

Forslag til effektiv prevalensmåling og screening for SARS-CoV-2

Kenneth Gundersen, PhD, kenneth.gundersen@technipfmc.com, 97953417

Jan Terje Kvaløy, Professor, Univ. i Stavanger / Stavanger Universitetssjukehus, jan.t.kvaloy@uis.no, 51832255

Håkon K. Gjessing, Forskningsleder/Professor, Folkehelseinstituttet, hakon.gjessing@uib.no, 97522262

Bakgrunn:

- Haukeland sykehus har verifisert at en positiv SARS-CoV-2 prøve kan blandes med tre negative prøver og fortsatt gi utslag på standard PCR analyse (pooled testing med pools på 4 prøver). (Kilde: Iren Löhr, SUS)
- Et forskningsmiljø på Technion University [har gått ut med pressemelding](#) om at pooled testing kan gjøres helt opp til pools a 64 prøver uten at diagnostisk sensitivitet forsvinner. (Foreløpig ikke peer-reviewed).
- Avdelingsoverlege ved mikrobiologisk avdeling på SUS (Iren Löhr) opplyser at de fleste positive prøvene de analyserer er "sterkt positive", og at det kan være verdt å undersøke sensitiviteten ved høyere pooling-grad enn 4.

Dette kan åpne for en betydelig effektivisering av testing for SARS-CoV-2.

Vi foreslår følgende to muligheter:

- **Prevalensmåling i befolkningen** kan gjøres uten stor belastning på analysekapasitet ved sykehusene. Med f.eks. 64 prøver i hver analyserte "pool" kan prevalensen i et utvalg på 6400 samples måles ved å gjøre 100-200 ordinære PCR analyser. Her registreres kun om en pool er positiv eller ikke. Individuelle resultater er ikke nødvendige, prevalens kan likevel estimeres.
- **Screening av stort antall prøver ved lav prevalens** Ved å bruke pooled testing, og redusere kravet til sensitivitet noe, kan f.eks 1000 ordinære PCR analyser være tilstrekkelig til å screene 5 000 til 30 000 prøver for SARS-CoV-2 (for prevalens på 1/200 til 1/1000). Dette med en sensitivitet som sannsynligvis bare er noe lavere enn den ordinære diagnostiske testen som utføres i dag. Tallene avhenger av hvilken pooling-grad det er mulig å benytte og andel positive i utvalget. Det første er mulig å fastslå eksperimentelt ved et laboratorium.

Slik screening vil være svært verdifull i en fase hvor prevalensen i befolkningen skal holdes nede på et lavt nivå, siden det åpner for en langt mer effektiv bruk av analysekapasitet. (I en fase med høyere andel positive i prøvene som analyseres kan fortsatt pooling brukes, men det er da mindre å hente siden optimal pool size er liten)

Mulige begrensninger:

- Forslaget kan potensielt spare betydelige testressurser, men det vil ikke redusere arbeid med selve prøvetakingen.
- Tallene på sensitivitet i større pools er i øyeblikket usikre, men det er altså klare indikasjoner på at man kan oppnå betydelig effektivisering.

Foreslåtte tiltak:

- Nødvendig lab-undersøkelser gjøres for å etablere sensitiviteten ved ulike grader av pooling, for standard SARS-CoV-2 PCR-test som gjøres i dag.
- Hvis resultatene ser lovende ut, planlegge prevalensmålinger og strategier for screening.

Utdyping og detaljer

Mulighet for effektiv prevalensmåling av antall smittede med SARS-CoV-2

Kartlegging av prevalens av smittede i befolkningen på en pålitelig måte hvor man også får med «mørketallene» (asymptomatiske smittede som man ikke ellers fanger opp etc) er opplagt av stor interesse. Dette kan gjøres ved å samle inn prøver fra et relativt stort tilfeldig utvalg personer (som f.eks. nå skal gjøres i Sverige). Imidlertid er det krevende å få gjennomført PCR-testing på mange prøver.

Pooled testing

En mulig måte å lette belastningen på test kapasitet er å bruke pooled testing med relativt store pooler. Et tenkt eksempel kunne være å samle inn prøver fra 6400 personer, slå disse prøvene sammen i pools på 64 og dermed bare trenge 100 PCR tester. Fra andel av disse 100 testene som er positive kan man få et godt anslag på andel positive i befolkningen.

Vi har utført innledende simuleringer/beregninger på dette som kan vises på forespørsel.

Merk at så lenge prevalensene er noenlunde lav trenger man ikke vite hvor mange positive personer det var i hver positive prøve for å få godt estimat på andelen positive i befolkningen.

Mulighet for screening-test for SARS-CoV-2

Det er to faktorer som gjør en screening test mulig:

- Redusere kravet til sensitivitet noko og dermed kunne tillate seg å bruke store pool sizes (eks 32, 64) i PCR analyse
- Bruk av fleirstegs pooled-testing (sjå under)

Når prevalensen er låg kan ein på denne måten potensielt screene i størrelsesorden titals prøvar per analyse, avhengig av den sensitiviteten i screeninga ein ønsker å oppnå, og avhengig av sensitiviteten til sjølve lab-analysen ved ulik grad av pooling (foreløpig ikkje kjent i detalj). Den analysekapasiteten ein evt bruker på screening kan imidlertid koma i konflikt med ordinær diagnostikk på pasientar med tydelige symptom.

Screening av store mengder prøver fra utvalg med få eller ingen symptom (låg apriori sannsynlegheit) kan for eksempel vera aktuelt i ein situasjon der ein har greidd å få smitten i befolkninga ned på eit lågt nivå, og der ein ønsker å halda den nede i påvente av vaksine. Då kan ein sjå føre seg at det *ikkje* er så mange pasientar med symptom at heile

analysekapasiteten må prioriterast på desse. Eller screening kan kanskje vera aktuelt og i ein situasjon med større smittegrad, men då motivert av å ville finne dei asymptomatiske tilfellene som kan bidra til stor smittespredning, eller for å kunna testa fleire.

Formål med screening test (etter vår vurdering):

- Optimalisera antal smitta personar ein detekterer ved gitt analysekapasitet.
 - Oftrar litt sensitivitet for å kunna testa eit mykje større antal og kan dermed finna smitta personar som ein ellers ikkje hadde hatt kapasitet til å testa.
- Plukke opp asymptomatiske tilfeller ved brei testing.
 - Desse kan potensielt vera "superspredarar" siden dei oppfatter seg som friske.
 - Kvart tilfelle ein oppdager fungerer som eit startpunkt for smittesporing blant nærkontaktar. Alle nærkontakter screenes.
 - Kombinasjonen av å skanne bredt etter smitta personer, og søke "i dybden" blant nærkontakter når ein får treff, kan være potensielt effektiv for å finne smitta som er asymptomatiske eller i tidlig fase. Ein kan vurdere å simulere effekten av dette. Screening (der ein oftrar litt sensitivitet for større volum) gjer det mogleg å testa/screene nærkontakter i mykje høgare grad enn ordinær diagnostisk testing. Det er mulig at dette kan pressa prevalensen ned på et lågare nivå, i kombinasjon med andre strategier for "smitteundertrykking".
 - Sjølv om det ikkje er realistisk å detektera alle smitta med tilfeldig screening, så kan ein tenka at denne delen av testen detekterer "smitte-clusteret" og at ein ved screening av nærkontaktatane nøster seg vidare.
- Kan vurderast som eit verktøy for å oppretthalda låg smittegrad i befolkninga (etter ein periode med streng sosial distansering), som er mindre problematisk mtp personvern hensyn enn mange andre.
- Kan fungerer som ei slags prevalensovervåking, der store utvalg til ein viss grad kompenserer for bias (mangel på representativitet).

Alternativ for innsamling av prøvar (skisse):

- Teste alle ansatte på ein arbeidsplass.
- Teste alle elevar på ein skule, institusjon etc.
- Ha åpne screeningstasjoner på offentlige stader der ein frivillig kan la seg screena
- Målretta screening av "middels"- til nærkontakter rundt smittetilfeller (både fra ordinær diagnostikk og fra tilfeldig screening).

Eksempel/skisse på pooled-test metode:

- Initielle antakelsar:

- Prevalens i utvalget ein screener er 1/100 til 1/1000. Pr i dag (24/3) er kjent prevalens $\sim 1/2000$. Med mørketal og dei som har blitt smittefrie kjem me til eit grovt anslag på 1/500.
- Me har brukt i reknestykket at ein kan gjera pooled testing på 64 prøver om gongen og behalda tilstrekkelig sensitivitet (Technion University), men dette må verifiserast/undersøkast nærmare.

Sensitivitet vs pool size:

PCR analyse av ein enkelt prøve har høg sensitivitet, ein kan anta for eksempel over 99%. Dersom ein blander ein enkelt positiv prøve med fleire negative (pooling) så vil sensitiviteten synka. Ved pool size på 8 kan ein for eksempel ha sensitivitet på 99%, og for pool size 16 ha sensitivitet på 98%. Eit hovedpoeng i forslaget vårt er at ved å akseptera noko redusert sensitivitet kan ein muligens gå langt opp i pool size. Dette vil gjera det mogleg å testa (screena) mange fleire prøvar i eit utvalg med låg prevalens.

Vår vurdering her og nå er at det, litt forenkla, er sensitiviteten til analysen av den første poolen som dominerer sensitiviteten for screeninga totalt. (Viss ein prøve som er tynna ut 64 gonger gjer utslag, er det rimeleg å anta at samme prøven og gir utslag når den er tynna ut 8 gonger).

Pooled testing:

- Ta prøvar fra 6400 personar
- Lag 100 pooled samples med 64 tilfeldige prøvar i kvar
- Analyser alle 100 pooled samples
- For alle pooled samples med positivt utslag, gjer deduktiv testing:
 - Lag 8 nye "sub-samples" med 8 prøvar i kvar og analyser
 - Viss negativt utslag i sub sample: Merk desse 8 som negative
 - Viss positivt utslag i sub sample: Analyser alle 8 enkeltprøvane i positive sub-sample.

Med prevalens på 1/1000 vil ein då ha forventa ~ 6 pooled samples med positivt utslag som ein må gjera vidare testing på (16 analysar). For å screene 6400 prøvar må ein altså med dette eksempelet utføre ca $100 + 6 \cdot 16 = 196$ analysar. Ved lågare prevalens vert antal analysar lågare. Med 1000 analysar kan ein då ifølge dette eksempelet screene ca 30000 prøvar (gitt antakelsane som er gjort og at sensitivitet viser seg å være akseptabel). Viss prevalensen i utvalet viser seg å vera høgare synk imidlertid effektiviteten. For ein prevalens på 1/200 er antalet nødvendige analysar for å screene 6400 prøvar oppad begrensa til $(100 + 32 \cdot 16) = 612$ (alle positive havner i ulike pools), men med lågare forventningsverdi (kjem an på korleis dei positive fordeler seg i pools). Viss max pool-størrelse er 32 (ikkje 64) blir antal analysar hhv $(200 + 6 \cdot 12) = 272$ og $(200 + 32 \cdot 12) = 584$ (øvre grense) for prevalens på 1/1000 og 1/200. (Pool-størrelse kan i realiteten optimaliseres ytterlegare ut fra forhåndskunnskap om prevalens. Dette er ikkje tatt med her.)

Pool size	Prevalens	Antal prøvar	Antal PCR analysar (øvre grense)
-----------	-----------	--------------	----------------------------------

64	1/1000	6400	196
64	1/200	6400	612
32	1/1000	6400	272
32	1/200	6400	584

prevalens i utvalg	sensitivitet	pool sizes	antal prøver screena	antal PCR analyser	detekterte positive	Effektiv deteksjonsrate pr analyse
0,01	0,95	1) 32, 2) 8, 3) 1	6000	1000	57	5,70 %
0,005	0,95	1) 32, 2) 8, 3) 1	10000	1000	47,5	4,75 %
0,001	0,95	1) 64, 2) 8, 3) 1	30000	1000	28,5	2,85 %
0,0005	0,95	1) 64, 2) 8, 3) 1	43000	1000	20,4	2,04 %

Tabell 1 – Anslått effektiv deteksjonsrate for screening ved ulike prevalenser

O viser anslått effektiv deteksjonsrate (antal detekterte smitta pr utførte PCR analyse) ved ulike grader av prevalens. Sensitivitet er antatt å vera 0.95. Størrelsen på pools har ikkje blitt optimalisert og antal prøver screena pr 1000 PCR analyser er satt til nedre grense (konservativt). Anslaget for effektivitet er dermed eit konservativt estimat for illustrasjonens skyld. I realiteten vil for eksempel målretta testing av nærkontaktar rundt detekterte tilfelle gjera at prevalensen i det analyserte utvalget blir større enn i totalbefolkninga. Til samanlikning er effektiv deteksjonsrate i dag ca 4% for diagnostisk testing på personar med tydelige symptom.

Utfordringar og begrensingar inkluderer:

- Analysekapasitet som brukes på screening kjem i konflikt med ordinær diagnostisk testing av personar med symptom. Det kan være eit alternativ å reservera ein liten andel av analysekapasitet til screening viss ein ser ein nytteverdi i screening (brei testing med lågare sensitivitet).
- Det er pr i dag stor mangel på prøvetakingsutstyr
- Det er pr i dag stor mangel på smittevernsutstyr (som ein treng for å utføra prøver)
- Prøvetaking må gjerast av helsepersonell (begrensa ressurs) og må derfor gjerast effektivt og "på samlebånd". Faste screeningstasjonar, skular, bedrifter, institusjonar.
- Å forbereda og håndtera den ekstra logistikken rundt pooled-samples og deduktiv testing er ein jobb det ikkje er kapasitet til på laboratoria. Heile denne handteringa kan evt forhåpentlegvis gjerast at andre faggrupper enn helsepersonell og mikrobiologar, då det stort sett dreier seg om pipettering og andre manuelle oppgåver(?). Smittevern må tenkast på. Det bør settast opp som ein organisasjon som er uavhengig av sykehus og laboratorier. Pooled samples kan då leveres fra "screening-teamet" til analyse på sjukehus-lab som ordinære prøvar og sånn sett ikkje påverka den vanlege drifta der på anna måte enn at dei får inn vanlige prøvar til analyse.
- Det kan være eit problem at folk som lar seg screena ikkje forstår at screeninga har lågare sensitivitet. Nokre personar vil oversjå symptom siden dei har testa negativt i ein screening-test.
- Ved høgare prevalens går nødvendig antal analyser for å screene eit gitt antal prøvar opp. Samtidig blir sannsynlegvis også analysekapasiteten belagt av ordinær diagnostisk testing av pasientar med symptom når prevalensen er høg. Screening

virker derfor å være mest aktuelt viss prevalensen er på eit relativt lågt nivå (kor lågt må evt vera ein del av vidare vurdering).

Oppsummering:

Det ligg nokre forenklingar og føresetnader innebakt i forslaget vårt. Hovedpoenget vårt er likevel å spela inn følgande: Det er indikasjonar på at den diagnostiske testen for SARS-CoV-2 tillater pooled testing med fortsatt god sensitivitet. Dette åpner opp for å gjera screening-testar, med noko lågare sensitivitet enn den diagnostiske testen, men som kan utførast i mykje større antal med samme lab-kapasitet som i dag. Me spekulerer i at dette kan vera nyttig i bekjempelse av covid-19 epidemien siden mange tilfeller er asymptomatiske. I ein slik situasjon kan det kanskje vera formålstjenlig å testa breidt, om enn med litt dårlegare sensitivitet. Viss svaret på dette er ja, så meiner me første steg er å få verifisert samanhengen mellom sensitivitet og fortynningsgrad på testmetodikken som brukes i Norge.