

To: LCI-webredactie[5.1.2e]@rivm.nl]
Cc: 5.1.2e [5.1.2e]@rivm.nl; 5.1.2e [5.1.2e]@rivm.nl]
From: 5.1.2e
Sent: Thur 11/19/2020 2:12:06 PM
Subject: FW: PCR tekst in voortgangsbrief
Received: Thur 11/19/2020 2:12:10 PM
[Toelichting Ct-waarde.pdf](#)

Beste Webredactie,

Gisteren heb ik een spoedverzoek gedaan om een document op RIVM.nl te plaatsen. Graag zou ik dit document (met dezelfde titel) willen vervangen door deze bijlage. In deze bijlage zijn ook nog inhoudelijke stukken toegevoegd waarnaar verwezen wordt in het eerdere document.
 Zouden jullie dit document willen vervangen op: <https://www.rivm.nl/coronavirus-covid-19/testen>

Of als ik niet bij jullie aan het juiste adres ben het even willen doorsturen naar iemand die dit normaal gesproken doet?

Alvast veel dank!

Groeten, 5.1.2e

Van: 5.1.2e < 5.1.2e]@rivm.nl>
Verzonden: donderdag 19 november 2020 15:02
Aan: 5.1.2e < 5.1.2e]@rivm.nl>; 5.1.2e < 5.1.2e]@rivm.nl>
Onderwerp: RE: PCR tekst in voortgangsbrief

Dag 5.1.2e

Hierbij het samengevoegde document. Ik neem aan dat we nergens auteursrechten schenden door artikel en kitbijsluiters er in te plaatsen.

Met vriendelijke groeten,

5.1.2e

From: 5.1.2e < 5.1.2e]@rivm.nl>
Sent: donderdag 19 november 2020 14:16
To: 5.1.2e < 5.1.2e]@rivm.nl>
Cc: 5.1.2e < 5.1.2e]@rivm.nl>
Subject: FW: PCR tekst in voortgangsbrief

Ha 5.1.2e

5.1.2e stelde voor om de bijlagen allemaal aan het document te plakken.

Dat wil hij wel doen. Hij stuurt je een compleet document dat dan ter vervanging op de site kan.

Oké?

Groet, 5.1.2e

From: 5.1.2e
Sent: vrijdag 16 oktober 2020 18:04
To: 5.1.2e [5.1.2e]' < 5.1.2e]@minvws.nl>; 5.1.2e [5.1.2e] < 5.1.2e]@minvws.nl>
Cc: 5.1.2e < 5.1.2e]@rivm.nl>; 5.1.2e < 5.1.2e]@rivm.nl>; 5.1.2e < 5.1.2e]@rivm.nl>; 5.1.2e < 5.1.2e]@rivm.nl>
 5.1.2e < 5.1.2e]@rivm.nl>
Subject: RE: PCR tekst in voortgangsbrief

Beste 5.1.2e

Bijgaand het complete antwoord. Het is een heel technisch stuk geworden met veel bijlagen maar wij denken dat dit nodig is om e.e.a. goed te verduidelijken.

Hoe dit verder doorgeleid moet worden weten jullie natuurlijk. Of moet het secretariaat van 5.1.2e het ook nog ergens naar toe sturen?

Groet, 5.1.2e

From: 5.1.2e) <5.1.2e @minvws.nl>

Sent: woensdag 14 oktober 2020 19:59

To: 5.1.2e <5.1.2e @rivm.nl>; 5.1.2e <5.1.2e @rivm.nl>; 5.1 5.1.2e) <5.1.2e @minvws.nl>; 5.1.2e <5.1.2e @rivm.nl>

Cc: 5.1.2e <5.1.2e @minbzk.nl>; 5.1.2e <5.1.2e @rivm.nl>; 5.1.2e <5.1.2e @rivm.nl>; 5.1.2e <5.1.2e @rivm.nl>

Subject: RE: PCR tekst in voortgangsbrief

Beste 5.1.2e

Bedankt voor jullie snelle en complete reactie! Begint mij steeds meer te dagen van de tijd dat ik zelf nog PCRs deed. Voor vandaag even genoeg info. Laten we morgen bespreken hoe we de twee lijnen van beantwoording van de Kamervragen en de reactie van 5.1.2e handig bij elkaar kunnen brengen.

Hartelijke groet,

5.1.2e

Van: 5.1.2e <5.1.2e @rivm.nl>

Verzonden: woensdag 14 oktober 2020 17:33

Aan: 5.1.2e <5.1.2e @rivm.nl>; 5.1.2e) <5.1.2e @minvws.nl>; 5.1 5.1.2e) <5.1.2e @minvws.nl>; 5.1.2e <5.1.2e @rivm.nl>

CC: 5.1.2e <5.1.2e @minbzk.nl>; 5.1.2e <5.1.2e @rivm.nl>; 5.1.2e <5.1.2e @rivm.nl>; 5.1.2e <5.1.2e @rivm.nl>

Onderwerp: RE: PCR tekst in voortgangsbrief

Dag allen,

Dat kruiste elkaar net dan.

Hieronder mijn respons.

Aanvullend definiëren commerciële kits gewoon hoe met de testuitslagen omgegaan moet worden. Algoritmes gebaseerd op Ct afkapwaarde voor positief, Ct waarde waarboven extra aandacht moet zijn voor beoordeling, aantal en welke targets positief. Lab kan dat volgen of niet. Dat moet dan vastliggen in SOP.

Vragen over Ct waarde van 30 naar 35 zijn gesteld door journalisten en ben samen met 5.1.2e en met 5.1.2e (Communicatiemedewerkers RIVM) in gesprek geweest met hen. Daar is weer door ene 5.1.2e een afbraakemail over gestuurd. Ik kan dat ook nog doorsturen als jullie daar trek in hebben. Ik heb met 5.1.2e afgesproken dat we in gesprek gaan met Dr. 5.1.2e.

Hieronder extract van wat besproken is met 5.1.2e en journalisten AD en Trouw.

Het landschap van PCR testen voor SARS-CoV-2 heeft zich van het begin met twee in-house protocollen met één set primers en probes met twee target genen uitgebreid naar een scala aan protocollen gebaseerd op in-house ontwikkeling en in gebruik nemen van commerciële PCR testen en testen gebaseerd op andere amplificatietechnieken. Die hebben allemaal hun eigen temperatuur en aantal amplificatiecycli. Die ligt voor het overgrote aantal testen tussen de 40 en 45 en is niet in de tijd verandert. Het verschil in aantal cycli van eerst 30 naar nu 35 in de zinsnede (<https://lci.rivm.nl/covid-19/bijlage/aanvullend> hoofdstuk 2):

RdRP-gen-PCR SARS-CoV-2 door diverse laboratoria specifiek en vergelijkbaar gevoelig als de E-gen-PCR gemaakt. De amplificatiecurve dient goed te worden beoordeeld bij de hogere Ct-waardes (zeker bij een Ct van >35). Is de curve afwijk onbetrouwbaar of moeilijk te interpreteren, dan is zeker bij een epidemiologisch onverwachte positieve uitslag confirmatie afhankelijk van de lokale implementatie met dit gen kan dat met de RdRP-PCR of andere eigen PCR op het RNA, of door van hetzelfde monster door het eigen of samenwerkingslab, of door de patiënt opnieuw te bemonsteren.

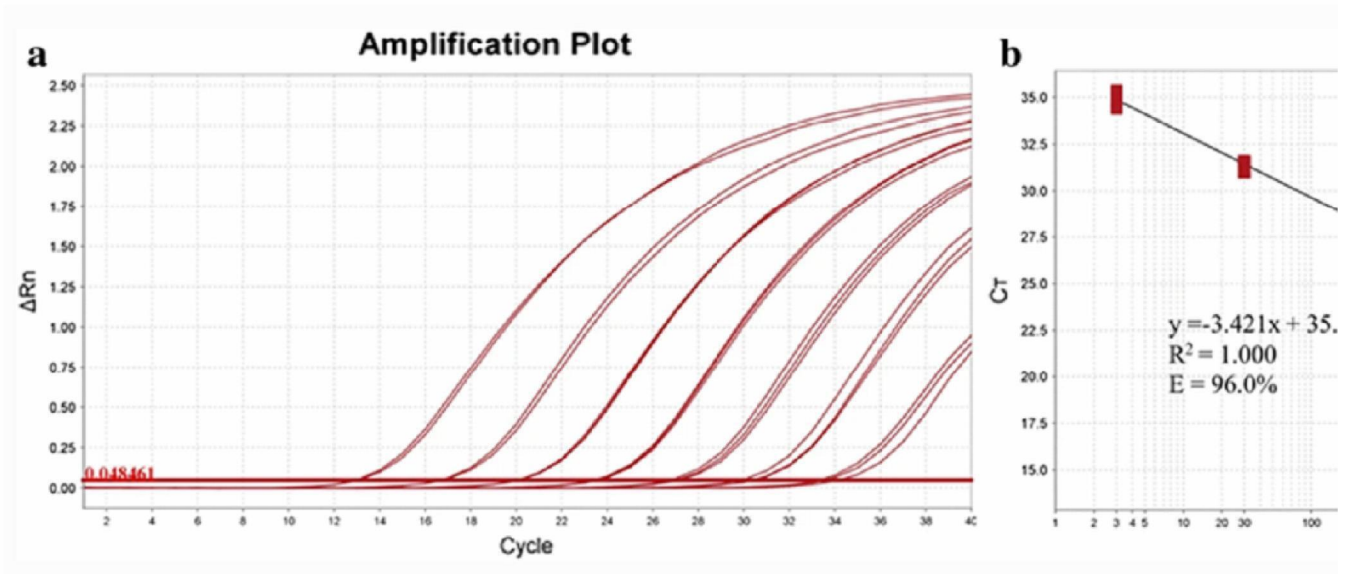
maakt niet dat meer monsters positief worden of er meer foutief positieven bij zouden komen. Meer cycli draaien kan helpen om monsters die laat in het aantal cycli positief worden een nog duidelijkere amplificatiecurve te geven. Maar daar gaat het hier niet om. Door kwaliteitscontrole weten we dat alle PCR testen en andere amplificatietesten die nu in Nederland gebruikt worden een vergelijkbare limiet van detectie hebben. Waar eerst vanwege materiaal en reagentia tekorten van twee targets overgaan is naar één target zijn door introductie van commerciële kits en betere beschikbaarheid van materialen en reagentia steeds meer tests met meerdere targets in gebruik genomen. Hierdoor zijn er niet meer of minder foutief positieve resultaten. Omdat verschillende targets niet 100% vergelijkbaar in sensitiviteit zijn kan het aantal zwak positieven toenemen, omdat bij zwak positieven niet altijd alle targets positief zijn. Dit is normaal en het gevolg van een statistisch proces om een lage concentratie virus in een monster rond de detectie limiet van de test op te kunnen pikken.

Kortom, het aantal amplificatiecycli wat in PCR testen of ander amplificatietechnieken gebruikt wordt is optimaal voor een sensitieve test en het aantal amplificatiecycli is sinds de start van SARS-CoV-2 circulatie in Nederland niet verhoogd om meer monsters positief te vinden. Daarnaast is het gebruik van meer dan één target ingegeven om minder patiënten met een erg lage hoeveelheid virus te missen en het risico te spreiden dat ondanks zorgvuldige ontwikkeling van de testen door mutaties in het virus genoom een test op één deel van het virus genoom opeens minder gevoelig zou kunnen worden en er patiënten gemist zouden kunnen worden. Dit is tot nu toe niet opgetreden met de veel gebruikt E-gen PCR omdat die gebruik maakt van een zeer stabiel deel van het erfelijk materiaal van het virus.

We moesten met eerst weinig positieven in begin epidemie in Nederland nog ervaren hoe de PCR testen voor SARS-CoV-2 zich gedroegen en wat de dynamiek van de virale load tijdens het ziektebeloop was. Daarom aan de veilige kant geschreven om amplificatiecurves boven Ct 30 die er niet typisch uitzien (geen duidelijke S curve hebben die op exponentiële vermeerdering wijst) nader te bekijken en te confirmeren. Confirmeren kan dan met een andere test op hetzelfde monster als er een andere test beschikbaar is in het lab, of door de patiënt opnieuw te laten bemonsteren. Op zich is de verandering van Ct 30 naar Ct 35 geen gekke beweging omdat gebleken is dat beneden Ct 35 de curves altijd wel typisch waren en dat er boven Ct 35 tegen de limiet van detectie van de PCR-test er pas niet typische curves konden ontstaan. Dit is eigenlijk niet anders dan bij PCR testen voor andere pathogenen.

Omdat veel labs niet meer de eerste uitgerolde PCR opzet gebruiken is die Ct 35 ook weer vloeibaar geworden. Commerciële kits definiëren eigen Ct cutoffs, als ze dat al doen. Elke implementatie zou volledig gekarakteriseerd moeten worden om een cutoff te definiëren. Met een algemene Ct 35 als cutoff om daarboven nauwkeuriger naar amplificatiesignalen te kijken zit je nog steeds aan een veilige kant.

Naar aanleiding van discussie met journalisten die 'experts' geraadpleegd hebben over Ct cutoff waarde en effect van wijziging van alert waarde van Ct 30 naar Ct 35. Eén van de 'experts' beweerde dat je met meer cycli de gevoeligheid van de PCR onbepaald op kan schroeven. Dat is niet zo omdat minder dan 1 molecuul niet gedetecteerd kan worden en 1 molecuul in PCR na pakweg 35 cycli voldoende kopieën heeft gegenereerd om boven de fluorescentie achtergrond threshold uit te komen. Typisch voorbeeld hieronder voor circa 3 moleculen per reactie. Dit is bij een efficiënt verlopende PCR reactie. Meer cycli draaien zou alleen maar de laatste curve in de grafiek a. verder naar rechts verlengen en meer op de curve links daarvan laten lijken, maar de Ct waarde verschuift daardoor niet.



Voorbij de absolute limiet van detectie van 1 molecuul per reactie komen er geen specifieke curves bij. Zou je 50 cycli draaien dan krijg je artefacten van primerdimeren en andere troep. Daarom wordt regulier bijna nooit meer dan 40-45 cycli gedraaid.

Bijgevoegd ook nog de publicatie met de PCR die wij bij RIVM gebruiken en uitgerold is aan begin epidemie. Deze wordt nog steeds door labs in Nederland gebruikt. Bijgevoegd ook bijsluiters van drie commerciële kits die door labs in Nederland worden gebruikt. In Ridagene kit zie je een Ct waarde genoemd waarboven er extra naar curves gekeken moet worden of herhaling aangevraagd om meer zekerheid te krijgen. In Seegene kit gaat het om welke targets positief zijn wanneer er extra aandacht aan uitslag gegeven moet worden. Idem voor de moleculaire sneltest van Cepheid die veel gebruikt wordt in Nederland. Dit geeft ongeveer de variatie aan waarmee we nu in Nederland te maken hebben.

Dit moet natuurlijk in minder woorden en simpeler, maar dan hebben jullie de volledige achtergrond.

Met vriendelijke groeten,

5.1.2e

From: 5.1.2e <5.1.2e@rivm.nl>
Sent: woensdag 14 oktober 2020 17:17
To: 5.1.2e <5.1.2e@minvws.nl>; 5.1 5.1.2e <5.1.2e@minvws.nl>; 5.1.2e <5.1.2e@rivm.nl>
Cc: 5.1.2e <5.1.2e@minbzk.nl>; 5.1.2e <5.1.2e@rivm.nl>; 5.1.2e <5.1.2e@rivm.nl>; 5.1.2e <5.1.2e@rivm.nl>
Subject: RE: PCR tekst in voortgangsbrief

Dag 5.1.2e

Eerste reactie nog niet afgestemd met 5.1.2e

Ik kan deze vragen niet plaatsen en ken geen besluit om afkapwaarden te veranderen. Bijgaande passage komt uit ons stuk over de PCR. In deze passage wordt uitgelegd hoe laboratoria de uitslag van de PCR beoordelen.

Als 5.1.2e deze vragen wel kan plaatsen dan hoor je dat van hem of van mij.

En als we alles op een rij hebben zal ik ook de reactie aan 5.1.2e sturen zodat hij kan reageren naar de leden.

Groet, 5.1.2e

Om te bepalen of de PCR-test positief of negatief is hanteren sommige laboratoria een bepaalde Ct of andere afkapwaarde terwijl andere laboratoria geen afkapwaarde gebruiken, maar vermenigvuldigingscurves van genetisch materiaal van het virus beoordelen of een combinatie van beiden gebruiken. De keuze voor methode van beoordelen van een PCR- test wordt per laboratorium onderbouwd in de eigen validatie en gebruikte testalgoritmen en kan dus verschillen tussen laboratoria en gebruikte testen. Voor "laag-positieve" resultaten, een positieve signaal in de buurt van de detectiegrens van de PCR-test, geldt dat elk laboratorium een eigen algoritme heeft hoe hiermee om te gaan. Dit kan inhouden dat er een bevestigingstest gedaan wordt op hetzelfde materiaal of dat nieuw materiaal gevraagd wordt van enkele dagen later.

Van: [redacted] <[redacted]@minvws.nl>
Datum: 14 oktober 2020 om 15:53:22 CEST
Aan: [redacted] <[redacted]@rivm.nl>, [redacted] <[redacted]@minvws.nl>
CC: [redacted] <[redacted]@minbzk.nl>, [redacted] <[redacted]@rivm.nl>, [redacted] <[redacted]@rivm.nl>, [redacted] <[redacted]@rivm.nl>
Onderwerp: RE: PCR tekst in voortgangsbrief

Beste [redacted]

Ik begrijp dat de discussie over de betrouwbaarheid van de PCR nog niet volledig beslecht is. Tijdens de Technische Briefing is [redacted] gevraagd waarom het aantal cycli in de PCR-test is teruggebracht van 30 naar 35. [redacted] heeft aangegeven dat hij dit moet navragen en dat hij hierover een mail zal sturen naar de leden.

Wij hebben inmiddels Kamervragen over dit onderwerp binnen:

<https://www.tweedekamer.nl/kamerstukken/kamervragen/detail?id=2020Z18662&did=2020D40352>

Kunnen jullie hier al een eerste licht op laten schijnen met oog op het debat van nu?

Groeter [redacted]

Van: [redacted] <[redacted]@rivm.nl>
Verzonden: maandag 12 oktober 2020 15:48
Aan: [redacted] <[redacted]@minvws.nl>
CC: [redacted] <[redacted]@minbzk.nl>, [redacted] <[redacted]@minvws.nl>, [redacted] <[redacted]@rivm.nl>, [redacted] <[redacted]@rivm.nl>, [redacted] <[redacted]@rivm.nl>
Onderwerp: RE: PCR tekst in voortgangsbrief

Dag [redacted]

Bijgaand ons stukje over de PCR.

Groet [redacted]

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*