

## Afdeling Medische Microbiologie

**Verificatie rapport**

<b>Titel</b>	SARS CoV-2 PCR op de GeneXpert
<b>Aanvrager</b>	5.1.2e
<b>Uitvoerder</b>	
<b>Datum</b>	12-05-2020

<b>Validatie*</b>	
<b>Verificatie*</b>	<b>x</b>

<b>Apparaat*</b>	GeneXpert
<b>Methode*</b>	Real-time PCR
<b>Koppeling</b>	Ja

\*Invullen wat van toepassing is

**Doel**

Het verifiëren van de SARS-CoV-2 PCR van Cepheid op de GeneXpert. Deze test wordt gebruikt als cito-test naast de InGenius COVID-19 test.

**Achtergrond**

In de regio Wuhan in China startte in december 2019 een uitbraak van een nieuw Coronavirus, SARS-CoV-2. Het virus veroorzaakt koorts en (soms ernstige) luchtwegklachten. De ziekte wordt COVID-19 genoemd. Al snel werd de sequentie van het virus bekend<sup>1</sup> en er werd een in-house assay ontwikkeld mede door Nederlandse onderzoekers<sup>2</sup>. De test op de E en RdRp genen draaien in verschillende laboratoria. Sinds begin april 2020 hebben wij de GeneFinder COVID-19 PLUS assay op de InGenius van EliTech. De test detecteert de genen E, RdRp en N. Echter, de capaciteit van deze test is niet genoeg voor ons. Er is verder ook behoefte aan een sneltest, die door alle analisten uitgevoerd kan worden.

De GeneXpert SARS-CoV-2 test detecteert SARS-CoV-2 in swabs en neus spoelsels binnen 45 minuten<sup>3</sup>. De test detecteert de genen N2 en E. Daarnaast wordt gebruikt gemaakt van een Sample Processing Control (SPC). Deze toont een juiste isolatie en amplificatieprocedure aan. Er zijn geen studies gepubliceerd over de assay. De analytische gevoeligheid is, volgens de fabrikant, 250 kopieën/mL monster. Dat komt overeen met 75 kopieën per test. Een positieve N2 PCR (E PCR positief of negatief) wordt als positief beschouwd. Als de E PCR positief is en de N2 PCR negatief, is de uitslag "presumptive positieve". De test moet herhaald worden.

**Eisen**

De GeneXpert is geverifieerd op het RIVM, PAMM en Radboud UMC<sup>4</sup>. De resultaten werden met het hele land gedeeld. RIVM stuurt een proficiency panel rond met 4 monsters. Dit voldoet in principe als verificatie. Wel willen we graag weten hoe de test presteert in vergelijking met de GeneFinder COVID-19 PLUS assay op de InGenius. Verder is de test alleen gevalideerd voor VTM, en niet voor eSwabs en sputa.

Er worden 2 onderdelen getoetst in de validatie. De eisen voor de verschillende onderdelen:

Proficiency panel RIVM = Alle monsters moeten goed gescoord worden volgens de criteria van het RIVM.

## Afdeling Medische Microbiologie

Bepalen meetnauwkeurigheid: 1 sterk positieve swab en sputum, 1 laag positieve swab en sputum worden getest en de resultaten worden vergeleken met de GeneFinder COVID-19 PLUS-test. De positieve materialen moeten worden bevestigd.

### Plan van aanpak/ methode

1. Panel van het RIVM testen
2. Opzoeken van klinische materialen (eSwabs en sputa)
3. Materialen uit de vriezer halen
4. Materialen testen volgens de procedure van de leverancier
5. Resultaten verwerken en vergelijken met initiële resultaten
6. Resultaten bespreken met MMM/AMa

### Testmateriaal, benodigheden, reagentia

Reagentia nodig:

Xpert® Xpress SARS-CoV-2 cartridges  
Proficiency panel (RIVM)

Patiëntenmaterialen (met Ct-waarden RdRp, N en E):

#### Zwak positieve eSwab

20V\_613511 (29.60 30.01 32.04)

#### Zwak positieve sputum

20V\_613535 (30.19 30.96 32.86)

#### Sterk positieve eSwab

20V\_613469 (19.06 20.35 19.11)

#### Sterk positieve sputum

20V\_613561 (23.10 21.73 21.07)

### Rapportage van resultaten

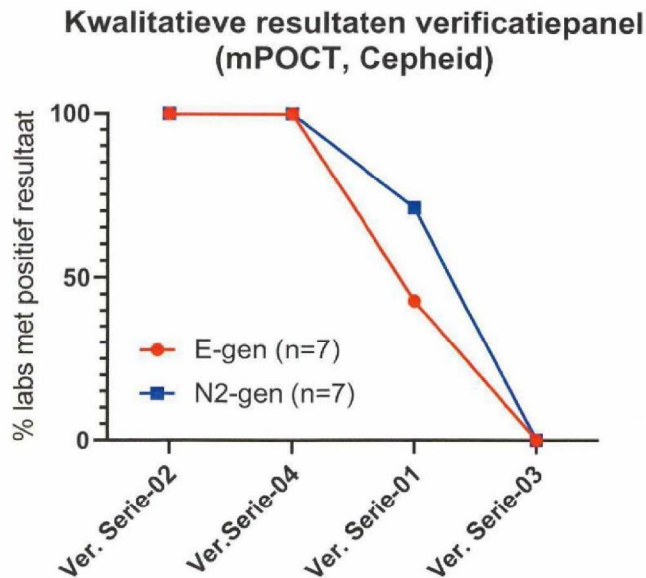
#### Resultaten van de RIVM proficiency panel

RIVM heeft een panel van 4 monsters rondgestuurd. De panel is samengesteld uit een verdunningsreeks van een geïnactiveerd SARS-CoV-2 kweek. Onze resultaten zijn vergeleken met de van het RIVM hieronder

	Verdunning	Genoom c/ml	HMC			Interpretatie	RIVM		
			E	N2	SPC		E	N2	SPC
RIVM 1	10-8	8,26	-	42,3	28,2	Positief	39,5	39,7	28,1
RIVM 2	10-5	8.26*10 <sup>3</sup>	27,7	29,8	28,2	Positief	28,7	30,9	28,1
RIVM 3	Geen virus	-	-	-	28	Negatief	-	-	27,5
RIVM 4	10-7	8.26*10 <sup>1</sup>	38,5	39,4	28,4	Positief	34,6	37,9	27,9

Wij scoren alle positieve monsters. Bij monster nr 1 is de E-PCR negatief ondanks het feit dat deze gevoeliger lijkt dan de N-PCR. 7 laboratoria hebben meegedaan tot nu toe. Hieruit blijkt dat monster nr 1 niet door iedereen wordt gedetecteerd. Het RIVM beschouwd dit monster als educatief. De laboratoria die tot nu toe mee hebben gedaan scoren als volgt (bron: RIVM):

Afdeling Medische Microbiologie



Testen klinische monsters

4 klinische monsters werden getest. Dit waren 2 sputa en 2 eSwabs. Sputa werden 1:5 verdund in eSwab-medium, met zoals wij het doen bij de FluA/B/RSV-test. De resultaten werden vergeleken met de resultaten van de InGenius-test. De monsters hadden een vries/dooi stap ondergaan.

	GeneXpert		SPC	InGenius		
	E	N2		RdRp	N	E
<b>eSwabs</b>						
20V_613511 zwak pos	28,7	31,3	27,6	29,6	30,01	32,04
20V_613469 sterk pos	18,4	21,3	27,6	19,06	20,35	19,11
<b>Sputa</b>						
20V_613535-bb zwak pos	ERROR			30,19	30,96	32,86
20V_613535-bb	ERROR					
20V_613535+bb	30,8	34,4	28,2			
20V_613561 sterk pos	23,7	25,4	31,9	23,1	21,73	21,07

De resultaten bij de eSwabs zijn vergelijkbaar. Het sterk positieve sputum lijkt ietsje geremd, waardoor de Ct-waarde hoger zijn. Het zwak positieve sputum geeft een errorsignaal in het apparaat. Het gaat om een "Syringe pressure" error. Mogelijk is dit sputum te viskeus. Om dit te testen werd de test herhaald op hetzelfde materiaal. Dit gaf weer een error. Verder werd het sputum 1:5 verdund in PBS en gebeadbeat. Dit doen we ook met sputa die we met de InGenius of BD max testen. Dit gaf een goed resultaat.

**Evaluatie resultaten en vervolgstappen**

1. Wij scoren alle RIVM-monsters monsters goed. De N-PCR lijkt gevoeliger dan de E-PCR. RIVM geeft ons groen licht om te starten.
2. eSwabs zijn geschikt als materiaal. Sputa moeten eerst 1:5 verdund worden in PBS en gebeadbeat.

## Afdeling Medische Microbiologie


**Conclusie**

De test voldoet aan de eisen.

**Referenties**

- 1) Tan et al. 2020. A Novel Coronavirus Genome Identified in a Cluster of Pneumonia Cases — Wuhan, China 2019–2020. China CDC Weekly 2: 61-62.
- 2) Corman et al. 2020. Detection of 2019 novel coronavirus (2019-nCoV) by real-time RT-PCR. Eurosurveillance 22 Jan.
- 3) Package insert Xpert® Xpress SARS CoV 2.
- 4) Rapport RIVM: Cepheid, Xpert® Xpress SARS-CoV-2. Multicentre evaluation using specificity and sensitivity panels and stored SARS-CoV-2 positive clinical specimens.

**Bijlagen**

Onderdeel	Datum	(Senior) analist	MMM'er
Validatie/ verificatieplan	12-05-2020	5.1.2e	
<b>Akkoord plan:</b>			



## Addendum 1: verificatie Gly-medium voor SARS-CoV-2 PCR op de GeneXpert

### Doel:

Sinds mei 2020 wordt er Covid-diagnostiek uitgevoerd op de GeneXpert met de Xpert Xpress SARS-CoV-2 test. De test is door ons geverifieerd op eSwabs en sputa. Het doel van dit addendum is om de test te verifiëren op Gly-medium.

### Plan en eisen:

Tot nu toe worden alle materialen in Gly-medium op de Panther getest. De Panther-test is een TMA-test en daarom is er geen Ct-waarde te zien, maar een total RLU. Het is dus niet zeker dat een materiaal met een hoge RLU ook daadwerkelijk sterk positief is. Er worden twee positieve klinische monsters met verschillende RLU's en een negatief klinisch monster getest op de GeneXpert. De positieve materialen moeten positief zijn en het negatieve monster negatief.

### De te testen materialen zijn:

891C0020572 "sterk positief" (RLU 1282)  
 891C0020390 "zwak positief" (RLU 983)  
 891C0020500 neg (RLU 347)

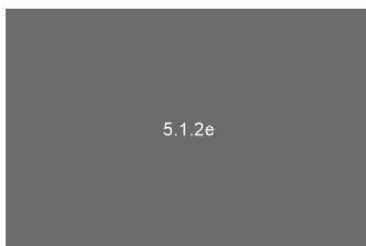
### Resultaten (Ct-waarden GeneXpert en RLU's Panther):

Gly-medium	GeneXpert			Panther
	E	N2	SPC	RLU
891C0020572 "sterk pos"	19.8	22.4	27.4	1282
891C0020390 "zwak pos"	0.0	37.2	27.2	983
891C0020500 neg	0.0	0.0	27.3	347

Allebei de positieve monsters worden gedetecteerd. Het monster met een RLU<1000 is ook echt zwak positief, ook in de GeneXpert. Het negatieve monster is negatief. Monsters zijn niet geremd.

### Conclusie:

Het Gly-medium kan gebruikt worden op de GeneXpert.



1-10-2020

1-10-2020

