**PROC/023/B2_Werkformulier validatie nieuwe apparatuur en analysemethode**
**Plan van Aanpak- uitvoering- rapportage-implementatie traject**
**Autorisatie zie PROC/023 Aanschaf, verificatie en evaluatie van apparatuur en/of analyse methoden**
**Onderwerp** Validatie afnamestokken voor Monkeypox PCR
**Datum** 21-7-2022

***Plan van Aanpak***

- **Validatie zal uitgevoerd worden door** Analisten moleculair/afnemers MPX
- **Aanvullende scholing nodig voor uitvoerende analist** □ **JA** **X NEE**
- **Validatiecriteria**

  □ Nieuwe afnamestokken zijn even handig in gebruik; denk hierbij aan afbreken stok, afsluiten dop, flexibiliteit stok

  □ De uitslag van de Monkeypox PCR wijkt niet meer dan 2 Ct waarden af in het nadeel van de nieuwe stok

  □ Patiënt uitslagen moeten > 95% overeen komen

- **Parameters die getest moeten worden volgens criteria**

  □ Testuitslagen moeten overeenkomen

  □ _____

- **Materialen die getest moeten worden en een geschatte hoeveelheid**

| | |
|---|---|
| □ Blaasjesvocht swab | Hoeveelheid ± 10 |
| □ Anus swab | Hoeveelheid ± 10 |
| □ Keel swab | Hoeveelheid ± 10 |
| □ _____ | Hoeveelheid ± _____ |

- **Benodigde reagentia t.b.v. de validatie en een geschatte hoeveelheid**

| | |
|---|---|
| □ PCR mixen Monkeypox | Hoeveelheid ± 30 |
| □ PCR mixen IC | Hoeveelheid ± 30 |
| □ _____ | Hoeveelheid ± _____ |
| □ _____ | Hoeveelheid ± _____ |

- **Tijdbestek** 1 **weken / ~~maanden~~**

- **Formuleer de actie(s) bij discrepanties**

  □ PCR herhalen

  □ Indien niet voldaan wordt aan de criteria, stokken niet in gebruik nemen

  □ _____

- **Parafeer voor akkoord plan van aanpak**

| | | |
|---|---|---|
| □ Hoofd Streeklab | _____ | Datum _____ |
| □ Arts microbioloog | 5.1.2,e | Datum _____ |
| □ Moleculair microbioloog | | Datum 28/7/22 |
| □ Leidinggevende | | Datum 16/08/22 |

***Evaluatie validatierapport en implementatie***

- **Parafeer voor akkoord eindrapport**
  - □ Hoofd Streeklab _____ Datum _____
  - □ Arts microbioloog _____ Datum _____
  - ☑ Moleculair microbioloog 5.1,2,e _____ Datum 29/7/22
  - □ Leidinggevende 5.1,2,e _____ Datum 16/08/22

- **Implementatie acties**
  - □ SOP in KIS _ NVT
  - □ Nieuwe inwerkonderdelen op laten nemen Kwalificatiematrix NVT
  - □ Nieuwsbrief item NVT
  - □ Website Streeklaboratorium NVT
  - □ Vermelding op andere websites zoals WMDI onder NVMM NVT
  - □ Risico analyse bijwerken NVT
  - □ GLIMS parametrisering/ koppeling "
  - □ Andere software NVT
  - □ Nieuw scope-element ~~JA~~/NEE, indien JA melden aan kwaliteitsadviseur

- Datum in gebruik name
  29/7/2022

Naam evaluator(en): 5.1,2,e & 5.1,2,e

| **Identificatie van inhoudelijke wijzigingen ten opzichte van de vorige opsteldatum** |
|---|
| Samenvoeging van PROC/023/B2 & PROC/076/B2. |
| |
| |
| |
| |
| |
| |
| |
| |

# Validatierapport

# Afname zwarte-dop MWE stokken versus witte Copan stokken

GGD Streeklaboratorium

| | |
|---|---|
| Datum: | 29-07-2022 |
| Plaats: | GGD Streeklaboratorium, Amsterdam Nieuw-Achtergracht |
| Uitgevoerd door: | 5.1,2,e en 5.1,2,e (Moleculair Analisten) |
| Analyse en verslag: | 5.1,2,e en 5.1,2,e |
| Eindverantwoordelijke: | 5.1,2,e MMM |

## Inleiding

Het Streeklaboratorium van GGD Amsterdam is sinds mei 2022 begonnen met Monkeypox virus (MPXV) diagnostiek. De bedoeling is dat, door middel van een PCR, een snelle uitslag kan worden aangeboden aan patiënten. Vanwege de plotse verspreiding van dit virus in Nederland wordt nog onderzocht hoe en wat valide methodes zijn om besmette personen te bemonsteren. Er worden momenteel meestal 3 afnamelocaties meegenomen voor de MPXV diagnostiek, namelijk swabs van: anus, keel en blaasjesvocht. Door de snelle stijging van het aantal patiënten is er een tekort aan de gebruikelijke witte dop-droge Copan afname stokken. Hierdoor is het nodig om te onderzoeken of er andere bruikbare droge stokken zijn. Het doel van dit validatierapport is om te onderzoeken of de zwarte dop afname stokken ((leverancier MWE) ook bruikbaar zijn voor de MPXV diagnostiek.

## Methode

Om de Copan en zwarte-dop stokken met elkaar te vergelijken werden er 33 patiënten, met toestemming, dubbel afgenomen op ten minste 2 afname locaties. Dubbel afgenomen stokken werden met hetzelfde protocol op dezelfde dag verwerkt (Sop MoBiol 063).
In het kort: nadat stokken waren afgebroken in 2 ml Eppendorf epjes werd er 600 ul PBS toegevoegd en geschud voor minimaal 15 minuten. Hierna werd er 30 µL opgekookt bij 95 graden voor 15 minuten. De monsters werden geanalyseerd door middel van een PCR op de RotorGene. Er werd een positieve controle van PhHV15 meegenomen als interne controle.

## Resultaten

Tijdens deze validatie is ook gekeken naar de gebruiksvriendelijkheid van de nieuwe zwarte dop stokken. De stokken waren goed te openen en konden hierna ook goed afgesloten worden. De zwarte dop stokken waren wat elastischer maar nog steeds gemakkelijk af te breken. In tabel 1, 2 en 3 zijn de verschillende Ct-waarden weergegeven die waren gemeten. Hierin zijn de Ct-waarden van MPXV en de IC PhHV15 weergegeven. Bijvoorbeeld patiënt 16 had een geremde IC heeft (tabel 2), wat een mogelijke verklaring is dat het verschil in MPX Ct >2 was. Wat nog meer opviel was dat patiënt 11 voor een monster een verschil in Ct had van 17,6 en vervolgens voor een monster positief opkwam. In dit geval kan het mogelijk zijn dat monsters zijn omgewisseld.
Er is 100% overeenkomst op basis van patiënt uitslag: alle 17 positieve en 16 negatieve patiënten zouden met de zwarte- dop afname swabs dezelfde uitslag hebben gekregen als ze in de routine met de Copan swabs hebben gekregen.

In de rechterkolom is het verschil tussen de Copan en zwarte dop stokken weergegeven. Een negatieve Ct-waarde laat zien dat de Copan stokken gevoeliger zijn en een positief verschil juist dat de zwarte dop stokken beter waren.

In totaal zijn er 75 paren monsters afgenomen bij 33 patiënten. Daarvan waren er 3 paren negatief in álle testen; die tellen niet mee.

Van de overige 72 paren waren er 49 dubbel-negatieve monsters (68%), met soms in één van de 2 een hoge Ct (>35) die nu als neg is geteld. Van de overige 23 paren waren er 8 waarbij het verschil >5 Ct was, wat niet te verklaren is. Deze zijn voor de berekening van het Ct verschil in de positieve swabs niet meegeteld.

Van de overige 15 paren waren er 7 waarbij het verschil in Ct waarde positief is: dus in 7/15 (47%) is er een (iets) beter resultaat met de zwarte dop stok: gemiddeld 1,13 Ct.

Dan zijn er tenslotte nog 8 paren (53%) met een negatief verschil in Ct waarde (dus de Copan stok presteert beter). Dat is gemiddeld 1,7 Ct verschil.

**Tabel 1. Ct-waarden Copan stokken versus zwarte dop stokken.**

Deze tabel geeft de vergelijking van patiënt 1 tot en met 11 weer.

| | | | MPX | | PhHV | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **Patient** | **Glims nummer** | **Uitslag patiënt routine** | **Copan Ct-waarde** | **Zwarte stokken Ct-waarde** | **Copan Ct-waarde** | **Zwarte stokken Ct-waarde** | **Verschil MPXV Ct-waarde** |
| | 5.1,2,e | | - | - | 26,22 | 25,47 | - |
| 5.1,2,e | 5.1,2,e | Pos | 27,57 | 36,24 | 26,55 | 25,63 | -8,67 |
| | 5.1,2,e | | - | - | 26,43 | 25,76 | - |
| | 5.1,2,e | | - | - | 26,24 | 25,63 | - |
| | 5.1,2,e | Neg | - | - | 26,57 | 25,69 | - |
| | 5.1,2,e | | - | - | 26,34 | 25,56 | - |
| | 5.1,2,e | | - | - | 26,19 | 25,62 | - |
| | 5.1,2,e | Neg | - | - | 26,49 | 25,55 | - |
| | 5.1,2,e | | - | - | 26,31 | 25,23 | - |
| | 5.1,2,e | Neg | - | - | 26,12 | 25,25 | - |
| | 5.1,2,e | | - | - | 26,3 | 25,55 | - |
| | 5.1,2,e | | 22,97 | 21,76 | 26,32 | 25,38 | 1,21 |
| | 5.1,2,e | Pos | - | - | 26,46 | 25,68 | - |
| | 5.1,2,e | | 35,9 | - | 26,22 | 25,67 | x |
| | 5.1,2,e | | - | - | 26,17 | 26,03 | - |
| | 5.1,2,e | Pos | - | - | 26,29 | 25,53 | - |
| | 5.1,2,e | | 18,68 | 18,33 | 26,41 | 25,9 | 0,35 |
| | 5.1,2,e | | - | - | - | - | - |
| | 5.1,2,e | Neg | - | - | 26,39 | 25,73 | - |
| | 5.1,2,e | | - | - | 26,4 | 25,7 | - |
| | 5.1,2,e | | 17,2 | 18,64 | 25,85 | 25,48 | -1,44 |
| | 5.1,2,e | Pos | - | - | 26,19 | 25,6 | - |
| | 5.1,2,e | | - | - | 26,46 | 25,67 | - |
| | 5.1,2,e | Neg | - | - | 26,68 | 26,36 | - |

| | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | 5.1,2,e | | - | - | 25,5 | 26,08 | - |
| | 5.1,2,e | Pos | 25,75 | 23,62 | 26,69 | 26,5 | 2,13 |
| 5.1,2,e | 5.1,2,e | | - | - | 26,46 | 26,27 | - |
| | 5.1,2,e | | 22,12 | 23,99 | 26,01 | 26,31 | -1,87 |
| | 5.1,2,e | Pos | 20,84 | 38,44 | 26,06 | 25,47 | -17,6 |
| | 5.1,2,e | | - | 22,4 | 25,69 | 25,23 | - |

**Tabel 2. Ct-waarden Copan stokken versus zwarte dop stokken**. Deze tabel geeft de vergelijking van patiënt 12 tot en met 22 weer.

| | | | MPX | | PhHV | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **Patient** | **Glims nummer** | **Uitslag patiënt routine** | **Copan Ct-waarde** | **Zwarte stokken Ct-waarde** | **Copan Ct-waarde** | **Zwarte stokken Ct-waarde** | **Verschil MPXV Ct-waarde** |
| | 5.1,2,e | Neg | - | - | 25,49 | 25,12 | - |
| 5.1,2,e | 5.1,2,e | | - | - | 25,11 | 25,15 | - |
| | 5.1,2,e | Neg | - | - | 25,75 | 25,59 | - |
| | 5.1,2,e | | - | - | 25,72 | 25,08 | - |
| | 5.1,2,e | Pos | 24,97 | 30,09 | 25,3 | 24,9 | -5,12 |
| | 5.1,2,e | | 16,05 | 18,8 | 32,29 | 26,55 | -2,75 |
| | 5.1,2,e | Pos | - | - | - | - | - |
| | 5.1,2,e | | 16,83 | 17,35 | 29,53 | 29,05 | -0,52 |
| | 5.1,2,e | Pos | 15,53 | 17,67 | - | 29,26 | -2,14 |
| | 5.1,2,e | | - | - | 25,39 | 25,31 | - |
| | 5.1,2,e | Pos | 24,42 | 24,88 | 25,33 | 25,44 | -0,46 |
| | 5.1,2,e | | - | - | 25,31 | 24,8 | - |
| | 5.1,2,e | Neg | - | - | 25,6 | 25,26 | - |
| | 5.1,2,e | | - | - | 25,71 | 25,32 | - |
| | 5.1,2,e | Pos | 33,27 | 31,84 | 25,42 | 25,25 | 1,43 |
| | 5.1,2,e | | 29,76 | 29 | 25,35 | 25,14 | 0,76 |
| | 5.1,2,e | Pos | 21,76 | 31,59 | 25,68 | 25,05 | -9,83 |
| | 5.1,2,e | | 24,11 | 35,48 | 25,22 | 25,18 | -11,37 |
| | 5.1,2,e | Pos | 19,24 | 20,69 | 25,9 | 25,73 | -1,45 |
| | 5.1,2,e | | 36,38 | neg | 25,81 | 25,18 | x |
| | 5.1,2,e | Pos | 17,58 | 19,39 | 27,16 | 26,01 | -1,81 |
| | 5.1,2,e | | 22,58 | 23,54 | - | 27,41 | -0,96 |

**Tabel 3. Ct-waarden Copan stokken versus zwarte dop stokken.**

Deze tabel geeft de vergelijking van patiënt 23 tot en met 33 weer.

| | | | MPX | | PhHV | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Patient | Glims nummer | Uitslag patiënt routine | Copan Ct-waarde | Zwarte stokken Ct-waarde | Copan Ct-waarde | Zwarte stokken Ct-waarde | Verschil MPXV Ct-waarde |
| 5.1,2,e | 5.1,2,e | Neg | - | - | - | 28,63 | - |
| | 5.1,2,e | | - | - | 25,36 | 25,21 | - |
| | 5.1,2,e | Neg | - | - | 25,27 | 25,35 | - |
| | 5.1,2,e | | - | - | 25,31 | 25,37 | - |
| | 5.1,2,e | Neg | - | - | 25,31 | 25,34 | - |
| | 5.1,2,e | | - | - | 25,5 | 25,24 | - |
| | 5.1,2,e | Neg | - | - | 25,24 | 25,34 | - |
| | 5.1,2,e | | - | - | 25,34 | 24,92 | - |
| | 5.1,2,e | | - | - | 25,16 | 25,27 | - |
| | 5.1,2,e | Neg | - | - | 25,29 | 25,29 | - |
| | 5.1,2,e | | - | - | 25,36 | 25,31 | - |
| | 5.1,2,e | Neg | - | - | 25,5 | 25,33 | - |
| | 5.1,2,e | | - | - | 24,99 | 25,38 | - |
| | 5.1,2,e | Pos | - | 38,07 | 25,49 | 25,32 | - |
| | 5.1,2,e | | 29,37 | 28,21 | 25,22 | 25,08 | 1,16 |
| | 5.1,2,e | Neg | - | - | 25,25 | 24,84 | - |
| | 5.1,2,e | | - | - | 25,56 | 25,22 | - |
| | 5.1,2,e | Pos | - | 36,55 | 25,1 | 25,12 | - |
| | 5.1,2,e | | 23,66 | 23,86 | 25,16 | 25,27 | -0,2 |
| | 5.1,2,e | Pos | 21,06 | 20,18 | 30,76 | 30,12 | 0,88 |
| | 5.1,2,e | | - | - | 25,49 | 25,3 | - |
| | 5.1,2,e | Neg | - | - | 25,34 | 24,82 | - |
| | 5.1,2,e | | - | - | 25,34 | 25,33 | - |

## Discussie

De zwarte dop swabs voldoen goed als gekeken wordt naar gebruikersgemak. Daarnaast geven ze 100% overeenkomstige patiëntuitslagen.
Het criterium met het verschil in Ct waarden is iets lastiger. Er waren in 49/72 (68%) van de afname paren dubbel negatieve uitslagen (wat laat zien dat de specificiteit goed is). Daarnaast was één paar swabs van patiënt 11 waarbij er waarschijnlijk een verwisseling van monsters was bij het inzetten van de PCR. En er waren 7 paren waarbij er een érg groot verschil in Ct waarde (>5 Ct) was. Gezien het feit dat de meeste paren swabs < 2 Ct van elkaar verschilden doet dat vermoeden dat die swabs niet op exact dezelfde huidlocatie zijn afgenomen. Daarom zijn deze 8 paren niet meegenomen in de verschil berekening van de Ct waarden.
De overige 15 swab paren verschilden namelijk voor de helft van de gevallen (7/15) <2 Ct ten gunste van de zwarte dop stok en de andere helft (8/15) met gemiddeld < 2Ct ten gunste van de witte Copan swab. Dat laat zien dat de swabs gelijkwaardig presteren en dat er wel voldaan wordt aan het Ct criterium.

**Conclusie**: De zwarte dop stokken (MWE) zijn gelijkwaardig aan de droge witte dop Copan swabs en kunnen in gebruik worden genomen voor afname voor de MPX PCR.