzt

2. Einleitung

Das Institut für Infektionskrankheiten (IFIK) verwendete bis anhin das BioFire Respiratory 2.1 Panel auf dem BIOFIRE® FILMARRAY® Multiplex PCR-System für die Detektion von unbekannten respiratorischen Pathogenen in Patientenproben. Aufgrund der steigenden Nachfrage nach diesen PCR-Tests und der begrenzten Kapazitäten wurde der QIAstat-Dx-Analyzer als Alternative zum bestehenden BioFire Torch System vorgeschlagen.

Um bei einer qPCR (Real Time Polymerase Chain Reaction) die amplifizierten Gensequenzen in Echtzeit zu quantifizieren, werden FRET-Sonden (fluorescence resonance energy transfer) gebraucht. Der Reporter ist fluoreszenzmarkiert, der Quencher unterdrückt den Reporter. Wenn die Sonde durch die Polymerase fragmentiert wird, wird der Reporter vom Quencher getrennt und dieser kann fluoreszieren. Dies ergibt eine Amplifikationskurve. Sobald die Amplifikationskurve einen gewissen vordefinierten Wert überschreitet, gilt dies als positives Ergebnis. Die Stelle, an der dieser gewisse vordefinierter Wert überschritten wird, ist der Ct-Wert (Threshold Cycle-Wert). Je grösser die Konzentration der Zielsequenz in der Probe, desto niedriger ist der Ct-Wert. [1]

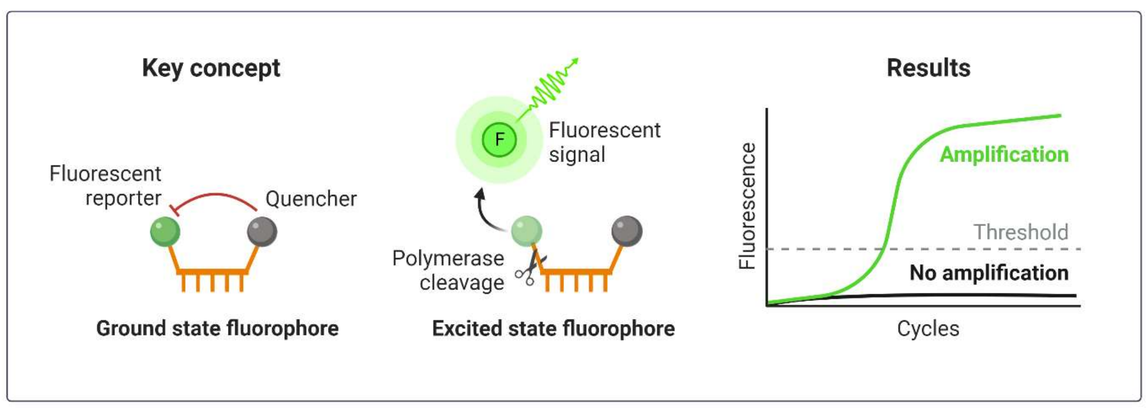


Abb. 1: Konzept von FRET bei qPCR (Samara, o.J.)

3. Ziele und Fragestellungen

Das Ziel dieser Diplomarbeit war die Verifikation des QIAstat-Dx Respiratory SARS-CoV-2 Panels

Fragestellung: Erfasst das respiratorische Panel auf dem QIAstat die Erreger infektiöser respiratorischer Erkrankungen gleich wie das bestehende BioFire Torch System?

4. Material, Methodik, Vorgehen

76 auf dem BioFire positiv getestete Nasopharynxabstriche (anp) wurden direkt nach der Messung bei -80°C eingefroren und zu einem späteren Zeitpunkt auf dem QIAstat gemessen. Die Ergebnisse vom QIAstat werden mit den Ergebnissen vom BioFire verglichen, wobei man Aussagen über den Cohen‘s Kappa Koeffizienten und die Sensitivitäten und Spezifitäten der Erreger treffen kann.



Abb. 2: BioFire Filmarray Torch (International Diagnostics Equipment, o.J.)



Abb. 3: QIAstat-Dx-Analyzer (Aerschmann, 2024)

5. Ergebnisse/ Resultate

Cohen’s Kappa Koeffizient der beiden Geräte liegt zwischen 0,35 und 0,43 (Niedrige bis mässige Übereinstimmung)

Tabelle 1: Sensitivitäten und Spezifitäten der Erreger auf dem QIAstat im Vergleich zum BioFire. Aerschmann, 2024

	Sensitivität		Spezifität	
Analyt	TP/(TP+FN)	%	TN/(TN+FP)	%
Influenza A	9/10	90%	65/66	98,49%
Influenza B	2/2	100%	74/74	100%
SARS-CoV-2	5/9	55,56%	67/67	100%
RSV	8/9	88,89%	67/67	100%
Rhinovirus/Enterovirus	23/25	92%	51/51	100%
Coronaviren	8/10	80%	65/66	98,49%
Metapneumovirus	9/9	100%	67/67	100%
Parainfluenzaviren	6/7	85,71%	68/69	98,55%
Adenovirus	5/7	71,43%	68/69	98,55%
Mycoplasma pneumoniae	5/5	100%	71/71	100%
Bordetella pertussis	0/0	N/A	73/76	96,05%
Chlamydophila pneumoniae	2/3	66,67%	73/73	100%

6. Diskussion

Der Kappa-Koeffizient zeigt eine niedrige bis mässige Übereinstimmung vom zwischen den beiden Gerätschaften. Der QIAstat misst dementsprechend nicht gleich wie der BioFire. Die Sensitivitäten von SARS-CoV-2 (55,56%) und Adenovirus (71,43%) sowie *Chlamydophila pneumoniae* (66.67%) sind deutlich niedriger als die der anderen getesteten Erreger.

Aufgrund der niedrigen Übereinstimmung und der längeren Analysezeit des QIAstats wurde sich dazu entschieden, den QIAstat nicht in die Routine zu implementieren. Stattdessen wurde das bestehende BioFire-System um zwei Module erweitert, um sechs Module insgesamt zur Verfügung zu haben.

Referenzen

[1] DocCheck Flexikon (2021). Real-Time Quantitative PCR, abgerufen am 09.09.2024 von: https://flexikon.doccheck.com/de/Real-Time_Quantitative_PCR

Abbildungen

Abb. 1Samara, O. (o.J.). Fluorescent Probe-Based Real Time PCR, https://www.biorender.com/template/fluorescent-probe-based-real-time-pcr

Abb. 2 International Diagnostics Equipment (o.J.), https://www.internationaldiagnostic.com/product/biofire-torch-filmarray-real-time-pcr-module-system

Abb. 3 Eigene Aufnahme QIAstat-Dx-Analyzer, Aerschmann, A., 2024

Tabellen

Tabelle 1: Sensitivitäten und Spezifitäten der Erreger auf dem QIAstat im Vergleich zum BioFire. Aerschmann, 2024