

**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 : *TaqPath™ COVID-19 CE-IVD RT-PCR Kit*

Fournisseur : *appliedBiosystems (Thermo Fisher Scientific)*

Détection : 3 cibles + 1 contrôle interne d’extraction 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 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 nasopharyngés 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 QuantStudio 5, QuantStudio 6, QuantStudio 7, QuantStudio 12, ABI 7500 Fast et LightCycler 480.

RESULTATS

Echantillon	Ct de la technique de référence *		Ct du kit testé sur QuantStudio5			
	E	IP2/I P4	ORF1ab	S Protein	N Protein	Contrôle d'extraction MS2
Pool 2	18,18	17,50	13,7	14,2	15,9	31,4
Pool 3	20,82	20,19	16,6	16,7	18,5	26,6
Pool 4	24,51	23,80	20,4	20,7	22,6	25,6
Pool 5	27,81	27,87	23,4	23,2	24,8	25,8
Pool 6	31,33	30,90	26,8	26,7	28,3	25,8
Pool 7	35,11	34,86	30,6	30,4	32,1	25,8
Pool 7b	37,32	36,20	32,2	33,4	34,7	25,8
Pool 8	ND	38,95	39,4	ND	ND	25,5
Pool Neg	ND	ND	ND	ND	ND	30,2
Eau	ND	ND	ND	ND	ND	ND
ARN viral	28,81	27,27	24,7	25,7	25,6	NA
Contrôle positif kit	NA	NA	31,2	30,5	32,8	NA

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

Echantillon	Ct de la technique de référence *		Ct du kit testé sur QuantStudio6			
	E	IP2/I P4	ORF1ab	S Protein	N Protein	Contrôle interne (gène humain)
Pool 2	18,18	17,50	14,4	14,6	16,4	33,7
Pool 3	20,82	20,19	17,2	16,9	18,9	28,0
Pool 4	24,51	23,80	20,6	20,5	22,7	25,1
Pool 5	27,81	27,87	23,5	22,6	24,8	24,9
Pool 6	31,33	30,90	26,7	25,9	28,2	24,7
Pool 7	35,11	34,86	30,6	30,0	31,8	25,1
Pool 7b	37,32	36,20	33,5	32,1	34,2	25,0
Pool 8	ND	38,95	39,0	ND	ND	25,0
Pool Neg	ND	ND	ND	ND	ND	30,1
Eau	ND	ND	ND	ND	ND	ND
ARN viral	28,81	27,27	24,7	24,8	32,3	NA
Contrôle positif kit	NA	NA	31,2	29,9	23,0	NA

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

Echantillon	Ct de la technique de référence *		Ct du kit testé sur QuantStudio 7			
	E	IP2/I P4	ORF1ab	S Protein	N Protein	Contrôle interne (gène humain)
Pool 2	18,18	17,50	14,3	16,4	15,9	31,0
Pool 3	20,82	20,19	16,8	18,6	18,1	26,1
Pool 4	24,51	23,80	20,7	22,6	22,1	25,8
Pool 5	27,81	27,87	23,0	24,7	24,1	25,4
Pool 6	31,33	30,90	26,7	28,2	27,6	25,4
Pool 7	35,11	34,86	30,3	34,9	31,3	25,6
Pool 7b	37,32	36,20	32,7	ND	33,4	25,6
Pool 8	ND	38,95	ND	ND	33,3	25,9
Pool Neg	ND	ND	ND	ND	ND	30,6
Eau	ND	ND	ND	ND	ND	ND
ARN viral	28,81	27,27	24,6	27,6	24,9	NA
Contrôle positif kit	NA	NA	32,4	37,1	32,5	NA

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

Echantillon	Ct de la technique de référence *		Ct du kit testé sur QuantStudio 12			
	E	IP2/I P4	ORF1ab	S Protein	N Protein	Contrôle interne (gène humain)
Pool 2	18,18	17,50	14,1	14,7	16,1	32,9
Pool 3	20,82	20,19	16,9	17,4	18,4	27,5
Pool 4	24,51	23,80	20,4	20,9	22,2	25,3
Pool 5	27,81	27,87	23,5	23,7	24,5	25,7
Pool 6	31,33	30,90	27,1	27,3	28,1	25,7
Pool 7	35,11	34,86	30,6	31,4	31,4	25,7
Pool 7b	37,32	36,20	32,1	33,7	33,1	25,9
Pool 8	ND	38,95	36,9	ND	ND	25,7
Pool Neg	ND	ND	ND	ND	ND	30,5
Eau	ND	ND	ND	ND	ND	ND
ARN viral	28,81	27,27	24,8	26,5	25,3	NA
Contrôle positif kit	NA	NA	31,0	31,3	31,8	NA

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

Echantillon	Ct de la technique de référence *		Ct du kit testé sur ABI 7500 Fast			
	E	IP2/I P4	ORF1ab	S Protein	N Protein	Contrôle interne (gène humain)
Pool 2	18,18	17,50	14,2	14,8	15,5	21,3
Pool 3	20,82	20,19	17,5	17,4	18,2	21,4
Pool 4	24,51	23,80	20,9	20,6	21,9	20,9
Pool 5	27,81	27,87	23,0	22,5	23,4	19,7
Pool 6	31,33	30,90	27,2	26,9	27,9	21,2
Pool 7	35,11	34,86	29,5	29,4	30,2	21,1
Pool 7b	37,32	36,20	31,6	30,8	32,6	20,6
Pool 8	ND	38,95	ND	ND	ND	21,1
Pool Neg	ND	ND	ND	ND	ND	20,5
Eau	ND	ND	ND	ND	ND	ND
ARN viral	28,81	27,27	25,2	26,4	25,2	NA
Contrôle positif kit	NA	NA	31,3	31,1	32,0	NA

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

Echantillon	Ct de la technique de référence *		Ct du kit testé sur LightCycler 480			
	E	IP2/IP4	ORF1ab	S Protein	N Protein	Contrôle interne (gène humain)
Pool 2	18,18	17,50	17,6	17,9	17,9	35,0
Pool 3	20,82	20,19	20,5	20,6	20,6	32,6
Pool 4	24,51	23,80	23,8	24,2	24,2	25,2
Pool 5	27,81	27,87	26,1	26,2	26,2	25,6
Pool 6	31,33	30,90	28,7	29,1	29,1	25,6
Pool 7	35,11	34,86	31,5	32,2	32,2	25,6
Pool 7b	37,32	36,20	31,8	32,1	32,1	25,5
Pool 8	ND	38,95	ND	ND	ND	25,5
Pool Neg	ND	ND	ND	ND	ND	25,5
Eau	ND	ND	ND	ND	ND	ND
ARN viral	28,81	27,27	27,1	27,6	27,6	NA
Contrôle positif kit	NA	NA	31,8	33,0	33,0	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 proximité des longueurs d'ondes des fluorophores ciblant la protéine S et la protéine N ne permet pas la discrimination des deux cibles sur Light Cycler 480

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 la cible IP2/IP4.

Le kit *TaqPath™ COVID-19 CE-IVD RT-PCR Kit* 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 7b sur toutes les machines testées et jusqu'au pool 8 sur QuantStudio5, 6, 7 et 12.

Le kit *TaqPath™ COVID-19 CE-IVD RT-PCR Kit* présente :

- une sensibilité équivalente 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 *TaqPath™ COVID-19 CE-IVD RT-PCR Kit* possède une sensibilité de détection du SARS-CoV-2 acceptable. L'utilisation sur LightCycler 480 demande une mise au point par le fournisseur.

La spécificité du kit n'a pas été évaluée.