



National Institute for Public Health
and the Environment
Rijksinstituut voor Volksgezondheid
en Milieu (RIVM)

Moleculaire diagnostiek COVID-19

(10)(2e)

(10)(2e)

webinar GGD | 11-05-2020



Sensitiviteit en specificiteit SARS-CoV-2 PCR

- Analytisch
 - Welke minimale hoeveelheid viraal RNA kan een PCR detecteren
 - Hoe effectief is de extractie van RNA uit klinisch material (concentratie factor)
 - Worden geen andere pathogenen dan bedoeld met de PCR gedetecteerd
 - Design PCR voor SARS-CoV-2 detectie
- Klinisch
 - Wordt elke patiënt geïnfecteerd met SARS-CoV-2 infectie gedetecteerd
 - Wordt elke patiënt met COVID-19 gedetecteerd
 - Is een patiënt met een positieve PCR geïnfecteerd met SARS-CoV-2
 - Heeft een patient met een positieve PCR COVID-19
 - Type monster
 - Tijdstip monsterafname tov eerste ziekte dag
 - Juiste monsterafname



Monstertypen voor SARS-CoV-2 detectie; PCR

SARS-CoV-2 is primair een respiratoir virus

Nasofarynxwat/midturbinat

Orofarynx

Sputum/BAL

Speeksel

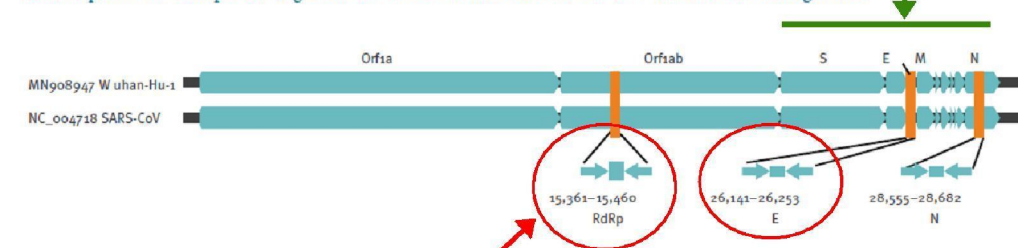
Feces

Bloed

Urine

FIGURE 1

Relative positions of amplicon targets on the SARS coronavirus and the 2019 novel coronavirus genome



E: envelope protein gene; M: membrane protein gene; N: nucleocapsid protein gene; ORF: open reading frame; RdRp: RNA-dependent RNA polymerase gene; S: spike protein gene.

Numbers below amplicons are genome positions according to SARS-CoV, GenBank NC_004718.

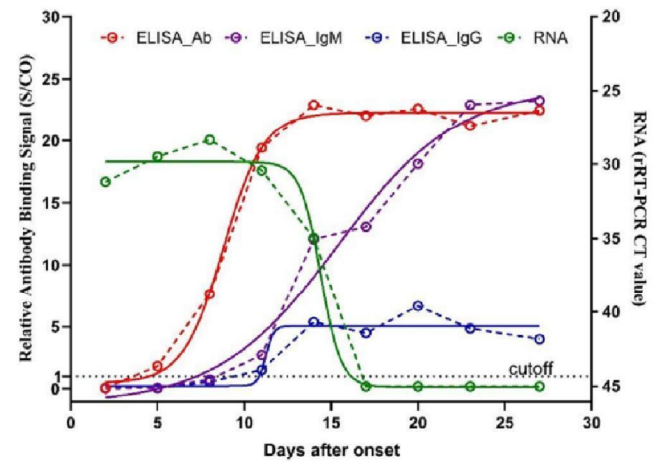
Two probes
Sarbeco specific
SARS-CoV-2 specific

One probe
Sarbeco specific

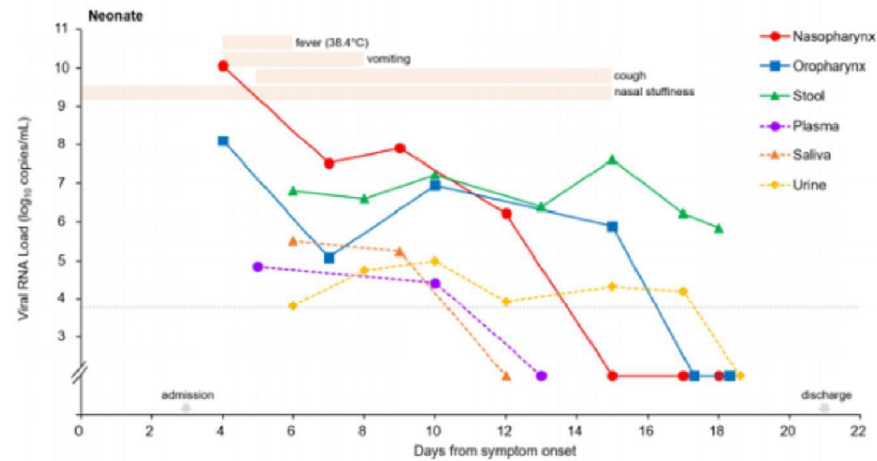
Corman et al. 2020



Kinetiek SARS-CoV-2 detectie in diverse monsterstypen



Lou et al. medRxiv

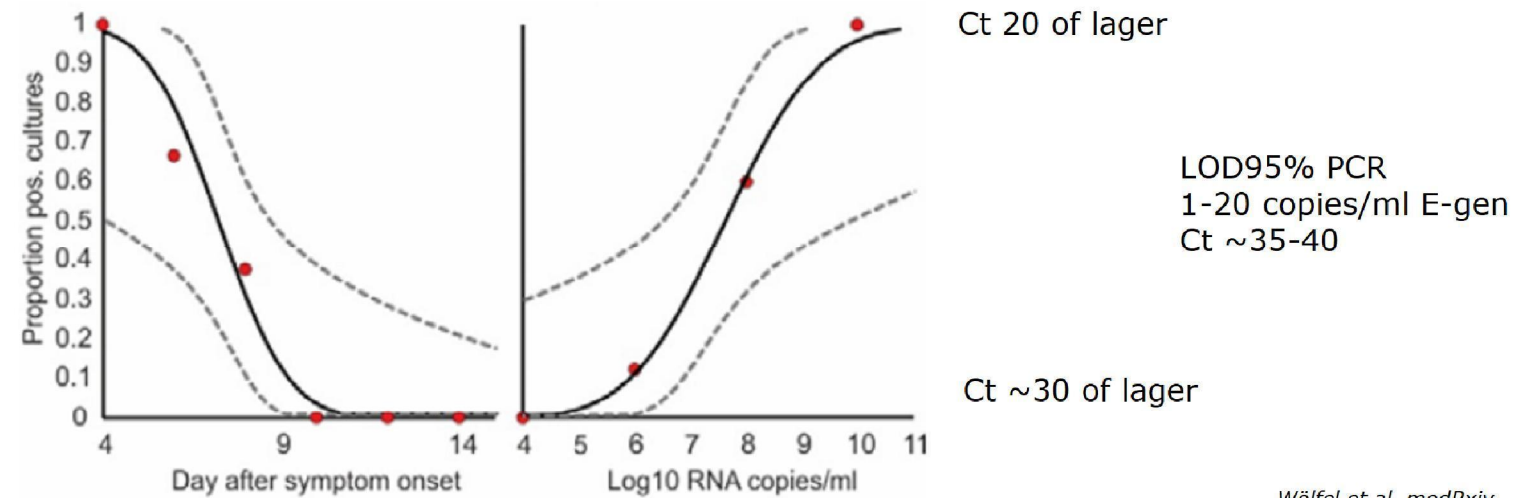


Mi Seon et al. CID



Relatie PCR positiviteit met besmettelijkheid

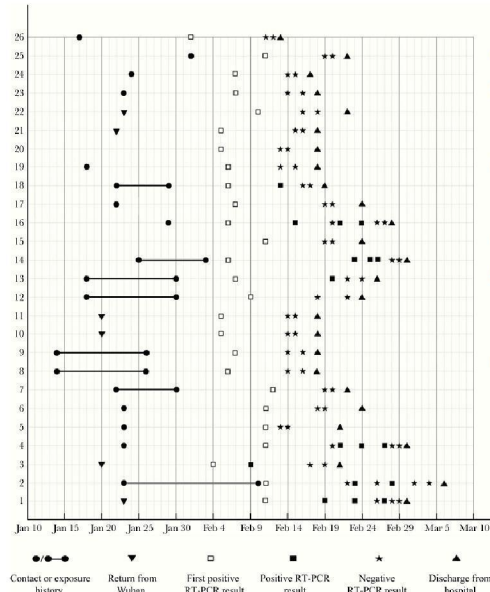
- Aanname – kweekbaarheid virus indicatie voor besmettelijkheid



Wölfel et al. medRxiv

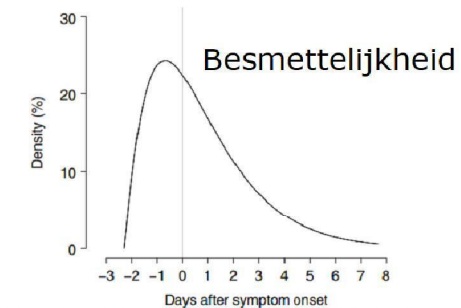
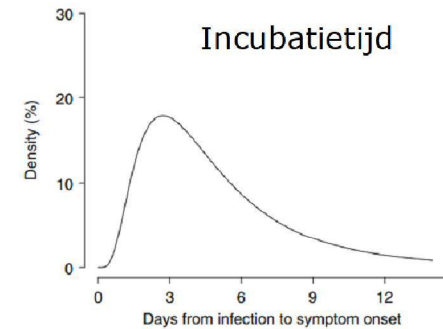


Asymptomatische gevallen



- 26 asymptomatische gevallen
- Gevonden bij contactonderzoek
- Persistent asymptomatisch tot PCR negatief en ontslag
- 10 wel typische CT
- 2 betrokken bij transmissie

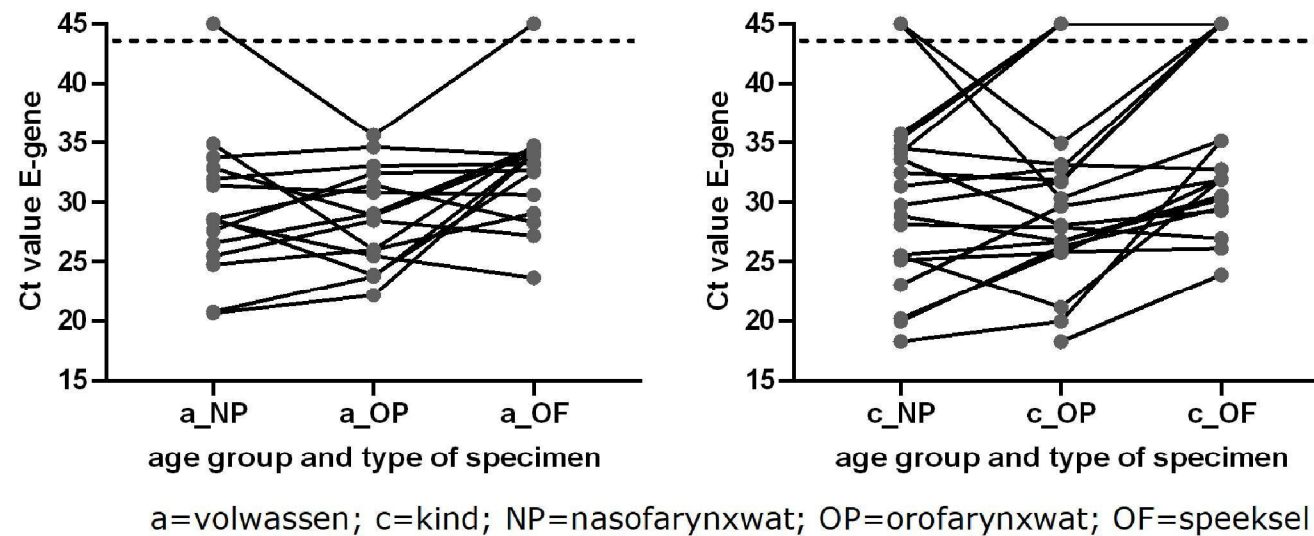
Pan et al. J Infect Dis, jiaa205



He et al. Nature Medicine 26;May 2020: 672–675



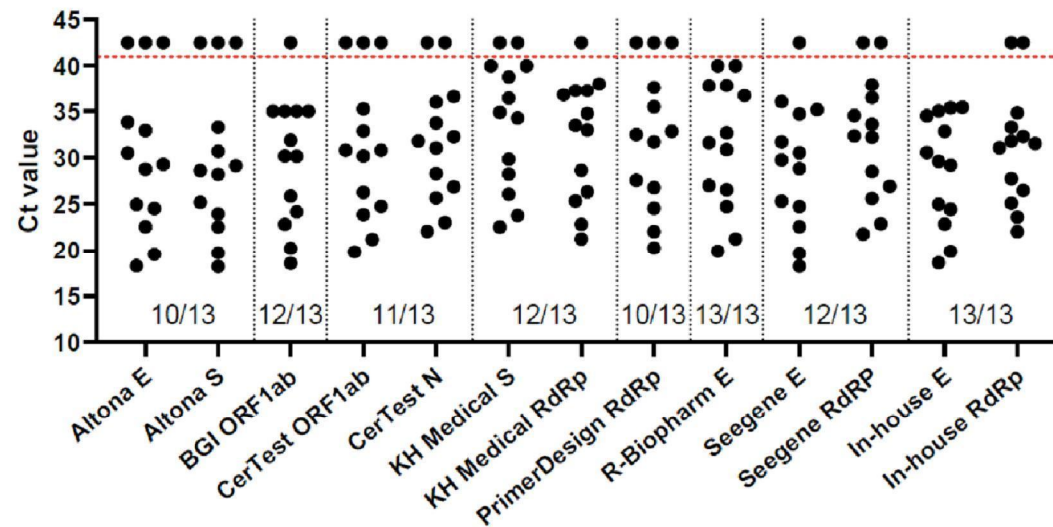
Speeksel alternatief? FFX studie





Real-time RT-PCR kits – clinical specimens

Clinical sample RT-PCR (all SARS-CoV-2 samples, n=13)

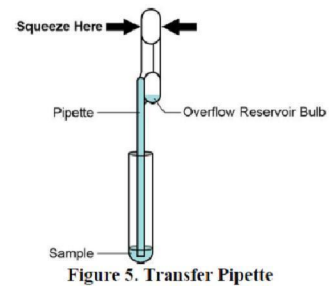


1 target only and Ct > 35
= weak positive?

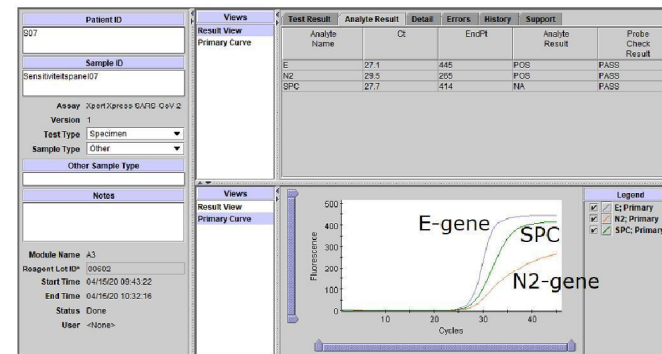
At RIVM approx. 3.6% of
specimens tested for
primary diagnosis have Ct
>34.5, the point where
kits are starting to fall off



Cepheid, Xpert® Xpress SARS-CoV-2



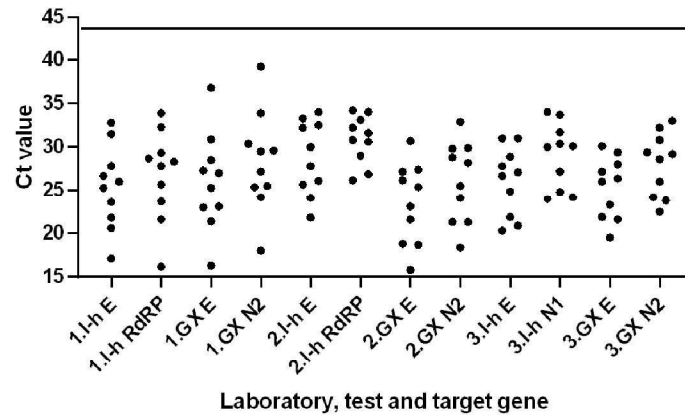
- 300 µl VTM in cartridge
- 600 µl aspirate in 3 ml VTM; 300 µl in cartridge
- Insert cartridge and start machine
- ~45 min later read results



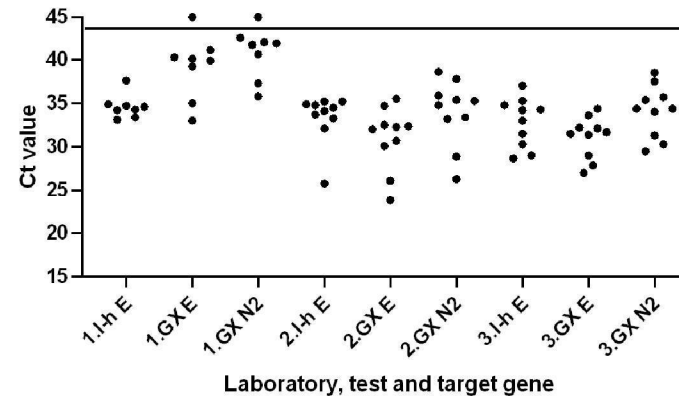


Cepheid, Xpert® Xpress SARS-CoV-2 – clinical specimens

Moderate to high viral load (n=30)
Positive for 2 targets

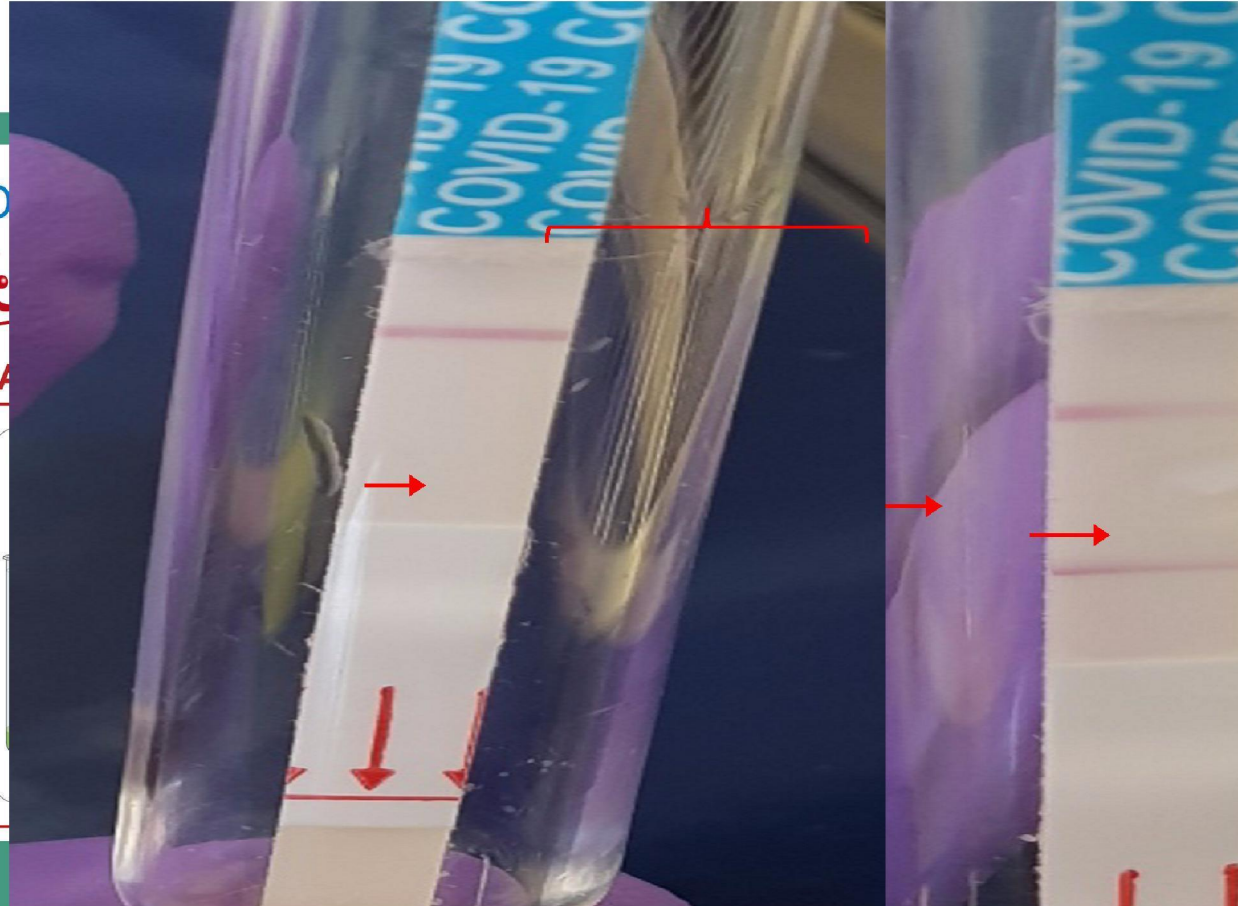
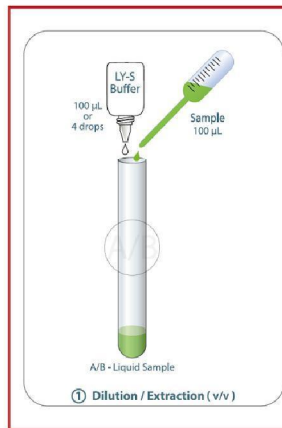


Low viral load (n=28)
Positive for E-gene only



CORIS Ag PO

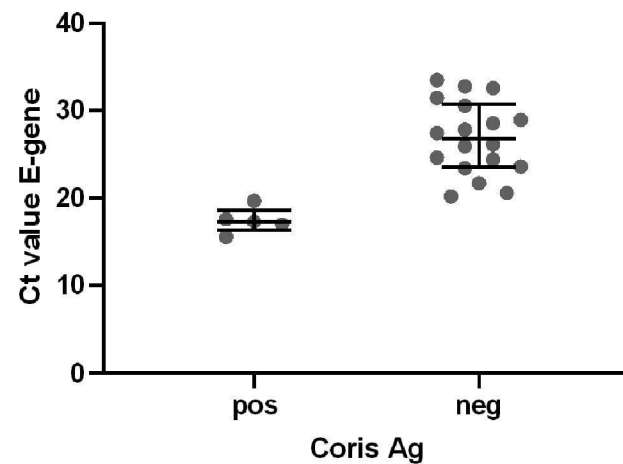
COVID-19 A





CORIS Ag POCT

Clinical specimens nose/throat combined



- LOD with SARS-CoV-2 $\sim 2 \times 10^4$ TCID₅₀ and a Ct ~ 23 (E-gene PCR).
- Sensitivity not influenced by GLY or other VTM.
- Did not detect other common respiratory viruses.
- Clinical specimens dropped off at about Ct 20 (E-gene PCR).
- Applying this test during routine testing in the SARS-CoV-2 outbreak in the Netherlands would result in false negative incidence rate of 57-75%.