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

Nom du Kit : iAMP COVID-19 Detection Kit
Fournisseur : ATILA BioSystems
Détection : 2 cibles + contrôle interne (système Lamp)

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, 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).

Le kit n’a pas été évalué pour la cible HCoV (Coronavirus humains).

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 ce Ct similaires, dont un constitué de sérum négatifs. Les mélanges les plus concentrés (pools 2, 3 et 4) sont testés une seule fois. Les mélanges les moins concentrés (pools 5, 6, 7, 8 et 9) et le négatif sont testés en triplicats.
- ARN extrait d’un surnageant de culture virale dilué au 1000e servant de contrôle positif.

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 12,5 μL

Utilisation du protocole fournisseur suivant :

"D. Isolated RNA from respiratory specimens"

Amplification sur LightCycler 480
RESULTATS

<table>
<thead>
<tr>
<th>Numéro échantillon</th>
<th>Ct de la technique de référence *</th>
<th>Résultats du iAMP COVID-19 Detection Kit</th>
</tr>
</thead>
<tbody>
<tr>
<td></td>
<td>IP2</td>
<td>IP4</td>
</tr>
<tr>
<td>Pool 2</td>
<td>18,40</td>
<td>18,1</td>
</tr>
<tr>
<td>Pool 3</td>
<td>20,01</td>
<td>19,68</td>
</tr>
<tr>
<td>Pool 4</td>
<td>22,76</td>
<td>22,31</td>
</tr>
<tr>
<td>Pool 5</td>
<td>27,11</td>
<td>26,69</td>
</tr>
<tr>
<td>Pool 6</td>
<td>29,16</td>
<td>30,13</td>
</tr>
<tr>
<td>Pool 7</td>
<td>32,59</td>
<td>33,93</td>
</tr>
<tr>
<td>Pool 8</td>
<td>34,42</td>
<td>35,23</td>
</tr>
<tr>
<td>Pool 9</td>
<td>38,01</td>
<td>37,95</td>
</tr>
<tr>
<td>PoolNeg</td>
<td>ND</td>
<td>ND</td>
</tr>
<tr>
<td>ARN viral</td>
<td>28,23</td>
<td>27,39</td>
</tr>
<tr>
<td>Contrôle positif kit</td>
<td>NA</td>
<td>NA</td>
</tr>
</tbody>
</table>

ND : non détecté ; NA : non applicable

La technique de référence du CNR détecte l'ARN viral du SARS-CoV-2 :
- Jusqu’au pool 9 avec les cibles IP2 et IP4

Le kit iAMP COVID-19 Detection Kit détecte l'ARN viral du SARS-CoV-2 jusqu’au pool 8. Le pool 8 est détecté 1/3 et le pool 9 0/3.

Le kit iAMP COVID-19 Detection Kit présente :
- Une sensibilité inférieure à celle de la technique de référence CNR pour la cible ORF1ab/N.

L’extraction d’ARN a été effectuée avec le kit Macherey Nagel à partir d’échantillons resuspendus en milieu de transport viral et non pas dans les conditions normales, où l’écouvillon est directement resuspendu dans le milieu Sample Buffer Mix du kit avant d’effectuer l’amplification isothermale.

CONCLUSIONS

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

La spécificité du kit n’a pas été évaluée.

Panò, le 01/07/2020

[Signature]

Pr. S van der WERF