

**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 : *TaqMan 2019-nCoV Assay Kit v1*

Fournisseur : *appliedBiosystems (Thermo Fisher Scientific)*

Détection : 3 cibles + 1 contrôle interne (gene humain) multiplexé avec une des cibles (3 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 Virus des Infections Respiratoires (dont la grippe)

25-28, rue du Dr Roux

75724 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 1 000^e servant de contrôle positif.

Technique de référence CNR

Extraction acides nucléiques

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

qRT-PCR

- 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 5 µL d'ARN extrait.

Amplification sur LightCycler 96 Roche Diagnostics

Utilisation du kit TaqPath1_Step RT-qPCR MasterMix, CG

RESULTATS

Echantillon	Ct de la technique de référence *		Ct du kit testé			
	E	IP2/IP4	ORF1ab	S Protein	N Protein	Contrôle interne (gène humain)
Pool 2	18,18	17,50	16,95	16,34	13,87	19,2
Pool 3	20,82	20,19	20,02	19,11	16,91	18,2
Pool 4	24,51	23,80	23,32	22,79	20,71	19,9
Pool 5	27,81	27,87	26,11	25,02	23,21	20,8
Pool 6	31,33	30,90	29,85	28,65	27,40	20,2
Pool 7	35,11	34,86	33,28	31,82	30,90	21,2
Pool 7b	37,32	36,20	35,34	33,68	32,76	22,0
Pool 8	ND	38,95	37,42	ND	35,17	19,3
Pool Neg	ND	ND	ND	ND	ND	20,3
Eau	ND	ND	ND	ND	ND	ND
ARN viral	28,81	27,27	27,65	27,16	24,67	28,3
Contrôle positif kit	NA	NA	26,35	25,29	23,03	23,9

ND : non détecté ; 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 7b avec la cible E.
- Jusqu'au pool 8 avec les cibles IP2/IP4.

Le kit *TaqMan 2019-nCoV Assay Kit v1* est validé 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.

Le kit *TaqMan 2019-nCoV Assay Kit v1* présente :

- une sensibilité identique voire supérieure à celle de la technique de référence CNR.

CONCLUSION

Le Centre National de Référence Virus des Infections Respiratoires (dont la grippe) considère que le kit *TaqMan 2019-nCoV Assay Kit v1* possède une sensibilité de détection du SARS-CoV-2 acceptable.

La spécificité du kit n'a pas été évaluée.