

Verwachte resultaten Specificiteits en Sensitiviteits panels SARS-CoV-2

Tabel 1. Specificiteits panel #5 samenstelling en Ct waarden in real-time RT-PCR met Fast-Virus Mastermix na extractie van 200 µl op MagNApure 96 met total nucleic acid kit small volume, elutie in 50 µl en 5 µl extract per RT-PCR reactie. De SARS-CoV-2 RT-PCRen zijn in 2-voud uitgevoerd; na de Ct waarde staat tussen () het aantal keren positief.

Panel codering	Virus ¹	Target specifieke Ct ²	E-gen Ct	RdRP gen Sarbeco probe Ct	RdRP-gen SARS-CoV-2 probe Ct
EQA_CoV20-01	CoV-OC43	30.79	Neg	Neg	Neg
EQA_CoV20-02	No virus	Neg	Neg	Neg	Neg
EQA_CoV20-03	SARS-CoV-2 (d1)	NA	28.18 (2)	30.98 (2)	29.91 (2)
EQA_CoV20-04 ³	SARS-CoV-2 (d3)	NA	34.87 (1)	Neg	33.59 (2)
EQA_CoV20-05	Influenzavirus A(H3N2)	21.84	Neg	Neg	Neg
EQA_CoV20-06	SARS-CoV-2 (d2)	NA	33.14 (2)	Neg	33.19 (2)
EQA_CoV20-07	CoV-229E	27.72	Neg	Neg	Neg
EQA_CoV20-08	Influenzavirus B-Victoria	28.84	Neg	Neg	Neg
EQA_CoV20-09	CoV-NL63	24.09	Neg	Neg	Neg
EQA_CoV20-10	Rhinovirus A16	23.40	Neg	Neg	Neg

¹ d1, d2 en d3 geven aan dat d2 een 1:100 doorverdunding is van d1 en d3 een 1:10 doorverdunding van d2. SARS-CoV-2 is hitte geïnactiveerd. d1, d2 en d3 zijn equivalent aan respectievelijk Sen. Series 02, 07 en 01 van Sensitiviteits panel #2.

² Voor influenzavirus A(H3N2) matrix gen en voor influenzavirus B/Victoria hemagglutinine gen; nvt = niet van toepassing.

³ Bij herhalingen van dit monster kan het E-gen en/of RdRP-gen SARS-CoV-2 probe ook negatief zijn; educatief monster.

Tabel 2. Sensitiviteits panel #2, samengesteld uit verdunningsreeks van geïnactiveerde SARS-CoV-2 stock in real-time RT-PCR met Fast-Virus Mastermix na extractie van 200 µl op MagNApure 96 met total nucleic acid kit small volume, elutie in 50 µl en 5 µl extract per reactie. De reeks is gerandomiseerd aangeboden. De RT-PCRen zijn in 3-voud uitgevoerd.

Panel codering	Verdunning stock	Aantal kopieën RdRP target vastgesteld met dPCR/ml monster ¹	Ct, gemiddelde (aantal keer positief)	
			E-gen (Sarbeco)	RdRP-gen (SARS-CoV-2) ²
Sen. Serie-04	10-4	8.26*10 ⁴	24.68 (3)	25.03 (3)
Sen. Serie-02	10-5	8.26*10 ³	28.26 (3)	28.71 (3)
Sen. Serie-06	10-6	8.26*10 ²	30.82 (3)	31.43 (3)
Sen. Serie-07	10-7	8.26*10 ¹	33.11 (3)	34.69 (3)
Sen. Serie-01 ³	10-8	8.26	35.16 (1)	37.38 (3)
Sen. Serie-05	10-9	8.26*10 ⁻¹	Neg	Neg
Sen. Serie-03	10-10	8.26*10 ⁻²	Neg	Neg

¹ dPCR is uitgevoerd op + streng genomisch RNA; de RdRP PCR detecteert ook - streng replicatieve vorm genomisch RNA en de E-gen PCR detecteert daarnaast ook subgenome messengers waardoor het werkelijk aantal target templates voor de diagnostische PCR in het monster waarschijnlijk hoger is.

² Gemodificeerde primers en probe waardoor de PCR en de probe specifiek zijn voor SARS-CoV-2 met analytische gevoeligheid vergelijkbaar met de E-gen RT-PCR: RdRp_SARS-F2 GTGAAATGGTCATGTGTGGCGG; RdRp_SARS-R2 CAAATGTTAAAAACTATTAGCATAAGCA; RdRp_SARS-P2.2 CCAGGTGGAACCTCATCAGGAGATGC (met dank aan 5.1.2e, JBZ, voor delen ideeën hiervoor). Deze primers zijn dus niet meer geschikt om met de Corman et al. Sarbeco RdRP probe te combineren tot een Sarbeco specifieke RT-PCR.

³ Voorlopige indicatie: educatief monster. Na binnenkomst van resultaten van meerdere laboratoria kan een definitieve status toegekend worden.