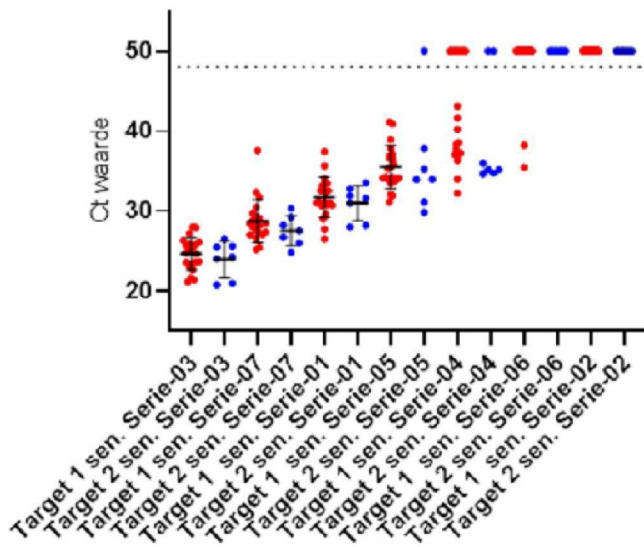


To: [redacted] [redacted] [redacted]@lcdk.nl]  
 Cc: [redacted] [redacted] [redacted]@erasmusmc.nl]; [redacted] [redacted] [redacted]@lcdk.nl]  
 From: [redacted] [redacted] [redacted]@lcdk.nl]  
 Sent: Sat 8/29/2020 2:35:23 PM  
 Subject: RE: Kwaliteit pooling  
 Received: Sat 8/29/2020 2:35:24 PM

Dag [redacted]

Het gaat om detectie en niet zozeer om verschuiving van Ct waarden bij poolen van positief monster met bepaalde load met negatieve monsters. Daarnaast genereren verschillende labs een range van Ct waarden met bijvoorbeeld het sensitiviteitspanel, en nog eens afhankelijk target gen:

### Sensitiviteitsserie SARS-CoV-2



Niet alle laboratoria gebruiken test waar twee gen targets worden gebruikt.  
 Ct 50 = artificiële Ct waarde voor een negatief resultaat.  
 Voor datasets zonder negatieve resultaten is mediaan met IQR weergegeven.

Waarbij samenstelling van dit sensitiviteitspanel #1 is:

**Tabel 2.** Sensitiviteits panel, 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 PCRen zijn in 3-voud uitgevoerd; na de Ct waarde staat tussen ( ) het aantal keren positief.

Panel codering	Verdunning stock	Aantal kopieën RdRP target vastgesteld met dPCR/ml monster <sup>1</sup>	E-gen Ct	RdRP gen Sarbeco probe Ct	RdRP-gen SARS-CoV-2 probe Ct
Sen. Serie-03	10-4	8.26*10 <sup>4</sup>	23.12 (3)	29.61 (3)	25.53 (3)
Sen. Serie-07	10-5	8.26*10 <sup>3</sup>	28.01 (3)	33.76 (3)	30.33 (3)
Sen. Serie-01	10-6	8.26*10 <sup>2</sup>	30.72 (3)	37.09 (3)	32.76 (3)
Sen. Serie-05	10-7	8.26*10 <sup>1</sup>	33.47 (3)	38.00 (2)	35.19 (3)
Sen. Serie-04 <sup>2</sup>	10-8	8.26	33.95 (2)	40.95 (1)	35.15 (2)
Sen. Serie-06	10-9	8.26*10 <sup>-1</sup>	Neg	Neg	Neg
Sen. Serie-02	10-10	8.26*10 <sup>-2</sup>	Neg	Neg	Neg

<sup>1</sup> 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.

<sup>2</sup> Voorlopige indicatie: educatief monster. Na binnenkomst van resultaten van meerdere laboratoria kan een definitieve status toegekend worden.

Ook informatief, maar absolute Ct waarden van bepaalde combinaties van extractie kits, apparatuur en keuze primers/probes of all-in-one oplossingen (zoals GeneXpert) niet informatief voor detectiegrens of vaststellen waarde waaraan voldaan moet worden.

Ik zou het dus houden bij de drie geciteerde regels voor de panels.

Afzonderlijke labs kunnen natuurlijk eigen opzet uitgebreid valideren met klinische monsters, Ct verschuiving etc., zoals 5.1.2e gedaan heeft. Panel is bedoeld om labs die poolen met elkaar te kunnen vergelijken en minder presterende implementaties te identificeren. Voor poolen uiteraard ook nog vergelijk met testen afzonderlijke monsters en dat kan met sensitiviteitspanel waarin dezelfde monsters zitten als in poolingpanel. Dus het liefst moeten poolinglabs beide panels testen. Bedenk mij dat we dat wel weer snel door sensitiviteitspanels zullen zijn, hmm. Komt ook wel weer goed.

Inmiddels is eerste QC test gedaan met pooling panel. Dat ziet er goed uit en voldoet grotendeels aan de verwachting die we hier op het lab hadden. Het is altijd spannend als de eerste labs gaan testen of de resultaten er ook zo uit gaan zien als wij op RIVM uitgetest hebben met onze opzet. Er moeten nog veel meer negatieve monsters gemaakt worden. Daar zijn we nog humane cellen voor aan het opgroeien. Dat moet komende week klaar zijn. Dan hebben we voor poolen 1200 monsters klaar staan.

Met vriendelijke groeten,

5.1.2e

**From:** 5.1.2e <5.1.2e@lcdk.nl>

**Sent:** vrijdag 28 augustus 2020 21:06

**To:** 5.1.2e <5.1.2e@rivm.nl>

**Cc:** 5.1.2e <5.1.2e@erasmusmc.nl>; 5.1.2e <5.1.2e@lcdk.nl>

**Subject:** Kwaliteit pooling

Beste 5.1.2e

Fijn dat er zo voortvarend wordt gewerkt aan een panel voor pooling.

Wat zijn de minimale eisen die gesteld worden aan de kwaliteit en validiteit van pooling? Hebben we daar richtwaarden voor (afwijking in Ct-waarden)?

Of hanteren we alleen de volgende regels:

- Specificiteitspanel RIVM moet tot goed resultaat leiden, in die zin dat de core monsters juist worden gedetecteerd.
- Sensitiviteitspanel RIVM moet tot goed resultaat leiden, in die zin dat de core monsters juist worden gedetecteerd.
- Poolingpanel RIVM moet tot goed resultaat leiden, in die zin dat de core pools juist worden gedetecteerd en de individuele positieve monsters in positieve pools geïdentificeerd

Bedankt!

Groet 5.1.2e



5.1.2e

Landelijk Coördinatieteam Diagnostische Keten (LCDK) COVID-19

5.1.2e

@lcdk.nl | mobiel 06-

5.1.2e