

**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 : *Corona Virus Disease 2019 (CoViD-19) Nucleic Acid Detection Kit*

Fournisseur : *EXCILONE SARL*

Détection : 2 cibles 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

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 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 5 µL d'ARN extrait.

Amplification sur ABI 7500 et LightCycler 480 II (deux extractions indépendantes)

RESULTATS

Numéro échantillon	Ct de la technique de référence *		Ct du kit			
			Extraction n°1 ABI 7500		Extraction n°2 LightCycler 480 II	
	E	IP2/IP4	N	ORF1ab	N	ORF1ab
Pool 2	18,00	17,19	16,3	15,9	19,0	17,9
Pool 3	20,62	20,08	19,7	18,8	22,0	20,9
Pool 4	24,19	23,76	24,2	23,4	25,9	24,6
Pool 5	26,82	27,04	26,8	25,8	28,5	27,3
Pool 6	30,75	31,34	28,5	28,2	30,0	29,6
Pool 7	34,34	34,47	ND	37,3	33,0	32,3
Pool 7b	35,04	35,23	ND	ND	ND	31,7
Pool 8	37,26	37,3	ND	ND	ND	ND
Pool Neg	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Eau	ND	ND	ND	ND	ND	ND
ARN viral	32,03	28,82	22,6	28,8	31,7	31,3
Contrôle positif kit	NA	NA	22,5	23,3	26,9	26,9

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

Le kit (*CoViD-19*) *Nucleic Acid Detection* ne détecte l'ARN viral du SARS-CoV-2 que jusqu'au pool 7b avec seulement une cible dans un seul réplicat sur trois et dans une seule des deux expérimentations (amplification sur LightCycler 480 II). L'amplification sur ABI 7500, réalisée à partir d'ARN extraits indépendamment donne un résultat un peu moins bon (détection jusqu'au pool 7).

Le kit (*CoViD-19*) *Nucleic Acid Detection* présente :

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

CONCLUSIONS

Le Centre National de Référence des Virus des Infections Respiratoires (dont la grippe) considère que le kit (*CoViD-19*) *Nucleic Acid Detection* **ne possède pas** une sensibilité de détection du SARS-CoV-2 acceptable.

La spécificité du kit n'a pas été évaluée.