

Centre National de Référence des
Virus des Infections Respiratoires (dont la grippe)
Hébergé à l'Institut Pasteur
28 rue du Docteur Roux
75724 Paris Cedex 15

Yann Marcy
Mobidiag France
Genewave SAS
172 rue de Charonne
75011 Paris

A Paris, le 10/04/2020

Nos références : analyses de performance en analytique du kit

Amplidiag COVID-19 Kit

Monsieur,

Je vous prie de trouver ci-joint les résultats des analyses de performance de sensibilité de votre produit réalisé par le Centre National de Référence des Virus des Infections Respiratoires (dont la grippe).

Le Centre National de Référence des Virus des Infections Respiratoires considère que le kit soumis peut être utilisé pour la détection du SARS-CoV-2 dans le cadre de l'épidémie de COVID-19 sur la base des résultats de sensibilité.

Le Centre National de Référence rappelle qu'il a utilisé pour les analyses l'équipement mentionné en pièce jointe/dans la méthode qui vous a été communiquée au préalable.



Sylvie van der Werf

*Responsable du Centre National de Référence des
Virus des Infections Respiratoires (dont la grippe) à Paris*

RESULTATS D'ÉVALUATION DE LA PERFORMANCE
POUR LA DÉTECTION DU SARS-CoV-2 PAR
COMPARAISON AVEC LA TECHNIQUE DE RÉFÉRENCE DU CNR



Nom du Kit : *Amplidiag COVID-19 Kit*

Fournisseur : *MOBIDIAG*

Détection : 2 cibles + 1 contrôle interne d'amplification 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.pasteur@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, 3, 4, 5, 6, 7, 7b et 8).
- 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

- Neuf mélanges d'échantillons respiratoires naso-pharyngés de patients présentant des valeurs de Ct similaires, dont un constitué de sérums négatifs. Les mélanges les plus concentrés (pools 2-4) sont testés une seule fois. Les mélanges les moins concentrés (pools 5, 6, 7, 7b et 8) 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

Prise d'essai de 7 µL d'ARN extrait.

Amplification sur BioRad CFX96

Analyse manuelle des résultats et analyse automatique avec *Amplidiag Analyzer*

RESULTATS

Numéro échantillon	Ct de la technique de référence *		ORF1ab	Ct du kit Analyse manuelle		Contrôle interne
	E	IP2/IP4		N		
Pool 2	18,00	17,19	18,6	20,7	27,8	
Pool 3	20,62	20,08	21,4	23,4	27,8	
Pool 4	24,19	23,76	23,3	26,4	29,9	
Pool 5	26,82	27,04	27,0	29,0	28,5	
Pool 6	30,75	31,34	31,4	32,1	24,6	
Pool 7	34,34	34,47	34,0	34,8	26,8	
Pool 7b	35,04	35,23	43,6	38,4	26,9	
Pool 8	37,26	37,3	ND	39,4	29,0	
Pool Neg	ND	ND	ND	ND	26,5	
Eau	ND	ND	ND	ND	ND	
ARN viral	32,03	28,82	31,6	29,9	NA	
Contrôle positif kit	NA	NA	26,3	27,6	27,7	

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

CONCLUSIONS

Le Centre National de Référence des Virus des Infections Respiratoires (dont la grippe) considère que le *Amplidiag COVID-19 Kit* possède une sensibilité de détection du SARS-CoV-2 acceptable.

L'utilisation du logiciel d'analyse automatique *Amplidiag Analyzer* nécessite tout de même une visualisation des courbes d'amplification afin d'éviter les faux négatifs en cas de faible amplitude du signal.

La spécificité du kit n'a pas été évaluée.

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

- Jusqu'au pool 8 avec la cible E,
- Jusqu'au pool 8 avec la cible IP4/IP2.

Le kit *Amplidiag COVID-19 Kit* est valide pour tous les échantillons testés avec une détection du contrôle interne correcte. Il détecte l'ARN viral du SARS-CoV-2 jusqu'au pool 8, le plus dilué du panel avec la cible N. Le système ciblant ORF1ab semble un peu moins sensible.

L'analyse automatique avec le logiciel *Amplidiag Analyzer* a donné un résultat négatif pour un réplicat du pool 7b présentant une courbe faiblement positive avec la cible N

Le kit *Amplidiag COVID-19 Kit* présente :

- une sensibilité équivalente à celle de la technique de référence CNR.