

Afdeling Medische Microbiologie

Verificatie rapport

Titel	SARS CoV-2/Flu/RSV PCR op de GeneXpert
Aanvrager	5.1.2e
Uitvoerder	
Datum	11-1-2021

Validatie*	
Verificatie*	x

Apparaat*	GeneXpert
Methode*	Real-time PCR
Koppeling	Ja

*Invullen wat van toepassing is

Doel

Het verifiëren van de Xpert® Xpress SARS-CoV-2/Flu/RSV PCR van Cepheid op de GeneXpert. Deze test wordt gebruikt tijdens het respiratoire seizoen als SARS-CoV-2, Flu en RSV cito-test. De aparte testen kunnen ook ingezet worden zolang ze in voorraad zijn.

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. In het HMC worden patiënten en medewerkers getest op SARS-CoV-2 met de GeneXpert real-time PCR of met de Panther TMA testen. De GeneXpert SARS-CoV-2 test wordt op dit moment gebruikt als cito-test om snel, binnen 50 minuten, een uitslag te verkrijgen. Op basis hiervan kan er worden besloten om de patiënt in isolatie te plaatsen. In het respiratoire seizoen is er om dezelfde redenen ook behoefte om Influenza en RSV snel te detecteren. Een combinatie-test heeft het voordeel dat alle 3 pathogenen tegelijk gedetecteerd kunnen worden.

De GeneXpert Xpert Xpress SARS-CoV-2/Flu/RSV test is een multiplex real-time RT test die SARS-CoV-2, FluA, FluB en RSV detecteert in swabs en neus spoelsels binnen 36 minuten¹. De test detecteert de SARS-CoV-2 genen N2 en E in één reactie, de FluA matrix, PB2 en PA in 2 reacties, de FluB matrix en non-structural protein in 1 reactie en de RSV nucleocapsid in 1 reactie. 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. In een studie van Cepheid was de klinische sensitiviteit van de test 100%, 100%, 95,8% en 100% voor SARS-CoV-2, FluA, FluB en RSV², ijn vergelijking met de aparte testen. De specificiteit was 99,5%, 100%, 100% en 100%.

Eisen

De GeneXpert is geverifieerd op het RIVM. De resultaten werden met het hele land gedeeld. RIVM stuurt een proficiency panel rond met 5 monsters. Dit voldoet in principe als verificatie. Wel willen we graag weten hoe de test presteert in vergelijking met de aparte testen. 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. Er wordt zowel op het KLC als MMB getest.



Afdeling Medische Microbiologie

Bepalen meetnauwkeurigheid: Er wordt een paar SARS-CoV-2 positieve klinische monsters opgezocht. Verder worden er monsters uit de Flu/RSV QCMD-rondzending getest. Deze worden zowel op het KCL als MMB getest. De positieve materialen moeten worden bevestigd. Bij discrepanties moeten de materialen worden hergetest met de aparte testen.

Plan van aanpak/ methode

1. Panel van het RIVM testen
2. Opzoeken van klinische materialen (eSwab en sputum) en QCMD-rondzending materialen
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/Flu/RSV cartridges
Proficiency panel (RIVM)

Patiëntenmaterialen (met Ct-waarden E en N2 voor SARS-CoV-2). Sputum worden 1:5 verdund en gebeadbeat
QCMD-rondzending-monsters (Met Ct-waarden A1 en A2 voor FluA, FluB en RSV)

SARS-CoV-2

Sterk positief sputum
20V_618478 (20.3 22.9)

Zwak positief swab
20V_619100 (29.2 31.8)

FluA

Zwak positief QCMD (transport medium)
20V_612596 (30.0 32.0)

FluB

Zwak positief QCMD (transport medium)
20V_612592 (29.5)

RSV

Zwak positief QCMD (transport medium)
20V_618185 (30.8)

Afdeling Medische Microbiologie

Rapportage van resultaten

Resultaten van de RIVM proficiency panel

Het verificatie panel is samengesteld uit verdunningsreeks van geïnactiveerde SARS-CoV-2 stock, levend influenza A virus, influenza B virus of RSV in MEM met Hanks' zouten en 10.000 HEp2 cellen per ml.

Monster	SARS-CoV-2	Flu A1	Flu A2	Flu B	RSV	SPC
RIVM 2,01	42,0	x	x	x	24,0	29,9
RIVM 2,01 KCL	41,4	x	x	x	24,1	30,2
RIVM 2,02	28,4	x	x	22,7	x	29,5
RIVM 2,02 KCL	29,1	x	x	23,2	x	31,4
RIVM 2,03	32,9	x	x	20,4	x	29,5
RIVM 2,03 KCL	32,8	x	x	20,2	x	30,0
RIVM 2,04	x	25,1	27,6	x	23,6	29,5
RIVM 2,04 KCL	x	25,1	27,6	x	23,6	29,9
RIVM 2,05	41,3	22,4	25,7	x	x	30,1
RIVM 2,05 KCL	40,1	22,4	25,7	x	x	29,7

De resultaten op de 2 GeneXpert units komen overeen. 3 van de 4 slots op het KCL zijn gebruikt in deze verificatie.

RIVM zelf test het volgende op de GeneXpert (volgorde monsters aangepast):

Panel codering	SARS-CoV-2 RdRp-gen kopieën/ml ¹	Virus 1	Virus 2	SARS-CoV-2	FLU-A1	FLU-A2	FLU-B	RSV
Ver. Series.2-02	865	SARS-CoV-2	Influenza B-Yamagata	26.2	Neg	Neg	22.5	Neg
Ver. Series.2-03	86.5	SARS-CoV-2	Influenza B-Victoria ²	30.4	Neg	Neg	19.6	Neg
Ver. Series.2-05	8.65	SARS-CoV-2	Influenza A(H3N2) 3C.3a	40.8	22.2	25.5	Neg	Neg
Ver. Series.2-01 ³	1.73	SARS-CoV-2	RSV-A	41.9	Neg	Neg	Neg	23.8
Ver. Series.2-04	geen	Influenza A(H1N1)pdm09	RSV-B	Neg	24.6	27.1	Neg	23.7

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 Stam Influenza B-Victoria 1A deletie 162-163.

³ Voorlopige indicatie: educatief monster voor SARS-CoV-2. Bij herhalingen is een fractie positief. In dit monster kan door vriesdooien het amplificeerbare RNA verder beneden LOD gereduceerd zijn. Na binnenkomst van resultaten van meerdere laboratoria kan een definitieve status toegekend worden.

Wij detecteren alle monsters met vergelijkbare Ct-waarden. Monster nr 1 is een educatief monster.

Afdeling Medische Microbiologie

Resultaten van de patiëntenmaterialen en QCMD monsters

Monster	Materiaal	SARS-CoV-2	Flu A1	Flu A2	Flu B	RSV	SPC
20V_618478	Sputum	22,1	x	x	x	x	34,4
20V_618478 KCL	Sputum	21,6	x	x	x	x	35,9
20V_619100	Swab	32,3	x	x	x	x	29,4
20V_619100 KCL	Swab	32,3	x	x	x	x	29,3
20V_612596	QCMD	x	28,0	30,2	x	x	29,0
20V_612596 KCL	QCMD	x	27,4	29,6	x	x	29,0
20V_612592	QCMD	x	x	x	28,5	x	29,9
20V_612592 KCL	QCMD	x	x	x	28,2	x	29,0
20V_618185	QCMD	x	x	x	x	29,0	30,4
20V_618185 KCL	QCMD	x	x	x	x	28,6	29,4

De resultaten komen allemaal overeen met de verwachtingen. Er is verder weinig verschil in Ct-waarden tussen de units op het MMB en KCL. 3 van de 4 slots op het KCL zijn gebruikt in deze verificatie.

Evaluatie resultaten en vervolgstappen

- 1) Wij scoren alle RIVM-monsters monsters goed.
- 2) De patiëntenmaterialen en de QCMD-monsters worden gedetecteerd zoals verwacht

Conclusie

De test voldoet aan de eisen.

Referenties

- 1) Cepheid-Xpert-SARS-CoV-2-Flu-RSV-Datasheet
- 2) Package insert Xpert® Xpress SARS-CoV-2/Flu/RSV

Bijlagen

Onderdeel	Datum	5.1.2e	5.1.2e
Validatie/ verificatieplan	13-1-21	5.1.2e	
Akkoord verificatie:			

Addendum 1: verificatie UTM-medium voor SARS-CoV-2/FluA/FluB/RSV PCR op de GeneXpert

Doel:

Sinds februari 2021 wordt er Covid- (en Flu/RSV) diagnostiek uitgevoerd op de GeneXpert met de Xpert Xpress SARS-CoV-2/Flu/RSV test. De test is door ons geverifieerd op eSwabs en sputa. Het doel van dit addendum is om de test te verifiëren op UTM-medium.

Plan en eisen:

Het Gly-medium die we gebruiken het testen van GGD-monsters blijkt niet meer leverbaar. De buizen zijn nu gevuld met 3 ml UTM-medium, te bestellen via het Landelijk Consortium Hulpmiddelen. Deze gebruiken we in principe in de Panther. Het is wel goed om te weten of dit medium ook geschikt is voor de GeneXpert. Dit medium wordt getest door een hoog positief monster 1:100 en 1:1000 te verdunnen in medium, en testen. Ook medium zonder patiënten materiaal wordt getest. Het volgende monster wordt getest:

21V_611298, Ct-waarde 20,8 in de GeneXpert

Resultaten (Ct-waarden GeneXpert):

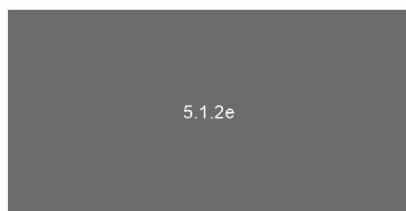
COVID uit UTM medium

Monsternummer	Verdunning	Ct-waarde, theoretisch	Ct-waarde	SPC	Ineterpretatie
21V_611298	1:100	27,3	25,8	30,8	Positief
21V_611298	1:1000	30,6	28,8	30,4	Positief
UTM	nvt	nvt	0	30,3	Negatief

Allebei de verdunningen werden gedetecteerd. De FluA, FluB en RSV PCRs waren negatief. De blanco was negatief. Er was geen remming.

Conclusie:

Het UTM-medium kan gebruikt worden op de GeneXpert.



16-3-21

16-3-21