

19 mei 2020



Rijksinstituut voor Volksgezondheid
en Milieu
*Ministerie van Volksgezondheid,
Welzijn en Sport*

**Status laboratorium opschaling voor
moleculaire diagnostiek ten behoeve van
SARS-CoV-2 detectie**

Status per 18 mei 2020

VERTROUWELIJK

19 mei 2020

Colofon

© RIVM 2020

Delen uit deze publicatie mogen worden overgenomen op voorwaarde van bronvermelding: Rijksinstituut voor Volksgezondheid en Milieu (RIVM), de titel van de publicatie en het jaar van uitgave.

RIVM IDS

(10)(2e) (10)(2e) (10)(2e)
 (10)(2e) (10)(2e)
 (10)(2e)
 (10)(2e) (10)(2e)
 (10)(2e) (10)(2e)

En andere medewerkers

Erasmus MC

(10)(2e) (10)(2e)
 (10)(2e) (10)(2e) – (10)(2e)
 (10)(2e) (10)(2e)

Contactpersonen:

(10)(2e) (10)(2e) (auteur), RIVM
 (10)(2e) @rivm.nl
 030- (10)(2e)

(10)(2e) (10)(2e) (auteur), RIVM
 (10)(2e) @rivm.nl
 030- (10)(2e)

(10)(2e) (10)(2e) (initiator en supervisie), RIVM
 (10)(2e) @rivm.nl
 030- (10)(2e)

Dit is een uitgave van:
**Rijksinstituut voor Volksgezondheid
 en Milieu**
 Postbus 1 | 3720 BA Bilthoven
 Nederland
www.rivm.nl

19 mei 2020

1 Inhoudsopgave

1 Inhoudsopgave 3

2 Huidige status van laboratoria voor SARS-CoV-2 moleculaire diagnostiek in Nederland 4

3 Panel, runcontroles en sensitiviteitspanel 7

- 3.1 Methode van scores 9
- 3.1.1 EQA panel SARS-CoV-2 RNA 9
- 3.1.2 Verdunningsreeksen runcontrole RNA 9
- 3.1.3 EQA panel SARS-CoV-2 heel virus 10
- 3.1.4 Sensitiviteitsserie SARS-CoV-2 heel virus verdunningsreeks bij het meten van 1 target gen 10
- 3.1.5 Sensitiviteitsserie SARS-CoV-2 heel virus verdunningsreeks bij het meten van 2 (of meer) targetgenen 10
- 3.1.6 Validatiepanel voor Cepheid mPOCT tests 11
- 3.2 Resultaten RNA EQA Panel en verdunningsreeksen RNA runcontroles van de opschalingslaboratoria en expertisecentra 12
- 3.3 Resultaten RNA EQA Panels en RNA runcontrole verdunningsreeksen van de 2e en 3e ring laboratoria 13
- 3.4 Resultaten heel virus EQA panel 16
- 3.5 Resultaten sensitiviteitspanel 16
- 3.6 Resultaten verificatiepanel Cepheid Gene Xpert 18

4 Status van confirmaties van laboratoria 20

5 Testcapaciteit opschalingslaboratoria en 2e en 3e rings laboratoria 23

6 Gebruikte kits en apparatuur tijdens extractie- en PCR-methoden 25

7 Referenties 29

19 mei 2020

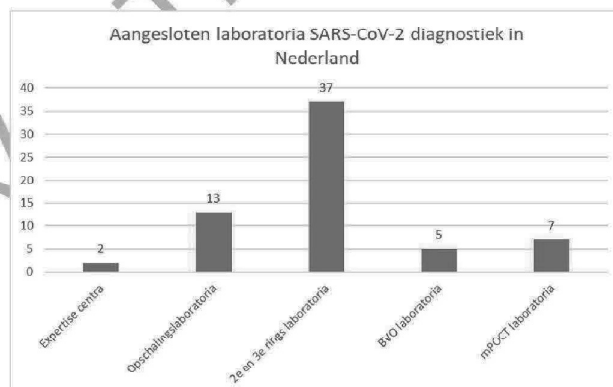
VERTROUWELIJK

19 mei 2020

2

Huidige status van laboratoria voor SARS-CoV-2 moleculaire diagnostiek in Nederland

Het RIVM-IDS coördineert een netwerk van opschalingslaboratoria die aan bepaalde vooraf gestelde eisen moeten voldoen^(1,2). Bij een grote epidemie of pandemie kan dit netwerk ingeschakeld worden om de uitrol van diagnostiek voor te bereiden en de testcapaciteit te vergroten. Het RIVM doet dit vaak samen met een ander expertisecentrum in Nederland. Voor SARS-CoV-2 moleculaire diagnostiek is dit het Erasmus Medisch Centrum (Erasmus MC). In het netwerk van opschalingslaboratoria (Engels: Outbreak Assistance Laboratories (OALs)) zijn voor SARS-CoV-2 moleculaire diagnostiek zijn 13 laboratoria vertegenwoordigd. Wordt een epidemie of pandemie zo groot in Nederland dat andere laboratoria ook moleculaire diagnostiek moeten kunnen aanbieden, dan wordt de diagnostiek ook naar andere laboratoria uitgerold. Eerst naar de laboratoria die al routinematig moleculaire diagnostiek in hun pakket hebben (2^e ring) en vervolgens naar laboratoria die dit gaan implementeren, specifiek voor het pathogeen dat de epidemie of pandemie veroorzaakt. Voor SARS-CoV-2 moleculaire diagnostiek zijn dat op dit moment 37 2^e en 3^e rings laboratoria inclusief Sanquin NSS, WBVR Lelystad en GD dieren. Voor het vergroten van de Nederlandse testcapaciteit ten behoeve van SARS-CoV-2 moleculaire diagnostiek, zijn er vijf Bevolkingsonderzoeken laboratoria (BVO) aangesloten aan het netwerk. In verdere stukken van de rapportage zijn de BVO laboratoria bij het netwerk van 2^e en 3^e rings laboratoria gevoegd. Locaties die niet de beschikking hebben over een moleculair diagnostisch laboratorium, zijn door het beschikbaar komen en gebruik van een moleculaire Point-Of-Care-Test (mPOCT) toegevoegd aan de lijst van COVID-19 laboratoria. Deze worden apart weergegeven als mPOCT laboratoria, tot nu zijn dit er 7. Deze data is samengevat in Figuur 1. mPOCT wordt ook gebruikt door de al bekende laboratoria, en speciaal ingezet waar snelheid van diagnostiek urgent is voor triage en behandeling.



19 mei 2020

Figuur 1: Het aantal betrokken laboratoria met SARS-CoV-2 diagnostiek

VERTROUWELIJK

19 mei 2020

De gestelde eisen voor een opschalingslab (Outbreak Assistance Laboratory) zijn^{1,2}:

- 24 uur, 7 dagen per week beschikbaarheid
- Minimum capaciteit van 100 monsters per dag, gedurende 2 – 3 maanden
- De mogelijkheid tot het uitpakken van materialen die mogelijk een BSL-3 organisme bevatten
- Routine moleculaire diagnostiek faciliteit
- Gebruik van interne controle in routine moleculaire diagnostiek
- 8 uur doorlooptijd (24 uur in 2009 tijdens Influenza pandemie)
- Deelname aan (extra) kwaliteitsronzendingen en het delen van resultaten

Voor het zelfstandig uitvoeren van SARS-CoV-2 diagnostiek, moeten de laboratoria aan de volgende voorwaarden voldoen:

- Proficiency (EQA) panel testen met goed resultaat (validatie specificiteit en juiste detectie SARS-CoV-2)
- Runcontrole verdunningsreeksen (in later stadium van opschaling vervangen door sensitiviteitspanel) met goed resultaat (validatie van analytische sensitiviteit)
- Confirmatie van 5 positieve monsters en 10 negatieve monsters bij één van de expertise laboratoria (RIVM of Erasmus MC) met goed resultaat (beperkte klinische validatie)

Na het succesvol doorlopen van de drie validatiepunten, die ook voor eigen accreditatie gebruikt mogen worden, mag het laboratorium zelfstandig de diagnostiek uitvoeren.

Speciaal voor mPOCT laboratoria is de test gevalideerd voor de eerste twee punten door een beperkt aantal laboratoria⁴³. De laboratoria die daarna gebruik gaan maken van de gevalideerde mPOCT kunnen voor implementatie van de test, volstaan met het testen van een verificatie panel met enkele monsters met verschillende concentraties geïnactiveerd virus. Dit spaart kostbare materialen en cartridges voor patiënten diagnostiek.

19 mei 2020

3

Panel, runcontroles en sensitiviteitspanel

Er zijn vier typen External Quality Assessment (EQA) panels gedistribueerd. Het eerste panel voor de opschalingslaboratoria bestaat uit 10 monsters met een samenstelling wat is weergegeven in tabel 1.

Tabel 1. Samenstelling van panel 1 voor opschalingslaboratoria

Virus	Aard van materiaal*
Influenza virus A, H3N2	Heel virus
Influenza virus B, Victoria	Heel virus
Rhino virus A16	Heel virus
Corona virus OC42	Heel virus
Corona virus 229E	Heel virus
Corona virus NL63	Heel virus
SARS Corona virus 1	RNA; in drie verdunningen
Geen virus	MEM medium

* Matrix MEM medium met Hanks' zouten.

Het tweede panel voor de 2^e en 3^e rings laboratoria bestaat uit 10 monsters met een samenstelling wat is weergegeven in tabel 2.

Tabel 2. Samenstelling van panel 2 voor 2^e en 3^e rings laboratoria

Virus	Aard van materiaal*
Influenza virus A, H3N2	Heel virus
Influenza virus B, Victoria	Heel virus
Rhino virus A16	Heel virus
Corona virus OC42	Heel virus
Corona virus 229E	Heel virus
Corona virus NL63	Heel virus
SARS Corona virus 1	RNA
SARS Corona virus 2	RNA; in twee verdunningen
Geen virus	MEM medium

* Matrix MEM medium met Hanks' zouten.

Het derde panel, is samengesteld als overbruggingspanel, om laboratoria alsnog te kunnen voorzien van referentiematerialen tijdens de productie van panel 4. Het bestaat uit 10 monsters met een samenstelling wat is weergegeven in Tabel 3. Er zijn humane cellen toegevoegd voor PCR kits die een assay controle hebben op de aanwezigheid van humane cellen.

19 mei 2020

Tabel 3. Samenstelling van panel 3 voor 2^e en 3^e rings laboratoria

Virus	Aard van materiaal*
Influenza virus A, H3N2	Heel virus
Influenza virus B, Victoria	Heel virus
Rhino virus A16	Heel virus
Corona virus OC42	Heel virus
Corona virus 229E	Heel virus
Corona virus NL63	Heel virus
SARS Corona virus 1	RNA
SARS Corona virus 2	RNA; in twee verdunningen
Geen virus	MEM medium

* Matrix MEM medium met Hanks' zouten met 10,000 HEP2 cellen/ml

Het vierde panel is samengesteld als een geoptimaliseerde versie van panel drie, waar het SARS-CoV-2 RNA is vervangen door hitte geïnactiveerd heel virus. Het bestaat uit 10 monsters met een samenstelling wat is weergegeven in tabel 4.

Tabel 4. Samenstelling van panel 4

Virus	Aard van materiaal*
Influenza virus A, H3N2	Heel virus
Influenza virus B, Victoria	Heel virus
Rhino virus A16	Heel virus
Corona virus OC42	Heel virus
Corona virus 229E	Heel virus
Corona virus NL63	Heel virus
SARS Corona virus 2	Heel virus; Hitte geïnactiveerd In drie verdunningen
Geen virus	MEM medium

* Matrix MEM medium met Hanks' zouten met 10,000 HEP2 cellen/ml

De positieve runcontrole was initieel SARS-CoV-1 RNA voor de opschalingslaboratoria. Later is naar alle laboratoria een runcontrole met SARS-CoV-2 RNA gedistribueerd zodra het virus beschikbaar kwam. De laboratoria werd verzocht het panel en een tienvoudige verdunningsreeks van de runcontroles met de Corman PCR^[3] (E-gen en RdRP-gen) of eigen opgezette of commerciële PCR te testen. De positieve runcontrole bijgevoegd vanaf het vierde panel bevat (in hoge concentratie) heel hitte geïnactiveerd SARS-CoV-2 virus. Bij het vierde panel is een sensitiviteitspanel bijgevoegd, welke bestaat uit een tienvoudige verdunningsreeks van zeven monsters met hitte geïnactiveerd en intact SARS-CoV-2 virus in MEM met Hanks' zouten en 10,000 HEP2 cellen/ml. Het vierde panel, samen met de positieve runcontrole en sensitiviteitspanel is uitgebracht om de laboratoria te kunnen toetsen op de kwaliteit van extractie, dit panel is ook geschikt in all-in-one systemen. Tevens is er, ten behoeve van laboratoria welke een mPOCT op de Cepheid Xpert® Xpress SARS-CoV-2 cartridge (of andere mPOCT wanneer die beschikbaar komt) willen implementeren een verificatiepanel uitgebracht bestaande uit vier monsters zie tabel 5. Drie van deze monsters bestaan uit verschillende verdunningen van hitte geïnactiveerd SARS-CoV-2. Eén monster bevat geen virus^[4].

19 mei 2020

3.1 Methode van scoren

3.1.1 EQA panel SARS-CoV-2 RNA

Voor het panel ontvangen de laboratoria een score van "valide" wanneer ze alle drie de monsters met SARS-CoV-1 of SARS-CoV-2 correct hebben aangemerkt als SARS-CoV bevattende monsters. Een score van "niet valide" wordt toegekend wanneer één of meer van de SARS-CoV-1 of SARS-CoV-2 bevattende monsters niet juist worden gedetecteerd door een laboratorium. Wanneer een laboratorium nog geen data heeft ingestuurd, ontvangt het de score "nog onbekend".

3.1.2 Verdunningsreeksen runcontrole RNA

De gemeten RCs verdunningsreeksen ontvangen een score van "goed" wanneer alle targets in de verdunningsreeksen minstens tot en met de 10^{-4} verdunning zijn gemeten. Dit is naar de maatstaf van de expertisecentra Frasmus MC en RIVM. Een score van "voldoende" wordt toegekend wanneer niet alle targets (E-gen en RdRP-gen) in de verdunningsreeks tot en met de 10^{-4} verdunning gemeten zijn, maar wel tot en met de 10^{-3} verdunning. Een score van "matig" wordt toegekend wanneer minstens één van de targets meetbaar was tot en met de 10^{-3} verdunning. Wanneer geen van de targets tot en met de 10^{-3} verdunning meetbaar is, scoren de laboratoria een onvoldoende. Wanneer een laboratorium nog geen data heeft ingestuurd, ontvangt het de score "nog onbekend". Voor zowel de OALS als de 2^e en 3^e ring zijn de scores apart toegekend voor de SARS-CoV-1 en SARS-CoV-2 run controles. De score is weergegeven in tabel 5.

Tabel 5. Een overzicht van de gegeven scores aan de hand van de hoogst gedetecteerde verdunningsgraad van de runcontrole van beide targetgenen

Score	E-gen	RdRP-gen
Goed	10^{-4} of lagere virale load meetbaar	10^{-4} of lagere virale load meetbaar
Voldoende	10^{-4}	10^{-3}
	10^{-3}	10^{-4}
	10^{-3}	10^{-3}
Matig	10^{-3}	10^{-2}
	10^{-2}	10^{-3}
Onvoldoende	10^{-2} of hogere virale load niet meetbaar	10^{-2} of hogere virale load niet meetbaar

19 mei 2020

3.1.3

EQA panel SARS-CoV-2 heel virus

Voor het panel ontvangen laboratoria een score van "valide" wanneer alle drie de SARS-CoV-2 bevattende monsters óf de twee SARS-CoV-2 bevattende monsters met de hogere virale loads correct zijn aangemerkt als SARS-CoV bevattende monsters. Er is ervoor gekozen om het SARS-CoV-2 bevattende monster met de laagste virale load als educatief meetbaar aan te merken, dit sample heeft een virale load wat op de LOD van de meeste testen ligt. Een score van "niet valide" wordt toegekend wanneer één of twee van de SARS-CoV-2 bevattende monsters met de hogere virale load foutief negatief wordt bevonden, of wanneer er foutief positieve monsters gemeten zijn. Wanneer laboratoria nog geen data heeft ingestuurd, ontvangt het de score "nog onbekend".

3.1.4

Sensitiviteitsserie SARS-CoV-2 heel virus verdunningsreeks bij het meten van 1 target gen

De laboratoria ontvangt een score van "goed" wanneer de sensitiviteitsserie tot en met Sen. Serie-04 (met een 10^{-8} verdunning t.o.v. de runcontrole) of een hogere verdunning meetbaar is. Een score van "voldoende" wordt toegekend wanneer de verdunningsreeks tot en met Sen. Serie-05 (met een 10^{-7} verdunning t.o.v. de runcontrole) meetbaar is. Een score van "onvoldoende" wordt toegekend wanneer de sensitiviteitsserie niet tot en met Sen. Serie-05 meetbaar is. Deze normering is samengevat in tabel 6.

Tabel 6. Een overzicht van de gegeven scores aan de hand van de hoogst gedetecteerde verdunningsgraad van de runcontrole (aan de hand van het serienummer van de sensitiviteitsserie) wanneer één target gen wordt gebruikt

Score	Target 1
Goed	Sen. Serie-04 (of hogere verdunning) meetbaar
Voldoende	Tot Sen. Serie-05 meetbaar
Onvoldoende	Niet tot Sen. Serie-05 meetbaar

3.1.5

Sensitiviteitsserie SARS-CoV-2 heel virus verdunningsreeks bij het meten van 2 (of meer) targetgenen

De laboratoria ontvangt een score van "goed" wanneer de sensitiviteitsserie bij alle targetgenen tot en met Sen. Serie-04 (met een 10^{-8} verdunning t.o.v. de runcontrole) of een hogere verdunning meetbaar is. Een score van "voldoende" wordt toegekend wanneer niet alle targetgenen tot en met Sen. Serie-04 meten, maar wel tot en met Sen. Serie-05 (met een 10^{-7} verdunning t.o.v. de runcontrole) is. Een score van "matig" wordt toegekend wanneer alle targetgenen tot en met Sen. Serie-05 meetbaar zijn. Een score van "onvoldoende" wordt toegekend wanneer niet alle targetgenen tot en met Sen. Serie-05 gemeten, of wanneer Sen. Serie-05 niet gemeten wordt door één van de targetgenen. Deze normering is samengevat in tabel 7.

19 mei 2020

Tabel 7. Een overzicht van de gegeven scores aan de hand van de hoogst gedetecteerde verdunningsgraad van de runcontrole (aan de hand van het serienummer van de sensitiviteitsserie) wanneer meerdere targetgenen worden gebruikt

Score	Target 1	Target 2 (of extra target met hoogste gevoeligheid bij >1 extra target)
Goed	Sen. Serie-04 (of hogere verdunning) meetbaar	Sen. Serie-04 (of hogere verdunning) meetbaar
Voldoende	Sen. Serie-04 (of hogere verdunning) meetbaar	Tot Sen. Serie-05 meetbaar
	Tot Sen. Serie-05 meetbaar	Sen. Serie-04 (of hogere verdunning) meetbaar
Matig	Tot Sen. Serie-05 meetbaar	Tot Sen. Serie-05 meetbaar
Onvoldoende	Tot Sen. Serie 05 meetbaar	Niet tot Sen. Serie 05 meetbaar
	Niet tot Sen. Serie-05 meetbaar	Tot Sen. Serie-05 meetbaar
	Niet tot Sen. Serie-05 meetbaar	Niet tot Sen. Serie-05 meetbaar

3.1.6

Validatiepanel voor Cepheid mPOCT tests

Voor het panel ontvangen de laboratoria een score van "valide" wanneer alle drie de monsters met SARS-CoV-1 of SARS-CoV-2 correct zijn aangemerkt als SARS-CoV bevattende monsters. Ook scoren de laboratoria "valide" wanneer één of beide targets van de test het monster met de laagste virale load niet kunnen meten. De reden hiervoor is dat dit monster (met de lage virale load) een educatief monster betreft welke op de LOD van de Cepheid test ligt.

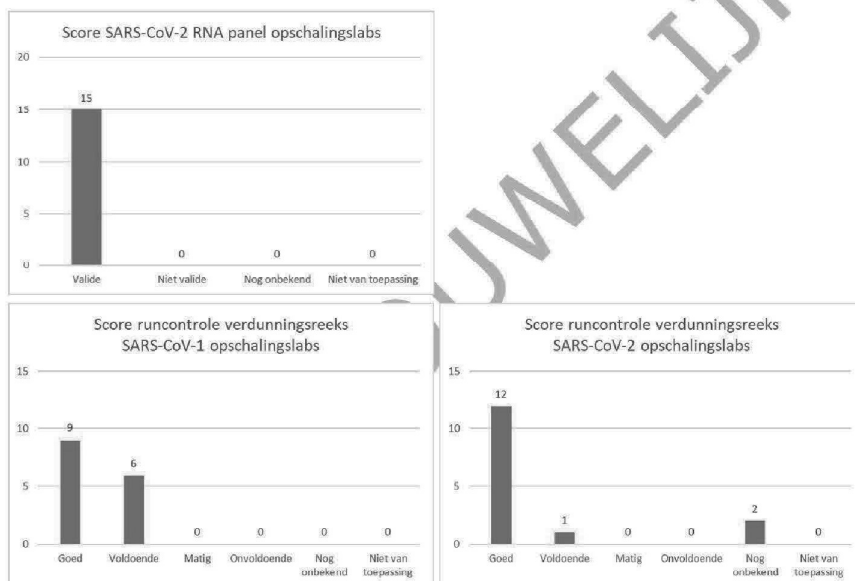
De laboratoria scoren "niet valide" wanneer er verder target genen worden gemist bij de andere SARS-CoV-2 bevattende monster, of wanneer de negatieve controle als positief monster wordt aangemerkt. Wanneer de data nog niet is in ingezonden, krijgen de laboratoria een score van "nog onbekend".

19 mei 2020

3.2

Resultaten RNA EQA Panel en verdunningsreeksen RNA runcontroles van de opschalingslaboratoria en expertisecentra

Alle 13 opschalingslaboratoria en de twee expertisecentra hebben het RNA EQA panel "valide" gescoord. Voor de SARS-CoV-1 RCs hebben negen laboratoria "goed" gescoord. De andere zes laboratoria hebben "voldoende" gescoord. Voor de SARS-CoV-2 RCs hebben 12 laboratoria "goed" gescoord, één laboratorium heeft "voldoende" gescoord. Geen van de laboratoria scoren een "onvoldoende". Twee laboratoria hebben de data nog niet gerapporteerd. Deze data is samengevat in Figuur 2.



Figuur 2: De scores van zowel het panel als de RNA runcontrol verdunningsreeksen van SARS-CoV-1 en SARS-CoV-2 van de opschalingslaboratoria en expertisecentra (n=15)

19 mei 2020

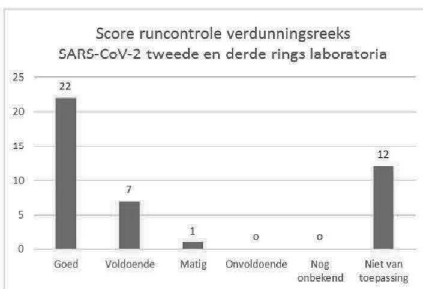
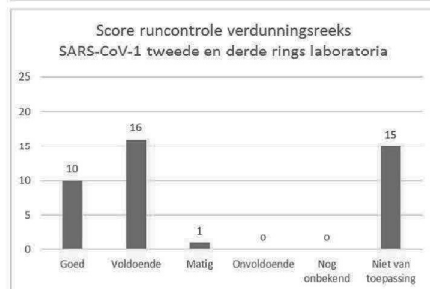
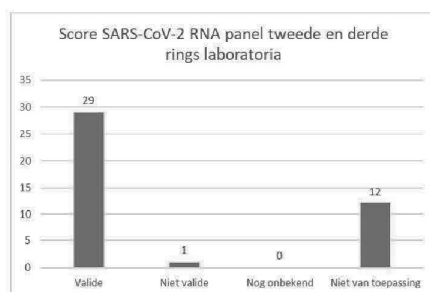
3.3**Resultaten RNA EQA Panels en RNA runcontrole verdunnings-reeksen van de 2e en 3e ring laboratoria**

Van de 2^e en 3^e ring en BVO laboratoria hebben 29 van de 42 laboratoria "valide" gescoord voor het panel, één laboratoria heeft "niet valide" gescoord. Twaalf laboratoria hebben, in plaats van dit panel, het vierde validatiepanel ontvangen. De desbetreffende laboratoria hebben een score van "niet van toepassing" toegekend gekregen voor het RNA panel.

Voor de SARS-CoV-1 RCs hebben 10 van de 42 laboratoria "goed" gescoord, 16 laboratoria hebben "voldoende" gescoord en één laboratorium scoort "matig". Geen van de laboratoria scoort een "onvoldoende". Twee laboratoria gebruiken een kit welke SARS-CoV-1 niet detecteert en één laboratorium heeft deze runcontrole niet ontvangen. De laboratoria is een score van "niet van toepassing" toegekend. Voor de verdunningsreeks van SARS-CoV-1 RNA hebben deze laboratoria een score van "niet van toepassing" toegekend gekregen.

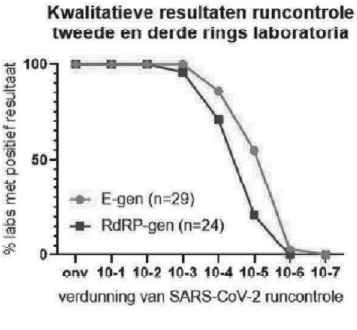
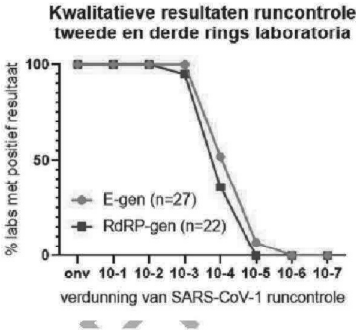
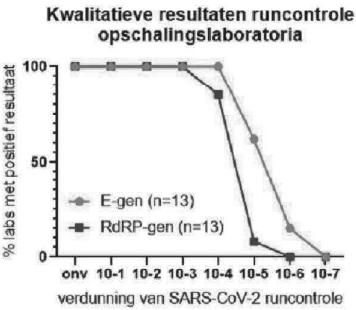
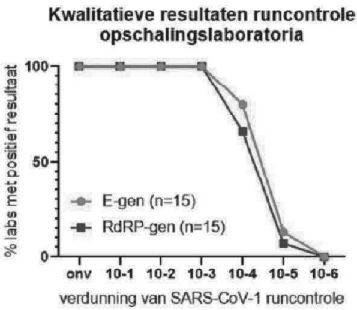
Voor de SARS-CoV-2 RCs hebben 22 van de 42 laboratoria "goed" gescoord, zeven laboratoria hebben "voldoende" gescoord. Eén laboratorium scoort "matig". Geen van de laboratoria scoort een "onvoldoende". Daarnaast testen er 12 laboratoria welke de gevoeligheid van hun testen met het sensitiviteitspanel meten. Voor de verdunningsreeks van SARS-CoV-2 RNA hebben deze laboratoria een score van "niet van toepassing" toegekend gekregen. Deze data is samengevat in Figuur 3.

In Figuren 4 en 5 zijn respectievelijk de gevoeligheid van de OALs en 2^e ring samengevat. Hier is per target gen per verdunning van de runcontrolereeks weergegeven welk percentage van de laboratoria een succesvolle meting heeft verricht. Niet alle laboratoria testen op zowel het E-gen als het RdRP-gen.



VERTROUWELIJK

19 mei 2020



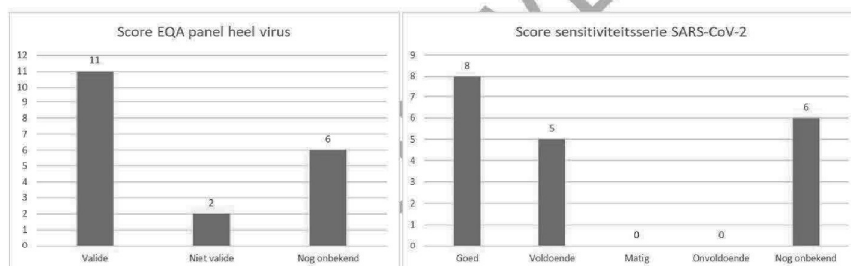
19 mei 2020

3.4 Resultaten heel virus EQA panel

Van de laboratoria die het heel virus EQA panel hebben getest, hebben 11 van de 19 laboratoria "valide" gescoord. Twee laboratoria scoren "niet valide" voor dit panel. Van nog zes laboratoria mist de terugkoppeling van dit panel. Deze laboratoria scoren een "nog onbekend". Deze data is samengevat in Figuur 6.

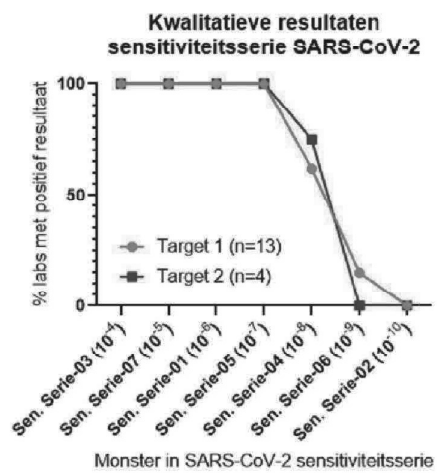
3.5 Resultaten sensitiviteitspanel

Voor het sensitiviteitspanel hebben acht van de 19 laboratoria "goed" gescoord, vijf laboratoria hebben "voldoende" gescoord. Geen van de laboratoria scoort "matig" of "onvoldoende". Deze data is samengevat in Figuur 6. In Figuur 7 is de gevoeligheid van de tests van de laboratoria samengevat. Hier is per target en per verdunning van de runcontrolereeks weergegeven welk percentage van de laboratoria een succesvolle meting heeft verricht. Niet alle laboratoria testen op twee verschillende targets. Ook zijn de gekozen targets verschillend, daar door is gekozen voor de annotatie "Target 1" en "Target 2".



Figuur 6: De scores van zowel het heel virus EQA panel als het sensitiviteitspanel door alle laboratoria die deze panels hebben getest (n=19)

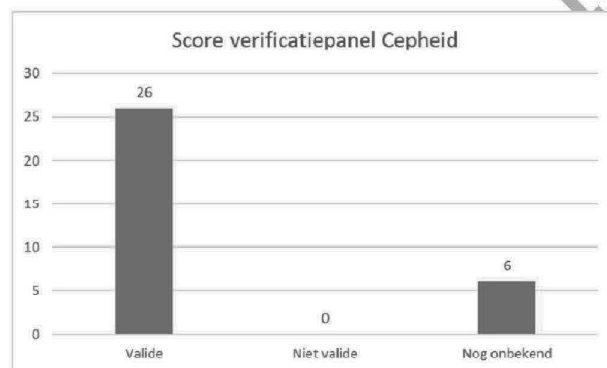
19 mei 2020



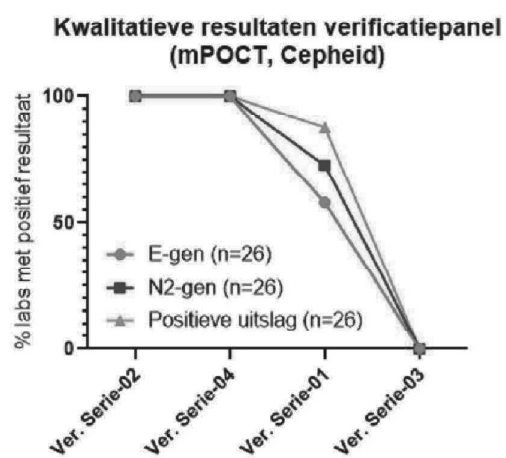
19 mei 2020

3.6**Resultaten verificatiepanel voor Cepheid Xpert® Xpress SARS-CoV-2 mPOCT**

Van de laboratoria die het verificatiepanel voor de Cepheid Xpert® Xpress SARS-CoV-2 hebben getest, hebben 26 van de 33 laboratoria "valide" gescoord. Geen van de laboratoria scoort "niet valide" voor dit panel. Van nog zes laboratoria mist de terugkoppeling van dit panel. Deze laboratoria scoren een "nog onbekend". Deze data is samengevat in Figuur 8. In Figuur 9 is de gevoeligheid van de tests van de laboratoria samengevat. Hier is per target gen monsternummer van het verificatiepanel weergegeven welk percentage van de laboratoria een succesvolle meting heeft verricht. Ook is erin aangegeven welk percentage van de laboratoria per monster een positieve uitslag heeft verkregen. Een positieve uitslag wordt toegekend wanneer één of beide target genen een positieve meting opleveren.



19 mei 2020



Figuur 9: Hier is per target per verificatiepanel monsternummer weergegeven welk percentage van de laboratoria een succesvolle meting heeft verricht. Ook weergegeven welk percentage van de laboratoria per monster een positieve uitslag heeft verkregen. Een positieve uitslag wordt toegekend wanneer één of beide targetgenen een positieve meting opleveren.

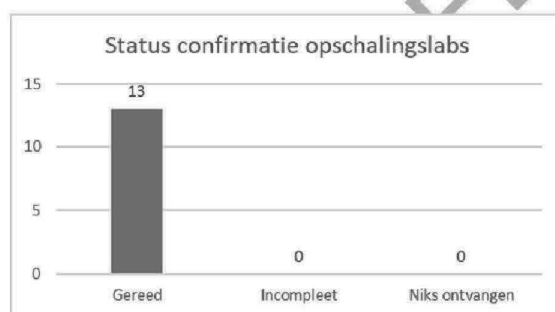
19 mei 2020

4

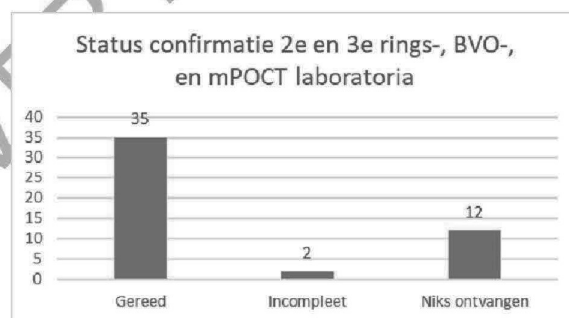
Status van confirmaties van laboratoria

Van elk laboratorium wordt verwacht dat ze voor de validatie 10 negatieve en 5 positieve monsters ter confirmatie opsturen naar een van de twee expertisecentra. Alle 13 OALs hebben 10 negatieve en 5 positieve monsters laten confirmeren. Bij overeenkomstig resultaat, hebben de laboratoria aan de confirmatie eis voldaan. De andere laboratoria hebben negatieve en positieve monsters ingestuurd, maar nog geen 10 en 5 respectievelijk, of de confirmatie is nog niet volledig afgerond.

Van de 2^e ring heeft 35 van de 49 laboratoria aan de confirmatie eis voldaan. Twee laboratoria hebben negatieve en/of positieve monsters ingestuurd, maar nog geen 10 en 5 respectievelijk, of de confirmatie is nog niet volledig afgerond. Twaalf laboratoria moeten nog confirmaties inzenden. Dit is weergegeven in Figuur 10 en Figuur 11.



Figuur 10: Status confirmaties van opschalingslaboratoria (n=13)



19 mei 2020

Er is aan de laboratoria gevraagd een overzicht te sturen welke negatieve en positieve (met Ct waarden) monsters voor confirmatie bij het Erasmus MC of RIVM zijn aangeboden. Daarbij is ook geïnventariseerd wat de redenen zijn dat sommige laboratoria nog incompleet geconfirmeerd zijn. In totaal zijn er vier verschillende redenen gevonden om de confirmatiestatus van een laboratorium als "incompleet" aan te merken:

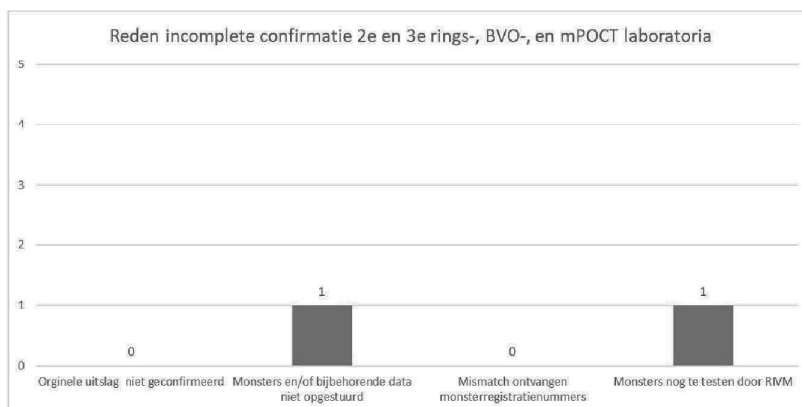
- De originele test resultaat is niet geconfirmeerd door de expertisecentra.
- Er ontbreken nog monsters en/of de benodigde monsterregistratie van het externe laboratorium.
- Er is een mismatch tussen de opgegeven data van de monsters en het monsterregistratiesysteem van het RIVM.
- Er zijn nog geen monsters opgestuurd.

Om de confirmatiestatus van deze laboratoria "gereed" te krijgen zijn of worden de volgende actiepunten ondernomen:

- Het externe laboratorium wordt gevraagd extra monsters ter confirmatie op te sturen.
- Het externe laboratorium wordt (nogmaals) verzocht de benodigde monsters en/of data op te sturen.
- De ingestuurde gegevens worden handmatig nagelopen en aangevuld in onze registratie, eventueel met behulp van het desbetreffende externe laboratorium.
- De monsters worden dagelijks getest bij het RIVM en de aanvullende data wordt ingevoerd.

In Figuur 12 is voor de 2^o en 3^o rings-, BVO- en mPOCT laboratoria samengevat waarom de confirmatiestatus "incompleet" is toegewezen.

19 mei 2020



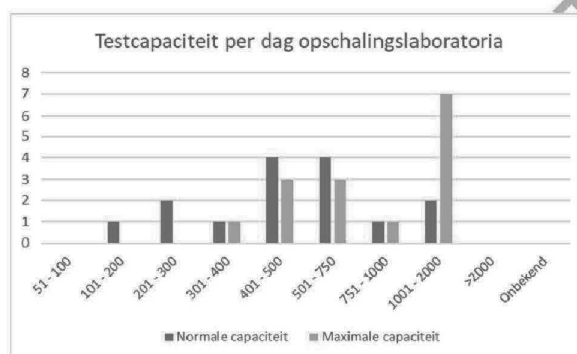
VERTROUW

19 mei 2020

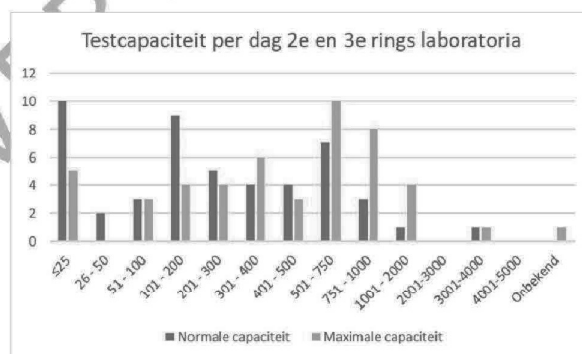
5

Testcapaciteit opschalingslaboratoria, 2e en 3e rings laboratoria en mPOCT laboratoria

Van de participerende laboratoria is gevraagd hun testcapaciteit te rapporteren. Voor de opschalingslaboratoria zijn de vereisten dat ze minimaal 100 monsters per dag kunnen verwerken. Ook is er navraag gedaan naar de capaciteit bij eventueel verdere opschaling van deze laboratoria. In Figuur 13 is de capaciteit van de opschalingslaboratoria en expertisecentra weergegeven.



Figuur 13: Toont zowel de normale als de maximale testcapaciteit van opschalingslaboratoria en expertisecentra (n=15). Deze testcapaciteiten zijn onderverdeeld in categorieën oplopend van ≤25 tot >2000. De capaciteit van de 2^e en 3^e rings-, BVO- en mPOCT laboratoria is ook in kaart gebracht. Van deze laboratoria is zowel de reguliere als de maximale testcapaciteit weergegeven in Figuur 14.

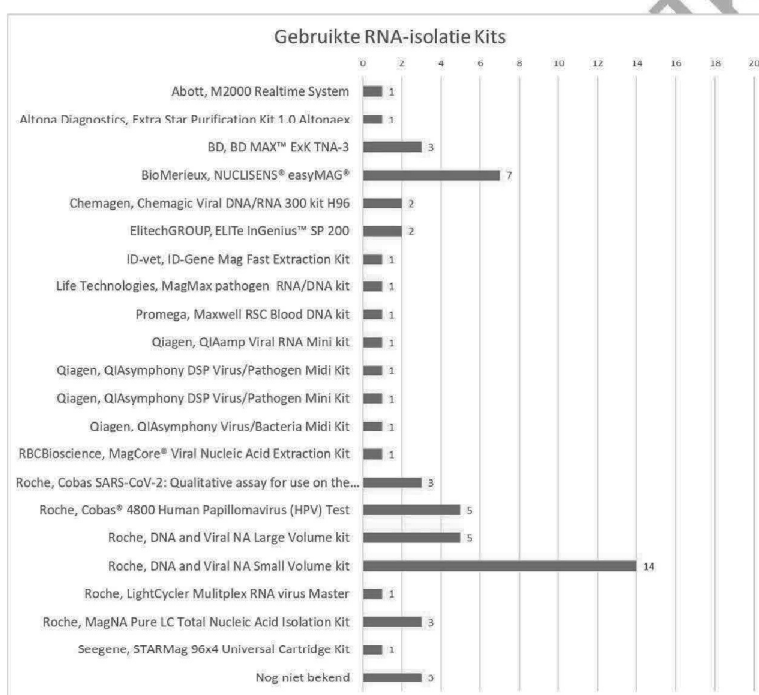


19 mei 2020

6

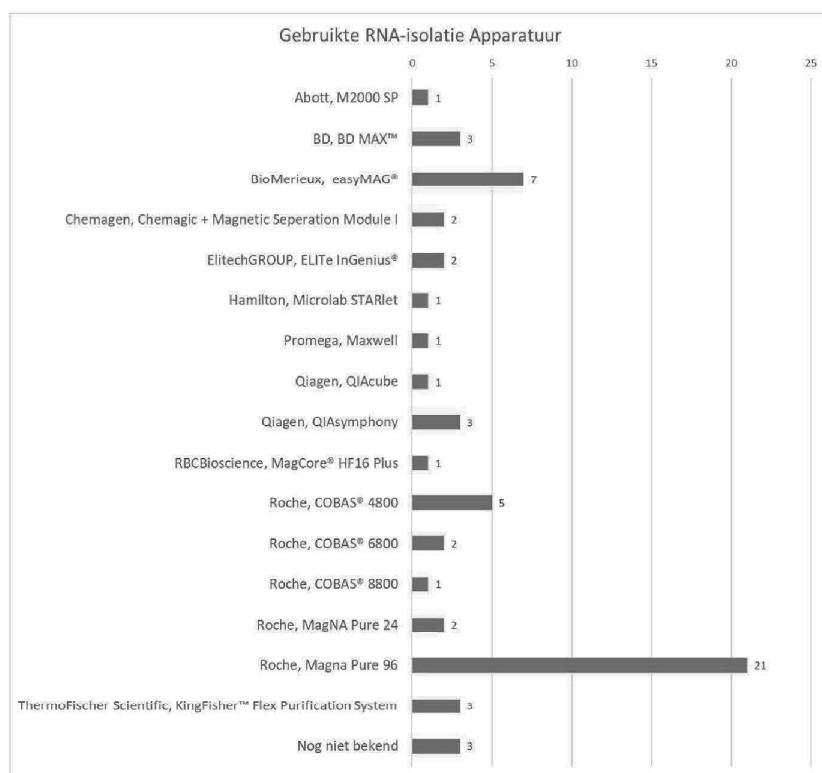
Gebruikte kits en apparatuur tijdens extractie- en PCR-methoden

Bij rapportage van het panel en RCs verdunningsreeksen is gevraagd naar details van gebruikte extractiemethoden (extractie kit en apparatuur) en PCR methoden (enzym en apparatuur). De door alle laboratoria gebruikte RNA isolatie kits en apparatuur zijn, inclusief de bijbehorende fabrikant, weergegeven in Figuur 15 en Figuur 16. Een aantal van de laboratoria heeft deze data nog niet gedeeld.



Figuur 15: De door laboratoria (inclusief expertisecentra) gebruikte RNA isolatie kits samen met het aantal laboratoria per kit (n=59). Aangezien sommige laboratoria gebruik maken van verschillende technieken is het aantal gebruikte RNA isolatiekits hoger dan het totaal aantal laboratoria.

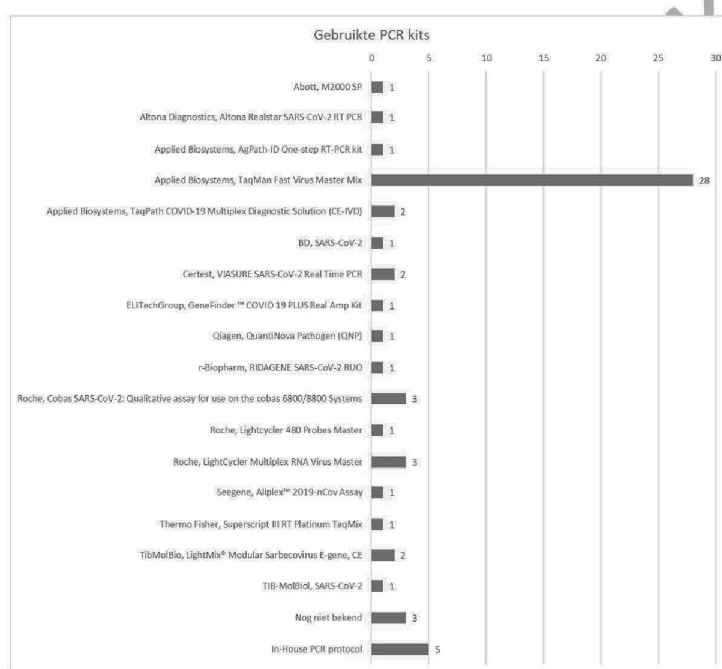
19 mei 2020



Figuur 16: De door laboratoria (inclusief expertisecentra) gebruikte apparatuur voor RNA isolatie samen met het aantal laboratoria per kit (n=59). Aangezien sommige laboratoria gebruik maken van verschillende technieken is het aantal gebruikte RNA isolatieapparatuur hoger dan het totaal aantal laboratoria.

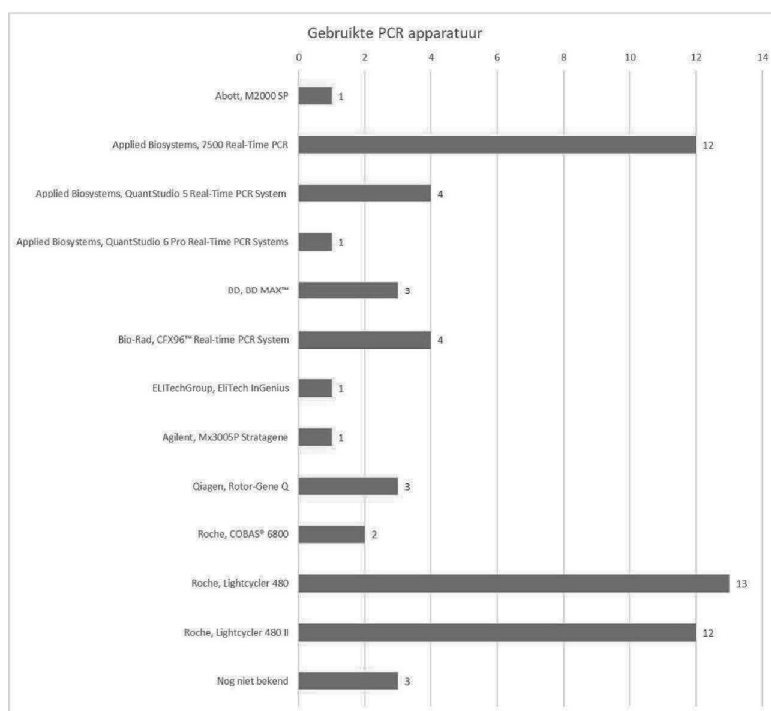
19 mei 2020

De door alle laboratoria gebruikte PCR kits en apparatuur zijn, inclusief de bijbehorende fabrikant, weergegeven in Figuur 17 en Figuur 18. Een aantal van de laboratoria heeft deze data nog niet gedeeld. Daarnaast zijn er vijf laboratoria die gebruik maken van een in-house PCR methode. Alle vijf de laboratoria gebruiken de LightMix® SarbecoV E-gene (primer/probes) van TibMolbiol en de LightCycler® Multiplex RNA Virus Master van Roche.



Figuur 17: De door laboratoria (inclusief expertisecentra) gebruikte PCR kits inclusief fabrikant met het aantal laboratoria per kit (n=59). Aangezien sommige laboratoria gebruik maken van verschillende technieken is het aantal gebruikte PCR kits hoger dan het totaal aantal laboratoria. Daarnaast zijn er ook 5 laboratoria die gebruik maken van een in-house PCR methode.

19 mei 2020



Figuur 18: De door laboratoria (inclusief expertisecentra) gebruikte PCR apparatuur inclusief fabrikant met het aantal laboratoria per apparaat (n=60). Aangezien sommige laboratoria gebruik maken van verschillende technieken is het aantal gebruikte PCR apparaten hoger dan het totaal aantal laboratoria.

19 mei 2020

7

Referenties

1. van Asten L, van der Lubben M, van den Wijngaard C, van Pelt W, Verheij R, Jacobi A, Overduin P, (10)(2e) (10)(2e), Luijt D, Claas E, Hermans M, Melchers W, Rossen J, Schuurman R, Wolfs P, Boucher C, Schirm J, Kroes L, Leenders S, Galama J, (10)(2e) (10)(2e), van Loon A, Stobberingh E, Schutten (10)(2e) (10)(2e) M. Strengthening the diagnostic capacity to detect Bio Safety Level 3 organisms in unusual respiratory viral outbreaks. *J Clin Virol.* 2009 Jul;45(3):185-90.
2. (10)(2e) (10)(2e), S. Dittrich, H. Bijlmer, (10)(2e) (10)(2e). Evaluatie van opschaling van laboratoriumdiagnostiek tijdens de influenzapandemie. *Ned Tijdschr Med Microbiol* 2011;19:nr1
3. Corman Victor M, Landt Olfert, Kaiser Marco, Molenkamp (10)(2e) (10)(2e), Adam, Chu Daniel KW, (10)(2e) (10)(2e), Brünink Sebastian, (10)(2e) (10)(2e), (10)(2e) (10)(2e), Mulders Daphne GJC, Haagmans Bart L, van der Veer Bas, van den Brink Sharon, Wijsman Lisa, Goderski Gabriel, Romette Jean-Louis, Ellis Joanna, Zambon Maria, Peiris Malik, (10)(2e) (10)(2e), Reusken Chantal, Koopmans Marion PG, (10)(2e) (10)(2e). Detection of 2019 novel coronavirus (2019-nCoV) by real-time RT-PCR. *Euro Surveill.* 2020;25(3):pii=2000045. <https://doi.org/10.2807/1560-7917.ES.2020.25.3.2000045>
4. Multi-center evaluation of cepheid xpert® xpress SARS-CoV-2 point-of-care test during the SARS-CoV-2 pandemic; Femke Wolters, (10)(2e) (10)(2e) (10)(2e), Bart van den Bosch, (10)(2e) (10)(2e) (10)(2e), (10)(2e) (10)(2e) (10)(2e), (10)(2e) (10)(2e) (10)(2e), (10)(2e) (10)(2e) (10)(2e), Janette Rahamat-Langedoen, (10)(2e) (10)(2e), Willem JG Melchers, (10)(2e) (10)(2e); <https://doi.org/10.1016/j.jcv.2020.104426>