

Etude comparative entre le Standard M10 Grippe/VRS/SARS-CoV-2 et la rt-PCR en temps réel utilisée dans le LNR de la Grippe et des autres viroses respiratoires



Dr. Dhouha Kebaier, Salma Abid and Pr. Ilhem Boutiba

Laboratoire de Microbiologie – Hôpital Charles Nicolle

LNR de la Grippe et des autres viroses respiratoires

CONTRACT

THIS CONTRACT, effective the 12th day of **January, 2023** (hereinafter the "**Effective Date**"), is entered into by and between **Charles Nicolle Hospital** (hereinafter "**Institution**") and SD Biosensor, Inc., represented by Heo Tae Young, with principal offices located at C-4&5 Floor, 16, Deogyong-daero 1556beon-gil, Yeongtong-gu, Suwon-si, Gyeonggi-do, 16690, REPUBLIC of KOREA (hereinafter "**Sponsor**"), governing research to be conducted at Institution in the laboratories and clinic of Pr Ilhem Boutiba Ben Boubaker (hereinafter "**Principal Investigator**").

The parties agree as follows:



Déclaration d'éthique

Ce travail a été mené selon les lignes directrices de la Déclaration d'Helsinki. L'approbation éthique n'était pas requise puisque tous les échantillons ont été traités dans le cadre du diagnostic de routine

Aucun conflit d'intérêts ou relations personnelles qui auraient pu sembler entraver ce travail

 **SD BIOSENSOR**

 **MEDIBIO**



- **Principe:**

STANDARD™ M10 Grippe/VRS/SARS-CoV-2 :

- Technique de diagnostic moléculaire *invitro*
 - Permet la détection simultanée de l'ARN viral et la différenciation entre :
 - Virus de la Grippe A
 - Virus de la Grippe B
 - VRS
 - SARS-CoV-2
 - Basée sur la technique d'amplification d'acide nucléique : rt-PCR en temps réel
 - En une seule cartouche :
 - Réactif d'extraction → Extrait d'acide nucléique
 - Réactifs d' amplification
- ➔ Simplifie le test et permet d'obtenir des résultats < 1 heure



LNR de la Grippe et autres viroses respiratoires

- Le protocole du “ CDC Influenza SARS-CoV-2 (Flu / SC2) Multiplex Assay”:
 - La rt-PCR en temps réel est un test qui permet la détection simultanée et la différenciation entre le virus de la Grippe A, le virus de la Grippe B et SARS-CoV-2 dans les prélèvements respiratoires
 - Cibles
 - Gène de la nucléocapside (N) spécifique pour la détection de SARS-CoV-2
 - Gène de la Matrice (M1) spécifique pour la détection du virus de la Grippe A
 - Gène Non structural 2 (NS2) spécifique pour la détection du virus de la Grippe B
 - Gène RNase P gène (RP) spécifique pour la détection d'acide nucléique humain qui est utilisé comme un control interne
 - Ce test est un outil de diagnostic très précis basé sur la détection des acides nucléiques des différents virus pour poser le diagnostic en phase aiguë de l'infection
 - Gold standard (malgré la nécessité de personnel expérimenté, de temps et d'un plateau technique spécifique)



LNR de la Grippe et autres viroses respiratoires

- Virus de la Grippe A sous types:
 - H1N1pdm09
 - H3N2

- Virus de la Grippe B lignée :
 - Victoria
 - Yamagata



LNR de la Grippe et autres viroses respiratoires

FTD Respiratory Pathogens 21

kit Multiplex :

-Reverse transcriptase PCR en temps réel (rRT-PCR)

-Détection simultanée et différenciation entre 21 pathogènes:

Virus de la Grippe A ; sous-type A(H1N1); Virus de la Grippe B; virus Respiratoire Syncytial A,B ; rhinovirus; coronavirus NL63, 229E, OC43 and HKU1; virus parainfluenza de type 1, 2, 3 et 4; metapneumovirus; bocavirus; adenovirus; enterovirus; parechovirus; Mycoplasma pneumoniae



Echantillons (n=200)

Echantillons collectés dans le cadre
du Programme National de surveillance sentinelle
de la Grippe

Echantillons positifs

Pathogène	Nombre	valeur de Ct
Grippe A	26	10 -33
Grippe B	21	10 - 33
VRS	27	18 - 30
SARS-CoV-2	14	14 - 36
VRS+ SARS-CoV-2	2	23 - 28 / 22 - 28
Grippe B + VRS	2	21--24 / 18--24
Grippe A + SARS-CoV-2	4	13 - 24 / 12 - 34
Grippe A + VRS	3	10 - 24 / 23 - 37
Grippe A + Grippe B	1	23 / 28
Total échantillons +	100	-

Echantillons négatifs

❖ **N=100:**

61 négatifs pour les 4 virus cibles et positifs pour d'autres virus respiratoires

39 négatifs pour tous les virus respiratoires

Résultats discordants

➔ RE-TESTER :

– M10

et

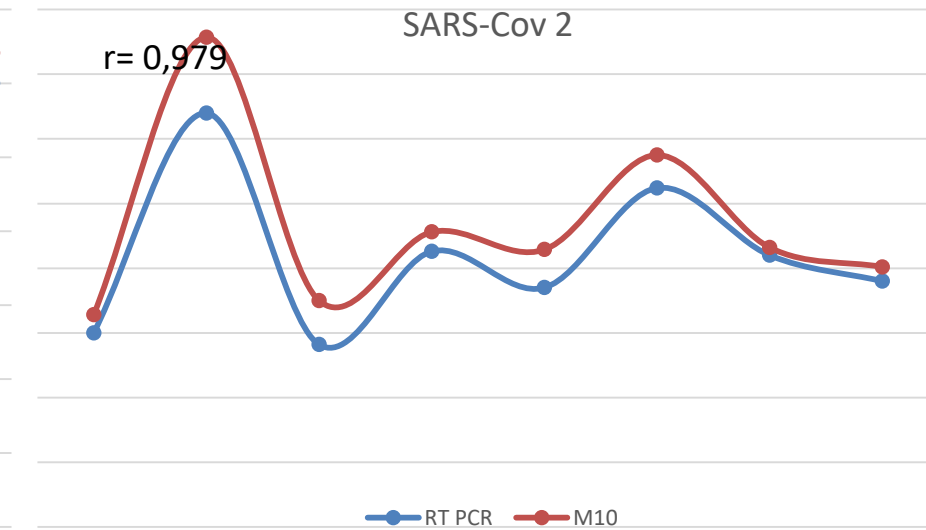
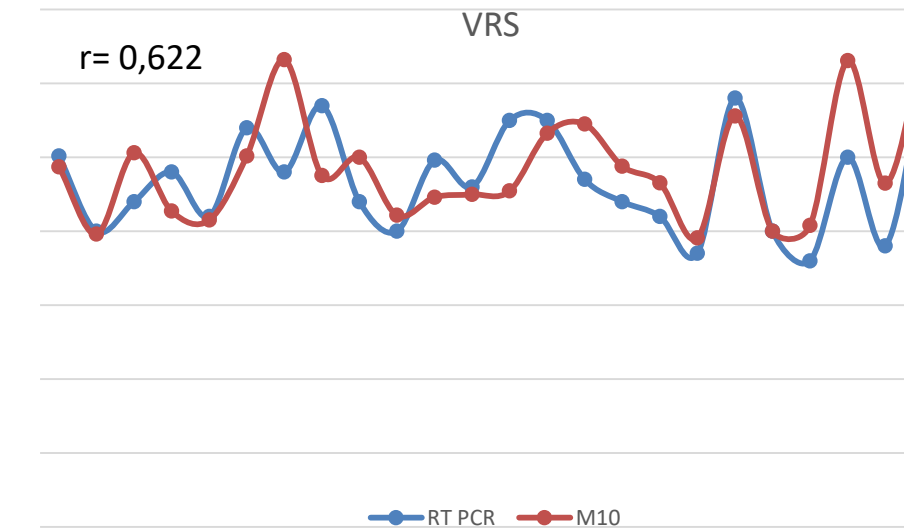
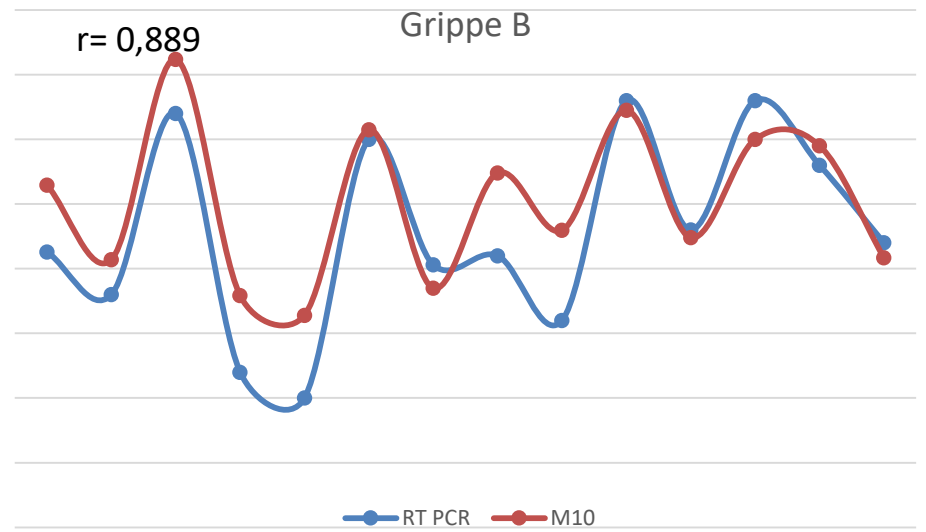
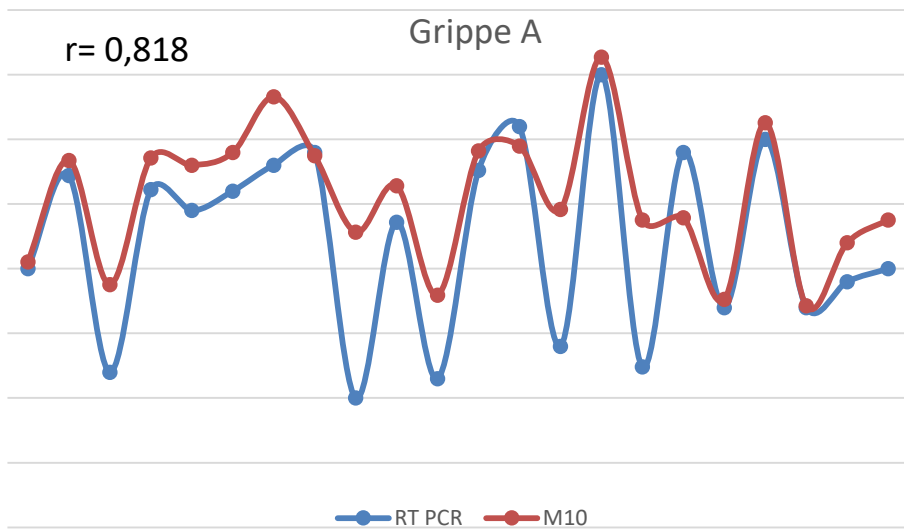
– Gold standard

Analyse statistique

Logiciel : Graph PAD Prisme

Résultats : 100 échantillons positifs

	RT PCR (+) M10 (+)	RT PCR (+) M10 (-)	Ct des RT-PCR discordants
Grippe A	22	4	31-36
Grippe B	14	7	28-31
VRS	25	2	30-31
SARS-CoV-2	8	6	29-36
VRS+ SARS-CoV-2	0	2	27.7/32.4- 22.9/32.5
Grippe B + VRS	2	0	-
Grippe A + SARS-CoV-2	2	2	19/22-22/34
Grippe A + VRS	2	1	24/37
Grippe A +Grippe B	1	0	-
Total	76	24	-



Comparaison des Ct des résultats positifs concordants

r: coefficient de corrélation

Résultats : 100 échantillons négatifs

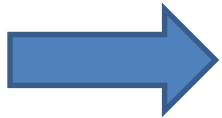
	RT PCR (-) M10 (-)	RT PCR (-) M10 (+)	Ct des PCR M10 discordants
Sous groupe I (n=61)	60	1	Grippe A (36)
Sous groupe II (n=39)	33	6	03 Grippe A (28-36) 02 VRS (21-26) 01 SARS-CoV-2 (30)
Total	93	7	-

Sous groupe I: négatifs pour les 4 virus cibles et positifs pour d'autres virus respiratoires

Sous groupe II: négatifs pour tous les virus respiratoires

Résultats discordants

Pour la confirmation des résultats , tous les échantillons discordants ont été retestés par RT PCR et SD BIOSENSOR PCR Multiplexe



Même résultats

Analyses statistiques

		RT PCR	M10	Chi 2	P Value*
Grippe A	Positive	34	36	0.087	0.76
	Negative	66	64		
Grippe B	Positive	24	22	0.003	0.955
	Negative	76	71		
VRS	Positive	34	38	0.347	0.555
	Negative	66	62		
SARS-Cov 2	Positive	20	12	2.59	0.10
	Negative	77	87		

Conclusion

- Standard M10 présente des avantages significatifs incluant :
 - Diagnostic moléculaire rapide (< 60 min)
 - Pas d'exigences personnelles ou techniques
 - Outil diagnostic en situation d'urgence +++



Sidi Bousaid



South of Tunisia

Merci



El Jem



Dogga