

PROJECT INFORMATIE (DRAFT 2020-03-04)**Primaire validatie van Coronavirus SARS-CoV-2 qPCR (COVID-19)****Doel**

DDL Diagnostic Laboratory een gespecialiseerd laboratorium in het opzetten en uitvoeren van moleculaire diagnostiek (>80fte) en Eurofins NMDL-LCPL een laboratorium gespecialiseerd in patiënten diagnostiek waaronder bevolkingsonderzoek baarmoederhalskanker (>140.000 molecuair testen per jaar) en een nationaal koeriersnetwerk hebben gezamenlijk een zeer grote capaciteit in het uitvoeren van moleculaire diagnostiek. Samen met Alrijne Zorggroep afdeling medische microbiologie is al jaren een nauwe samenwerking waarbij gezamenlijk patiënten diagnostiek wordt opgezet en uitgevoerd.

Doel is om op zeer korte termijn een de COVID19 PCR op te zetten en een basis validatie uit te voeren volgens RIVM/NVMM specificaties zoals beschreven in beleidsdocument



Beleid diagnostiek
SARS-CoV-2_020320

Beide laboratoria hebben een zeer breed instrumentatie (meerdere leveranciers) en automatiseringsplatformen waardoor opschaling mogelijk is en afhankelijkheid van leveranciers een betere garantie geeft voor continuïteit van dienstverlening mogelijk maakt.

Contact personen**Eurofins NMDL-LCPL**

(10)(2e), (10)(2e) @ddl.nl, (10)(2e)
(10)(2e), (10)(2e) @nmdl-lcpl.nl, (10)(2e)

Alrijne MM

(10)(2e), (10)(2e) @alrijne.nl, (10)(2e)

DDL Diagnostic Laboratory

(10)(2e), (10)(2e) @ddl.nl, (10)(2e)
(10)(2e)

Test opzet**PCR Primers en probes**

- Identiek aan voorgeschreven sequenties van RIVM/NVMM volgens publikatie:

-



eurosurv-25-3-5.pdf

-
- Leverancier: Integrated DNA technologies (IDT)

- Onafhankelijk leverancier met minimale kans op productie en leverings problemen
- Besteld op 05-03-2020

Nucleic Acid extraction

- Keuze om niet de beschikbare Roche systemen (MPLC en MP96) te gebruiken vanwege mogelijke leveringsproblemen consumables.
- Geautomatiseerd extractiesysteem gevalideerd voor respiratoire virale infecties de KingFisher Flex (96 samples per run) met de MagMAX™ CORE Nucleic Acid Purification Kit is beschikbaar
- Veel ervaring binnen ons lab met deze methode in respiratoire samples voor Influenza en RSV.
- Leverancier VWR-Fisher Scientific. Voorraad Consumables intern reeds aanwezig en voorraad bij leverancier wordt onderzocht

PCR

- Enzym keuze gelijk aan oorspronkelijke publicatie: Single step RT-qPCR met enzym mix: SuperScript™ III One-Step RT-PCR System with Platinum™ Taq DNA Polymerase invitrogen™
- Leverancier VWR-Fisher Scientific. Voorraad intern reeds aanwezig en voorraad bij leverancier wordt onderzocht

PCR Instrument

- LC480 Roche beschikbaar bij DDL en NMDL). Grote voorraad consumables intern aanwezig, mmaar ook andere systemen beschikbaar als consumables Roche niet leverbaar zouden worden in toekomst

Overige benodigdheden:

materialen voor opzet assay:

DDL: Controle RNA IVT maken

RIVM controle set aanleveren

Positieve patiënt materialen opvragen bij collega labs

Tijdslijn

Doorlooptijd assay opzet en primaire validatie: 10 werkdagen

Korte beschrijving

De volgende activiteiten worden uitgevoerd:

1. Validation:
 - a. Ingangvalidatie primers, probes en controle materialen
 - b. Specificiteit:
 - i. COVID-19 positive sample, other coronavirus strains, Influenza A (H1, H3), influenza B (2 strains), RSV-A, RSV-B (*wordt verder gespecificeerd in volgende versie*)
 - ii. Bevestiging door NGS sequencing van amplimeren
 - c. Sensitiviteit: triplicate testing in three runs (n=9) (*wordt verder gespecificeerd in volgende versie*)
 - d. Analyse klinische materialen: (*wordt verder gespecificeerd in volgende versie*)

- i. 12 COVID-19 positieve klinische samples
- ii. Bevestiging door NGS sequencing van amplimeren