

To: [redacted] [redacted] [redacted]@inbiome.com]
 From: [redacted] [redacted] [redacted]
 Sent: Sun 8/23/2020 12:15:41 PM
 Subject: RE: Rapportage
 Received: Sun 8/23/2020 12:15:41 PM

Dag [redacted] [redacted]

Dank je wel voor de uitleg, duidelijk.

De nieuwe opzet van de RdRP PCR staat hieronder:

Table 1: Original RdRp-gene primers and probes Corman et al.[1]

Oligonucleotide	Sequence	Label	Target
RdRp_SARSr-F	GTG ARA TGG TCA TGT GTG GCG G		Sarbeco
RdRp_SARSr-R	CAR ATG TTA AAS ACA CTA TTA GCA TA		Sarbeco
RdRp_SARSr-P1	CCA GGT GGW ACR TCA TCM GGT GAT GC	TXR-BHQ2	Sarbeco
RdRp_SARSr-P2	CAG GTG GAA CCT CAT CAG GAG ATG C	FAM-BHQ1	SARS-CoV-2

Table 2: Adjusted primers and probe specific for SARS-CoV-2 RdRp gene

Oligonucleotide	Sequence	Label
RdRp_SARS-F2	GTG AAA TGG TCA TGT GTG GCG G	
RdRp_SARS-R2	CAA ATG TTA AAA ACA CTA TTA GCA TAA GCA	
RdRp_SARS-P2.2	CCA GGT GGA ACC TCA TCA GGA GAT GC	FAM-BHQ1

Table 3: Composition reagents mixture for RdRP-gene SARS-CoV-2 RT-PCR. The primers and probes obtained from Biolegio were premixed at a final concentration of 10 μ M primers and 5 μ M probe.

RdRp qRT PCR	μ l
4x Taqman Fast Virus MM	5
Primers/probe Mix (10 μ M)	3
PCR grade water	7
Specimen nucleic acid	5
Total volume	20 μ l

Table 4: Amplification temperature protocol.

PCR Program	Segment number	Temp Target ($^{\circ}$ C)	Hold Time (sec.)	Slope ($^{\circ}$ C/sec.)	Acquisition mode	LC 480
Reverse Transcription	1	50	900	EXTERNAL		
Denaturation/Inactivation	1	95	120	EXTERNAL		
Denaturation	1	95	60	4.4	None	
Amplification (cycles:50)	1	95	10	4.4	None	
	2	60	30	2.2	Single	

Cooling	1	40	30	4.4	None	
---------	---	----	----	-----	------	--

Door aanpassing van de primers kunnen die niet meer voor Sarbeco detectie gebruikt worden.

Met vriendelijke groeten,

5.1.2e

From: 5.1.2e <5.1.2e@inbiome.com>

Sent: woensdag 19 augustus 2020 10:53

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

Subject: RE: Rapportage

Beste 5.1.2e

Nog bedankt voor je snelle reactie na ons telefoontje.

In antwoord op je vragen: de negatieve beoordeling van Sen Serie 04 was op grond van slechts 1 Ct waarde gegenereerd van de 3 triplo's waarbij de curve geen mooie S-vorm had. De dubieuze beoordeling van Spec-06 was op grond van 2 van de 3 triplo's positief, waarbij beiden ook geen geweldige S-curve hadden.

Wij gebruiken jullie R en E gen primers/probes, die we bestellen bij Biologio.

Ik ben wel geïnteresseerd in jullie geoptimaliseerde PCR

Het is nog onzeker of we doorgaan met de opwerkmethode gebruikt in deze validatie, dus we wachten dan iig nog met validatie op klinische monsters.

Met vriendelijke groet,

5.1.2e

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

Verzonden: donderdag 13 augustus 2020 17:22

Aan: 5.1.2e <5.1.2e@inbiome.com>

Onderwerp: RE: Rapportage

Beste 5.1.2e

Hartelijk dank voor de resultaten.

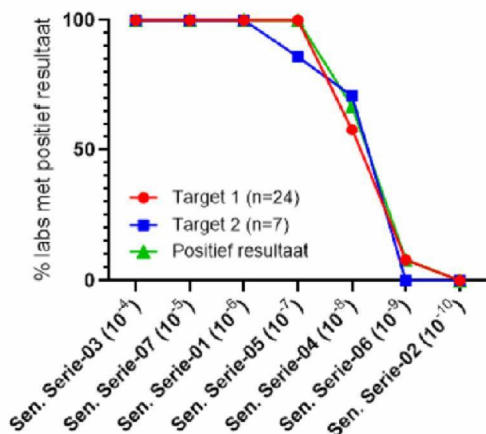
Bijgevoegd de verwachte resultaten.

Het specificiteitspanel klopt op E-gen PCR mooi, RdRp blijft wat achter. EQA_CoV20-06 zou ook RdRp positief moeten zijn. EQA_CoV20-04 is voorlopig beoordeeld als educatief monster. Omdat jullie het 2^{de} lab zijn die resultaten voor deze versie van het panel rapporteren, kan ik nog geen overzicht geven van wat zo door de bank genomen gescoord wordt.

Het sensitiviteitspanel is conform wat verwacht wordt. Hier wordt E-gen alleen ook bij educatief monster Sen. Serie-04 gevonden. Je hebt dat beoordeeld met negatief terwijl bij specificiteit E-gen alleen positief is beoordeeld met dubieus. Heeft dat een reden?

Andere labs bereiken dit resultaat met sensitiviteitspanel:

Kwalitatieve resultaten sensitiviteitsserie SARS-CoV-2



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. In dit figuur staat het percentage positieve uitslagen per Sen. serienummer weergegeven.

Daarmee zijn de resultaten voldoende goed om met de opzet van de test door te gaan, met aandachtpuntje voor de RdRP-gen opzet. Welke RdRP-gen primers en probes gebruiken jullie? Wij hebben sinds kort onze in-house test geupdate naar SARS-CoV-2 specifieke primers en probe waardoor de test gevoeliger is geworden en zo goed als gelijk aan de E-gen PCR presteert (verwachte resultaten sheet is nog met oude opzet). Mocht je interesse hebben, laat maar weten.

Wil je deze opzet ook nog laten confirmeren, dus eerste 10 negatieven en eerste 5 positieve klinische diagnostiek monsters? Dat is gebruikelijk in de opschalingsstrategie. Zo ja, dan stuur ik ook het inzendformulier hiervoor.

Met vriendelijke groeten,

5.1.2e

From: 5.1.2e <5.1.2e@inbiome.com>

Sent: vrijdag 7 augustus 2020 12:40

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

Subject: Rapportage

Beste,

Hierbij ter evaluatie onze resultaten van het ronde 5 panel,

Kind regards, met vriendelijke groet,

5.1.2e

5.1.2e

T: +31 5.1.2e

E: 5.1.2e@inbiome.com



inBiome | Science Park 106 | 1098 XG | Amsterdam

<http://www.inbiome.com>

This e-mail is for the exclusive use of the intended recipient and may contain information that is privileged, confidential, proprietary and/or exempt from disclosure under applicable law. Any review, retransmission, dissemination, disclosure, copying or other use of, or taking of any action in reliance upon, this e-mail or the information transmitted therewith by persons or entities other than the intended recipient is prohibited. If you are not the intended recipient (or have received this e-mail in error), please immediately notify the sender, delete this e-mail and destroy all copies of information transmitted in or with this e-mail.



Please consider the environment before printing this e-mail.

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*