



Universiteit van Amsterdam
Vrije Universiteit
Centrum voor Infectieziektenonderzoek,
Diagnostiek en laboratorium Surveillance (IDS)
WHO referentielaboratorium voor COVID-19



Bijpraatsessie Testen

5.1.2e

5.1.2e

5.1.2e

Centrum voor Infectieziektenonderzoek,
Diagnostiek en laboratorium Surveillance (IDS)
WHO referentielaboratorium voor COVID-19

Bijpraatsessie Testen



Uitsluitend voor gebruik op het
terrein
van de Universiteit van Amsterdam
Wijk 10, 1018 CA Amsterdam



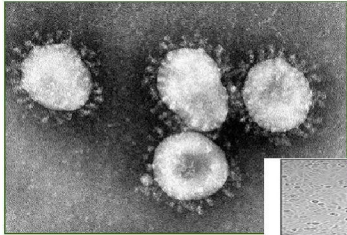
Inhoud

1. Wat bepaalt welke test
 1. Achtergronden
 2. Materialen
 3. RNA detectie testen
 4. Antigeen detectie testen
 5. Ademtest
2. Specificiteit en sensitiviteit
3. Kwaliteitscontrole

Bijpraatsessie Testen

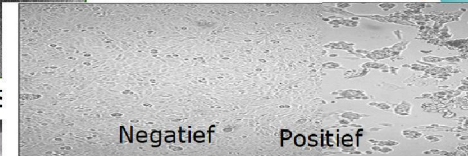


Virus, patiënt, testen



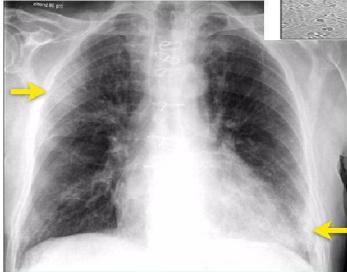
Zichtbare detectie virusdeeltje

Kweek van virus



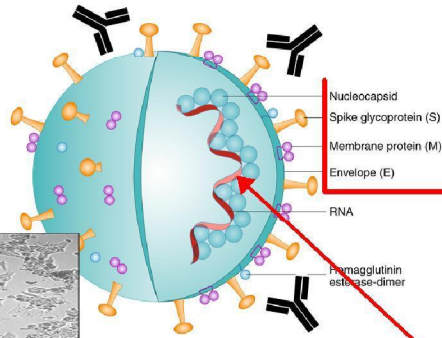
Negatief

Positief



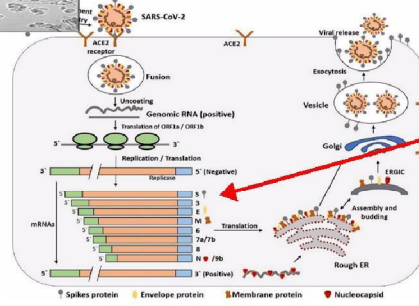
Detectie vluchtige organische stoffen in adem

Röntgenfoto long COVID-19 patiënt



Detectie eiwit componenten (antigeen)

Detectie antistoffen - reactie van lichaam

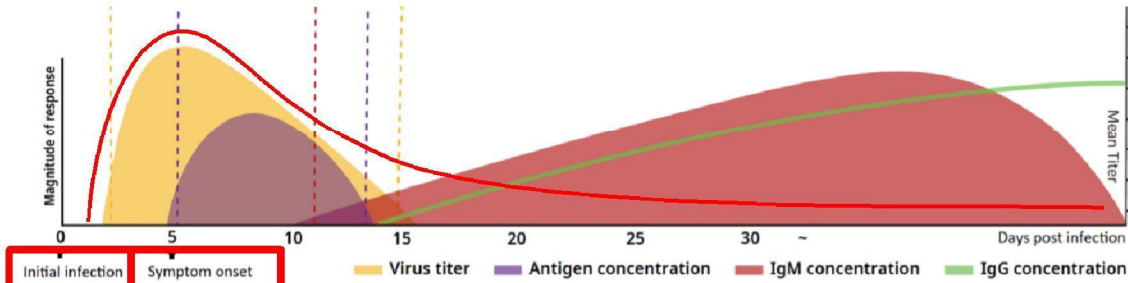


Detectie erfelijk materiaal van virus

Geïnficeerde menselijke cel



Toepassing testen in ziektegeschiedenis



BCO
Corona-app

Directe
detectie:

- RNA detectie
- Ag detectie
- Virus isolatie
- EM

➔ Diagnose acute SARS-CoV-2 infectie, key voor test&trace

Indirecte
detectie:

- Röntgen
- E-nose

Indirecte diagnose: Serologie

➔ Ondersteunt diagnose en test&trace
Research en monitoring



Diagnostiek versus screening

Diagnostiek **Klinisch: behandeling individuele patiënt**

- Bepalen oorzaak van ziekte
- Informeren voor behandeling en infectie preventie maatregelen
- Huisarts, ziekenhuis, verpleeghuis
- Medisch microbiologisch (ziekenhuis) laboratoria



Screening **Volksgezondheid: uitbraak controle**

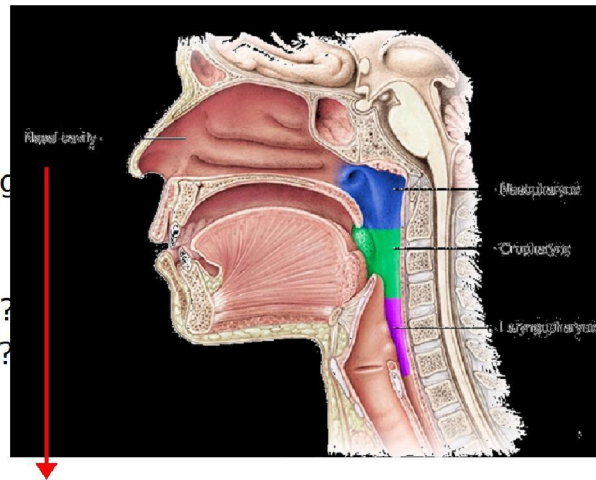
- (Vroege) Identificatie geïnfecteerde personen
- Essentieel voor test&trace & isolatie beleid
- GGD (XL) teststraten
- Microbiologie labs, pandemie labs, Europa labs, commerciële labs





Materialen voor detectie virus

- Voor RNA detectie
- Voor antigeen (Ag) detectie
- Materialen om te testen:
 - Neus- en keelwattenstok RNA & Ag
 - > Neus alleen
 - > Keel alleen
 - Gorgel/mondspoeling test RNA; Ag?
 - Speeksel RNA; Ag?
 - > 'Kwijlen'
 - > Sabbelwat
 - Feces RNA



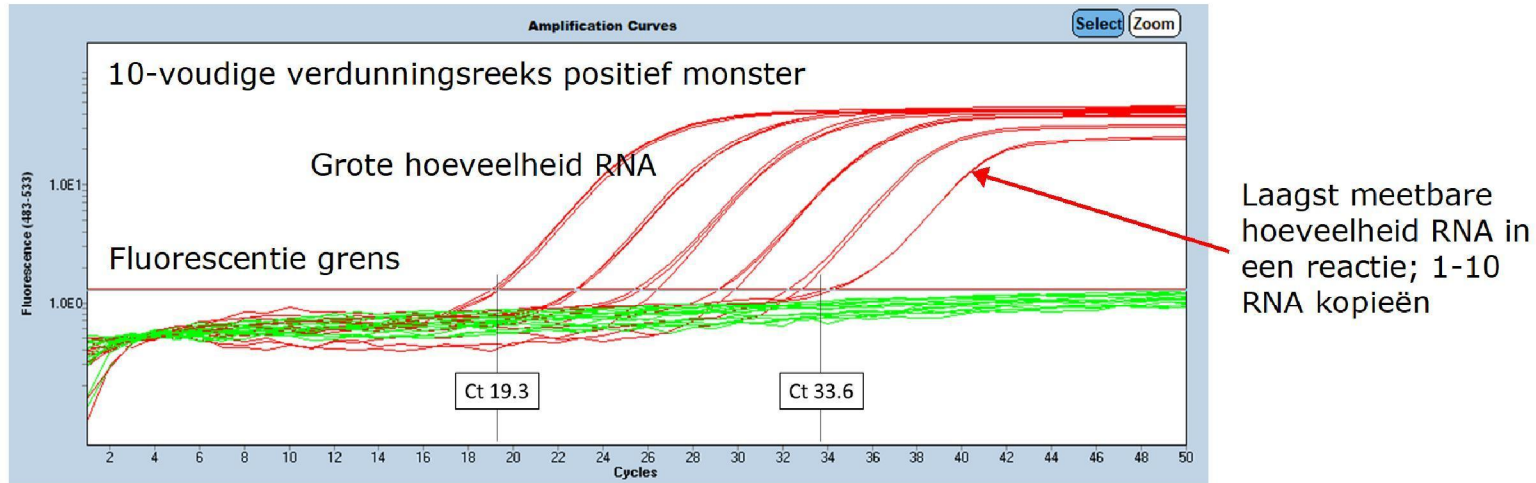


RNA detectie testen

- Nucleic Acid Amplification Test (NAAT)
 - PCR Polymerase Chain Reaction > moet RNA omzetten in DNA; wel Ct waarde; semi kwantitatief
 - TMA Transcription-Mediated Amplification > direct op virus RNA; geen Ct waarde
 - LAMP Loop-Mediated isothermal AMPLification > moet RNA omzetten in DNA; geen Ct waarde
- Gemeenschappelijk: exponentiële vermenigvuldiging aantal kopieën virus RNA
 - Elke nieuw gemaakte kopie is bron voor nieuwe kopie
- Bij PCR moet door temperatuurverhoging de bron en kopie van elkaar gehaald worden, waarna bij lagere temperatuur weer een nieuwe kopie wordt gemaakt; cycli
- Bij TMA en LAMP worden enzymen gebruikt die de vermenigvuldiging bij één temperatuur mogelijk maken; hiervoor is speciaal ontwerp van primers en probes nodig



Vermenigvuldiging in beeld

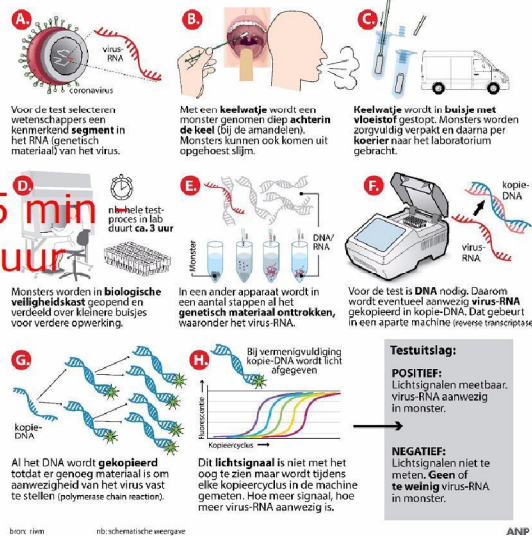


Ct = cycle threshold waarbij vermenigvuldiging signaal de fluorescentie grens kruist



PCR en TMA versus LAMP

Hoe werkt een coronavirustest?



Afname materiaal

Transport materiaal naar lab **X**

Registratie

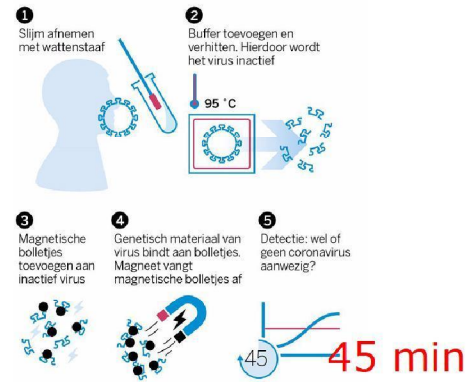
Uit materiaal virus RNA halen

Vermenigvuldigen virus RNA

Resultaat interpreteren en doorgeven

IN 45 MINUTEN VAN TEST NAAR RESULTAAT

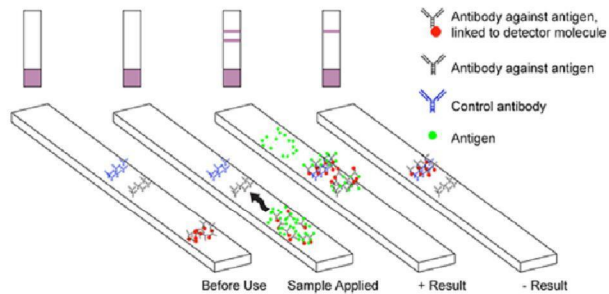
Nieuwe testmethode analyseert op locatie. Zo werkt het



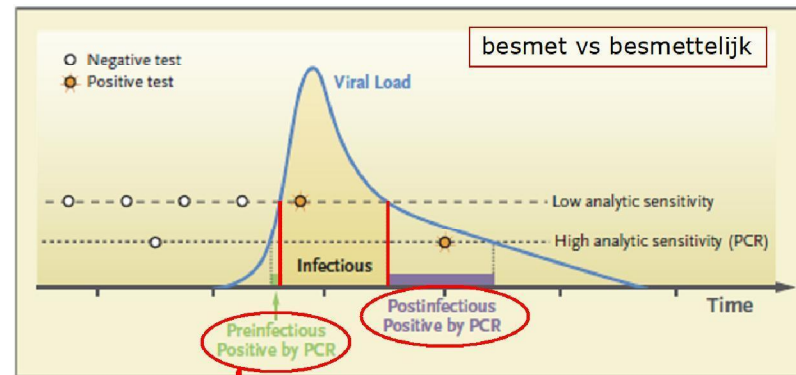


Antigeen sneltest

- Directe detectie antigenen (eiwitten) in neus-/keelmonster
- Maakt gebruik van de binding van virus eiwitten aan antilichamen
- Uitslag met 15 minuten
- Minder gevoelig dan NAAT



Adapted from: Ian M. Campell, https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Diagnostic_Medical_Dipstick.png



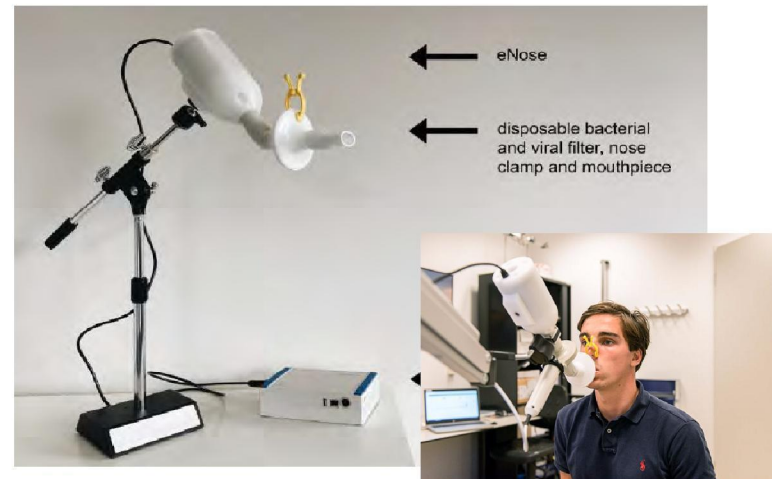
Niet te onderscheiden zonder extra gegevens zoals symptomen, extra test serologie

Testen personen zonder symptomen:
Kennis over hoog risico blootstelling (BCO, corona app), anders 'black box'



Ademtest (elektronische neus)

- Meet vluchtige organische componenten (VOCs) – koolwaterstoffen in uitgeademde lucht
- VOCs worden door iedereen gemaakt als gevolg van het natuurlijke doodgaan van cellen
- Ziekteprocessen veranderen patronen op een ziekte-specifieke wijze
- Herkent patronen die COVID-19 patiënt onderscheid van niet-COVID-19 patiënt
- Meest geschikt om niet-COVID-19 patiënten te herkennen omdat negatief voorspellende waarde hoog is en positief voorspellende waarde te laag





Sensitiviteit en specificiteit

- Technisch
 - Sensitiviteit: welke laagste hoeveelheid virus kan de test detecteren
 - Specificiteit: detecteert de test alleen het bedoelde virus
- Klinisch is de betrouwbaarheid van de test afhankelijk van veel factoren
 - Technisch sensitiviteit en specificiteit
 - Afnamemoment materiaal
 - Kwaliteit en type materiaal
 - Met symptomen of zonder symptomen
 - Blootstelling aan corona patiënt
 - Voorkomen van COVID-19 in de bevolking; prevalentie



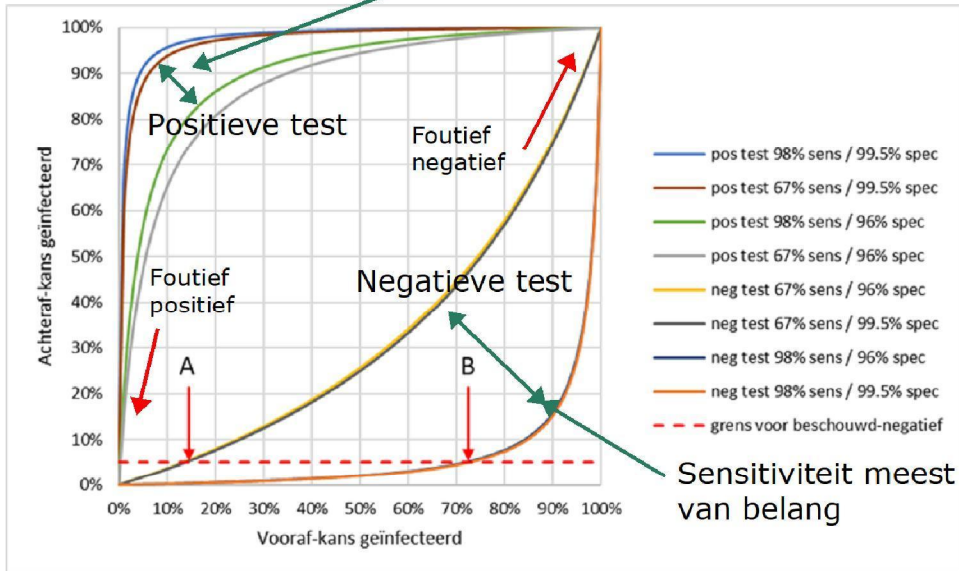
Klinisch

- **Sensitiviteit:** geeft de waarschijnlijkheid aan dat de test positief is als de geteste persoon COVID-19 heeft (% correct positief). Hier kan fout-negatief voorkomen.
- **Specificiteit:** geeft de waarschijnlijkheid aan dat de test negatief is als de geteste persoon geen COVID-19 heeft (% correct negatief). Hier kan fout positief voorkomen.
- **Positief voorspellende waarde (PPV):** geeft de waarschijnlijkheid aan dat de geteste persoon COVID-19 heeft als de test positief is.
- **Negatief voorspellende waarde (NPV):** geeft de waarschijnlijkheid aan dat de geteste persoon geen COVID-19 heeft als de test negatief is.



Samenhang

Specificiteit meest van belang



Lage vooraf-kans geïnfecteerd:

- Grote kans dat positief resultaat foutief-positief is
- Lage kans dat negatief resultaat foutief-negatief is

Hoge vooraf-kans geïnfecteerd:

- Lage kans dat positief resultaat foutief-positief is
- Grote kans dat negatief resultaat foutief-negatief is



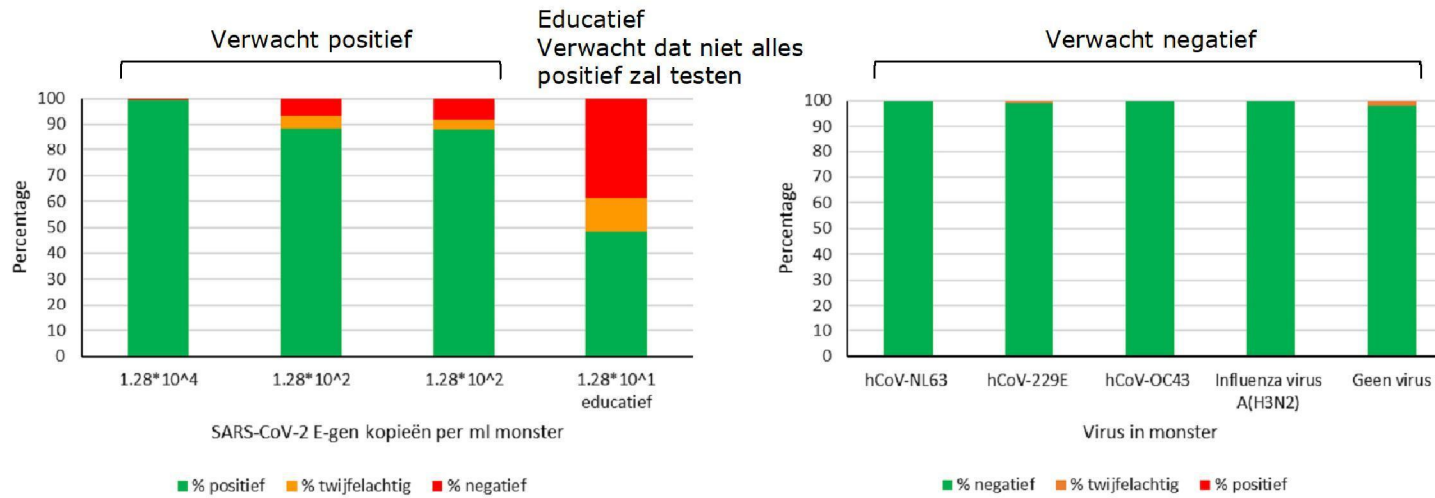
Kwaliteitscontrole middels rondzending

- Netwerk van over de 70 COVID-19 diagnostische labs; verplicht om mee te doen
- 3 rondes, november 2020, februari 2021, april/mei 2021
- 70 labs ontvingen panel in november 2020, 65 rapporteerden resultaten
- Resultaten van 164 manieren van werken (workflows) zijn gerapporteerd
- Mogelijke conclusies per monster: positief, negatief, twijfelachtig, niet getest
- Monsters bevatten verschillende hoeveelheden 'dood' SARS-CoV-2, andere luchtwegvirussen of geen virus.

- Scoring voor 8 'core' monsters waarvoor correct resultaat wordt verwacht:
 - 1 punt voor correct resultaat monster
 - 1 punt aftrek voor incorrect positief of negatief
 - 0,5 punt aftrek voor twijfelachtig resultaat



Resultaten voor 164 'workflows' bij 65 labs

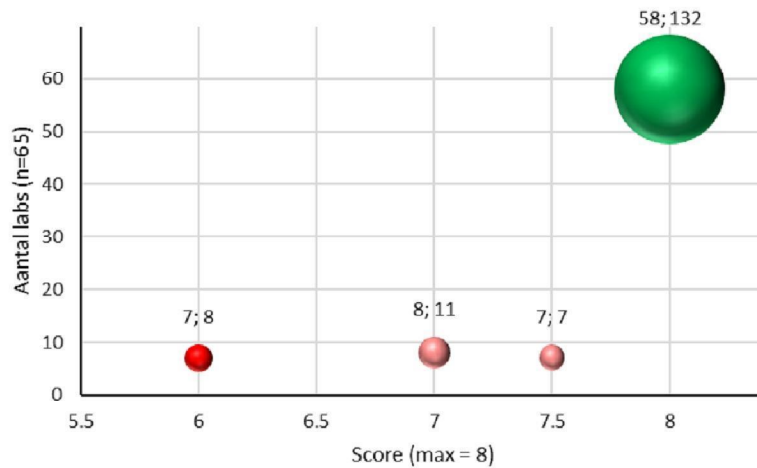


Met SARS-CoV-2; Technische sensitiviteit

Zonder SARS-CoV-2; Technische specificiteit



De 65 laboratoria doen het goed



65 laboratoria
158 workflows alle 8 core monsters getest

58 labs (89,2%) gebruiken methoden met maximale score

5 labs (7,7%) gebruiken methoden met maximaal een acceptabel resultaat; score 7 of 7,5

2 labs (3,1%) gebruiken methoden waarbij maximaal hoogste concentratie in panel gevonden wordt; score 6



Dank voor uw aandacht