

To: [redacted] [redacted]@rivm.nl]  
 From: [redacted]  
 Sent: Sat 5/2/2020 6:45:48 PM  
 Subject: Nadere toelichting Biotrack technology  
 Received: Sat 5/2/2020 6:46:09 PM  
[Tamminga et al. JMM 2016.pdf](#)  
[Tamminga et al. JMM 2019.pdf](#)  
[Biilage 1.pdf](#)

Beste [redacted]

Naar aanleiding van je vraag over wat meer technologische achtergrond bij de analysemethode die we gebruiken, hieronder (en in bijlages) een eerste introductie.

**Samengevat:** De Biotrack analyse is gebaseerd op het gebruik van fluorescent gelabelde probes die hybridiseren met viraal erfelijk materiaal. De aldus positief gehybridiseerde cellen worden met een optisch en kunstmatig intelligent (neuraal netwerk) reader systeem gedocumenteerd en geïnterpreteerd. In bijlage 1, pagina 1 vindt je een grafisch overzicht van de analytische workflow. Hieronder zal ik de belangrijke individuele fases van de workflow beschrijven.

**Preparatie:** Wij gebruiken witte bloedcellen (WBC) uit veneus bloed, in het bijzonder macrofagen en monocytten, als uitgangsmateriaal waarin we virale nucleotide kunnen aantonen. Om een preparaat van geconcentreerde (en van rode bloedcellen (RBC) gezuiverde) WBC's te produceren gebruiken wij osmotische lysis gevolgd door centrifugatie en resuspensie in kleiner volume. Via deze werkwijze is het mogelijk om een (t.o.v. veneus bloed) 1000 x geconcentreerd preparaat van WBC vrij van RBC te produceren in 6 minuten.

**Hybridisatie:** Het hybridisatie ("labeling") procedé bestaat uit een drietal stappen:

1. Fixatie van het gezuiverde WBC concentraat in methanol (70%)
2. Hybridisatie van het gefixeerde WBC concentraat met enkelstrengs Cy3-gelabelde DNA-sequentie specifiek voor een SARS-CoV-2 specifieke locatie op het N-gen. De probe is positief wat betekent dat ze hybridiseert met de negatief streng, de **replicatieve** tussenvorm genomisch RNA om subgenome messengers te kunnen maken. (zoals je zelf al aangaf in een eerdere mail). In de bijlage, pagina 2 een uitsnede uit een BLAST-resultaat waaruit de overgang tot de specifieke en de eerste mismatches te zien is. Duidelijk is dat de BioTrack probe op moleculair niveau specifiek is.
3. Wegwassen van niet gehybridiseerde probe met een door ons zelf ontwikkelde wasbuffer en was-procedure. Het resultaat is een WBC preparaat waarin, bij een positief monster, (een deel van) de WBC positief gehybridiseerd zijn. In de bijlage, pagina 3 een 400x fluorescentie microscopische opname van simultaan (DAPI) gekleurde en met SARS-CoV-2-probe WBC.

**Analyse:** het hierboven beschreven preparaat wordt tenslotte in een "filtercupje" in het optisch gedeelte van de BioTrack analyzer gebracht en middels een autonoom procedé in beelden vastgelegd, geanalyseerd middels computer vision en geïnterpreteerd. In stappen komt dat neer op:

- Optisch vastleggen gebeurt middels Z-richting-scanning met een hoge resolutie camera wat feitelijk een stapel images oplevert met verschillende focus afstanden.
- Deze stapel wordt vervolgens door een algoritme (dat weer AI getraind wordt) verwerkt wat weer resulteert in een 3D grafische dataset.
- Deze set wordt vervolgens middels computer-vision algoritmes geanalyseerd. Ook deze algoritmes worden ontwikkeld m.b.v. AI. Om wat inzicht te kunnen geven in die algoritmiek, zijn twee wetenschappelijke papers van onze hand toegevoegd. Deze papers zijn niet specifiek voor Covid-19 maar geven een goede indruk van de gevolgde principes.
- Tot slot wordt de door deze algoritmen geproduceerde data wederom met algoritmen geïnterpreteerd en gerapporteerd.

Dit heel proces vind dus feitelijk plaats in de machine maar is ontwikkeld en wordt aangestuurd door gebruik te maken van een multi-level neuraal netwerk. In de bijlage, pagina 4 een grafisch overzicht van dit deel van het analytische proces.

**Eerste resultaten COVID-19 detectie:** In de bijlage pagina 5 is het resultaat van de eerste tests met de Biotrack SARS-CoV-2 analyse methode beschreven. In deze test zijn 10 bekend negatieve venapunctie samples (negatief o.b.v. afnamedatum vóór 15 januari 2020 i.h.k.v. ander onderzoek) Deze samples zijn volgens de definitie negatief aangezien ze ruim voor de uitbraak van de COVID-19

in Nederland. Daarnaast zijn een tiental positieve samples verkregen i.h.k.v. een onderzoeksproject. Deze samples zijn allen afkomstig uit een geanonimiseerde groep welke allen klinische symptomen vertoonden. De resultaten zijn eenduidig wat betreft de detectie van negatieve samples. Hier in alle gevallen direct de verwachte uitslag. Bij de positieve resultaten waren twee uitslagen zwak positief ("suspect") Herhalen van de test op hetzelfde monster gaf verbetering

Op basis van deze gegevens zijn een aantal voorlopige kengetallen berekend. Zie hiervoor pagina 6 van de Bijlage. Hoewel dit een beperkt data set is lijken de sensitiviteit en specificiteit vooralsnog uitstekend.

Tenslotte op de zelfde pagina van de bijlage een tabel met in-silico resultaten. Hier wordt een redelijk aantal eigenschappen van de SARS-CoV-2 probe waarop deze methode is gebaseerd gepresenteerd. Ik denk dat deze voor zich spreken. De Tm geeft een duidelijke onderbouwing voor de praktische hybridisatie temperatuur van 50C. Hairpins, duplexen en andere verstoringen zijn afwezig en het GC% is indicatief voor een acceptabele interactie-kraft tussen probe en viraal target.

**Vervolg:** de dataset is nog smal, maar ons doel van de FXX studie is deze set breder te maken. Daarnaast is het zinvol bovenstaande dataset, naast vergroten, ook uit te breiden met serologische data. Binnen Biotrack hebben we een serologisch test in ontwikkeling die vergelijkbare analytische principes volgt.

Ik hoop je hiermee een beter inzicht te hebben gegeven in onze technologie. Wellicht is het een idee om de komende week een moment te prikken en gezamenlijk dit nog eens door te spreken. Bijlage 1 kan dan wat mij betreft als leidraad dienen. Ik hoor graag van je of en wanneer je dat zou willen doen.

Met vriendelijke groet,

5.1.2e

5.1.2e

**Biotrack B.V.**

Agora 4

8934 CJ Leeuwarden

+31 5.1.2e

[www.biotrack.nl](http://www.biotrack.nl)