RESULTATS D'EVALUATION DE LA PERFORMANCE POUR LA DETECTION DU SARS-COV-2 PAR COMPARAISON AVEC LA TECHNIQUE DE REFERENCE DU CNR



Nom du Kit: EurobioPlex SARS-CoV-2 Multiplex

Fournisseur: Eurobio Scientific

Détection : 3 cibles + 1 contrôle interne d'extraction en multiplex (1 puits par échantillon)

Laboratoire Investigateur

Pr Sylvie van der Werf (sylvie.van-der-werf@pasteur.fr)
Dr Sylvie Behillil (sylvie.behillil@pasteur.fr)
Dr Vincent Enouf (vincent.enouf@pasteur.fr)

Centre national de référence des virus des infections respiratoires 25-28, rue du Dr Roux 75 724 Paris cedex 15 +33 (0)1 45 68 87 25 grippe@pasteur.fr

OBJECTIFS

L'objectif de l'évaluation est de tester la sensibilité analytique du test mentionné ci-dessus, pour la détection du SARS-CoV-2 par comparaison avec la technique de référence utilisée au CNR de l'Institut Pasteur, à partir :

- D'ARN extraits de mélanges d'échantillons respiratoires positifs pour le SARS-CoV-2 et couvrant une large gamme de Ct jusqu'à la limite de détection (pools 2, 4, 5, 6, 7, 7h et 9c)
- D'un ARN extrait de mélanges d'échantillons respiratoires négatifs pour le SARS-CoV-2 (pool Neg).

La spécificité du kit et notamment les réactions croisées avec d'autres souches de coronavirus ne sont pas évaluées par ce test.

MATERIEL ET METHODES

Panel d'échantillons testés

- Huit mélanges d'échantillons respiratoires naso-pharyngés de patients présentant des valeurs ce Ct similaires, dont un constitué de sérums négatifs. Les mélanges les plus concentrés (pools 2 et 4) sont testés une seule fois. Les mélanges les moins concentrés (pools 5, 6, 7, 7b et 9c) et le négatif sont testés en triplicats.
- ARN extrait d'un surnageant de culture virale dilué au 1000^e servant de contrôle positif.

Technique de référence CNR

Extraction avec le kit Extraction NucleoSpin Dx Virus (Réf. Macherey Nagel 740895.50).

SuperScript™ III Platinum® One-Step Quantitative RT-PCR System (Réf. Invitrogen 1732-020).

Deux cibles : E et IP2/IP4

Prise d'essai : 5 µL

Technique évaluée selon la notice du fournisseur

Ajout de 10 μ L du contrôle d'extraction interne du kit à 100 μ L d'échantillon à extraire.

Prise d'essai de 5 μL d'ARN extrait.

Amplification sur ABI 7500

RESULTATS

						I		<u> </u>					
	Ct du kit	commentaires			20.00	# 1 puits négatif sur les 3 réplicats			¤ 2 puits négatifs sur les 3 réplicats			-	
:: :: ::		Contrôle extractio n	30,3	30,8	30,6	31,8	29,9	31,1	31,3	31,2	QN	NA	QN
		Z	19,5	27,9	30,2	35,4#	ND	ND	36,9 ¤	QN. :	ND	28,2	23,2
		RdRp2	16,2	23,1	25,5	29,4	33,1	35,2	36,6	ND	QN	28,5	23,7
		RdRp1	16,4	23,1	25,5	29,4	32,7	34,9	35,5	ND	ON	28,6	23,5
e la	technique de référence *	IP2/IP4	17,19	23,76	27,04	31,34	34,47	35,23	36,0	ND	ND	28'82	NA
Ct de la		ш	18,00	24,19	26,82	30,75	34,34	35,04	36,1	ND	ND	32,03	NA
	Numéro échantillon			Pool 4	Pool 5	Pool 6	Pool 7	Pool 7b	Pool 9c	Pool Neg	Eau	ARN viral	Contrôle positif kit

ND: non detecté; NA: non applicable

*: https://www.who.int/docs/default-source/coronaviruse/real-time-rt-pcr-assays-for-the-detection-of-sars-cov-2-institut-pasteur-paris.pdf?sfvrsn=3662fcb6_2

La technique de référence du CNR détecte l'ARN viral du SARS-CoV-2 :

- Jusqu'au pool 9c avec la cible E,
- Jusqu'au pool 9c avec la cible IP4/IP2.

nettement moins sensible: les trois pools les plus dilués (7, 7b et 9c) ne donnent un résultat positif que Le kit EurobioPlex SARS-CoV-2 Multiplex est validé pour tous les échantillons testés avec une détection du SARS-CoV-2 jusqu'au pool 9c, le plus dilué du panel, avec les cibles RdRp1 et RdRp2. La cible N est pour un des neuf puits (l'un des triplicats du pool 9c), contrôle interne correcte. Il détecte l'ARN viral du le pool 6 n'est positif que dans deux réplicats sur trois.

CONCLUSIONS

Le Centre National de Référence des Virus des Infections Respiratoires (dont la grippe) considère que le EurobioPlex SARS-CoV-2 Multiplex possède une sensibilité de détection du SARS-CoV-2 acceptable.

La spécificité du kit n'a pas été évaluée.

Prsyling an drwerF then most