

101005177 — COVID-RED

**WP2 – Testing procedure  
and implementation**

# D2.1 Develop protocols and procedures for testing and for follow- up of positive cases

<b>Lead contributor</b>	8 – Roche Diagnostics Nederland BV
<b>Other contributors</b>	Sanquin UMCU Risch

**Document History**

<b>Version</b>	<b>Date</b>	<b>Description</b>
V1.0	14-05-2021	Deliverable developed for internal review prior to finalization
V2.0	31-01-2022	New version created as response to IMI review. This version provides a clearer description of how protocols and procedures for testing and for follow-up of positive cases' including 'protocols and procedures for SARS-CoV-2 molecular testing (PCR) have been developed in the project.
V2.1	31-05-2022	Final version

## Abstract

Delivering a large body of information on SARS-CoV-2 PCR testing and antibodies that can be used to develop additional diagnostics and therapeutics is critical to improving diagnostic tools accuracy as well as orientate medical interventions in the future.

The COVID-RED consortium has developed protocols and procedures for SARS-CoV-2 molecular testing of subjects that generate a positive signal based on the semi-continuous measuring approach and/ or the self-reported outcomes.

The procedures for serological sampling and evaluation for SARSCoV-2 antibodies, as well as sampling and evaluation for SARS-CoV-2 Infections, are presented in this report.

## Procedures for serological sampling and evaluation for SARSCoV-2 antibodies.

All 20,000 participants in the Dutch cohort study will provide four finger prick blood samples (which they can do at home). Subjects will be asked to donate fingerprick blood for SARS-CoV-2 serology (antibody) testing at baseline, at the end of the Learning Phase, and at the end of each period to determine if and when (during which period) they presented antibodies against SARS-CoV-2. The finger pricks are performed at home by the participants following the attached instructions (Appendix 1), and are returned to the lab via regular mail. Upon receipt, samples are processed and stored until analysis.

Baseline samples of subjects will be analysed in case the sample collected at the end of the Learning Phase is positive for SARS-CoV-2 antibodies. Samples of subjects collected at the end of Period 1 will be analyzed in case the sample collected at the end of Period 2 is positive for SARS- CoV-2 antibodies.

Samples will be tested for SARS-CoV-2 antibodies using an in-house ELISA method in the central laboratory of Sanquin. The Sanquin in-house ELISA method assesses total SARS-CoV-2 antibodies (Ab) against either the receptor binding domain (RBD) of the spike protein, or to the nucleocapsid protein (NP). The NP assay will be used to evaluate P1/P2, which will allow the detection of infection also against a background of vaccination. This method has been validated and published (doi: 0.4049/jimmunol.2000961). MaxiSORP microtiter plates (ThermoFisherScientific, US) are coated with 100  $\mu$ L per well 0.125  $\mu$ g/mL RBD-mFc or NP in PBS overnight at 4oC. Plates are washed five times with PBS supplemented with 0.02% polysorbate-20 (PBS-T). Samples are diluted 10-fold in PBS-T supplemented with 0.3% gelatin (PTG) and incubated on the plate (100  $\mu$ L) for 1h at room temperature (RT) while shaking. After washing five times with PBS-T, 100  $\mu$ L per well biotinylated RBD-ST (EZ-Link Sulfo-NHS-LC-Biotin, Thermo Fisher) or biotinylated NP (via the BirA tag as described in (31)) is added at 0.5  $\mu$ g/mL or 0.015  $\mu$ g/mL, respectively, in PTG and incubated for 1h at RT, followed by incubation for 30 minutes with streptavidin-poly-HRP (Sanquin). Plates are washed five times with PBS-T, and 100  $\mu$ l of TMB substrate (100  $\mu$ g/mL) and 0.003% (v/v)hydrogen peroxide (Merck, Germany) in 0.11 M sodium acetate buffer (pH 5.5) is added to eachwell. A total of 100  $\mu$ l of 0.2 M H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (Merck, Germany) is added to stop the reaction. Absorbanceis measured at 450 nm and 540 nm. The difference is used to evaluate antibody binding. OD valuesare normalized to readings of a reference serum pool that is included on each plate and reported asnOD.

Serology test results are communicated to the participants at two moments in time via secure e- mail. The first communication is during Period 1. This will include the result of the Learning Phase sample and, if applicable, the Baseline sample. The second communication is after study end. This will contain the result of the P2 sample and, if applicable, the P1 sample.

## Procedures for sampling and evaluation for SARS-CoV-2 Infections

In the Netherlands, anyone with COVID-like symptoms can be tested free-of-charge for the SARS-CoV-2 virus as of 1 June 2020. The government aims to provide a test result within 48 hours, and anyone who tests positive is automatically transferred to the public contact-tracing programme. We are therefore asking study participants with a positive signal to attend the nearest public testing site, and to share the testing information with the study team due to the decentralized nature of the COVID-RED project. Therefore the project will rely on the tests and procedures available during different moments of the project and in the different laboratories where national testing takes place. Participants who utilize this infrastructure will be asked to report the type of test utilized (i.e. PCR, antigen, etc.) through the biweekly surveys utilized in COVID-RED.. The National Institute for

Public Health and the Environment (RIVM) draws up guidelines for testing and source and contact investigations, in collaboration with doctors, microbiologists and GGD GHORMedical Relief Organization in the Region. The tests are performed by GGDs, laboratories and hospitals. The quality of the tests offered is very important. Laboratories that carry out tests that can detect the genetic material of the coronavirus SARS-CoV-2 must demonstrate in advance that they meet the quality requirements and the RIVM conducts an External Quality Assessment of laboratories Performing SARS-CoV-2 Diagnostics.

When participants have a positive signal but have no COVID-like symptoms and do not have access to public testing, they are sent an instruction leaflet and materials for self-sampling (See Appendix 2). Sampling material normally arrive within 2 business days of request. Participants collect a Nasal swab and then are collected in Copan sample tube sealed in biosafety bag and sent back to the central laboratory of Sanquin where the samples are analyzed. All tubes are pre-labelled with a unique barcode,

Once at the lab 1 ml is transferred to a cobas® test tube and 1 ml Roche Lysis buffer is added and mixed. The samples are analyzed using the cobas® SARS-CoV-2 kit for use on the cobas® 6800/8800 Systems. The cobas® SARS-CoV-2 Test is a dual target assay, which includes both specific detection of SARS-CoV-2 and pan-Sarbecovirus detection for the Sarbecovirus subgenus family that includes SARS-CoV-2. The assay has a full-process negative control, positive control and internal control. Positive SARS-CoV-2 results are communicated back to the consortium and participants are informed of their result. Participants that have performed self-sampling will receive the result of the test via secure e-mail. In case of a positive self-sampling test result, this is also communicated to the public contact-tracing programme.



# Sanquin

D2.1 Appendix 1

## Gebruiksaanwijzing

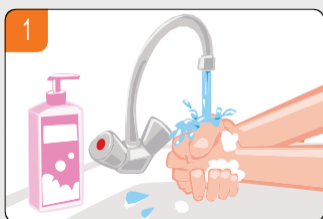
Vingerprik voor bloedafname

Voor een video instructie, ga naar [www.sanquin.nl/vingerprik](http://www.sanquin.nl/vingerprik)

Lees onderstaande stappen voor de vingerprik eerst goed door voordat u deze uitvoert. Is het vrijdag, zaterdag, zondag of de dag voor een feestdag? Wacht even met de vingerprik. Voer deze uit op maandag, dinsdag, woensdag of donderdag. Het is van belang dat de vingerprik correct wordt uitgevoerd. Schakel zo nodig hulp in van een ander persoon.

**Let op:** De bloedmeting kan niet gedaan worden als te weinig bloed gegeven wordt.

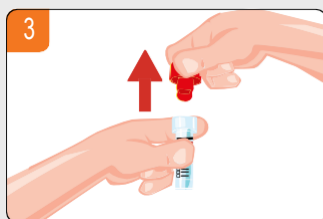
### Vorbereiding



1 Bereid een warm glas water voor (voor een latere stap). Was uw handen met warm water en zeep. Droog uw handen met een schone handdoek.



2 Ontsmet uw ring- of middelvinger met het alcoholdoekje. Laat uw vinger aan de lucht drogen.



3 Ga aan tafel zitten. Zet het buisje voor u. Haal de gele dop van het buisje af. Leg de dop omgekeerd neer.

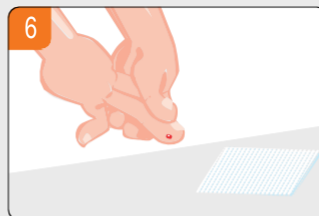


4 Verwijder het blauwe kapje van de vingerprikker door deze draaiend omhoog te trekken. **Let op: aanraken van de punt activeert het prikmechanisme.**

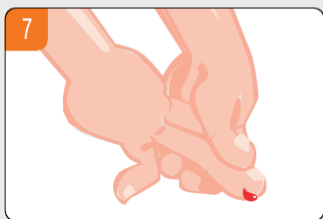
### Vingerprik



5 Verwarm uw hand aan een warm glas water. Druk de vingerprikker stevig tegen de zijkant van het topje van uw vinger tot u een klik hoort. Of laat iemand u prikken.



6 Masseer direct uw vinger van palm naar vingertop, totdat er een druppel bloed gevormd is. Veeg de eerste druppel weg met het steriele gaasje.

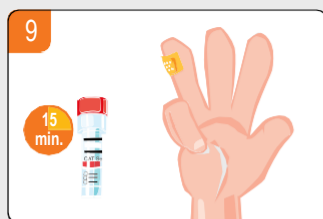


7 Masseer de vinger voor de volgende grote druppels bloed.



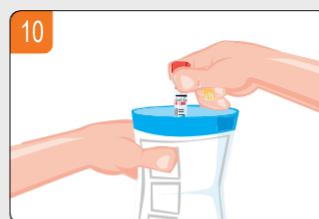
8 Laat minimaal 5 grote druppels bloed in het buisje vallen. **Lukt dit niet, herhaal de procedure met de reserve prikker en een andere vinger.**

### Verzending (Brief\_Vingerprik\_13-04-2021)

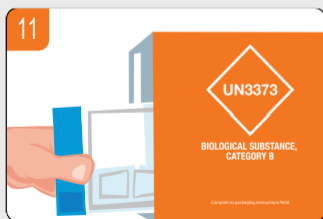


9 Sluit het buisje af door de dop stevig aan te drukken. Laat het buisje minimaal 15 minuten rechtop staan.

Plak een pleister op uw vinger.



10 Plaats het buisje tussen de harde plastic delen van de SafetyBag. Verwijder de plakstrip en sluit de SafetyBag door deze goed vast te drukken.



11 Doe de SafetyBag in de retourenvelop. Verwijder de plakstrip van de retourenvelop en sluit deze.



12 Post de retourenvelop op dezelfde dag van afname vóór de laatste lichte van de PostNL punt.

**Let op: kies een brievenbus die niet in de volle zon staat.**



## D2.1 Appendix 2

### INSTRUCTIES KEEL-NEUS MONSTER COVID-RED onderzoek

We willen graag een keel-neusmonster van u ontvangen omdat de verzamelde gegevens hiertoe aanleiding geven en u geen afspraak kunt maken via de GGD. Deze instructie zal u helpen om dit bij uzelf af te nemen.

Lees de instructies hieronder zorgvuldig en stuur het monster zo snel mogelijk naar ons op.

#### WAT HEEFT U ONTVANGEN?

- Deze instructie
- Bewaarbuis met bewaarvloeistof voor het afnamestaafje  
*Let op: deze vloeistof is niet om op te drinken*
- Verpakt afnamestaafje voor het keel-neusmonster
- Stevige beschermhoes
- Retourenvelop

Controleer of u al deze dingen heeft ontvangen.

Indien dit niet het geval is, of als u een vraag heeft over de test, neem dan meteen contact op met de helpdesk via telefoonnummer **030 – 760 24 24**.

#### INSTRUCTIES VOOR HET BIJ UZELF AFNEMEN VAN HET KEEL-NEUSMONSTER

Als u dit niet zelf kunt doen, vraag iemand anders u te helpen, bijvoorbeeld een huisgenoot.

1. Was uw handen met water en zeep en droog ze goed af.

2. Draai het deksel van de bewaarbuis en plaats de open buis in een glas zodat deze overeind blijft staan (pas op dat de bewaarvloeistof er niet uit stroomt).



Foto 1: Bewaarbuis

3. Haal het afnamestaafje uit de verpakking (Foto 2).



Foto 2: Afnamestaafje

4. Zorg ervoor dat u met het afnamestaafje niets aanraakt tijdens het verwijderen van de verpakking.

--- Ga verder op de andere kant van deze instructie ---

--- VERVOLG instructies voor het bij uzelf afnemen van het keel-neusmonster ---

5. Neem het keelmonster af door met het afnamestaafje langs de achterkant van uw keel en beide amandelen (tonsillen) te strijken (Foto 3).

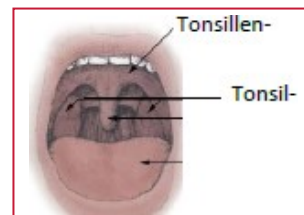


Foto 3: Mond afname

6. Haal het afnamestaafje daarna langzaam uit uw mond
7. Steek vervolgens hetzelfde afnamestaafje langzaam en in een rechte lijn (dus niet naar boven) in een neusgat tot u weerstand voelt. Dit is na 2 tot 3 cm (Foto 4).  
Wacht drie tellen en draai vervolgens het staafje minstens twee keer rond tegen het neustussenschot.

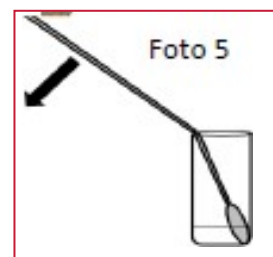


Foto 4: Neus afname

8. Haal het afnamestaafje langzaam uit het neusgat.
9. Steek hetzelfde staafje in het andere neusgat en herhaal stap 7.

10. Raak niets aan met het afnamestaafje. Houd de bewaarbus met één hand vast en steek het afnamestaafje in de bewaarbus zodat het staafje de bodem van het busje raakt (in de vloeistof).

Buig nu de steel zodat deze breekt bij de breuklijn en het afnamestaafje in de bewaarbus past (foto 5).



11. Plaats het deksel terug op de bewaarbus, draai de dop goed dicht, en steek het in de beschermhoes (Foto 6).



Foto 6: Beschermhoes

12. Plaats de beschermhoes in de retourenvelop en sluit deze.
13. Was uw handen met water en zeep.
14. Stop de retourenvelop met het monster in een PostNL brievenbus op dezelfde dag van afname. U kunt de retourenvelop natuurlijk ook afgeven op een PostNL-punt.

### VERDERE INSTRUCTIES

Zie voor de richtlijnen van de overheid:

<https://www.rijksoverheid.nl/onderwerpen/coronavirus-covid-19/testen/uitslag-test>  
Ga door met het dagelijks dragen van de armband en het invullen van de vragenlijsten.

De uitslag van deze test sturen we u zo snel mogelijk toe via e-mail.