



viruswaarheid
liefde & eenheid
#PCR-GATE

THE VERDICT

The claim that 80 per cent of positive COVID-19 PCR tests are false positives has no basis in fact. Virology experts have said the number is much smaller and in Australia probably close to zero.

The claim that governments are using false positives to impose more lockdowns and emergency measures is also baseless. Australian guidelines include a number of recommendations to avoid any false positive test results being wrongly treated as COVID-19 cases, including follow-up tests and clinical diagnoses.

False – Content that has no basis in fact.

AAP FactCheck is an accredited member of the [International Fact-Checking Network](#). To keep up with our latest fact checks, follow us on [Facebook](#) and [Twitter](#).

Your Coronavirus Test Is Positive. Maybe It Shouldn't Be.

“It would be useful information to know if somebody’s positive, whether they have a high viral load or a low viral load,” she added.

Officials at the Wadsworth Center, New York’s state lab, have access to C.T. values from tests they have processed, and analyzed their numbers at The Times’s request. In July, the lab identified 872 positive tests, based on a threshold of 40 cycles.

With a cutoff of 35, about 43 percent of those tests would no longer qualify as positive. About 63 percent would no longer be judged positive if the cycles were limited to 30.

In Massachusetts, from 85 to 90 percent of people who tested positive in July with a cycle threshold of 40 would have been deemed negative if the threshold were 30 cycles, Dr. Mina said. “I would say that none of those people should be contact-traced, not one,” he said.

ECLI:NL:RBDHA:2020:12449 – 9 dec 2020

4.9. De voorzieningenrechter stelt vast dat tussen partijen niet in geschil is dat de diagnose Covid-19 gesteld moet worden door een arts. Daar gaat ook de Staat van uit. De PCR-test kan bij het stellen van die diagnose ondersteunend zijn. Anders dan Viruswaarheid c.s. menen wordt de PCR-test in het testbeleid van de Staat niet in strijd met dit uitgangspunt gebruikt. De PCR-test wordt slechts gebruikt om aanwezigheid van het coronavirus te op te sporen, precies waarvoor de test ook volgens de fabrikanten is bedoeld. De vraag of de klachten die een geteste persoon heeft – tot nu toe is uitgangspunt dat uitsluitend mensen met klachten zich laten testen – daadwerkelijk door het coronavirus worden veroorzaakt, wordt door alleen de test niet zonder meer beantwoord, daarvoor is diagnosestelling door een arts vereist. Het testbeleid gaat van niets anders uit. Dit wordt niet anders door de omstandigheid dat het RIVM in de communicatie over de aantallen positieve tests niet volledig zorgvuldig is. Zoals Viruswaarheid c.s. terecht stellen wordt op de website van het RIVM, op de pagina met actuele informatie over het nieuwe coronavirus bij de weergave van het aantal Covid-19 meldingen per gemeenten gesproken over “COVID-19 patiënten”. De cijfers die hier worden weergegeven zijn klaarblijkelijk slechts gebaseerd op positieve testuitslagen, terwijl het gebruik van het woord “patiënt” de suggestie wekt dat er bij de betrokkenen diagnoses zijn gesteld. Het gebruik van deze op zijn minst ongelukkige aanduiding (“patiënten”) betekent niet dat de tests momenteel in strijd met de voorschriften van de fabrikanten worden gebruikt. De voorzieningenrechter wijst er hierbij volledigheidshalve op dat het gebruik van de aanduiding “patiënten” voor positief geteste personen een uitzondering is en dat in de overheidscommunicatie in het algemeen wordt gesproken over positieve testuitslagen.

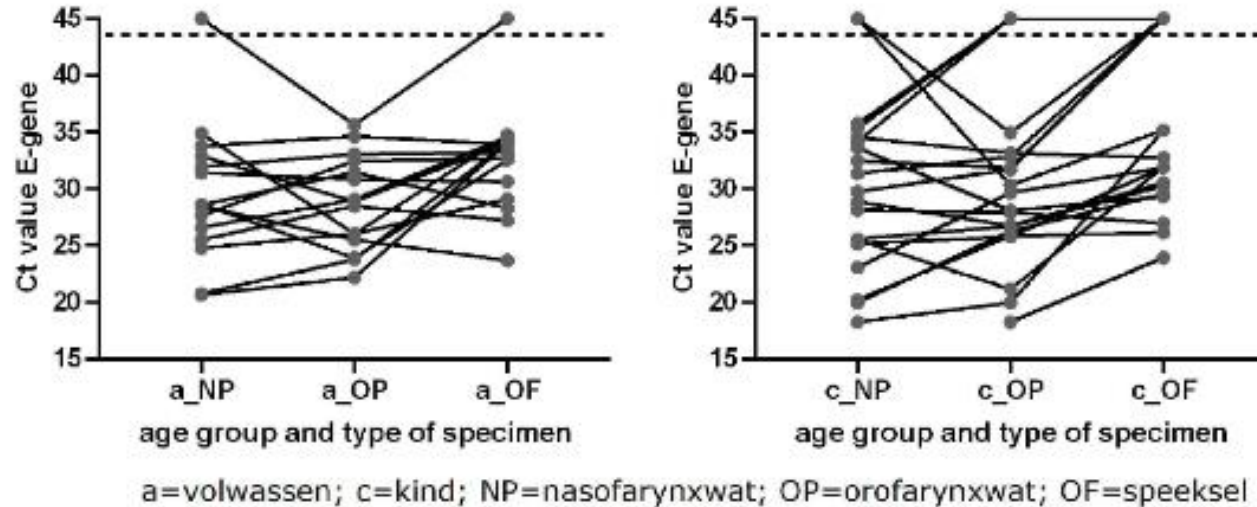
analytisch vs klinisch

- Methode van monstername
- Sample prep
- Scheidingsmethoden (specificiteit)
- Detectiemethoden (sensitiviteit - LOD)
- De ziekte als zodanig vaststellen
- Bepalen in welke staat de ziekte is
- Uitsluiten van andere ziekten
- Effectiviteit & bijwerkingen van een medicijn vaststellen.

Methode van monstername



Speeksel alternatief? FFX studie

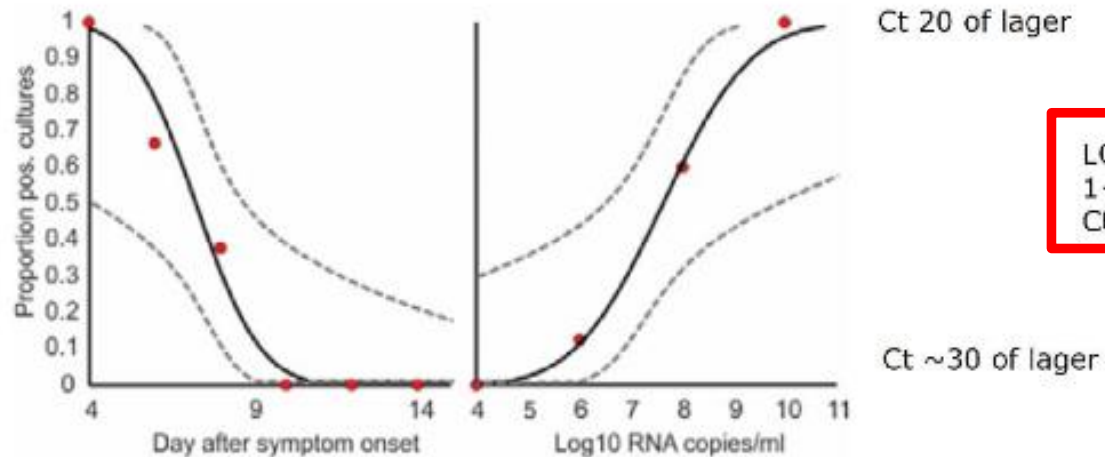


Bepalen in welke staat de ziekte is



Relatie PCR positiviteit met besmettelijkheid

- Aanname - **kweekbaarheid virus indicatie voor besmettelijkheid**



Wölfel et al. medRxiv

Case definitions for surveillance

The case definitions are based on the current information available and will be revised as new information accumulates. Countries may need to adapt case definitions depending on their own epidemiological situation.

Suspect case

A. A patient with acute respiratory illness (fever and at least one sign/symptom of respiratory disease (e.g., cough, shortness of breath), **AND** with no other aetiology that fully explains the clinical presentation **AND** a history of travel to or residence in a country/area or territory reporting local transmission (See situation report), of COVID-19 disease during the 14 days prior to symptom onset.

OR

B. A patient with any acute respiratory illness **AND** having been in contact with a confirmed or probable COVID-19 case (see definition of contact) in the last 14 days prior to onset of symptoms;

OR

C. A patient with severe acute respiratory infection (fever and at least one sign/symptom of respiratory disease (e.g., cough, shortness breath) **AND** requiring hospitalization **AND** with no other aetiology that fully explains the clinical presentation.

-1-

Surveillance for human infection with a novel coronavirus: Revised Guidance

Probable case

A suspect case for whom testing for COVID-19 is inconclusive¹.

Confirmed case

A person with laboratory confirmation of COVID-19 infection, irrespective of clinical signs and symptoms.

Link for lab page: <https://www.who.int/emergencies/diseases/novel-coronavirus-2019/technical-guidance/laboratory-guidance>

Suspected case of SARS-CoV-2 infection

A A person who meets the clinical **AND** epidemiological criteria:

Clinical Criteria:

- Acute onset of fever **AND** cough; OR
- Acute onset of **ANY THREE OR MORE** of the following signs or symptoms: Fever, cough, general weakness/fatigue¹, headache, myalgia, sore throat, coryza, dyspnoea, anorexia/nausea/vomiting¹, diarrhoea, altered mental status.

AND

Epidemiological Criteria:

- Residing or working in an area with **high risk of transmission of virus**: closed residential settings, humanitarian settings such as camp and camp-like settings for displaced persons; anytime within the 14 days prior to symptom onset; or
- Residing or travel to an area with **community transmission** anytime within the 14 days prior to symptom onset; or
- Working in **any health care setting**, including within health facilities or within the community; any time within the 14 days prior of symptom onset.

B A patient with **severe acute respiratory illness**: (SARI: acute respiratory infection with history of fever or measured fever of ≥ 38 C°; and cough; with onset within the last 10 days; and requires hospitalization).

C Asymptomatic person not meeting epidemiologic criteria with a **positive SARS-CoV-2 Antigen-RDT**²

¹ Signs separated with slash (/) are to be counted as one sign.

² NAAT is required for confirmation, see [Diagnostic testing for SARS-CoV-2](#)

See [Antigen detection in the diagnosis of SARS-CoV-2 infection using rapid immunoassays](#)

Note: Clinical and public health judgment should be used to determine the need for further investigation in patients who do not strictly meet the clinical or epidemiological criteria. Surveillance case definitions should not be used as the sole basis for guiding clinical management.

Probable case of SARS-CoV-2 infection

A A patient who meets **clinical criteria** above **AND** is a **contact of a probable or confirmed case**, or linked to a COVID-19 cluster³

B A suspect case with **chest imaging** showing findings suggestive of COVID-19 disease⁴

C A person with recent onset of **anosmia** (loss of smell) or **ageusia** (loss of taste) in the absence of any other identified cause.

D **Death**, not otherwise explained, in an adult with **respiratory distress** preceding death **AND** was a **contact of a probable or confirmed case** or linked to a COVID-19 cluster³

Confirmed case of SARS-CoV-2 infection

A A person with a positive **Nucleic Acid Amplification Test (NAAT)**

B A person with a **positive SARS-CoV-2 Antigen-RDT** **AND** meeting either the **probable case definition** or suspect criteria **A OR B**

C An **asymptomatic person** with a **positive SARS-CoV-2 Antigen-RDT** who is a **contact of a probable or confirmed case**

³ A group of symptomatic individuals linked by time, geographic location and common exposures, containing at least one NAAT-confirmed case or at least two epidemiologically linked, symptomatic (meeting clinical criteria of Suspect case definition A or B) persons with **positive Ag-RDTs** (based on $\geq 97\%$ specificity of test and desired $>99.9\%$ probability of at least one positive result being a true positive)

⁴ Typical chest imaging findings suggestive of COVID-19 include the following:

- **Chest radiography**: hazy opacities, often rounded in morphology, with peripheral and lower lung distribution
- **Chest CT**: multiple bilateral ground glass opacities, often rounded in morphology, with peripheral and lower lung distribution
- **Lung ultrasound**: thickened pleural lines, B lines (multifocal, discrete, or confluent), consolidative patterns with or without air bronchograms.

U07.1 COVID-19, virus identified

COVID-19 NOS

Use this code when COVID-19 has been confirmed by laboratory testing irrespective of severity of clinical signs or symptoms. Use additional code, if desired, to identify pneumonia or other manifestations.

Excl.: Coronavirus infection, unspecified site ([B34.2](#))
Coronavirus as the cause of diseases classified to other chapters ([B97.2](#))
Severe acute respiratory syndrome [SARS], unspecified ([U04.9](#))

U07.2 COVID-19, virus not identified

Use this code when COVID-19 is diagnosed clinically or epidemiologically but laboratory testing is inconclusive or not available. Use additional code, if desired, to identify pneumonia or other manifestations

Excl.: Coronavirus infection, unspecified site ([B34.2](#))
COVID-19:

- confirmed by laboratory testing ([U07.1](#))
- special screening examination ([Z11.5](#))
- suspected but ruled out by negative laboratory results ([Z03.8](#))

WHO-2019-nCoV-Mortality_Reporting-2020.1-eng - 7 June 2020

| Frame A: Medical data: Part 1 and 2 | | | |
|---|---|--|-----------------------------------|
| 1 Report disease or condition directly leading to death on line a Report chain of events in due to order (if applicable) State the underlying cause on the lowest used line | | Cause of death | Time interval from onset to death |
| | a | Acute respiratory distress syndrome J80 | 2 days |
| | b | Due to: Pneumonia J18.9 | 10 days |
| | c | Due to: COVID-19 U07.1 | 10 days |
| | d | Due to: | |
| 2 Other significant conditions contributing to death (time intervals can be included in brackets after the condition) | | Cerebral palsy [10 Years] | G80.9 |
| Manner of death: | | | |
| <input checked="" type="checkbox"/> Disease | <input type="checkbox"/> Assault | <input type="checkbox"/> Could not be determined | |
| <input type="checkbox"/> Accident | <input type="checkbox"/> Legal intervention | <input type="checkbox"/> Pending investigation | |
| <input type="checkbox"/> Intentional self harm | <input type="checkbox"/> War | <input type="checkbox"/> Unknown | |

Note: Code all entries in Part 1 and 2, and, in this example, select COVID-19 as underlying cause of death (the case has probably tested positive). Step SP3 applies as causes have been reported on more than one line in Part 1 and the condition reported first on the lowest used line (COVID-19) can cause both of the conditions—pneumonia (J18.9) and acute respiratory distress syndrome (J80)—mentioned on the lines above. [See ICD-10 2016 and later, Volume 2, Section 4.2.1]

Comorbidities

Examples of how to code this chain of events on the International Form of Medical Certificate of Cause of Death, and select the underlying cause of death for deaths due to COVID 19 in Part 1, with comorbidities reported in Part 2

| Frame A: Medical data: Part 1 and 2 | | | |
|---|---|--|---|
| 1 Report disease or condition directly leading to death on line a Report chain of events in due to order (if applicable) State the underlying cause on the lowest used line | | | Cause of death |
| | | a | Acute respiratory distress syndrome J80 |
| | | b | Due to: Pneumonia J18.9 |
| | | c | Due to: Suspected COVID-19 U07.2 |
| | | | Time interval from onset to death |
| | | | 2 days |
| | | | 10 days |
| | | | 12 days |
| | | | |
| 2 Other significant conditions contributing to death (time intervals can be included in brackets after the condition) | | Coronary artery disease [5 years], Type 2 diabetes [14 Years], Chronic obstructive pulmonary disease [8 years] I25.1, E11.9, J44.9 | |
| Manner of death: | | | |
| <input checked="" type="checkbox"/> Disease | <input type="checkbox"/> Assault | <input type="checkbox"/> Could not be determined | |
| <input type="checkbox"/> Accident | <input type="checkbox"/> Legal intervention | <input type="checkbox"/> Pending investigation | |
| <input type="checkbox"/> Intentional self harm | <input type="checkbox"/> War | <input type="checkbox"/> Unknown | |

Note: Code all entries in Part 1 and 2, and, in this example, select COVID-19, specified as suspected (the case is explicitly stated as not having been confirmed) as underlying cause of death. Step SP3 applies as causes have been reported on more than one line in Part 1 and the condition reported first on the lowest used line (COVID-19) can cause all the conditions—pneumonia (J18.9) and acute respiratory distress syndrome (J80)—mentioned on the lines above. [See ICD-10 2016 and later, Volume 2, Section 4.2.1].

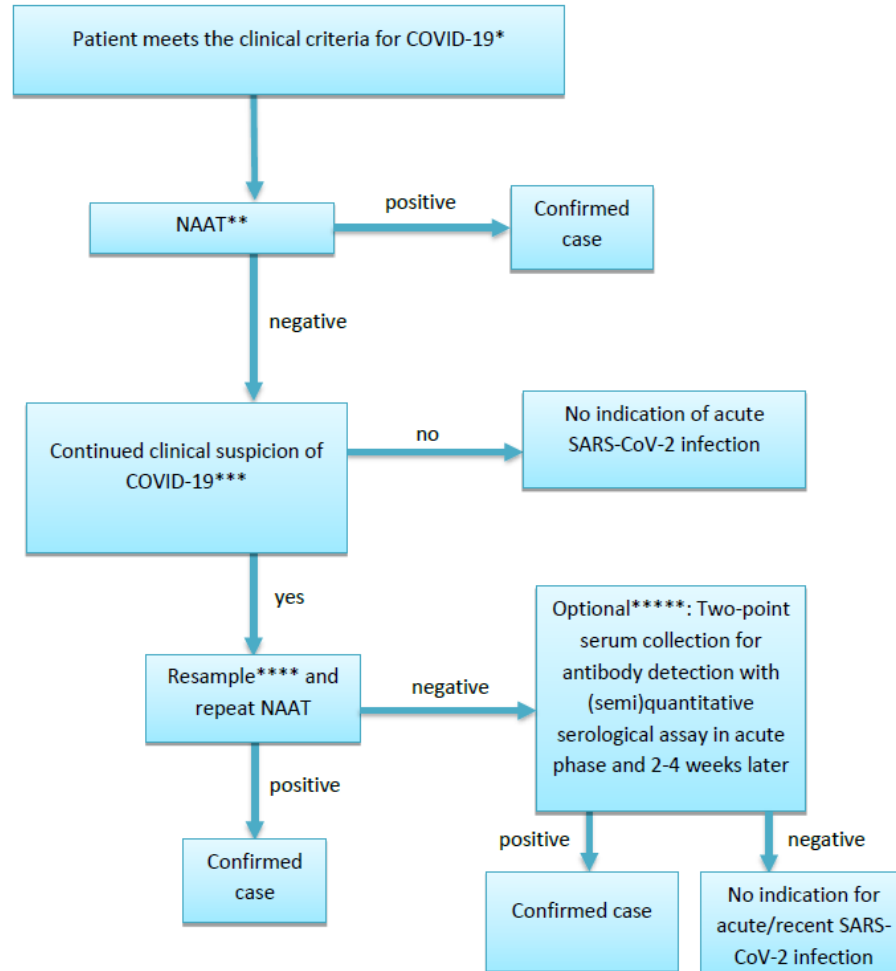
WHO-2019-nCoV-Clinical-2020.1-eng.pdf - 2 maart 2020

Serological testing

Serological surveys can aid investigation of an ongoing outbreak and retrospective assessment of the attack rate or extent of an outbreak. In cases where NAAT assays are negative and there is a strong epidemiological link to COVID-19 infection, paired serum samples (in the acute and convalescent phase) could support diagnosis once validated serology tests are available. Serum samples can be stored for these purposes.

Cross reactivity to other coronaviruses can be challenging (24) but commercial and non-commercial serological tests are currently under development. Some studies with COVID-19 serological data on clinical samples have been published (25,26).

WHO-2019-nCoV-laboratory-2020.6-eng – 11 september 2020



Geen AB test? - 31 December 2020

What is serology?

What is the difference between molecular testing and serologic testing?

'Molecular testing', including polymerase-chain reaction (PCR) testing, detects genetic material of the virus and so can detect if a person is currently infected with SARS-CoV-2.

'Serologic testing' detects antibodies against a virus, measuring the amount of antibodies produced following infection, thereby detecting if a person has previously been infected by SARS-CoV-2. Serologic tests should not be used to diagnose acute SARS-CoV-2 infection, as antibodies develop a few weeks after infection.

<https://www.who.int/news-room/questions-and-answers/item/coronavirus-disease-covid-19-serology>

Gouden standaard

Geneeskunde

De gouden standaard in de geneeskunde is de diagnostische methode die de grootste zekerheid geeft over het al dan niet aanwezig zijn van een aandoening.

Infectie testen

- gram staining (bacterie)
- blood cultures
- the serological tests
- genotyping
- polymerase chain reaction

Viruskweek

patiëntmaterialen geënt worden op cellen die speciaal geschikt zijn voor groei in een laboratorium, zogenaamde cellijnen.

Deze 'viruskweek' was vroeger, samen met het aantonen van **antilichamen** (serologie), een belangrijke manier om een virusinfectie bij een patiënt aan te tonen, maar is inmiddels grotendeels vervangen door snellere en gevoeliger moleculaire methoden.

Analyse technieken

PCR test

Reverse transcription-quantitative polymerase chain reaction (RT-PCR) is the gold standard technique for gene expression analysis

AG test

Een immunoassay is een biochemische test waarbij de aanwezigheid of de concentratie van een macromolecuul of een klein molecuul in een oplossing wordt gemeten met behulp van een antilichaam (meestal) of een antigeen (soms).

AB test

seropositivity means that the organism has, in the more or less recent past, fought microorganism X and synthesized antibodies directed against it

Virus neutralisatie test

In this test, a defined quantity of a variant of SARS-CoV-2 is mixed with serial dilutions of the antibody sample to be tested; serum, supernatant, or a (monoclonal) antibody

(VNT) <https://www.wur.nl/en/research-results/research-institutes/bioveterinary-research/cro/cro-services/virus-neutralization-tests.htm>

Van: [redacted] <[redacted]@isala.nl>
Datum: 19 juli 2020 om 11:27:39 CEST
Aan: [redacted] <[redacted]@rivm.nl>
Onderwerp: Re: COVID screening

Ps. Sorry dat ik jou hierover lastig val maar weet niet met wie ik de zorg kan delen. Eigenlijk is dit iets wat in een breder gremium besproken zou moeten worden. Er is veel te doen om het *uitvoeren* van de diagnostiek (capaciteit en wie voert uit) maar weinig ruimte om het over interpretatie en klinische relevantie te hebben. In de screening zoals deze nu gebeurt ontbreekt in een aantal gevallen een goede pre- en postanalyse. Wat overblijft is de "analyse", die gebruikt wordt om op populatie niveau, door adequate maatregelen te nemen op OGZ niveau, beter zicht en grip te houden op verspreiding. Dat is essentieel. Maar als deze screening gebruikt wordt om op individueel niveau medisch microbiologische "diagnostiek" te bedrijven dan kan dat niet zonder een goede pre- en postanalyse en niet zonder inbreng/samenwerking met inhoudsdeskundigen en behandelaar. Vervolgonderzoeken zoals ik die in praktijk zie (bv. serologie in een heel gezin n.a.v. een "twijfelachtige" positieve bevinding "om vast te stellen of er sprake is van een oude of nieuwe infectie") is weinig zinvol en leert ons onvoldoende over de betekenis van de diagnostiek en het ziektebeeld als daar niet de juiste professionals bij betrokken zijn. Immers op het moment dat deze actie voortvloeit uit een screening is er geen sprake meer van "screening" maar van "diagnostiek". Juist omdat we de komende tijd met een ingewikkeldere situatie te maken krijgen: griepseizoen, meer diversiteit aan verwekkers, meer positieve COVID bevindingen maar ook meer post-COVID patiënten, zullen we daar vooraf gezamenlijk over na moeten denken. Wat betekent screening voor diagnostiek en andersom, wie doet wat wanneer en hoe kunnen we dit beter stroomlijnen. Mocht dat gewenst zijn denk ik graag mee.

Hartelijke groet,

[redacted]

Verstuurd vanaf mijn iPhone

Limit of detection

Verslag overleg TNO over 2 onderzoeken

Sneltest

TNO heeft 7 ton subsidie ontvangen van VWS/ZonMW voor de ontwikkeling van een sneltest.

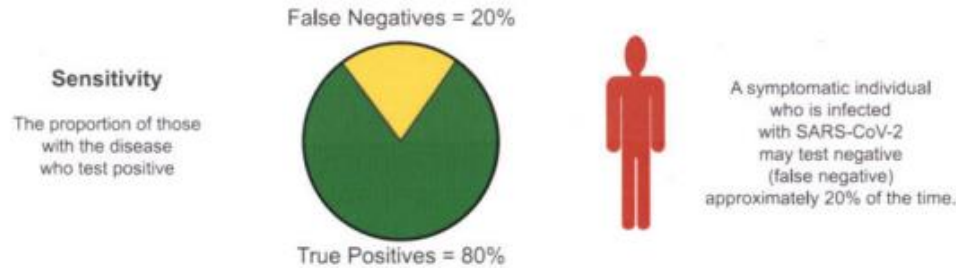
TNO ontwikkelt een ander soort test dan GGD (op basis van PCR/Lampstest), maar met (min of meer) dezelfde gevoeligheid.

De TNO-test in zijn meest eenvoudige vorm is gereed in 30 minuten en is geschikt voor de wat hogere besmettingen (2/3 van alle besmette mensen → die overigens ook het meest besmettelijk zijn). De helft van de overige 1/3 opsporen kost een extra 10 minuten. Doel = binnen 1 uur testen. Testen binnen een bedrijfssetting is heel goed te doen met een beperkte training. (Alleen soort oventje nodig dat de test tot 65 graden kan verhitten).

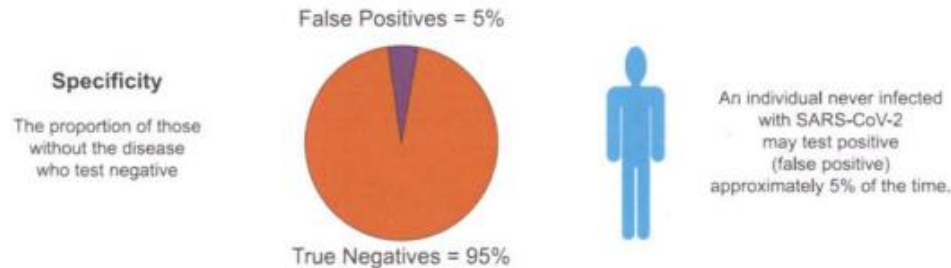
Een besmet persoon kan 1 tot miljarden deeltjes bij zich dragen. TNO kan tot 1000 deeltjes meten. Microbiologen blijven de medische maatstaf gebruiken → dat betekent ook dat ze wellicht minder enthousiast zijn over de TNO methode (die overigens ook door microbiologen is ontwikkeld). Als je niet de medische maatstaf gebruikt, maar uitgaat van het risico voor andere bezoekers, kun je een eenvoudiger aanvliegroute nemen (oftewel sneller testen, maar wel heel effectief).

TNO wil met spoed implementatie van de test in de RAI teststraat. Klinische validatie start deze week, implementatie moet daar snel op volgen.

In clinical practice, rt-PCR has been reported to have a sensitivity that approaches 80%



In clinical practice, serology tests have been reported to have a sensitivity near 95%



Sensitivity vs. Specificity

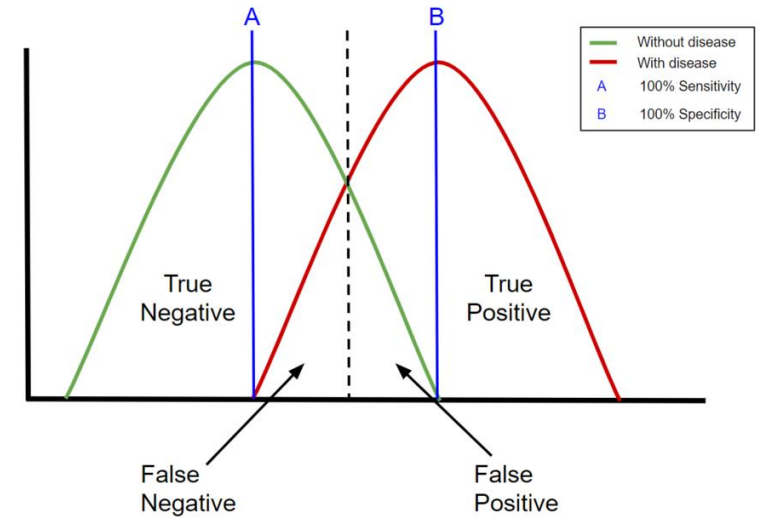


Figure 1. Current Sensitivity and Specificity of SARS-CoV-2 Tests Allow for Problems If Overinterpreted

The sensitivity of RT-PCR is reported to be only ~80% in practice. Thus, someone infected with SARS-CoV-2 may test negative. Thus, negative tests should not be overinterpreted for individuals who are likely to be positive by other indications. The specificity of serology tests may be 95%, which still suggests a 5% false positive rate. Thus, the testing of a population such as a workplace may falsely suggest 5% of the non-infected population has been infected.

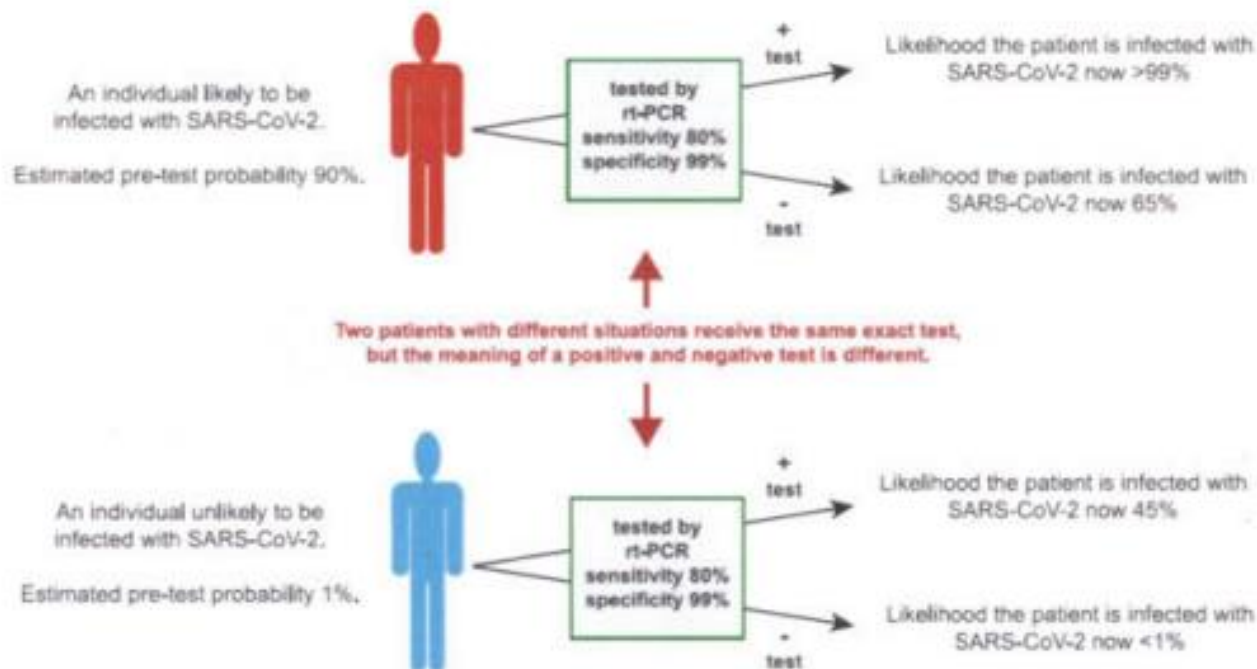


Figure 2. Test Result Interpretation Is Largely Affected by Whether Other Factors Suggest the Tested Individual Is Infected with SARS-CoV-2

If the same exact RT-PCR test is given to 2 different individuals—one whose presentation is consistent with SARS-CoV-2 infection and one whose presentation is not—then the probability that a positive test indicates an infection with SARS-CoV-2 can vary greatly. For example, the individual whose presentation suggests a 90% chance of infection is >99% likely to have an infection if he or she tests positive and 65% likely to have an infection if he or she tests negative. The individual at low risk remains more likely not to have an infection if he or she tests positive, and the absolute reduction in the chance that he or she has a SARS-CoV-2 infection has reduced by <1%.

Table 1

Standard 2 × 2 contingency table depicting possible outcomes of a binary classification test.

| | | Actual Status | | | |
|-------------------|---------------|---|------------------|------------------------|---|
| | | Disease Positive | Disease Negative | | |
| Assignment Status | Test Positive | TP | FP | $PPV = TP / (TP + FP)$ | ↓ |
| | Test Negative | FN | TN | $NPV = TN / (TN + FN)$ | ↑ |
| | | $Sensitivity = TP / (TP + FN)$ $Specificity = TN / (TN + FP)$ | | | |

[Open in a separate window](#)

Note: Abbreviations—FN, false negative; FP, false positive; NPV, negative predictive value; PPV, positive predictive value; TN, true negative; TP, true positive.

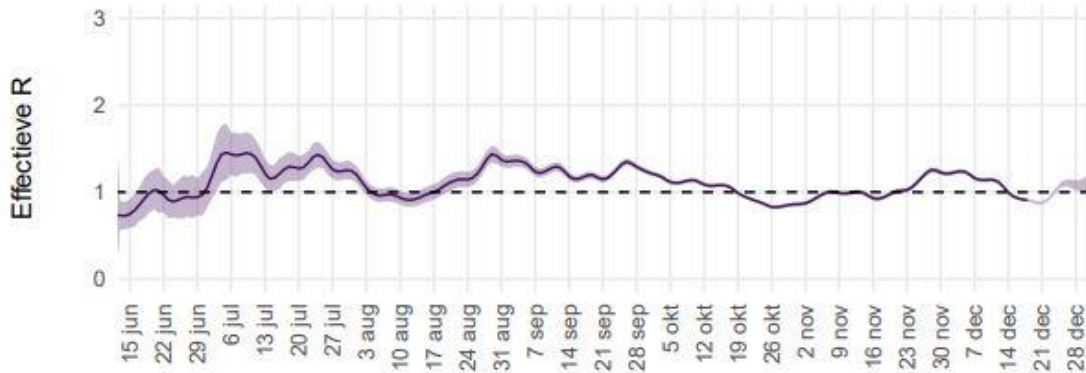
R0 van 1,9 betekent dat 100 geïnfecteerde individuen gemiddeld 190 anderen infecteren

Aanpassingen

Vanaf 15 maart 2023 werd het reproductiegetal weer berekend op basis van COVID-19 ziekenhuisopnames volgens de NICE ziekenhuisregistratie.

Van 13 juni 2020 t/m 14 maart 2023 werd het reproductiegetal berekend op basis van COVID-19 meldingen aan de GGD. Het aantal meldingen wordt echter sterk bepaald door het testbeleid, en is door het aangepaste testbeleid en het sluiten van de GGD teststraten per 17 maart 2023 minder geschikt als basis voor het berekenen van het reproductiegetal.

Tot en met 12 juni 2020 werd het reproductiegetal ook berekend op basis van ziekenhuisopnames, maar toen zoals gemeld aan de GGD.



Figuur 25: Het effectief reproductiegetal R voor Nederland.

- De R_e wordt beïnvloed door drie factoren:
 - (J. v Dissel op 25 maart 2020)
- De kans dat iemand een ander besmet bij contact (R_0)
- De hoeveelheid contacten per tijdseenheid (gedrag)
- De duur van besmettelijkheid (PCR)

WHO PCR protocol

Diagnostic detection of Wuhan coronavirus 2019 by real-time RT-PCR

-Protocol and preliminary evaluation as of Jan 13, 2020-

Victor Corman, Tobias Bleicker, Sebastian Brünink, Christian Drosten
Charité Virology, Berlin, Germany

Olfert Landt, Tib-Molbiol, Berlin, Germany

Marion Koopmans
Erasmus MC, Rotterdam, The Netherlands

Maria Zambon
Public Health England, London

Additional advice by Malik Peiris, University of Hong Kong

Contact: christian.drosten@charite.de
<https://virologie-ccm.charite.de/en/>

<https://www.who.int/docs/default-source/coronaviruse/wuhan-virus-assay-v1991527e5122341d99287a1b17c111902.pdf>

All assays can use SARS-CoV genomic RNA as positive control. Synthetic control RNA for Wuhan virus will be provided shortly.

First line screening assay: E gene assay

Confirmatory assay: RdRp gene assay

Additional confirmatory assay: N gene assay

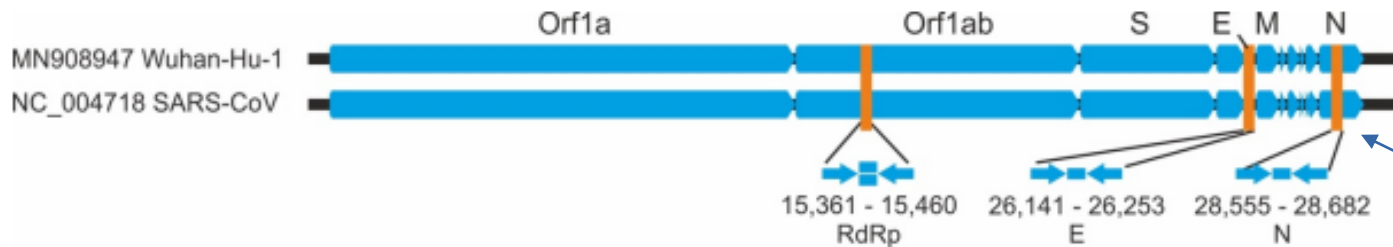


Figure 1 relative positions of amplicon targets on SARS-CoV and Wuhan-CoV genome. N: nucleocapsid; ORF: open reading frame; RdRp: RNA-dependent RNA polymerase. Numbers below amplicon are genome positions according to SARS-CoV, NC_004718.

Positive Control: SARS-CoV (e.g. strain Frankfurt 1)**References:** Corman/Drosten, unpublished

| Assay/ Use | Oligonucleotide ID | Sequence (5'-3') | Comment |
|---------------|-----------------------|--|---|
| RdRP gene | RdRP_SARsR-F2 | GTGARATGGTCATGTGTGGCGG | use 600 nM per reaction |
| | RdRP_SARsR-R1 | CARATGTTAAASACACTATTAGCATA | use 800 nM per reaction |
| | RdRP_SARsR-P2 | FAM-CAGGTGGAACCTCATCAGGAGATGC- BBQ | Specific for Wuhan-CoV, will not detect SARS-CoV use 100 nM per reaction and mix with P1 |
| | RdRP_SARsR-P1 | FAM- CCAGGTGGWACRTCATCMGGTGATGC- BBQ | Pan Sarbeco-Probe, will detect Wuhan virus, SARS-CoV and bat-SARS-related CoVs use 100 nM per reaction and mix with P2 |
| E gene | E_Sarbeco_F1 | ACAGGTACGTTAATAGTTAATAGCGT | use 400 nM per reaction |
| | E_Sarbeco_R2 | ATATTGCAGCAGTACGCACACA | use 400 nM per reaction |
| | E_Sarbeco_P1 | FAM-ACACTAGCCATCCTTACTGCGCTTCG- BBQ | use 200 nM per reaction |
| N gene | N_Sarbeco_F1 | CACATTGGCACCCGCAATC | use 600 nM per reaction |
| | N_Sarbeco_R1 | GAGGAACGAGAAGAGGCTTG | use 800 nM per reaction |
| | N_Sarbeco_P1 | FAM-ACTTCCTCAAGGAACAACATTGCCA- BBQ | use 200 nM per reaction |



Detection of 2019 novel coronavirus (2019-nCoV) in suspected human cases by RT-PCR

This protocol is designed to detect 2019-nCoV in human clinical specimens. The two monoplex assays described here are reactive with coronaviruses under the subgenus *Sarbecovirus* that includes 2019-nCoV, SARS-CoV and bat SARS-like coronaviruses. The rationales for using this detection approach are: 1) the genetic diversity of 2019-nCoV in humans and animals is yet to be fully determined and 2) many laboratories lack positive controls for 2019-nCoV. ***Viral RNA extracted from SARS-CoV can be used a positive control in the assays below.*** As SARS was eliminated in humans, suspected cases that are positive in these RT-PCR assays should be considered to be infected by the 2019-nCoV. **The N gene RT-PCR is recommended as a screening assay and the Orf1b assay as a confirmatory one.** In the event of a positive PCR result, sequence analyses of the amplicons will further help to confirm the result and to distinguish between SARS-CoV and 2019-nCoV. An N gene positive/Orf1b negative result should be regarded as indeterminate and the case is recommended to be referred to a WHO reference lab for further testing.

These assays have been evaluated using a panel of controls and only the positive control (SARS-CoV RNA) is tested positive in these assays. NB. Synthetic oligonucleotide positive controls or equivalents for 2019-nCoV is not available at present but will be available shortly.

Primer and probe sequences

Assay 1 (Target: ORF1b-nsp14)

Forward primer (HKU-ORF1b-nsp14F): 5'-TGGGGYTTTACRGGTAACCT-3'

Reverse primer (HKU- ORF1b-nsp14R): 5'-AACRCGCTTAACAAAGCACTC-3'

Probe (HKU-ORF1b-nsp141P): 5'-FAM-TAGTTGTGATGCWATCATGACTAG-TAMRA-3'

Assay 2 (Target: N)

Forward primer (HKU-NF): 5'-TAATCAGACAAGGAACTGATTA-3'

Reverse primer (HKU-NR): 5'-CGAAGGTGTGACTTCCATG-3'

Probe (HKU-NP): 5'-FAM-GCAAATTGTGCAATTTGCGG-TAMRA-3'

All assays can use SARS-CoV genomic RNA as positive control. Synthetic control RNA for 2019-nCoV E gene assay is available via EVAg. Synthetic control for 2019-nCoV RdRp is expected to be available via EVAg from Jan 21st onward.

First line screening assay: E gene assay
Confirmatory assay: RdRp gene assay

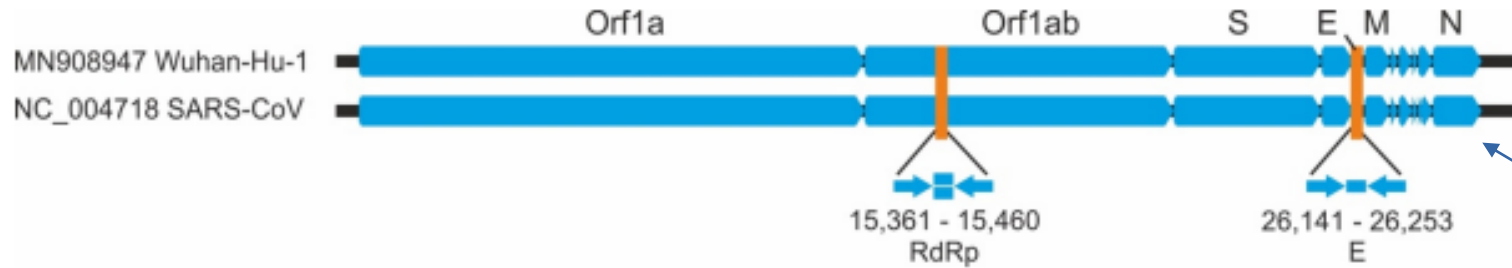


Figure 1 relative positions of amplicon targets on SARS-CoV and 2019-nCoV genome. ORF: open reading frame; RdRp: RNA-dependent RNA polymerase. Numbers below amplicon are genome positions according to SARS-CoV, NC_004718.

Diagnostic detection of 2019-nCoV by real-time RT-PCR

-Protocol and preliminary evaluation as of Jan 17, 2020-

Victor Corman, Tobias Bleicker, Sebastian Brünink, Christian Drosten
Charité Virology, Berlin, Germany

Olfert Landt, Tib-Molbiol, Berlin, Germany

Marion Koopmans
Erasmus MC, Rotterdam, The Netherlands

Maria Zambon
Public Health England, London

Additional advice by Malik Peiris, University of Hong Kong

3. Discriminatory assay

RdRp assay:

Assay No 3 is specific for 2019-nCoV

Pasteur protocol 27 feb 2020

Protocol: Real-time RT-PCR assays for the detection of SARS-CoV-2

Institut Pasteur, Paris

This protocol describes procedures for the detection of SARS-CoV-2 for two RdRp targets (IP2 and IP4).

Based on the first sequences of SARS-CoV-2 made available on the GISAID database on January 11, 2020; primers and probes (nCoV_IP2 and nCoV_IP4) were designed to target the RdRp gene spanning nt 12621-12727 and 14010-14116 (positions according SARS-CoV, NC_004718).

As a confirmatory assay, we used the E gene assay from the Charité protocol¹

POSITIVE CONTROL FOR SARS-CoV-2 REAL-TIME RT-PCR

One specific control has been designated.

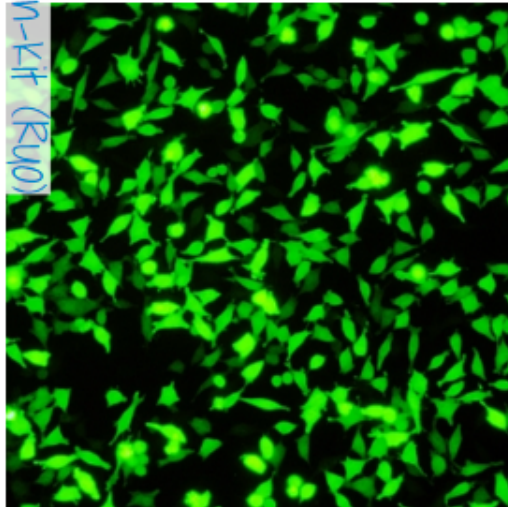
Positive control for real-time RT-PCR is an *in vitro* transcribed RNA derived from strain BetaCoV_Wuhan_WIV04_2019 (EPI_ISL_402124). The transcript contains the amplification regions of the **RdRp** and **E gene** as positive strand. Each microtube contains 10^{11} copies of target sequences diluted in yeast tRNA, and lyophilised.



Lyophilized Primers and Probe for RT-PCR in the 2019-nCoV E gene



Detection-Kit (RUO)



Tagged as - Molecular detection kit
- Derived product - Detection Kit (for RUO)

Produced by: AMU
Shipping From: Marseille - FR

Product Description

No RG

Ref-SKU: 001K-03885

Lyophilized ready-to-use primers and probe (Lyoph-P&P, 96 rxns in the form of 4x24 rxns) for real time RT-PCR of SARS-CoV-2 (2019-nCoV) as of Jan 30, 2020, available from <https://www.mdpi.com/1999-4915/12/2/159/pdf>. Primers and Probe sequences designed by Charité Universitätsmedizin Berlin ; <https://www.who.int/docs/default-source/coronaviruse/wuhan-virus-assay-v1991527e5122341d99287a1b17c111902.pdf>. SOPs in the attached pdf. Disclaimer: This product does not contain the polymerase For RUO (research use only)

Product Risk Group: No RG

Information on the related virus

ICTV Taxonomy:

Riboviria / Orthornavirae / Pisuviricota / Pisoniviricetes / Nidovirales / Coronidovirineae / Coronaviridae / Orthocoronavirinae / Betacoronavirus / Sarbecovirus / Severe acute respiratory syndrome-related coronavirus

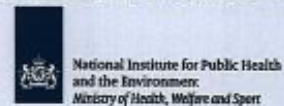
Virus name: SARS-CoV-2

Unit definition: 4 vials

In stock

96,00 € (Cost per access for Academics)

Free access available >



CERTIFICATE OF PARTICIPATION

awarded to

**Unité des virus émergents,
Aix-Marseille University, France**



to attest completion of ERLI-Net & EVD-LabNet

EXTERNAL QUALITY ASSESSMENT SCHEME FOR MOLECULAR DIAGNOSTICS OF SARS-CoV-2, JULY 2020

Covering the following:

- Accurate detection of SARS-CoV-2 in 12 coded and inactivated samples

Organised by:

European Centre for Disease Prevention and Control
Mike Catchpole, Chief Scientist

Performed under ECDC/2017/002 specific contract 3 by:

National Institute for Public Health and the Environment – The Netherlands (RIVM)
Chantal Reusken, coordinator EQA and EVD-LabNet

Charité – Berlin (CUB)
Jan Felix Drexler, coordinator EQA

Tagged as - [Virus](#) - [Cultivable virus](#)

Produced by: [IP](#)
Shipping From: [Paris - FR](#)


Unit definition: one vial

In stock

2 000,00 € (*Cost per access for Academics*)

Free access available >

Add to enquiry cart



Complementary information

Genome sequence

Special feature: [Reference Strain](#)

GMO: No

Biosafety restrictions: [Procedures BSL3](#)

Virus host type: [Human virus](#)

Previous Name or Taxonomy: [BetaCoV/France/IDF0372/2020](#)

Viral titer: 3,75 E+6 PFU/mL

Production cell line: [Vero E6](#)

Virus Cultivability: [Cultivable virus](#)

Passage: C2

Related PMID: [33357418](#)

Shipping conditions: [Dry ice](#)

IATA Classification: [Category B, UN3373](#)

Information about the collection of the virus

Recombinant product: No

Biological material origin: [Natural origin](#)

Collection date: [Monday, 27 January, 2020](#)

Country of collection: [France](#)

Suspected epidemiological origin : [China](#)

Isolation host: [Human \(female\)](#)

Isolation technique: [3 days in vero E6 cell culture](#)

Isolation conditions: [MOI 10-4, 5% CO2 at 37°C](#)

Complementary information

Cloned Product: No

Can it be used to produce GMO: No

Biosafety restrictions: "Disclaimer: Import permit may be needed in your country for SARS-CoV full virus RNA. If yes, please indicate so in your online enquiry"

Sequencing: Not sequenced

Identification technique: RT-PCR

Nucleic Acid preparation technique: Magnapure 96

Storage conditions: Nuclease-Free Water -80C

Shipping conditions: Dry ice

IATA Classification: NON DANGEROUS GOODS

Virus host type: Human virus

Previous Name or Taxonomy: HCoV-229E

HCoV-OC43

HCoV-NI63

SARS-CoV HKU39849

MERS-CoV

Note:

Product for both Alpha - and Betacoronavirus. "Disclaimer: Import permit may be needed in your country for SARS-CoV full virus RNA. If yes, please indicate so in your online enquiry"

Information about the origin of the product

Biological material origin: Natural origin

Collection date: BEFORE Thursday, 16 January, 2020

Country of collection: Netherlands (the)

Tagged as - *Viral RNA - Derived product*
 - *Nucleic Acid*

Unit definition: 1 x 100 µl

Available within 4 weeks

500,00 € (Cost per access for Academics)

Free access available >

Produced by: [CUB](#)

Shipping From: [Berlin - DE](#)

Add to enquiry cart



Complementary information

Nucleic acid sequence

Cloned Product: No

Can it be used to produce GMO: No

Sequencing: Fully sequenced

Sequence checked: Yes

Mutations: No mutation compared to the reference sequence

Genbank reference: [AY291315](#)

Titer: 1e4 copies / µl

Storage conditions: Nuclease-Free Water -80C

Related DOI: [10.1099/vir.0.19424-0](#)

Shipping conditions: Dry ice

IATA Classification: NON DANGEROUS GOODS

Virus host type: [Animal virus](#)

[Human virus](#)

Note: Disclaimer: Import permit may be needed in your country for the SARS-CoV full virus RNA. If yes, please indicate so in your online enquiry.

Information about the origin of the product

Recombinant product: No

Biological material origin: Natural origin

Collection date: Saturday, 15 March, 2003

Country of collection: [Germany](#)


Rapid reconstruction of SARS-CoV-2 using a synthetic genomics platform

<https://doi.org/10.1038/s41586-020-2294-9>

Received: 20 February 2020

Accepted: 24 April 2020

Published online: 4 May 2020

 Check for updates

Tran Thi Nhu Thao^{1,2,3,10}, Fabien Labrousseau^{2,4,10}, Nadine Ebert^{1,2,10}, Philip V'kovski^{1,2}, Hanspeter Stalder^{1,2}, Jasmine Portmann^{1,2}, Jenna Kelly^{1,2}, Silvio Steiner^{1,2,3}, Melle Holwerda^{1,2,3,5}, Annika Kratzel^{1,2,3}, Mitra Gultom^{1,2,3,5}, Kimberly Schmied^{1,2}, Laura Laloli^{1,2,3,5}, Linda Hüsler^{1,2}, Manon Wider⁵, Stephanie Pfaender^{1,2,6}, Dagny Hirt^{1,2}, Valentina Cippà^{2,4}, Silvia Crespo-Pomar^{2,4}, Simon Schröder⁷, Doreen Muth^{7,8}, Daniela Niemeyer^{7,8}, Victor M. Corman^{7,8}, Marcel A. Müller^{7,8,9}, Christian Drosten^{7,8}, Ronald Dijkman^{1,2,5}, Joerg Jores^{2,4,11} & Volker Thiel^{1,2,11}✉

Reverse genetics has been an indispensable tool to gain insights into viral pathogenesis and vaccine development. The genomes of large RNA viruses, such as those from coronaviruses, are cumbersome to clone and manipulate in *Escherichia coli* owing to the size and occasional instability of the genome^{1–3}. Therefore, an alternative rapid and robust reverse-genetics platform for RNA viruses would benefit the research community. Here we show the full functionality of a yeast-based synthetic genomics platform to genetically reconstruct diverse RNA viruses, including members of the *Coronaviridae*, *Flaviviridae* and *Pneumoviridae* families. Viral subgenomic fragments were generated using viral isolates, cloned viral DNA, clinical samples or synthetic DNA, and these fragments were then reassembled in one step in *Saccharomyces cerevisiae* using transformation-associated recombination cloning to maintain the genome as a yeast artificial chromosome. T7 RNA polymerase was then used to generate infectious RNA to rescue viable virus. Using this platform, we were able to engineer and generate chemically synthesized clones of the virus, severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2)⁴, which has caused the recent pandemic of coronavirus disease (COVID-19), in only a week after receipt of the synthetic DNA fragments. The technical advance that we describe here facilitates rapid responses to emerging viruses as it enables the real-time generation and functional characterization of evolving RNA virus variants during an outbreak.

Ethical statement

The authors are aware that this work contains aspects of Dual Use Research of Concern (DURC). The benefits were carefully balanced against the risks and the benefits outweigh the risks. Permission to generate and work with recombinant SARS-CoV-2 and SARS-CoV-2-GFP was granted by the Swiss Federal Office of Public Health (A131191/3) with consultation of the Federal Office for Environment, Federal Food Safety and Veterinary Office, and the Swiss Expert Committee for Biosafety.

Fig. 2: Timeline of the reconstruction and recovery of rSARS-CoV-2 in relation to key events of the COVID-19 pandemic.

From: [Rapid reconstruction of SARS-CoV-2 using a synthetic genomics platform](#)

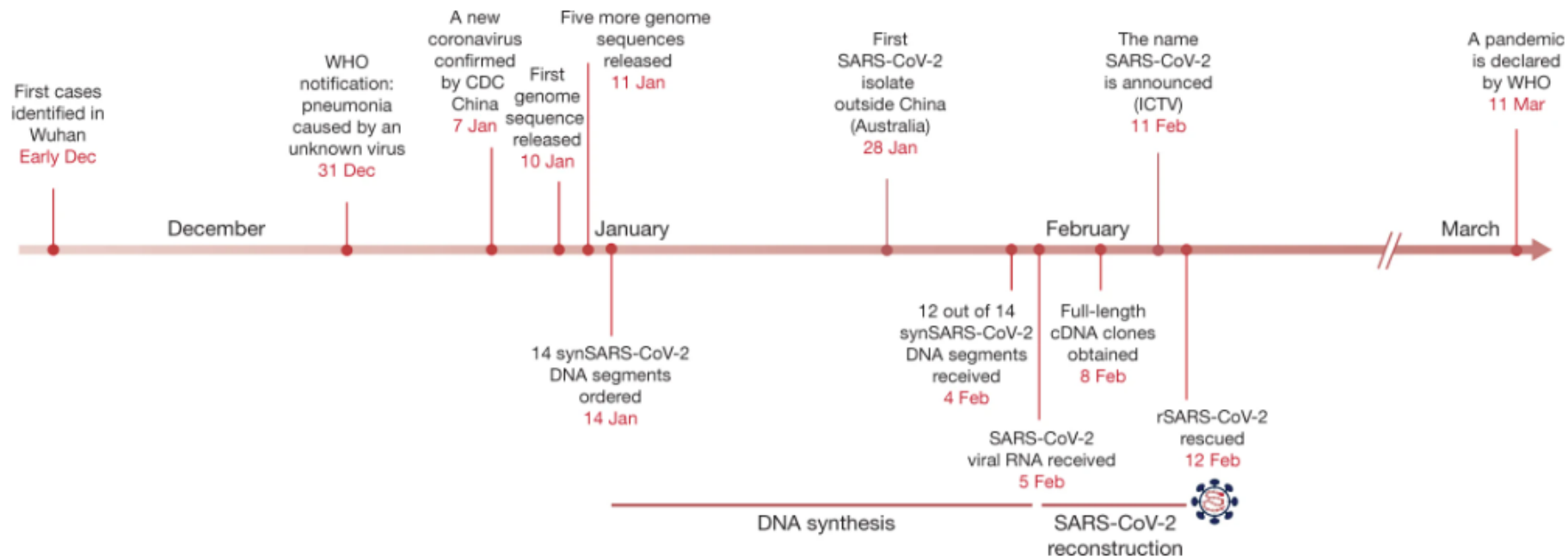


Illustration of the rapidity of rSARS-CoV-2 reconstruction along with the timeline of key events of the COVID-19 pandemic. CDC, Center for Disease Control and Prevention; ICTV, International Committee on Taxonomy of Viruses; WHO, World Health Organization.

RIVM website gepubliceerd: 29 september 2020

Volgens bovenstaand stappenplan is het RIVM-IDS samen met Erasmus MC ter voorbereiding van het opduiken van SARS-CoV-2 in Nederland in januari 2020 gestart met de implementatie van moleculaire diagnostiek voor SARS-CoV-2. Met ondersteuning vanuit 13 opschalingslaboratoria is via deze eerste ring (implementatie in februari 2020) de diagnostiek vervolgens geïmplementeerd in een groot aantal laboratoria (maart-juni 2020) in de 2^e en 3^e ring respons en toegevoegde andere laboratoria. De opschalingsstructuur is bedoeld om in uitzonderlijke situaties snel te kunnen reageren bij het opduiken van nieuwe pathogenen die een bedreiging vormen voor de volksgezondheid. Met een escalierend verspreidingspatroon wordt ernaar gestreefd om een efficiënte implementatie van voldoende en betrouwbare diagnostische capaciteit te faciliteren. Voor het zelfstandig uitvoeren van SARS-CoV-2-diagnostiek wordt voor de 1e ring ondersteunende opschalingslaboratoria als ook voor de andere laboratoria verwacht dat ze voldoen aan een set kwaliteitsvoorwaarden.

Het gaat hierbij om het voldoen aan de volgende kwaliteitscriteria:

- proficiency panel testen verstrekt door centrale labs met goed resultaat (validatie analytische specificiteit en juiste detectie SARS-CoV-2) afronden;
- SARS-CoV-1-RNA (tot 21-2-2020) en/of SARS-CoV-2-RNA (tot 6-4-2020) verdunningsreeksen of sensitiviteits- en specificiteitspanel SARS-CoV-2 (heel virus; vanaf 10-4-2020) of verificatiepanel SARS-CoV-2 (heel virus; vanaf 24-4-2020) met goed resultaat (validatie van analytische sensitiviteit) afronden;
- voor laboratoria die speeksel als monstertype analyseren additioneel speeksel sensitiviteitspanel met goed resultaat afronden;
- voor laboratoria die monsters poolen additioneel een pooling panel met goed resultaat afronden;
- confirmatie van 5 positieve monsters en 10 negatieve monsters van sterk verdachte patiënten met symptomen bij één van de expertiselaboratoria (RIVM-IDS of Erasmus MC) met goed resultaat (beperkte klinische validatie) afronden.

<https://web.archive.org/web/20200929225329/https://lci.rivm.nl/covid-19/bijlage/aanvullend>

CE markering en ISO certificaat

To: [redacted] 5.1.2e @minvws.nl; [redacted] 5.1.2e @minvws.nl; [redacted] 5.1.2e @nwa.nl;
[redacted] 5.1.2e @minvws.nl; [redacted] 5.1.2e @minvws.nl; [redacted] 5.1.2e @minvws.nl;
(5.1.2e) [redacted] 5.1.2e @minvws.nl; [redacted] 5.1.2e @minvws.nl; [redacted] 5.1.2e @minvws.nl;
From: [redacted] 5.1.2e
Sent: Mon 9/28/2020 9:57:30 PM
Subject: RE: Conceptrapportage IGJ COVID-19 testen - samenvatting en relevantie
Received: Mon 9/28/2020 9:57:33 PM

Dag,

Mooi doc, veel nuttige info en ik zal het zeker nog gebruiken als naslagdocument.

Echter, er staan wel wat zaken in die ik liever ander geformuleerd zie worden;

- Het voorrangsbeleid; Vind de framing erg gericht op het perspectief IGJ en het op deze wijze distantiëren van het kabinetstandpunt is niet handig. Zou dat zelf omdraaien. "We ondersteunen het kabinetstandpunt maar in een ideale wereld zouden we het liever niet doen".
- Een grote testlaboratoriumgroep wordt niet genoemd; de laboratoria met een alternatieve methode waarbij dezelfde PCR test gebruikt wordt, maar onder andere omstandigheden dan de genoemde ISO 15189. De PCR techniek is namelijk een standaard methode op vele geaccrediteerde laboratoria, maar dan wel onder de ISO 17025/26. Deze uitslagen zijn juridisch valide, worden veel toegepast in handhavingslaboratoria maar zijn dan niet medisch gevalideerd. En dat hoeft ook niet voor bulktesten waarbij geen diagnostisch oordeel bij komt kijken. Accreditatie en validatie staan hierbij niet ter discussie. De parallel met de alternatieve dan wel innovatieve testmethoden moet en kan worden gelegd. Echter; dat wordt in het rapport niet gedaan. Deze omissie zou ik uit het rapport willen. Door deze methoden wel toe te staan, wordt de schaarste van materiaal en reagentia ook minder opportuun.

Gr [redacted] 5.1.2e

ISO 15189:2012 - Medical laboratories — Requirements for quality and competence (CE-IVD)

ISO 17025:2017 - Testing and calibration laboratories (CE-RUO)

ISO 17026:2015 - Conformity assessment — Example of a certification scheme for tangible products (CE-RUO)

‘in vitro diagnostic medical device’ any medical device providing information on a physiological or pathological process or state.

RUO products are not subject to the IVDD not the IVDR. As they lack a clinical application, there are not qualified as medical devices by law.

The IVDD and the IVDR don't define the term “Research Use Only” explicitly and no requirements are defined. <https://eur-lex.europa.eu/eli/reg/2017/746/oj>

<https://regulatoryandmore.com/2020/01/03/ivd-vs-ruo/>

To: (10)(2e) (10)(2e) @godiergezondheid.nl; (10)(2e) (10)(2e) @berenschot.nl;
(10)(2e) @wur.nl (10)(2e) @wur.nl; (10)(2e) @bravis.nl (10)(2e) @bravis.nl; (10)(2e) (10)(2e) @rivm.nl;
(10)(2e) @minvws.nl (10)(2e) @minvws.nl; (10)(2e) @umcutrecht.nl (10)(2e) @umcutrecht.nl; (10)(2e)
(10)(2e) (10)(2e) @lcdk.nl; (10)(2e) (10)(2e) @lcdk.nl
Cc: (10)(2e) (10)(2e) @gdanimalhealth.com; (10)(2e) (10)(2e) @sanquin.nl
From: (10)(2e)
Sent: Wed 7/1/2020 10:25:40 PM
Subject: RE: Volgende - meer definitieve - versie pooling rapport
Received: Wed 7/1/2020 10:25:56 PM
[Rapport Poolen COVID PCR v4 - 1 juli 2020 AvW.docx](#)

Beste allen,

Allereerst veel dank aan (10)(2e) en zijn team voor het uitwerken van alle gegevens en data. Ik heb nog een aantal algemene punten toegevoegd om nader te bespreken (zie bijlage).

In de afgelopen week hebben we met Roche Global een aantal overleggen gehad om de mogelijkheden van poolen voor SARS-CoV-2 verder uit te werken (dit is namelijk niet bij Roche Nederland belegd).

Uitgaande van de apparatuur bij Sanquin, de processen voor het poolen van SARS-CoV-2 buizen met swabs en de automatisering die daartoe nodig is, komen (ook) wij tot een pool van 6 als een goede keus. Bij deze poolgrootte is er een goede balans tussen het grootschalig kunnen testen (snelle en vroegtijdige opsporing mogelijke infectiehaarden) en het verlies aan sensitiviteit (in de Roche test is dit ongeveer 7%). Op basis van de gegevens van RIVM leidt dit verlies aan sensitiviteit nog steeds tot een acceptabel (zeer laag) risico op transmissie van infectie tussen mensen. Dit is een ander getal aan verlies sensitiviteit dan waar (10)(2e) op uit komt. De testen zijn echter ook verschillend en mogen niet 1:1 met elkaar vergeleken worden. De test die we bij Sanquin gebruiken (en zo ook andere testen die in het

land gebruikt worden?) is een IVD-geregistreerde test die uit gaat van individuele monsters. Testen in pools valt buiten deze IVD registratie. Dit betekent dat de testen niet meer diagnostisch zijn maar gezien moeten worden als screening, en dat er sprake is van 'Investigational Use Only' (IUO). Wij (en naar mijn mening geldt dit voor elk lab dat gaat poolen met de test die op dat lab wordt gebruikt) dienen een dusdanige validatie te doen op basis waarvan uitslagen worden vrijgegeven en dit helder vast te leggen. Wellicht goed ook dit met elkaar te bespreken hoe daar mee om te gaan.

On 20 Aug 2020, at 14:47, (10)(2*) <(10)(2*)@rivm.nl> wrote:

Dag (10)(2*)

Ik heb de documenten nog niet kunnen bekijken of de accreditatie en scope aan de eisen voldoen: ISO 15189 bij voorkeur met RT-PCR in de gepubliceerde scope behorend bij accreditatie. SARS-CoV-2 zal er nog niet bij staan. Flexibele scope met algemeen RT-PCR kan ook.

Naast deze eis is er de eis waaraan alle labs moeten voldoen die COVID-19 moleculaire test aanbieden, en op de lijst op LCI website als COVID-19 lab terecht komen; voldoen aan de volgende kwaliteitscriteria:

- proficiency panel verstrekt door centrale labs testen met een goed resultaat (validatie analytische specificiteit en juiste detectie SARS-CoV-2) afronden;
- specificiteitspanel verstrekt door centrale labs testen met een goed resultaat (validatie van analytische sensitiviteit) afronden;
- confirmatie van 5 positieve monsters en 10 negatieve monsters bij expertiselaboratorium RIVM-IDS met goed resultaat (beperkte klinische validatie) afronden.

De panels worden door RIVM gemaakt, verstrekt en teruggekregen resultaten geanalyseerd en teruggedoorgerapporteerd aan het lab en in status opschaling opgenomen.

Bij met succes doorlopen van alle drie de punten wordt een verklaring van prestatie verstrekt die geldt voor de technieken waarmee de resultaten zijn verkregen. Elke modificatie daaraan dient het laboratorium volgens ISO 15189 te valideren.

Door de grote vraag zijn we bijna door sensitiviteitspanels heen. Nieuwe worden gemaakt, maar gaat enkele weken duren. Als alle betrokken Synlabs individueel gecheckt moeten worden wil ik dat wel met hetzelfde panelmateriaal doen. Half september wordt dat dan.

Validatie van test en van laboratorium

Van: (10)(2e) <(10)(2e)@beldico.nl>

Verzonden: dinsdag 7 juli 2020 15:39

Aan: (10)(2e) <(10)(2e)@rivm.nl>; (10)(2e) <(10)(2e)@amsterdamumc.nl>

CC: (10)(2e) <(10)(2e)@corisbio.com>; (10)(2e) <(10)(2e)@corisbio.com>; (10)(2e) <(10)(2e)@corisbio.com>; (10)(2e) <(10)(2e)@rivm.nl>; (10)(2e) <(10)(2e)@beldico.nl>

Onderwerp: RE: Rapport

Beste (10)(2e),

Zoals gevraagd door (10)(2e) komen we graag terug op de vragen van CORIS.

Door de huidige situatie is er geen persoonlijk overleg geweest tussen RIVM en CORIS, doch na een meeting met hun vorige week, hier alvast meer antwoorden :

1. Why did you choose GLY and not Amies or UTM as the transport medium?

This is standard use in the Netherlands

Dit GLY medium van EWC is niet gevalideerd door CORIS en is ook niet opgenomen in de IFU van de test en ook niet in de validatiestudies in België.

Wel weten we dat sommige media interferentie geven; vb de CDC Virus Transport Medium van EWC werd niet goed bevonden.

Ook is het volume belangrijk. De validaties werden gedaan in een 1ml medium ; een 3ml gaf lagere gevoeligheden.

23 januari 2020



Eurosurveillance Europe's journal on infectious disease surveillance, epidemiol

[Home](#) [Current](#) [Archives](#) [Special compilations](#) [Collections](#) [About Us](#) [Editorial Policies](#)

[Home](#) / [Eurosurveillance](#) / [Volume 25, Issue 3, 23/Jan/2020](#) / [Article](#)


Research

 **Open Access**

Detection of 2019 novel coronavirus (2019-nCoV) by real-time RT-PCR

Like 5



 Download

Victor M Corman¹, Olfert Landt², Marco Kaiser³, Richard Molenkamp⁴, Adam Meijer⁵, Daniel KW Chu⁶, Tobias Bleicker¹, Sebastian Brünink¹, Julia Schneider¹, Marie Luisa Schmidt¹, Daphne GJC Mulders⁴, Bart L Haagmans⁴, Bas van der Veer⁵, Sharon van den Brink⁵, Lisa Wijsman⁵, Gabriel Goderski⁵, Jean-Louis Romette⁷, Joanna Ellis⁸, Maria Zambon⁸, Malik Peiris⁶, Herman Goossens⁹, Chantal Reusken⁵, Marion PG Koopmans⁴, Christian Drosten¹

<https://www.eurosurveillance.org/content/10.2807/1560-7917.ES.2020.25.3.2000045>

TABLE 1

Primers and probes, real-time RT-PCR for 2019 novel coronavirus

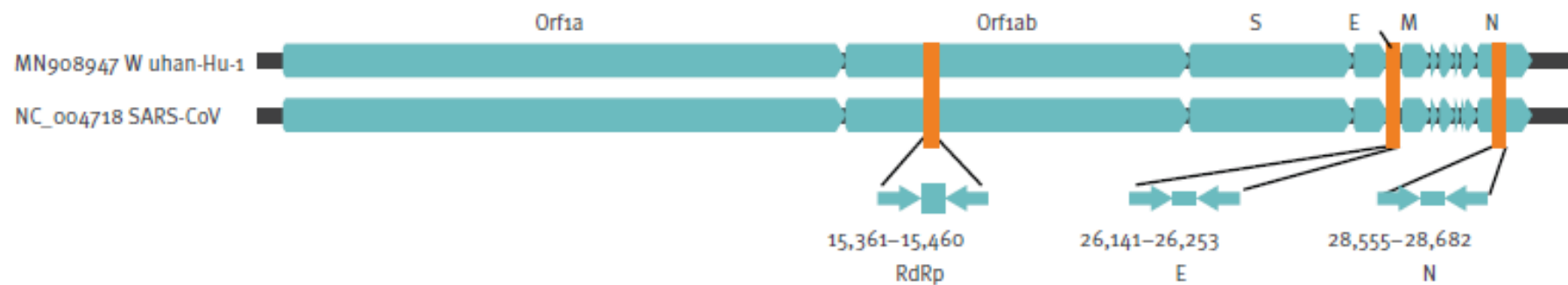
| Assay/use | Oligonucleotide | Sequence ^a | Concentration ^b |
|-----------|-----------------|------------------------------------|---|
| RdRP gene | RdRp_SARsR-F | GTGARATGGTCATGTGTGGCGG | Use 600 nM per reaction |
| | RdRp_SARsR-P2 | FAM-CAGGTGGAACCTCATCAGGAGATGC-BBQ | Specific for 2019-nCoV, will not detect SARS-CoV. Use 100 nM per reaction and mix with P1 |
| | RdRp_SARsR-P1 | FAM-CCAGGTGGWACRTCATCMGGTGATGC-BBQ | Pan Sarbeco-Probe will detect 2019-nCoV, SARS-CoV and bat-SARS-related CoVs. Use 100 nM per reaction and mix with P2 |
| | RdRp_SARsR-R | CARATGTTAAASACACTATTAGCATA | Use 800 nM per reaction |
| E gene | E_Sarbeco_F | ACAGGTACGTTAATAGTTAATAGCGT | Use 400 nm per reaction |
| | E_Sarbeco_P1 | FAM-ACACTAGCCATCCTTACTGCGCTTCG-BBQ | Use 200 nm per reaction |
| | E_Sarbeco_R | ATATTGCAGCAGTACGCACACA | Use 400 nm per reaction |
| N gene | N_Sarbeco_F | CACATTGGCACCCGCAATC | Use 600 nm per reaction |
| | N_Sarbeco_P | FAM-ACTTCCTCAAGGAACAACATTGCCA-BBQ | Use 200 nm per reaction |
| | N_Sarbeco_R | GAGGAACGAGAAGAGGCTTG | Use 800 nm per reaction |

^a W is A/T; R is G/A; M is A/C; S is G/C. FAM: 6-carboxyfluorescein; BBQ: blackberry quencher.

^b Optimised concentrations are given in nanomol per litre (nM) based on the final reaction mix, e.g. 1.5 µL of a 10 µM primer stock solution per 25 µL total reaction volume yields a final concentration of 600 nM as indicated in the table.

FIGURE 1

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

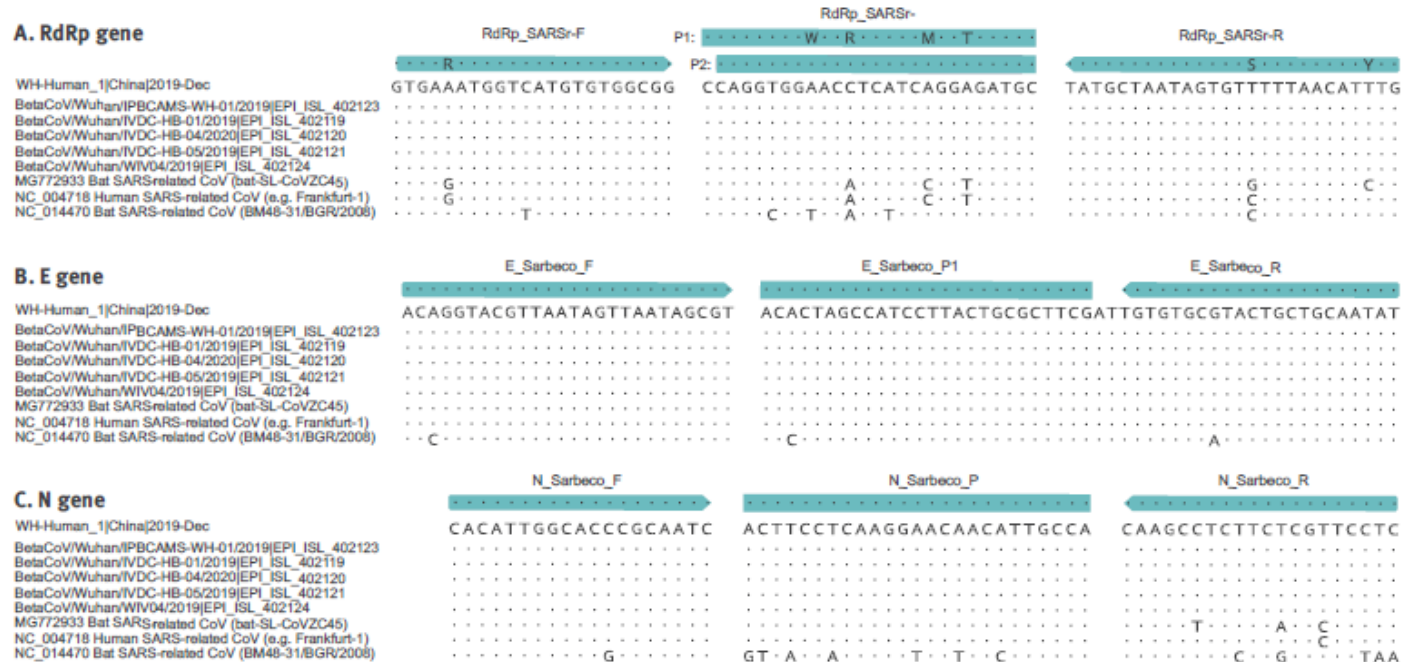


E: envelope protein gene; M: membrane protein gene; N: nucleocapsid protein gene; ORF: open reading frame; RdRp: RNA-dependent RNA polymerase gene; S: spike protein gene.

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

FIGURE 2

Partial alignments of oligonucleotide binding regions, SARS-related coronaviruses (n = 9)



The panels show six available sequences of 2019-nCoV, aligned to the corresponding partial sequences of SARS-CoV strain Frankfurt 1, which can be used as a positive control for all three RT-PCR assays. The alignment also contains a closely related bat virus (Bat SARS-related CoV isolate bat-SL-CoVZC45, GenBank accession number MG772933) as well as the most distant member within the SARS-related bat CoV clade, detected in Bulgaria (GenBank accession number NC_014470). Dots represent identical nucleotides compared with the WH_Human_1 sequence. Nucleotide substitutions are specified. Blue arrows: oligonucleotides as specified in Table 1. More comprehensive alignments can be found in the Supplement.

Bijlage 1:

Validatierapport Coronavirus 2019 n-CoV detectie PCR

NB Het validatierapport is in het engels vanwege internationale samenwerking bij het ontwikkelen van deze test

Validation of qRT-PCR assays for detection of novel coronavirus 2019-nCoV

Methode: qPCR – Onestep RT-PCR met behulp van Fast Virus Master Mix

Fabrikant/herkomst: Eurogentec, Thermofisher

Soort validatie: validatie van test specifiek voor het aantonen van coronavirus 2019 n-CoV

Toepassing test: patiëntendiagnostiek, detecteren van coronavirus 2019 n-CoV in klinisch materiaal

Conclusie: Op basis van de resultaten is gebleken dat de resultaten voldoen aan de vooraf gestelde criteria van de volgende parameters: juistheid, analytische sensitiviteit en detectielimiet en (analytische) specificiteit.

Auteur: Adam Meijer

Datum: 22-1-2020

Analytic parameters:

The detection qPCR is not used as a quantitative method. Results are scored positive/negative to confirm if a patient is infected with the novel coronavirus 2019-nCoV. Therefore all analytic parameters, used for validation of quantitative methods, are not tested.

- Measurement uncertainty (Meetonzekerheid): – not tested
- Measurement trueness (Juistheid): – tested: MERS-CoV panel and Frankfurt-1 control strain (page 6)
- Measurement accuracy (Accuraatheid): – not tested, no golden standard available ←
- Measurement precision including measurement repeatability (Precisie inclusief herhaalbaarheid): – not tested
- Analytical sensitivity (Analytische sensitiviteit): – tested: LOD95 determination (page 4)
- Analytical specificity, including interfering substances (Analytische Specificiteit met inbegrip van interfererende substanties): – tested: clinical validation including negative controls (page 6)
- Detection limit (Detectielimiet, bij kwantitatieve methoden): – not tested
- Quantitation limit (Kwantificatielimiet, bij kwantitatieve methoden): – not tested
- Measuring interval (Meetinterval, kwantitatieve methoden): – not tested

Clinical parameters:

- Diagnostic sensitivity (Diagnostische Sensitiviteit): – not tested, no clinical specimens of positive patients available
- Diagnostic specificity (Diagnostische Specificiteit): – not tested, no clinical specimens of positive patients available

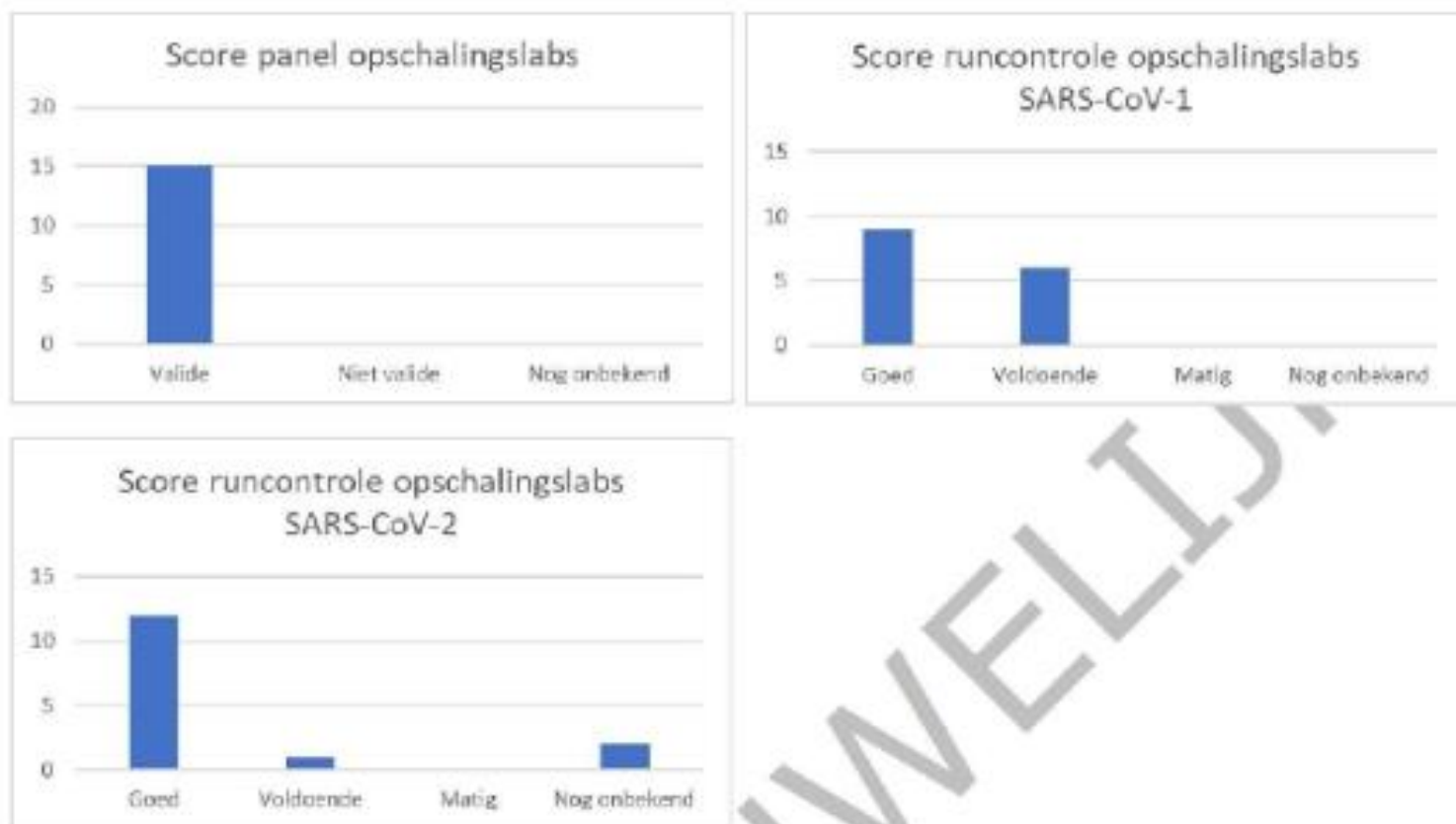


Rijksinstituut voor Volksgezondheid
en Milieu
Ministerie van Volksgezondheid,
Welzijn en Sport

Status laboratorium opschaling SARS-CoV-2

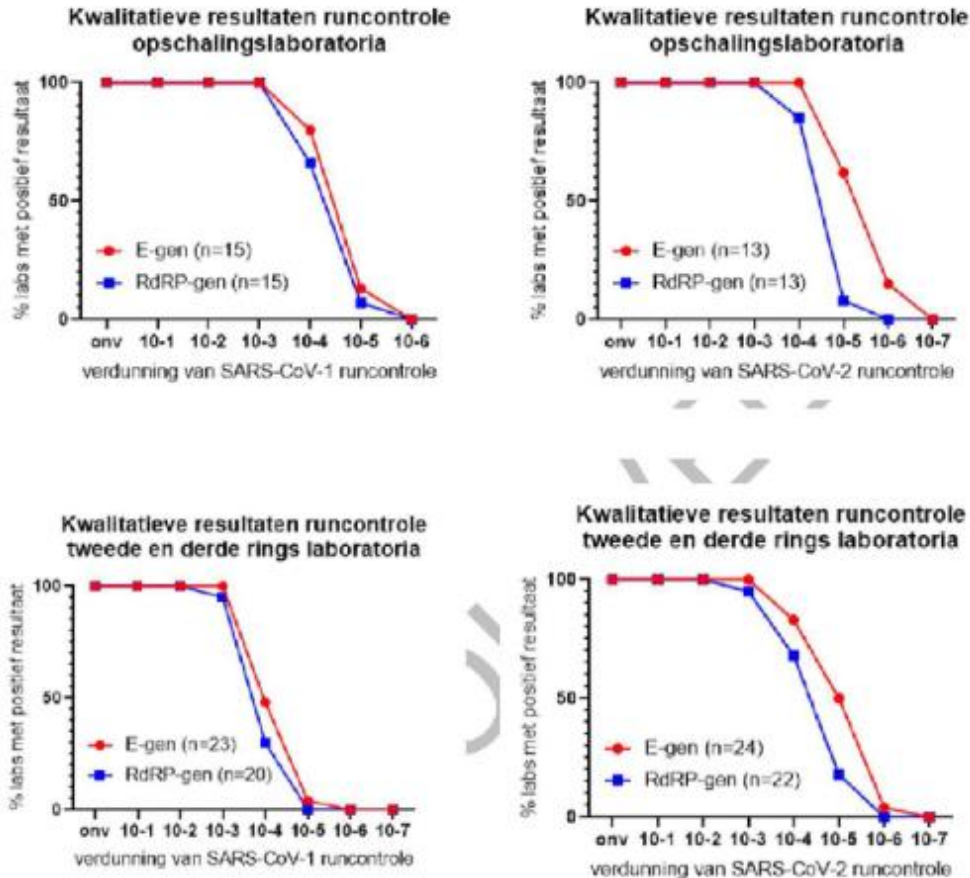
Status per 30 maart 2020

VERTROUWELIJK



Figuur 2: De scores van zowel het panel als de runcontroles van SARS-CoV-1 en SARS-CoV-2 van de opschalingslaboratoria en expertisecentra (n=15)

N-gen
ontbreekt



Figuur 5: Hier is per target gen per verdunding van de runcontrole reeks weergegeven welk percentage van de tweede en derde rings laboratoria een succesvolle meting heeft verricht. Niet alle laboratoria testen voor zowel het E-gen als het RdRP-gen. Daarnaast gebruikt één laboratorium een kit die SARS-CoV-1 niet detecteert. Hierdoor zijn de resultaten van dit laboratorium niet geïnccludeerd bij de data van de SARS-CoV-1 runcontrole.

19 mei 2020



Rijksinstituut voor Volksgezondheid
en Milieu
Ministerie van Volksgezondheid,
Welzijn en Sport

**Status laboratorium opschaling voor
moleculaire diagnostiek ten behoeve van
SARS-CoV-2 detectie**

Status per 18 mei 2020

VERTROUWELIJK

Er zijn vier typen External Quality Assessment (EQA) panels gedistribueerd. Het eerste panel voor de opschallingslaboratoria bestaat uit 10 monsters met een samenstelling wat is weergegeven in tabel 1.

Tabel 1. Samenstelling van panel 1 voor opschallingslaboratoria

| Virus | Aard van materiaal* |
|-----------------------------|---------------------------|
| Influenza virus A, H3N2 | Heel virus |
| Influenza virus B, Victoria | Heel virus |
| Rhino virus A16 | Heel virus |
| Corona virus OC42 | Heel virus |
| Corona virus 229E | Heel virus |
| Corona virus NL63 | Heel virus |
| SARS Corona virus 1 | RNA; in drie verdunningen |
| Geen virus | MEM medium |

* Matrix MEM medium met Hanks' zouten.

Het tweede panel voor de 2^e en 3^e rings laboratoria bestaat uit 10 monsters met een samenstelling wat is weergegeven in tabel 2.

Tabel 2. Samenstelling van panel 2 voor 2^e en 3^e rings laboratoria

| Virus | Aard van materiaal* |
|-----------------------------|---------------------------|
| Influenza virus A, H3N2 | Heel virus |
| Influenza virus B, Victoria | Heel virus |
| Rhino virus A16 | Heel virus |
| Corona virus OC42 | Heel virus |
| Corona virus 229E | Heel virus |
| Corona virus NL63 | Heel virus |
| SARS Corona virus 1 | RNA |
| SARS Corona virus 2 | RNA; in twee verdunningen |
| Geen virus | MEM medium |

* Matrix MEM medium met Hanks' zouten.

Het derde panel, is samengesteld als overbruggingspanel, om laboratoria alsnog te kunnen voorzien van referentiematerialen tijdens de productie van panel 4. Het bestaat uit 10 monsters met een samenstelling wat is weergegeven in Tabel 3. Er zijn humane cellen toegevoegd voor PCR kits die een assay controle hebben op de aanwezigheid van humane cellen.

19 mei 2020
geen heel virus?

1. van Asten L, van der Lubben M, van den Wijngaard C, van Pelt W, Verheij R, Jacobi A, Overduin P, [redacted], Luijt D, Claas E, Hermans M, Melchers W, Rossen J, Schuurman R, Wolfs P, Boucher C, Schirm J, Kroes L, Leenders S, Galama J, [redacted], van Loon A, Stobberingh E, Schutten [redacted], [redacted] M. Strengthening the diagnostic capacity to detect Bio Safety Level 3 organisms in unusual respiratory viral outbreaks. *J Clin Virol.* 2009 Jul;45(3):185-90.
2. [redacted], S. Dittrich, H. Bijlmer, [redacted]. Evaluatie van opschaling van laboratoriumdiagnostiek tijdens de influenzapandemie. *Ned Tijdschr Med Microbiol* 2011;19:nr1
3. Corman Victor M, Landt Olfert, Kaiser Marco, Molenkamp [redacted], [redacted] Adam, Chu Daniel KW, [redacted] [redacted], Brünink Sebastian, [redacted] [redacted], [redacted] [redacted] [redacted], Mulders Daphne GJC, Haagmans Bart L, van der Veer Bas, van den Brink Sharon, Wijsman Lisa, Goderski Gabriel, Romette Jean-Louis, Ellis Joanna, Zambon Maria, Peiris Malik, [redacted] [redacted], Reusken Chantal, Koopmans Manon PG, [redacted] [redacted]. Detection of 2019 novel coronavirus (2019-nCoV) by real-time RT-PCR. *Euro Surveill.* 2020;25(3):pii=2000045. <https://doi.org/10.2807/1560-7917.ES.2020.25.3.2000045>
4. Multi-center evaluation of cepheid xpert® xpress SARS-CoV-2 point-of-care test during the SARS-CoV-2 pandemic; Femke Wolters, [redacted] [redacted] [redacted], Bart van den Bosch, [redacted] [redacted] [redacted] [redacted] [redacted] [redacted] [redacted], [redacted] [redacted] [redacted] [redacted] [redacted] [redacted] [redacted], Janette Rahamat-Langedoen, [redacted] [redacted], Willem JG Melchers, [redacted] [redacted]; <https://doi.org/10.1016/j.jcv.2020.104426>

Verification of qRT-PCR assay for detection of SARS-CoV-2

Method: qPCR – One step RT-PCR with Fast Virus Master Mix

Manufacturer/Origin: Biolegio

Type of validation: verification of improved primers/probe set specific for detection of SARS-CoV-2

Application test: patient diagnostics, detection of SARS-CoV-2 in clinical material

Conclusion: Based on the results, we conclude that using the improved primers/probe set the RT-PCR meets the predefined criteria of the following parameters: measurement trueness, measurement accuracy, quantitation limit, analytical sensitivity and detection limit. The RT-PCR is more sensitive than with the original primers/probe set and now has similar sensitivity as the E-gene RT-PCR. Therefore the improved primers/probe set has been accepted for implementation in routine diagnostics of SARS-CoV-2.

Author: Lisa Wijsman

Date: 6-7-2020

Analytic parameters:

The detection qPCR is not used as a pure quantitative method. Results are scored positive/negative to confirm if a patient is infected with SARS-CoV-2. Ct values are used as semi-quantitative information when useful for interpretation of the result. Only those parameters are tested that need verification compared to the original validation

Measurement uncertainty (Meetonzekerheid):

– not tested

Measurement trueness (Juistheid):

– tested: Saliva panel (page 6)

Measurement accuracy (Accuraatheid):

– tested: Saliva panel (page 6)

Measurement precision including measurement repeatability
(Precisie inclusief herhaalbaarheid):

– not tested

Analytical sensitivity (Analytische sensitiviteit):

– tested: LOD95 determination (page 4)

Analytical specificity, including interfering substances

(Analytische specificiteit met inbegrip van interfererende substanties):

– not tested

Detection limit (Detectielimiet, bij kwantitatieve methoden):

– tested: LOD95 determination (page 4)

Quantitation limit (Kwantificatielimiet, bij kwantitatieve methoden):

– tested: 10-fold dilution of quantified control
(page 2)

Measuring interval (Meetinterval, kwantitatieve methoden):

– not tested

Clinical parameters:

Diagnostic sensitivity (Diagnostische Sensitiviteit):

– not tested

Diagnostic specificity (Diagnostische Specificiteit):

– not tested

Results

Quantitation limit

To establish PCR efficiency we first ran a triplicate 10-fold dilution series of viral RNA for each assay. Viral RNA was isolated from SARS-CoV-2 viral particles (hCoV-19/Netherlands/Noord_Brabant_0117R/2020) obtained from cell culture using the MagNA Pure LC Total Nucleic Acid Isolation Kit (Roche). The concentration is 3.1343×10^6 /ul digital copies RdRp-gene SARS-CoV-2 positive strand RNA/ml.

Table 5. 10-fold dilution series both primers and probe sets

| Dilution | Current nCoV detection | | | New nCoV detection | | |
|-----------------|------------------------|----------|----------|--------------------|----------|----------|
| | I | II | III | I | II | III |
| SARS-CoV-2 10-1 | 23.81 | 24.31 | 24.55 | 22.07 | 22.17 | 22.04 |
| SARS-CoV-2 10-2 | 27.93 | 28.16 | 28.27 | 25.77 | 26.04 | 25.94 |
| SARS-CoV-2 10-3 | 30.63 | 31.17 | 30.9 | 28.97 | 28.95 | 28.89 |
| SARS-CoV-2 10-4 | 33.23 | 33.27 | 32.9 | 32.41 | 32.45 | 32.5 |
| SARS-CoV-2 10-5 | 34.91 | 34.92 | 34.55 | 34.92 | 36.2 | 34.97 |
| SARS-CoV-2 10-6 | Negative | Negative | Negative | Negative | 37.52 | Negative |
| SARS-CoV-2 10-7 | Negative | Negative | Negative | 37.25 | 37.19 | Negative |
| SARS-CoV-2 10-8 | Negative | Negative | Negative | Negative | Negative | Negative |

We determined the slope in Excel and defined the required levels for PCR efficiency (E) and R2 as >95% and >0.95, respectively. The new specific SARS-CoV-2 RdRp gene primers and probe meet the requirements.

Ct waarden

onwaarschijnlijk dat patiënten met een Ct waarde in bovenste luchtwegmonster ≥ 38 een bijdrage leveren aan infectie transmissie. Hierbij moet wel opgemerkt worden dat een patiënt op moment van bemonsteren, voordat de symptomen duidelijk beginnen, ook een positieve PCR met hoge Ct waarde kan hebben. Bij een dergelijke patient kan de Ct waarde in de volgende dagen verlagen tot onder de 35 en kan de patiënt full-blown klinisch COVID-19 ontwikkelen. Het transmissie risico lijkt het hoogst rond de start van symptomen, wanneer de virale load in bovenste luchtwegmonster het hoogst is (Cheng et al. 2020). Het missen van een patiënt met lage load boven de Ct 38 is zeker acceptabel als de behandelaar de patiënt met klachten bij een negatieve SARS-CoV-2 PCR test optimaal informeert en adviseert bij toename van klinische symptomen opnieuw te testen.

Bij een poolgrootte van 5 of 6 zal er een beperkte reductie in sensitiviteit optreden ten gevolge van het pool proces. Bij een Ct-afkapwaarde van <45 zal een enkel positief monster met een Ct tot 41 een pool met een poolgrootte tot 10 nog met zekerheid gedetecteerd worden als positief.

Laagpositieve individuele monsters met een Ct waarde tussen 42-44 kunnen wel worden gemist in een pool van 5 monsters of meer. Afhankelijk van de interpretatie van Ct waarden in een individueel laboratorium kan geconcludeerd worden dat de daling in sensitiviteit bij een poolgrootte van 5 tot 6 monsters beperkt zal blijven tot maximaal 1-2%.

Omstandigheden zullen tussen laboratoria verschillen, het is dan aan te bevelen dat elk laboratorium dat pooling van monsters toepast een adequate validatie van het pooling proces uitvoert en documenteert.

De impact van een iets verlaagde sensitiviteit in de hoogste Ct waarden heeft waarschijnlijk geen of minimaal effect op het risico van transmissie van infectie in de populatie. Het missen van een enkele patiënt met een hele lage virale load is acceptabel als de behandelaar de patiënt met klachten bij een

Op 18 jul. 2020 om 22:07 heeft (10)(2e) <(10)(2e)@isala.nl> het volgende geschreven:

Beste (10)(2e)

We hebben elkaar deze week gesproken n.a.v. het op basis van COVID ct-waarden handelen (bron & contactonderzoek) door de GGD. Waardeer het zeer dat jullie dit hebben opgepakt.

Ik maak me als arts-microbioloog oprecht zorgen over de COVID-screening: niet alleen zie ik de genoemde interpretaties rondom PCR-resultaten bij de GGD, waar het advies van de inhoudsdeskundige niet in meegenomen wordt, maar ook dienen zich patiënten aan voor screening die niet in een screening thuishoren, maar m.i. door de GGD verwezen zouden moeten worden naar hun huisarts of behandelend specialist voor verdere klinische beoordeling of follow-up. Zeker als er sprake is van langdurige klachten (post-COVID) of als er twijfel ontstaat over de klinische betekenis van een (positieve) bevinding of als een COVID-screening gebeurt in bijzondere omstandigheden (zoals deze week bij een zwangere in partu). De screening is bedoeld om op populatie niveau te monitoren en dient verspreiding snel in te dammen door bron/contactonderzoek. Het is niet bedoeld ter vervanging van een consult of zie ik dat verkeerd?

<https://aleph.openstate.eu/entities/780803.e2ceb271f51fab35a5f53b9764da201f2fbd10d>

Hoi 5.1.2e

Onderstaande stukje heb ik gisteren opgesteld nav vragen van een journalist over serologische testen en het rapport van de taskforce serologie (https://www.nvmm.nl/media/3667/status-validation-elisa-and-auto-analysers_2020715_final.pdf), maar de principes zijn van toepassing op iedere diagnostische test. De vraag ging over een correcte positieve uitslag bij sterke klinische verdenking vs een willekeur iemand die getest wordt.

Het punt dat 5.1.2e opbracht, om kritisch naar curves te kijken, m.n. bij hoge Ct-waarden, zal de specificiteit van de test verbeteren en daarmee voor minder fout-positieven zorgen, terwijl de sensitiviteit nagenoeg onveranderd blijft. Dat zorgt dan voor een betere positief voorspellende waarde (PPV). Monsters met een hoge Ct-waarde niet positief noemen kan ook de specificiteit verbeteren, maar kan wel enige invloed hebben op de sensitiviteit, omdat er ook echte ziektegevallen zijn met een hoge Ct-waarde, die dan ten onrechte als negatief worden uitgeslagen. Een middenweg kan zijn, om een hoge Ct-waarde zwak-positief of twijfelachtig/dubieus te noemen, dan krijgt de aanvrager het signaal terug dat er misschien wel wat aan de hand is, maar niet zeker en kan die daar zondig op handelen: de waarschijnlijkheid obv kliniek en blootstellingsrisico mee wegen, eventueel een nieuw monster laten afnemen enz.

Groet,

5.1.2e

E – gen PCR

RIVM website - 17 april 2020

RdRP probes

Bij RIVM krijgen we regelmatig vragen of wij onze implementatie van de Corman PCR-testen aangepast hebben, omdat we in een groot aantal van alleen E-gen PCR-positieven die voor confirmatie worden aangeboden toch een RdRP positief signaal vinden. Onze implementatie is nog steeds zoals we initieel en nog steeds aan de labs verspreiden. Het enige wat we gewijzigd hebben is dat we één van de RdRP-gen probes van een Texas Red label hebben voorzien om onderscheid te kunnen maken tussen Sarbeco probe (P1) en SARS-CoV-2 probe (P2) signaal in één PCR-reactie. Daarom krijgt u van ons bij uitslagen van confirmaties drie uitslagen met Ct-waarden als de uitslag van een target en probe positief is. In tegenstelling tot SARS-CoV-1 (2003) wat vergelijkbare signalen geeft in beide PCR'en, geeft SARS-CoV-2 een later opkomend signaal met lager fluorescentie met de Sarbeco probe (P1) dan met de SARS-CoV-2 specifieke probe. Het kan indien gewenst daarom geen kwaad om de Sarbeco probe (P1) weg te laten uit de RdRP-gen PCR.

Overgaan naar E-gen PCR alleen

WHO geeft aan dat in gebieden waar SARS-CoV-2 'widespread' is het gebruik van RT-PCR voor één discriminerende target toereikend is. ECDC voegt daar nog aan toe dat confirmatie met een tweede target of hertesten of opnieuw bemonsteren alleen nodig is als de interpretatie van het eerste resultaat technisch moeilijk is of als de Ct waarde boven 35 is met het eerste target. Een technisch moeilijk resultaat is bijvoorbeeld als de amplificatiecurve bij hoge Ct in een rechte lijn schuin omhoog los komt van de duidelijk negatieve monsters, wat vaker gebeurt bij de E-gen PCR dan bij de RdRP gen PCR. Maar, uit persoonlijke communicatie blijkt dat het ene lab daar nooit last van heeft en het andere lab af en toe.

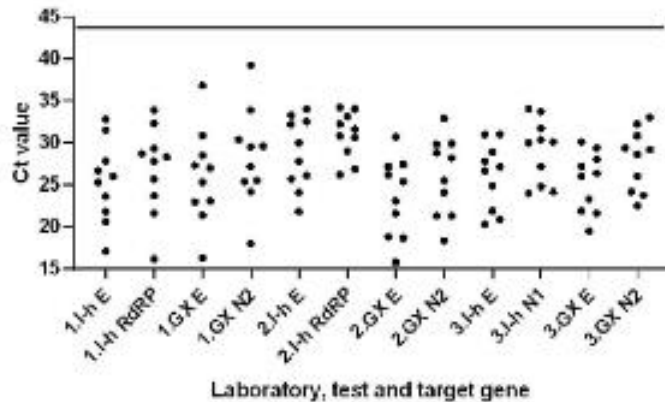
In Nederland, op basis van confirmaties, eigen diagnostiek bij RIVM en Erasmus MC en persoonlijke communicatie met laboratoria in het veld, blijkt dat het uiterst zeldzaam voorkomt dat RdRP-gen positief is en E-gen negatief. Een enkele keer waarbij sequentiële monsters van een patiënt zijn geanalyseerd wordt bij aflopen van de infectie op het einde soms alleen RdRP-gen positief gevonden.

Alles afwegende en geplaatst in het kader van tekorten bij moleculaire diagnostiek, lijkt het logisch om bij noodzaak om over te gaan op slechts 1 target de E-gen PCR te kiezen. De E-gen PCR is niet de meest discriminerende test omdat het alle SARS-like betacoronavirussen target. Aan de andere kant, er zijn geen andere SARS-like betacoronavirussen die op dit moment onder mensen circuleren. Beoordeling van de vorm van curves van E-gen PCR positieve monsters met Ct > 30 blijft een aandachtspunt. Is de curve duidelijk S-vormig dan is confirmatie met RdRP PCR niet echt nodig. Is de curve afwijkend, dan is confirmatie nodig. Afhankelijk van de gevoeligheid van de lokale implementatie kan dat met de RdRP PCR, hertesten of opnieuw bemonsteren.

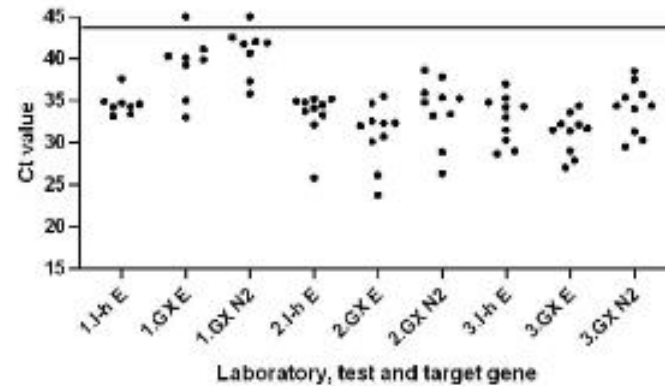


Cepheid, Xpert® Xpress SARS-CoV-2 – clinical specimens

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



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



From: [redacted] <[redacted]@inbiome.com>
Sent: woensdag 19 augustus 2020 10:53
To: [redacted] <[redacted]@rivm.nl>
Subject: RE: Rapportage

Beste [redacted]

Nog bedankt voor je snelle reactie na ons telefoontje.

In antwoord op je vragen: de negatieve beoordeling van Sen Serie 04 was op grond van slechts 1 Ct waarde gegenereerd van de 3 triplo's waarbij de curve geen mooie S-vorm had. De dubieuze beoordeling van Spec-06 was op grond van 2 van de 3 triplo's positief, waarbij beiden ook geen geweldige S-curve hadden.

Wij gebruiken jullie R en E gen primers/probes, die we bestellen bij Biolegio.

Ik ben wel geïnteresseerd in jullie geoptimaliseerde PCR

Het is nog onzeker of we doorgaan met de opwerkingsmethode gebruikt in deze validatie, dus we wachten dan iig nog met validatie op klinische monsters.

Met vriendelijke groet,

[redacted]

Van: [redacted] <[redacted]@rivm.nl>

Verzonden: donderdag 13 augustus 2020 17:22

Aan: [redacted] <[redacted]@inbiome.com>

Onderwerp: RE: Rapportage

Beste [redacted]

Hartelijk dank voor de resultaten.

Bijgevoegd de verwachte resultaten.

Het specificiteitspanel klopt op E-gen PCR mooi, RdRp blijft wat achter. EQA_CoV20-06 zou ook RdRp positief moeten zijn. EQA_CoV20-04 is voorlopig beoordeeld als educatief monster. Omdat jullie het 2^{de} lab zijn die resultaten voor deze versie van het panel rapporteren, kan ik nog geen overzicht geven van wat zo door de bank genomen gescoord wordt.

Het sensitiviteitspanel is conform wat verwacht wordt. Hier wordt E-gen alleen ook bij educatief monster Sen. Serie-04 gevonden. Je hebt dat beoordeeld met negatief terwijl bij specificiteit E-gen alleen positief is beoordeeld met dubieus. Heeft dat een reden?

Andere labs bereiken dit resultaat met sensitiviteitspanel:

<https://aleph.openstate.eu/entities/819247.7a5f1f92eed01f95da4134fb8e20f1f75a40a09>

To: [redacted] [redacted]@rivm.nl; [redacted] [redacted]@rivm.nl
Cc: [redacted] [redacted]@rivm.nl
From: [redacted]
Sent: Fri 8/7/2020 10:45:40 AM
Subject: RE: Pos en neg voorspellende waarde testen
Received: Fri 8/7/2020 10:45:52 AM

We kunnen in het lab met allerlei trucs sleutelen aan sensitiviteit, specificiteit, positief en negatief voorspellende waarde van een test.

Dit afhankelijk van de kwaliteitseisen die we aan een test stellen.

Soms willen we extreem gevoelig testen omdat we ons niet kunnen veroorloven een positieve te missen.

In andere gevallen is het niet zo erg een geval te missen maar willen voorkomen dat de test fout-positief uitgaat.

Toename van sensitiviteit en specificiteit zorgt er meestal voor dat het onderzoek kostbaarder wordt.

Naarmate we meer fouten accepteren kan de kostprijs van de test omlaag.

Dit is een aspect dat niet zoveel aandacht krijgt bij de SARS-CoV-2 PCR en antigeen detectie (sneltest op het virus zelf).

De antigeen detectie die al door een aantal commerciële labjes en bv luchtvaartmaatschappijen aangeboden wordt heeft m.n. een zeer beperkte sensitiviteit en daarnaast (vooral in onervaren hand) ook matige specificiteit.

De PCR is in Nederland van goede kwaliteit. Fout positieven zijn hier bijna uitgesloten.

Maar juist bij zwak positieve monsters kan het misgaan, dat heeft niet elk lab even goed onder controle.

Bij die monsters is veel ervaring en zijn extra mens-uren nodig om de juiste uitslag te genereren.

Hieronder onze ervaring in het kort:

In de piek van de epidemie hadden we veel positieven, maar weinig zwak positieven waarvan uiteindelijk de helft toch echt positief bleek.

In het dal van de epidemie hadden we geen positieven, maar nog wel enkele zwak positieven waarvan uiteindelijk niet één echt positief bleek.

Er zijn vele manieren om de PCR goedkoper te maken; doorgaans kost je dat kwaliteit en betrouwbaarheid.

Antigen test

From: [redacted] <[redacted]@rivm.nl>

Sent: donderdag 17 december 2020 17:23

To: [redacted] <[redacted]@rivm.nl>; [redacted] <[redacted]@rivm.nl>; [redacted] <[redacted]@rivm.nl>; [redacted] <[redacted]@rivm.nl>; [redacted] <[redacted]@rivm.nl>

Cc: [redacted] <[redacted]@rivm.nl>; [redacted] <[redacted]@rivm.nl>

Subject: groot verschil %pos in antigeen test vs PCR in teststraten

Importance: High

Hoi,

Ik had [redacted] gevraagd een analyse te doen naar %pos in teststraten verdeeld naar antigeen en PCR testen. Ik had verwacht dat antigeen testen een iets lager %pos zouden hebben maar ik schrik van hoe groot dat verschil is.

Ik denk dat dit besproken moet worden op het RT van dinsdag (of zelfs het OMT?), maar ik ben er zelf niet bij. Kunnen jullie dit inbrengen?

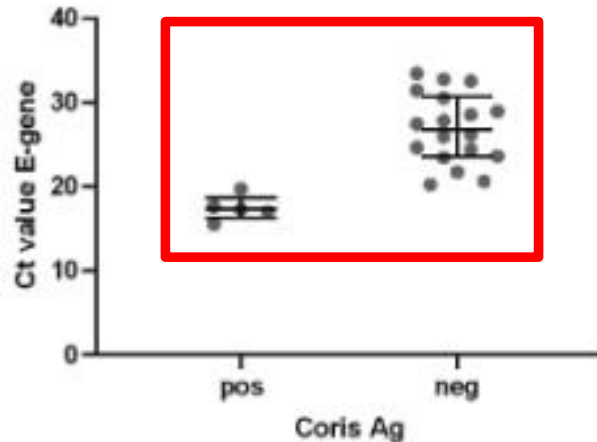
Aangehecht zijn resultaten :

- naar teststraat locatie [plot_grafiek_test_locatie.pdf]. Alleen teststraten die beiden doen zijn hier getoond. Zwolle springt er echt uit en in een aantal verdere grafieken (waar _z staat) zijn die data niet meegenomen. Op zich heeft dat niet zoveel invloed want Zwolle betreft maar een klein deel van de totale aantallen.



CORIS Ag POCT

Clinical specimens nose/throat combined



- LOD with SARS-CoV-2 $\sim 2 \cdot 10^4$ 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%.

Omdat Duyfjes het rapport van MUMC heeft gekregen met wel die laatste 34 testen erbij, is er dus een verschil in 34 testen op het totaal. Voor de conclusie maakte het niet uit 5.1.2f 5.1.2f zonder de laatste 34 testen). Met de laatste testen erbij genomen zijn de sensitiviteit en specificiteit van de antigeen sneltest t.o.v. PCR als volgt:

Indien de ongeldige testen van MUMC worden geïnccludeerd

| | | Reference test (PCR) | |
|----------------------|---------|----------------------|------|
| | | + | - |
| Test validation (Ag) | + | 5.1.2f | |
| | - | | |
| | Invalid | | |
| | | Sens | Spec |
| | | 5.1.2f | |

Uitleg getallen validatierapport

Door de strakke deadlines moest op 24 december 2020 de resultaten worden gerapporteerd. Op 14 december waren alle data van CBSL Tergooi binnen en op 21 december waren alle data van Comicro binnen. Op 23 december heb ik van MUMC een tussenstand doorgekregen. Met de tot op dat moment beschikbare data (van 3 locaties), was al duidelijk dat de sensitiviteit niet boven de 80% zou komen. Op 24 december zou ik de uitslagen van de laatste testen van MUMC krijgen. Omdat de PCR resultaten niet direct beschikbaar zijn (maar 1 of 2 dagen later) werd duidelijk dat de PCR uitslagen van 34 testen die dag niet meer bekend zouden zijn. Omdat er wel voldoende data was om de klinische validatie te beoordelen (> 100 PCR+ samples) en omdat 34 testen op 944 testen het verschil niet zouden maken, zijn in het rapport de laatste 34 testen niet meegenomen.

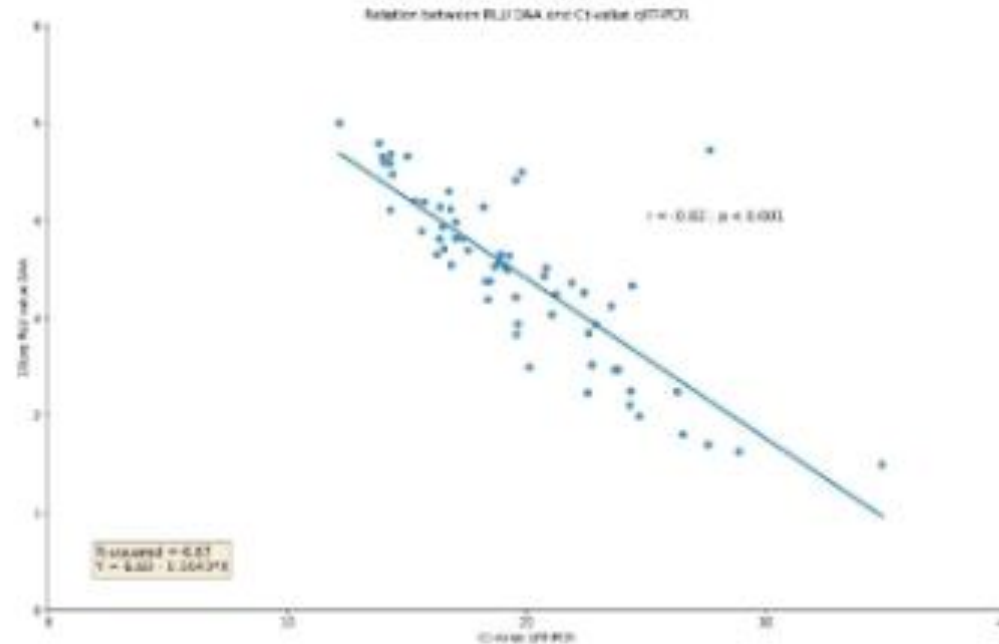
Indien de ongeldige testen van MUMC worden geëxcludeerd

| | | Reference test (PCR) | |
|----------------------|---------|----------------------|------|
| | | + | - |
| Test validation (Ag) | + | 5.1.2f | |
| | - | | |
| | Invalid | | |
| | | Sens | Spec |
| | | 5.1.2f | |

Waarom gezwart?

In house klinische validatie: Resultaten

- Relation between the 10log transformed RLU values of the DAA and Ct-values of the qRT-PCR.



Technische validatie: resultaten

- SARS-CoV-2 Ag assays performed in triplicate on nasopharynx **swabs** soaked in each dilution.

| Dilution step | TCID50/ml | Ct-value qRT-PCR* | Diasorin antigen (RLU signal range) | Roche antigen |
|------------------|-----------|-------------------|-------------------------------------|---------------|
| 10 ⁻¹ | 5,62E+06 | 10.23 | 3/3 (>100000) | 3/3 |
| 10 ⁻² | 5,62E+05 | 13.17 | 3/3 (14436-16112) | 3/3 |
| 10 ⁻³ | 5,62E+04 | 16.75 | 3/3 (2247-2437) | 3/3 |
| 10 ⁻⁴ | 5,62E+03 | 20.20 | 3/3 (328-272) | 3/3 |
| 10 ⁻⁵ | 5,62E+02 | 24.33 | 0/3 (86-89) | 0/3 |
| 10 ⁻⁶ | 5,62E+01 | 28.02 | 0/3 (53-62) | 0/3 |
| 10 ⁻⁷ | 5,62E+00 | 31.21 | 0/3 (52-60) | 0/3 |
| 10 ⁻⁸ | 5,62E-01 | 35.32 | 0/3 (56-65) | 0/3 |
| blanc | 0 | >50 | 0/3 | 0/3 |

In house klinische validatie: Resultaten

- A total of n=248 samples were included:
 - N=74 (29,9%) positive qRT-PCR for SARS-CoV-2 RNA.
 - N=174 (70,1%) negative qRT-PCR for SARS-CoV-2 RNA.

| | | qRT-PCR result | | | |
|-----|----------|----------------|-----------|---------|-----|
| | | positive | | | |
| DAA | positive | 54 | | | 0 |
| | | Ct > 30 | Ct: 25-30 | Ct < 25 | |
| | negative | 0 | 1 | 53 | 174 |
| | | 20 | | | |
| | | Ct > 30 | Ct: 25-30 | Ct < 25 | |
| | | 11 | 5 | 4 | |

Specificity:

- 100%

Sensitivity:

- Overall: 72,9%
- Ct-value < 30: 85,7%
- Ct-value < 25: 92,9%.

Teststraat klinische validatie: resultaten

- A total of n=823 samples were included:
 - N= 90 (10,9%) positive qRT-PCR for SARS-CoV-2 RNA.
 - N= 733 (89,1%) negative qRT-PCR for SARS-CoV-2 RNA.
- After 30 minutes inactivation and using cut-off 200.

| | | qRT-PCR result | | | |
|-----|----------|----------------|--------|----------|-----|
| | | positive | | negative | |
| DAA | positive | 58 | | | 23 |
| | Ct > 30 | Ct: 25-30 | Ct <25 | | |
| | | 0 | 4 | 54 | |
| | negative | 32 | | | 710 |
| | Ct > 30 | Ct: 25-30 | Ct <25 | | |
| | | 19 | 10 | 3 | |

Specificity:

- 96,7%

Sensitivity:

- Overall: 64,4%
- Ct-value < 30: 81,7%
- Ct-value < 25: 94,7%.

Teststraat klinische validatie: resultaten

- Increasing the Cut-off: 200 -> 300 -> 400.

200

Specificity:

- 96,7%

Sensitivity:

- Overall: 64,4%
- Ct-value < 30: 81,7%
- Ct-value < 25: 94,7%.

300

Specificity:

- 98,2%

Sensitivity:

- Overall: 63,3%
- Ct-value < 30: 80,3%
- Ct-value < 25: 93,0%.

400

Specificity:

- 99,2%

Sensitivity:

- Overall: 62,2%
- Ct-value < 30: 78,9%
- Ct-value < 25: 93,0%.

Verslag validatie SARS-CoV-2 antigeensneltest in medewerkersteststraat

Laboratorium: Comicro BV

Test: SARS-CoV-2 antigeentest Spartacus

Datum: 21-12-2020

Medewerkers uitvoering: 5.1.2e (bedrijfsverpleegkundige Dijklander ziekenhuis), test team coronastraat Dijklander, 5.1.2e (anios)

Arts-microbioloog: 5.1.2e

Afdeling/subspecialisme: serologie

1. Achtergrond

SARS-CoV-2 PCR sneltesten zijn beperkt leverbaar. Het opschalen van PCR-capaciteit is een ongaing proces. Voor het snel genereren van een uitslag mbt SARS-CoV-2 infectie zijn antigeentesten een mogelijk alternatief. Er zijn inmiddels verschillende antigeensneltesten landelijk gevalideerd en goedgekeurd voor gebruik bij patiënten met klachten in de GGD teststraten. De Spartacus is nog niet gevalideerd.

In de periode tussen 30-11-2020 en 18-12-2020 is door Comicro BV een kleinschalige validatie uitgevoerd waarin het gebruik van SARS-CoV-2 antigeensneltesten in de medewerkersteststraat is vergeleken met PCR-uitslagen.

Acceptatiecriteria (conform WHO en RIVM aanbevelingen):

- Sensitiviteit van $\geq 80\%$ tov PCR
- Specificiteit van $\geq 97\%$ tov PCR

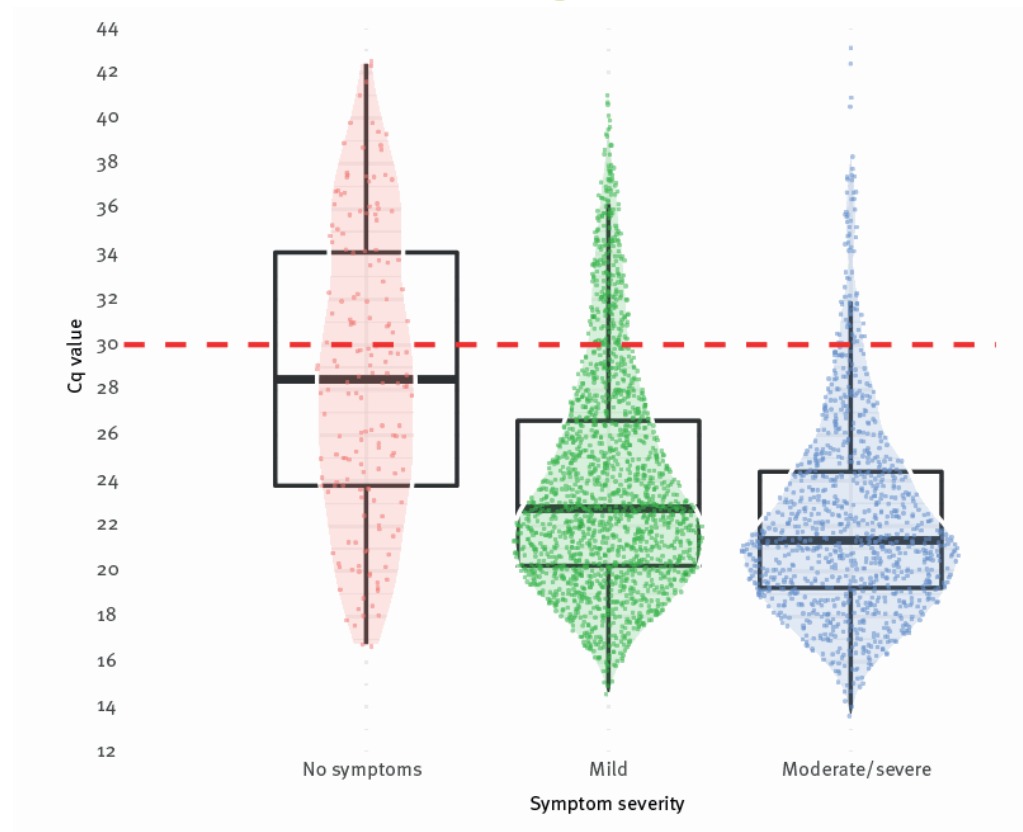
Low SARS-CoV-2 Cq values in healthcare workers with symptomatic COVID-19 infections, regardless of symptom severity, The Netherlands, January to August 2022

Like 0

Download

Check for updates

Carsten van Rossum¹, Corianne Meijer¹, Ingrid JM van Weerdenburg¹, Edmée C Bowles¹, Chantal P Rovers², Jaap ten Oever², Kim Stol³, Nannet DJ van der Geest⁴, Matthew B McCall¹, Alma Tostmann¹ 



Review Report - Corman-Drosten *et al.*, Eurosurveillance 2020

External peer review of the RTPCR test to detect SARS-CoV-2 reveals 10 major scientific flaws at the molecular and methodological level: consequences for false positive results.

Pieter Borger ^{1*}, Rajesh K. Malhotra ², Michael Yeadon ³, Clare Craig ⁴, Kevin McKernan ⁵
Klaus Steger ⁶, Paul McSheehy ⁷, Lidiya Angelova ⁸, Fabio Franchi ⁹, Thomas Binder ¹⁰
Henrik Ullrich ¹¹, Makoto Ohashi ¹², Stefano Scoglio ¹³, Marjolein Doesburg-van Kleffens ¹⁴
Dorothea Gilbert ¹⁵, Rainer J. Klement ¹⁶, Ruth Schrufer ¹⁷, Berber W. Pieksma ¹⁸, Jan Bonte ¹⁹,
Bruno H. Dalle Carbonara ²⁰, Kevin P. Corbett ²¹, Ulrike Kämmerer ²².

* Corresponding author

ABSTRACT

In the publication entitled “Detection of 2019 novel coronavirus (2019-nCoV) by real-time RT-PCR” (Eurosurveillance 25(8) 2020) the authors present a diagnostic workflow and RT-qPCR protocol for detection and diagnostics of 2019-nCoV (now known as SARS-CoV-2), which they claim to be validated, as well as being a *robust diagnostic methodology for use in public-health laboratory settings*.

https://www.researchgate.net/publication/346483715_External_peer_review_of_the_RTPCR_test_to_detect_SARS-CoV-2_reveals_10_major_scientific_flaws_at_the_molecular_and_methodological_level_consequences_for_false_positive_results

A reaction from Erasmus Medical Center virologist Marion Koopmans:



The image shows a screenshot of a tweet from Marion Koopmans. At the top left is her profile picture, a circular portrait of a woman with short blonde hair. To the right of the picture is her name "Marion Koopmans, virology; emerging infections" and her handle "@MarionKoopmans" with a blue "Follow" button. In the top right corner of the tweet box is a black "X" icon. The main text of the tweet reads: "So that is settled then... eurosurveillance rejects the retraction request submitted against the Corman PCR paper. Hope this can be out to rest now". Below the text is a link preview for "eurosurveillance.org" with a blue square icon containing a white letter 'E' and yellow stars. The preview text says "Response to retraction request and allegations of misconduct and scientific flaws". Below the link is the timestamp "6:20 PM · Feb 4, 2021" and an information icon. At the bottom of the tweet are three interaction buttons: a red heart icon with "355", a blue speech bubble icon with "Reply", and a blue share icon with "Share". Below these buttons is a rounded rectangular button with the text "Read 263 replies".

Marion Koopmans, virology; emerging infections
@MarionKoopmans · [Follow](#)

So that is settled then... eurosurveillance rejects the retraction request submitted against the Corman PCR paper. Hope this can be out to rest now

 eurosurveillance.org
Response to retraction request and allegations of misconduct and scientific flaws

6:20 PM · Feb 4, 2021

 355  Reply  Share

[Read 263 replies](#)

<https://retractionwatch.com/2021/02/05/on-covid-19-pcr-testing-paper-the-criteria-for-a-retraction-of-the-article-have-not-been-fulfilled/>

**Major shortcomings of the first WHO-recommended RT-qPCR
to “detect” SARS-CoV-2 and to “diagnose” Covid-19.**

NGS provides evidence that successive waves of
SARS-CoV-2 variants lack genomic relationship.

**Ulrike Kämmerer, Sona Pekova, Rainer J. Klement,
Rogier Louwen, Pieter Borger, Klaus Steger**

UK: Department of Obstetrics and Gynecology, Research Laboratory, University Hospital, Würzburg, Germany; u.kaemmerer@mail.uni-wuerzburg.de; <https://orcid.org/0000-0002-2311-6984>

SP: TILIA LABORATORIES, Laboratory for Molecular Diagnostics, Pchery, Czech Republic; sona.pekova@tilialaboratories.cz; <https://orcid.org/0000-0003-0106-4543>

RJK: Department of Radiation Oncology, Leopoldina Hospital Schweinfurt, Germany; rainer.klement@gmx.de; <https://orcid.org/0000-0003-1401-4270>

RL: Department of Medical Microbiology and Infectious Diseases, Erasmus University Medical Center Rotterdam, Rotterdam, Netherlands; rlouwen@hotmail.com; <https://orcid.org/0000-0003-2537-4941>

PB: The Independent Research Institute on Information and Origins, Lörrach, Germany; pieter.borger@hotmail.com

KS (Corresponding Author): Department of Urology, Pediatric Urology and Andrology, Molecular Andrology, Biomedical Research Center of the Justus Liebig University, Giessen.

https://www.researchgate.net/publication/364756963_Major_shortcomings_of_the_first_WHO-recommended_RT-qPCR_to_detect_SARS-CoV-2_and_to_diagnose_Covid-19_NGS_provides_evidence_that_successive_waves_of_SARS-CoV-2_variants_lack_genomic_relationship

Results Neglected principles of good scientific practice resulted not only in the publication of the WHO-recommended Charité RT-qPCR protocol, but also in multiple health-related problems. On the one hand, unnecessary quarantine of false positive-tested, but healthy individuals, as well as lockdowns and atrocious collateral damage on societies and economies worldwide due to a high number of false-positive “PCR-cases.” On the other hand, some chain of infection caused by false negative-tested, but symptomatic individuals lead to real Covid-19 clusters. Based on the genomic mutation profile of SARS-CoV-2, we were able to demonstrate that the three individual waves culminating from autumn 2020 to spring 2021 were successive, but lacked direct genomic relationship between each other. This became obvious with the omicron variant, which did not reveal direct evolutionary connection to any of the previous SARS-CoV-2 variants.

Conclusions Both our own results and data from available literature confirmed that validation of any PCR-based diagnostic test by sequencing is mandatory, not only during the initial phase of establishment, but also on a regular basis during the following time. To prevent future misconduct, science needs a reality check and must re-initiate the scientific dialogue and liberate itself from political influence and dogma.

Reliable detection of SARS-CoV-2 RNA using RT-(q)PCR critically depends on primer design and PCR test parameters: an evaluation study of novel primers

 Voogd; Liampa;  Borger; Dourou; Arhondakis;  Louwen

ABSTRACT

Objectives To assess the performance of newly developed polymerase chain reaction (PCR) primers to detect severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2) RNA, using gel electrophoresis and sequencing. Our results were compared against those obtained with the primers developed by Charité Berlin and ones commercially available in the Applex™ SARS-CoV-2 assay.

Design Evaluation study

Antistoffen test ondermijning

Door het bepalen van de antistoffen gerelateerd aan SARS-CoV-2 infectie in het bloed kan worden vastgesteld of een infectie eerder is doorgemaakt. Serologisch onderzoek toont de aanwezigheid van antistoffen tegen het virus aan. De afweerstoffen worden aangemaakt nadat het virus lichaamscellen heeft geïnfecteerd en het immuunsysteem heeft geactiveerd. Dit gebeurt dus tijdens en na het doormaken van de infectie, waarbij de infectie niet altijd tot duidelijke klinische klachten hoeft te hebben geleid. Gemiddeld duurt het 7 tot 14 dagen na infectie voordat antistoffen (IgM als eerste respons en IgG als tweede respons) tegen het virus meetbaar zijn in het bloed. Het is echter duidelijk dat bij een deel de IgG response pas na 14 dagen gemeten wordt. Daarbij wordt in toenemende mate duidelijk dat pas 4 weken na de eerste ziektedag met grootste zekerheid gesteld kan worden of er antistoffen aanwezig zijn of niet.

Defensie heeft sinds kort zelf de beschikking over een nieuwe sneltest van de firma Biozek de COVID-19 IgG/IgM Rapid Test Cassette. Door Defensie wordt op dit moment, in samenwerking met het AMC ervaring opgedaan met deze test. De eerste resultaten van het AMC voor wat betreft sensitiviteit en specificiteit zijn veelbelovend terwijl er daarnaast ook voorlopige berichten zijn dat de test minder goed werkt in bepaalde patiënten groepen. De studie heeft tot doel de sensitiviteit en specificiteit te bepalen voor toepassing in de defensie populatie. Het beoordelen op geschiktheid om snel immuniteit aan te tonen na infectie is onderdeel is van de studie in samenwerking met het AMC en RIVM.

Bij het RIVM worden in bloed van de patiënt antistoffen gemeten tegen niet alleen het SARS-CoV-2 virus, maar ook tegen andere coronavirussen, waaronder de humane seizoens-coronavirussen waardoor een profiel van de gemeten antistoffen gemaakt kan worden om de specificiteit te bepalen. Ook wordt de gemeten antistoffen gekarakteriseerd in virus neutralisatie om hun functionaliteit te bepalen, waardoor mogelijk een uitspraak gedaan kan worden over immuniteit door aanwezige antistoffen

From: (10)(2e) <(10)(2e)@ggd.amsterdam.nl>
Sent: donderdag 9 april 2020 15:09
To: (10)(2e) <(10)(2e)@certe.nl>; (10)(2e) <(10)(2e)@pamm.nl>
Cc: (10)(2e) <(10)(2e)@rivm.nl>; (10)(2e) <(10)(2e)@rivm.nl>; (10)(2e) <(10)(2e)@rivm.nl>
Subject: RE: COVID serologie

Ik snap niet waarom labs pas na het verrichten van een rondzending van het RIVM COVID-PCR mogen doen, maar dat voor serologie geen enkele restrictie geldt en dat iedereen dat zelf mag uitzoeken. Wij doen op GGD niets aan serologie want krijgen geen sera..

(10)(2e)
arts-microbioloog
Infectieziekten
Streeklaboratorium/Staf

GGD Amsterdam

Van: [redacted] [redacted] [redacted]@rivm.nl]

Verzonden: donderdag 28 mei 2020 09:57

Aan: [redacted] <[redacted]@ikazia.nl>

Onderwerp: RE: Serologie

Hoi,

Voor het uitvoeren van een validatie is geen protocol. De verschillende labs voeren de validaties uit met sera die ze zelf hebben verzameld wij hebben daar geen rol in. Wij verzamelen de data van de verschillende labs en maken daar een rapportje van (iedere week een update) die wordt gedeeld met de leden van de NVMM en is op de site van het RIVM te vinden. Ik stuur je het rapport van de validaties die al gedaan zijn in de verschillende labs in NL.

Groet,

[redacted]

From: [redacted] <[redacted]@ikazia.nl>

Sent: woensdag 27 mei 2020 15:51

To: [redacted] [redacted] <[redacted]@rivm.nl>

Subject: RE: Serologie

Is daar een protocol voor? Die heb ik niet ontvangen destijds omdat we geen Wantai doen.

Samenvatting van:

Rapportage Status validatie van ELISA en auto-analyzer antilichaam testen voor diagnostiek van SARS-CoV-2 ; overwegingen voor gebruik.

30 April 2020.

Taskforce serologie- Landelijke coördinatie testcapaciteit

Aanleiding.

In reactie op de groeiende behoefte naar wereldwijde testcapaciteit tijdens de SARS-CoV-2 pandemie, wordt een toenemend aantal ELISA en auto-analyzer antilichaam testen aangeboden. Deze worden gebruikt de aanwezigheid van antilichamen tegen SARS-CoV-2 te onderzoeken of iemand een actieve infectie heeft met SARS-CoV-2 of een infectie heeft doorgemaakt. Op 30 april 2020 is het aanbod op de internationale markt groot: 92 verschillende ELISA testen voor antilichaam detectie (www.finddx.org). Het is noodzakelijk om in dit almaar groeiende aanbod serologische testen beslissingen te nemen met betrekking tot de klinische en/of public health inzetbaarheid van deze testen waarbij de mate van betrouwbaarheid van de testen een doorslaggevende rol zal hebben.

Rapportage.

In bijgevoegde rapportage worden de overwegingen en randvoorwaarden bij de inzet van ELISA en auto-analyzers voor SARS-CoV-2 antilichaam detectie in klinische en public health context beschreven alsmede de eerste validatie data die in Nederlandse laboratoria gegenereerd zijn.

Criteria waaraan antilichaam testen moeten voldoen verschillen afhankelijk van de toepassing van de test. In deze eerste screening van ELISA en auto-analyzer testen zijn de volgende situaties voor gebruik en bijbehorende criteria gehanteerd (expert opinion taskforce serologie) om een test als kansrijk te beoordelen:

- Voor individuele patiënten diagnostiek: IgG en IgM antilichamen: beide *apart* een specificiteit >98% en sensitiviteit >95% vanaf 10 dagen¹ na ontstaan klachten
- Wanneer door (inter)nationaal onderzoek beter inzichtelijk is geworden hoe aanwezigheid van antistoffen een indicatie kan zijn voor aanwezigheid van beschermende immuniteit tegen herinfectie (en mogelijk een verminderde besmettelijkheid) kan het testen of mensen in specifieke (sub)populaties, bijvoorbeeld zorgmedewerkers en mantelzorgers, een SARS-CoV-2 infectie hebben doorgemaakt zinvol zijn. Bijvoorbeeld met als mogelijk doel aanpassen zekere controle maatregelen: Alleen IgG: specificiteit >98%, sensitiviteit >85% vanaf 10 dagen¹ na ontstaan klachten
- Epidemiologische sero prevalentie studies: Alleen IgG: specificiteit >98%, sensitiviteit >95%

De toepasbaarheid van deze criteria zal per situatie afgewogen moeten worden door de lokale experts.

¹ Uit internationale overleggen, o.a. in de WHO labtechnische werkgroep, komt steeds meer naar voren dat pas 4 weken na start symptomen met de hoogste zekerheid op basis van serologie gesteld kan worden of iemand een infectie heeft doorgemaakt.

3 Resultaten en conclusies validatie POC antilichaam testen in Nederlandse laboratoria

3.1 Afbakening en criteria

Status per 16 juni 2020

De resultaten die beschikbaar zijn van validaties van POC testen per 16 juni 2020 zijn voornamelijk resultaten van beperkte validaties, omdat veel testen niet in grote aantallen beschikbaar waren/zijn. De data in dit verslag kan daarom gezien worden als een eerste screening voor de toepasbaarheid van de POC antilichaamtesten. Testen met goede prestaties kunnen eventueel geselecteerd worden voor grondige validatie, indien deze testen in voldoende mate beschikbaar zijn.

Omdat SARS-CoV-2 nog maar recent in Nederland is geïntroduceerd is voornamelijk de sensitiviteit en specificiteit van de IgG antilichamen (versus IgA en IgM) van belang als marker voor het hebben doorgemaakt van de infectie. Het gebruik van serologie en daarmee serologische POCT wordt op dit moment, uitsluitend indien voldoende betrouwbaar, geadviseerd voor de acute patiënten zorg. . Criteria waaraan antilichaam testen moeten voldoen verschillen afhankelijk van de toepassing van de test. In deze screening van POC antilichaam testen¹ zijn de volgende criteria gehanteerd (expert opinion) om een test als kansrijk te beoordelen:

- Voor individuele patiënten diagnostiek: IgG en IgM antilichamen: beide *apart* een specificiteit >98% en sensitiviteit >95% vanaf 14 dagen² na ontstaan klachten bij zowel ernstige als milde klachten.

¹ De POCT in dit verslag zijn op de markt voor IgG en IgM bepalingen. (Geen IgA of totaal IgG bepalingen)

² Uit internationale overleggen, o.a. in de WHO labtechnische werkgroep, komt steeds meer naar voren dat pas 4 weken na start symptomen met de hoogste zekerheid op basis van serologie gesteld kan worden of iemand een infectie heeft doorgemaakt. Dit is een levend document en aanpassingen worden voorzien naarmate data omtrent de kinetiek van immunologische responses in verschillende populaties robuuster wordt.

To: [5.1.2e] ([5.1.2e]@gmail.com) ([5.1.2e]@gmail.com]
From: [5.1.2e]
Sent: Thur 8/27/2020 9:23:19 AM
Subject: Serologie SARS-CoV-2
Received: Thur 8/27/2020 9:23:20 AM

Hoi [5.1.2e]

In dit artikel zijn serologische testen geevalueerd:

<https://www.medrxiv.org/content/10.1101/2020.04.09.20056325v1.full.pdf>

Conclusie is dus:

The results showed 100% specificity for the Wantai SARS-CoV-2 Total Antibody ELISA, 93% for the Euroimmun IgA ELISA, and 96% for the Euroimmun IgG ELISA with sensitivities of 90%, 90%, and 65%, respectively.

Er is een groot aantal Wantai testen ingekocht door de Nederlandse overheid en een deel daarvan wordt gebruikt door Sanquin in hun seroprevalentie onderzoeken onder bloeddonoren. Sanquin zegt daarover (vertrouwelijk): "Wantai is als fabrikant en testontwikkelaar gebleken betrouwbaar, consistent en technologisch soms superieur aan Westerse serologie". Voor de Wantai is wel veneus bloed nodig. Er zijn trouwens best andere Europese landen die de Euroimmun gebruiken.





Het RIVM doet ook regelmatig onderzoek naar percentage van de bevolking dat antistoffen heeft in de PIENTER Corona studie. Daarin worden antistoffen in vingerprik bloed gemeten in een multiplex antistoftest op basis van Luminex technologie. Specificiteit van die assay is 99% en sensitiviteit is 85%. In zo'n multiplex wordt ook gekeken naar andere humane coronavirussen. Bij RIVM worden ook nog andere testen gebruikt, maar die zijn te gespecialiseerd voor routine gebruik, zoals virusneutralisatie testen, protein micro-array etc.

De eisen van RIVM zijn:

Minimal performance criteria:

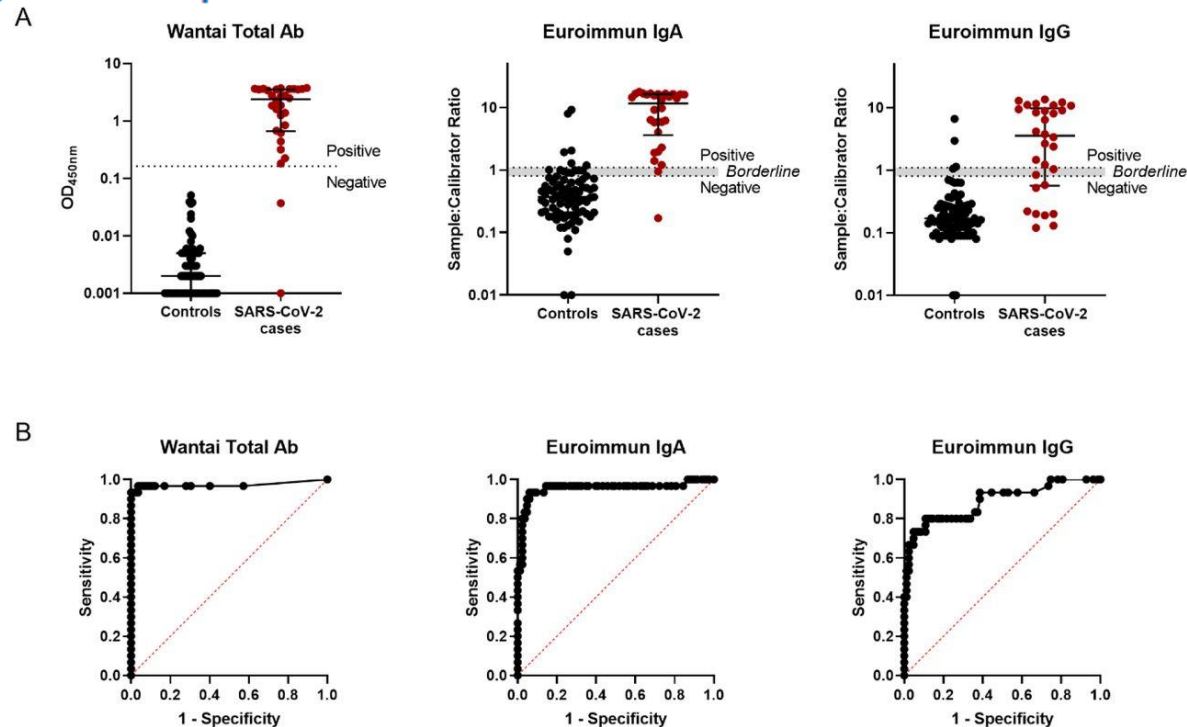
- individual patient diagnostics: specificity >98%; sensitivity >95 % for both IgG and IgM
- individual status of having had a SARS CoV 2 infection in specific (sub)populations, e.g. health care workers and caregivers of vulnerable persons to provide guidance in use of (types of) PPE: specificity >98%; sensitivity >80%. Only IgG.
- sero epidemiological studies (e.g. collecting seroprevalence data as proxy for herd immunity, input in models): specificity >98%; sensitivity >90%. Only IgG.

Evaluation of nine commercial SARS-CoV-2 immunoassays

 Ria Lassaunière, Anders Frische,  Zitta B. Harboe, Alex C.Y. Nielsen,  Anders Fomsgaard,  Karen A. Krogfelt, Charlotte S. Jørgensen

doi: <https://doi.org/10.1101/2020.04.09.20056325>

This article is a preprint and has not been peer-reviewed [what does this mean?]. It reports new medical research that has yet to be evaluated and so should *not* be used to guide clinical practice.



<https://www.medrxiv.org/content/10.1101/2020.04.09.20056325v>



Vaccines & Immunizations

CDC > Vaccines and Immunizations Home > Basics and Common Questions

🏠 Vaccines and Immunizations
Home

For Parents

For Adults

For Pregnant Women

For Healthcare Professionals

COVID-19 Vaccination +

COVID-19 Vaccine Data Systems

Vaccinate with Confidence

For Immunization Managers

Basics and Common Questions —

Immunization: The Basics

Immunization: The Basics

[Print](#)

Understanding mRNA COVID-19 Vaccines

mRNA vaccines are a new type of vaccine to protect against infectious diseases. Learn about how [COVID-19 mRNA vaccines work](#).

Definition of Terms

Immunity: Protection from an infectious disease. If you are immune to a disease, you can be exposed to it without becoming infected.

Vaccine: A preparation that is used to stimulate the body's immune response against diseases. Vaccines are usually administered through needle injections, but some can be administered by mouth or sprayed into the nose.

Vaccination: The act of introducing a vaccine into the body to produce protection from a specific disease.

Immunization: A process by which a person becomes protected against a disease through vaccination. This term is often used interchangeably with vaccination or inoculation.

Related Pages

[See the Vaccine and Immunization Glossary of Terms](#)

To: (10)(2e) (10)(2e) @minvws.nl; (10)(2e) 3jrowx1t (10)(2e); (10)(2e) @minvws.nl; (10)(2e)
(10)(2e) @minvws.nl
Cc: (10)(2e) (10)(2e) (10)(2e); (10)(2e) @minvws.nl; (10)(2e) (10)(2e); (10)(2e) @minvws.nl
From: (10)(2e)
Sent: Mon 5/4/2020 10:27:00 AM
Subject: RE: aanvullingen op outline kamerbrief
Received: Mon 5/4/2020 10:27:01 AM

Hoi (10)(2e)

Bij deze mijn tekst over serologie. De laatste 2 alinea's bevat de beantwoording van de kamervragen van de (10)(2e) gericht aan de IGJ.

Groeten, (10)(2e)

De taskforce serologie heeft advies gegeven over de strategie rond serologisch testen met de kennis van nu. Dit advies behelst verschillende componenten:

1. *Populatie-brede studies* vergroten inzicht in de verspreiding van het virus onder de bevolking. Er zijn al studies gaande zoals de onderzoeken van Sanquin en het RIVM (pienter) waar ik eerder over heb bericht;
2. *Specifieke populatie studies* kunnen inzicht geven in de verspreiding van het virus onder bevolkingsgroepen zoals zorgmedewerkers. Op dit moment lopen er verschillende studies in Nederland onder andere vanuit het RIVM, EU en ZonMW.
3. Het gebruik van *serologische testen voor individuele patiënten diagnostiek* voor vaststellen van besmetting met COVID-19. In sommige gevallen zijn moleculaire testen die gebruikt worden om te kijken of iemand het virus heeft, niet toereikend. Serologische testen kunnen hierbij een aanvullende functie hebben om ervoor te zorgen dat de juiste behandeling en controlemaatregelen worden gekozen bij ernstig zieke patiënten met grote verdenking op infectie met SARS-CoV-2;

Het voorstel was om dat als grove samenvatting te doen. Bij dezen stuur ik je de passage uit de tekst, misschien maakt het de afweging of dit op onze site mag komen makkelijker?

Sneltests onderzocht

De Taskforce serologie, onderdeel van Landelijke Coördinatiestructuur Testcapaciteit, structureert het onderzoek naar sneltests voor COVID-19 en heeft deze week een eerste rapport uitgebracht van de Nederlandse resultaten. Er zijn op 20 april in totaal 16 sneltests in meer of mindere mate onderzocht. Een aantal tests was goed in staat om antistoffen aan te tonen bij patiënten met ernstige COVID-19 infecties, als de test meer dan tien dagen na de eerste ziektedag werd verricht.

(10)(2e) "Het is de vraag wat de toegevoegde waarde daarvan is, omdat dit om patiënten gaat met een ernstige infectie. Zij zijn vaak al positief getest zijn met een PCR." De tests scoorden minder goed bij COVID-19 patiënten met milde klachten. Ze zijn daarom onvoldoende geschikt om te meten hoeveel mensen in de populatie de ziekte hebben doorgemaakt.

Ten slotte scoren de sneltests ook onvoldoende bij patiënten met ernstige klachten bij wie de test wordt verricht binnen tien dagen na het ontstaan van klachten; daarmee vervalt de sneltest als methode om de diagnose mee te stellen in de acute fase. De werkgroep geeft aan dat het onderzoek nog onvolledig is en in volle gang. Zo wordt nog verder onderzocht of de testen kruisreageren met de normale seizoenscoronavirussen (non-COVID-19) en is nog onvoldoende duidelijk of de gemeten antistoffen ook gelijk staan aan langdurige immuniteit (dit geldt voor antistof testen in het algemeen). Bron: verslag Taskforce serologie, verstuurd aan leden NVMM: "Status en resultaten validatie sneltesten_20200420"

3. *Sero-prevalentie-risico-factor studies*. ELISA testen zouden hier geschikt voor kunnen zijn, mits er met high-throughput methoden van grote aantallen monsters met hoge specificiteit en sensitiviteit een zo betrouwbaar mogelijke inschatting van prevalenties en daarmee correlatie aan risico-factoren gemaakt kan worden.
4. *Kennisgaten*: voor een optimale besluitvorming rond zinvol inzetten van serologische diagnostiek is meer diepgaande kennis over de immunoresponses (o.a. kinetiek, aard) bij SARS-COV-2 infecties bij verschillende populaties nodig. Voor het beantwoorden van deze vragen is onderzoek nodig dat naar verwachting enige tijd in beslag gaat nemen.

Internationale context

Op 24 april heeft de World Health Organization gesteld dat er niet voldoende bewijs is dat aanwezigheid van antilichamen tegen SARS-CoV-2 beschermt tegen een tweede infectie (<https://www.who.int/news-room/commentaries/detail/immunity-passports-in-the-context-of-covid-19>). Daarom is het dan ook niet veilig om mensen met antilichamen zonder beschermende maatregelen voor COVID-19 patiënten te laten zorgen.

16 juni 2020

1.4 Advies om verstandig gebruik te maken van antilichaamtesten

De antilichaamtesten tegen SARS-CoV-2 zijn zeer recent ontwikkeld. Ze zijn ontwikkeld om infecties vast te stellen bij patiënten die in de ziekenhuizen terecht komen: mensen die flinke klachten hebben en met een hoge a priori kans op een infectie met SARS-CoV-2. De specificaties lijken indrukwekkend, maar onafhankelijk onderzoek dat tot nu toe verricht is laat zien dat die specificaties niet waargemaakt kunnen worden als een bredere populatie patiënten wordt getest. Een toepassing van de testen buiten de beoogde doelgroep van de test leidt tot veel onjuiste uitslagen. Ondanks de grote haast die er is, is het niet wenselijk om testen in te zetten voordat deze de noodzakelijke grondige evaluatie hebben gehad.

De World Health Organization (WHO) heeft op 8 april 2020 stelling genomen over het gebruik van POCT en adviseert dit soort testen alleen te gebruiken in research verband. Ze zouden niet gebruikt moeten worden voor andere doeleinden, zoals klinisch diagnostische of als onderliggend bewijs voor beleidsvorming, totdat meer bewijs geleverd en verzameld is voor het gebruik op specifieke indicaties (<https://www.who.int/news-room/commentaries/detail/advice-on-the-use-of-point-of-care-immunodiagnostic-tests-for-covid-19>).

In de hoofdstukken 2 en 3 hieronder worden voorlopige resultaten van onderzoeken in Nederland naar de mogelijke toepassingen van POCT gedeeld.

Serologische test

Onderzoek om te kijken of er antistoffen tegen het nieuwe coronavirus in je bloed zitten. Hiervoor wordt wat bloed afgenomen. Deze testen worden op dit moment alleen afgenomen voor onderzoeksdoeleinden door geselecteerde laboratoria.

Sneltesten Even snel een serologische sneltest kopen bij een commerciële aanbieder om te kijken het virus al gehad hebt? Dat is geen goed idee. Er zijn veel van deze zogenaamde sneltesten in omloop. Uit onderzoek blijkt dat deze testen niet betrouwbaar zijn. (link taskforce samenvatting https://www.nvmm.nl/media/3520/20200519_status-en-resultaten-validatie-sneltesten_final.pdf Ook de Inspectie voor Gezondheidszorg en Jeugd (IGJ Inspectie Gezondheidszorg en Jeugd) heeft hier een bericht over naar buiten gebracht. [Meer info bij IGJ](#). Ook de Wereldgezondheidsorganisatie (WHO) wijst het gebruik van sneltesten af.

Waarschuwing over zelftesten voor coronavirus

Nieuwsbericht | 16-03-2020 | 15:55

Testen die thuis gebruikt kunnen worden om na te gaan of je het coronavirus bij je draagt zijn verboden als ze niet eerst beoordeeld zijn door een aangemelde instantie. Zelftesten kunnen een foutief resultaat opleveren, positief of negatief. Gebruikers raken dan onnodig ongerust of ze worden juist ten onrechte gerustgesteld. Daarom moet een aangemelde instantie altijd beoordelen of een zelftest bruikbaar en begrijpelijk is voor gebruik thuis.

Wettelijke eisen

Voor zelftesten gelden wettelijke eisen. Elke zelftest - voor welke ziekte of conditie dan ook - moet door een aangemelde instantie ("notified body") beoordeeld worden. De test moet een CE-markering dragen. Achter de CE-markering moet een viercijferige code staan. Dit is de unieke identificatie van de aangemelde instantie die de test beoordeeld heeft. Het is belangrijk dat de zelftest eenvoudig te gebruiken is door leken in een thuissituatie. Dit is op de verpakking terug te vinden doordat er vermeld moet zijn dat het om een zelftest gaat.

Daarnaast moet een test voor thuisgebruik in Nederland een Nederlandstalige gebruiksaanwijzing hebben. Ook moet er duidelijk in staan dat de gebruiker geen medische beslissingen mag nemen zonder eerst zijn of haar arts te raadplegen. Een test die bedoeld is voor professioneel gebruik in een laboratorium, is niet goedgekeurd voor thuisgebruik.

<https://web.archive.org/web/20200318230720/https://www.igj.nl/actueel/nieuws/2020/03/16/waarschuwing-over-zelftesten-voor-coronavirus>

Ontheffingen antigeentesten

Publicatie | 22-07-2021

De volgende leveranciers hebben een ontheffing gekregen om een antigeen-sneltest als corona-zelftest op de Nederlandse markt te mogen brengen:

- Ontheffing Green Spring SARS-CoV-2 Antigen Rapid test kit (Colloidal Gold) van Belscan Continental BV
- Ontheffing voor de Deepblue COVID-19 (SARS-CoV-2) Antigen Test Kit (Colloidal Gold)
- Ontheffing Becton Dickinson BV BD Kit Rapid detection of SARS-CoV-2 van BD Life Sciences
- Ontheffing AEnerG BV Lyher COVID-19 antigeen test kit (nasal)
- Ontheffing BD Veritor™ System for Rapid Detection of SARS-CoV-2

Op de verpakking van deze sneltesten staat een CE-logo zonder getal erachter.

<https://www.rijksoverheid.nl/documenten/publicaties/2021/03/10/ontheffingen-antigeentesten>

To: (10)(2e) (10)(2e)@minvws.nl
Cc: (10)(2e) (10)(2e) (10)(2e) (10)(2e)@minvws.nl
From: (10)(2e)
Sent: Mon 9/28/2020 12:38:23 PM
Subject: RE: De efficiëntere en betrouwbare oplossing voor de Covid-19 test problematiek
Received: Mon 9/28/2020 12:38:24 PM

BEste (10)(2e) dit is het antwoord op deze test, en wat je kunt versturen:

Helaas betreft dit een sneltest die antistoffen detecteert en niet een antigeentest. Er is in Nederland een negatief advies af voor het gebruik van dit type sneltesten vanwege de matige betrouwbaarheid. Zie hierbij <https://www.rivm.nl/sites/default/files/2020-05/samenvatting%20rapportage%20snellesten%2020200505.pdf>

Dit type sneltest zal dan ook niet meer worden gevalideerd door het RIVM. Het RIVM is momenteel bezig met de validatie van Antigeen-testen.

<https://aleph.openstate.eu/entities/720544.1e24d4dfa1810419b1ffa6e661139485e0ec1f2b>

To: [redacted] [redacted]@rivm.nl
From: [redacted]
Sent: Wed 9/16/2020 11:44:11 AM
Subject: RE: Doorst: Covid Serologie [redacted]
Received: Wed 9/16/2020 11:44:12 AM
[Memo SarsCov2 Serologie in \[redacted\] \[redacted\].docx](#)

Hoi [redacted]

Het gebruik van POC testen wordt door de [redacted] afgeraden (en dat standpunt steunen wij van het RIVM ook) samen met het feit dat je voor alle voorgestelde indicaties toch de wantai gebruikt zou ik de POCT niet opnemen in dit stuk. Verder is het advies van de stuurgroep serologie om voor diagnostiek van patiënten zeker niet de POCT te gebruiken.

Verder denk ik dat het gebruiken van serologie uitslagen en de uitspraken van immuniteit is er een waar je mee moet oppassen en ben ik niet voor. Als vervanging van de PCR zou overwogen moeten worden om bijv. antigeentesten te gaan gebruiken. Deze worden nu op meerdere plekken gevalideerd. Er is er al een (Bioeasy) op basis van fluorescentie meting in een apparaatje die behoorlijk is uitgetest en geeft een sensitiviteit tov PCR van 80-90%.

Vragen van het lid **Van Houwelingen** (FVD) aan de Minister van Volksgezondheid, Welzijn en Sport over *de unaniem aangenomen Motie 25 295, nr. 1436 van het lid Pouw-Verweij c.s.* (ingezonden 22 november 2021).

Antwoord van Minister **Kuipers** (Volksgezondheid, Welzijn en Sport) (ontvangen 17 januari 2022)

Vraag 1

Bent u op de hoogte van de unaniem aangenomen motie van het lid Pouw-Verweij c.s. (25 295, nr. 1436.)?

Antwoord 1

Ja.

Vraag 2 en 3

Kunt u toelichten waarom er nog geen uitvoering is gegeven aan deze motie? Op welke termijn verwacht u dat serologische tests (wel) toegestaan zullen zijn?

Antwoord 2 en 3

Het OMT is om advies gevraagd over de duur en inzet van serologisch testen voor nationaal gebruik. Het OMT is van mening dat voor individueel gebruik deze testen niet geschikt zijn om te gebruiken als basis voor een coronatoegangsbewijs (CTB).¹ Zij geven aan dat met een serologische test het tijdstip van infectie niet is vast te stellen en er derhalve geen termijn aan het CTB kan worden gekoppeld. Daarnaast zijn er geen internationaal geaccepteerde afkapwaardes (*correlate of protection*) tussen het aantonen van de antistoffen en de mate van bescherming.

Ook in Europa is er nog geen overeenstemming over het gebruik van serologische testen als basis voor een herstelbewijs om mee te reizen. Een herstelbewijs wordt alleen erkend op basis van een positieve testuitslag vastgesteld met een PCR test en is 180 dagen geldig. Dat het moment van infectie niet vastgesteld kan worden, is ook in de EU een barrière om er een herstelbewijs aan te koppelen.

Ook de opkomst van de omikronvariant vraagt om nadere analyse. Het is belangrijk om te weten in welke mate de antistoffen die aangemaakt zijn na

¹ Advies n.a.v. het 127^e OMT.

In maart 2020 is een start gemaakt met het **PIENTER Corona onderzoek**. Met dit onderzoek kan worden bepaald welke personen een infectie hebben doorgemaakt en hoe dat is gerelateerd aan leeftijd en symptomen, en aan contact-structuren, demografie en overige risico factoren. Dit moet inzicht en helderheid gaan geven in de verspreiding van het virus en de opbouw en duur van immuniteit in de Nederlandse bevolking. Gebruik makend van deelnemers uit de eerder uitgevoerd

PIENTER3 studie kon in korte tijd gestart worden met een specifieke Corona uitbreiding van PIENTER (PICO). Vanwege de lock-down is de logistiek aangepast en worden deelnemers gevraagd om thuis een vingerprik af te nemen en een vragenlijst in te vullen. De studie zal 1,5 jaar duren waarin er maximaal 6 afnamerondes zullen zijn. Het longitudinale design van de studie maakt het mogelijk om de kinetiek van de antistoffen te onderzoeken. Om een betere landelijke dekking te krijgen is het aantal deelnemers in een tweede ronde uitgebreid en nu worden binnen alle gemeentes, op Schiermonnikoog na, gegevens verzameld. In totaal heeft de PICO 7800 deelnemers. Alle afgenomen vingerprikjes worden op het laboratorium onderzocht op hoeveelheid, kwaliteit en functionaliteit van antistoffen tegen SARS-CoV-2.

De serologische studie onder bloedbank donoren (Sanquin, H Zaaijer) is aanvullend hierop zeker vanwege de hogere frequentie van metingen. Voor deze studie wordt een andere serologische test gebruikt en goed inzicht in onderlinge performance en interpretatie is nodig.

In 2021 zullen meerdere Pienter Corona rondes volgen om zo het verloop van de immuniteit gedurende de pandemie te kunnen monitoren (aparte PICO offerte). Dit is een samenwerking met EPI. De analyses van serum en vragenlijst gegevens zullen worden uitgevoerd.

Uit onderzoek dat Sanquins prof. dr. Hans Zaaijer afgelopen weken heeft gedaan, blijkt dat ongeveer 3% van Nederlandse donors nu antistoffen tegen het coronavirus heeft, en dus eerder besmet is geweest. Dat is de voorlopige conclusie die donderdag 16 april naar buiten gekomen is.

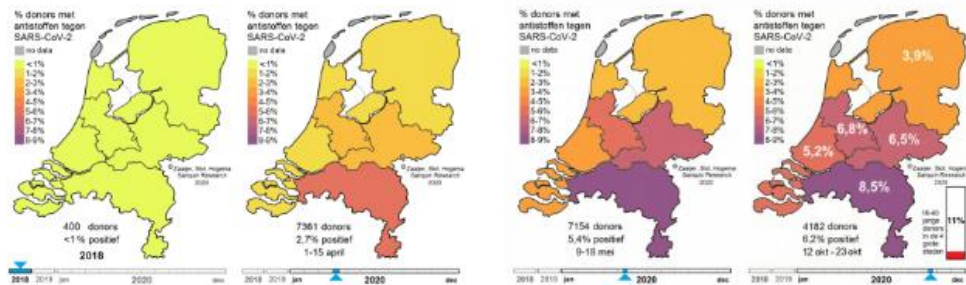
Afgelopen week onderzochten Zaaijer en zijn team ongeveer 4.000 bloed- en plasmadonaties die bij Sanquin gegeven werden op aanwezige antistoffen. Donors zijn tussen de 18 en de 75 jaar, en moesten minstens twee weken klachtenvrij zijn.

<https://www.sanquin.nl/over-sanquin/nieuws/2020/04/sanquin-ongeveer-3-van-donors-heeft-corona-antistoffen>

The percentage of blood donors with antibodies against COVID-19 is increasing. Sanquin's latest measurement indicates that the average in the Netherlands has risen to 6.2%. During the summer months, the percentage fluctuated between 4% and 5%.


Every week, Sanquins tests a sample of about 2,000 plasma donors for antibodies, in addition to the research of the RIVM, the Dutch National Institute for Public Health and the environment, into antibodies.

This development was expected because the increase in positive PCR test results started a few weeks ago. Within this study, also an increase in early antibodies (IgM) is observed, indicating that more recent infections are found. This confirms that the Netherlands is confronted with a second corona wave.



Sanquin research, Wantai-total-Ab test on antibodies against SARS-CoV-2 shows from March on, stable, increasing seroprevalence. Zaaijer, Slot, Hogema et al, 2020 .

Associations Between Measures of Social Distancing and Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 Seropositivity: A Nationwide Population-based Study in the Netherlands

Eric R A Vos , Michiel van Boven, Gerco den Hartog, Jantien A Backer, [Don Klinkenberg](#),
Cheyenne C E van Hagen, Hendriek Boshuizen, Robert S van Binnendijk,
Liesbeth Mollema, Fiona R M van der Klis, Hester E de Melker

Clinical Infectious Diseases, Volume 73, Issue 12, 15 December 2021, Pages 2318–2321,
<https://doi.org/10.1093/cid/ciab264>

Published: 26 March 2021 **Article history** ▼

After the first epidemic wave, overall seroprevalence in the Dutch population was 4.5% (95% CI, 3.8–5.2). No statistically significant differences were observed between sexes or ethnic backgrounds. Estimates were low (0%–2%) in children aged 1–12 years, high (9%) in young adults in their early twenties, and 4%–7% in individuals aged ≥ 35 years ([Figure 1A](#)). Low urbanized areas were hit hardest, predominantly in the southeast (up to 16%) ([Supplementary Materials, pp. 17](#)).

<https://academic.oup.com/cid/article/73/12/2318/6189768?login=fals>

Herd immunity is not a realistic exit strategy during a COVID-19 outbreak



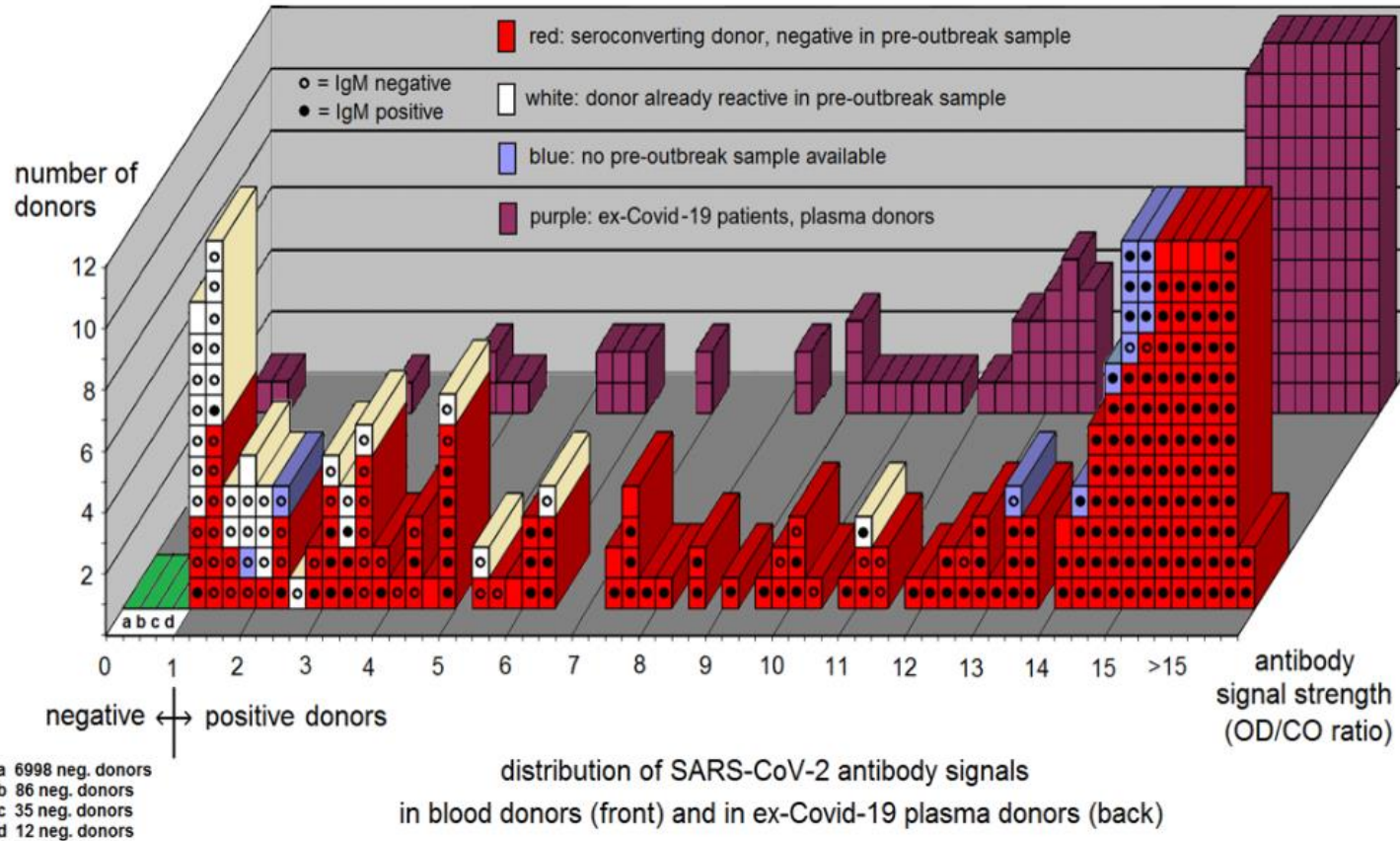
Ed Slot, Boris M. Hogema, Chantal B.E.M. Reusken, Johan H. Reimerink, and 6 more

This is a preprint; it has not been peer reviewed by a journal.

<https://doi.org/10.21203/rs.3.rs-25862/v1>



This work is licensed under a CC BY 4.0 License

<https://www.researchsquare.com/article/rs-25862/v1>



In total 7,361 donations were tested from donors without known history of COVID-19, of which 230 were repeat reactive in the Wantai total antibody assay (3.1%). For 218/230 repeat reactive donors archived material of a previous donation was available for testing, showing seroconversion in 188/218 donors (86%) and **pre-outbreak reactivity in 30/218 (14%):**

Low SARS-CoV-2 seroprevalence in blood donors in the early COVID-19 epidemic in the Netherlands

[Ed Slot](#) , [Boris M. Hogema](#), [Chantal B. E. M. Reusken](#), [Johan H. Reimerink](#), [Michel Molier](#), [Jan H. M. Karregat](#), [Johan IJst](#), [Věra M. J. Novotný](#), [René A. W. van Lier](#) & [Hans L. Zaaijer](#) 

[Nature Communications](#) **11**, Article number: 5744 (2020) | [Cite this article](#)

The 2.7% seroprevalence found in our study shows that, 1 month into the outbreak and more than 2 weeks after social distancing and lockdown interventions were implemented, the proportion of SARS-CoV-2 antibody-positive individuals in the population tested was far below the 50–67% HIT

the SARS-CoV-2 seroprevalence in the Dutch donor population had increased to 5.9% (419/7,150) in May 2020

In the seroprevalence study we **found false-reactive test results in 30/7361 (0.4%)** subjects.

Nationwide seroprevalence of SARS-CoV-2 and identification of risk factors in the general population of the Netherlands during the first epidemic wave

 Eric R A Vos ,  Gerco den Hartog , Rutger M Schepp , Patricia Kaaijk , Jeffrey van Vliet , Kina Helm , Gaby Smits , Alienke Wijmenga-Monsuur , Janneke D M Verberk , Michiel van Boven , Rob S van Binnendijk , Hester E de Melker , Liesbeth Mollema , Fiona R M van der Klis

Correspondence to Fiona R M van der Klis Centre for Infectious Disease Control, RIVM, Bilthoven, Netherlands; fiona.van.der.klis@rivm.nl

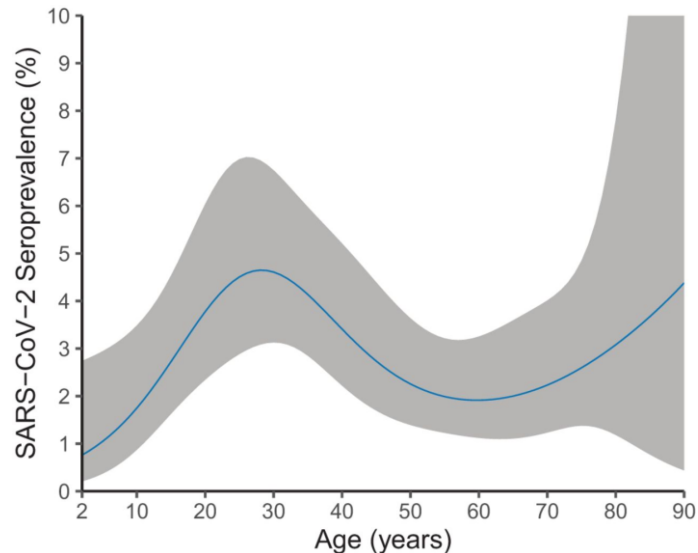
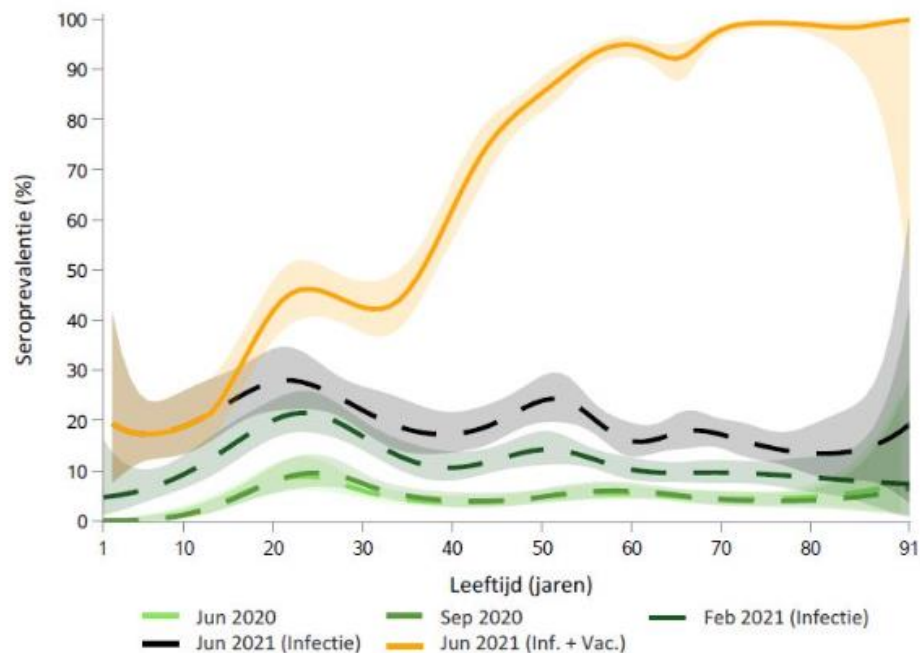


Figure 2
Smooth age-specific SARS-CoV-2 seroprevalence in the general population of the Netherlands, beginning of April 2020.

Juni en
sept 2020
geen
verschil?
Geen C19
dus

In juni
2021 al
rond de
20%

De grafieken van de leeftijdsverdeling van mensen met antistoffen door besmetting met het coronavirus hebben allemaal een vergelijkbare vorm. De groep jongvolwassenen is elke ronde de groep met het hoogste percentage antistoffen door besmetting: in de vijfde ronde had zo'n 30% van hen antistoffen door besmetting met het coronavirus. Bij kinderen in de basisschoolleeftijd is het percentage met antistoffen in de vijfde ronde gestegen in vergelijking met de vorige ronde. Ten tijde van de vijfde onderzoeksrunde (juni/juli 2021) was het vaccinatieprogramma nog niet voltooid. In de jongere leeftijdsgroepen was op dat moment nog niet iedereen aan de beurt geweest voor vaccinatie. Daarom zien we in deze ronde nog een groot verschil tussen oudere leeftijdsgroepen en jongere leeftijdsgroepen voor wat betreft opgebouwde afweer door vaccinatie.



Figuur 1: Percentage mensen met antistoffen per leeftijd over de tijd (ronde 2-5). De oranje lijn laat de totale seroprevalentie na infectie en vaccinatie in ronde 5 (juni/juli 2021) zien.

24 nov 2020

vinden bij mensen die milde COVID-19 hebben gehad. Naast antistoffen zijn er andere vormen van afweer die kunnen helpen met beschermen tegen besmetting. We weten nog niet goed wat het hebben van antistoffen tegen SARS-CoV-2 betekent voor de bescherming tegen nieuwe besmetting. Wel verwachten we dat antistoffen en andere vormen van afweer ervoor zorgen dat een volgende besmetting minder klachten zal geven. Vervolgstudies moeten uitwijzen hoelang antistoffen aanwezig blijven en hoe goed antistoffen beschermen tegen besmetting.

Referenties


den Hartog, G., et al. (2020). "SARS-CoV-2-specific antibody detection for sero-epidemiology: a multiplex analysis approach accounting for accurate seroprevalence." *The Journal of Infectious Diseases*.

den Hartog, G., et al. (2020). "Immune-surveillance for vaccine-preventable diseases." *Expert Review of Vaccines*.

Vos, R. A. E., et al. (2020). "Nationwide seroprevalence of SARS-CoV-2 and identification of risk factors in the general population of the Netherlands during the first epidemic wave." *accepted, J Epidem Comm Health*.

<https://www.rivm.nl/documenten/pienteronderzoek-antistoffen-tegen-nieuwe-coronavirus-sars-cov-2>

SARS-CoV-2 – Specific Antibody Detection for Seroepidemiology: A Multiplex Analysis Approach Accounting for Accurate Seroprevalence

Gerco den Hartog , Rutger M Schepp, Marjan Kuijter, Corine GeurtsvanKessel, Josine van Beek, Nynke Rots, Marion P G Koopmans, Fiona R M van der Klis, Robert S van Binnendijk

The Journal of Infectious Diseases, Volume 222, Issue 9, 1 November 2020, Pages 1452–1461, <https://doi.org/10.1093/infdis/jiaa479>

Published: 08 August 2020 **Article history** ▼

Results

Our assay discriminated SARS-CoV-2 – induced antibodies and those induced by other viruses. The assay specificity was 95.1%–99.0% with sensitivity 83.6%–95.7%. By merging the test results for all 3 antigens a specificity of 100% was achieved with a sensitivity of at least 90%. Hospitalized COVID-19 patients developed higher IgG concentrations and the rate of IgG production increased faster compared to nonhospitalized cases.

Conclusions

The bead-based serological assay for quantitation of SARS-CoV-2 – specific antibodies proved to be robust and can be conducted in many laboratories. We demonstrated that testing of antibodies against multiple antigens increases sensitivity and specificity compared to single-antigen – specific IgG determination.

<https://academic.oup.com/jid/article/222/9/1452/588516>

Immune surveillance for vaccine-preventable diseases



March 2020 · Expert Review of Vaccines 19(9524):1-13

DOI:[10.1080/14760584.2020.1745071](https://doi.org/10.1080/14760584.2020.1745071)

Table 4. Type of antibodies related to vaccination and exposure/infection.

| Vaccine | composition | Antibodies | Unique infection-induced antibodies | refs |
|-----------------------------|--------------------------------------|-----------------------|-------------------------------------|----------|
| Diphtheria | toxin | IgG | | [35] |
| Tetanus | toxin | IgG | | [36] |
| <i>B. pertussis</i> aP | 1–5 proteins | IgG | Non-vaccine proteins, IgA | |
| <i>B. pertussis</i> wP | Inactivated | IgG, IgA | Unknown? | |
| <i>S. pneumoniae</i> | polysaccharides | IgG, some IgA | Proteins, IgA | |
| Hib | polysaccharides | IgG, some IgM and IgA | Proteins | [61,62] |
| <i>N. meningitidis</i> ACWY | | | | |
| B | Polysaccharides 3 proteins and 1 OMV | IgG, some IgM, IgA | Proteins Non-vaccine proteins | |
| Measles | Live attenuated | IgG, some IgM, IgA | IgA | [63,102] |
| Mumps | Live attenuated | IgG | IgA | [26,64] |
| Rubella | Live attenuated | | | [63] |
| Poliovirus IPV | Inactivated | IgG | IgA | |
| Poliovirus OPV | live attenuated (oral) | IgG and IgA | - | [65,66] |
| HPV | L1 Protein VLP | IgG | Much lower levels | |
| HepB | Surface protein VLP | IgG | Core protein | |
| Rotavirus | Live attenuated virus | | | |

aP: acellular pertussis; OMV: outer-membrane vesicle; VLP: virus-like particle; wP: whole cellular pertussis.

https://www.researchgate.net/publication/340278433_Immune_surveillance_for_vaccine-preventable_diseases

Antibody Response to the SARS-CoV-2 Spike and Nucleocapsid Proteins in Patients with Different COVID-19 Clinical Profiles

Because the S protein is exposed on the surface of the virus, it has been used as the main target antigen in vaccine development, especially due to the ability of the RBD to elicit neutralizing antibody and T-cell responses [7]. However, the vaccine response may be impacted by the similarity of amino acids between the spike proteins of SARS-CoV-2 and SARS-CoV and the possibility of nonsynonymous mutations in the S gene. The N gene, which encodes nucleoprotein, undergoes fewer mutations over time [8].

The results showed that among the participants, 87.5% (119/136) exhibited IgG responses to the S1 subunit and **88.25% (120/136) to N**. Conversely, only 14.44% of the subjects (21/136) displayed S2 subunit responses.

Antibody responses to SARS-CoV-2 in patients with COVID-19

[Quan-Xin Long](#), [Bai-Zhong Liu](#), [Hai-Jun Deng](#), [Gui-Cheng Wu](#), [Kun Deng](#), [Yao-Kai Chen](#), [Pu Liao](#), [Jing-Fu Qiu](#), [Yong Lin](#), [Xue-Fei Cai](#), [De-Qiang Wang](#), [Yuan Hu](#), [Ji-Hua Ren](#), [Ni Tang](#), [Yin-Yin Xu](#), [Li-Hua Yu](#), [Zhan Mo](#), [Fang Gong](#), [Xiao-Li Zhang](#), [Wen-Guang Tian](#), [Li Hu](#), [Xian-Xiang Zhang](#), [Jiang-Lin Xiang](#), [Hong-Xin Du](#), ... [Ai-Long Huang](#)  [+ Show authors](#)

[Nature Medicine](#) **26**, 845–848 (2020) | [Cite this article](#)

826k Accesses | **5184** Citations | **4020** Altmetric | [Metrics](#)

A total of 285 patients with COVID-19 were enrolled in this study from three designated hospitals; of these patients, 70 had sequential samples available. The characteristics of these patients are summarized in Supplementary Tables [1](#) and [2](#). We validated and used a magnetic chemiluminescence enzyme immunoassay (MCLIA) for virus-specific antibody detection (Extended Data Fig. [1a–d](#) and Supplementary Table [3](#)). Serum samples from patients with COVID-19 showed no cross-binding to the S1 subunit of the SARS-CoV spike antigen. However, we did observe some cross-reactivity of serum samples from patients with COVID-19 to nucleocapsid antigens of SARS-CoV (Extended Data Fig. [1e](#)). The proportion of patients with positive virus-specific IgG reached 100% approximately 17–19 days after symptom onset, while the proportion of patients with positive virus-specific IgM reached a peak of 94.1% approximately 20–22 days after symptom onset (Fig. [1a](#) and [Methods](#)). During the first 3 weeks after symptom onset, there were increases in virus-specific IgG and IgM antibody titers (Fig. [1b](#)). However, IgM showed a slight decrease in the >3-week group compared to the ≤3-week group (Fig. [1b](#)). IgG and IgM titers in the severe group were higher than those in the non-severe group, although a significant difference was only observed in IgG titer in the 2-week post-symptom onset group (Fig. [1c](#), $P = 0.001$).

Augustus 2020

Dit onderzoek toont dat 39% van de verpleeghuismedewerkers van een sterk door COVID-19 getroffen verpleeghuis antistoffen tegen COVID-19 blijkt te hebben. Opvallend is dat 19% (n=18) van de positief geteste medewerkers geen klachten heeft gehad die mogelijk wijzen op een COVID-19 besmetting. Dit zijn belangrijke bevindingen want ze tonen niet alleen aan hoe sterk het virus zich kan verspreiden onder het personeel van een getroffen locatie, maar ook dat de infectie bij een aanzienlijk deel van de besmette personen asymptomatisch kan verlopen. Dit laatste is inmiddels ook in de literatuur beschreven (4).

Het vragenlijstonderzoek lijkt een indicatie te geven dat het uitvoeren van een serologische test waarde heeft voor het verminderen van de angst en ongerustheid van de medewerkers in verpleeghuis Mariënburcht. In zowel de groep positief geteste medewerkers als in de negatief geteste groep is een daling te zien van de score op angst en ongerustheid. Naast de uitvoering van serologische testen zijn echter aanvullende acties nodig om deze angst en ongerustheid te verminderen. Het is primair belangrijk om te zorgen voor een veilige werkomgeving waar, naast beschikbaarheid van voldoende persoonlijke beschermingsmiddelen en een adequaat testbeleid, goed en continu gecommuniceerd wordt met de medewerkers (5). Dat laatste werd eveneens bevestigd in recent gehouden interviews met medewerkers van Mariënburcht over hun ervaringen ten tijde van de COVID-19 pandemie. Medewerkers meldden dat ze het niet alleen prettig hadden gevonden dat hen de mogelijkheid was geboden van een serologische test, maar nadrukkelijk ook dat ze blij waren dat ze op een veilige manier hun ervaringen konden delen, om zo deze doorgemaakte periode een plek te kunnen geven. Ook de resultaten van deze interviews worden momenteel geanalyseerd en zullen op een later moment worden gepubliceerd.

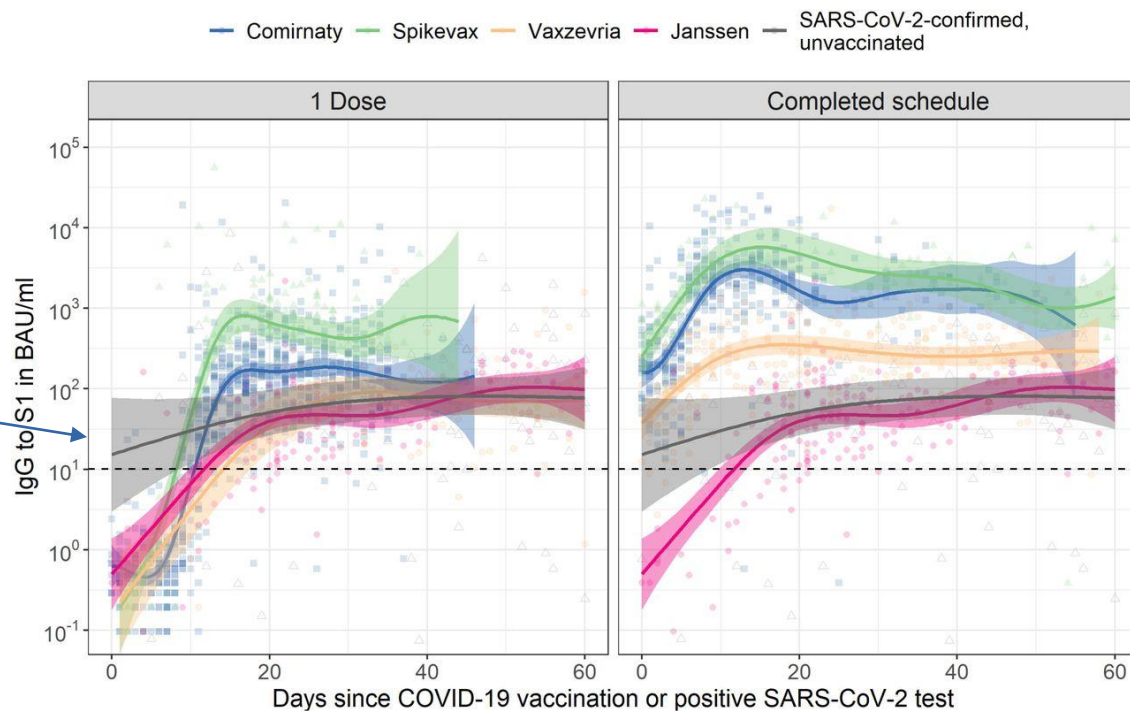
Posted October 26, 2021

SARS-CoV-2 Spike S1-specific IgG kinetic profiles following mRNA- versus vector-based vaccination in the general Dutch population

Lotus L. van den Hoogen, Marije K. Verheul, Eric R.A. Vos, Cheyenne C.E. van Hagen, Michiel van Boven, Denise Wong, Alienke J. Wijmenga-Monsuur, Gaby Smit, Marjan Kuijer, Debbie van Rooijen, Marjan Bogaard-van Maurik, Ilse Zutt, Jeffrey van Vliet, Fiona R.M. van der Klis, Hester E. de Melker, Robert S. van Binnendijk, Gerco den Hartog


doi: <https://doi.org/10.1101/2021.10.25.21265467>

Now published in *Scientific Reports* doi: [10.1038/s41598-022-10020-6](https://doi.org/10.1038/s41598-022-10020-6)



<https://www.medrxiv.org/content/10.1101/2021.10.25.21265467v>

Low awareness of past SARS-CoV-2 infection in healthy adults

 Katja van den Hurk,  Eva-Maria Merz,  Femmeke J. Prinsze,  Marloes L.C. Spekman, Franke A. Quee,  Steven Ramondt,  Ed Slot,  Hans Vrieling,  Elisabeth M.J. Huis in 't Veld,  Hans L. Zaaijer,  Boris M. Hogema

doi: <https://doi.org/10.1101/2020.08.10.20171561>


Now published in *Cell Reports Medicine* doi: [10.1016/j.xcrm.2021.100222](https://doi.org/10.1016/j.xcrm.2021.100222)

Methods and findings For this cross-sectional study, individuals donating plasma anywhere in the Netherlands between May 11th and 18th were screened for total SARS-CoV-2 antibodies using ELISA and invited to participate in an online questionnaire about COVID-19-related symptoms and awareness. Antibody and questionnaire data were complete for 3,676 individuals, including 239 (6.5%) that tested positive for SARS-CoV-2 antibodies. Here, we show that a 38% of the individuals that tested positive for SARS-CoV-2 antibodies reported having had no or only very mild symptoms at any time during the peak of the epidemic. The loss of taste and/or smell in particular was significantly associated with seropositivity, independent of age and sex. Forty-eight percent of antibody-positive persons did not suspect having had COVID-19, in spite of most of them reporting symptoms.

Conclusions Awareness of infection was low among individuals that tested positive for SARS-CoV-2 antibodies, even at the peak of the epidemic. Improved awareness and recognition of COVID-19 symptoms and tracing of asymptomatic contacts is crucial to halting SARS-CoV-2 transmission.

<https://www.medrxiv.org/content/10.1101/2020.08.10.20171561v>

Persistence of Antibodies to Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 in Relation to Symptoms in a Nationwide Prospective Study

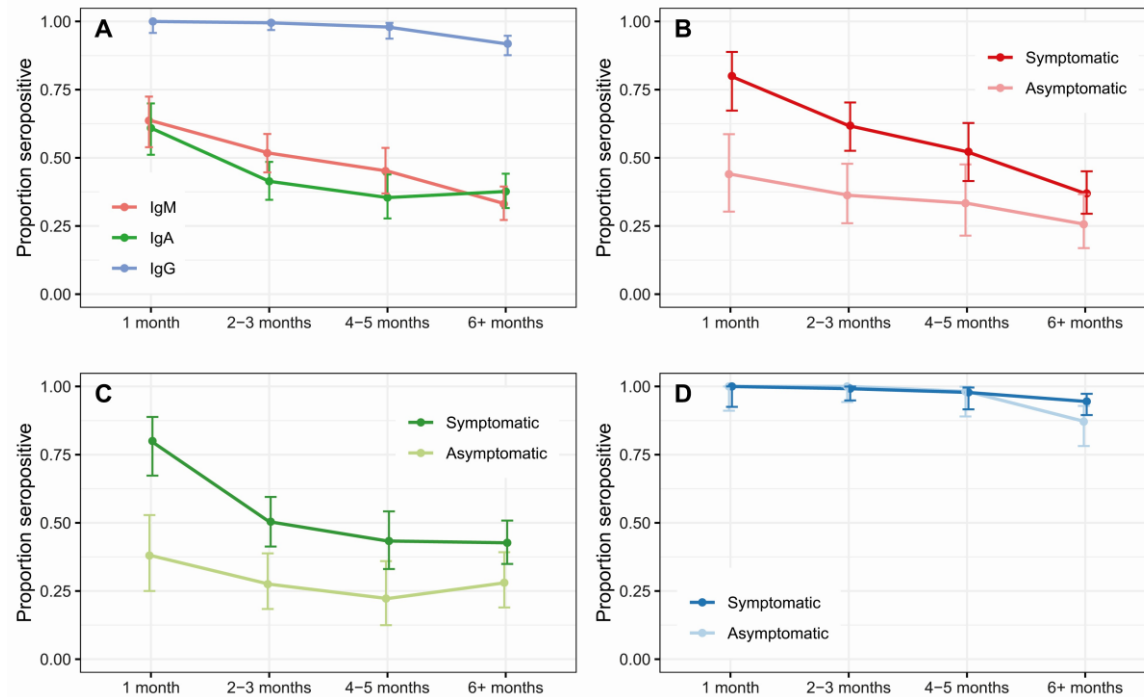
Gerco den Hartog , Eric R A Vos, Lotus L van den Hoogen, Michiel van Boven, Rutger M Schepp, Gaby Smits, Jeffrey van Vliet, Linde Woudstra, Alienke J Wijmenga-Monsuur, Cheyenne C E van Hagen, Elisabeth A M Sanders, Hester E de Melker, Fiona R M van der Klis, Robert S van Binnendijk

Author Notes

Clinical Infectious Diseases, Volume 73, Issue 12, 15 December 2021, Pages 2155–2162,

<https://doi.org/10.1093/cid/ciab172>

Published: 24 February 2021 **Article history** ▼





Antibodies Against SARS-CoV-2 in Human Milk: Milk Conversion Rates in the Netherlands

[Hannah G. Juncker, MD](#), [Michelle Romijn, MD](#), [...], and [Britt J. van Keulen, MD](#)  [View all authors and affiliations](#)

[Volume 37, Issue 3](#) | <https://doi.org/10.1177/08903344211018185>

Methods

In this large prospective cohort study, lactating mothers ($N = 2312$) were included between October 12, 2020 and February 24, 2021. Enzyme-linked immunosorbent assay was used to determine levels of IgA antibodies in human milk and immunoglobulin G (IgG) antibodies in serum against the ectodomain of the SARS-CoV-2 spike protein.

Results

A total of 691 (30.6%) participants had SARS-CoV-2 specific antibodies in human milk and/or serum. Of these participants, 524 (23.1%) had IgA antibodies against SARS-CoV-2 in human milk, and 356 (15.7%) had IgG antibodies against SARS-CoV-2 in serum. A total of 199 (8.8%) participants had antibodies in both human milk and serum. SARS-CoV-2 specific IgA antibodies in human milk remain present at least 10 months after a polymerase chain reaction confirmed infection.

Conclusion

The prevalence of IgA antibodies against SARS-CoV-2 in human milk was 23.1% in our cohort. This high prevalence of antibodies in human milk might lead to passive immunity in many breastfed infants and may serve as protection against COVID-19.

The prevalence of IgA antibodies against SARS-CoV-2 in human milk was 23.1% and, in serum, the prevalence of IgG antibodies against SARS-CoV-2 was 15.7%. The Blood Bank of the Netherlands (Sanquin) reported a seroprevalence of SARS-CoV-2 in its blood donors of 2.7% 1 month after the start of the pandemic ([Slot et al., 2020](#)). From October 2020 until February 2021, 10%–15% of the blood donors showed antibodies ([Cassie et al., 2021](#)). Presumably, the difference in prevalence with our study cohort is due to an overrepresentation of the actual prevalence, as lactating mothers with previous symptoms of COVID-19 might have been more likely to participate in this study.

<https://journals.sagepub.com/doi/full/10.1177/08903344211018185>