

**Figuur 4. Frequentieverdeling van Ct-waarden van humane SARS-CoV-2 diagnostiek bij laboratorium D (datum onbekend) (N=174 positieve samples).**

De individuele Ct waarden van de monsters uitgevoerd bij laboratoria B en D (Figuur 2 en 4) laten in grote lijnen een vergelijkbare verdeling zien als de verdeling van laboratorium A. Ook bij de monsters van laboratorium B en D zal bij een poolgrootte van 5 of 6 monsters slechts in een heel beperkt aantal gevallen een diagnose gemist worden. Bij de monsters uit de diagnostiek gerapporteerd door laboratorium C (Figuur 3) zal bij pooling geen of misschien een enkel monster gemist worden.

Uit deze Nederlandse gegevens kan geconcludeerd worden dat de daling in sensitiviteit bij een poolgrootte van 5 tot 6 monsters beperkt zal blijven tot maximaal 1-2%.

#### *Impact van poolen op de infectie transmissie*

Een hele beperkte daling van de sensitiviteit zal waarschijnlijk geen of een zeer beperkte invloed hebben op de transmissie van infectie in de populatie. De virale load verandert gedurende de infectie (Wölfel et al. 2020, Kampen et al. 2020). Vanaf het moment dat symptomen ontstaan loopt de virale load in RNA kopiën terug van  $10^8$  tot  $10^{10}$ /ml/wattenstok in de bovenste luchtwegmonster in de eerste 10 dagen tot een waarde die varieert van negatief tot  $10^7$ /ml/wattenstok in de 30 dagen na begin van de symptomen bij in ziekenhuis opgenomen patiënten. Na dag 10 van de infectie begint het percentage positieve monsters sterk af te nemen en lukt het in veel gevallen niet meer virus te kweken uit bovenste luchtwegmonsters. De virale load is dan teruggelopen tot een waarde die varieert van negatief tot  $10^6$ /ml. Ook kort na start van klinische symptomen bij een virale load van minder dan  $10^6$ /ml blijkt virus niet kweekbaar (Kampen et al. 2020). Seroconversie met neutraliserende antilichamen die rond dag 6-10 opkomen spelen waarschijnlijk een rol bij het niet meer kweekbaar zijn van het virus. Het Ct waarden profiel voor milde en ernstige gevallen laten een vergelijkbare trend in de tijd zien, alhoewel een hogere virale load bij begin van de infectie geassocieerd is met ernstigere ziekte. Met gebruik van een smoothing spline lopen de Ct waarden van (ver) onder de 30 op de dag van begin symptomen op tot boven de 35 vanaf dag 4-5 na begin symptomen (He et al. 2020). Door combineren van resultaten uit deze bronnen is het zeer

onwaarschijnlijk dat patiënten met een Ct waarde in bovenste luchtwegmonster  $\geq 38$  een bijdrage leveren aan infectie transmissie. Hierbij moet wel opgemerkt worden dat een patiënt op moment van bemonsteren, voordat de symptomen duidelijk beginnen, ook een positieve PCR met hoge Ct waarde kan hebben. Bij een dergelijke patiënt kan de Ct waarde in de volgende dagen verlagen tot onder de 35 en kan de patiënt full-blown klinisch COVID-19 ontwikkelen. Het transmissie risico lijkt het hoogst rond de start van symptomen, wanneer de virale load in bovenste luchtwegmonster het hoogst is (Cheng et al. 2020). Het missen van een patiënt met lage load boven de Ct 38 is zeker acceptabel als de behandelaar de patiënt met klachten bij een negatieve SARS-CoV-2 PCR test optimaal informeert en adviseert bij toename van klinische symptomen opnieuw te testen.

#### *Matrixpooling*

Vooralsnog is er momenteel niet de beschikking over software waarmee matrixpooling op de robot geautomatiseerd kan worden. Dit betekent dat op dit moment deze vorm van pooling niet in aanmerking komt gezien de relatieve complexiteit van het terugzoeken van de individuele monsters.

#### *Conclusies*

Poolen van monsters is geanalyseerd gebaseerd op gegevens uit de Nederlandse screening door pandemie lab A van SARS-CoV-2 monsters. Met behulp van kansrekening zijn positieve uitslagen toegewezen aan pools variërend van 2 tot 14 monsters per pool. Daarbij is de prevalentie van positieve monsters gevarieerd tussen 1% en 10%.

Geconcludeerd kan worden dat de optimale poolgrootte varieert van rond de 4 monsters per pool bij een prevalentie van 10% tot 10 monsters per pool ligt bij een prevalentie van 1%. Echter, aangezien de prevalentie bij voorbaat niet gekend is, is het risico van een grote poolgrootte dat de kostenbesparing snel afneemt als de prevalentie toch hoger blijkt te zijn. Vandaar dat een poolgrootte van 5 of 6 als een goede keus gezien kan worden. Deze poolgroottes resulteren in de grootste gemiddelde capaciteitsvergroting en kostenbesparing.

Bij lage prevalenties (2%-3%) wordt het grootste voordeel geboekt in de reductie van het aantal testen: 65-70% besparing bij een poolgrootte van 5-6. De daling in kosten hangt deels af van de hoogte van de kosten per ontvangen monster en de kosten van het uitvoeren van de PCR test. Bij een lage prevalentie en een poolgrootte van 5-6 monsters zal de kostenreductie ongeveer 60% bedragen.

Bij een poolgrootte van 5 of 6 zal er een beperkte reductie in sensitiviteit optreden ten gevolge van het pool proces. Bij een Ct-afkapwaarde van  $<45$  zal een enkel positief monster met een Ct tot 41 een pool met een poolgrootte tot 10 nog met zekerheid gedetecteerd worden als positief. Laagpositieve individuele monsters met een Ct waarde tussen 42-44 kunnen wel worden gemist in een pool van 5 monsters of meer. Afhankelijk van de interpretatie van Ct waarden in een individueel laboratorium kan geconcludeerd worden dat de daling in sensitiviteit bij een poolgrootte van 5 tot 6 monsters beperkt zal blijven tot maximaal 1-2%.

Omstandigheden zullen tussen laboratoria verschillen, het is dan aan te bevelen dat elk laboratorium dat pooling van monsters toepast een adequate validatie van het pooling proces uitvoert en documenteert.

De impact van een iets verlaagde sensitiviteit in de hoogste Ct waarden heeft waarschijnlijk geen of minimaal effect op het risico van transmissie van infectie in de populatie. Het missen van een enkele patiënt met een hele lage virale load is acceptabel als de behandelaar de patiënt met klachten bij een

negatieve SARS-CoV-2 PCR test goed informeert en adviseert om bij toename van klinische symptomen opnieuw te testen.

### Aanbevelingen

Het is aan te bevelen om bij de een prevalentie in de bemonsterde populatie van onder de 5% een poolgrootte van 5 of 6 te kiezen. Als de prevalentie stabiel veel lager dan 3% is, is het te overwegen om de poolgrootte verder te verhogen tot 8 of 10.

Poolen zal bij een poolgrootte van 5 of 6 monsters leiden tot een daling van van ruim 65% van het totaal aantal uit te voeren testen.

Poolen leidt dan tot een reductie in kosten van ongeveer 60%. De inrichting van het logistieke proces voor de aanlevering van de buizen, het pre-analytisch proces, de wijze van poolen, doorlooptijden en de benodigde laboratoriumruimte zijn mede van invloed op deze kosten, en kunnen per laboratorium variëren.

Omstandigheden zullen tussen laboratoria verschillen, het is dan aan te bevelen dat elk laboratorium dat pooling van monsters toepast een adequate validatie van het pooling proces uitvoert en documenteert.

Bij een poolgrootte van 5 of 6 zal er geen of een hele beperkte reductie in sensitiviteit optreden ten gevolge van verdunning van de primaire monsters in het pool proces. Afhankelijk van de interpretatie van Ct waarden in een individueel laboratorium kan geconcludeerd worden dat de daling in sensitiviteit bij een poolgrootte van 5 tot 6 monsters beperkt zal blijven tot maximaal 1-2%. Het is de verwachting dat een dergelijke daling in sensitiviteit geen of nauwelijks impact zal hebben op het risico van transmissie van infectie in de populatie.

### Referenties

1. Cheng et al. High transmissibility of COVID-19 near symptom onset. medRxiv 2020.03.18.20034561; doi: <https://doi.org/10.1101/2020.03.18.20034561>.
2. He, X., Lau, E.H.Y., Wu, P. et al. Temporal dynamics in viral shedding and transmissibility of COVID-19. Nat Med 26, 672–675 (2020). <https://doi.org/10.1038/s41591-020-0869-5>.
3. Kampen et al. Shedding of infectious virus in hospitalized patients with coronavirus disease-2019 (COVID-19): duration and key determinants. medRxiv 2020.06.08.20125310; doi: <https://doi.org/10.1101/2020.06.08.20125310>.
4. Shani-Narkiss H, David Gilday O, Yayon N, Daniel Landau I, 2020. Efficient and Practical Sample Pooling for High-Throughput PCR Diagnosis of COVID-19. medRxiv preprint (published online April 14). 2020; Available from: <https://doi.org/10.1101/2020.04.06.20052159>.
5. Wölfel, R., Corman, V.M., Guggemos, W. et al. Virological assessment of hospitalized patients with COVID-2019. Nature 581, 465–469 (2020). <https://doi.org/10.1038/s41586-020-2196-x>.
6. Yelin I, Aharony N, Shaer Tamar E, Argoetti A, Messer E, Berenbaum D, Shafran E, Kuzli A, Gandali N, Shkedi O, Hashimshony T, Mandel-Gutfreund Y, Halberthal M, Geffen Y, Szwarcwort-Cohen M, Kishony R, 2020. Evaluation of COVID-19 RT-qPCR test in multi-sample pools. Clin Infect Dis 2020, May 2, doi: 10.1093/cid/ciaa531.

## Appendix II. FDA aanbeveling over poolen van monsters:

<https://www.fda.gov/news-events/press-announcements/coronavirus-covid-19-update-facilitating-diagnostic-test-availability-asymptomatic-testing-and>

---

### **Sample Pooling**

- The recommendations in this template are for a simple, or Dorfman, approach to testing an “n-sample pool,” where n is the number of samples included in the pool. In this type of pooling, samples are combined into non-overlapping pools of n samples and each n-sample pool is tested. A negative result implies that all samples in the pool are negative. A positive result indicates that at least one sample in the pool is positive. When an n-sample pool is positive, each sample within the pool must be individually tested to determine which is/are positive. Therefore, the volume of samples initially collected from an individual must be sufficient for both the pooled testing and individual follow-up testing, if needed. When used effectively, n-sample pooling can enable testing of more individuals despite limited testing resources.
- N-sample pooling should be considered in the context of the positivity rate of a test in the test population, analytical sensitivity of the test, and the percent of weak positive subjects in the tested population. Pooling of n samples reduces the analytical sensitivity of the test (increase in the LoD) because samples are diluted. The impact of decreased analytical sensitivity depends on the percent of subject specimens with viral genetic material concentrations close to the LoD (weak positives) in the tested population. Therefore, analytical sensitivity of the test with n-sample pools should be evaluated.
- FDA believes an n=5 is a reasonable starting point for validation of pooling for a high-sensitivity test in populations with a positivity rate of approximately 5% to 6%. In populations with lower prevalence, larger sample pools may be feasible. In populations with higher prevalence, smaller sample pools may be needed. FDA recommends that developers begin by validating their tests for pooling using an n=5. Tests validated and authorized for n=5 can then be used with any n≤5 depending on testing needs and taking into consideration local prevalence. In cases where a developer wants to validate an n>5, or is considering alternate pooling schemes such as pooling multiple swabs into a single VTM, FDA recommends that developers reach out to FDA at [CDRH-EUA-Templates@fda.hhs.gov](mailto:CDRH-EUA-Templates@fda.hhs.gov) to discuss their approach and validation plan.
- Different specimen types should not be pooled together.

- FDA recommends that your procedures specify a sample volume great enough to allow for individual and pooled testing so that, during clinical use, any samples in a positive pool can be re-tested without the need for a second sample collection.

- 
- Due to the reduction in analytical sensitivity, a pooling strategy should include risk mitigations such as additional language in the report noting that pooling was used during testing.

#### Monitoring:

- Laboratories should incorporate ongoing monitoring of the n-sample pooling strategy by addressing the following in their procedures:
  - Before implementation of n-sample pooling, evaluate existing test data in the testing population from the previous 7-10 days to estimate the initial positivity rate.
  - When implementing an n-sample pooling strategy, continue to test a random sampling of patient samples without pooling to:
    - evaluate the positivity rate and percent of weak positive samples in the testing population and
    - identify differences in positivity rate between those tested individually and those tested through pooling.
  - Calculate the percent of positive results after implementation of n-sample pooling using a moving average (such as a rolling average updated daily using data from the previous 7-10 days) to determine whether there is a change in the positivity rates between individual testing and pooled testing. Reevaluate testing strategy if the moving average of the positivity rate for pooled samples starts trending in a positive or negative direction.
  - Finally, when resource availability is sufficient to meet testing demand, consider whether the risks of reduced test sensitivity with pooling continue to outweigh the benefits of resource conservation.

#### Validation:

- Test developers should characterize the reduction in assay analytical sensitivity (i.e., shift in Ct score for RT-PCR assays) with respect to the number (n) of samples to be pooled to ensure the selected n-sample pooling strategy will maintain appropriate sensitivity. This maximum number of samples acceptable to pool should be determined and validated using the recommendations below for each specimen type you intend to pool.
- To establish performance of your test with n-sample pooling, FDA recommends conducting a clinical validation study in the intended use population that includes testing each sample individually and using your proposed pooling strategy.

A) Sample pooling: adding a pooling strategy to a previously authorized (EUA) test

When requesting to add a pooling strategy to the authorized uses and the authorized procedures for your own previously authorized assay, you should submit an EUA amendment request with the appropriate validation as described below. When requesting to add a pooling strategy to the authorized uses and the authorized procedures for another developer's authorized assay, you should submit a new EUA request with the appropriate validation as described below. To leverage the previous individual sample testing validation data for a different developer's assay, please provide a Right of Reference from that EUA holder. To add a pooling strategy to a previously authorized test, you do not need to establish performance with a separate comparator assay.

You should conduct a clinical study with at least 20 individual positive samples, comparing the performance of the EUA-authorized assay when testing single specimens according to the authorized procedures to the performance of the assay when testing n-sample pools. We strongly encourage you to work with your customers to gather existing data (e.g., 100 Ct scores from individually tested positive patient samples) and evaluate the percentage of samples with Ct scores close to your assay LoD (i.e., weak positives). A theoretical Ct shift of  $\text{Log}_2(n)$  can be estimated for most RT-PCR tests (e.g., for  $n=5$ , a Ct shift of 2.3 would be expected). Therefore, if a large percentage of positive patient samples are close to your assay LoD, you may want to consider a smaller  $n$ , which will reduce the observed Ct shift and maintain higher sensitivity.

Please consider the following when designing your clinical validation study with 20 individually tested positive samples:

- If archived individual samples are available and have enough volume for testing with n-sample pools, we recommend that you use at least 20 archived positive samples. If these samples are not available with sufficient volume, we recommend that you enroll enough patients to collect at least 20 positive samples and an appropriate number of individual negative samples from the intended use population. For a 5-sample pooling strategy, a total of 80 unique comparator method negative samples are recommended in order to make up 20 5-sample pools with the 20 positive samples (20 positives + 4x20 negatives). Additionally, 100 comparator method negative samples are recommended to make up 20 5-sample negative pools (5x20 negatives) as described below. If there is sufficient volume, the same negative patient samples can be used to create positive and negative pooled samples.
- We recommend that at least 25% of the validation samples be within 2-3 Ct of the cut off, and no more than within 2-4 Ct.
- Samples should be collected according to the procedures, keeping in mind that additional sample volume will be needed to test using an n-sample pooling strategy (n-sample pooling will need  $1+1/n$  times the volume needed for individual testing).
- All samples should be individually tested by your assay, either previously for archived specimens or prospectively, and have recorded Ct values if using an RT-PCR test.
- To characterize the performance of your assay when testing pooled samples, those samples with positive results when tested individually should each be pooled with n-1 (e.g., where  $n=5$ ,  $n-1=4$ ) randomly selected negative samples. The resulting 20 pools, each consisting of 1 positive sample and n-1 negative samples, should be tested by your assay.

- To confirm that negative samples remain negative in n-sample pools, we recommend testing 20 pools each consisting of n (e.g., n=5) negative samples. If there is sufficient volume, the same negative patient samples can be used to create positive and negative pooled samples.
- 

#### Analysis of data

- You should report estimates of positive and negative agreement comparing the performance of your test for pooled samples to the expected result. Using a study design with 20 positives, all samples that were identified individually as positive by your test should still be positive when tested in pools with n-1 negative samples.
- Additionally, for RT-PCR tests, you should provide an analysis of Ct values of each target detected by your test. We recommend presenting the Ct values for the n-sample pools on the Y-axis and Ct values for the individually tested samples on the X-axis. The clinical validation study should demonstrate that individual positive samples with viral load close to the assay's LoD (i.e., weak positives) are accurately detected by your test in a pool with (n-1) negative samples.
- We recommend that you provide an appropriate type of regression analysis with slope and intercept along with 95% confidence interval. Using regression analysis, we recommend that you evaluate the shift in Ct values for the positive patient samples diluted with negative patient samples.

#### B) Sample pooling: new test (not previously authorized)

When requesting to include a pooling strategy for a new test, you should submit an EUA request with the appropriate validation data for individual testing in your proposed intended use population and for pooled testing, as described below. This should involve using a high-sensitivity comparator assay to characterize performance of your candidate test.

You should conduct a clinical study with at least 30 individual positive samples, as identified by the comparator assay, comparing the performance of the candidate assay both when testing single specimens and when testing n-sample pools to the performance of the comparator assay.

Please consider the following when designing your clinical validation study:

- The number of enrolled patient specimens should be sufficient to ensure at least 30 comparator method positive samples and an appropriate number of comparator method negative samples are collected from the intended use population. The number of comparator method negative samples depends on the pooling strategy. For instance, for a 5-sample pooling strategy, a total of 120 unique comparator method negative samples are recommended in order to make up 30 5-sample pools with the 30 positive samples (30 positives + 4x30 negatives). Additionally, 150 comparator method negative samples should make up 30 5-sample negative pools (5x30 negatives) as described below. If there

is sufficient volume, the same negative patient samples can be used to create positive and negative pooled samples.

- We recommend that at least 25% of the validation samples should be within 2-3 Ct of the cut off, and no more than within 2-4 Ct.
- 
- Samples for comparator method testing should be healthcare provider collected NP swabs. If an NP swab cannot be collected, a nasal swab can be used however both anterior nares should be sampled with the same swab. Sampling for the candidate test and comparator method should occur within a short timeframe, such as during the same visit, to avoid biological variability in viral load.
  - If available, FDA recommends selecting a comparator assay that has established high sensitivity with an internationally recognized standard or the FDA SARS-CoV-2 Reference Panel. Please contact (10)(2e) @fda.hhs.gov to discuss options to establish sensitivity.
  - Samples for the candidate test should be collected according to the procedures. Depending on the sample volume required for your test, a single specimen collected from each study participant may be sufficient for individual and pooled sample testing.
  - In general, we recommend that you collect samples at a minimum of three geographically diverse sites, especially if you are planning to use the same data to support a subsequent De novo/510k submission. If this is not possible, FDA recommends samples collected at one or two sites in the context of an EUA.
  - It may be possible to use archived positive samples that were collected from the intended use population. We recommend you contact FDA to discuss such an approach prior to initiating your study.
  - All samples should be individually tested by the comparator assay and individually tested by the candidate assay to characterize the performance of your assay when testing individual samples.
  - To characterize the performance of your assay when testing n-sample pools, those samples with positive results by the comparator method should each be pooled with n-1 (e.g., where n=5, n-1=4) randomly selected comparator method negative samples. The resulting 30 pools, each consisting of 1 comparator method positive sample and n-1 comparator method negative samples, should be tested by your candidate assay.
  - To confirm that samples with comparator method negative results remain negative in n-sample pools, we recommend testing 30 pools each consisting of n (e.g., n=5) comparator method negative samples.

#### Analysis of data

- You should report estimates of positive and negative agreement comparing individual results from your test and the comparator test, as well as performance of pooled samples to the expected results (i.e., a pool which includes a comparator method positive sample is expected to remain positive when pooled). Using a study design with 30 positives, all samples that were identified individually as positive should still be positive when tested in pools with n-1 negative samples.

- Additionally, for RT-PCR tests, you should provide an analysis of Ct values of each target detected by your test. We recommend presenting the Ct values for the n-sample pools on the Y-axis and Ct values for the individually tested samples on the X-axis. The clinical validation study should demonstrate that individual positive samples with viral load close to the assay's LoD (i.e., weak positives) are accurately detected by your test in a pool with (n-1) negative samples.
- We recommend that you provide an appropriate type of regression analysis with slope and intercept along with 95% confidence interval. Using regression analysis, we recommend that you evaluate the shift in Ct values for the positive patient samples diluted with negative patient samples.

C) Example of validation and data presentation.

The information below is included as an example of how data can be presented to FDA in a pre-EUA or EUA request. It is for illustrative purposes only and is not reflective of data from any specific test nor the only way to present such information. This example is based on a 5-sample pooling strategy using an extraction method requiring a 500 uL sample.

- 1) Used the candidate assay to individually test 500 uL aliquots of 30 comparator positive samples and 150 comparator negative samples.

Example of table for presenting calculation of PPA and NPA of the candidate test results for samples tested individually vs the comparator test results:

Samples Tested Individually	Comparator Method Result	
	Positive	Negative
Candidate Test Result		
Positive		
Negative		

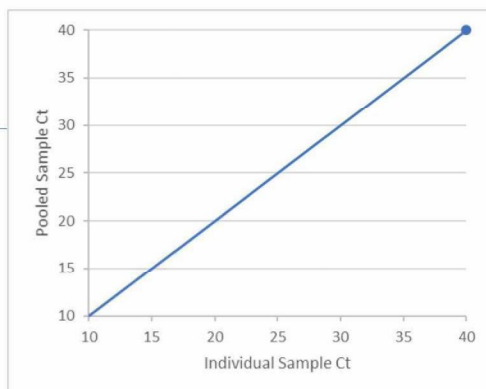
- 2) Created expected positive 5-sample pools by combining 100 uL of one (1) individual positive patient sample with 100 uL aliquots from each of four (4) unique comparator method negative patient samples. This was done for all positive patient samples thereby creating 30 5-sample pools (i.e., a total of 30 positives combined with a total of 120 negatives).

- 3) Created expected negative 5-sample pools by combining 100 uL of five (5) individual negative patient samples using a total of 150 unique negative samples. When there was sufficient volume, the same negative patient samples were used to create positive and negative pooled samples.
- 
- 4) Tested all 5-sample pools by following the instructions for use of the candidate test. All previous results were unknown to the user (i.e., an individual other than the user performing the testing prepared the samples such that testing was performed “blinded”).
  - 5) Calculated the percent agreement of the pooled samples with respect to the expected results (i.e., if a positive patient sample was included in the 5-sample pools, the expected result was positive).

Example of table for presenting calculation of PPA and NPA of the candidate test results for samples tested in 5-sample pools vs expected results (where expected results are based on the individual testing):

Samples Tested in 5-sample pool	Expected Result	
	Positive	Negative
Pooled Test Result		
Positive		
Negative		

- 6) If the candidate assay is an RT-PCR test and cycle threshold scores (Ct score) are available, we recommend that you provide a data plot (example below) of the positive sample Ct scores of an individual tested positive (i.e., the Ct score of the individual positive sample used to create the positive pooled sample) and the positive pooled sample. We recommend that you include a diagonal line with a slope of 1 and a y-intercept of 0. We recommend that you provide an appropriate type of regression analysis with slope and intercept along with 95% confidence interval. Using the regression analysis, we recommend that you evaluate the shift in Ct values for the positive patient samples diluted with negative patient samples.



7) Agreement should also be presented in a stratified manner so that performance over the range of Ct scores can be evaluated. For example, if the cut-off for the candidate test is Ct = 40 then the following table should be provided:

Samples Tested in a 5-sample Pool	Expected Result Individual Samples with $37 < Ct \leq 40$	
	Positive	Negative
Positive		
Negative		
	Expected Result Individual Samples with $34 < Ct \leq 37$	
Positive		
Negative		
	Expected Result Individual Samples with $Ct \leq 34$	
Positive		
Negative		
	Expected Result All Individual Samples	

Positive		
Negative		

---

**To:** (10)(2e) (LGL)[(10)(2e)]@lgl.bayern.de  
**From:** (10)(2e)  
**Sent:** Wed 7/15/2020 11:19:23 AM  
**Subject:** FW: goedkeuring manuscript?  
**Received:** Wed 7/15/2020 11:19:23 AM  
[Epidemiological characteristics and parameters among early cases of COVID 13.07.2020 clean \(10\)\(2e\).docx](#)

Ha (10)(2e)  
Hier nog enkele suggesties van (10)(2e) op het manuscript (omdat wij ook goedkeuring moet vragen krijg je dit soort nuttige feedback).  
Vriendelijke groeten,  
(10)(2e)

---

**From:** (10)(2e) <(10)(2e)@rivm.nl>  
**Sent:** woensdag 15 juli 2020 13:05  
**To:** (10)(2e) <(10)(2e)@rivm.nl>; (10)(2e) <(10)(2e)@rivm.nl>  
**Subject:** RE: goedkeuring manuscript?

Hoi (10)(2e)  
Hierbij een paar opmerkingen.  
Groeten,  
(10)(2e)

---

**From:** (10)(2e) <(10)(2e)@rivm.nl>  
**Sent:** dinsdag 14 juli 2020 13:02  
**To:** (10)(2e) <(10)(2e)@rivm.nl>; (10)(2e) <(10)(2e)@rivm.nl>  
**Subject:** goedkeuring manuscript?

Ha (10)(2e)  
Hier een manuscript waarbij (10)(2e), (10)(2e) en ik zijn genoemd als coauteur over de COVID-19 epidemie in (10)(2e) met (10)(2e) als tweede auteur. Het wordt ingediend bij Eurosurveillance. Geen opzienbarende verschillen in epidemiologie met wat we in andere gebieden hebben gezien, wel heel mooie set gegevens.  
Laat maar weten als er nog suggesties, op- of aanmerkingen zijn.  
Vriendelijke groeten,  
(10)(2e)

**To:** (10)(2e) [(10)(2e) @etzn.nl]; (10)(2e) [(10)(2e) @etzn.nl]  
**Cc:** (10)(2e) [(10)(2e) @rivm.nl]; (10)(2e) [(10)(2e) @rivm.nl]; (10)(2e) [(10)(2e) @rivm.nl]  
**From:** (10)(2e)  
**Sent:** Tue 7/21/2020 9:01:27 AM  
**Subject:** Re: inout (10)(2e) Laatste versie science paper  
**Received:** Tue 7/21/2020 9:01:48 AM  
[20200703 SCIENCE manuscript PCR sensitivity \(10\)\(2e\).docx](#)

beste (10)(2e)

In de bijlage mijn reacties op de laatste versie. Mijn voorstel is om nu een volledig schoon en bijgewerkt document te maken bestaande uit de losse bestanden die bij Science moeten worden ingediend. Dus alle wijzigingen en opmerkingen er uit (iedereen kan deze desgewenst in eerdere versies terugzien). Overal de juiste lay-out, uniformiteit in afkortingen en terminologie, volledig juist opgemaakte figuren en tabellen met complete legenda's etc. etc.

Vooral de discussie vraagt nog flink aanpassing. Als jullie tweeën hierover telefonisch willen overleggen kan dat, maar wel even een concrete datum/tijd afspreken gezien mijn vakantie.

groet, (10)(2e)

---

**Van:** (10)(2e) <(10)(2e) @rivm.nl>  
**Verzonden:** maandag 20 juli 2020 13:33  
**Aan:** (10)(2e); (10)(2e); (10)(2e)  
**CC:** (10)(2e); (10)(2e)  
**Onderwerp:** RE: inout (10)(2e) Laatste versie science paper

Hoi allen,

Bijgevoegd mijn versie, ik heb het volgende gedaan:

- \* (10)(2e) comments op "resolved" gezet als er verder geen actie meer nodig was
- \* Niet "controversiele" veranderingen accepted
- \* (10)(2e) toegevoegd als auteur, ergens in het midden, omdat hij de statistiek heeft gereviewed
- \* Mijn naam bij corresponding author gehouden
- \* De discussie paragraaf over LRT route van besmetting roept bij mij en (10)(2e) vragen op
- \* De supplementary was niet becommentarieerd! Ik voeg het nogmaals bij. Bij Science is de supplementary een belangrijk deel van het artikel, bevat alle M&M. Ook staan er nog vragen/commentaren in.
- \* Er is nog flink discussie in de discussie. Ik durfde hier nog even niet te veranderen. Ik stel voor dat (10)(2e) zich hier nu op werpen, en dat we aan de hand van het resultaat bekijken of we misschien nog een meeting nodig hebben.

Ik geeft het stokje door aan (10)(2e)

gr,  
 - (10)(2e)

\*\*\*\*\*

(10)(2e)  
 Center for Zoonoses and Environmental Microbiology - Z&O

RIVM - Centre for Infectious Disease Control  
 P.O. Box 1 (internal mailbox 63)  
 3720 BA Bilthoven  
 The Netherlands

(10)(2e) @rivm.nl  
 t (10)(2e)  
 \*\*\*\*\*

**From:** (10)(2e) <(10)(2e)@rivm.nl>  
**Sent:** zaterdag 18 juli 2020 18:22  
**To:** (10)(2e) <(10)(2e)@rivm.nl>; (10)(2e) <(10)(2e)@etz.nl>; (10)(2e) <(10)(2e)@etz.nl>  
**Cc:** (10)(2e) <(10)(2e)@etz.nl>; (10)(2e) <(10)(2e)@rivm.nl>  
**Subject:** inout (10)(2e) Laatste versie science paper

Beste allen,  
 Allereerst excuses voor vertraging van mijn kant. Ik heb eigenlijk geen ander excuus dan dat de lijst van zaken waar ik naar moet kijken met deadline gisteren zolang is dat ik het echt niet meer kan bolwerken binnen afzienbare tijd. Dit komt ook omdat de evaluaties van het handelen van het RIVM zijn begonnen en er mensen zijn die het nodig vinden om het RIVM voor de rechter te dagen. Enfin, Hopelijk gaat dat de komende tijd weer beter worden (stilte voor de storm)

Hierbij mijn kritische blik op het paper. Het lijkt erg blauw maar dat komt vnl omdat ik de volgorde niet duidelijk vond. Daarnaast gaat mijn input vnl over het aangeven van de heldere lijn van het verhaal.

Ik ben officieel met vakantie maar dat is geen probleem want we kunnen toch nergens heen ♦. Ik kijk dus graag naar een volgende versie en dat kan nu ook snel. Voor overleg mbt mijn comments altijd te bereiken op (10)(2e) (10)(2e). Stuur ook even een appje als er weer wat in de mail zit. Ik probeer nl wel de komende paar weken uit die bodemloze put te blijven.

Ook morgen te bereiken voor overleg. De komende week alleen woe en don niet, dan ben ik toerist in Amsterdam ♦. Geen probleem, ik help graag om het snel naar einde te brengen.

Het wordt een heel mooi verhaal, prachtige data.

Hartelijke groet (10)(2e)

**From:** (10)(2e) <(10)(2e)@rivm.nl>  
**Sent:** vrijdag 3 juli 2020 13:05  
**To:** (10)(2e) <(10)(2e)@rivm.nl>; (10)(2e) <(10)(2e)@rivm.nl>  
**Cc:** (10)(2e) <(10)(2e)@etz.nl>; (10)(2e) <(10)(2e)@etz.nl>; (10)(2e) <(10)(2e)@etz.nl>  
**Subject:** Laatste versie science paper

Hoi (10)(2e)

Nadat (10)(2e) en ik flink hebben geschaafd aan het paper, ligt nu de bal bij jullie!  
 Willen jullie aandachtig zowel het paper, als de supplementary doornemen en jullie commentaar geven?

(10)(2e) jij had aangeboden om een letter to the editor te schrijven? Zou je dat willen doen en bijvoegen?

Wat mij betreft is het al in een behoorlijk gevorderd stadium. Zelf heb ik nog maar 1 belangrijke vraag staan in de discussie.

De referenties en verwijzingen naar de figuren kloppen nog niet, dat gaan we als allerlaatste oppakken.

gr,  
 --(10)(2e)

\*\*\*\*\*

(10)(2e)  
 Center for Zoonoses and Environmental Microbiology - Z&O

RIVM - Centre for Infectious Disease Control  
 P.O. Box 1 (internal mailbox 63)  
 3720 BA Bilthoven

The Netherlands

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

\*\*\*\*\*

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](http://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](http://www.rivm.nl/en) Committed to *health and sustainability*