

Comparaison de la trousse PCR CMV temps réel de Diagenode avec la PCR « maison » (Necker) 2012

Les performances analytiques de la trousse **PCR CMV temps réel de Diagenode (Ref : Dia-CMVQ-050.Vs1)** pour la détection quantitative du cytomégalovirus ont été comparées à celles de la technique de routine utilisée dans le laboratoire, PCR temps réel « maison » utilisée dans le cadre des activités du CNR cytomégalovirus.

-62 échantillons de fond de tube de sang totaux envoyés au laboratoire de virologie pour PCR CMV ont été étudiés. Parmi ces 62 échantillons, 21 avaient été caractérisés comme négatifs avec la technique du laboratoire et 41 comme positifs avec des charges virales faibles, modérées ou élevées.

- L'extraction a été réalisée avec 200µl de chaque échantillon après avoir ajouté dans chaque échantillon : 10µl de CI du kit Diagenode et 10µl de l'IC2 DICO (Ref : 71-101, Argène). Ce dernier CI est en effet utilisé pour valider la technique de PCR CMV du laboratoire. L'ADN a été extrait sur l'automate MagNaPure LC avec le protocole MagNa Pure LC DNA isolation kit (Ref : 03003 990 001, Roche Diagnostic).

- Dans la technique de PCR CMV maison : la qualité de l'extraction a été contrôlée par une PCR DICO (Ref : 71701, Argène) en suivant le protocole du fabricant puis la PCR CMV a été réalisée à partir de 5 µl d'extrait dans un volume final de 25µl en suivant le protocole habituel. La PCR Diagenode a été réalisée avec 5 µl d'extraits amplifiés en suivant le protocole d'amplification avec le MasterMix qPCR Mastermix Plus (Ref : QPZX-03-075+, Eurogentec) dans un volume final de 25µl.

-Analyse qualitative des résultats : Au total, 21 échantillons étaient négatifs et ont été confirmés négatifs avec les 2 techniques ce qui donne une spécificité à 100% pour les 2 techniques. Et 41 échantillons étaient attendus positifs : 41 ont été positifs avec la technique maison soit une sensibilité de 100% et 39 ont été positifs avec la technique Diagenode soit une sensibilité de 95%.

-L'analyse quantitative des résultats a été faite avec les 41 échantillons attendus positifs. Pour comparer les charges virales obtenues avec les 2 techniques, lorsque l'ADN du CMV a été détecté mais à une valeur en dessous du seuil de la technique maison (<500 copies/ml) nous avons arbitrairement rendu comme valeur de charge virale la valeur seuil soit 500 copies/ml (2.7 log de copies/ml). La concordance entre les 2 techniques étaient très bonnes ($r^2=0.89$).

En conclusion, la technique PCR CMV temps réel de Diagenode (Ref : Dia-CMVQ-050.Vs1) a donné de bons résultats en terme de sensibilité, de spécificité et de quantification lorsqu'elle a été évaluée par rapport à la technique utilisée en routine dans notre laboratoire. (A noter cependant : une notice d'utilisation à revoir en introduisant notamment des recommandations en termes de critères de validation technique, de calcul de charges virales....).

Figure 2 : Comparaison des charges virales obtenues avec les 2 techniques

Figure 1: Comparaison charge virale technique Necker versus Diagenode

