

Résultats d'évaluation de la performance en analytique
pour la détection du SARS-CoV-2 dans le cadre de l'épidémie de COVID-19
comparaison avec la technique de référence du CNR IPP

Nom du Kit : OSANTYS SARS-CoV-2 RT-qPCR Kit (Ref OS-CoV2-100 ; OS-CoV2-500)

Société fabricant et distributeur: Laboratoire OBO

Laboratoire Investigateur

Pr Bruno Lina

Laboratoire associé au Centre National de Référence des virus des infections respiratoires
Institut des Agents infectieux
Centre de Biologie et Pathologie Nord
Groupement Hospitalier Nord
103 boulevard de la Croix-Rousse
69317 Lyon CEDEX 04
FRANCE

Dr Vanessa Escuret (vanessa.escuret@chu-lyon.fr)
Tel : 04 72 07 10 35

Correspondants

M Olivier Bausset (olivier.bausset@osantys.com)

61, Route de Grenoble - 06200 Nice - France

Laboratoire OBO - 10, Traverse de L'Aigle D'Or - 13100 Aix-En-Provence – France

OBJECTIFS

L'objectif de l'évaluation est de tester la sensibilité analytique du test mentionné ci-dessus (OSANTYS SARS-CoV-2 RT-qPCR Kit du laboratoire OBO) pour la détection du SARS-CoV-2 par comparaison de la technique maison de référence utilisée au CNR de Lyon, à partir d'un surnageant viral inactivé dilué et d'échantillons respiratoires.

MATERIELS ET METHODES

Panel d'échantillons testés

- Dilutions successives en EMEM d'un surnageant de culture de SARS-CoV-2 inactivé
- Echantillons respiratoires (écouvillons naso-pharyngés seulement) de patients positifs ou négatifs pour le SARS-CoV-2 (13 positifs, 1 négatif)

- Nous n'avons testé aucun prélèvement visqueux.

Technique de référence CNR (site de Lyon)

Extraction avec EMAG® bioMérieux selon la technique du fournisseur à partir de 200µL de prélèvement ; éluat de 50µL

Détection de deux cibles en duplex (région RdRp) : amorces et sondes (IP2, IP4) (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)

avec un mix de deux sondes IP4 afin de détecter d'éventuels variants (cf https://www.sfm-microbiologie.org/wp-content/uploads/2021/04/Modif_IP4_probe_Update_CNRVIR210406_VE.pdf)

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

Amplifications sur QuantStudio™ 5 Applied Biosystems™ (à partir de 5µL d'éluat)

Technique évaluée : selon la notice du fournisseur

Principe du test :

Il s'agit d'un test moléculaire type RTqPCR en temps réel basé sur les outils développés par le CDC.

- le test est très simple à utiliser
- il détecte 2 cibles du SARS-CoV-2 dans le gène N:
 - o cible **N1**
 - o cible **N2**

ainsi qu'un **contrôle cellulaire (gène RNase P)**

Mise en œuvre :

Extraction avec EMAG® bioMérieux selon la technique du fournisseur à partir de 200µL de prélèvement ; éluat de 50µL.

RT-PCR réalisée à partir de 5µL d'éluat ajouté dans 20 µL de Mix.

RESULTATS

Numéro ECHANTILLON	Test du laboratoire OBO (OSANTYS SARS-CoV-2 RT-qPCR Kit)				Technique de référence PCR Institut Pasteur; Extraction Emag; Amplification QS5			Type d'échantillon
	Résultat	cible N1 (Ct)	cible N2 (Ct)	contrôle RNAse P (Ct)	Résultat	IP2	IP4	
10-1	Positif	23.95	23.33	NA	Positif	23.59	23.41	Surnageant de culture virale inactivé dilué en EMEM
10-2	Positif	27.60	26.86	NA	Positif	27.48	27.24	Surnageant de culture virale inactivé dilué en EMEM
10-3	Positif	31.06	30.32	NA	Positif	30.60	30.31	Surnageant de culture virale inactivé dilué en EMEM
10-4	Positif	34.98	33.26	NA	Positif	34.51	33.94	Surnageant de culture virale inactivé dilué en EMEM
10-5 (1)	Positif limite	38.84	38.47	NA	Positif limite	39.47	40.28	Surnageant de culture virale inactivé dilué en EMEM
10-5 (2)	Positif limite	38.75	Négatif	NA	Positif limite	41.14	36.72	Surnageant de culture virale inactivé dilué en EMEM
10-5 (3)	Positif limite	39.40	37.79	NA	Positif limite	Négatif	38.26	Surnageant de culture virale inactivé dilué en EMEM
679/0049	Positif	21.88	21.29	26.00	Positif	22.29	22.09	Ecouvillon naso-pharyngé
663/0054	Positif	25.31	24.30	25.13	Positif	25.39	26.08	Ecouvillon naso-pharyngé
674/0041	Positif	28.79	28.14	26.53	Positif	29.37	29.23	Ecouvillon naso-pharyngé
676/0012	Positif	29.19	28.35	29.16	Positif	29.61	29.26	Ecouvillon naso-pharyngé
684/0086	Positif	29.09	28.24	27.32	Positif	30.05	29.87	Ecouvillon naso-pharyngé
669/0035	Positif	32.23	31.73	24.59	Positif	32.27	31.93	Ecouvillon naso-pharyngé
678/0075	Positif	32.19	31.82	30.35	Positif	33.45	34.68	Ecouvillon naso-pharyngé
678/0051	Positif	33.41	32.94	26.74	Positif	34.01	33.60	Ecouvillon naso-pharyngé
660/0060	Positif	34.42	33.90	27.54	Positif	35.40	37.11	Ecouvillon naso-pharyngé
669/0045	Positif	37.01	35.41	27.11	Positif	37.75	36.01	Ecouvillon naso-pharyngé
669/0003	Positif	34.78	33.67	27.34	Positif	36.83	38.39	Ecouvillon naso-pharyngé
684/0091	Positif	36.36	35.85	29.48	Positif limite	41.25	Négatif	Ecouvillon naso-pharyngé
681/0064	Positif limite	38.92	38.86	26.93	Négatif	Négatif	Négatif	Ecouvillon naso-pharyngé
677/0031	Négatif	Négatif	Négatif	25.22	Négatif	Négatif	Négatif	Ecouvillon naso-pharyngé

* Absence de cellules dans les dilutions de surnageant de culture de virus, donc le contrôle cellulaire est non applicable (NA)

Le test OSANTYS SARS-CoV-2 RT-qPCR Kit du Laboratoire OBO est valide pour les échantillons testés avec une détection d'un **contrôle cellulaire (IC) correcte dans l'ensemble des échantillons naso-pharyngés.**

Pour la gamme de dilution de surnageant de culture virale inactivée, les résultats sont similaires à ceux obtenus avec la technique IP2/IP4.

Pour les échantillons respiratoires, les résultats sont également similaires avec ceux obtenus avec la technique IP2/IP4. Le test présente une sensibilité légèrement supérieure au test de référence CNR avec des valeurs de Ct légèrement inférieures à celles du test de référence ; qualitativement un échantillon détecté en limite de détection avec le test évalué n'est pas détecté avec le test de référence.

Le test OSANTYS SARS-CoV-2 RT-qPCR Kit du Laboratoire OBO présente :

- **une sensibilité similaire à légèrement supérieure à celle de la technique de référence CNR IPP**

Le test est facile d'utilisation et la RT-qPCR dure 60 minutes (sans compter le temps nécessaire à l'extraction).

CONCLUSIONS

Le Centre National de Référence des Virus des Infections Respiratoires considère que le kit soumis peut être utilisé pour la détection du SARS-CoV-2 dans le cadre de l'épidémie de COVID-19 que connaît actuellement la France.