

To: (10)(2e) (10)(2e)@nutrilab.nl]
From: opschalingslabs
Sent: Tue 10/20/2020 7:28:43 AM
Subject: RE: rapportage Fenelab Consortium RIVM Panels
Received: Tue 10/20/2020 7:28:42 AM

Dag (10)(2e)
 (10)(2e) @rivm.nl

From: (10)(2e) <(10)(2e)@nutrilab.nl>
Sent: dinsdag 20 oktober 2020 09:14
To: opschalingslabs <(10)(2e)@rivm.nl>; (10)(2e)@minvws.nl; (10)(2e)@lcdk.nl; (10)(2e)@minvws.nl
Cc: (10)(2e) <(10)(2e)@triskelion.nl>; (10)(2e) <(10)(2e)@nutricontrol.nl>
Subject: RE: rapportage Fenelab Consortium RIVM Panels

Dag (10)(2e)

Hartelijk dank voor de terugkoppeling en jullie beschikbaarheid vandaag. Ik heb zojuist een teams uitnodiging verstuurd. Ik heb daarbij het adres opschalingslabs gebruikt als emailadres voor een teamsvergadering. Wellicht moeten dat andere adressen zijn ivm het thuiswerken ed.

Graag heb ik de emailadressen zodat ik de uitnodiging versturen.

Met vriendelijke groet, With best regards, Mit freundlichen Grüßen,

Pieter Vos
 Directeur



Nutrilab B.V.
 Burgstraat 12
 4283 GG Giessen
 The Netherlands

(10)(2e)

[✉ \(10\)\(2e\)@nutrilab.nl](mailto:(10)(2e)@nutrilab.nl)
[🌐 www.nutrilab.nl](http://www.nutrilab.nl)

Please consider the environment before printing this e-mail

Van: opschalingslabs [(10)(2e)@rivm.nl]
Verzonden: 20 oktober 2020 08:53
Aan: opschalingslabs <(10)(2e)@rivm.nl>; (10)(2e) <(10)(2e)@nutrilab.nl>; (10)(2e)@minvws.nl; (10)(2e)@lcdk.nl; (10)(2e)@minvws.nl
CC: (10)(2e) <(10)(2e)@triskelion.nl>; (10)(2e) <(10)(2e)@nutricontrol.nl>
Onderwerp: RE: rapportage Fenelab Consortium RIVM Panels

Beste allen en collega's VWS en LCDK,

Nog een aanvulling naar aanleiding van discussies met ander lab en LCDK wat ongeveer dezelfde opzet heeft. Kingfisher/Molgene voor extractie en Ridagene kit op Roche LC480. Dat lab heeft vergelijkbare resultaten, alhoewel dat lab bij herhaling het educatief monster in beide panels wel steeds een Ct waarde vond en alle core monsters met Ct waarde. Omdat de kit Ct 35 cutoff gehanteerd wordt voor <= 35 positief en > 35 inconclusive, hebben zij ook het educatief monster en het monster met 10-voudig hogere concentratie wat ze met Ct > 35 testen als 'indeterminate' gerapporteerd. Voor dat lab is overeen gekomen om resultaten van hen te accepteren als ze alle resultaten met Ct > 35 rapporteren in CoronIT als indeterminate met mededeling eventueel hertesten en niet nog een extra cutoff > 40 aan te leggen voor negatief omdat de kit dit ook niet dicteert. De GGD waarvoor gewerkt wordt moet dan juist geïnformeerd worden over de resultaten en gebruikte cutoff omdat de kit dit dicteert, maar indeterminate resultaten in feite positieve resultaten zijn waarbij opvolging nodig is.

Wat overeind blijft is dat tov dat andere lab de Fenelab labs het educational monster missen en soms ook het monster metv 10-voudig hogere concentratie.

Goed uittesten met voldoende confirmaties, ook in de hogere Ct range waarbij RIVM en ook andere labs die met meerdere targets testen, alle targets positief hebben. Het voelt ongemakkelijk om die dan als 'indeterminate' af te geven, terwijl ze echt positief zijn.

Laten we dit vanmiddag dan bespreken.

Met vriendelijke groeten,

(10)(2e)

From: opschalingslabs <(10)(2e)@rivm.nl>
Sent: dinsdag 20 oktober 2020 03:09
To: (10)(2e) <(10)(2e)@nutrilab.nl>; opschalingslabs <(10)(2e)@rivm.nl>; (10)(2e)@minvws.nl; (10)(2e)@lcdk.nl; (10)(2e)@minvws.nl
Cc: (10)(2e) <(10)(2e)@triskelion.nl>; (10)(2e) <(10)(2e)@nutricontrol.nl>
Subject: RE: rapportage Fenelab Consortium RIVM Panels

Beste (10)(2e)

Graag doet (10)(2e) en ik dat samen. (10)(2e) werkt vanuit huis morgen. Mij zou 14:00-15:00 uitkomen.

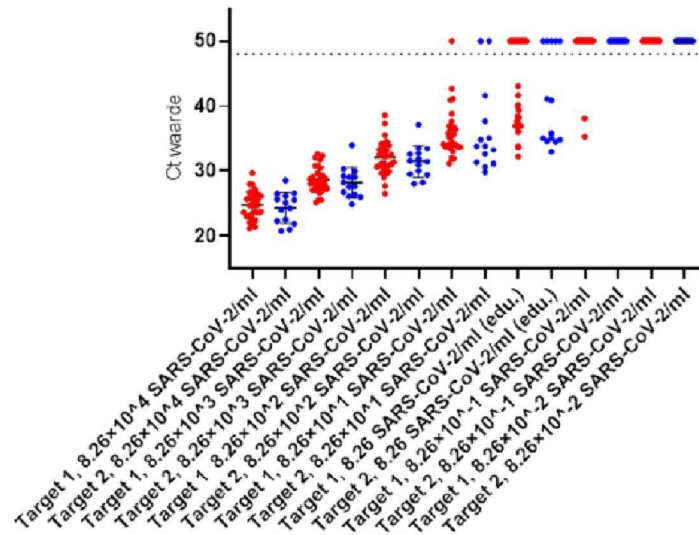
Het laatste lab heeft vergelijkbare resultaten als de andere. Educational monsters worden niet opgepikt. Dat is acceptabel, maar dan moeten de monsters met 10-voudig hogere concentratie wel ondubbelzinnig positief worden gevonden. De 4 monsters met 10-voudig hogere concentratie worden 3 keer met Ct waarde gedetecteerd, wat acceptabel is. Echter van die 3 keer wordt slechte 1 resultaat als positief beoordeeld en 2 resultaten indeterminate op basis van de hoogte van de Ct waarde en toegepaste Ct criteria. Eigenlijk zouden deze monsters ondubbelzinnig positief moeten zijn.

In bijgevoegde Excel zijn alle resultaten samengevat en naast de verwachte resultaten gezet, waarbij het aantal replicates en tussen () het aantal keren positief zoals in de verwachte resultaten die (10)(2e) stuurde staat aangegeven. De vermelde Ct waarde is het gemiddelde van de positieve replicates. Bij het RIVM gebruiken we twee PCR-testen parallel, één op E-gen en EAV (=interne extractie en inhibitie controle) en één op RdRP-gen. Dit staat dus ook in de verwachte resultaten sheets beschreven die u eerder ontvangen heeft van (10)(2e)

(10)(2g)

Hieronder nog eens de plaatjes die (10)(2e) eerder meestuurde waaruit blijkt dat andere labs alle core monsters positief vinden en deel vindt ook de educational monsters positief. Er kan meer over deze plaatjes gezegd worden. Dat lichten we dan graag mondeling toe.

Sensitiviteitsserie SARS-CoV-2



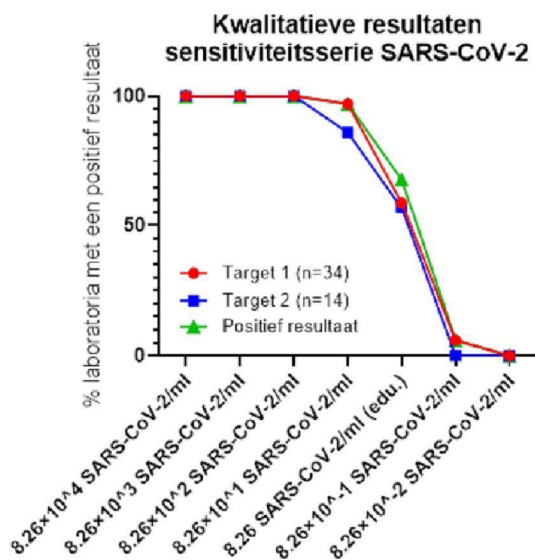
Concentratie op x-as is digitale kopieën RNA bepaald met RdRP dPCR.

Per laboratorium zijn alleen de twee meest gevoelige targets in deze grafiek weergegeven.

Niet alle laboratoria gebruiken tests waar twee gen targets gebruikt worden.

Ct 50 = artificiële Ct waarde voor een negatief resultaat.

Voor datasets zonder negatieve resultaten is mediaan met IQR weergegeven.



Concentratie op x-as is digitale kopieën RNA bepaald met RdRP dPCR.
 Per laboratorium zijn alleen de twee meest gevoelige targets in deze grafiek weergegeven.
 Niet alle laboratoria gebruiken tests waar twee gen targets gebruikt worden.
 Een positieve uitslag kan toegekend worden bij een dubbel positief (composiet) signaal van beide gen targets, of bij een positief signaal bij één van beide gen targets.
 Dit figuur toont het percentage positieve resultaten per gemeten SARS-CoV-2 concentratie.

Graag bespreken we de uitkomsten van jullie bespreking mondeling verder.

Met vriendelijke groeten,

(10)(2e)
 --
 (10)(2e) (10)(2e)
 (10)(2e) (10)(2e)

Department Emerging and Endemic Viruses
 Division Virology
 Centre for Infectious Disease Research, Diagnostics and Laboratory Surveillance (IDS) / PB22
 National Institute for Public Health and the Environment (RIVM)
 PO Box 1
 3720 BA Bilthoven
 The Netherlands

Shipping address:
 Antonie van Leeuwenhoeklaan 9
 3721 MA Bilthoven
 The Netherlands

Tel. : .. 31 (0) (10)(2e)
 E-mail : (10)(2e) @rivm.nl

Together with ErasmusMC, Rotterdam, being the National Influenza Centre (NIC) in the Netherlands
 WHO COVID-19 reference laboratory

Wednesdays working at the ErasmusMC location of the NIC

ut surveillance of influenza in the Netherlands? See (click or scan):

(10)(2e) k or scan):

From: (10)(2e) <(10)(2e)@nutrilab.nl>
Sent: maandag 19 oktober 2020 19:42
To: opschalingslabs <(10)(2e)@rivm.nl>; (10)(2e)@minvws.nl; (10)(2e)@lcdk.nl; (10)(2e)@minvws.nl
Cc: (10)(2e) <(10)(2e)@triskelion.nl>; (10)(2e) <(10)(2e)@nutricontrol.nl>
Subject: RE: rapportage Fenelab Consortium RIVM Panels

Dag (10)(2e)

Zouden wij morgen de resultaten met elkaar via een online meeting kunnen bespreken? Graag zouden twee Consortiumleden daaraan deelnemen, (10)(2e) en (10)(2e). Is het mogelijk omdat morgen te organiseren? Wij horen graag welke tijd jou schikt.

Onderstaande punten en vragen kwamen naar boven tijdens overleg vandaag.

Tevens stuur ik de resultaten mee van de laatste deelnemer, Merieux Nutrisciences.

Naar aanleiding van de beoordeling door het RIVM van de door het Fenelab consortium aangeleverde resultaten van de RIVM test panels, heb ik nog eens nauwkeurig naar alle resultaten gekeken.

In aanmerking nemende dat de 6 deelnemende laboratoria deze test panels alle op hun eigen locatie, met hun eigen personeel en met hun eigen PCR apparatuur hebben getest met een en dezelfde PCR kit, is mijn conclusie dat dit resultaat feitelijk erg goed is wanneer we als maatstaf de vergelijkbaarheid en eenduidigheid van onze resultaten beschouwen. Die is dus bijzonder goed. Desalniettemin constateert het RIVM dat in een aantal samples het consortium kennelijk vals – negatief heeft gescand.

Natuurlijk hebben we nagedacht waar dit door zou kunnen worden veroorzaakt.

Teneinde uit te sluiten dat we mogelijke DNA amplificaties gemist zouden hebben door de apparaat instellingen, heb ik ook nog nadrukkelijk gekeken naar de applicatie curves zelf.

In het eerste sample uit de resultaten tabel blijkt dat het RIVM hier een Ct waarde van 35 rapporteert. In dit sample heb ik absoluut geen enige vorm van DNA amplificatie kunnen vaststellen.

In de tabel van het RIVM staan gedetailleerde Ct waarden met 2 decimalen. Betreft het hier eenmalige resultaten of is dit een gemiddelde van meerdere experimenten.

Ook constateren wij dat het RIVM een sample met een gemeten Ct waarde op het E gene rapporteert als negatief kennelijk op basis van een tweede resultaat met een ander kit.

Maar bovenal is mijn conclusie is dat het met de PCR analyse zelf wel in orde is.

Wel kan ik mij goed voorstellen dat het geringe aantal afwijkende resultaten in samples die ogenschijnlijk zwak positief zouden moeten zijn, is gelegen in de kwaliteit, concentratie en/of stabiliteit van de RNA extracten.

Zoals wellicht bekend zijn deze extracten verkregen na extractie mbv de Molgen kit in de PurePrep robot. Het eind volume van de extracten zou volgens protocol 100 microliter zijn (in praktijk wel iets minder)

Tenslotte kan een afname in signaal in zwak positieve samples ook het gevolg zijn van RNA afbraak op zich.

Voor zover we weten waren de samples uit dit test panel de laatst overgeblevenen uit een serie dus mogelijk waren deze al wat ouder.

Daaraan gekoppeld komt bij mij de vraag op of het RIVM nog beschikt over de RNA extracten zelf.

In dat geval zouden wij kunnen bezien of de PCR analyses al dan niet tot eenzelfde resultaat zouden leiden door deze op locatie van een der deelnemers te testen.

Met vriendelijke groet, With best regards, Mit freundlichen Grüßen,

Pieter Vos
Directeur



Nutrilab B.V.
Burgstraat 12
4283 GG Giesse
The Netherlands

(10)(2e)

[✉ \(10\)\(2e\)@nutrilab.nl](mailto:(10)(2e)@nutrilab.nl)
[🌐 www.nutrilab.nl](http://www.nutrilab.nl)



Van: opschalingslabs [redacted] (10)(2e) @rivm.nl

Verzonden: 19 oktober 2020 09:49

Aan: (10)(2e) <(10)(2e)@nutrilab.nl>; (10)(2e) @minvws.nl; (10)(2e) @lcdk.nl; (10)(2e) @minvws.nl

CC: (10)(2e) @gmail.com; (10)(2e) @fenelab.net (10)(2e) (10)(2e) @labwing.com> (10)(2e)
<(10)(2e)@nutricontrol.nl>

Onderwerp: RE: rapportage Fenelab Consortium RIVM Panels

Beste (10)(2e)

Bedankt voor de rapportage en het duidelijke overzicht.

Als eerste wil ik beginnen met het specificiteitspanel (EQA 2020.6). In dit panel zijn monsternummer 3, 4, 6 en 10 positief voor SARS-CoV-2 (met $4.56 \cdot 10^1$, $4.56 \cdot 10^2$, $4.56 \cdot 10^2$ en $4.56 \cdot 10^4$ dPCR RdRP kopieën/ml, respectievelijk). Sample 4, 6 en 10 zien wij als core monsters. Het is essentieel voor laboratoria om deze monsters betrouwbaar te kunnen detecteren. Sample 3 (met $4.56 \cdot 10^1$ dPCR RdRP kopieën/ml) beschouwen wij als een educatief monster aangezien deze een dermate lage virale load heeft, dat het oppikken van dit monster niet essentieel (maar wel wenselijk) is om door een validatie heen te komen. Wanneer er voor het specificiteitspanel puur wordt gekeken naar het wel of niet vinden van een Ct waarde, dan weet elk laboratorium elk core monster te detecteren behalve NutriControl. Bij Nutricontrol wordt EQA6_CoV20-06 als negatief aangemerkt. Verder heeft, op Nutrilab na, geen van de laboratoria het educatieve monster (EQA6_CoV20-03) op weten te pikken. Echter wanneer de inclusie/exclusie criteria van de Ridagene kit worden toegapast, dan wordt het een ander verhaal. Inclusief de genoemde criteria wordt alleen EQA6_CoV20-10 door alle laboratoria hard positief bevonden. Bij EQA6_CoV20-06 weet alleen Nofalab dit monster als SARS-CoV-2 positief te testen, bij de rest is dit monster ofwel negatief ofwel indeterminate. Ook EQA6_CoV20-04 wordt als negatief ofwel indeterminate uitgeslagen door alle laboratoria. Het educatieve monster (EQA6_CoV20-03) is nu overal negatief. Er zijn geen foutief positieve resultaten door de laboratoria gemeld.

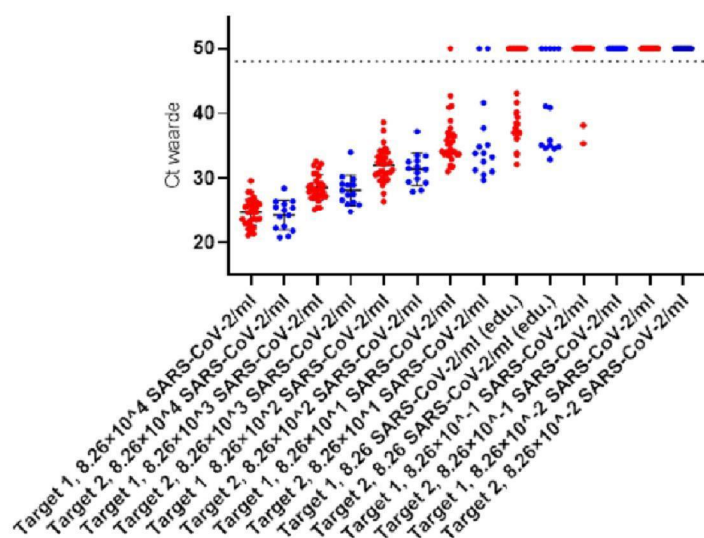
Als tweede het sensitiviteitspanel 2020.2. Bij dit panel zijn Sen. Serie-04, Sen. Serie-02, Sen. Serie-06 en Sen. Serie-07 de core monsters met een virale load van respectievelijk $8.26 \cdot 10^4$, $8.26 \cdot 10^3$, $8.26 \cdot 10^2$ en $8.26 \cdot 10^1$ dPCR RdRP kopieën/ml. Het educatieve monster, Sen. Serie-01, bevat 8.26 dPCR RdRP kopieën/ml. Wanneer voor sensitiviteitspanel puur wordt gekeken naar het vinden van een Ct waarde, dan scoren de laboratoria allen best aardig. Alle core monsters zijn gedetecteerd en alleen het educational monster wordt gemist. Inclusief de Ct waarde inclusie/exclusie criteria vallen er een stuk meer positieve resultaten af. Sen. Series-07 (core monster; $8.26 \cdot 10^1$ dPCR RdRP kopieën/ml) wordt overal ofwel indeterminate of als negatief beoordeeld.

Als laatste sensitiviteitspanel 2020.3. Bij dit panel zijn Sen. Series3-07, Sen. Series3-01, Sen. Series3-05 en Sen. Series3-04 core monsters met respectievelijk 4.56×10^5 , 4.56×10^4 , 4.56×10^3 en 4.56×10^2 dPCR RdRP kopieën/ml. Sen. Series3-03 is het educatieve monster met 4.56×10^1 dPCR RdRP kopieën/ml. Zonder de exclusies gebaseerd op Ct waarden, worden bij alle laboratoria de core monsters als SARS-CoV-2 positief aangemerkt, behalve bij Normec Biobeheer. Normec Biobeheer weet SARS-CoV-2 niet te detecteren in Sen. Series3-04. Verder wordt het educatieve monster alleen bij Triskelion (Ducares BV) opgepikt. Inclusief de inclusie/exclusie criteria wordt Sen. Series3-05 (core monster) bij Nutrilab als indeterminate uitgeslagen, wordt Sen. Series3-04 (core monster) bij alle labs als indeterminate of negatief uitgeslagen en is Sen. Series3-03 overall negatief bevonden.

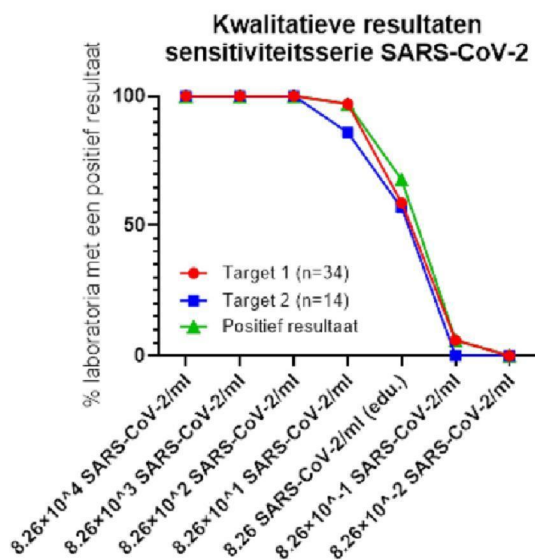
Al met al heeft de test in zijn huidige setup nog een gebrek aan de benodigde gevoeligheid. Zijn er voor jullie mogelijkheden om de test te fine-tunen door een hoger inputvolume te gebruiken en/of een lager elutievolume? Als ik de rapportages zie, dan vind ik een elutievolume van 100 ul waarvan uiteindelijk 5 ul in de eindreactie komt. Hierin zit nog wat speling waarmee wat gevoeligheid gewonnen kan worden. Ook vraag ik mij af hoe het transport van monsters van de hoofdlocatie naar de andere locaties verloopt. Zou het kunnen dat de monsters ongekold op transport gaan? Of doorlopen ze misschien een extra vries-/dooistap onderweg? Eventueel zou het gebruiken van een andere kit ook een optie zijn.

Hieronder twee figuren die de tot nu toe gevonden resultaten van sensitiviteitspanel 2020.2 weergeven. Van de andere panels zijn nog te weinig resultaten binnen om een goed beeld te kunnen schetsen.

Sensitiviteitsserie SARS-CoV-2



Concentratie op x-as is digitale kopieën RNA bepaald met RdRP dPCR.
 Per laboratorium zijn alleen de twee meest gevoelige targets in deze grafiek weergegeven.
 Niet alle laboratoria gebruiken tests waar twee gen targets gebruikt worden.
 Ct 50 = artificieel Ct waarde voor een negatief resultaat.
 Voor datasets zonder negatieve resultaten is mediaan met IQR weergegeven.



Concentratie op x-as is digitale kopieën RNA bepaald met RdRP dPCR.
 Per laboratorium zijn alleen de twee meest gevoelige targets in deze grafiek weergegeven.
 Niet alle laboratoria gebruiken tests waar twee gen targets gebruikt worden.
 Een positieve uitslag kan toegekend worden bij een dubbel positief (composiet) signaal van beide gen targets, of bij een positief signaal bij één van beide gen targets.
 Dit figuur toont het percentage positieve resultaten per gemeten SARS-CoV-2 concentratie.

Bijgevoegd de verwachte resultaten van de specificiteits- en sensitiviteitspanels. Van het document omtrent rondzending #6 is alleen het sensitiviteitspanel voor jullie van belang.

Wanneer jullie nieuwe panels willen ontvangen, dan bieden wij deze graag aan. Voor overige vragen zijn jullie ook welkom.

Met vriendelijke groet,

(10)(2e) | (10)(2e)



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

Centrum Infectieziekteonderzoek, Diagnostiek en laboratorium Surveillance (IDS)
 Afdeling Emergenc en Endemische Virussen (EEV) | Kamernummer (10)(2e)
 Het Rijksinstituut voor Volksgezondheid en Milieu (RIVM)
 Antonie van Leeuwenhoeklaan 9 | 3721 MA, Bilthoven | Nederland

(10)(2e)

Van: (10)(2e) <(10)(2e)@nutrilab.nl>
Verzonden: vrijdag 16 oktober 2020 19:44
Aan: opschalingslabs <(10)(2e)@rivm.nl>; (10)(2e)@minvws.nl; (10)(2e)@lcdk.nl;
 (10)(2e)@minvws.nl
CC: (10)(2e) <(10)(2e)@nutrilab.nl>; (10)(2e)@gmail.com; (10)(2e)@fenelab.net; Scholtis, L.H.A.
 <(10)(2e)@labwing.com>; (10)(2e); (10)(2e)@nutricontrol.nl>
Onderwerp: rapportage Fenelab Consortium RIVM Panels

Beste (10)(2e)

Wij zijn verheugd de resultaten van ons Fenelab Consortium van de RIVM Panels te kunnen rapporteren. Bijgevoegd zijn de rapportages van alle afzonderlijke Consortiumleden inclusief het uitgevoerde validatieprotocol.

Zoals in eerdere mailwisseling is aangegeven is: Het consortium (alle deelnemers) hebben de situatie nagebootst zoals dat in de praktijk gaat functioneren.

De bijlagen bestaan uit:

- Rapportages van de afzonderlijke leden.
- Validatie protocol (Validatie SARS-CoV-2 onderzoek RIVM testpanel Fenelab).
- Voorschrift RNA extractie
- Voorschrift PCR
- Product Manual PurePrep
- SARS-assay Ridagene sars-cov-2 pg6815
- Samplelijst RIVM panels

Wij zien met vertrouwen je reactie tegemoet. Bel gerust als je nog vragen hebt. Wat betreft de validatie van de methode ben ik verantwoordelijk vanuit het Fenelab Consortium. In deze fase van de validatie en onderhandelingen zijn (10)(2e) en ondergetekende jullie gesprekspartner. Waarbij (10)(2e) de algemene zaken bespreekt en ik de methode en de validatie voor mijn rekening neem. Tevens zal ik de verantwoordelijkheid dragen voor het opstarten van de centrale locatie.

Met vriendelijke groet, With best regards, Mit freundlichen Grüßen,

(10)(2e)
 Directeur



Nutrilab B.V.
 Burgstraat 12
 4283 GG Giessen
 The Netherlands
 ☎ +31 (10)(2e)
 ☎ +31 (10)(2e)
 ✉ (10)(2e)@nutrilab.nl
 🌐 www.nutrilab.nl



Dit bericht kan informatie bevatten die niet voor u is bestemd. Indien u niet de geadresseerde bent of dit bericht abusievelijk aan u is verzonden, wordt u verzocht dat aan de afzender te melden en het bericht te verwijderen. Het RIVM aanvaardt geen aansprakelijkheid voor schade, van welke aard ook, die verband houdt met risico's verbonden aan het elektronisch verzenden van berichten.
www.rivm.nl De zorg voor morgen begint vandaag

This message may contain information that is not intended for you. If you are not the addressee or if this message was sent to you by mistake, you are requested to inform the sender and delete the message. RIVM accepts no liability for damage of any kind resulting from the risks inherent in the electronic transmission of messages.
www.rivm.nl/en Committed to health and sustainability

Dit bericht kan informatie bevatten die niet voor u is bestemd. Indien u niet de geadresseerde bent of dit bericht abusievelijk aan u is verzonden, wordt u verzocht dat aan de afzender te melden en het bericht te verwijderen. Het RIVM aanvaardt geen aansprakelijkheid voor schade, van welke aard ook, die verband houdt met risico's verbonden aan het elektronisch verzenden van berichten.
www.rivm.nl *De zorg voor morgen begint vandaag*

This message may contain information that is not intended for you. If you are not the addressee or if this message was sent to you by mistake, you are requested to inform the sender and delete the message. RIVM accepts no liability for damage of any kind resulting from the risks inherent in the electronic transmission of messages.
www.rivm.nl/en *Committed to health and sustainability*