

 <p>CENTRE NATIONAL DE REFERENCE ARBOVIRUS</p>	Kit testé: Bioperfectus ZIKV/DENV/CHIKV real-time PCR kit sur BeGenius (ELITech)
	Date : Juin 2024
	Lieu : CNR Arbovirus (Marseille)

Résumé

Un total de 24 échantillons PCR+ pour le virus chikungunya (CHIKV) avec la technique de référence au CNR arbovirus (Panther Fusion – HOLOGIC) ont été sélectionnés pour être testés avec le triplex Bioperfectus ZIKV/DENV/CHIKV real-time PCR kit sur l'automate BeGenius (ELITech). Bioperfectus a identifié comme CHIKV PCR+ tous les 24 échantillons (sensibilité 100%). Aucun faux positif CHIKV n'a été identifié sur les échantillons DENV+ ou ZIKV+ (spécificité 100%).

Un panel de 38 échantillons positifs en PCR avec la technique CNR (Panther Fusion – HOLOGIC) pour le virus de la dengue (DENV1-4) a été testé avec Bioperfectus ZIKV/DENV/CHIKV real-time PCR kit sur BeGenius (ELITech) ; tous les 38 échantillons du panel ont eu un résultat positif avec le kit Bioperfectus (sensibilité 100%). Aucun faux positif DENV n'a été identifié sur les échantillons CHIKV+ ou ZIKV+ (spécificité 100%).

Vingt échantillons PCR+ avec la technique CNR (Panther Fusion – HOLOGIC) pour le virus Zika (ZIKV) ont été testés avec Bioperfectus ZIKV/DENV/CHIKV real-time PCR kit sur BeGenius (ELITech) ; 15 ont été détectés positifs par Bioperfectus, et 5 faux négatifs ont été observés (sensibilité 75%). Un résultat faux positif ZIKV PCR+ a été identifié avec le kit Bioperfectus sur un échantillon du panel CHIKV PCR+ (spécificité 98%).

Détails de l'évaluation (CHIKV)

Des échantillons CHIKV+ préalablement caractérisés par le CNR des arbovirus avec Panther Fusion – HOLOGIC (technique de référence) ont été sélectionnés pour être testés avec Bioperfectus ZIKV/DENV/CHIKV real-time PCR kit sur l'automate BeGenius (ELITech) :

- 8 sérums
- 7 plasma
- 3 urines
- 3 sangs totaux
- 3 écouvillons pharyngés

La sensibilité et la spécificité du kit Bioperfectus ont été calculées en utilisant la méthode Panther Fusion comme gold standard (technique de référence). En cas de résultat discordant entre les deux méthodes, les échantillons ont été testés avec une troisième méthode.

Échantillons CHIKV+				
Catégorie (Échantillons PCR+ CNR)	Bioperfectus ZIKV/DENV/CHIKV (Nb échantillons détectés)	Bioperfectus ZIKV/DENV/CHIKV (Moyenne [range] Ct CHIKV)	Bioperfectus ZIKV/DENV/CHIKV (Moyenne CI*)	Commentaires
8 sérums	8/8	26,9 (16-38)	26,9	1 sérum ZIKV+ 37,6ct avec Bioperfectus ZIKV/DENV/CHIKV
7 plasma	7/7	27,1 (17-38)	31,1	-
3 urines	3/3	26,8 (19-34)	35,9	CI tardifs
3 sangs totaux	3/3	23,6 (16-31)	20,2	-
3 écouvillons pharyngés	3/3	24,5 (17-31)	35	CI tardifs

*CI > 35ct : invalide sauf si une amplification pour CHIKV est détectée.

Tous les 24 échantillons CHIKV PCR+ sur Panther Fusion ont également été détectés positifs avec le kit Bioperfectus sur BeGenius.

Aucun résultat faux positif pour CHIKV n'a été observé sur les panels d'échantillons positifs pour ZIKV et pour DENV.

→Sensibilité Bioperfectus CHIKV : 100%

→Spécificité Bioperfectus CHIKV : 100%

Détails de l'évaluation (DENV)

Des échantillons DENV+ préalablement caractérisés par le CNR des arbovirus avec Panther Fusion – HOLOGIC (technique de routine au CNR) ont été sélectionnés pour être testés avec Bioperfectus ZIKV/DENV/CHIKV real-time PCR kit sur l'automate BeGenius (ELITech) :

- 13 sérums (3 DENV-1, 4 DENV-2, 3 DENV-3, 3 DENV-4)
- 11 plasma (3 DENV-1, 3 DENV-2, 3 DENV-3, 2 DENV-4)
- 5 urines (1 DENV-1, 2 DENV-2, 1 DENV-3, 1 DENV-4)
- 2 écouvillons pharyngés (1 DENV-1, 1 DENV-2)
- 7 sangs totaux (2 DENV-1, 2 DENV-2, 1 DENV-3, 2 DENV-4)

La sensibilité et la spécificité du kit Bioperfectus ont été calculées en utilisant la méthode Panther Fusion comme gold standard (technique de référence). En cas de résultat discordant entre les deux méthodes, les échantillons ont été testés avec une troisième méthode.

Échantillons DENV+				
Catégorie (Échantillons PCR+ CNR)	Bioperfectus ZIKV/DENV/CHIKV (Nb échantillons détectés)	Bioperfectus ZIKV/DENV/CHIKV (Moyenne [range] Ct DENV)	Bioperfectus ZIKV/DENV/CHIKV (Moyenne CI*)	Commentaires
13 sérums	13/13	31 (23-40)	26,5	-
11 plasma	11/11	27,6 (23-34)	31	-
5 urines	5/5	34,8 (31-38)	32,6	-
2 écouvillons pharyngés	2/2	29 (27-31)	36,2	CI tardifs
7 sangs totaux	7/7	35,1 (31-40)	20,2	-

*CI > 35ct : invalide sauf si une amplification pour DENV est détectée.

Tous les 38 échantillons DENV PCR+ sur Panther Fusion ont également été détectés positifs avec le kit Bioperfectus sur BeGenius.

Aucun résultat faux positif pour DENV a été observé sur les panels d'échantillons positifs pour ZIKV et pour CHIKV.

→**Sensibilité Bioperfectus DENV : 100%**

→**Spécificité Bioperfectus DENV : 100%**

Détails de l'évaluation (ZIKV)

Des échantillons ZIKV+ préalablement caractérisés par le CNR des arbovirus avec Panther Fusion – HOLOGIC (technique de routine au CNR) ont été sélectionnés pour être testés avec Bioperfectus ZIKV/DENV/CHIKV real-time PCR kit sur l'automate BeGenius (ELITech) :

- 5 sérums
- 4 plasma frais
- 4 plasma lyophilisés (EQA)
- 4 urines
- 3 sangs totaux

La sensibilité et la spécificité du kit Bioperfectus ont été calculées en utilisant la méthode Panther Fusion comme gold standard (technique de référence). En cas de résultat discordant entre les deux méthodes, les échantillons ont été testés avec une troisième méthode.

Échantillons ZIKV+				
Catégorie (Échantillons PCR+ CNR)	Bioperfectus ZIKV/DENV/CHIKV (Nb échantillons détectés)	Bioperfectus ZIKV/DENV/CHIKV (Moyenne [range] Ct ZIKV)	Bioperfectus ZIKV/DENV/CHIKV (Moyenne CI*)	Commentaires
5 sérums	4/5	32,8 (30-36)	24,3	Échantillon neg: 34 Ct sur Panther
4 plasma frais	4/4	33,5 (30-38)	31,8	-
4 plasma lyoph	3/4	33,4 (28-38)	37,1	Échantillon neg: 24,5 sur Panther // CI tardifs
4 urines	3/4	34,3 (32-37)	36,5	Échantillon neg: 28,4 sur Panther // CI tardifs
3 sangs totaux	1/3	37,9	22,3	Échantillon neg: 30,9 et 34,2 sur Panther

*CI > 35ct : invalide sauf si une amplification pour ZIKV est détectée.

Quinze échantillons sur les 20 testés ont été détectés positifs, et 5 faux négatifs ont été observés

Un échantillon du panel CHIKV+ a été détecté ZIKV+ à un Ct tardif avec le kit Bioperfectus ZIKV/DENV/CHIKV. Il a été retesté sur Panther (HOLOGIC) avec deux méthodes différentes (PCR ZIKV et TMA ZIKV), avec résultat négatif. Sur BeGenius, malgré le Ct détecté, aucune courbe d'amplification significative a été observée et le résultat est vraisemblablement dû au seuil de positivité très bas. Aucun résultat faux positif pour ZIKV a été observé sur le panel d'échantillons positifs pour DENV.

→ **Sensibilité Bioperfectus ZIKV : 75%**

→ **Spécificité Bioperfectus ZIKV : 98%**

Conclusion

L'évaluation du kit Bioperfectus ZIKV/DENV/CHIKV montre que ce test a une très bonne sensibilité et spécificité pour CHIKV (100%) et DENV (100%), avec une parfaite concordance entre Bioperfectus et Panther Fusion (technique de référence au CNR arbovirus). Néanmoins,

pour ZIKV un nombre de faux négatifs a été détecté ainsi qu'un faux positif ; ces résultats mettent en lumière des problèmes de manque de sensibilité (75%) et spécificité (98%).

Le problème de spécificité identifié pour ZIKV peut être facilement résolu en augmentant le seuil de positivité qui est actuellement très bas. Dans ce cas, une nouvelle étude doit être réalisée avec le nouveau seuil afin de vérifier que la modification n'impacte pas les autres performances du test.

Les tests sur urine, écouvillon pharyngé et plasma lyophilisé ont montré des valeurs de Ct tardifs pour le contrôle interne. Le CI étant un contrôle d'extraction cellulaire, ce décalage pourrait être dû soit à un problème lors de l'extraction, soit à une quantité de cellules réduite dans les matrices testées.

Ces résultats doivent être interprétés avec précaution en raison du nombre limité d'échantillons dans cette étude.

Conflits d'Intérêts

Cette évaluation a été réalisée dans le cadre d'un contrat de collaboration entre ELITech et l'Unité des virus émergents (UVE, qui héberge le CNR Arbovirus). ELITech a mis à disposition l'automate, fourni les kits et les réactifs et pris en charge les coûts supplémentaires engendrés par l'étude au sein de l'UVE.

Remerciements

Une partie de réactifs utilisés lors de cette évaluation a été fournie par EVAM (European virus archive-Marseille, <https://evam.european-virus-archive.com/>).