

**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 : *COVID-19 Multiplex Digital PCR Detection Kit*

Fournisseur : *Stilla*

Détection : 2 cibles + 1 contrôle interne d'amplification en multiplex en système fermé.

PCR en émulsion.

Résultat quantitatif (en nombre de gouttelettes positives et en nombre de copies d'ARN viral par microlitre).

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 1, 3, 4, 5, 6, 7, 8 et 9).
- 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 1, 3 et 4) sont testés une seule fois. Les mélanges de concentrations intermédiaires sont testés en quadruplicat (pool 5) ou en pentaplicat (pools 6-9). Le pool négatif est testé en duplicat.

Technique de référence CNR

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

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

Deux cibles : IP2 et IP4

Prise d'essai : 5 µL

Technique évaluée selon la notice du fournisseur

Prise d'essai de 10,5 µL

RESULTATS

Numéro échantillon	Ct de la technique de référence *		Nombre de tests ayant donné un résultat positif			
	IP2	IP4	N	ORF1ab	Contrôle interne	Analyse finale
Pool 1	14,99	15,13	1/1	1/1	1/1	1/1
Pool 3	19,05	19,12	1/1	1/1	1/1	1/1
Pool 4	22,48	22,60	1/1	1/1	1/1	1/1
Pool 5	25,51	25,52	4/4	4/4	4/4	4/4
Pool 6	30,23	30,55	5/5	5/5	5/5	5/5
Pool 7	32,93	33,36	5/5	5/5	5/5	5/5
Pool 8	34,39	35,13	5/5	5/5	5/5	5/5
Pool 9	38,35	38,82	5/5	1/5	5/5	5/5
Pool Neg	ND	ND	0/3	0/3	3/3	0/3

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

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

- Jusqu'au pool 9 pour les deux cibles IP2 et IP4

Le kit **COVID-19 Multiplex Digital PCR Detection kit** détecte l'ARN viral du SARS-CoV-2 dans tous les échantillons testés avec la cible N. La cible ORF1ab est légèrement moins sensible (1 positif sur 5 tests pour le pool 9, le plus dilué).

Le kit **COVID-19 Multiplex Digital PCR Detection kit** présente :

- une sensibilité similaire à celle de la technique de référence.

CONCLUSIONS

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

La spécificité du kit n'a pas été évaluée.

Paris, le 30/04/2020
SUN