

Klinisch Labo OLV Ziekenhuis

Klinisch Labo Campus Aalst
 Moorselbaan 164
 9300 Aalst
 T. +32 (0)53 72 42 91
 F. +32 (0)53 72 45 88

Klinisch Labo Campus Asse
 Bloklaan 5
 1730 Asse
 T. +32 (0)2 300 60 42
 F. +32 (0)2 300 65 00

Klinisch Labo Campus Ninove
 Biezenstraat 2
 9400 Ninove
 T. +32 (0)54 31 20 65

www.olvz.be

In dit nummer

CoVID-19 (SARS-CoV-2 virus) analyse in labo Moleculaire biologie OLVZ Aalst	1
Swabteam	2
Monitoring van LMWH dosering bij CoVID-19 patiënten	3
Serologische testen voor CoVID-19	4

Interessante info

Op donderdagmiddag om 13h organiseert het laboratorium regelmatig wetenschappelijke kranen:

Donderdag 25/06/2020

Daratumumab: een achilleshiel in transfusie-geneeskunde

Spreeker: dr. Jill Verduyssen

Donderdag 02/07/2020

Gevoeligheid van PCR in de diagnostiek van CoVID-19 in OLV Aalst

Spreeker: dr. Thomas Pilate

Tijdens de zomervakantie zijn er geen labokranen gepland. Vanaf september zullen deze hervat worden.

CoVID-19 (SARS-CoV-2 virus) analyse in labo Moleculaire biologie OLVZ Aalst

Reeds in januari, bij het begin van de exponentiële opmars van CoVID-19 in China, zijn we gestart met het opzetten van een eigen analysemethode voor het SARS-CoV-2 virus. We ontwikkelden een real-time RT-PCR die gebaseerd is op een publicatie van CDC USA. De analysemethode detecteert specifiek het nucleocapside phosphoproteïne gen (N-gen) van het SARS-CoV-2 virus. Opsporen van SARS-CoV-2 gebeurt hoofdzakelijk op respiratoire stalen en onze PCR wordt gekenmerkt door een zeer hoge sensitiviteit en specificiteit. Midden februari werd de test in gebruik genomen waarna we vanaf maart een exponentiële stijging van het aantal stalen zagen. Waar ons dagrecord in 2019 op 98 respiratoire stalen voor moleculaire testen stond, komen we nu uit op 563 respiratoire stalen.

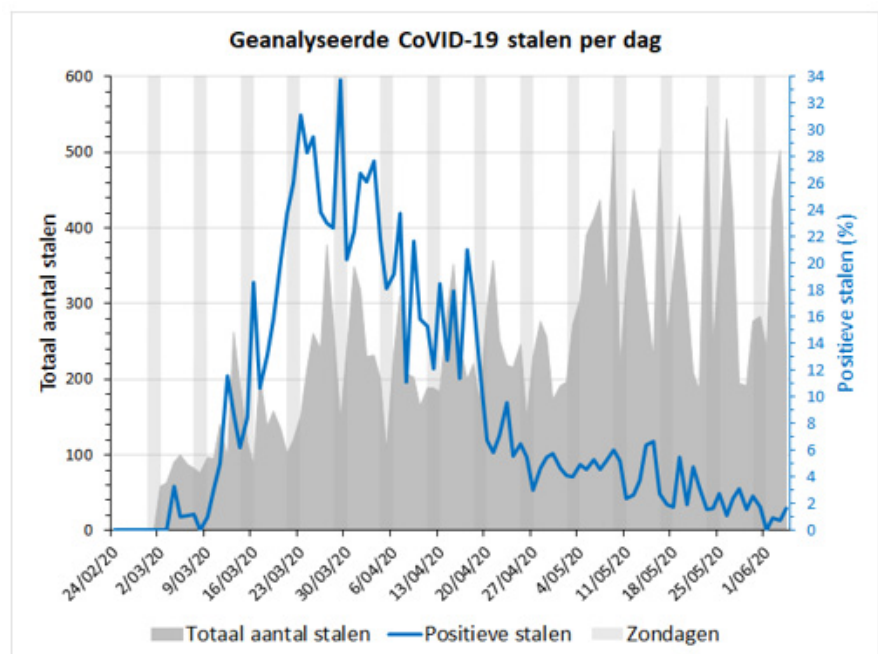
Deze stijging in analyses is mogelijk dankzij de recente capaciteitsuitbreiding op het labo Moleculaire biologie met twee STARlet extractie- en pipetteertoestellen en één real-time PCR toestel. De extractietoestellen isoleren het SARS-CoV-2 viraal RNA uit de klinische stalen. Waar de capaciteit vroeger op 24 stalen per run lag, kan er nu opgedreven worden tot 94 stalen per run. Het geëxtraheerd RNA wordt vervolgens gemengd met enzymen, specifieke primers en fluorescent gemerkte probes gericht tegen het N-gen van het SARS-CoV-2 virus. De analyse verloopt verder op

real-time PCR toestellen waar het genetisch materiaal van het SARS-CoV-2 virus geamplifieerd en gedetecteerd wordt. Dit proces resulteert in een minimale TAT van 5 uur.

Dit groot aantal analyses was vooral mogelijk dankzij de inzet van al onze medewerkers. Vanaf de staalafname, ontvangst en registratie tot de analyse en het rapporteren van het resultaat werd quasi elke dag weer een versnelling hoger geschakeld. De labo's Moleculaire biologie en labo Afname en Dispatching werden al gauw overrompeld door de grote vraag naar CoVID-19 analyses en extra weekend- en avondshifts werden noodzakelijk. Doordat we konden rekenen op flexibiliteit en solidariteit doorheen het volledige klinische labo zijn we er in geslaagd die massa stalen verwerkt te krijgen. In 99 % van de gevallen slaagden we er zelfs in om resultaat af te leveren binnen de 24 uur.

Op moment van schrijven (05/06) werden er - vanuit het OLVZ en vanuit de doorsturende laboratoria - al meer dan 23000 stalen getest. 2135 stalen hiervan waren SARS-CoV-2 virus positief. Het percentage positieve stalen kende een dagpiek van 34 % eind maart.

Lees verder op pagina 2



Figuur 1. Aantal geteste stalen en het percentage positieve CoVID-19 stalen per dag

Verdere vragen en informatie:

Laboratorium OLV Ziekenhuis Aalst, 1ste verdieping
 Editor: Lieve.Van.Hoovels@olvz-aalst.be
 T. 053 72 47 91
<http://www.olvz.be/>

Vervolg pagina 1

Doordat er steeds meer asymptomatisch getest wordt en door de wijzigende epidemiologie, zien we sinds half april een daling van het percentage positieve stalen. In mei werd het SARS-CoV-2 virus gedetecteerd in gemiddeld 3,6 % van de stalen terwijl dit voor de maand juni voorlopig 1 % is.

Daarnaast kunnen we het effect van de lockdown, die het SARS-CoV-2 virus meebracht, zien in de snotbarometer. Sinds

half maart maakten de andere bacteriële en virale respiratoire ziekteverwekkers al vlug geen kans meer op verspreiding.

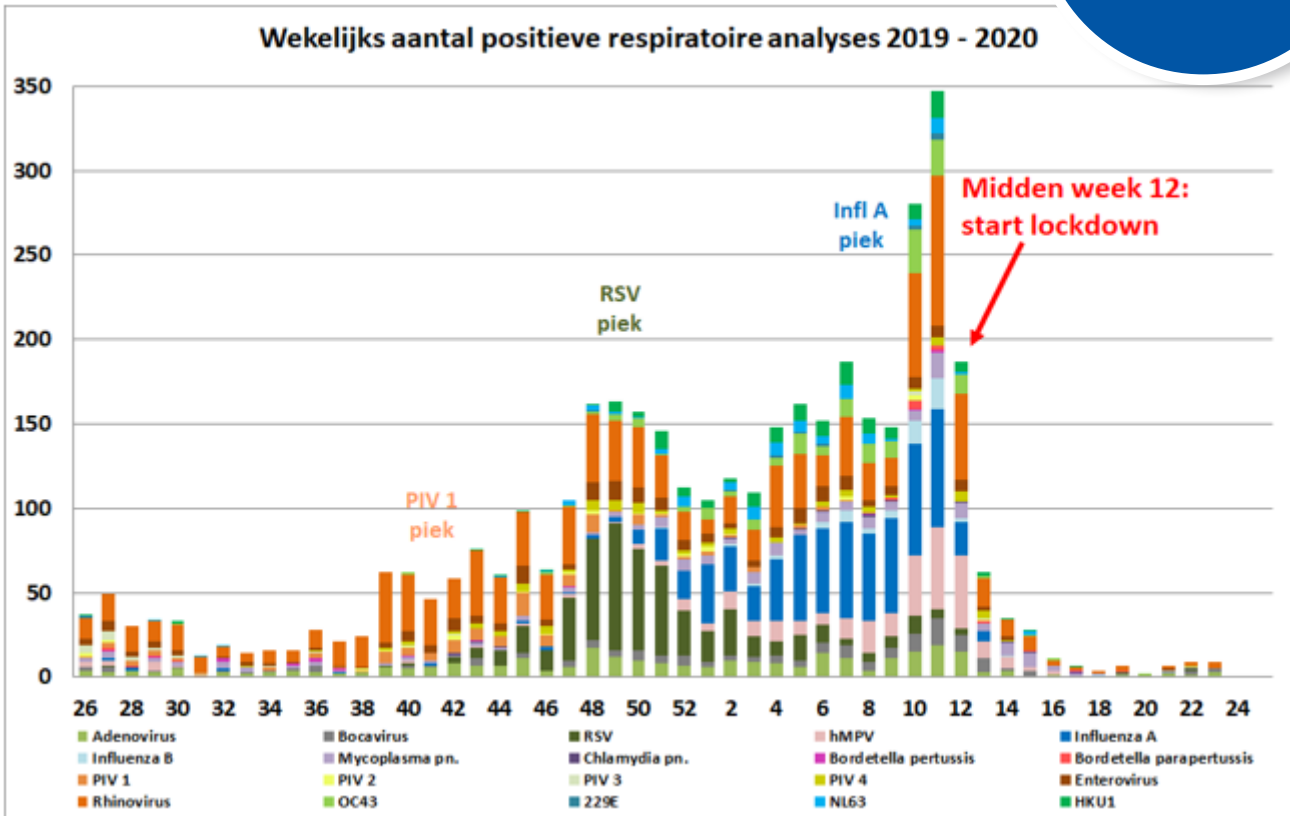
Voor meer info kan u terecht op de snotbarometer (<https://www.olvz.be/zorgverleners/de-snotbarometer-virussen-en-bacterien>).

mevr. Astrid Holderbeke
labo Moleculaire biologie
T. 053 72 10 87

Virussen en
bacteriën op de
voet volgen?

Check de
'snotbarometer'

op OLV Connect
en www.olvz.be



Figuur 2. Het aantal positieve respiratoire analyses (SARS-Cov-2 niet meegerekend) daalt sinds het begin van de lockdown in maart.



Swabteam

Van bij het uitbreken van de COVID-19-crisis in ons land stond de afnamediensdienst met zijn Swabteam klaar om het virus op te sporen. De medewerkers hebben een grote ervaring opgedaan in het correct afnemen van nasofarynxwissers. Een goede staalname is zeer belangrijk om een goede sensitiviteit van de test te bekomen.

Nu het coronavirus SARS-CoV-2 sterk teruggedrongen is, blijft het belangrijk om nieuwe uitbraken te voorkomen door snelle diagnose en screening van contacten. Ook in het ziekenhuis moeten we vermijden dat er nieuwe gevallen optreden. Daarom blijft het Swabteam actief.

We screenen dagelijks 100 tot 150 patiënten die opgenomen zullen worden. Daarvoor is een aparte stroom georganiseerd op de afnamediensdienst. Maar ook rukken we uit voor patiënten die in het ziekenhuis symptomen van een luchtweginfectie vertonen.

Monitoring van LMWH dosering bij CoVID-19 patiënten

Bij ernstig zieke CoVID-19 patiënten is het de ontwikkeling van diepe veneuze tromboses, longembolen en microtrombi, die multi-orgaanfalen tot gevolg kunnen hebben, een frequent gezien probleem. Soms is er ook een presentatie met myocardiinfarct of herseninfarct. Men vermoedt dat de stolling geactiveerd geraakt door de uiterst sterke inflammatoire respons die bij deze patiënten wordt gezien. Torenhoge D-dimeren blijkt dan ook één van de predictors te zijn van een verhoogde mortaliteit. Trombopenie echter wordt zelden gezien bij deze patiënten.

Door samenwerking tussen de verschillende centra internationaal, kwamen richtlijnen tot stand voor het voorkomen en behandelen van deze trombose-problematiek bij CoVID-19-patiënten door toediening van LMWH (laag moleculair gewicht heparine).

Voor gehospitaliseerde patiënten is de algemene richtlijn kortweg (ref. UZ Leuven):

Vooraf bestaande indicatie voor orale antico

voortzetten, tenzij per os niet mogelijk: LMWH 100 IU/kg 2x/dag

Bevestigde DVT (diepe veneuze trombose) of PE (pulmonaal embol)

LMWH 100 IU/kg 2x/dag

Niet gekende VTE (veneuze trombo-embolie) of geen vooraf bestaande indicatie voor orale antico

IZ: LMWH 50 IU/kg 2x/dag Non-IZ: LMWH 50 IU/kg 1x/dag

Voor Clexane® is 100 IU = 1 mg.

Bij vermoeden DVT of bij torenhoge D-dimeren (>2000 µg/L) dienen uiteraard de nodige onderzoeken te gebeuren om VTE uit te sluiten en de therapie desgewenst aan te passen.

Na ontslag in het ziekenhuis dienen patiënten nog 2 weken preventief LMWH verder te krijgen. Indien er risicofactoren bestaan, zoals IZ verblijf, immobilisatie, trombofilie, vooraf VTE, ... dient deze profylaxe verder gezet te worden voor 4-6 weken of



langer indien de patiënt immobiel blijft. Vooraf bestaande perorale antico dient terug opgestart te worden. PE en DVT dienen verder behandeld te worden volgens de normale richtlijnen.

Gebruik van NOAC's dient eventueel gemonitord te worden tijdens de infectieuze periode van CoVID-19, daar de gastro-intestinale opname een onzekere factor is.

Hoge leeftijd en obesitas blijken echter ook pertinente risicofactoren te zijn, waardoor de dosering van deze LMWH bij patiënten met een hoge BMI en/of een slechte nierfunctie de zaak erg bemoeilijken.

Daarom bieden wij sinds begin april anti-FXa testen aan voor de monitoring van de dosering van LMWH, uitgedrukt in IU/mL. Wij voeren deze 2 maal per week uit, op maandag en donderdag. Een correcte staalname gebeurt op de piekwaarde. Dit is 3 uur na het toedienen van de LMWH. Indien men accumulatie wil nagaan bij slechte nierfunctie, kan ook een dalwaarde worden geprikt, dit is vlak voor de toediening van de LMWH. Andere tijdstippen hebben geen referentiewaarden en zijn niet zinvol.

Voor de dosering van 1 mg/kg 2x/dag is de referentiewaarde 0.6-1 IU/mL.

Voor de dosering van 0.5 mg/kg 1 of 2x/dag is de referentiewaarde 0.2-0.4 IU/mL.

dr. Els Bailleul
labo Hematologie
T. 053 72 48 91

Indicatie	Waar testen	Wanneer testen
Symptomatisch (ARI, FUO)	Spoeddienst	
Asymptomatisch in kader van opname van min. 1 nacht	Laboratorium (alternatief via huisarts)	24-72 u voor opname
Asymptomatisch in kader van MKA/ORL heekunde (naso/orofarynx)	Laboratorium (alternatief via huisarts)	24-72 u voor ingreep
Niet geplande opname	Via swabteam of spoeddienst	bij opname

Om deze extra patiëntenstroom te kunnen beheersen vragen we u om altijd een afspraak te maken met de afnamediens. Dat kan, bij voorkeur, zelf in de agenda's van de afnamediens: CoVID-19-screening of bloedafnames. Alternatief kan telefonisch een afspraak gemaakt worden op het nummer 053 72 42 71.

dr. Peter Meeus
laboratoriumdirecteur
T. 053 72 46 06

Serologische testen voor CoVID-19

Naast de moleculaire diagnostiek, die vooral gebruikt wordt om actieve infecties op te sporen, zijn er intussen ook meerdere serologische testen ontwikkeld voor het opsporen van antistoffen (IgG, IgA, IgM) tegen het SARS-CoV-2 virus dat CoVID-19 veroorzaakt.

Eenzijds zijn er serologische sneltesten, lateral flow testen, een soort POCT testen die via een vingerprik kwalitatief aangeven of antistoffen al dan niet aanwezig zijn. De gevoeligheid en specificiteit van sommige van deze testen is niet optimaal en deze testen worden niet terugbetaald door het RIZIV.

Daarnaast zijn er ELISA en CLIA testen ontwikkeld door verschillende firma's.

Deze testen verschillen o.a. in de gebruikte antigenen: enerzijds zijn er testen die het spike antigen gebruiken dat aan de buitenkant van het virus zit en dat uit 2 subunits (S1 en S2) bestaat. Sommige assays combineren S1 en S2, andere testen gebruiken enkel S1. Deze spike antigenen zijn vrij specifiek voor het SARS-CoV-2 virus en zijn zeer immunogeen. Een ander antigen dat vaak gebruikt wordt, is het nucleocapside (N). Dit is ook zeer immunogeen en komt overvloedig tot expressie, maar er is een zekere homologie tussen de verschillende coronavirussen waardoor er kruisreactiviteit zou kunnen optreden. Hieraan kan verholpen worden door het nucleocapsideantigen te modificeren en enkel de SARS-CoV-2-specifieke domeinen te behouden.

Intussen hebben we in ons labo meerdere ELISA en CLIA testen gevalideerd en beschikbaar voor het bepalen van IgG. Onze testen vertonen een goede specificiteit (uitgetest met stalen van patiënten die andere coronavirusinfecties doormaakten, maar ook stalen van patiënten met auto-immune aandoeningen of die andere infecties doormaakten). De gevoeligheid van de testen wordt vooral bepaald door de tijd tussen het doormaken van de infectie en de staalafname. Minimum 14 dagen na start symptomen wordt aangeraden, bij sommige patiënten duurt het nog wat langer vooraleer de antistoffen worden aangemaakt.

Sinds 3 juni 2020 is er ook RIZIV-terugbetaling voorzien onder bepaalde voorwaarden:

- 1 Bij gehospitaliseerde patiënten met een suggestief klinische beeld voor CoVID-19 waarbij er discrepantie is tussen de moleculaire opsporingstest en een CT-scan, minimum 7 dagen na de start van de symptomen.
- 2 Bij ambulante of gehospitaliseerde patiënten die een suggestief en langdurig klinische beeld hebben voor CoVID-19 maar een negatief resultaat op de moleculair test verkregen of niet binnen de 7 dagen na de start van de symptomen konden getest worden via een moleculaire test, minimum 14 dagen na de start van de symptomen.

3 In de context van differentiële diagnose bij een atypische klinische presentatie, minimum 14 dagen na de start van de symptomen.

4 Om de serologische status te onderzoeken bij zorgverleners en personeel werkzaam in ziekenhuizen, in klinische laboratoria of collectiviteiten met een hoge besmettingsgraad (CoVID-diensten, woonzorgcentra of klinische laboratoria) in het kader van lokaal risicomanagement.

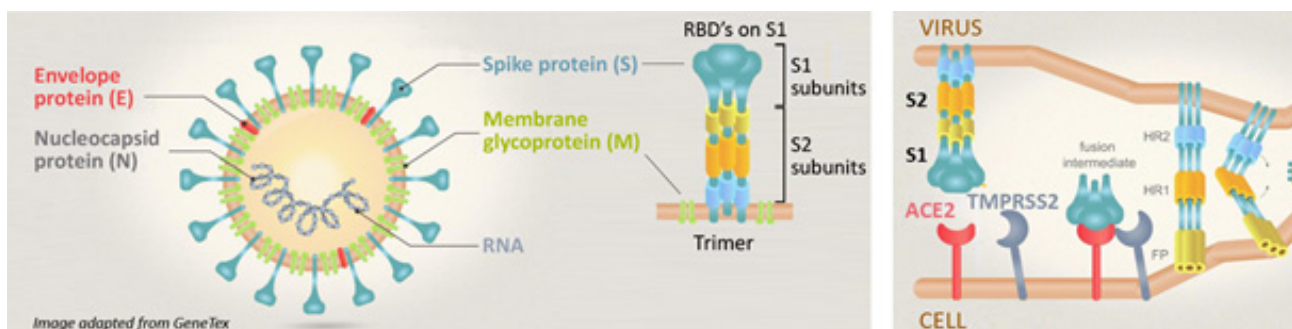
Omtrent de interpretatie van de serologische analyses bestaan nog wat onzekerheden.

Een positief resultaat wijst erop dat de patiënt met het virus in contact geweest is. In welke mate en hoe lang deze patiënt ook beschermd is tegen een herinfectie is minder duidelijk.

Ook is het nog niet duidelijk in welke mate patiënten die asymptomatisch of met zeer milde symptomen de ziekte doorgemaakt hebben, antistoffen aanmaken.

Door het gebruik van verschillende antigenen in verschillende assays en het ontbreken van een internationale standaard kunnen de semikwantitatieve waarden van de verschillende testen (cutoff index of ratio's) niet vergeleken worden.

*apr. An Boel
labo microbiologie
T. 053 72 47 85*



Figuur 1. Voorstelling van de antigenen gebruikt in de serologische assays: het SARS CoV-2 Spike proteïne (met subunits S1 en S2) en het Nucleocapside eiwit