

Multiplicando la capacidad de testeo Pool Testing en RT-PCR

Piloto de testeo en ELEAM

Leonardo Basso (ISCI, Universidad de Chile),

Denis Sauré (ISCI, Universidad de Chile)

Juan Pablo Torres (Facultad de Medicina, Universidad de Chile)

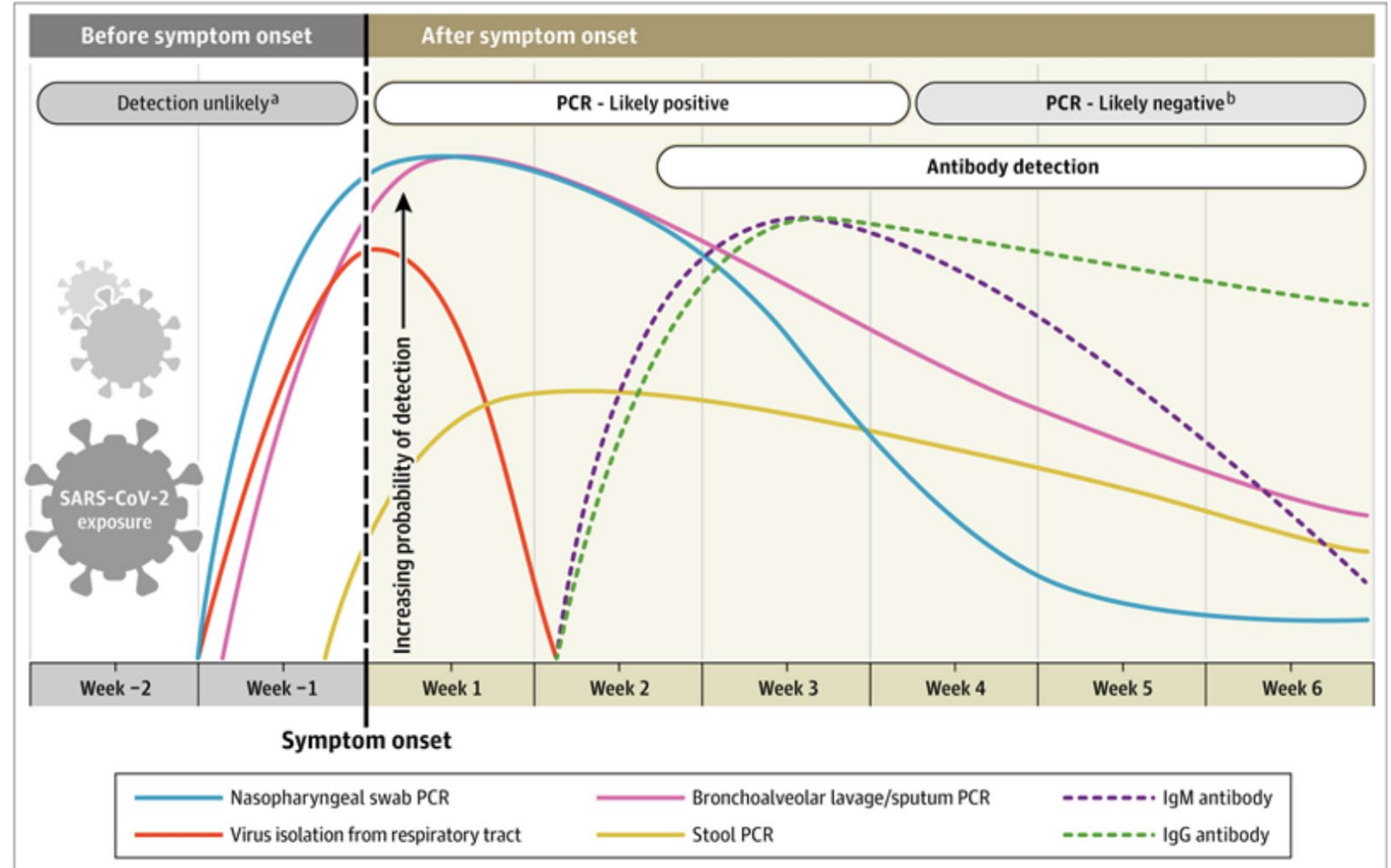
Presentación a Comité Asesor del Minsal, 14 de Mayo de 2020

Resumen

- Proponemos usar Pool Testing PCR para testeos preventivo (screening), comenzando con Piloto en Establecimientos de Larga Estadía para Adultos Mayores
- Idea: identificar tempranamente contagios por COVID19 (pob. Vulnerable y/o equipos hospitalarios)
- Pool testing: muestras de varias personas (5 a 10) analizadas con un kit de PCR
- Si test sale negativo, se declara negativo para todas esas personas
- Uso: Israel, partes de EEUU. Prueba clínica aquí - Universidad de Chile
- El protocolo no afecta la técnica usual de PCR
- **Hacer test grupales permite: (i) multiplicar varias veces la capacidad de testeo (ii) entregar resultados de test con mayor rapidez**
- Si tras piloto sigue escalamiento: apoyo para logística de ISCI

Antecedentes

- Probabilidad de detectar virus durante ciclo de infección, para distintos tipos de test
- Screening vs diagnóstico vs est. incidencia
- PCR util para detección durante etapa infecciosa (y antes)



Source: "Interpreting Diagnostic Tests for SARS-CoV-2", Sethuraman et al, JAMA, 2020.

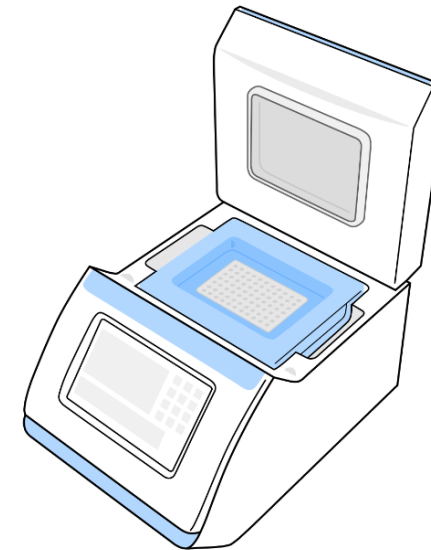
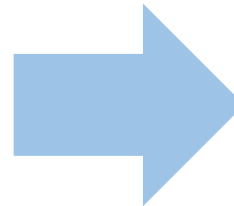
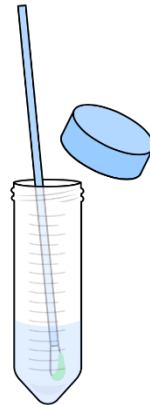
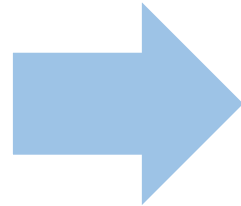
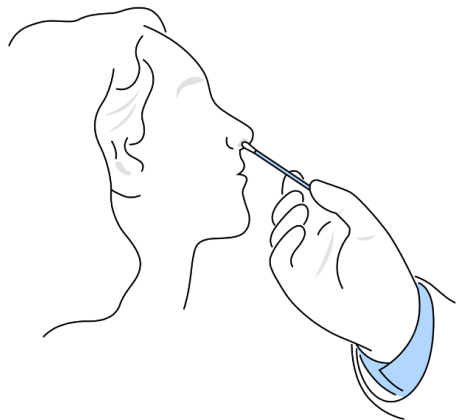
Antecedentes

- Objetivo: *screening* masivo via PCR
- Barreras:
 - Logística toma de muestras, recursos laboratorios, etc.
 - Recursos limitados (hisopo nasal, reactivos, máquinas PCR/laboratorio, personal, transporte, etc)
 - Capacidad de testeo actualmente limitada por componente laboratorio (máquina PCR, reactivos)
 - Demora en entrega de resultados

Solución: testeo grupal para minimizar uso de recursos escasos y aminorar tiempos de entrega de resultados

Antecedentes

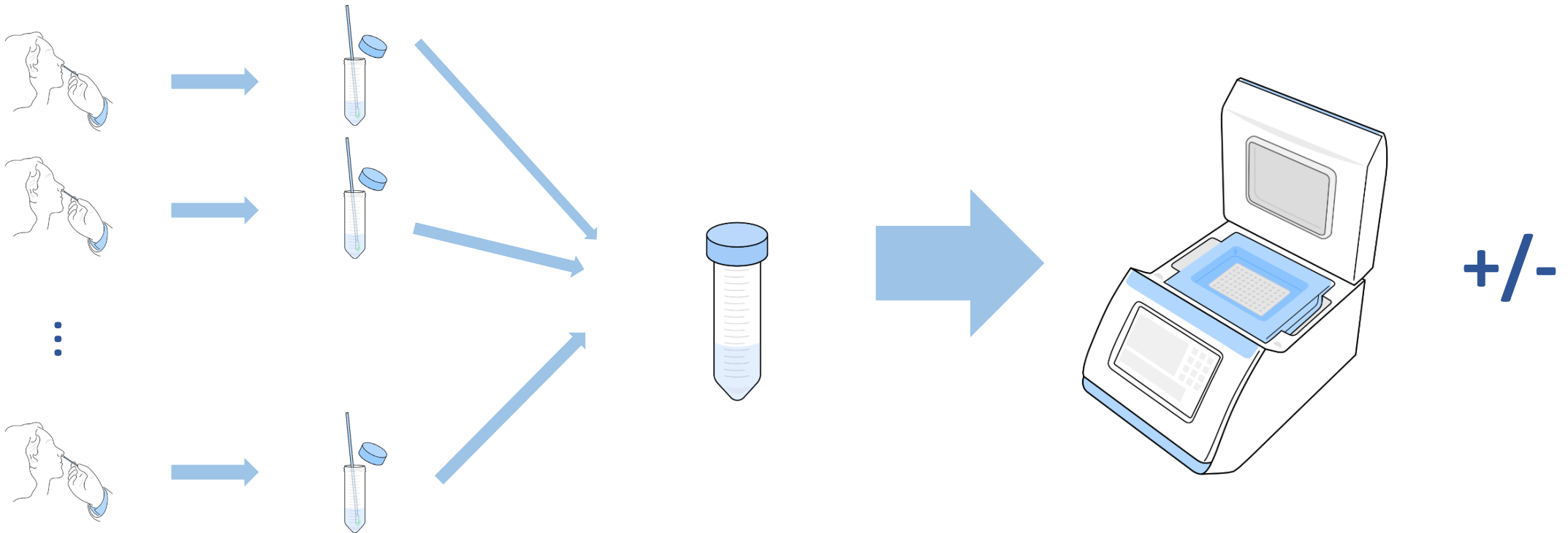
- Paradigma testeo individual:
 - Un test por cada muestra
 - Se necesitan n tests para testear n muestras



+/-

Antecedentes

- Paradigma testeo grupal:
 - Multiples muestras se combinan, y se testean con un solo test



Testeo Grupal

- **Resultado negativo:** cada una de las muestras hubiese entregado resultado negativo bajo el paradigma de testeo individual
- **Resultado positivo:** al menos una de las muestras hubiese entregado resultado positivo bajo el paradigma de testeo individual

Cuando la prevalencia del virus es baja en la población, es posible testear a grupos de personas con un solo test (ahorro de recursos, y tiempo)

Política de Testeo de 2 etapas

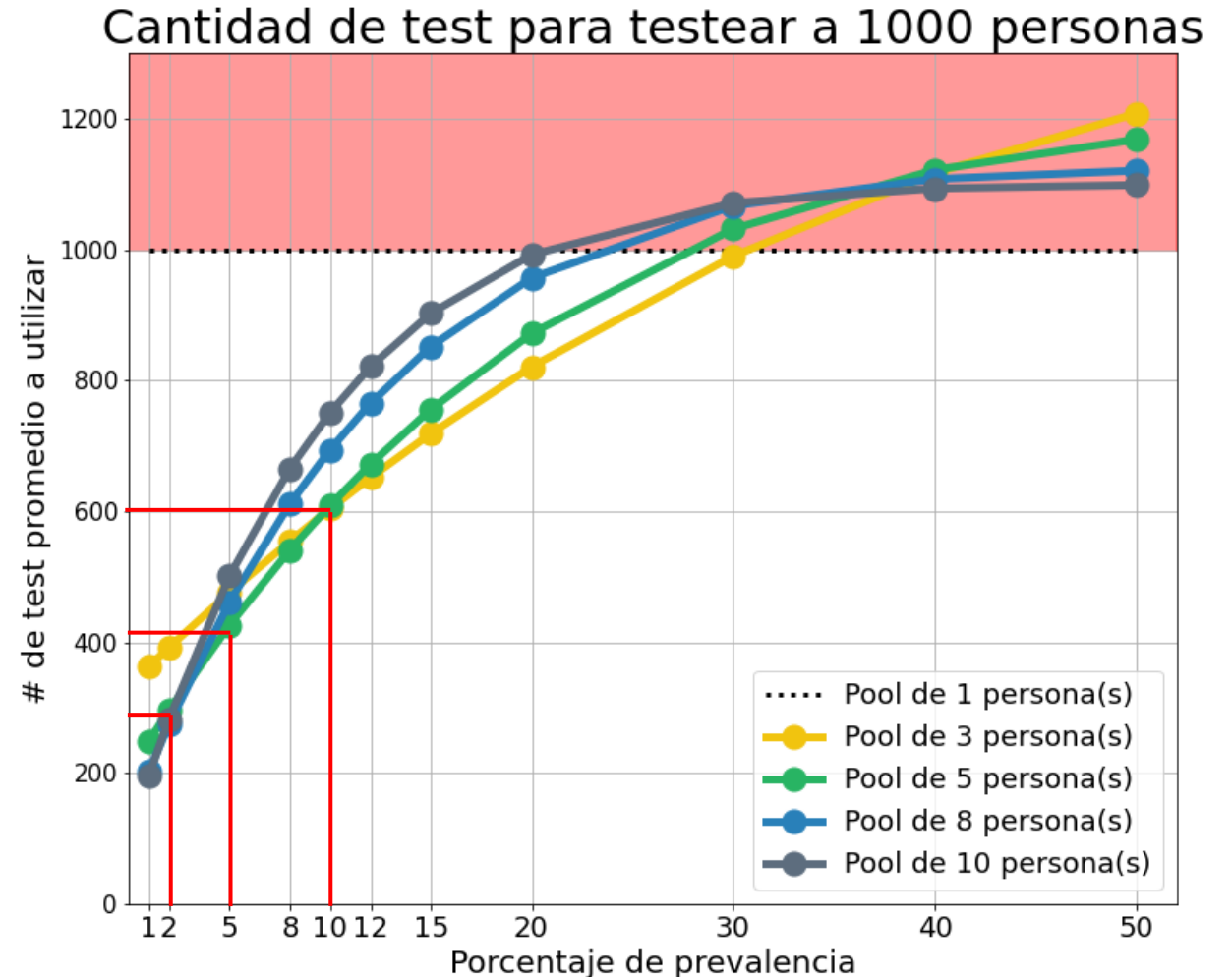
- Propuesta por Dorfman (EEUU, 1944) para identificar reclutas con sífilis a través del análisis de muestras de sangre.
- Etapa I:
 - Se testea muestra combinada.
 - Si el resultado es negativo, se concluye que no hay reclutas con sífilis
- Etapa II:
 - Si hay un pool que positivo, se testea individualmente a cada recluta del pool

Cuando la prevalencia es baja se avanza a la etapa II con poca frecuencia. Esto permite usar menos kits

Política de Testeo de 2 etapas

- La eficiencia del método depende del tamaño del grupo (pool) y la prevalencia del virus
- Cuantos tests se necesitan en promedio para testear a 1000 personas?

- $p = 0.1 \Rightarrow \text{tests} \approx 600$
- $p = 0.05 \Rightarrow \text{tests} \approx 400$
- $p = 0.02 \Rightarrow \text{tests} \approx 280$



Política de Testeo de 2 etapas

- ¿Cuántos tests se necesitan en promedio para testear a 1000 personas?

		Tamaño pool											
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	12	15
Incidencia	1%	1000	520	363	289	249	225	211	202	198	196	197	207
	2%	1000	540	392	328	296	281	275	274	277	283	299	328
	5%	1000	598	476	435	426	432	445	462	481	501	543	603
	8%	1000	654	555	534	541	560	585	612	639	666	716	780
	9%	1000	672	580	564	576	599	626	655	683	711	761	824
	10%	1000	690	604	594	610	635	665	695	724	751	801	861
	11%	1000	708	628	623	642	670	701	731	761	788	836	893
	12%	1000	726	652	650	672	702	734	765	795	821	868	920
	15%	1000	778	719	728	756	790	822	853	879	903	941	979
	20%	1000	860	821	840	872	905	933	957	977	993	1015	1031
	30%	1000	1010	990	1010	1032	1049	1061	1067	1071	1072	1069	1062
	40%	1000	1140	1117	1120	1122	1120	1115	1108	1101	1094	1081	1066
	50%	1000	1250	1208	1188	1169	1151	1135	1121	1109	1099	1083	1067

Menores tiempos de entrega de resultados

Ejemplo

- Supongamos que un laboratorio demora 5 horas en procesar cada PCR
- Se desea testear a un grupo de 100 personas
- Si se usa PCR individuales, tomará 500 horas procesar las muestras.
- **Sin pooling, el tiempo para tener los resultados de los tests de esa población son 500h**

- Si se usan pools de 5 personas y asumimos una prevalencia de 5%, se usarán 43 tests en promedio, considerando que unos pocos pools darán positivo, y habrá que testear individualmente (ver tabla de uso de tests en función de prevalencia)
- **Con pooling de PCR, el tiempo para tener los resultados de los tests de esa población son 215 hrs**

- Con prevalencias menores en la población, el tiempo disminuye más. El ahorro de tiempo se puede medir directamente de la tabla
- Adicionalmente, el tiempo de procesamiento no es constante : crece con un mayor flujo de tests, lo que genera más ahorros de tiempo .

Antecedentes Contexto Covid-19

- Yelin et al (Clin. Inf. Dis.,2020) – Validan testeo grupal para grupos de tamaño hasta 32 sin alterar protocolo individual, 64 alargando tiempos de ciclo
- Nebraska reporta implementación del método en el sistema de salud publico (grupos de tamaño 5, mediados de Marzo)
- **Experiencia en Chile**, método validado para grupos de tamaño 5 (a profundizar en breve)

Desafíos

- Eficiencia testeo grupal como función de la prevalencia (desconocida)
 - Reevaluar tamaño de grupo dependiendo de la población objetivo (ej. asintomáticos) y del aprendizaje
 - Validación método, protocolo para laboratorios
- Posibles cuellos de botella a continuación
 - Logística programa testeo masivo
 - Frecuencia testeo, política cuarentena, etc.
 - Aumento eficiencia via testeo multi-etapa (complejidad!)

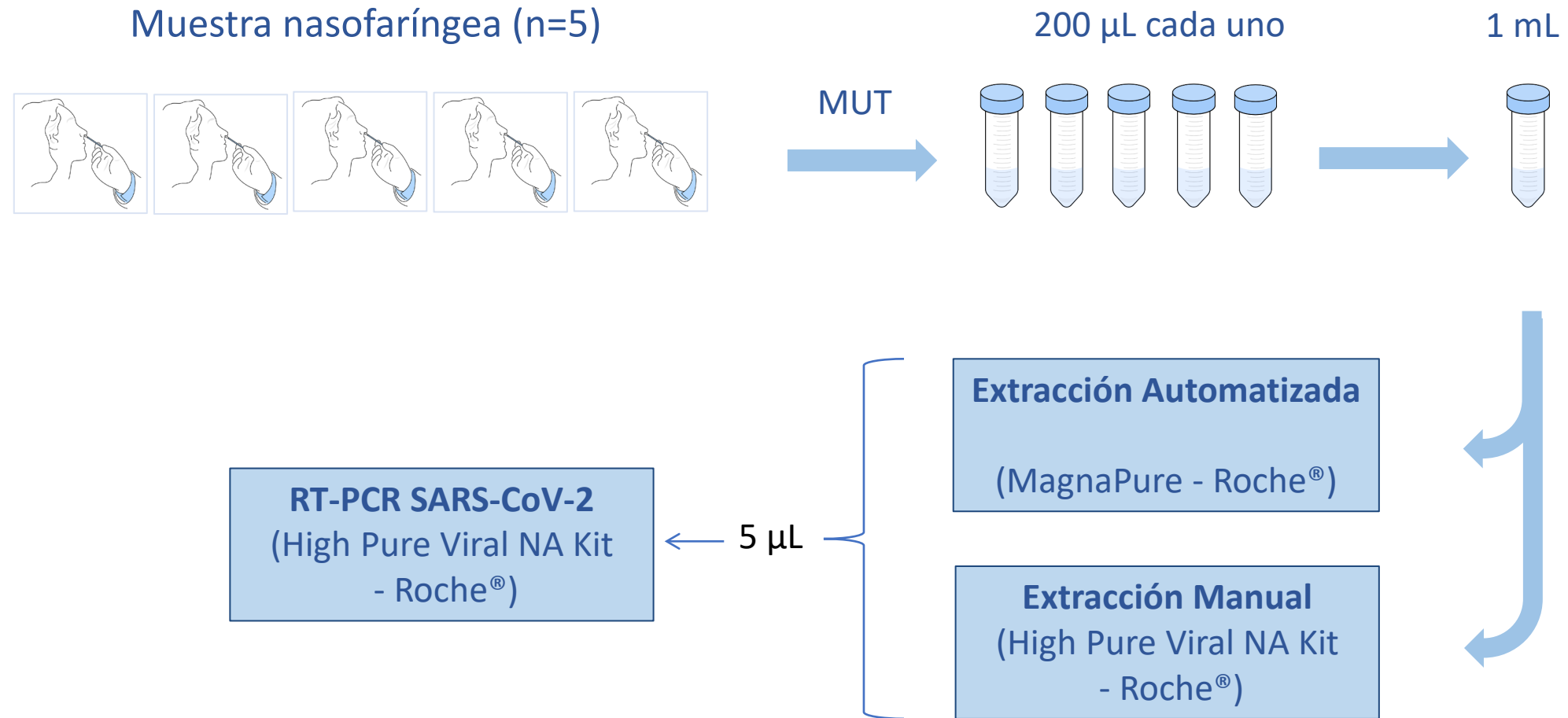
Prueba clínicas: Pool-testing en Chile

Pool Testing RT-PCR SARS-CoV-2 en Chile

- Experiencia realizada en el Centro de Estudios Moleculares Facultad de Medicina de la Universidad de Chile – HLCM
- Experiencia replicada en Lab. Virología (Dr. F. Valiente – Dr . Soto-Riffo), ICBM y Lab. U. Magallanes
- Considerando % Positividad 8-10%
- 23 muestras positivas (Ct: 16 – 36)
- 40 muestras negativas

Optimizing RT-PCR detection of SARS-CoV-2 for developing countries using pool testing

Farfán M, Torres JP, O’Ryan M, Olivares M, et al (Frontiers in Cellular @ Infection Microbiology (en rev.))



Optimizing RT-PCR detection of SARS-CoV-2

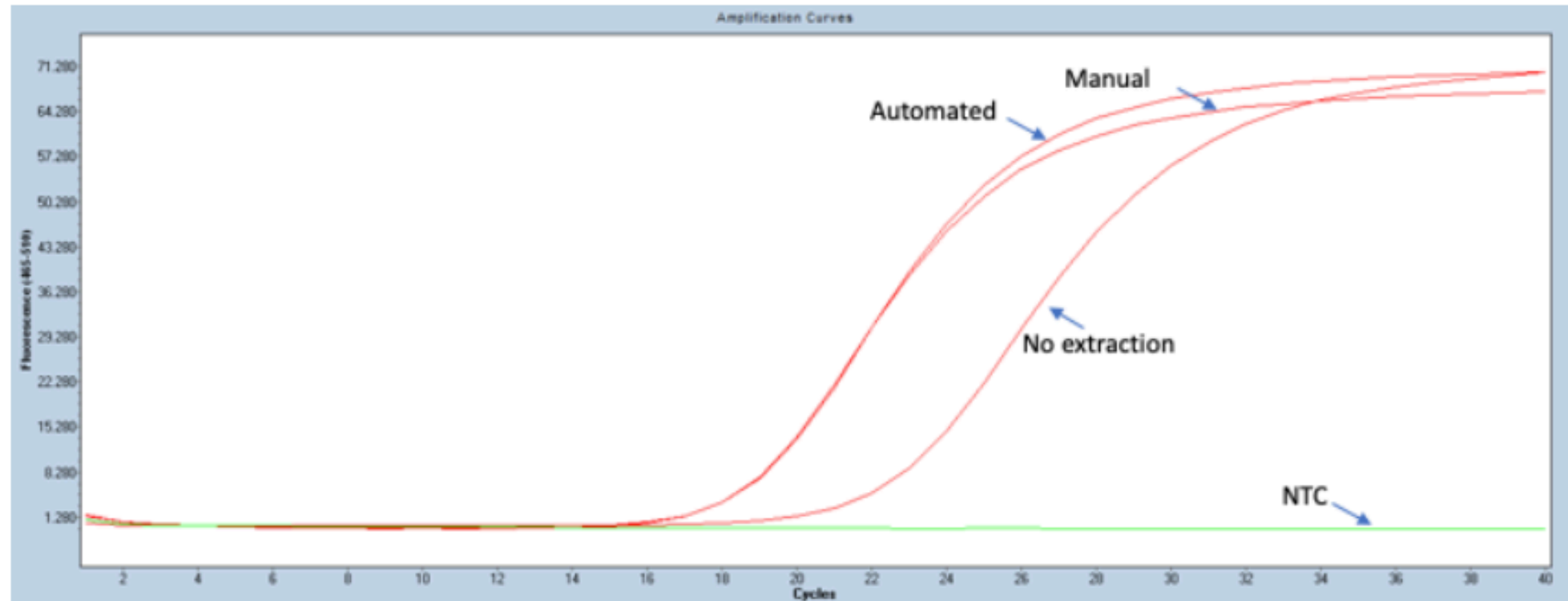


Figure 1. Amplification curves of SARS-CoV-2 obtained for pool 9. SARS-CoV-2 RT-PCR was done using as template nucleic acids purified from automated and manual extraction, or the pool sample (no extraction). NTC, no template control.

Optimizing RT-PCR detection of SARS-CoV-2

Table 1. SARS-CoV2 PCR results obtained from the first six pools of nasopharyngeal samples. Nucleic acids extraction was performed using an automated extraction ^a

Sample	C _T Value SARS CoV-2	Pool 1	Pool 2	Pool 3	Pool 4	Pool 5	Pool 6
1	Neg	X	X				X
2	Neg	X	X				X
3	Neg	X	X				X
4	Neg	X	X			X	
5	Neg	X		X	X		
6	Neg			X	X	X	
7	Neg			X	X	X	X
8	Neg			X	X	X	
9	Neg			X			
10	21.1		X				
11	23.8				X		
12	26.9					X	
13	31.6						X
SARS-CoV-2 RT-PCR		Neg	Pos	Neg	Pos	Pos	Pos
C_T value		-	24.3	-	27.2	30.1	34.0
ΔC_T		-	3.2	-	3.4	3.2	2.4

Optimizing RT-PCR detection of SARS-CoV-2

Table 2. SARS-CoV-2 PCR results obtained from 5 pools of nasopharyngeal samples. Nucleic acids extraction was performed using an automated ^a (A) and manual ^b (M) extraction. Adding pool sample (P) directly to PCR reaction was also evaluated ^c.

Sample	C _T Value SARS CoV-2	Pool 7A	Pool 8A	Pool 9A	Pool 10A	Pool 11A	Pool 7M	Pool 8M	Pool 9M	Pool 10M	Pool 11M	Pool 7P	Pool 8P	Pool 9P	Pool 10P	Pool 11P
14	Neg	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
15	Neg	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
16	Neg	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
17	Neg	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
18	Neg	X					X					X				
19	23,5		X					X					X			
20	16,8			X					X					X		
21	26,8				X					X					X	
22	35					X					X					X
SARS-CoV-2 RT-PCR		Neg	Pos	Pos	Pos	Neg	Neg	Pos	Pos	Pos	Neg	Neg	Pos	Pos	Pos	Neg
C_T		-	25.6	18.3	29.0	-	-	25.2	18.5	29.0	-	-	28.1	22.3	32.1	-
ΔC_T		-	2.1	1.5	2.2	-	-	1.7	1.7	2.2	-	-	4.6	5.5	5.3	-

Optimizing RT-PCR detection of SARS-CoV-2

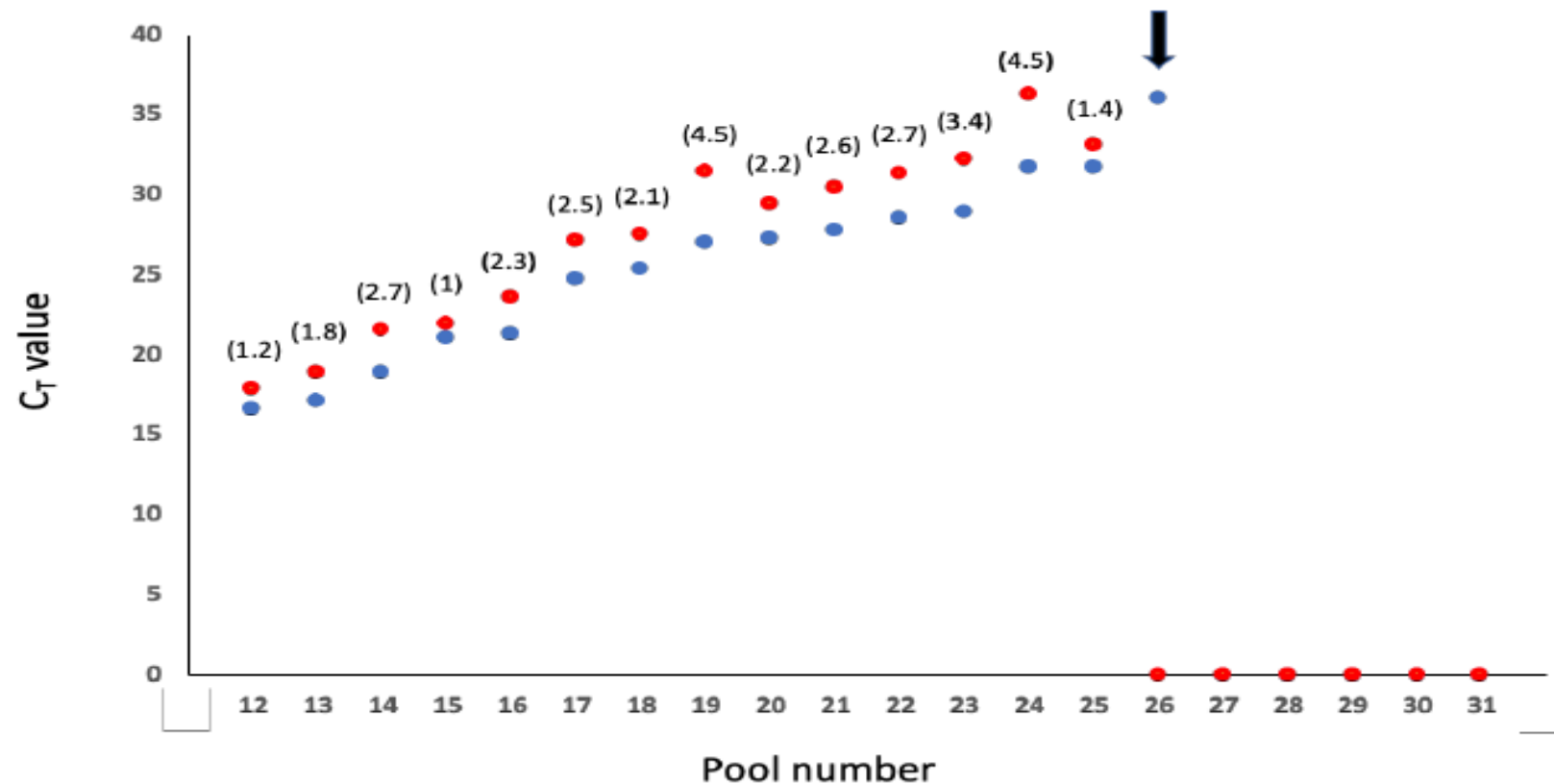


Figure 2. C_T values of amplification results of SARS-CoV-2 for pools 12-31. SARS-CoV-2 RT-PCR was done using as template nucleic acids purified from manual extraction and the C_T values obtained in the single positive samples (blue dots) and its respective pool (red dots) were graphed. Also, the change in C_T value compared with C_T value of the single positive sample present in the pool is shown in brackets. A C_T value of 0 was assigned to samples with no amplification. Pool 26 is highlighted (black arrow).

Piloto de testeo vía pooling en
Establecimientos de Larga Estadía
para Adultos Mayores (ELEAM)

Piloto de testeo preventivo en ELEAM

- Plan para disminuir contagios en (ELEAM) - Prevención, testeo y aislamiento
 - Servicio Nacional del Adulto Mayor (SENAMA) y Asociación Chilena de Seguridad (ACHS)
- AChS, la Facultad de Medicina de la Universidad de Chile y el Instituto Sistemas Complejos de Ingeniería proponen:
 - Usar técnicas de pooling de PCR para testeos preventivos en ELEAM
 - Permite identificar tempranamente contagios por COVID19 e informar en menos tiempo que si se usaran tests individuales
 - Prevenir de manera rápida, eficiente y continua avance del virus en población vulnerable.

Piloto de testeo en ELEAM

- Implementación progresiva - Piloto
 - AChS, con autorización de Minsal y SENAMA, toma muestras en uno o más ELEAM
 - Muestras testeadas con técnicas de pooling por la Universidad de Chile
 - Resultados transmitidos al Servicio de Salud correspondiente
- Escalamiento
 - Transferencia de protocolos desde UCH a otros laboratorios
 - Análisis de otros tamaños de pool
 - Asesoramiento ISCI en todos los temas que emergerán de logística, despacho, y *matching* de muestras a laboratorios
 - Otras aplicaciones (Hospital de Ñuble, Hospital del Trabajador)

ISCI INSTITUTO
SISTEMAS COMPLEJOS
DE INGENIERÍA
COVID-19



FACULTAD DE MEDICINA
UNIVERSIDAD DE CHILE

